T.C.
SAĞLIKBİLİMLERİÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIKBİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ECZANELERDE SATILAN KUERSETiN İÇEREN TAKViYELERiN ETKEN MADDE MiKTARI VE ANTiOKSiDAN AKTiViTELERiNiN BELiRLENMESi

RABİA BAŞYİĞİT

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. MAHFUZ ELMASTAŞ

ANA BİLİM DALI
FARMAKOGNOZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
EYLÜL/2025

İTHAF

Bu tezi, her zaman yanımda olan kıymetli eşim Sefa Başyiğit'e ve canım çocuklarım Zeynep Erva, Ömer Enes ve Elif Eylül'e ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında bilgi, tecrübe ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ' a en içten teşekkürlerimi sunarım. Araştırma sürecinde bana yol gösteren, ilgi ve alakasını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Duygu MISIRLI 'ya ve tüm akademik ve idari personel ile laboratuvar çalışanlarına da minnettarım.

Ayrıca, her zaman yanımda olan, sabırları ve sevgileriyle bana güç veren sevgili eşime ve çocuklarıma, bu süreçte gösterdikleri anlayış ve destek için sonsuz teşekkür ederim.

Son olarak, manevi desteğini her daim hissettiğim anne ve babam başta olmak üzere aileme ve dostlarıma da teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İTHAF v
TEŞEKKÜR vi
İÇİNDEKİLER vii
TABLOLAR LİSTESİ ix
ŞEKİLLER LİSTESİ x
SİMGELER VE KISALTMALAR xi
ÖZET xiv
ABSTRACT xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. KUERSETİN 4
2.1.1. Kuersetinin Kimyasal Yapısı 5
2.1.2. Farmakolojik Etkileri 8
2.2. OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ 14
2.2.1. Kuersetinin Antioksidan Etkisinin Kimyasal Yapı ile İlişkisi 16
2.3. YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOGRAFİSİ (HPLC) 17
3. GEREÇ VE YÖNTEM 19
3.1. ARAŞTIRMADA KULLANILAN TİCARİ ÜRÜNLER 19
3.2. KULLANILAN KİMYASALLAR VE REAKTİFLER 20
3.3. KULLANILAN CİHAZLAR 20
3.4. KUERSETİN MİKTAR TAYİNİ 21
3.4.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Miktar Tayini 21
3.4.2 HPLC Yöntem Validasyonu 21
3.5. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ 24
3.5.1. 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil Radikali Giderme Aktivitesi 25
3.5.2. 2,2′-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) Katyon Radikali Giderme Aktivitesi 26
3.5.3. Demir (III) İyonu İndirgeme Gücü Aktivitesi 26
3.5.4.Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC) 27
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 28
4. BULGULAR 29
4.1. HPLC İLE MİKTAR TAYİNİNE AİT BULGULAR 29
4.1.1. Doğrusallığa Ait Bulgular 29

4.1.2. Kesinliğe Ait Bulgular 31
4.1.3. Tekrar Edilebilirliğe Ait Bulgular 32
4.1.4. Tekrar Elde Edilebilirliğe Ait Bulgular 34
4.1.5. Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirliğe Ait Bulgular 36
4.1.6. Özgünlük, Seçiciliğe Ait Bulgular 38
4.1.7. Teşhis ve Tayin Sınırlarına (LOD ve LOQ) Ait Bulgular 38
4.1.8. Kromatografik Kantitatif Analiz Verileri 39
4.2. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE SONUÇLARI 41
4.2.1. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil Radikal Giderme Aktivite Sonuçları 41
4.2.2. 2,2′-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) Radikali Giderme Aktivite Bulguları 44
4.2.3. Demir (III) İyonu İndirgeyici Gücü Antioksidan Aktivitesi (FRAP) Sonuçları 47
4.2.4. Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC) sonuçları 50
5. TARTIŞMA 54
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 59
KAYNAKLAR 61
EKLER 67

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Flavonoidlerin sınıflandırılması..... 5

Tablo 3.1: Araştırmada kullanılan ticari ürünlerin etiket bilgileri.....19

Tablo 3.2: Araştırmada kullanılan cihazlar..... 20

Tablo 3.3: Kantitatif analiz için kullanılan gradiyent pompa program..... 21

Tablo 4.1: Farklı Kuersetin konsantrasyonlarına ait alan değerleri 29

Tablo 4.2:1 µg/mL kons. örneklerin alan, ortalama, SS ve VK değerleri 31

Tablo 4.3: 10 µg/mL kons. örneklerin alan, ortalama, SS ve VK değerleri 32

Tablo 4.4: 1. Güne ait 10 µg/mL kons. örneklerin alan, ortalama, SS ve VK değerleri 33

Tablo 4.5: 2. Güne ait 10 µg/mL kons. örneklerin alan, ortalama, SS ve VK değerleri 33

Tablo 4.6: 1. Analist 50 µg/mL kons. örneklerin alan, ortalama, SS ve VK değerleri.. 35

Tablo 4.7: 2. Analist 50 µg/mL kons. örneklerin alan, ortalama, SS ve VK değerleri.. 35

Tablo 4.8: 0.1 µg/mL kons. örneklerin alan, ortalama, SS ve VK değerleri 36

Tablo 4.9: 25 µg/mL kons. örneklerin alan, ortalama, SS ve VK değerleri 37

Tablo 4.10: 50 µg/mL kons. örneklerin alan, ortalama, SS ve VK değerleri 37

Tablo 4.11: Kantitatif analize göre numunelerin madde miktarı ve etiket bilgisi 39

Tablo 4.12: DPPH yöntemine göre numunelerin IC50 değerleri 42

Tablo 4.13: ABTS radikal giderme aktivite sonuçları..... 45

Tablo 4.14: Frap indirgeme gücü sonuçları 48

Tablo 4.15: Cuprac analizi sonuçları 51

Tablo 5.1: HPLC ve antioksidan aktivite tayini sonuçları ile ürünlerin etiket bilgisi…54

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2 1: Kuersetinin Kimyasal formülü 6

Şekil 4.1: Kuersetin doğrusallık grafiği 30

Şekil 4.2: Kuersetin seçicilik sonuçlarına ait grafik 38

Şekil 4.3: Numunelerin dozaj formlarına (sırası ile lipozomal, fitozomal, serbest form ve kompleks form) göre beyan edilen ve gerçek kuersetin miktarlarının karşılaştırılması . 40

Şekil 4.4: Trolox bileşiğinin DPPH• radikal giderme aktivitesinin kalibrasyon grafiği . 41

Şekil 4.5: Ürünlerin formülasyonlarına göre (sırası ile lipozomal, fitozomal, serbest ve kompleks form) DPPH testi analiz grafiği 43

Şekil 4.6: Trolox bileşiğinin ABTS radikal giderme aktivitesinin kalibrasyon grafiği .. 44

Şekil 4.7: Ürünlerin formülasyonlarına göre (sırası ile lipozomal, fitozomal, serbest ve kompleks form) ABTS testi analiz grafiği 46

Şekil 4.8: Fe^{2+} kalibrasyon grafiği 47

Şekil 4.9: Ürünlerin formülasyonlarına göre (sırası ile lipozomal, fitozomal, serbest ve kompleks form) FRAP testi analiz grafiği 49

Şekil 4.10: Trolox bileşiğinin kalibrasyon grafiği 50

Şekil 4.11: Ürünlerin formülasyonlarına göre (sırası ile lipozomal, fitozomal, serbest ve kompleks form) CUPRAC testi analiz grafiği 52

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABTS	**:**	2,2′-Azinobis-(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ACN	**:**	Asetonitril
Akt	**:**	Protein Kinaz B (PKB)
AR	**:**	Androjen Reseptörü
Bcl-2	**:**	B hücre lenfoma 2 proteini
CAT	**:**	Katalaz
COX-2	**:**	Siklooksijenaz-2
CUPRAC	**:**	Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity
CXCL8	**:**	C-X-C motifli kemokin ligand 8 (IL-8)
CXCR1/2	**:**	C-X-C motifli kemokin reseptör 1 ve 2
DMSO	**:**	Dimetilsülfoksit
DNA	**:**	Deoksiribonükleik Asit
DPPH	**:**	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
ERK	**:**	Ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz
FLS	**:**	Fibroblast benzeri sinovyosit
FRAP	**:**	Ferric Reducing Antioxidant Power
Fas/FasL	**:**	Hücre ölüm reseptörü / Ligandı
GPx	**:**	Glutatyon Peroksidaz
HIF-1α	**:**	Hipoksiye Duyarlı Faktör 1-alfa
HO-1	**:**	Heme Oksijenaz-1
HPLC	**:**	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IC_{50}	**:**	Yarı Maksimum İnhibisyon Konsantrasyonu
ICH	**:**	Uluslararası Uyumlaştırma Konferansı (International Conference on Harmonisation)

IL-1β : İnterlökin-1 beta

IL-18 : İnterlökin-18

JAK/STAT: Janus Kinaz / Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü

JAK1 : Janus Kinaz 1

JNK : C-Jun N-terminal kinaz

LOQ : Limit of Quantification (Tayin Sınırı)

LOD : Limit of Detection (Teşhis Sınırı)

MAPK : Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz

MCF-7 : İnsan meme kanseri hücre hattı

MDA-MB-231 : Üçlü negatif meme kanseri hücre hattı

MeOH : Metanol

MMP-9 : Matriks Metalloproteinaz-9

MS : Kütle Spektrometrisi

Nc : Neokuproin

NF-κB : Nükleer Faktör Kappa-B

NLRP3 : Nod Like Receptor Protein 3

Nrf2 : Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2

PI3K : Fosfatidilinozitol-3-kinaz

PPS : Potasyum Persülfat

PSA : Prostat Spesifik Antijen

PPAR-γ : Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Gama

RNA : Ribonükleik Asit

RANKL/RAN: Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand /Receptor

ROT : Reaktif Oksijen Türevleri

SOD : Süperoksit Dismutaz

STAT3 : Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3

TEAC	**:**	Trolox Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi
TCF/LEF	**:**	T hücre faktörü / Lenfosit artırıcı faktör
Tfh	**:**	Folliküler Yardımcı T hücresi
TPTZ	**:**	2,4,6-Tris(2-piridil)-1,3,5-triazin
UV	**:**	Ultraviyole
UV-VIS	**:**	Ultraviyole-Görünür Spektroskopisi
VEGF	**:**	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VK	**:**	Varyasyon Katsayısı

ECZANELERDE SATILAN KUERSETİN İÇEREN TAKVİYELERİN ETKEN MADDE MİKTARI VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, eczanelerde satılan farklı ticari kuersetin takviyelerinin içerik analizlerini gerçekleştirmek ve etiket üzerinde belirtilen kuersetin miktarları ile laboratuvar analizleri sonucunda elde edilen gerçek miktarları karşılaştırmaktır. Ayrıca, analiz edilen ürünlerin antioksidan kapasitelerini 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil ($DPPH^{\bullet}$), 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) ($ABTS^{\bullet+}$), Demir (III) İyonu İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) ve Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC) yöntemleriyle değerlendirmek ve elde edilen sonuçları literatürdeki verilerle kıyaslayarak bilimsel olarak yorumlamaktır. Bu doğrultuda, kuersetin içeren takviyelerin kaliteleri, güvenilirlikleri ve etiket doğruluklarının halk sağlığı açısından önemine dikkat çekilmesi hedeflenmektedir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, İstanbul'da eczanelerden temin edilen 11 farklı kuersetin içerikli ticari ürün incelenmiştir. Ürünlerin kuersetin içerikleri yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Antioksidan kapasiteleri ise *in vitro* spektrofotometrik yöntemler ile değerlendirilmiştir. Numuneler, analiz öncesinde etiket bilgilerine uygun şekilde hazırlanmış; 200 mg'lık örnekler 4 mL çözücüde çözülerek analizlere tabi tutulmuştur. Antioksidan testlerinde her ürünün 0,1; 0,05; 0,025; 0,01 ve 0,005 mg/mL konsantrasyonları değerlendirilmiş, sonuçlar yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu (IC50) ve Trolox eşdeğeri (TE/g) cinsinden raporlanmıştır. Tüm analizler üç paralelde gerçekleştirilmiş ve sonuçlar raporlanmıştır.

Bulgular: Analiz sonuçlarına göre, incelenen 11 ticari kuersetin ürününün etiketlerinde belirtilen kuersetin miktarları ile HPLC sonuçları arasında bazı farklılıklar tespit edilmiştir. Özellikle lipozomal ve fitozomal formdaki ürünlerin kuersetin içeriklerinin daha yüksek olduğu ve bazı ürünlerde etiket üzerinde belirtilen miktardan daha fazla kuersetin bulunduğu belirlenmiştir. Antioksidan kapasite analizlerinde ise CUPRAC yönteminde en yüksek değerler gözlemlenirken, ABTS ve

DPPH yöntemleriyle elde edilen sonuçlar genel olarak daha düşük bulunmuştur. FRAP analizinde de benzer bir eğilim gözlenmiş ve ürünler arasında belirgin farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak, kuersetin içerik miktarı ile antioksidan kapasitenin ilişkili olmadığı belirlenmiştir.

Sonuç: Çalışma sonuçları, eczanelerde satılan kuersetin takviyelerinin içerik doğruluğu ve antioksidan kapasiteleri açısından önemli farklılıklar taşıdığını ortaya koymuştur. Bu durum, tüketicilerin doğru bilgiye ulaşma hakkını ve ürünlerin etkinlikleri açısından güvenilirliğini sorgulamayı gerektirmektedir. Elde edilen bulgular, kuersetin takviyesi kullanacak bireylerin bilinçli seçim yapmalarının ve sağlık profesyonellerinin de ürün seçiminde dikkatli olmalarının önemini vurgulamaktadır. Ayrıca, ürünlerin içeriklerinin bağımsız laboratuvarlarca düzenli olarak denetlenmesi ve etiket bilgilerinin bu analizlere dayandırılarak hazırlanması, halk sağlığı açısından önemli bir gereklilik olarak değerlendirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kuersetin, Antioksidan, Destekleyici Gıda, Oksidatif stres, Kantitatif Kromatografik Analiz

QUANTITATIVE ANALYSIS OF QUERCETIN AND EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES IN DIETARY SUPPLEMENTS AVAILABLE IN PHARMACIES

ABSTRACT

Aim: The aim of this study is to perform content analyses of various commercial quercetin supplements sold in pharmacies and to compare the quercetin amounts declared on the labels with the actual quantities determined through laboratory analyses. Additionally, the antioxidant capacities of the analyzed products were evaluated using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl ($DPPH^{\bullet}$), 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ($ABTS^{\bullet+}$), Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), and Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC) methods. The results were interpreted scientifically by comparing them with data from the literature. This study aims to highlight the importance of the quality, reliability, and label accuracy of quercetin-containing supplements in terms of public health.

Materials and Methods: In this study, 11 different commercial quercetin products obtained from pharmacies in Istanbul were analyzed. The quercetin contents of the products were determined using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). Their antioxidant capacities were evaluated using in vitro spectrophotometric methods. Prior to analysis, samples were prepared according to the label information; 200 mg of each product was dissolved in 4 mL of solvent and subjected to analysis. For antioxidant testing, each product was evaluated at concentrations of ürünün 0,1, 0,05, 0,025, 0,01 and 0,005 mg/mL, and the results were reported as IC 50 and Trolox equivalents (TE/g). All analyses were performed in triplicate, and the results were reported.

Results: According to the analysis results, discrepancies were identified between the quercetin amounts stated on the product labels and the HPLC results for the 11 commercial quercetin supplements examined. Products in liposomal and phytosomal forms were found to contain higher levels of quercetin, and in some cases, the actual content exceeded the labelled amount. Among the antioxidant capacity tests, the highest values were observed with the CUPRAC method, while lower values were

generally recorded with the ABTS and DPPH methods. A similar trend was observed in the FRAP analysis, where significant differences between products were also noted. In general, no correlation was found between quercetin content and antioxidant capacity.

Conclusion: The findings of this study reveal considerable differences in terms of content accuracy and antioxidant capacity among quercetin supplements sold in pharmacies. This raises concerns regarding the right of consumers to access accurate product information and the reliability of these products in terms of efficacy. The results emphasize the importance of informed decision-making by individuals using quercetin supplements and the need for healthcare professionals to be selective in product recommendations. Furthermore, regular inspection of product content by independent laboratories and the alignment of label information with analytical results are essential requirements for protecting public health.

Keywords: Quercetin, Antioxidant, Dietary Supplement, Oxidative Stress, Quantitative Chromatographic Analysis

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kuersetin, birçok bitkinin yapısında bulunan ve günlük diyetle alınan flavonoid grubu doğal bir bileşiktir. Çeşitli bitkilerde bol miktarda bulunur. Özellikle soğan, elma ve çay gibi yaygın gıda kaynaklarında kuersetin bulunması, bu maddenin beslenmedeki önemini artırmaktadır. Sağlık alanındaki önemi, antioksidan özellikleri ile anti-inflamatuar ve antikanser özellikleri ile de ilişkilendirilmiştir (1,2).

Kuersetin, insan sağlığı üzerinde bir dizi olumlu etkiye sahip olduğu bilinen bir maddedir. Özellikle antioksidan özellikleri ile dikkat çeken kuersetin, serbest radikallerin ve oksidatif stresin hücresel hasara yol açmasını engelleyerek, kronik hastalıkların önlenmesine katkıda bulunmaktadır (3). Araştırmalar, kuersetinin kalp sağlığını destekleyici etkilerini ortaya koymakta ve kan damarlarının sağlıklı işlevini teşvik ederek hipertansiyon riskini azaltabileceğini göstermektedir. Bunun yanı sıra kuersetin, çeşitli iltihabi hastalıklarda da önemli bir rol oynayabilir; anti-inflamatuar özellikleri ile vücuttaki iltihaplanma süreçlerine müdahale edebilir. Ayrıca, kuersetinin kanser hücreleri üzerindeki etkisi de merak konusudur; bazı çalışmalar, bu bileşiğin kanser hücrelerinin büyümesini inhibe etme ve apoptoz (kontrollü hücre ölümü) süreçlerini tetikleyici etkilerini göstermektedir. Kuersetinin bağışıklık sistemini güçlendirici etkileri de vardır; bu bağlamda, soğuk algınlığı ve grip gibi enfeksiyon hastalıklarının seyrini hafifletebilir. Ancak, kuersetinin sağlık üzerine olan bu etkilerinin kesin mekanizmaları ve klinik kullanımı üzerine daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (4). Genel olarak, kuersetin, sağlığı koruma ve hastalıkların önlenmesinde potansiyel bir adjuvan olarak değerlendirilmektedir ve bu bağlamda, beslenme rutinine dahil edilmesi önerilmektedir (5).

Birçok hastalığın önlenmesi ve tedavisinde kuersetinin antioksidan etkileri ön plana çıkmaktadır. Besin takviyesi olarak kullanımında karaciğer enzimlerini yükseltmediği ve iyi tolere edildiği görülmüştür. Yüksek biyoyararlanımı ve çözünürlüğü ile kuersetin, tek başına ya da farklı bileşenlerle kompleks olarak güçlü antioksidan etki gösterir, koruyucu ve tedavi edici olarak kullanılır. Bu bağlamda, kuersetin içeren doğal ilaçların ve takviyelerin analizi, özellikle son yıllarda artan bitkisel tedavi arayışları ve alternatif tıp uygulamalarına olan merak nedeniyle büyük bir ilgi odağı olmuştur. Kuersetinin biyolojik aktivitesi, insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri ile sıkça

vurgulanmakta ve bu durum, onun yaygın olarak kullanılmasına zemin hazırlamaktadır (6,7). Bu nedenle, gelecekteki araştırmalar kuersetinin potansiyel faydalarını daha iyi anlamak ve bu bileşiğin etkilerini artıracak yeni kullanım yolları geliştirmek için oldukça kritik bir öneme sahip olacaktır.

Eczanelerde bulunan kuersetin ürünleri, genellikle bitkisel takviye olarak sunulmakta ve sağlık yararları sayesinde tüketicilerin ilgisini çekmektedir. Bu ürünlerin en yaygın formları kapsüller, tabletler ve sıvı ekstrelerdir. Saf kuersetin olarak tercih edildiği gibi C vitamini, bromelain gibi farklı bileşenlerle de kombine olarak ürün çeşitliliği sunulmaktadır. Ayrıca fitozomal ve lipozomal formları da mevcuttur. Ürünlerin seçimi, tüketicilerin sağlık ihtiyaçlarına ve beklentilerine göre değişkenlik göstermektedir. Eczanelerdeki kuersetin ürünleri, yalnızca bireysel sağlık yararlarını değil, aynı zamanda daha geniş sağlık trendleri içinde doğal ve bitkisel çözümlerin tercih edilme eğilimini de yansıtmaktadır. Kuersetin, modern sağlık yaklaşımlarında giderek daha fazla yer bulmakta ve bu trendin sürdürülebilirliği, araştırmalarla desteklenen bilgilerle pekiştirilmektedir (8).

Son yıllarda oksidatif stresin kronik hastalıkların etiyopatogenezinde rol oynadığına dair kanıtların artmasıyla birlikte, doğal antioksidanlara olan ilgi de önemli ölçüde artmıştır. Bu bağlamda kuersetin; antioksidan, antienflamatuvar ve hücre koruyucu etkileriyle öne çıkan bitki bazlı bir flavonoid olup, eczanelerde satılan birçok gıda takviyesinde etkin madde olarak yer almaktadır (9).

Gıda takviyesi olarak satılan antioksidan içerikli ürünlerin çoğu, sağlık faydalarıyla ilgili iddialarla pazarlanmakta ancak bu ürünlerin içeriklerinin bilimsel yöntemlerle doğrulanması her zaman yapılmamaktadır. Özellikle kuersetin gibi biyoaktif moleküllerin ürün etiketlerinde belirtilen dozlarla gerçekte içerdiği miktarların tutarsız olması hem etkililik hem de tüketici güvenliği açısından önemli bir sorundur (8).

Bu tezin temel amacı; eczanelerde satılan kuersetin içerikli ticari gıda takviyelerinin; etiket üzerinde beyan edilen kuersetin miktarlarının doğruluğunu, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC) yöntemi kullanılarak ürünlerdeki gerçek kuersetin içeriğini (10), antioksidan kapasitelerini (DPPH, FRAP, ABTS, CUPRAC yöntemleriyle), etiket ile analiz sonuçları arasındaki uyumsuzlukları, analitik temelde ortaya koymaktır.

Bu analizlerle, ürünlerin güvenilirlik düzeylerinin belirlenmesi, halk sağlığı açısından önem arz eden kalite standartlarının değerlendirilmesi ve tüketiciye sunulan ürünlerin bilimsel doğruluğunun test edilmesi amaçlanmaktadır.

Bu çalışmada kullanılan HPLC yöntemi, kuersetin miktarını yüksek özgüllük ve doğrulukla tayin etme imkânı sunmakta, böylece ürünlerin etiket beyanlarıyla gerçek içeriklerinin karşılaştırılması mümkün olmaktadır (11). HPLC ile elde edilen veriler, özellikle kuersetin biyoyararlanımı, doz standardizasyonu ve halk sağlığı açısından anlamlı bir kalite değerlendirmesi sağlayacaktır.

Antioksidan kapasite analizleri ile desteklenen bu içerik doğrulama çalışması, tüketicinin yanıltılmasını engelleyerek ürün güvenliğini artırmaya ve sağlık açısından etkili dozun belirlenmesine katkı sağlar. Aynı zamanda eczacılar için bu tür ürünlerin değerlendirilmesinde kanıta dayalı bir yaklaşım geliştirilmesine de olanak tanır.

Sonuç olarak, bu çalışma hem tüketici sağlığının korunması hem de eczane raflarında yer alan ürünlerin bilimsel standartlara uygunluğunun değerlendirilmesi açısından halk sağlığına katkı sağlayacak niteliktedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KUERSETİN

Kuersetin, flavonoid bileşiklerinin altı alt sınıfından biri olan flavonol grubunda sınıflandırılmaktadır. Bu isim 1857 yılından beri kullanılmakta olup, *Quercus* (meşe) kelimesinden türetilen quercetum (meşe ormanı) ifadesinden gelmektedir. Daha sonra, 1899 yılında alkalin hidroliz yöntemi kullanılarak kimyasal yapısı belirlenmiştir. Bu keşif, yalnızca flavonoidlerin kimyasal yapısının incelenmesini teşvik etmekle kalmamış, aynı zamanda sentezlenmelerine de olanak sağlamıştır. Bu bileşiklere yönelik ilk araştırmalar oldukça pratik amaçlara hizmet etmiştir. Özellikle bitkilerin kabuğundan elde edilen fenolik bileşiklerin yün ve ipek kumaşların boyanmasında kullanılması dikkat çekmiştir. Ayrıca, Doğu'da geleneksel tıpta da yaygın bir şekilde değerlendirilmiştir (12).

Kuersetin, flavonoidler olarak bilinen bitki bazlı polifenol bileşiklerinin önemli bir üyesidir ve genellikle meyve, sebze, yaprak ve tohumlarda doğal olarak bulunur. Kimyasal adı 3,3′,4′,5,7-pentahidroksiflavanon olan ve kimyasal olarak $C_{15}H_{10}O_7$ formülü ile temsil edilen kuersetin, sarı pigment özelliğiyle bilinir ve birçok bitkiye karakteristik renklerini verir (13).

Bu bileşik, insan sağlığı açısından oldukça önemli farmakolojik özelliklere sahiptir. Özellikle antioksidan kapasitesi, serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi yoluyla oksidatif stresin neden olduğu hücresel hasarı önlemede rol oynar (9). Bunun yanı sıra kuersetin; antienflamatuvar, antihistaminik, antiviral ve potansiyel antikanser etkileriyle de dikkat çeker. Biyolojik etkileri arasında bağışıklık sisteminin düzenlenmesi, inflamatuar sitokinlerin baskılanması, lipid peroksidasyonunun önlenmesi ve damar endoteli fonksiyonlarının iyileştirilmesi yer alır (14). Ayrıca yapılan çalışmalar, kuersetin takviyesinin hipertansiyon, ateroskleroz, bazı alerjik hastalıklar ve hatta romatoid artrit gibi durumlarda semptomların hafifletilmesine katkı sağlayabileceğini göstermektedir (15).

Vücutta sentezlenemeyen kuersetin, yalnızca besinler ya da gıda takviyeleri aracılığıyla alınabilir. Ancak oral alımdan sonra biyoyararlanımı düşük olduğundan,

genellikle emilimi artırmak için bromelain gibi enzimlerle birlikte formüle edilen ürünler tercih edilir (16).

Kuersetin, güçlü antioksidan, anti-inflamatuar ve antikanserojen özellikleri nedeniyle son yıllarda bilimsel araştırmaların yoğun ilgi alanı hâline gelmiştir. Flavonoidler, insan vücudunda serbest radikallerle savaşarak hücresel hasarı azaltmada önemli bir rol oynar. Bu özellikleri sayesinde, kuersetin, kanser, kalp hastalıkları ve çeşitli enflamatuvar durumların önlenmesine yönelik potansiyel sağlık faydaları sunarken, genel yaşam kalitesini artırma potansiyeline sahip bir bileşik olarak öne çıkmaktadır.

2.1.1. Kuersetinin Kimyasal Yapısı

Nobel Ödüllü Albert Szent Gyorgyi 1930 yılında ilk olarak biyoflavonoidleri, 1936 yılında kuersetini keşfetti. Flavonoid terimi latince sarı anlamına gelen "flavus" dan türemiştir. Flavonoidler, değişken fenolik yapıya sahip bileşiklerdir ve meyvelerde, sebzelerde, tahıllarda, kabuk köklerinde, sapta, çiçeklerde, çayda, elma ve soğanda bulunur (3,17).

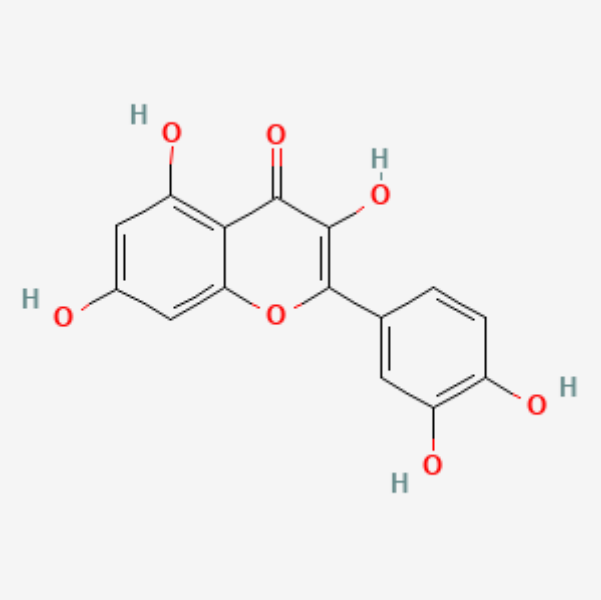
Flavanoidler; flavonol, flavon, flavanone, flavanol, kateşin, isoflavon ve antosiyanin olarak kimyasal gruplara ayrılır (18). Kuersetin flavonol grubuna ait bir flavonoiddir, fenolik yapısı nedeniyle antioksidan özelliklere sahiptir. Bitkisel kaynaklardaki antioksidan bileşiklerin çoğunu flavonoidler oluşturmakta olup, kuersetin bu grupta en yaygın ve etkin bileşiklerden biridir. 3 halka ve 5 hidroksilgrubundan oluşur (17,19).

Tablo 2.1: Flavonoidlerin sınıflandırılması

Flavonoid Grubu	Yapısal Özellik	Örnek Bileşikler
Flavonlar	2,3-doymamış flavonoid; 4-keton grubu	Apigenin, Luteolin
Flavonoller	2,3-doymamış; 4-keton ve 3-hidroksi grubu	**Kuersetin**, Kaempferol
Flavanonlar	2,3-doymuş; 4-keton grubu	Naringenin, Hesperetin
Flavanoller (Kateşinler)	2,3-doymuş; 3-hidroksi grubu	Kateşin, Epikateşin
İzoflavonlar	3-fenil kromanon yapısı	Genistein, Daidzein
Anthosiyanidinler	Pozitif yüklü oksonyum yapısı	Siyanidin, Delfinidin

Moleküler formülü $C_{15}H_{10}O_7$ olup, 3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon olarak da adlandırılır (IUPAC adı 2-(3,4-dihidroksifenil)-3,5,7-trihidroksi-4H-kromen-4-on). Molekül ağırlığı 302,24 g/mol dür. Temel iskeleti flavon yapısından oluşan kuersetin, hidroksil gruplarının yerleşimi nedeniyle önemli biyoaktif özellikler gösterir (4,13).

Kuersetin, sarı renkte kristalize bir katı olup, erime noktası 316–320°C arasında değişen termal stabiliteye sahiptir. Asidik ve bazik şartlara karşı duyarlıdır ve oksidasyona açıktır.



Şekil 2 1: Kuersetinin Kimyasal formülü

2.1.1.1. Çözünürlüğü: Kuersetin (3,3′,4′,5,7-pentahidroksiflavanon), düşük suda çözünürlüğe sahip bir bileşiktir. Kuersetinin çözünürlüğü, kimyasal yapısında yer alan hidroksil gruplarına ve konjugasyon sistemine rağmen, lipofilik özelliklerinin baskın olması nedeniyle sulu ortamlarda oldukça sınırlıdır. Bu durum, kuersetinin biyoyararlanımını olumsuz etkileyen en önemli faktörlerden biridir (4).

Saf kuersetinin suda çözünürlüğü yaklaşık 0.00215 mg/mL düzeyindedir ve bu değer, farmasötik formülasyonlarda çözünürlüğü artırıcı yaklaşımların geliştirilmesini gerektirir (20). Etanol, metanol ve dimetilsülfoksit (DMSO) gibi organik çözücülerde kuersetin çözünürlüğü önemli ölçüde artmaktadır. Örneğin, kuersetin etanolde yaklaşık 28 mg/mL, DMSO'da ise 60 mg/mL'ye kadar çözünürlük gösterebilir (21,22).

Çözünürlük problemi, kuersetinin lipofilik formülasyonları, lipozomal enkapsülasyon, nanopartikül sistemleri veya siklodekstrin kompleksleri gibi çeşitli teknolojilerle aşılmaya çalışılmıştır (13). Bu yöntemler, kuersetinin hem çözünürlüğünü hem de gastrointestinal absorbsiyonunu artırarak farmakolojik etkilerini optimize etmeyi amaçlamaktadır.

2.1.1.2. Farmakokinetiği ve Biyoyararlanımı: Oral yolla alındığında, kuersetinin biyoyararlanımı oldukça düşüktür. Bu durum, bileşiğin düşük suda çözünürlüğü, gastrointestinal sistemdeki sınırlı emilimi ve ilk geçiş metabolizması gibi faktörlerden kaynaklanır. Çalışmalar, kuersetinin oral biyoyararlanımının %1'in altında olduğunu göstermektedir. Bağırsaklarda glikozidaz enzimleri tarafından aglikon formuna dönüştürülerek emilir. Aglikon kuersetin, lipofilik özellikleri sayesinde pasif difüzyon yoluyla enterositlere geçebilir. Ancak, emilim sonrası kuersetin, faz II metabolizmasıyla hızla konjuge edilir ve bu da sistemik dolaşıma ulaşan serbest kuersetin miktarını azaltır (4). Emilen kuersetin, enterositlerde ve karaciğerde glukuronidasyon, sülfatasyon ve metilasyon gibi faz II metabolizma reaksiyonlarına uğrar. Bu süreçler sonucunda oluşan metabolitler, genellikle daha polar bileşiklerdir ve idrar veya safra yoluyla vücuttan atılır (23). Kuersetinin yarı ömrü, metabolitlerine bağlı olarak 11 ila 28 saat arasında değişebilir. Kuersetin ve metabolitleri, vücuttan başlıca idrar ve safra yoluyla atılır. İdrar yoluyla atılım, glukuronid ve sülfat konjugatları şeklinde gerçekleşir. Ayrıca, kuersetinin enterohepatik dolaşıma katıldığı ve bu sayede plazma düzeylerinin uzadığı bildirilmiştir (24).

Kuersetinin farmakokinetiği, düşük emilim oranı, hızlı metabolizma ve geniş dağılım hacmi gibi özelliklerle karakterizedir. Plazma konsantrasyonları genellikle nanomolar düzeydedir ve bu da terapötik etkinliğini sınırlayabilir. Bununla birlikte, kuersetin metabolitlerinin biyolojik aktiviteleri üzerine yapılan çalışmalar, bu bileşiklerin dağılma ve etki süreleri hakkında daha fazla bilgi sağlamaktadır (25).

Bu nedenlerle kuersetinin biyoyararlanımını artırmak için çeşitli formülasyon stratejileri geliştirilmiştir. Bunlar arasında nanoemülsiyonlar, lipozomlar, siklodekstrin kompleksleri ve kendiliğinden emülsifiye olan ilaç taşıyıcı sistemler bulunmaktadır. Bu teknolojiler, kuersetinin çözünürlüğünü ve emilimini artırarak sistemik biyoyararlanımını iyileştirmeyi amaçlamaktadır.

Son yıllarda fitozomal teknolojiler kullanılarak kuersetin–fosfolipid kompleksleri geliştirilmiş ve bu formülasyonların biyoyararlanımı geleneksel kuersetin formülasyonlarına kıyasla 20 kat daha yüksek bulunmuştur (26).

Kuersetinin lipofilik doğasını azaltmak ve çözünürlüğünü artırmak için nanoformülasyon, siklodekstrin kompleksleri, fosfolipid bazlı taşıyıcı sistemler ve polimerik nanopartikül yöntemleri kullanılmaktadır. Ayrıca, pH modifikasyonu ile çözünürlüğün artırılabileceği gösterilmiştir; örneğin, bazik ortamda (pH> 8) çözünürlüğü artış göstermektedir (27,28).

Kuersetinin çözünürlüğü hem farmakokinetik davranışını hem de biyolojik etkilerini doğrudan etkilediğinden, bu bileşiğin terapötik potansiyelinden tam anlamıyla yararlanılabilmesi için çözünürlüğünü artırmaya yönelik yenilikçi formülasyon çalışmalarının önemi büyüktür.

2.1.2. Farmakolojik Etkileri

Kuersetin güçlü bir antioksidandır. Antioksidan özellikleri bazı hastalıkların tedavi edilmesi ve önlenmesinde kullanılır. Alerji, astım, bakteriyel enfeksiyonlar, kanser, koroner kalp hastalığı, diyabetik komplikasyonlar, görme bozukluğu, osteoporoz, gut, nörodejeneratif hastalıklar, peptik ülser, prostat, viral enfeksiyonlar kuersetinin tedavi edici bir molekül olarak kullanıldığı hastalıklarıdır. Kuersetinin günlük diyette alımı 15-40 mg arasındadır. Terapötik etki için daha yüksek dozda kuersetin gereklidir. Piyasada 100, 125, 250 ve 500 mg'lık formları bulunmaktadır. Önerilen yetişkin dozları tedavi edilecek hastalığa göre değişmekle birlikte günde 2 ya da 3 tablet kullanımı uygundur (19).

2.1.2.1. Antitümör Aktivite: Güçlü antioksidan özellikleri sayesinde kuersetin, sağlığı tehdit eden oksidatif stres ve iltihaplanma gibi durumlarla savaşta önemli bir rol oynar. Son yıllarda, bu bileşiğin kanser tedavisinde potansiyel bir ajan olarak kullanılabileceği yönünde çok sayıda çalışma yapılmıştır (29).

Kuersetinin antikanserojen etkisini anlamak için öncelikle antioksidan özelliklerine değinmek gerekir. Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresi azaltarak hücre hasarını engeller. Serbest radikaller, Deoksiribonükleik asit (DNA) mutasyonları ve protein hasarı gibi sorunlara yol açarak kanser gelişimini

tetikleyebilir. Kuersetin hem serbest radikallerin etkilerini azaltır hem de antioksidan savunma mekanizmalarını destekler (30).

Kuersetin, polifenolik yapısı sayesinde birçok moleküler hedef üzerinde etkili olarak çeşitli kanser türlerinde antitümör aktivite göstermektedir. Bu flavonoidin hücre döngüsünü durdurucu, apoptotik süreçleri uyarıcı ve metastatik yayılımı baskılayıcı etkileri birçok in vitro ve in vivo çalışmada gösterilmiştir. Bu etkileri, mitokondriyal yolağı aktive ederek ve kaspaz enzimlerinin salınımını artırarak gerçekleştirir (31). Hücre proliferasyonunun baskılayarak kanserli hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalmasını önleyen mekanizmaları harekete geçirir. Bunu, özellikle Fosfatidilinozitol-3-kinaz (PI3K/Akt) ve Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz (MAPK) yolaklarını inhibe ederek başarır (32). Anjiyogenez inhibisyonu ile tümörün yeni kan damarları oluşturma kapasitesini sınırlayarak besin ve oksijen alımını azaltır. Bu mekanizma, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ekspresyonunu azaltmak suretiyle işler (33). Oksidatif stresin minimumda tutulması hem kanser gelişiminin önlenmesi hem de mevcut tümörlerin ilerlemesinin yavaşlatılması açısından önemlidir. Kuersetin, bu mekanizma ile DNA tamir sistemlerini destekler ve genetik stabiliteyi korur (29). T-hücrelerinin aktivasyonunu destekleyerek ve enflamatuar sitokinleri baskılayarak bağışıklık sistemini kanserle savaşta destekler (34,35)

Meme kanseri hücre hatlarında (örneğinİnsan meme kanseri hücre hattı (MCF-7) ve üçlü negatif meme kanseri hücre hattı (MDA-MB-231)) kuersetin'in kaspaz-3 ve kaspaz-9'u aktive ederek mitokondriyal yol üzerinden apoptozu indüklediği; aynı zamanda E-cadherin ekspresyonunu artırarak ve matrix metalloproteinaz-9 (MMP-9) aktivitesini inhibe ederek hücre invazyonunu ve metastaz potansiyelini azalttığı rapor edilmiştir (36).

Prostat kanserinde ise kuersetin, androjen reseptörü (AR) aracılı sinyal iletimini down-regüle ederek tümör hücre proliferasyonunu sınırlamaktadır. Bu etki, özellikle androjen duyarlı hücrelerde AR ekspresyonunun baskılanması ve prostat spesifik antijen (PSA) düzeylerinin azaltılması yoluyla kendini göstermektedir. Ayrıca PI3K/Akt ve MAPK yollarının inhibisyonu ile hücre döngüsünün G1 fazında durdurulması da bildirilen etkiler arasındadır (32,37).

Kolon kanserinde kuersetin, özellikle β-katenin'in sitoplazmadan nükleusa taşınmasını engelleyerek hücre çoğalmasını baskılamaktadır. Bu inhibisyon, T hücre

faktörü / Lenfosit artırıcı faktör (TCF/LEF) transkripsiyon faktörleri üzerinden proliferatif genlerin ekspresyonunu azaltmakta ve böylece tümöral ilerlemenin önüne geçmektedir (38,39).

Akciğer kanseri hücrelerinde ise kuersetinin sitotoksik etkisi, reaktif oksijen türleri (ROT) seviyelerinin yükseltilmesine bağlıdır. Artan oksidatif stres, mitokondriyal membran potansiyelinin bozulmasına, sitokrom c salınımına ve kaspaz aktivasyonuna yol açarak apoptozun başlamasına neden olur. Bu etki özellikle A549 hücre hattında detaylı olarak gözlemlenmiştir (40).

Lösemi hücrelerinde, kuersetinin DNA hasar yanıtı mekanizmalarını aktive ettiği ve p53 bağımlı yolları uyararak apoptotik sinyalleşmeyi artırdığı belirlenmiştir. Kuersetin aynı zamanda B hücre lenfoma 2 proteini (Bcl-2) ailesi proteinlerinin regülasyonunu değiştirerek intrinsik apoptotik yolu tetiklemekte; hücre ölüm reseptörü/Ligandı (Fas/FasL) gibi ekstrinsik yola ait faktörleri de artırarak çift yönlü bir apoptoz sinyali oluşturmaktadır (41).

Ayrıca sisplatin ile kombinasyon halinde kullanıldığında, kuersetinin insan büyük hücreli karsinomlarında antiproliferatif aktiviteyi artırdığı ancak sisplatin-DNA adduct oluşumuna müdahale etmediği gösterilmiştir. Sisplatin tedavisi sırasında kuersetin takviyesi, sisplatin kaynaklı nefrotoksisite riskini azaltabilir. Bu koruyucu etki, lipid peroksit oluşumunun azalmasına, glutatyon seviyelerinin yeniden dengelenmesine ve antioksidan enzim aktivitelerinin düzenlenmesine bağlanmaktadır (42).

2.1.2.3. Antienflamatuvar Etki: Antienflamatuvar tedaviler, vücudun bağışıklık sisteminin aşırı ve kontrolsüz reaksiyonlarını sınırlamak için kullanılmaktadır. Kuersetinin özellikle, inflamasyonun kontrol altına alınmasında etkin olduğu çeşitli klinik ve deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Kuersetin' in antienflamatuvar özellikleri, özellikle romatizmal hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, astım ve diyabet gibi inflamasyonla ilişkili hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek potansiyel bir tedavi alternatifi sunmaktadır (43). Kuersetinin inflamasyon üzerindeki etkisi, hücresel ve moleküler düzeyde bir dizi karmaşık mekanizma aracılığıyla gerçekleşir.

Kuersetinin antienflamatuvar etkisi, birden fazla moleküler yolakla etkileşerek inflamasyonun çeşitli aşamalarını düzenler. Nükleer Faktör Kappa-B (NF-κB), inflamasyonun ve bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde kritik rol oynayan bir

transkripsiyon faktörüdür. Kuersetin, NF-κB'nin aktivasyonunu engelleyerek inflamasyonu baskılar. NF-κB'nin aktivasyonu, proinflamatuar sitokinlerin ve kemokinlerin salınımını artırır. Kuersetin, NF-κB'nin DNA ile bağlanmasını engelleyerek bu süreçleri inhibe eder (34). Ayrıca, NF-κB'nin aktivasyonunun engellenmesi, serbest radikal üretiminin azalmasına ve inflamasyonun kontrol altına alınmasına katkı sağlar (44).

Siklooksijenaz-2 (COX-2), inflamasyon sırasında özellikle prostaglandinlerin sentezini arttıran bir enzimdir. Prostaglandinler, inflamasyon ve ağrı ile ilişkilidir. Kuersetin, COX-2 enzimini inhibe ederek, inflamasyonun şiddetini azaltır. Bu mekanizma, özellikle romatizmal hastalıklar gibi inflamasyonla ilgili hastalıkların tedavisinde önemlidir. Kuersetin'in COX-2 üzerindeki inhibe edici etkisi, bu enzim ile ilişkili iltihaplanma süreçlerinin azaltılmasını sağlar (13).

Mitojenle aktive edilen protein kinaz yolakları, hücrelerin çevresel uyarıcılara karşı nasıl yanıt verdiğini düzenleyen bir dizi protein kinazından oluşur. Bu yolaklar, inflamatuar sitokinlerin salınımı ve hücresel stres yanıtlarını kontrol eder. Kuersetin, özellikle p38, ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz (ERK) ve C-Jun N-terminal kinaz (JNK) gibi MAPK kinazlarının aktivitesini inhibe ederek inflamasyonu düzenler. Bu inhibisyon, inflamasyonun erken evrelerinde sitokin üretiminin kontrol edilmesine yardımcı olur (13).

Janus Kinaz/Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü (JAK/STAT) yolakları, hücre içindeki sinyal iletimi ve gen ekspresyonu üzerinde etkili olan önemli moleküllerdir. Kuersetin, JAK/STAT yolaklarını inhibe ederek, bu yolakların aktive ettiği inflamatuar genlerin ekspresyonunu azaltır. Bu mekanizma, iltihaplanmanın sürekliliğini engelleyerek inflamasyonun önlenmesinde rol oynar (45).

Kuersetin, serbest oksijen radikallerinin (ROT) üretimini inhibe ederek oksidatif stresin azaltılmasına yardımcı olur. Oksidatif stres, inflamasyonun tetikleyicilerinden biri olarak kabul edilir. Kuersetin' in bu etkisi, onun antioksidan özelliğiyle de ilişkilidir. Kuersetin, süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerini nötralize ederek, hücrelerdeki oksidatif hasarı azaltır ve inflamasyonu engeller (46).

Peroxisomeproliferator-activatedreceptor-gamma (PPAR-γ), inflamasyon ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde yer alan bir nükleer reseptördür. Kuersetin, PPAR-γ'nin aktivitesini kısmi olarak arttırarak, inflamatuar yanıtların baskılanmasına katkı

sağlar. Bu mekanizma, özellikle yağ dokusunda bulunan makrofajlar üzerindeki inflamatuar tepkileri düzenlemekte önemlidir (47).

Yapılan son araştırmalara göre kuersetin; romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklarda, Janus Kinaz 1 (JAK1), Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3 (STAT3) ve Hipoksiye Duyarlı Faktör 1-alfa (HIF-1α) sinyal yolaklarını (JAK1/STAT3/HIF-1α) inhibe ederek fibroblast benzeri sinovyositlerin (FLS) anormal proliferasyonunu ve proinflamatuar sitokinlerin üretimini azaltır. Bu etki, eklem iltihabının ve kıkırdak hasarının önlenmesine katkı sağlar (45). Ülseratif kolit gibi enflamatuvar bağırsak hastalıklarında, C-X-C motifli kemokin ligand 8 (eski adıyla IL-8) (CXCL8)-C-X-C motifli kemokin reseptörü 1 ve 2 (CXCR1/2) sinyal yolunu inhibe ederek nötrofil göçünü ve inflamasyonu azaltır. Bu mekanizma, bağırsak mukozasının bütünlüğünün korunmasına yardımcı olur (48). Nod Like Receptor Protein 3 (NLRP3) inflamasyonunun aktivasyonunu engelleyerek İnterlökin-1 beta (IL-1β) ve İnterlökin-18 (IL-18) gibi proinflamatuar sitokinlerin salınımını azaltır. Bu etki, özellikle akut inflamasyon durumlarında, inflamatuar yanıtın kontrol altına alınmasına katkı sağlar (5). Sistemik lupus eritematozus gibi otoimmün hastalıklarda, T yardımcı hücrelerinin (Tfh) gelişimini baskılayarak oto antikor üretimini azaltır ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesine yardımcı olur (49).

Kuersetin ’in antienflamatuvar özellikleri, özellikle romatizmal hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, astım ve diyabet gibi inflamasyonla ilişkili hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek potansiyel bir tedavi alternatifi sunmaktadır.

Kuersetin, çeşitli moleküler yolaklarla inflamasyonu düzenleyen güçlü bir antienflamatuvar bileşiktir. Özellikle NF-κB, COX-2, MAPK ve JAK/STAT gibi yolaklar üzerindeki etkisi ile inflamasyonu engeller. Ayrıca, oksidatif stresin azaltılması ve PPAR-γ aktivasyonu gibi mekanizmalarla da inflamasyonun kontrol altına alınmasına yardımcı olur (50,51).

2.1.2.4. Antibakteriyel Etki: Son yıllarda kuersetin; antioksidan, antienflamatuvar ve antimikrobiyal özellikleriyle dikkat çekmektedir (52). Yapılan araştırmalar, bu bileşiğin farklı alanlardaki potansiyel terapötik kullanımını desteklemektedir.

Kuersetinin antibakteriyel etkisi, çok yönlü mekanizmalarla açıklanmaktadır. Kuersetin, bakteri hücre zarının bütünlüğünü bozarak, zar geçirgenliğini artırmakta ve hücre içi materyallerin sızmasına neden olmaktadır (53). Ayrıca, DNA ve ribonükleik aist (RNA) sentezini inhibe ederek bakterilerin çoğalmasını engellemektedir. Bu etkiler, hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakteriler üzerinde gözlemlenmiştir (46).

Kuersetinin biyofilm oluşumunu inhibe etme yeteneği, özellikle antibiyotik direnci yüksek patojenlerde önemli bir avantaj sağlamaktadır. Yapılan bir çalışmada, kuersetinin *Serratiamarcescens* üzerinde biyofilm oluşumunu baskıladığı ve bakteriyel hareketliliği azalttığı rapor edilmiştir (53). Benzer şekilde, *Staphylococcusaureus* ve *Pseudomonasaeruginosa* gibi önemli klinik patojenlerde de biyofilm yapılarını bozduğu gözlemlenmiştir (48).

Kuersetin ayrıca bakteriyel virülans faktörlerinin baskılanmasına katkıda bulunarak, patojenik potansiyeli azaltmaktadır (52). Demir şelasyonu yoluyla, bakterilerin büyümesi için gerekli olan demirin kullanımını sınırlayarak bakteriyel çoğalmayı engellemektedir (54).

2.1.2.5. Osteoporoz: Osteoporoz, kemik mineral yoğunluğunun azalması ve kemik dokusunun zayıflaması ile karakterize edilen, yaygın bir metabolik kemik hastalığıdır. Özellikle yaşlı bireylerde ve menopoz sonrası kadınlarda sıkça görülür. Osteoporozun temel nedenlerinden biri, kemik yapım ve yıkım sürecindeki dengesizliktir. Kuersetin, antioksidan ve antienflamatuvar özellikleri sayesinde osteoporoz tedavisinde umut vaat eden bir bileşik olarak değerlendirilmektedir (55).

Kuersetin, kemik metabolizmasını çeşitli mekanizmalarla etkileyerek osteoporoz riskini azaltabilir. Kemik yıkımından sorumlu olan osteoklast hücrelerinin aşırı aktivasyonu, osteoporozun temel nedenlerinden biridir. Kuersetin, osteoklast oluşumunu baskılayarak kemik yıkımını azaltır. Bu etkinin, NF-κB ve nükleer faktör kappa-B ligand/ reseptör aktivatörü (RANKL/RANK) sinyal yolağını inhibe etmesiyle gerçekleştiği düşünülmektedir (56). Kemik yapımı ve yenilenmesinde önemli bir rol oynayan osteoblast hücrelerinin aktivitesini desteklemek, osteoporozun tedavisinde kritik öneme sahiptir. Kuersetin, osteoblast hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını artırarak kemik matriksinin güçlenmesine katkıda bulunur (56). Osteoporoz gelişiminde, özellikle yaşa bağlı olarak artan enflamasyonun önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Kuersetin, pro-enflamatuvar sitokinlerin (TNF-α, IL-1β ve IL-6) üretimini baskılayarak kemik sağlığını

korur (57). Kemik dokusunda oksidatif stres, osteoporoz gelişimine katkıda bulunur. Kuersetin, güçlü bir antioksidan olarak serbest radikalleri nötralize eder ve kemik hücrelerini oksidatif hasardan korur. Bu, kemik mineral yoğunluğunun korunmasına önemli ölçüde yardımcı olur (50).

Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, kuersetinin osteoporozun önlenmesi ve tedavisinde etkili olduğunu göstermiştir. Örneğin, fareler üzerinde yapılan deneylerde kuersetin takviyesinin kemik yoğunluğunu artırdığı ve kemik kırılganlığını azalttığı gözlenmiştir. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar sınırlı olmakla birlikte, kuersetin açısından zengin bir diyetin kemik sağlığı üzerinde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir. Kuersetin, doğal gıda takviyesi olarak veya farmasötik preparatlarda kullanılabilir. Menopoz sonrası kadınlarda, yaşlı bireylerde veya osteoporoz riski yüksek bireylerde kuersetin bazlı tedavilerin faydalı olabileceği düşünülmektedir (52).

2.1.2.6. Nörodejeneratif Hastalıklara Karşı Etkiler: Kuersetin, oksidatif stres ve inflamasyonun nörodejeneratif hastalıkların gelişimindeki merkezi rolüne müdahale ederek nöroprotektif bir etki göstermektedir (59). Yapılan çalışmalarda, kuersetinin serbest radikalleri nötralize ederek hücre düzeyindeki oksidatif hasarı azalttığı ve nöronları koruduğu bildirilmiştir (46).

Kuersetinin antienflamatuvar etkileri, mikroglia aktivitesini baskılaması ve proinflamatuar sitokinlerin üretimini azaltması yoluyla gerçekleşmektedir (60). Ayrıca, SIRT1 enzim aktivasyonunu uyararak yaşlanmaya bağlı hücresel bozulmayı yavaşlattığı ve nöronların hayatta kalmasını desteklediği rapor edilmiştir (60,61).

Kuersetinin Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2) /Heme oksijenaz-1(HO-1) yolunu aktive ederek endojen antioksidan savunma sistemlerini güçlendirdiği ve bu sayede Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklara karşı potansiyel bir koruyucu ajan olabileceği öne sürülmüştür (59).

2.2. OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Canlı organizmalarda enerji üretimi, bağışıklık yanıtı ve metabolik faaliyetler sırasında serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri (ROT) doğal olarak oluşur. Serbest radikaller, atomik ya da moleküler yapılarında bir veya birden fazla tek elektron taşıyan, kararsız moleküllerdir. Bu tür moleküller, elektron alışverişi yapabilme yeteneği nedeniyle diğer moleküllerle kolayca reaksiyona girer (46). Bu moleküller oldukça reaktif

olup, hücrelerde oksidasyon reaksiyonlarına yol açarak biyolojik moleküllere zarar verebilir. Bu reaksiyonlar, hücrelerin yapı taşları olan proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve DNA'nın oksidasyonuna yol açabilir. Bu oksidasyon süreçleri, hücresel işlevlerde bozulmalara, hatta genetik mutasyonlara neden olarak çeşitli hastalıkların gelişmesine zemin hazırlayabilir (62,63). ROT üretimi ile antioksidan savunma kapasitesi arasındaki dengenin bozulması sonucu "oksidatif stres" gelişir (64).

Oksidatif stres sadece endojen kaynaklardan değil; ultraviyole (UV) ışınları, sigara dumanı, radyasyon, ağır metaller ve bazı toksik ajanlar gibi çevresel faktörlerden de etkilenir (65). Bu stres durumu; ateroskleroz, diyabet, kanser, Alzheimer hastalığı gibi çok sayıda kronik hastalıkla ilişkilidir (66).

Bu zararlı etkileri engellemek amacıyla organizmalar, antioksidan savunma sistemleri geliştirmiştir. Vücudumuzda da serbest radikal hasarına karşı koruyucu bir savunma mekanizması bulunur. Bu savunma mekanizması, oksidasyonun etkilerini önleyen veya geciktiren maddeler olan antioksidanlar aracılığıyla sağlanır. Doğal antioksidanlar, belirli bir seviyeye kadar artan oksidan molekül miktarını etkisiz hale getirerek hücresel dengeyi korur, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücresel yapıların korunmasını sağlarlar. Bu savunma sistemi enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenlerden oluşur (67). Bununla birlikte, dışarıdan alınan antioksidanlar da vücutta serbest radikal hasarını engellemeye yardımcı olabilir. Örneğin, kuersetin gibi bileşiklerin antioksidan özellikleri, serbest radikallerle etkileşime girerek hücrelerin oksidatif hasara karşı korunmasına yardımcı olur (68).

Enzimatik antioksidanlara; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) örnek verilebilir. Bu enzimler ROT'ları nötralize ederek hücresel redoks dengesini sağlarlar (69). Örneğin, SOD süperoksit anyonlarını hidrojen peroksite dönüştürürken, CAT ve GPx bu peroksidi su ve oksijene çevirerek hücre hasarını azaltır (70).

Enzimatik olmayan antioksidanlar, genellikle dışarıdan alınan ve serbest radikalleri doğrudan etkisizleştiren küçük moleküllerdir. Bunlar arasında askorbik asit (C vitamini), tokoferol (E vitamini), beta-karoten, glutatyon ve flavonoidler yer alır (71). Flavonoidler bitki kaynaklı polifenolik bileşikler olup, güçlü antioksidan özellikleri ile dikkat çekerler.

Bu bağlamda kuersetin, en yaygın flavonoidlerden biri olarak oksidatif stresle mücadelede özel bir yere sahiptir. Soğan, elma, üzüm, çay ve bazı turunçgillerde doğal olarak bulunan kuersetin hem serbest radikalleri doğrudan temizleyerek hem de metal iyonlarını şelatlayarak oksidatif zincir reaksiyonlarını durdurur (9). Ayrıca kuersetin, hücre içinde antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırarak dolaylı antioksidan etki de gösterir (13).

Yapısında bulunan çok sayıda hidroksil grubu, kuersetinin serbest radikal süpürücü özelliğini güçlendirir. Bu özellikleri sayesinde lipid peroksidasyonunu önler, mitokondriyi korur ve hücre hasarını azaltır. Kuersetin 'in oksidatif stres üzerindeki bu etkileri, onun yalnızca antioksidan değil aynı zamanda anti-inflamatuar ve antikanser ajan olarak da değerlendirilmesini sağlamaktadır (72).

Sonuç olarak, serbest radikallerin hücrelerde yol açabileceği oksidatif stres, kanser gibi kronik hastalıkların gelişiminde önemli bir rol oynar. Bu nedenle, oksidasyonun engellenmesi veya geciktirilmesi, sağlıklı hücre fonksiyonlarını sürdürebilmek için kritik bir öneme sahiptir (73).

Antioksidan savunmanın etkinliğini artırmak, özellikle kuersetin gibi doğal flavonoidlerin diyetle alınması yoluyla desteklenebilir. Bu tür bileşiklerin düzenli alımı, oksidatif stresin zararlı etkilerini azaltarak kronik hastalıkların önlenmesine katkı sağlayabilir (17).

Bu bağlamda, vücutta doğal antioksidan sistemlerin etkinliği, metabolik faaliyetlerden kaynaklanan serbest radikal hasarını dengeleyebilmek için büyük önem taşır. Ancak dışarıdan alınan antioksidanlar da bu savunma mekanizmasını destekleyebilir. Böylece, oksidatif stresin vücutta yaratabileceği olumsuz etkiler sınırlanmış olur (74).

2.2.1. Kuersetinin Antioksidan Etkisinin Kimyasal Yapı ile İlişkisi

Kuersetin'in antioksidan aktivitesi, yapısındaki hidroksil gruplarının varlığı ve düzeniyle doğrudan ilişkilidir. Şu mekanizmalarla serbest radikallere karşı koruma sağlar:

2.2.1.1. Serbest Radikal Süpürme Etkisi: Kuersetin, yapısındaki çok sayıda hidroksil grubu sayesinde hidroksil radikali ($^{\bullet}OH$), süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$), peroksil ($ROO^{\bullet}$) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) gibi reaktif oksijen türlerini doğrudan nötralize

edebilir. 3, 3', 4', 5 ve 7. pozisyondaki hidroksil grupları elektron donörü olarak radikalleri nötralize eder. Özellikle 3' ve 4' pozisyonlarındaki hidroksil grupları, süperoksit ve hidroksil radikallerini etkili bir şekilde yok eder. Bu etki, kuersetinin fenolik yapısından ve elektron verme kapasitesinden kaynaklanır (9).

2.2.1.2. Metal Şelasyonu: Kuersetin, demir (Fe^{2+}/Fe^{3+}) ve bakır (Cu^{2+}) gibi geçiş metalleri ile kompleks oluşturarak, Fenton tipi reaksiyonlar sonucu serbest radikal oluşumunu engeller. Bu sayede oksidatif stresin tetiklenmesi önlenmiş olur (27).

2.2.1.3. Endojen Antioksidan Sistem Üzerindeki Düzenleyici Etki: Kuersetin, nükleer faktör eritroid 2 (NRF2) yolunu aktive ederek, glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi endojen antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırabilir (13). Bu mekanizma sayesinde kuersetin, hücre içi redoks dengesini korumaya yardımcı olur.

2.2.1.4. Lipid Peroksidasyonunun Önlenmesi: Hücre zarlarındaki çoklu doymamış yağ asitleri oksidasyona uğradığında hücre bütünlüğü bozulur. Hidrojen atomu transferi ve elektron bağışlama mekanizmaları yoluyla lipid peroksidasyonunu engeller. Bu sayede hücre zarındaki doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımını önleyerek membran stabilitesini artırır. Kuersetin bu lipid peroksidasyon sürecini yavaşlatarak zar yapısını korur ve hücre hasarını önler (72).

2.2.1.5. Fenolik Radikallerin Kararlılığı: Kuersetin ’in fenolik yapısı, radikal formdayken rezonans stabilizasyonuna sahiptir. Bu, onun diğer antioksidan bileşiklere kıyasla daha uzun süre aktif kalmasını ve oksidatif stresi baskılamasını sağlar (72,75).

2.3. YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOGRAFİSİ (HPLC)

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi, günümüzde özellikle farmasötik analizler, biyokimya, toksikoloji, gıda ve çevre analizleri gibi birçok bilimsel alanda yaygın olarak kullanılan gelişmiş bir ayırma ve analiz tekniğidir. Bu yöntemde temel amaç, bir karışımdaki bileşenleri kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre ayırmak, tanımlamak ve miktarlarını belirlemektir. HPLC sistemleri, mobil faz adı verilen bir çözücü karışımının yüksek basınç altında sabit faz olarak adlandırılan kolon materyali içinden geçirilmesine dayanır. Kolon içerisinde sabit faz ile bileşiklerin farklı etkileşim süreleri sayesinde ayrılma gerçekleşir. Bu süreç sırasında analiz edilen her madde,

kolondan farklı sürelerde geçerek detektöre ulaşır ve burada oluşturulan sinyaller kromatogram olarak kaydedilir (76).

Kullanılan dedektörler genellikle Ultraviyole-Görünür Spektroskopisi (UV-VIS) absorbans dedektörleri olmakla birlikte floresans, kütle spektrometrisi (MS) gibi dedektörlerle de sistem entegre edilebilir. HPLC'nin çalışma prensibi; analitin polarite, molekül büyüklüğü, iyonlaşma durumu ve sabit fazla olan afinite gibi özelliklerine dayalıdır. En sık kullanılan HPLC türü ters faz HPLC (RP-HPLC) olup, bu yöntemde sabit faz apolar, mobil faz ise göreceli olarak polardır. Bu sayede apolar bileşikler sabit fazla daha güçlü etkileşime girerek daha geç elüe olurken, polar bileşikler daha hızlı kolondan çıkar (77).

HPLC tekniğinin gelişimi, kromatografi tarihinde önemli bir dönüm noktası olmuştur. Klasik sıvı kromatografisinin zaman alıcı ve düşük çözünürlüklü doğası, araştırmacıları bu yöntemin daha verimli hale getirilmesine yönlendirmiştir. Modern anlamda HPLC sistemini ilk tanımlayan ve uygulayan kişi, 1967 yılında Yale Üniversitesi'nde çalışan Macar kökenli bilim insanı Csaba Horváth olmuştur. Horváth ve arkadaşları, yüksek basınç altında küçük partikül boyutuna sahip sabit fazların kullanımıyla çok daha kısa sürede ve yüksek doğrulukta analizlerin yapılabileceğini göstermiştir (78). Bu yaklaşım, özellikle biyolojik örneklerdeki kompleks moleküllerin ayrımında çığır açmıştır.

HPLC'nin günümüzdeki önemini artıran faktörlerden biri de analitlerin düşük konsantrasyonlarda dahi yüksek hassasiyetle tespit edilebilmesidir. Ayrıca bu yöntem, kantitatif analizlerde tekrarlanabilirlik ve doğruluk açısından da oldukça güvenilir sonuçlar sunar (79). Günümüzde kuersetin gibi bitkisel kökenli fenolik bileşiklerin miktar tayininde HPLC sıklıkla tercih edilmekte, bu bileşiklerin farmasötik ürünlerdeki varlığı ve stabilitesi bu yöntemle güvenle izlenebilmektedir. Doğru mobil faz seçimi, kolon tipi, akış hızı ve sıcaklık gibi parametrelerin optimize edilmesiyle HPLC, oldukça geniş bir analit yelpazesi için uygulanabilir hale gelmiştir. Kromatografik sistemlerin otomasyonu, yazılım entegrasyonu ve çoklu dedektör sistemleri ile desteklenmesi sayesinde HPLC, araştırma ve kalite kontrol laboratuvarlarında vazgeçilmez bir analiz aracıdır (76,77).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ARAŞTIRMADA KULLANILAN TİCARİ ÜRÜNLER

Bu çalışmada; İstanbul'daki eczanelerden temin edilen, etiketinde kuersetin içerdiği beyan edilen toplam 11 adet ticari gıda takviyesi değerlendirilmiştir. Ürünler kapsül ve tablet formda olup, her bir ürün ambalajı üzerinde beyan edilen kuersetin miktarları ve içerik bilgileri kayıt altına alınmıştır.

Tablo 3.1: Araştırmada kullanılan ticari ürünlerin etiket bilgileri

Ürün	Kuersetin Miktarı (mg/kapsül veya tablet)	Diğer İçerikler	Form / Adet	Günlük Doz ve Kullanım Zamanı
1	100	**Fitozomal Kuersetin (Quercefit®)**	Kapsül / 60	1–2 kapsül, tok karnına
2	100	**Lipozomal kuersetin**	Kapsül / 30	1 kapsül, tercihen yemek sonrası
3	500	**Kuersetin**	Kapsül / 60	1 kapsül, aç veya tok karnına
4	100	**Fitozomal Kuersetin (Quercefit®)**	Kapsül / 60	1 kapsül, yemekle birlikte
5	250	**Kuersetin**	Kapsül / 30	Belirtilmemiş
6	250	**Kuersetin**	Kapsül / 60	2 kapsül, günde 1–2 kez, aç veya tok karnına
7	125	**Lipozomal kuersetin**	Kapsül / 30	1 kapsül, tercihen tok karnına
8	250	**Kuersetin** Vitamin C (250 mg), Digezyme Enzim Kompleksi (50mg) Bromelain (25 mg), Vitamin B6 (5 mg)	Kapsül / 30	2 kapsül, yemeklerle birlikte
9	250	**Kuersetin** Bromelain (300 mg), Vitamin C (200 mg), Çörek Otu (50 mg), Isırgan Otu (50 mg)	Tablet / 30	1–2 tablet, tercihen yemeklerle

Tablo 3.1 (devam)

10	250	Lipozomal Kuersetin	Kapsül / 30	1 kapsül aç veya tok karnına
11	250	**Kuersetin** Ester-C (250 mg) Acerola Ekstresi, Kuşburnu Ekstresi, Turunçgil Bioflavonoidleri, Rutin, Bromelain	Kapsül / 50	2 kapsül, günde 2 kez, tercihen yemekle birlikte

3.2. KULLANILAN KİMYASALLAR VE REAKTİFLER

Kullanılan kimyasallar; metanol, etanol, asetonitril, saf su ve, HCl (Sigma-Aldrich, Almanya), Trolox (Sigma-Aldrich, Almanya), Bakır (II) klorür (Sigma-Aldrich, Almanya), Neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) (Sigma-Aldrich, Almanya), Amonyum asetat (ISOLAB, Almanya), DPPH• (Sigma- Aldrich, Almanya), 2,4,6-Tripyridyl-S-triazine (Sigma-Aldrich, Almanya), $FeSO_4$ (Sigma-Aldrich, Almanya), $FeCl_3$ (Sigma-Aldrich, Almanya), Sodyum asetat (ISOLAB, Almanya), $ABTS^{\bullet+}$ (Sigma-Aldrich, Almanya), Potasyum persülfat (ISOLAB, Almanya).

3.3. KULLANILAN CİHAZLAR

Tablo 3.2: Araştırmada kullanılan cihazlar

Sıra No	**Kullanılan Ciahazlar**	**Bulunduğu Laboratuvar**	**Kullanım Amacı**
1.	HPLC (ShimadzuNexera-i LC-2040C 3D Plus)	Hamidiye Eczacılık Fakültesi Fitoterapi Araştırma Laboratuvarı	Kuersetin kantitatif analizi
2.	Orbital Çalkalayıcı (OniLab)	Hamidiye Eczacılık Fakültesi Fitoterapi Araştırma Laboratuvarı	Ekstraksiyon
3.	UV-VIS Spektrofotometresi (Shimadzu)	Hamidiye Eczacılık Fakültesi Fitoterapi Araştırma Laboratuvarı	Antioksidan aktivite analizleri
4.	Hassas Terzi (Shimadzu)	Hamidiye Eczacılık Fakültesi Fitoterapi Araştırma Laboratuvarı	Tartım işlemleri
5.	pH metre (Hanna)	Hamidiye Eczacılık Fakültesi Fitoterapi Araştırma Laboratuvarı	pH değerlerinin ayarlanması

3.4. KUERSETİN MİKTAR TAYİNİ

3.4.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Miktar Tayini

Kuersetin miktar tayini çalışmalarının tümünde HPLC yöntemi kullanılmıştır.

Kullanılan mobil faz, kolon, akış hızı, enjekte edilen miktar, dalga boyu ve kolon sıcaklığı değiştirilerek uygun metot belirlendikten sonra kantitatif analiz ve metot validasyon çalışmaları yapılmıştır.

Kantitatif analiz için Shimadzu Nexera-i LC-2040C 3D Plus marka HPLC cihazı kullanıldı. Dedektör olarak DAD detektör (254 nm'de tarama yapıldı), ayrım için LC Column 4 C18 5 µm, 4,6 x 250 mm, 100 Å (Phenomenex) ters faz dolgu maddeli kolon kullanıldı. Hareketli faz olarak %0,1 formik asit/deiyonize su (Çözücü A) ve asetonitril (Çözücü B) ile Tablo 1' deki gradiyent pompa programı kullanıldı. Analiz boyunca mobil faz akış hızı 1 mL/dakika olarak ayarlandı. Numune ve standartlar cihaza 10 µL olarak enjekte edildi. Kolon sıcaklığı ise 30 °C'ye ayarlandı.

Tablo 3 3: Kantitatif analiz için kullanılan gradiyent pompa program

Adımlar	Akış hızı (mL/dk)	Zaman (dakika)	% Çözücü B	% Çözücü A
Adım 1	1,00	0,01	50	50
Adım 2	1,00	5	55	45
Adım 3	1,00	7	50	50
Adım 4	1,00	7,01	Stop	

3.4.2 HPLC Yöntem Validasyonu

Analitik yöntemin validasyonun kabul edilebilirliği için doğrusallık (Linearity), doğruluk ve geri elde edilebilirlik (AccuracyandRecovery), kesinlik (Precision), tekrar edilebilirlik (Repeatability), tekrar elde edilebilirlik (Reproducibility), özgünlük, seçicilik

(Specificity), teşhis ve tayin Sınırları (LOD ve LOQ), stabilite (Stability) çalışmaları gerçekleştirilmiştir (77).

3.4.2.1. Doğrusallık: Kalibrasyon eğrisinin oluşturulması amacıyla, 10 mg kuersetin, 500 µg/mL derişimde olacak şekilde 20 mL metanol içerisinde çözündürülerek stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden, mobil faz kullanılarak sırasıyla 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 25, 50 ve 500 µg/mL konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmıştır. Her bir konsantrasyon düzeyi üç paralel ölçüm ile analiz edilmiştir. Hazırlanan standart çözeltiler HPLC cihazına enjekte edilmiş; her enjeksiyon sonrası elde edilen pik alanları, kuersetinin alıkonma zamanı ve maksimum absorpsiyon dalga boyunda kaydedilmiştir. Elde edilen pik alanı değerleri, derişimlere karşı grafik üzerinde değerlendirilerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve bu eğriden doğrusal denklem ile korelasyon katsayısı (R^2) hesaplanmıştır. Tüm ölçümler üçer tekrar ile gerçekleştirilmiş ve yöntemin doğruluğu bu veriler üzerinden değerlendirilmiştir (80)

3.4.2.2. Kesinlik: Kesinlik, analitik yöntemin aynı koşullar altında tekrarlanan ölçümler sonucunda ne derece tutarlı ve birbirine yakın sonuçlar verdiğini gösteren temel bir yöntem performans parametresidir. Kesinlik değerlendirmesi; tekrar edilebilirlik (repeatability) ve tekrar elde edilebilirlik (reproducibility) alt başlıkları altında gerçekleştirilmiştir. Aynı konsantrasyondaki (10 µg/mL) kuersetin çözeltisi, HPLC cihazında art arda 15 kez analiz edilmiştir. Elde edilen alan değerleri üzerinden aritmetik ortalama, standart sapma (SS) ve varyasyon katsayısı (VK) hesaplanmıştır. Yöntemin kesinlik sağladığı, varyasyon katsayısının %2'nin altında olması ile kabul edilmiştir.

Uluslararası Harmonizasyon Konferans (ICH) kılavuzları doğrultusunda analitik yöntem validasyonu için çalışma aralığında iki farklı konsantrasyonda (1 µg/mL ve 10 µg/mL) doğruluk ve kesinlik değerleri hesaplanmıştır (80).

3.4.2.3. Tekrar Edilebilirlik: Yöntemin kısa süreli tekrarlanabilirliğini değerlendirmek amacıyla, stok çözeltiden hazırlanan 10 µg/mL konsantrasyondaki çözelti iki farklı günde yeniden hazırlanmış ve her biri HPLC sistemine 15 kez art arda enjekte edilmiştir. Enjeksiyonlardan elde edilen alan değerleri kullanılarak ortalama, SS ve VK hesaplanmış ve %2'nin altında bulunan VK değeri yöntemin tekrar edilebilir olduğunu göstermiştir (81).

3.4.2.4. Tekrar Elde Edilebilirlik: Yöntemin farklı operatör ve zaman koşulları altında da güvenilir sonuçlar verip vermediğini test etmek amacıyla, aynı stok çözeltiden hareketle iki farklı analist tarafından 50 µg/mL konsantrasyonunda on adet örnek hazırlanmıştır. Elde edilen alan değerleri ile ortalama, SS ve VK hesaplanmıştır. VK'nın %2'nin altında olması yöntemin farklı kullanıcılar arasında da güvenilirliğini desteklemektedir.

3.4.2.5. Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik: Analitik yöntemin doğruluğu, bilinen konsantrasyonlardaki örneklerden analit miktarının ne kadarının doğru şekilde ölçülebildiğini gösterir. Bu kapsamda 0,1, 25 ve 50 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan on paralel örnek analiz edilmiştir. Elde edilen alan değerlerine karşılık gelen konsantrasyonlar, daha önce oluşturulan kalibrasyon eğrisine göre hesaplanmış ve geri elde edilme yüzdesi belirlenmiştir. Geri kazanım oranlarının %95–105 aralığında olması yöntemin doğruluğunu desteklemektedir (82).

3.4.2.6. Özgünlük, Seçicilik: Yöntemin özgünlüğü, yalnızca hedef bileşiği (kuersetin) ölçtüğünü; seçiciliği ise formülasyonda bulunan diğer bileşenlerden etkilenmediğini gösterir. Bu değerlendirme için, kuersetin içeren örnekler ve yalnızca mobil faz içeren kör örnekler HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Kuersetinin alıkonma zamanı ve alan değeri, mobil fazdan elde edilen kromatografik yanıtla karşılaştırılmıştır.

3.4.2.7. Teşhis (LOD) ve Tayin Sınırlarının (LOQ) Belirlenmesi: Analitik bir yöntemin güvenilirliğini ortaya koyan önemli parametrelerden biri, düşük konsantrasyonlardaki analitlerin tespiti ve kantitatif analizine olan uygunluğudur. Kuersetinin miktar tayinine yönelik geliştirilen yöntemin, beklenen düşük derişimleri doğruluk ve tekrarlanabilirlik esaslarına uygun şekilde belirleyebilmesi gerekmektedir. Teşhis sınırı (LOD) analizi yapılan maddenin kabul edilebilir doğruluk ve tekrarlanabilirlikle tayin edilebileceği en düşük konsantrasyondur. Tayin sınırı (LOQ) analizi yapılan maddenin saptanabileceği en düşük konsantrasyondur. Bu sınırlar düşük konsantrasyona sahip bir seri örneğin analiz edilmesiyle belirlenmiştir. Her iki parametre, düşük konsantrasyon aralığına sahip standart çözelti serisi üzerinden yapılan ölçümlerle belirlenmiştir. Kalibrasyon eşitliğinde en düşük değere karşılık gelen alanların SS değerleri hesaplanmış ve bu değerlerin ortalaması, seçilen kalibrasyon eğrisinin eğimine

bölünüp ve çıkan değer 3,3 ile çarpılarak saptama sınırı (Eşitlik 1), 10 ile çarpılarak tayin sınırı (Eşitlik 2) belirlenmiştir. LOD ve LOQ çalışmalarında 3 örnek ile çalışılmıştır.

Eşitlik 1. LOD değeri

$$LOD = \left(\frac{3{,}3\ X\ \sigma}{S}\right)$$

Eşitlik 2. LOQ Değeri

$$LOQ = \left(\frac{10\ X\ \sigma}{S}\right)$$

σ, verilen örneğin standart sapmasını; S, kalibrasyon eğrisinin eğimini ifade eder (82).

Analiz edilecek her bir örnekten 200 mg hassas terazi ile tartılmış ve üzerine 2 mL asetonitril (ACN) eklenerek örnekler 24 saat orbital çalkalayıcıda (200 rpm, 24°C) bekletilmiştir. Ardından, ekstraksiyon verimini artırmak amacıyla örneklere 2 mL metanol (MeOH) ilave edilerek ek 2 saat orbital çalkalayıcıda karıştırma işlemine devam edilmiştir. Homojen hale gelen çözeltiler, 0,45 µm por çapına sahip membran filtreden süzülerek partiküllerden arındırılmıştır. Elde edilen çözeltiler, 1:100 oranında asetonitril ile seyreltilmiş ve nihayetinde her biri 0,5 mg/mL konsantrasyonunda olacak şekilde toplam 11 adet numune hazırlanmıştır. Bu çözeltiler, enjeksiyon öncesi bekletilmeden kullanılmıştır.

3.5. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİNİ

Antioksidan aktivitenin belirlenmesi, bir bileşiğin serbest radikalleri etkisiz hale getirme yeteneğini veya oksidatif hasarı azaltma kapasitesini değerlendirmek için kullanılır. Bu analizler, genellikle kimyasal ve biyokimyasal yaklaşımlarla gerçekleştirilir. Yöntemler, antioksidanın etki mekanizmasına ve özelliklerine göre farklı şekillerde sınıflandırılabilir.

Antioksidan kapasite tayininde yaygın olarak kullanılan dört temel spektrofotometrik yöntem $DPPH^{\bullet}$, $ABTS^{\bullet+}$, FRAP ve CUPRAC analizleridir. Bu yöntemler serbest radikal süpürme veya redüksiyon temelli olup, her biri farklı

mekanizmalarla antioksidan bileşiklerin etkisini ölçer. CUPRAC'ta Trolox, FRAP'ta Fe^{2+} standart olarak kullanılmış, sonuçlar mM Trolox eşdeğeri/gram (mM TE/g) ve mM $FeSO_4$ eşdeğeri (mmol Fe^{2+} /g) şeklinde ifade edilmiştir. $DPPH^{\bullet}$ ve $ABTS^{\bullet+}$ yöntemlerinde % inhibisyon ve IC_{50} değerleri hesaplanarak değerlendirme yapılmıştır (83).

3.5.1. 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil Radikali Giderme Aktivitesi

2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi, serbest radikal giderme kapasitesinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan spektrofotometrik bir analiz yöntemidir (74). $DPPH^{\bullet}$ serbest radikali, antioksidan bir bileşikle etkileştiğinde indirgenerek mor renkten sarıya dönüşür (84). Bu renk değişimi 517 nm'de absorbans azalması olarak ölçülür. Azalan absorbans, antioksidan kapasiteyle doğru orantılıdır (85).

Analiz için 5-100 µg/mL aralığında 5 farklı konsantrasyonda test numunesi hazırlanmış ve absorbans ölçümü yapılmıştır. Her bir konsantrasyon için Eşitlik 3' te ki formül kullanılarak yüzde inhibisyon (%) hesaplanmıştır:

Eşitlik 3: Yüzde inhibisyon

$$inhibisyon\ (\%) = \frac{\text{AKontrol} - \text{AÖrnek}}{\text{AKontrol}}\ x\ 100$$

$A_{Kontrol}$: Kontrol absorbansı, $A_{Örnek}$: Numune absorbansı

Bu değerler kullanılarak X eksenine konsantrasyon, Y eksenine % inhibisyon yerleştirilmiş ve doğrusal regresyon eğrisi oluşturulmuştur. Elde edilen denklemden %50 inhibisyona karşılık gelen konsantrasyon hesaplanarak IC_{50} değeri belirlenmiştir. IC_{50} değeri ne kadar düşükse, antioksidan kapasite o kadar yüksek kabul edilir (86).

Bu yöntemin basit ve hızlı bir test olması avantaj sağlarken, daha çok lipofilik antioksidanlara uygun olup, hidrofobik ortamlarla sınırlı kalabilme ihtimali dezavantajlı yönüdür (88).

3.5.2. 2,2′-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) Katyon Radikali Giderme Aktivitesi

2,2′-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) katyon radikali giderme aktivitesi yöntemi, Miller ve Rice-Evans (1993) tarafından geliştirilmiş olup, antioksidan kapasitenin kolorimetrik olarak değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan güvenilir bir yöntemdir (89). Analiz öncesinde ABTS reaktifi [2,2′-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)] ile potasyum persülfat (PPS) reaksiyona sokularak, mavi-yeşil renkli ve kararlı bir radikal katyon olan $ABTS^{\bullet+}$ oluşturulur. Antioksidan bileşikler $ABTS^{\bullet+}$ radikalini indirger ve bu indirgenme, 734 nm dalga boyunda ölçülen absorbans azalması ile nicel olarak takip edilir. Yöntem hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanların analizine uygundur (90).

Analiz için 0,3-5 µg/mL aralığında beş farklı konsantrasyonda ölçüm yapılmış hazırlanmış ve her biri için Eşitlik 4'te ki formülle % inhibisyon hesaplanmıştır:

Eşitlik 4: Yüzde inhibisyon

$$\text{İ}nhibisyon\ (\%) = \frac{Akontrol\ -\ A\text{ö}rnek}{Akontrol}\ x\ 100$$

$A_{kontrol}$: Kontrol absorbansı, $A_{örnek}$: Numune absorbansı (91)

Elde edilen % inhibisyon değerleri ile X eksenine konsantrasyon, Y eksenine % inhibisyon yerleştirilerek oluşturulan doğrusal denkleme göre %50 inhibisyona karşılık gelen konsantrasyon hesaplanarak IC_{50} değeri belirlenmiştir. IC_{50} değeri, maddenin antioksidan gücünün kantitatif göstergesidir; değer ne kadar düşükse antioksidan kapasite o kadar yüksektir (74).

3.5.3. Demir (III) İyonu İndirgeme Gücü Aktivitesi

Benzie ve Strain (1996) tarafından geliştirilen FRAP yöntemi, antioksidanların indirgeme kapasitesini ölçen basit, hızlı ve ekonomik bir kolorimetrik analiz yöntemidir.

Bu analizde, demir (III) (Fe^{3+}) içeren ferriktripiridiltriazine (Fe^{3+}–TPTZ) kompleksi, antioksidan bileşiklerin etkisiyle mavi renkli demir (II) (Fe^{2+})–TPTZ kompleksine indirgenir. Bu indirgenme sonucunda ortaya çıkan mavi rengin yoğunluğu, 593 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür (92).

Fe^{3+}-(TPTZ) + e^- → Fe^{2+}-(TPTZ)

Bu yöntemde kullanılan FRAP reaktifi; asetat tamponu (pH 3.6), 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) çözeltisi ve ferrik klorür çözeltisinin belirli oranlarda karıştırılmasıyla hazırlanır.

Bu analizde, antioksidan kapasitenin nicel olarak değerlendirilmesi amacıyla standart bileşik olarak demir (II) sülfat ($FeSO_4$) kullanılmıştır. Çeşitli konsantrasyonlardaki Fe^{2+} çözeltileri ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi doğrultusunda bir regresyon denklemine ulaşılmış ve bu denklem aracılığıyla örneklerin indirgeme kapasiteleri hesaplanmıştır. Elde edilen absorbans değerleri, standart eğri ile karşılaştırılarak sonuçlar gram başına milimol Fe^{2+} eşdeğeri (mmol Fe^{2+}/g) olarak ifade edilmiştir. Bu sayede numunenin toplam indirgeme gücü kantitatif olarak belirlenmiştir.

Bu yöntem, özellikle hidrofilik antioksidanların ferrik iyonlarını indirgeme kapasitelerini değerlendirmede etkilidir. Düşük pH ortamı sayesinde yalnızca redüksiyon potansiyeli yüksek antioksidanların ölçülmesini sağlar (93,94).

3.5.4.Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC)

Özyürek, Güçlü ve Apak (2004) tarafından tanımlanan CUPRAC yöntemi, antioksidanların indirgeme kapasitelerinin değerlendirilmesinde kullanılan özgün ve güvenilir bir kolorimetrik analiz yöntemidir (93). Bu yöntemin temel prensibi, bakır (II)-neokuproin (Cu^{2+}–Nc) kompleksinin, antioksidan bileşikler tarafından bakır(I) (Cu^+) formuna indirgenmesi esasına dayanır. İndirgenen Cu^+, neokuproin (Nc) ile kararlı bir kompleks oluşturarak sarı-turuncu renkli bir çözeltinin meydana gelmesine neden olur. Oluşan bu renkli kompleksin yoğunluğu, spektrofotometrik olarak 450 nm dalga boyunda ölçülür.

Cu^{2+}(neokuproin) + AH → Cu^+(neokuproin) + $A^{\bullet}$ + H^+

CUPRAC yöntemi hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlar üzerinde etkili olması ve fizyolojik pH'a yakın koşullarda (pH ~7) gerçekleştirilebilmesi açısından

avantajlıdır. Diğer yöntemlere kıyasla fenolik bileşikler, askorbik asit, flavonoidler ve bazı karotenoidleri etkin biçimde ölçebildiği gösterilmiştir (95).

Antioksidan kapasite, Trolox eşdeğeri (TEAC) olarak daha sonra da Eşitlik 5'ten yararlanılarak gram numune başına mmol troloks eşdeğeri (mmol TEAC/g) olarak hesaplanır. Bunun için Trolox'un farklı konsantrasyonları ile elde edilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılır.

Eşitlik 5: mmol troloks eşdeğeri

$$\text{mM } TEAC/g = \frac{\text{TEAC(mM) x V toplam (mL)}}{\text{m Örnek (g)}}$$

CUPRAC yöntemi, nötr pH'da çalışabilmesi ve geniş antioksidan yelpazesiyle özellikle biyolojik örneklerde avantaj sunar.

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bu çalışmada elde edilen sayısal verilerin düzenlenmesi, analiz edilmesi ve grafiksel olarak sunulması amacıyla Microsoft Excel ve GraphPad Prism 5.0 yazılımları kullanılmıştır. Excel programı, ham verilerin tablo haline getirilmesi, yüzde inhibisyon hesaplamaları ve temel istatistiksel işlemlerde tercih edilmiştir. Antioksidan analizlerine (DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC) ait veriler Excel ortamında düzenlenmiş, ardından grafiksel gösterim ve regresyon analizleri için GraphPad Prism 5.0 yazılımına aktarılmıştır. Bu yazılım aracılığıyla IC_{50} değerlerinin hesaplanması ve doğrusal regresyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Özellikle Trolox standart eğrisi üzerinden elde edilen denklemler yardımıyla örneklerin Trolox eşdeğeri (TE) cinsinden antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. GraphPad Prism 5.0 ile oluşturulan grafikler, bilimsel yayın standartlarına uygun şekilde düzenlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. HPLC İLE MİKTAR TAYİNİNE AİT BULGULAR

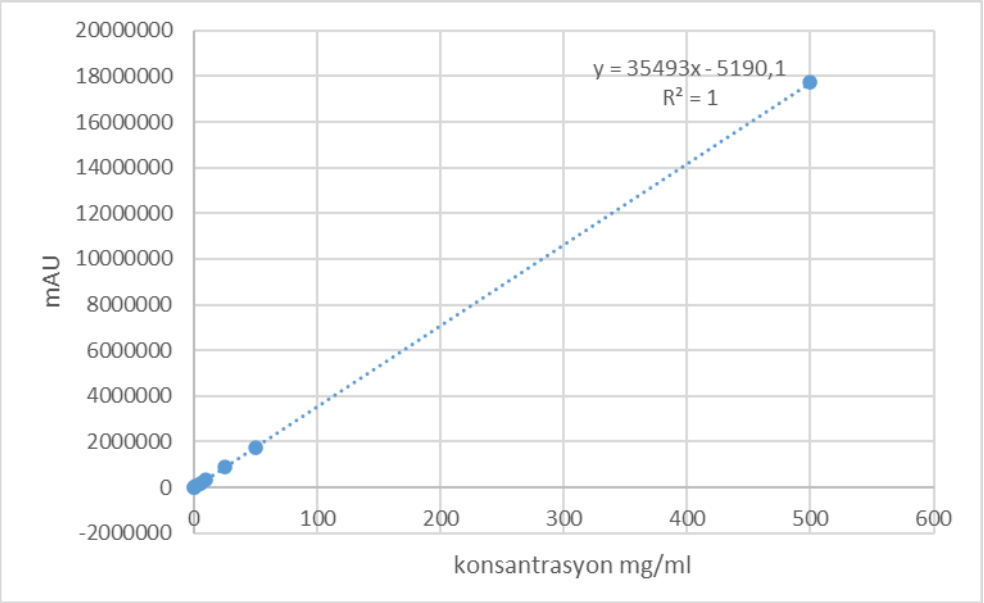
4.1.1. Doğrusallığa Ait Bulgular

Standart eğrinin çizimi için stok çözeltiden 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 25, 50, 500 µg/mL konsantrasyonlarda olacak şekilde mobil fazla seyreltilen örnekler üç paralel olarak analiz edilmiştir. Örneklerin ölçümleri alınarak bulunan alan değerlerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: Farklı Kuersetin konsantrasyonlarına ait alan değerleri

Konsantrasyon(µg/mL)	Alan Değeri(mA) (ORT±SS)
0,1	8005±149,08
0,5	19507,33±173,52
1	33574,67±566,12
5	169149,3±279,03
10	337862,3±1151,57
25	877135,7±5376,50
50	1769047±32279,07
500	17741841±51100,09

Doğrusallık değerlerinin konsantrasyona bağlı absorbans değerline ait grafik Şekil 4.1'de yer almaktadır.



Şekil 4 1: Kuersetin doğrusallık grafiği

Elde edilen sonuçlar, kuersetinin pik alanları ile konsantrasyonu arasında güçlü bir doğrusal ilişki olduğunu göstermektedir. Bu doğrusal ilişki, regresyon analizinde elde edilen doğru denklemi ($y = 35493x – 5190.1$) ve belirleme katsayısı ($R^2 = 1.000$) ile açıkça ortaya konmuştur.

$R^2 = 1.000$ değeri, yöntemin analitik performans açısından ideal bir doğrusallık sunduğunu göstermektedir. Bu değer, ölçülen pik alanlarının konsantrasyonla tam anlamıyla orantılı olduğunu ifade eder. Literatürde validasyon kriterlerine göre R^2 değerinin genellikle 0.999 ve üzeri olması "mükemmel doğrusallık" olarak kabul edilir (81). Ayrıca, düşük konsantrasyonlarda (örneğin 0.1 µg/mL) bile net ve tutarlı sinyaller elde edilmiş olması, yöntemin hem duyarlılığının hem de doğruluğunun güçlü olduğunu göstermektedir. Bu durum, kuersetin gibi bitkisel kökenli antioksidan maddelerin düşük dozlarda kantitatif tayinini mümkün kılar.

Özellikle 500 µg/mL gibi yüksek konsantrasyonlarda dahi sinyalin doğrusal artış göstermesi, yöntemin geniş bir çalışma aralığında geçerli olduğunu ve kuersetin içeren farmasötik ve takviye ürünlerin güvenilir analizine olanak sunduğunu göstermektedir.

4.1.2. Kesinliğe Ait Bulgular

İki farklı konsantrasyonda (1 µg/mL ve 10 µg/mL) doğruluk ve kesinlik değerleri hesaplanmıştır. 1 µg/mL'de gerçekleştirilen kesinlik değerlerine ait ortalama ve standart sapma değerleri ve %VK değeleri Tablo 4. 2'de yer almaktadır.

Tablo 4.2: 1 µg/mL konsantrasyondaki örneklerin alan, ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayıları değerleri

Konsantrasyon µg/mL	Teorik konsantrasyon	Alan	Ölçülen Konsantrasyon (µg/mL)
1 µg/mL 1	1	34918	1,130
1 µg/mL 2	1	35055	1,133
1 µg/mL 3	1	34577	1,120
1 µg/mL 4	1	33752	1,097
1 µg/mL 5	1	35284	1,140
1 µg/mL 6	1	35513	1,146
1 µg/mL 7	1	35701	1,152
1 µg/mL 8	1	35689	1,151
1 µg/mL 9	1	35685	1,151
1 µg/mL 10	1	34912	1,129
1 µg/mL 11	1	36026	1,161
1 µg/mL 12	1	35822	1,155
1 µg/mL 13	1	36223	1,166
1 µg/mL 14	1	36165	1,165
1 µg/mL 15	1	35897	1,157
		ORT	1,144
		SS	0,018
		%VK	1,657

1 µg/mL düzeyinde elde edilen varyasyon katsayısı %2'nin altında olup, ICH Q2(R1) yönergesine göre mükemmel düzeyde tekrarlanabilirlik sağlandığını göstermektedir. Bu düzey, genellikle düşük konsantrasyon aralığı olduğu için hata payının artması beklenebilirken, burada elde edilen düşük %VK değeri, yöntemin duyarlılığını da desteklemektedir. Ölçümler birbirine çok yakın sonuçlar verdiğinden yüksek hassasiyet ve güvenilirlik söz konusudur (81).

10 µg/mL'de gerçekleştirilen kesinlik değerlerine ait ortalama ve standart sapma değerleri ve %VK değeleri Tablo 4.3'te yer almaktadır.

Tablo 4.3: 10 µg/mL konsantrasyondaki örneklerin alan, ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayıları değerleri

Konsantrasyon	Teorik konsantrasyon	Alan	Ölçülen Konsantrasyon (µg/mL)
10 µg/mL 1	10	348497	9,964
10 µg/mL 2	10	345279	9,874
10 µg/mL 3	10	345126	9,870
10 µg/mL 4	10	347422	9,934
10 µg/mL 5	10	350164	10,011
10 µg/mL 6	10	349393	9,990
10 µg/mL 7	10	345303	9,874
10 µg/mL 8	10	349927	10,005
10 µg/mL 9	10	353548	10,107
10 µg/mL 10	10	346388	9,905
10 µg/mL 11	10	351998	10,063
10 µg/mL 12	10	354197	10,125
10 µg/mL 13	10	349247	9,986
10 µg/mL 14	10	353689	10,111
10 µg/mL 15	10	348632	9,968
		ORT	9,986
		SS	0,086
		%VK	0,867

10 µg/mL düzeyinde de varyasyon katsayısının %1'in altında olması, yöntemin yüksek konsantrasyonlarda da stabil, tekrarlanabilir ve tutarlı çalıştığını kanıtlamaktadır. Ölçüm sonuçları neredeyse teorik değere eşit çıkmış, sapma ihmal edilebilir düzeyde kalmıştır. Bu durum, yöntemin hem analitik hem kantitatif olarak güvenilirliğini pekiştirir.

4.1.3. Tekrar Edilebilirliğe Ait Bulgular

Tekrar edilebilirlik testleri 10 µg/mL'de 2 ayrı günde olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. 1. güne ait gerçekleştirilen deneylere ait ortalama, standart sapma değerleri ve %VK değeleri Tablo 4. 4'te yer almaktadır.

Tablo 4.4: 1. Güne ait 10 µg/mL konsantrasyondaki örneklerin alan, ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayıları değerleri

1. Gün			
Konsantrasyon	**Teorik Konsantrasyon**	**Alan**	**Ölçülen Konsantrasyon (µg/mL)**
10 µg/mL	10	348512	9,965
10 µg/mL	10	345715	9,886
10 µg/mL	10	349128	9,982
10 µg/mL	10	348153	9,955
10 µg/mL	10	350164	10,011
10 µg/mL	10	349499	9,993
10 µg/mL	10	346927	9,920
10 µg/mL	10	349772	10,001
10 µg/mL	10	350511	10,021
10 µg/mL	10	348344	9,960
10 µg/mL	10	351467	10,048
10 µg/mL	10	349112	9,982
10 µg/mL	10	350329	10,016
10 µg/mL	10	351334	10,044
10 µg/mL	10	348664	9,969
		ORT	9,984
		SD	0,043
		%VK	0,439

2. güne ait gerçekleştirilen deneylere ait ortalama, standart sapma ve %VK değeleri Tablo 4.5'te yer almaktadır.

Tablo 4.5: 2. Güne ait 10 µg/mL konsantrasyondaki örneklerin alan, ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayıları değerleri

2. Gün			
Konsantrasyon	**Teorik Konsantrasyon**	**Alan**	**Ölçülen Konsantrasyon (µg/mL)**
10 µg/mL	10	345044	9,867
10 µg/mL	10	346242	9,901
10 µg/mL	10	344932	9,864
10 µg/mL	10	346158	9,899
10 µg/mL	10	344940	9,864
10 µg/mL	10	346482	9,908
10 µg/mL	10	346355	9,904

Tablo 4.5 (devam)

10 µg/mL	10	346333	9,904
10 µg/mL	10	347436	9,935
10 µg/mL	10	347171	9,927
10 µg/mL	10	345806	9,889
10 µg/mL	10	347066	9,924
10 µg/mL	10	347134	9,926
10 µg/mL	10	347063	9,924
10 µg/mL	10	346252	9,901
		ORT	9,902
		SD	0,023
		%VK	0,234

1. güne ait analizlerde, 10 µg/mL teorik konsantrasyon için yapılan 15 tekrar ölçüm sonucunda elde edilen ortalama değer 9,98 µg/mL olarak bulunmuştur. Bu değer, hedeflenen değere oldukça yakın olup yöntemin yüksek doğruluğa sahip olduğunu göstermektedir. Hesaplanan standart sapma 0,0439 ve %VK 0,4393 değeri ise yöntemin aynı gün içerisinde tutarlı ve tekrarlanabilir sonuçlar verdiğini göstermektedir.

2. gün ölçümlerinde, aynı koşullarda elde edilen ortalama değer 9,90 µg/mL olup yine teorik değere çok yakın seyretmektedir. Elde edilen standart sapma 0,0232 ve %VK 0,2346 değerleri, ilk güne göre daha düşük varyasyon göstermektedir. Bu durum, yöntem performansının günler arası stabil olduğunu ve tekrar edilebilirliğin yüksek olduğunu kanıtlamaktadır.

Her iki günde de elde edilen varyasyon katsayısı değerlerinin %2 'nin altında olması, yöntemin tekrar edilebilir olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bulgular, analitik yöntemin doğruluk ve hassasiyet açısından ICH Q2(R1) kılavuzunun önerdiği kriterleri sağladığını doğrulamaktadır (81).

4.1.4. Tekrar Elde Edilebilirliğe Ait Bulgular

İki farklı analist tarafından on adet aynı konsantrasyondaki (50 µg/mL) kuersetin çözeltisinin tekrar elde edilebilirlik testleri gerçekleştirilmiştir. 1. analist tarafından gerçekleştirilen tekrar elde edilebilirlik sonuçlarının ortalama, standart sapma ve %VK değeleri Tablo 4.6'da yer almaktadır.

Tablo 4.6: 1. Analiste ait 50 µg/mL konsantrasyondaki, örneklerin alan, ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayıları değerleri

1. Analist			
Konsantrasyon	**Teorik Konsantrasyon**	**Alan**	**Ölçülen Konsantrasyon (µg/mL)**
50 µg/mL	50	1958955	55,338
50 µg/mL	50	1902197	53,739
50 µg/mL	50	1971414	55,689
50 µg/mL	50	1912248	54,022
50 µg/mL	50	1923705	54,345
50 µg/mL	50	1928834	54,490
50 µg/mL	50	1946450	54,986
50 µg/mL	50	1936220	54,698
50 µg/mL	50	1912492	54,029
50 µg/mL	50	1953967	55,198
		ORT	54,654
		SD	0,640
		%VK	1,172

2. analist tarafından gerçekleştirilen tekrar elde edilebilirlik sonuçlarının ortalama, standart sapma ve %VK değeleri Tablo 4.7'de yer almaktadır.

Tablo 4.7: 2. Analiste ait 50 µg/mL konsantrasyondaki örneklerin alan, ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayıları değerleri

2. Analist			
Konsantrasyon	**Teorik Konsantrasyon**	**Alan**	**Ölçülen Konsantrasyon (µg/mL)**
50 µg/mL	50	1864197	52,669
50 µg/mL	50	1865211	52,697
50 µg/mL	50	1937074	54,722
50 µg/mL	50	1936653	54,710
50 µg/mL	50	1926092	54,413
50 µg/mL	50	1947058	55,003
50 µg/mL	50	1930022	54,523
50 µg/mL	50	1951803	55,137
50 µg/mL	50	1921699	54,289
50 µg/mL	50	1914666	54,091
		ORT	54,225
		SD	0,870
		%VK	1,605

Her iki analistin sonuçları da (1. Analist %VK 1,17; 2. Analist %VK 1,61) ICH Q2(R1) kılavuzuna göre %2'nin altında kalan varyasyon katsayılarıyla kabul edilebilir düzeydedir ve yöntem performansının farklı kullanıcılar arasında da sürdürülebilir olduğunu kanıtlamaktadır (80). Bu sonuçlar, yöntemin laboratuvar içi farklılıklar karşısında dahi güvenilirliğini ve tekrar edilebilirliğini koruduğunu göstermekte, analitik yöntemin ara hassasiyet (intermediate precision) açısından geçerliliğini desteklemektedir.

4.1.5. Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirliğe Ait Bulgular

Belirlenmiş olan 0,1; 25 ve 500 µg/mL değerlerinde doğruluk ve geri elde edilebilirlik testleri gerçekleştirilmiştir. Tablo 8'de 0,1 µg/mL'de gerçekleşmiş olan testlere ait ortalama, standart sapma ve %VK değeleri yer almaktadır.

Tablo 4.8: 0,1 µg/mL konsantrasyonundaki örneklere ait alan, ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayıları değerleri

Konsantrasyon	**Teorik Konsantrasyon**	**Alan**	**Ölçülen Konsantrasyon (µg/mL)**
0.1µg/mL	0.1	5245	0,294
0.1 µg/mL	0.1	5567	0,303
0.1 µg/mL	0.1	5424	0,299
0.1 µg/mL	0.1	5519	0,301
0.1 µg/mL	0.1	5419	0,298
0.1 µg/mL	0.1	5473	0,300
0.1 µg/mL	0.1	5327	0,296
0.1 µg/mL	0.1	5388	0,298
0.1 µg/mL	0.1	5329	0,296
0.1 µg/mL	0.1	5328	0,296
		ORT	0,298
		SS	0,002
		%VK	0,933

Tablo 4 9'da 25 µg/mL'de gerçekleşmiş olan testlere ait ortalama, standart sapma ve %VK değeleri yer almaktadır.

Tablo 4.9: 25 µg/mL konsantrasyonundaki örneklere ait alan, ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayıları değerleri

Konsantrasyon	Teorik Konsantrasyon	Alan	Ölçülen Konsantrasyon (µg/mL)
25 µg/mL	25	912849	25,865
25 µg/mL	25	912543	25,856
25 µg/mL	25	914823	25,920
25 µg/mL	25	913378	25,880
25 µg/mL	25	913227	25,876
25 µg/mL	25	914173	25,902
25 µg/mL	25	912773	25,863
25 µg/mL	25	912345	25,851
25 µg/mL	25	913032	25,870
25 µg/mL	25	912754	25,862
		ORT	25,874
		SS	0,021
		%VK	0,083

Tablo 4 10 'da 50 µg/mL'de gerçekleşmiş olan testlere ait ortalama, standart sapma ve %VK değeleri yer almaktadır.

Tablo 4.10: 50 µg/mL konsantrasyonundaki örneklere ait alan, ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayıları değerleri

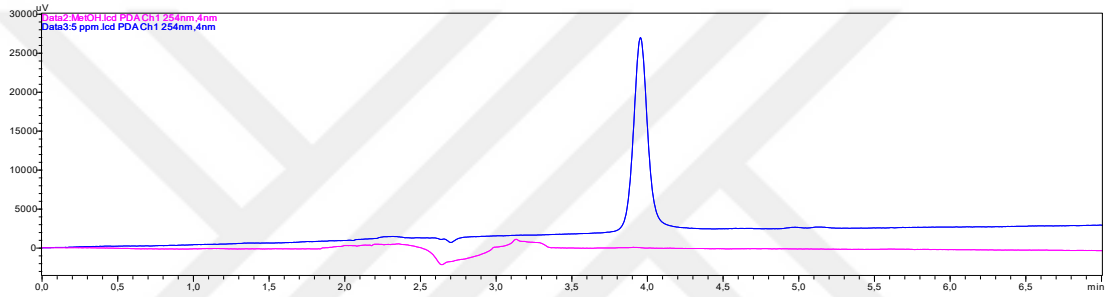
Konsantrasyon	Teorik Konsantrasyon	Alan	Ölçülen Konsantrasyon (µg/mL)
50 µg/mL	50	1772175	50,076
50 µg/mL	50	1780995	50,325
50 µg/mL	50	1783485	50,395
50 µg/mL	50	1778203	50,246
50 µg/mL	50	1789374	50,561
50 µg/mL	50	1762839	49,813
50 µg/mL	50	1779374	50,279
50 µg/mL	50	1769494	50,001
50 µg/mL	50	1772834	50,095
50 µg/mL	50	1783394	50,393
		ORT	50,219
		SS	0,221
		%VK	0,441

0,1, 25 ve 50 µg/mL konsantrasyonlarındaki örneklerde yapılan analizlerde, ölçüm sonuçları teorik değerlere oldukça yakın bulunmuştur. 0.1 µg/mL için %VK 0,93;

25 µg/mL için %VK 0,08 ve 50 µg/mL için %VK 0,44 olarak hesaplanmıştır. Tüm %VK değerleri %2 sınırının altında olup, yöntem doğruluk ve tekrarlanabilirlik açısından ICH Q2(R1) kılavuzuna uygundur. Bu sonuçlar, yöntemin hem düşük hem orta hem de yüksek konsantrasyon aralıklarında güvenilir ve hassas çalıştığını göstermektedir (80).

4.1.6. Özgünlük, Seçiciliğe Ait Bulgular

Kuersetin içeren numuneler, mobil fazlarla birlikte HPLC cihazında analiz edilmiş ve etkin maddeye ait piklerin, mobil fazdan ayrılabilir şekilde olup olmadığı kontrol edilmiştir. Ölçüm sonrası elde edilen değerler doğrultusunda Şekil 4. 2'de belirtilen seçicilik grafiği elde edilmiştir.



Şekil 4.2: Kuersetin seçicilik sonuçlarına ait grafik

Yukarıda sunulan kromatogramda, mavi renkle gösterilen kuersetin içeren örnek ile mor renkle gösterilen mobil faz spektrumları karşılaştırılmıştır. Kuersetin pikinin belirgin olarak yaklaşık 4. dakika civarında keskin ve yüksek bir sinyal verdiği gözlemlenmiştir. Buna karşın, mobil faz sinyalinde aynı bölgede herhangi bir anlamlı pik bulunmamaktadır. Bu durum, kuersetin pikinin mobil fazdan net şekilde ayrıldığı, dolayısıyla HPLC yönteminin yüksek seçicilik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Aynı zamanda, mobil fazdan kaynaklı bir girişim veya çakışma olmadığı görülmektedir. ICH Q2(R1) kılavuzuna göre, bu bulgu analiz yönteminin hedef bileşiği diğer bileşenlerden ayırt edebildiğini ve spesifik olduğunu doğrular (80).

4.1.7. Teşhis ve Tayin Sınırlarına (LOD ve LOQ) Ait Bulgular

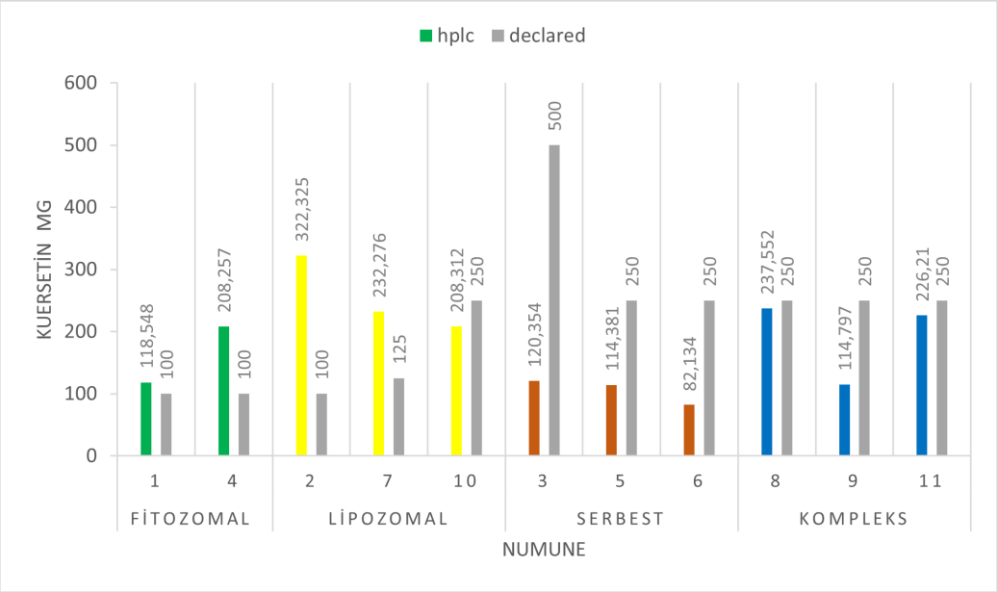
Kuersetin maddesinin teşhis ve tayin sınırları hesaplanmıştır. Kalibrasyon eğrisinin eğimi 35493 ve standart sapma 0,0042 alınarak LOD değeri için 3,3, LOQ değeri için 10 ile çarpılmıştır. Yapılan işlemler sonucunda LOD: 0,0373 ve LOQ: 0,1129 olarak bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar, yöntemin düşük konsantrasyonlarda dahi

kuersetini güvenilir şekilde tespit edip kantitatif olarak analiz edebildiğini göstermektedir. LOD ve LOQ değerlerinin bu düzeyde düşük olması, yöntemin yeterli duyarlılıkta olduğunu kanıtlamaktadır (72).

4.1.8. Kromatografik Kantitatif Analiz Verileri

Tablo 4.11: Kantitatif Analize göre numunelerin madde miktarı ve etiket bilgisi

Numune	**Form/Diğer İçerikler**	**Beyan edilen miktar (mg)**	**Analiz sonucu (mg)**
Numune 1	Fitozomal Kuersetin (Quercefit®)	100	118,548
Numune 2	Lipozomal Kuersetin	100	322,325
Numune 3	Kuersetin (serbest form)	500	120,354
Numune 4	Fitozomal Kuersetin (Quercefit®)	100	208,257
Numune 5	Kuersetin (serbest form)	250	114,381
Numune 6	Kuersetin (serbest form)	250	82,134
Numune 7	Lipozomal Kuersetin	125	232,276
Numune 8	Kuersetin Vitamin C, Bromelain, Enzimler	250	237,552
Numune 9	Kuersetin Bromelain, Vitamin C, Isırgan	250	114,797
Numune 10	Lipozomal Kuersetin (Quercefit®)	250	208,312
Numune 11	Kuersetin Ester-C, Bitkisel Karışımlar	250	226,210



Şekil 4.3: Numunelerin dozaj göre beyan edilen ve gerçek kuersetin miktarlarının karşılaştırılması

Yukarıda sunulan grafikte, farklı formülasyon türlerine sahip kuersetin içeren 11 farklı numunenin kapsül ya da tablet başına düşen beyan edilen ve gerçek (analiz sonucu ile belirlenen) kuersetin miktarları karşılaştırılmıştır. Numuneler, formülasyon türlerine göre lipozomal, fitozomal, serbest form ve kompleks form olarak gruplandırılarak sıralanmıştır. Açık renk beyan edilen, koyu renk ise analiz sonucu elde edilen kuersetin miktarını göstermektedir.

Lipozomal formlar (kırmızı) numune 2, 7 ve 10'da yer alan bu ürünler, analiz sonuçlarına göre genellikle beyan edilen değerin üzerinde kuersetin içermektedir. Bu durum, lipozomal taşıyıcıların stabilite ve içerik fazlalığı açısından etkili olduğunu düşündürmektedir.

Fitozomal formlar (mavi) numune 1 ve 4'tür. Her iki üründe de analiz edilen kuersetin miktarı beyan edilene göre daha yüksektir.

Numune 3, 5 ve 6, serbest kuersetin (yeşil) içeren formlardır. Bu grupta, özellikle Numune 3'te 500 mg beyana karşın yalnızca yaklaşık 120 mg kuersetin tespit edilmiştir. Bu durum, serbest formlarda beyan edilen değerlerin güvenilirliğini sorgulatmaktadır.

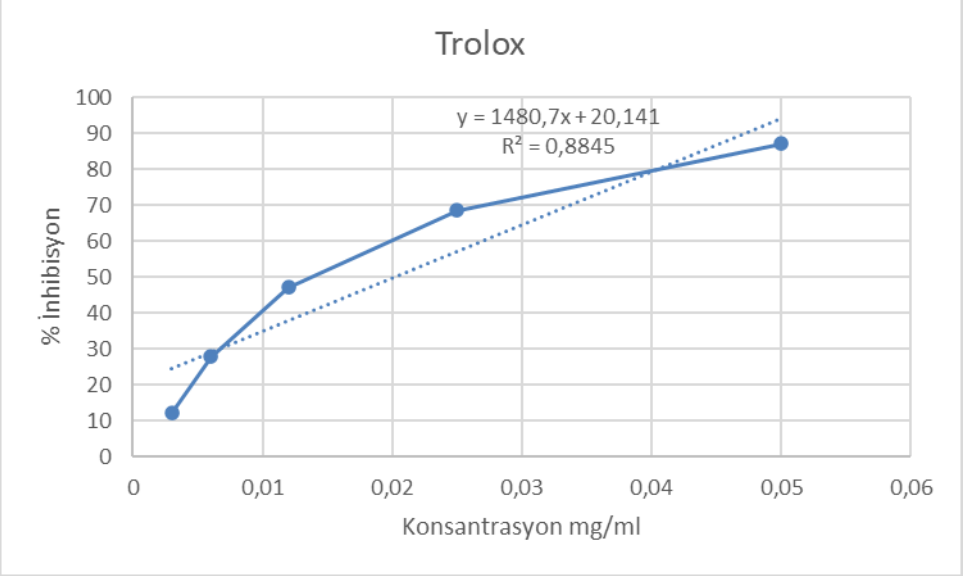
Kompleks formüller (mor) numune 8, 9 ve 11, kuersetine ek olarak vitaminler, enzimler veya bitkisel bileşenler içermektedir. Bu grupta genel olarak analiz edilen

miktarlar, beyan edilen değerlere genellikle yakındır. Bu da standart üretim uygulamalarının etkili olabileceğini düşündürmektedir.

4.2. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE SONUÇLARI

4.2.1. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil Radikal Giderme Aktivite Sonuçları

Bu yöntem, örneklerin DPPH serbest radikalini giderme aktivitesi ölçümler sonucunda % inhibisyon değerleri hesaplandıktan sonra çizilen konsantrasyon ve yüzde inhibisyon değerleri grafiğinden IC_{50} değerleri hesaplandı. Karşılaştırmak için troloks standart olarak kullanıldı.



Şekil 4 4: Trolox bileşiğinin DPPH• radikal giderme aktivitesinin kalibrasyon grafiği

Elde edilen sonuçlar genellikle % inhibisyon ve IC_{50} (yarı maksimal inhibitör konsantrasyon) cinsinden ifade edilir. IC_{50} değeri, örneğin %50 radikal giderme aktivitesi gösterebilmesi için gereken konsantrasyonu belirtir. Düşük IC_{50} değeri, yüksek antioksidan kapasiteye işaret eder (96). Bu çalışmada 11 farklı kuersetin içerikli ürünün DPPH yöntemi ile antioksidan kapasiteleri değerlendirilmiştir. Ölçümler sonucunda elde edilen IC_{50} değerleri aşağıdaki gibidir:

Tablo 4.12: DPPH yöntemine göre numunelerin IC50 değerleri

Numune	**IC_{50} (mg/mL)**	**Kuersertin miktarı (mg)**	**Formülasyon/ Diğer İçerikler**
Trolox	0,0201	-	-
Numune 1	0,0127	118,548	Fitozomal
Numune 2	0,00998	322,325	Lipozomal
Numune 3	0,00860	120,354	Serbest
Numune 4	0,00377	208,257	Fitozomal
Numune 5	0,00433	114,381	Serbest
Numune 6	0,01717	82,134	Serbest
Numune 7	0,01480	232,276	Lipozomal
Numune 8	0,00350	237,552	Kompleks
Numune 9	0,02677	114,797	Kompleks
Numune 10	0,01554	208,312	Lipozomal
Numune 11	0,01044	226,210	Kompleks

DPPH testi ile elde edilen IC_{50} değerleri, test edilen maddenin serbest radikalleri %50 oranında nötralize edebilmesi için gereken konsantrasyonu göstermektedir. IC_{50} değeri ne kadar düşükse, antioksidan etkinlik o kadar yüksektir. IC_{50} değeri:

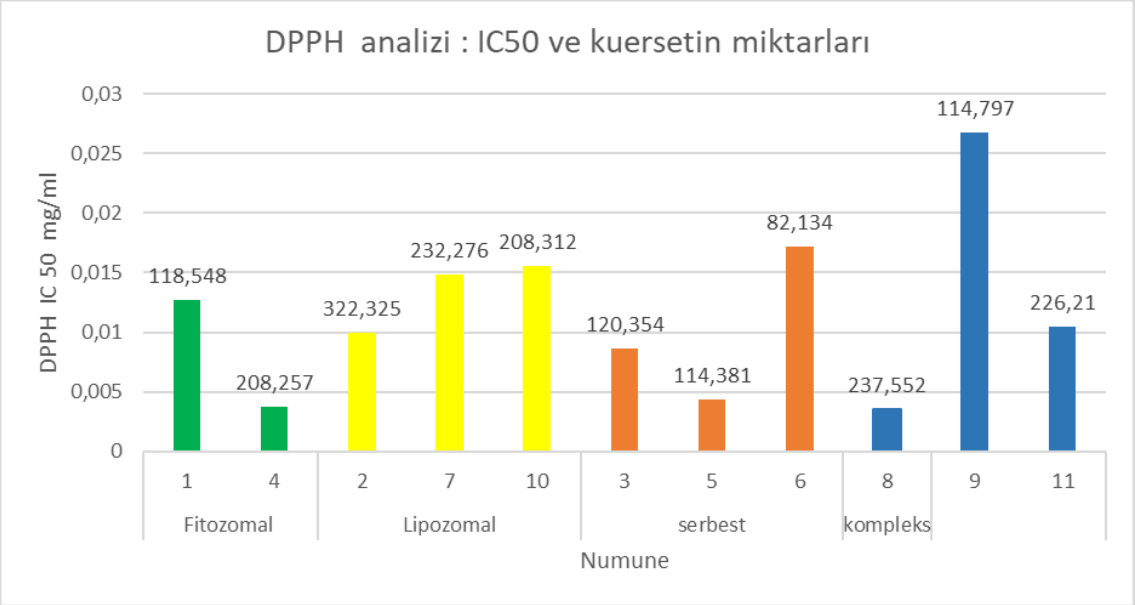
< 50 µg/mL ise "çok güçlü antioksidan",

50–100 µg/mL arasında ise "güçlü"

100–250 µg/mL ise "orta düzey",

250–500 µg/mL ise "zayıf antioksidan" olarak sınıflandırılmaktadır (97).

Yapılan analizde, tüm numunelerin IC_{50} değerlerinin 0.05 mg/mL (50 µg/mL) altında olduğu, dolayısıyla çok güçlü antioksidan sınıfında yer aldığı belirlenmiştir. Bu bulgu, literatürde yer alan sınıflandırmalarla da uyumludur (98,99).



Şekil 4.5: Ürünlerin formülasyonlarına göre DPPH testi analiz grafiği

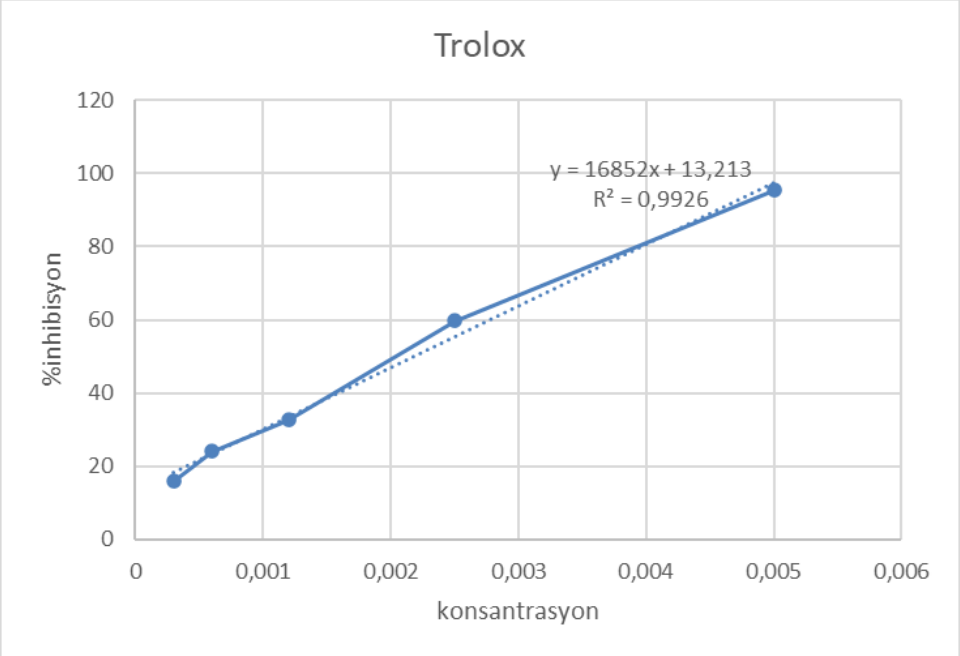
Bu bağlamda, çalışmamızdaki tüm ürünler güçlü antioksidan özelliğe sahiptir. En düşük IC_{50} değerine sahip ürün numune 8 (kompleks form) olup 0,00350 mg/mL ile en güçlü antioksidan kapasiteyi göstermiştir. Numune 4 (fitozomal) de benzer şekilde güçlü antioksidan aktivite sunmuş ve 0,00377 mg/mL IC_{50} değeriyle dikkat çekmiştir. Lipozomal ürünler (Numune 2, 7 ve 10) ise genellikle 0,00998 – 0,01554 mg/mL aralığında IC_{50} değerleri sunmuş, bu da lipozomal taşıyıcı sistemlerin antioksidan etkiyi olumlu yönde etkileyebileceğini göstermektedir. Serbest formdaki ürünler, kuersetin miktarları göre farklı performanslar göstermiştir. Özellikle Numune 6, 0,01717 mg/mL değeriyle daha düşük antioksidan etki sergilemiştir. Bu etki diğer numunelere oranla daha az kuersetin içermesinden kaynaklanabilir.

En yüksek IC_{50} değerine sahip ürün Numune 9 olup 0,02677 mg/mL değeriyle diğer ürünlere göre daha zayıf bir antioksidan aktivite göstermiştir. Bu ürün, kompleks formülasyona sahip olmasına rağmen istenilen düzeyde etkinlik göstermemiştir. Bazı ürünlerde (örneğin 2, 7, 11) yüksek içerik her zaman düşük IC_{50} ile örtüşmemektedir; bu

da formülasyon farklarını ve katkı maddelerinin etkisini düşündürmektedir. Özellikle lipozomal ve fitozomal formların daha yüksek biyoyararlanım sağlayarak daha düşük IC_{50} değeri göstermesi beklenmektedir (26,100).

4.2.2. 2,2′-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) Radikali Giderme Aktivite Bulguları

Bu yöntem, örneklerin $ABTS^{\bullet+}$ katyon radikalini giderme aktivitesi analiz sonucunda % inhibisyon değerleri hesaplandıktan sonra çizilen konsantrasyon ve yüzde inhibisyon değerleri grafiğinden IC_{50} değerleri hesaplandı. Karşılaştırmak için troloks standart olarak kullanıldı. Bu analizlerde antioksidan etkinin belirlenmesi için Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) standardı kullanılmıştır. Trolox standardı ve test edilecek numuneler, 0,1 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,025 mg/mL, 0,01 mg/mL ve 0,005 mg/mL olacak şekilde konsantrasyonlarda analiz edilmiştir.



Şekil 4.6: Trolox bileşiğinin $ABTS^{\bullet+}$ radikal giderme aktivitesinin kalibrasyon grafiği

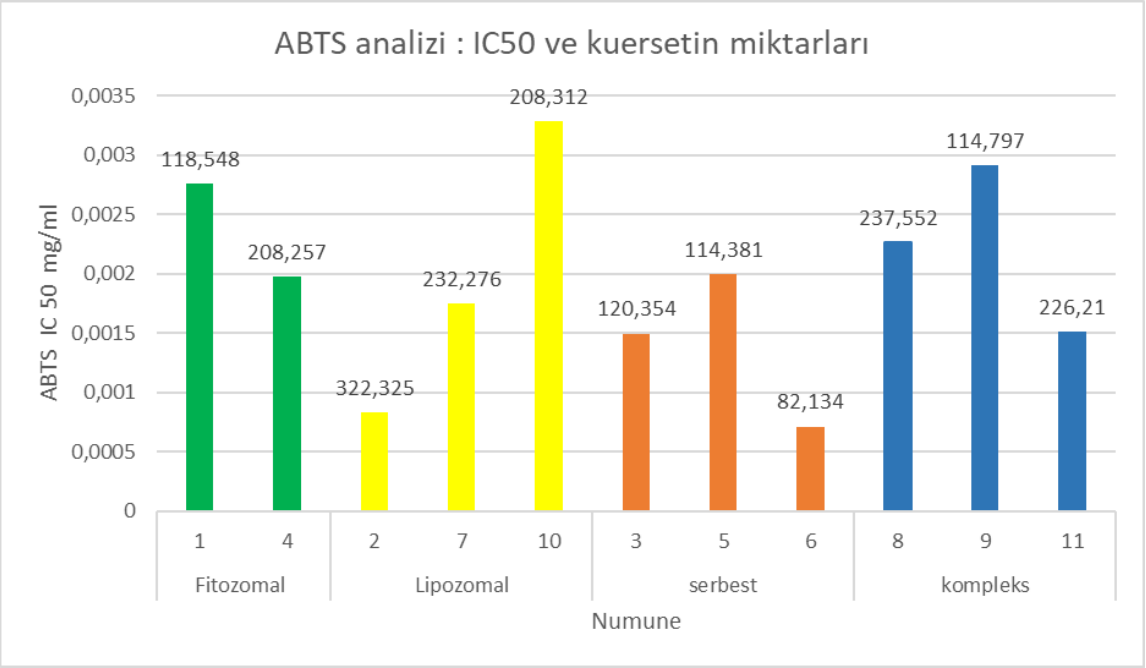
Her örnek ve standart için ölçülen absorbans değerlerine göre % inhibisyon değerleri hesaplanmış, elde edilen veriler ile IC_{50} değerleri hesaplanmıştır.

Bu çalışmada, trolox ve 11 farklı kuersetin içerikli ürünün $ABTS^{\bullet+}$ yöntemiyle belirlenen IC_{50} değerleri aşağıda sunulmuştur:

Tablo 4.13: $ABTS^{\bullet+}$ radikal giderme aktivite sonuçları

Numune	**IC_{50} (mg/mL)**	**Kuersertin miktarı (mg)**	**Formülasyon/ Diğer İçerikler**
Trolox	0,002182	-	-
Numune 1	0,002758	118,548	Fitozomal
Numune 2	0,000829	322,325	Lipozomal
Numune 3	0,001496	120,354	Serbest
Numune 4	0,001978	208,257	Fitozomal
Numune 5	0,001994	114,381	Serbest
Numune 6	0,000713	82,134	Serbest
Numune 7	0,001752	232,276	Lipozomal
Numune 8	0,002265	237,552	Kompleks
Numune 9	0,002913	114,797	Kompleks
Numune10	0,003281	208,312	Lipozomal
Numune11	0,001512	226,210	Kompleks

Yapılan analizde, tüm numunelerin IC_{50} değerlerinin 0,05 mg/mL (50 µg/mL) altında olduğu, dolayısıyla çok güçlü antioksidan sınıfında yer aldığı belirlenmiştir (97).



Şekil 4.7: Ürünlerin formülasyonlarına göre ABTS•⁺ testi analiz grafiği

En düşük IC_{50} değeri ile en güçlü antioksidan kapasite Numune 6' da gözlenmiştir (0.000713 mg/mL). Bu ürün serbest formda kuersetin içermektedir ve yalnızca 82,1 mg kuersetin içeriğine sahiptir.

Lipozomal formlar (Numune 2, 7, 10), genellikle düşük IC_{50} değerleriyle dikkat çekmiştir. Numune 2, 322,3 mg kuersetin içeriği ile 0,000829 mg/mL gibi oldukça düşük bir IC_{50} değerine sahiptir. Bu da lipozomal taşıyıcı sistemin ABTS radikalini süpürme kapasitesini artırdığını düşündürmektedir.

Fitozomal ürünler (Numune 1 ve 4), güçlü antioksidan aktivite göstermiştir. IC_{50} değerleri sırasıyla 0,002758 ve 0,001978 mg/mL olarak ölçülmüş ve literatürde kabul edilen 0,05 mg/mL altında kalan güçlü antioksidan sınıfında yer almışlardır.

Bu bulgular, ABTS•⁺ analizinde kuersetin içeriği ile doğrudan bir korelasyon olmadığını; bunun yerine formülasyon tipi, yardımcı maddeler, emilim mekanizması ve taşıyıcı sistemlerin antioksidan kapasite üzerinde etkili olduğunu ortaya koymuştur. Analiz edilen tüm numunelerin IC_{50} değerleri 0,05 mg/mL'nin altında olup, literatürde tanımlandığı şekilde hepsi "güçlü antioksidan" kategorisinde değerlendirilmiştir (98).

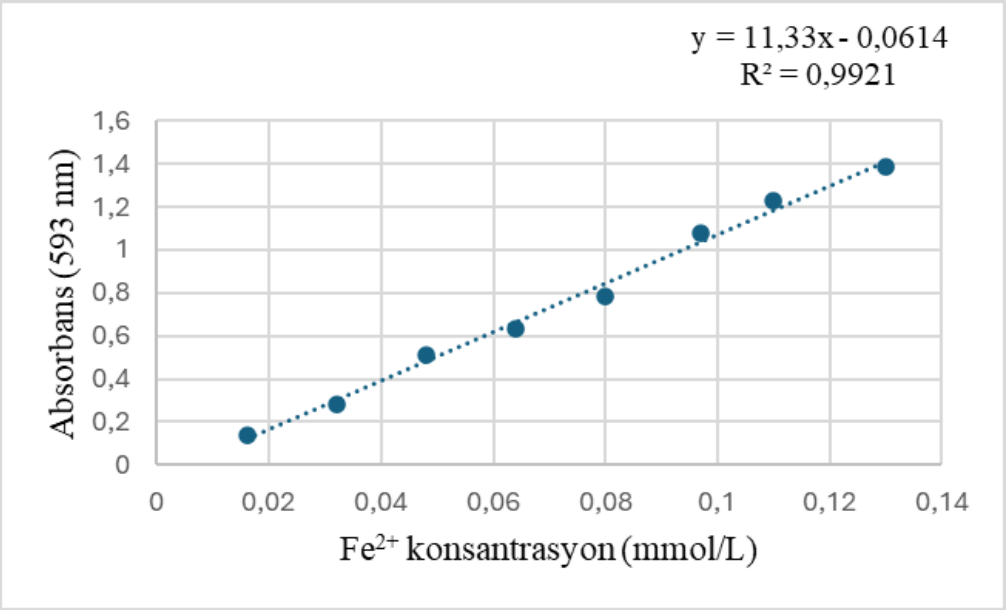
Kompleks içerikli ürünler (Numune 8, 9, 11) ise daha yüksek IC_{50} değerlerine sahip olup, diğer formülasyonlara göre daha düşük antioksidan kapasite göstermiştir.

Özellikle Numune 9 ve 10, IC_{50} değerleri açısından en zayıf etki gösteren ürünlerdir. Elde edilen sonuçlar, eczanelerde satılan kuersetin içeren ürünlerin genel olarak çok güçlü antioksidan özellik gösterdiğini, ancak antioksidan güçlerinin ürün formülasyonuna, kuersetin formuna (serbest, lipozomal, fitozomal vb.) ve diğer yardımcı maddelere bağlı olarak değişiklik gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

4.2.3. Demir (III) İyonu İndirgeyici Gücü Antioksidan Aktivitesi (FRAP) Sonuçları

Bu çalışmada, eczanelerde satılan kuersetin içeren 11 farklı ürün FRAP yöntemiyle analiz edilmiş ve aşağıdaki mmol Fe^{2+}/g değerleri elde edilmiştir.

Standart olarak FeSO4 bileşiğinin farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerinin kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Sonuçlar bu eğriye göre mmol Fe^{2+}/g olarak hesaplanmıştır.

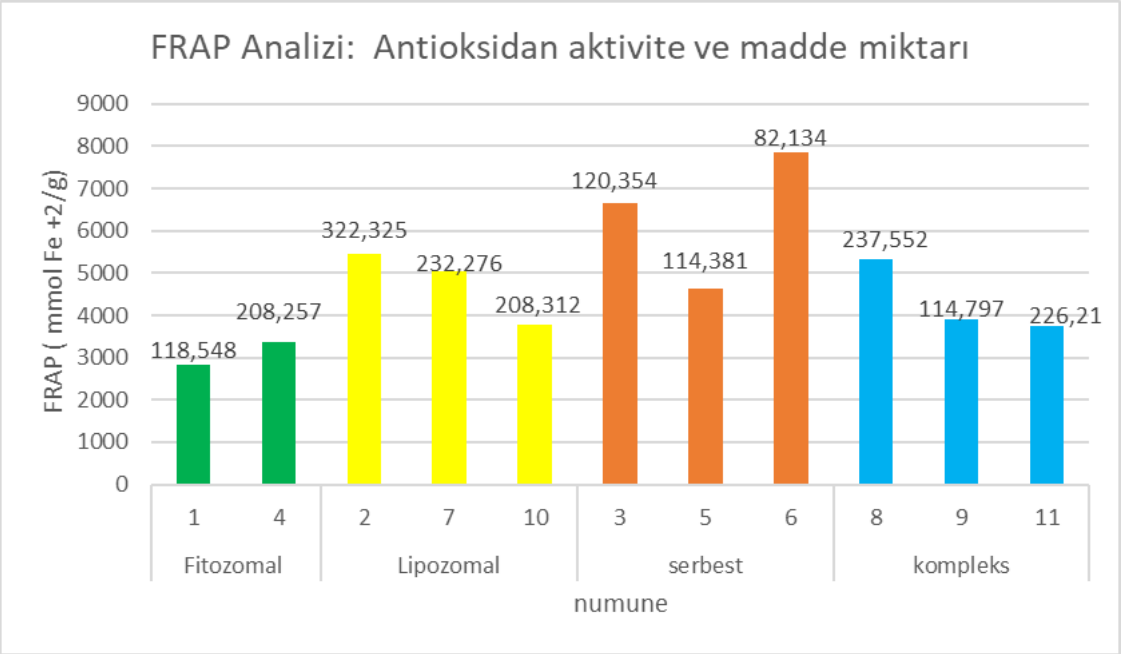


Şekil 4.8: Fe^{2+} kalibrasyon grafiği

Tablo 4.14: FRAP indirgeme gücü sonuçları

Numune	mmol Fe^{2+}/g	Kuersetin miktarı (mg)	Formülasyon
Numune 1	2821,10	118,548	Fitozomal
Numune 2	5462,34	322,325	Lipozomal
Numune 3	6666,96	120,354	Serbest
Numune 4	3369,41	208,257	Fitozomal
Numune 5	4615,07	114,381	Serbest
Numune 6	7848,96	82,134	Serbest
Numune 7	5030,77	232,276	Lipozomal
Numune 8	5321,35	237,552	Kompleks
Numune 9	3910,98	114,797	Kompleks
Numune 10	3767,24	208,312	Lipozomal
Numune 11	3742,62	226,210	Kompleks

Bu değerlere göre Numune 6 (7848,96 mmol Fe2+/g) ve Numune 3 (6666,96 mmol Fe2+/g) en yüksek indirgeme kapasitesine sahip ürünler olarak öne çıkmaktadır. Bu ürünlerin içerdiği kuersetin miktarı, formu ya da yardımcı maddeler, antioksidan kapasitenin artmasına katkıda bulunmuş olabilir



Şekil 4.9: Ürünlerin formülasyonlarına göre FRAP testi analiz grafiği

En yüksek antioksidan kapasite, serbest formdaki Numune 6'da ölçülmüştür (7.848,96 mmol Fe^{2+}/g), kuersetin miktarı ise sadece 82,1 mg'dır. Bu bulgu, kuersetin miktarının yüksekliğinin tek başına antioksidan kapasiteyi belirlemediğini göstermektedir. Serbest form ürünler genel olarak yüksek varyasyon göstermektedir. Özellikle Numune 3 ve 5, daha yüksek kuersetin içeriğine sahip olmasına rağmen, Numune 6' ya göre daha düşük antioksidan kapasiteye sahiptir.

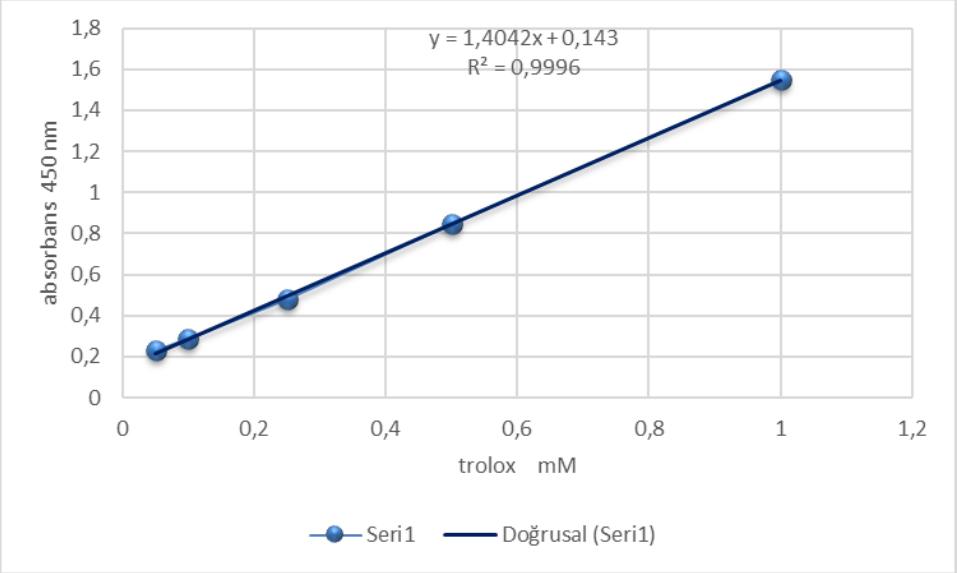
Lipozomal ürünler (Numune 2, 7 ve 10) orta-üst düzeyde FRAP değerleri sunmuş ve içerdikleri kuersetin miktarları da genellikle yüksek bulunmuştur. Bu da lipozomal taşıyıcıların antioksidan etkiyi desteklediğini göstermektedir. Fitozomal ürünler (Numune 1 ve 4) daha düşük FRAP değerleri göstermiştir. Özellikle Numune 1, hem kuersetin içeriği hem de antioksidan kapasite açısından en düşük değerlerden birine sahiptir. Kompleks formüller (Numune 8, 9, 11) de orta düzeyde FRAP kapasitesi göstermiştir. Bu gruptaki ürünlerin antioksidan etkilerinin yalnızca kuersetinle değil, içerdiği C vitamini, bromelain ve bitkisel ekstraktlar gibi sinerjik maddelerle şekillendiği düşünülmektedir.

FRAP yöntemi ile elde edilen veriler, antioksidan kapasitenin yalnızca kuersetin miktarına değil, aynı zamanda formülasyon tipi ve yardımcı bileşenlerle olan etkileşimine

de bağlı olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle serbest formlarda gözlenen yüksek antioksidan kapasite, kuersetin dışındaki faktörlerin etkinliğe katkısını işaret etmektedir.

4.2.4. Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC) sonuçları

Bu çalışmada, eczanelerde satılan 11 farklı kuersetin içeren ürün üzerinde CUPRAC yöntemi uygulanmış, ürünlerin 0,125 mg/mL, konsantrasyonda TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) değerleri hesaplanmıştır.



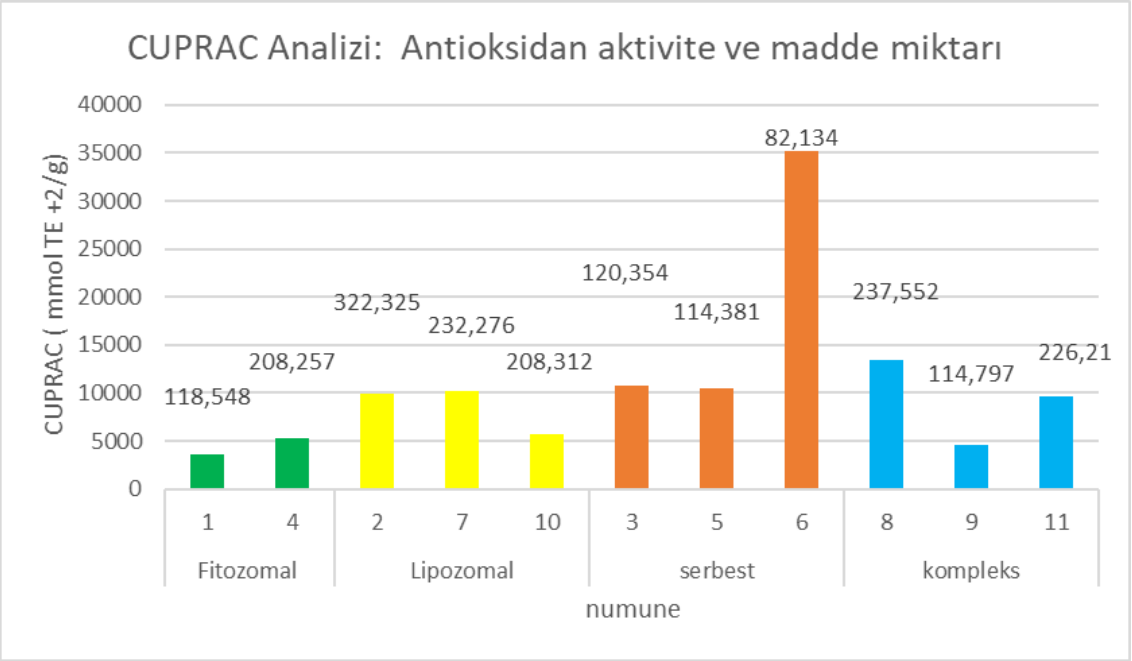
Şekil 4.10: Trolox bileşiğinin kalibrasyon grafiği

Antioksidan kapasite, Trolox eşdeğeri (TEAC) olarak daha sonra da gram başına µmol troloks eşdeğeri (µmol TEAC/g) olarak hesaplandı. Bunun için Trolox'un farklı konsantrasyonları ile elde edilen kalibrasyon eğrisinden yararlanıldı.

Tablo 4.15: CUPRAC analizi sonuçları

Numune	mmol TE/g	Kuersetin Miktarı (mg)	Formülasyon
Numune 1	3622,47	118,55	Fitozomal
Numune 2	9875,14	322,33	Lipozomal
Numune 3	10767,70	120,35	Serbest
Numune 4	5217,68	208,26	Fitozomal
Numune 5	10440,11	114,38	Serbest
Numune 6	35170,68	82,13	Serbest
Numune 7	10240,71	232,28	Lipozomal
Numune 8	13407,40	237,55	Kompleks
Numune 9	4538,76	114,80	Kompleks
Numune 10	5649,72	208,31	Lipozomal
Numune 11	9552,30	226,21	Kompleks

Analiz bulgularına göre ürünlerin CUPRAC değerleri 3622,47 ile 35170,68 mmolTE/g arasında değişim göstermiştir. En yüksek antioksidan kapasiteye sahip olan Numune 6, en az kuersetin miktarına sahip ve serbest formda olmasına rağmen 35170,68 mmolTE/g değeri ile diğer tüm ürünlerin önündedir.



Şekil 4.11: Ürünlerin formülasyonlarına göre CUPRAC testi analiz grafiği

Lipozomal formlar (Numune 2, 7 ve 10), ortalama olarak yüksek CUPRAC değerleri sunmuştur (9.875,14 – 10.240,71 mmolTE/g). Bu bulgular, lipozomal teknolojinin kuersetin stabilitesini ve redüksiyon kapasitesini artırıcı bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle Numune 7 ve 2, hem kuersetin içeriği yüksek hem de antioksidan kapasite bakımından öne çıkan ürünler arasında yer almıştır.

Fitozomal formlar (Numune 1 ve 4) ise diğer formlara kıyasla daha düşük CUPRAC değerleri göstermiştir (3622,47 – 5217,68 mmolTE/g). Bu durum, fitozomal sistemin antioksidan kapasiteyi sınırlı artırabileceğini veya test koşullarında daha az reaksiyona girebilecek bir yapı sunabileceğini düşündürmektedir.

Serbest formdaki diğer ürünler (Numune 3 ve 5), yüksek kuersetin içermelerine rağmen, CUPRAC değerleri bakımından daha düşük performans göstermiştir. Bu da kuersetin içeriğinin yüksek olmasının her zaman daha yüksek antioksidan kapasite anlamına gelmediğini, biyoyararlanım ve formülasyon faktörlerinin dikkate alınması gerektiğini ortaya koymaktadır. Bu durum, bazı bileşiklerin yüksek konsantrasyonlarda stabil olmayabileceğini veya CUPRAC reaksiyonlarında doygunluk veya inhibitör etkiler olabileceğini düşündürür (100).

Kompleks formülasyona sahip ürünler (Numune 8, 9 ve 11) de dikkate değer sonuçlar vermiştir. Özellikle Numune 8, 13407,40 mmolTE/g gibi yüksek bir antioksidan kapasite sergilemiştir. İçeriğinde yer alan C vitamini, bromelain ve enzim kompleksleri, kuersetin ile sinerjik bir etki yaratarak antioksidan kapasiteyi artırmış olabilir.

Bu bulgular, kuersetin içeren tüm eczane ürünlerinin antioksidan kapasiteye sahip olduğunu ancak etkinliklerinin formülasyona bağlı olarak önemli ölçüde farklılık gösterebileceğini göstermektedir. Tüketici açısından bu durum, ürün seçiminde sadece kuersetin miktarının değil, aynı zamanda formuna ve analizlerle desteklenen etkinliğine de dikkat edilmesi gerektiğini ortaya koyar.

5. TARTIŞMA

Çalışmada, ticari olarak temin edilen 11 farklı kuersetin takviyesinin içerik etiketlerinde beyan edilen kuersetin miktarları ile HPLC analizleri sonucunda tespit edilen gerçek kuersetin düzeyleri karşılaştırılmış ve her ürünün DPPH•, ABTS•$^{+}$, FRAP ve CUPRAC yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir (Tablo 5.1).

Tablo 5.1: HPLC ve antioksidan aktivite tayini sonuçları ile ürünlerin etiket bilgisi

Numune	**Kuersetin Miktarı (mg, 1 kapsül)**	**HPLC Sonucu (mg)**	**DPPH$^{\cdot}$ (mg/mL)**	**ABTS$^{\cdot+}$ (mg/mL)**	**FRAP (mmol Fe2+/g)**	**CUPRAC (mmol TE/g)**	**Form/Diğer İçerikler**
Numune 1	100	118,55	0,0127	0,0028	2821,10	3622,47	Fitozomal
Numune2	100	322,33	0,0100	0,0008	5462,35	9875,14	Lipozomal
Numune3	500	120,35	0,0086	0,0015	6666,96	10767,70	Serbest
Numune4	100	208,26	0,0038	0,0020	3369,41	5217,68	Fitozomal
Numune5	250	114,38	0,0043	0,0020	4615,07	10440,11	Serbest
Numun6	250	82,13	0,0172	0,0007	7848,96	35170,68	Serbest
Numune7	125	232,28	0,0148	0,0018	5030,77	10240,71	Lipozomal
Numune8	250	237,55	0,0035	0,0023	5321,35	13407,40	Kompleks
Numune9	250	114,80	0,0268	0,0029	3910,98	4538,76	Kompleks
Numune10	250	208,31	0,0155	0,0033	3767,24	5649,72	Lipozomal
Numune 11	250	226,21	0,0104	0,0015	3742,62	9552,30	Kompleks

Bu tablo, kuersetin formunun ve yardımcı bileşenlerin ürünlerin antioksidan kapasitesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek açısından oldukça kritiktir.

Analiz sonuçlarına göre, birçok üründe etiket üzerinde beyan edilen kuersetin miktarları ile HPLC ile ölçülen gerçek içerik değerleri arasında önemli farklılıklar gözlemlenmiştir. Örneğin: Ürün 2'de 100 mg olarak beyan edilen kuersetin içeriği, analiz sonucunda 322,33 mg bulunmuştur. Benzer şekilde, Ürün 3'te 500 mg olarak bildirilen kuersetin, yalnızca 120,35 mg olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen veriler literatürde daha önce rapor edilen bazı çalışmalar ile uyumlu olduğu görülmüştür. Kızılkaya ve ark. (2024) tarafından yapılan bir çalışmada, ticari fenolik takviyelerde HPLC–DAD ile kuersetin içeriği analiz edilmiş ve etiket değerlerinin gerçek içeriklerle sık sık tutarsız olduğu bildirilmiştir. Ortalama geri kazanım oranları %99–100 aralığında olmakla birlikte içeriğin beyan edildiği gibi olmadığı vurgulanmıştır (102). Benzer şekilde yapılan bir çalışmada, trans-resveratrol ve kuersetin içeren gıda takviyelerinde HPTLC + HPLC ile yapılan analiz sonucunda ürünlerin tamamında gerçek kuersetin miktarının beyanla tutmadığı; birçoğunun beyan değerinin altında kaldığı tespit edilmiştir (103).

DPPH ve ABTS yöntemleri, serbest ve katyon radikali süpürme kapasitesini ölçen yaygın testlerdir. Genel olarak kuersetin miktarının yüksek olması, her iki yöntemde de daha düşük IC_{50} değerleri (yani daha yüksek aktivite) ile ilişkilendirilmiştir. Ancak ürün 6 (250 mg kuersetin, 82, 13 mg analiz sonucu), DPPH değeri 0,0172 mg/mL ile en yüksek antioksidan kapasiteyi göstermiştir. Bu durum, miktar kadar formülasyon tipinin (örneğin lipozomal veya serbest form) ve yardımcı içeriklerin (vitamin C, enzimler) antioksidan etkinliği önemli ölçüde etkileyebileceğini göstermektedir.

FRAP ve CUPRAC testleri, örneklerin elektron bağışlama potansiyelini gösterir. Ürün 6, FRAP: 7848,96 mmol Fe^{2+}/g ve özellikle CUPRAC: 35170,68 mmol TE/g ile tüm ürünler arasında en yüksek indirgeme kapasitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ancak, ürün 2 (lipozomal form), yüksek kuersetin içeriği ile birlikte oldukça güçlü CUPRAC (11059,68mmol TE/g) ve FRAP (5462,35mmol Fe^{2+}/g) değerleri göstermiştir. CUPRAC testinin, özellikle lipofilik formülasyonlardaki kuersetin ürünlerinde daha güçlü bir ayrım sunduğu görülmektedir.

Lipozomal ve fitozomal kuersetinler, serbest forma kıyasla daha yüksek biyoyararlanım sağlama potansiyeline rağmen, antioksidan aktivite açısından her zaman daha güçlü sonuç vermemiştir. Ürün 6 (serbest form) en yüksek aktiviteyi gösterirken, Ürün 1 (fitozomal Quercefit®) daha düşük bir antioksidan kapasite sergilemiştir. Ayrıca vitamin C, bromelain ve bitkisel karışımlar içeren ürünlerde (örn. Ürün 8, 9, 11) kuersetin dışı bileşenlerin sinerjik etkisiyle antioksidan kapasitede artış gözlemlenmiştir. Lipozomal kuersetin formülasyonlarında yapılan analizde, serbest forma kıyasla artmış antioksidan aktivite gözlemlenmiştir. Lipozom taşıyıcı sistemli kuersetin formülasyonları, yavaş salınım özellikleri sayesinde kararlı radikal giderme aktiviteleri sergilendiği rapor edilmiştir (104). Bu bulgular, çalışmamızda ürün 2, 7 ve 10'daki lipozomal/fitozomal formülasyonların antioksidan aktivitelerinin genellikle serbest forma göre daha yüksek olabileceğini desteklemektedir.

$DPPH^{\bullet}$ serbest radikal giderme aktivite analizinde elde edilen IC_{50} değerleri 0.0035 ile 0.0267 mg/mL arasında değişmektedir. En düşük IC_{50} değerine sahip Numune 8 (0.0035 mg/mL), en yüksek antioksidan kapasiteyi göstermiştir. Diğer yandan Numune 9 (0.0267 mg/mL) en zayıf etkiyi sergilemiştir. Düşük IC_{50} değeri, daha güçlü bir radikal süpürme kapasitesi anlamına geldiğinden, bu parametre ile ürünlerin etkinliği güvenilir şekilde sınıflandırılabilmektedir. Ancak Numune 2 ve 7, yüksek kuersetin içeriğine rağmen (322,33 mg ve 232,28 mg) göreli olarak daha yüksek IC_{50} değerlerine sahip olup, formülasyondan kaynaklı biyoyararlanım sorunlarını işaret etmektedir. Özellikle Numune 2 ve 7 kutu üzerinde beyan edilenden daha yüksek kuersetin içermesine rağmen düşük aktivite göstermesi antioksidan takviyelerde yalnızca etken madde miktarının yeterli olmadığını, formülasyonun da belirleyici olduğunu ortaya koymaktadır. Bulgularımız, mevcut bilimsel literatürle örtüşmekte ve gıda takviyelerinde formülasyon duyarlılığına sahip kalite kontrol yaklaşımlarının gerekliliğini vurgulamaktadır (105).

$ABTS^{\bullet+}$ katyon radikal giderme aktivite analizinde tüm numuneler 0.005 mg/mL gibi düşük konsantrasyonlarda dahi yüksek radikal süpürme kapasitesi göstermiş, tüm numunelerin IC_{50} değerlerinin 0,05 mg/mL (50 µg/mL) altında olduğu, dolayısıyla çok güçlü antioksidan sınıfında yer aldığı belirlenmiştir (97). Bu sonuçlar, ABTS yönteminin hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlara duyarlı olması nedeniyle DPPH'ye göre daha geniş bir antioksidan profili sunduğunu göstermektedir.

FRAP analizinde ise, Numune 6 (7848,96 mmol Fe2+/g)) ve Numune 3 (6666,96 mmol Fe2+/g) gibi ürünler çok güçlü antioksidan sınıfına girmiştir. Bu, DPPH ve ABTS ile tutarlı bir şekilde antioksidan potansiyeli desteklemektedir.

Formülasyonu lipozomal veya fitozomal olan ürünler genellikle yüksek değerler göstermiştir. Lipozomal ya da fitozomal özellikte olmamasına rağmen özellikle Numune 6 (35170,68 mmol TE/g) ve Numune 8 (11612,78 mmol TE/g), yüksek antioksidan kapasiteyle dikkat çekmiş, bu ürünlerin içerik olarak daha stabil ve etkili formlar içerdiği düşünülmektedir. Bu bulgular, kuersetinin biyoyararlanımını artıran taşıyıcı sistemlerin (örneğin fosfolipit kaplama) antioksidan etkisini önemli ölçüde artırdığını göstermektedir (106). Özellikle, bazı kuersetin ürünlerinde (örneğin Numune 6), yüksek antioksidan kapasite, kuersetinin flavonoid yapısındaki çoklu hidroksil gruplarının indirgeme gücüne bağlanabilir (107). Ancak, çok yüksek konsantrasyonlarda reaksiyon ortamında antioksidan bileşiklerin kendi aralarındaki etkileşimler, radikal yakalama kapasitesini sınırlayabilir.

HPLC analizlerine göre kuersetin miktarları 82,13 mg (Numune 6) ile 322,33 mg (Numune 2) arasında değişmektedir. Ancak en yüksek kuersetin içeriğine sahip olan Numune 2, DPPH'de güçlü etki göstermemiştir. Bu durum, etkinin yalnızca kuersetin miktarına değil, aynı zamanda taşıyıcı sistemlere ve absorpsiyon mekanizmalarına da bağlı olduğunu göstermektedir. Buna karşın Numune 8, hem yüksek madde içeriği (237,55 mg) hem de tüm analizlerde yüksek antioksidan kapasite ile uyumludur. Bu durum hem etkin madde miktarı hem de formülasyonun sinerjik etkisini ortaya koymaktadır.

Dört farklı yöntemle elde edilen verilerin karşılaştırılması, sonuçların genel olarak birbiriyle tutarlı olduğunu göstermektedir. Düşük IC_{50} değerine sahip ürünler (örneğin Numune 4 ve 8), hem FRAP hem de CUPRAC analizlerinde yüksek değerler göstermiştir. Bu da DPPH ve ABTS gibi radikal süpürme yöntemleri ile FRAP ve CUPRAC gibi indirgeme gücünü ölçen yöntemlerin birlikte değerlendirilmesinin daha güçlü bir yorumlama sağladığını ortaya koymaktadır (108).

Elde edilen bulgular, eczanelerde satılan kuersetin içerikli ürünlerin genel olarak antioksidan kapasiteye sahip olduğunu, ancak bu etkinin sadece içerikteki kuersetin miktarına değil, aynı zamanda formülasyonun tipi, taşıyıcı sistemlerin kalitesi ve sinerjik bileşenlerin varlığına bağlı olduğunu göstermektedir. Bu nedenle,

tüketicilerin ürün seçiminde yalnızca etiket bilgilerine değil, aynı zamanda bağımsız analizlerle belirlenen etkinlik profillerine de dikkat etmeleri gerektiği önerilmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, eczanelerde satılan 11 farklı kuersetin içeren takviye ürününün kuersetin miktarları Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemiyle belirlenmiş; antioksidan kapasiteleri ise DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir:

HPLC Analiz Sonuçlarına göre ürünlerin çoğunda, etiket üzerinde beyan edilen kuersetin miktarları ile laboratuvar sonuçları arasında farklılıklar tespit edilmiştir. Bazı ürünlerde kuersetin miktarı etiket değerinin altında kalırken, bazılarında üzerinde bulunmuştur. Bu durum, ticari ürünlerde standardizasyon ve kalite kontrol eksikliği olduğunu göstermektedir.

DPPH yöntemiyle ölçülen antioksidan kapasite değerleri, ürünler arasında önemli farklılıklar göstermiştir. Özellikle bazı ürünlerin IC_{50} değerleri düşük bulunarak kuvvetli antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Düşük IC_{50} değeri, yüksek antioksidan kapasiteyi işaret etmektedir. ABTS yöntemi ile ölçülen IC_{50} değerleri, genellikle DPPH yöntemine göre daha düşük bulunmuştur. Bu durum, ABTS yönteminin hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlara karşı duyarlı olmasından kaynaklanabilir.

FRAP yöntemiyle yapılan analizlerde, ürünlerin demir indirgeme güçleri karşılaştırıldığında farklılıklar gözlemlenmiştir. Kuersetin miktarı yüksek olan ürünlerde FRAP değerleri de genellikle yüksek bulunmuş, bu da kuersetin 'in güçlü bir redoks kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir.

CUPRAC yöntemiyle yapılan ölçümlerde, kuersetin içeren ürünler genel olarak yüksek antioksidan kapasite göstermiştir. Fitozomal ve lipozomal kuersetin formlarında, serbest forma göre daha yüksek CUPRAC değerleri elde edilmiştir.

Analizlerin genel sonuçlarına göre, kuersetinin antioksidan kapasitesi hem doz bağımlı hem de formülasyon tipi ile ilişkili bulunmuştur. Lipozomal ve fitozomal kuersetin formülasyonları, serbest formdaki kuersetin ürünlerine kıyasla daha güçlü antioksidan etki göstermiştir.

Kuersetin içeren takviye ürünlerinin kalite kontrol süreçleri hem kuersetin miktarlarının hem de antioksidan kapasitelerinin güvenilir bir şekilde ölçülmesi için HPLC ve çoklu antioksidan analiz yöntemleri (DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC) ile desteklenmelidir.

Ürünlerin etiketlerinde beyan edilen kuersetin miktarlarının, laboratuvar analizleriyle elde edilen gerçek değerlerle uyumlu olması beklenmektedir. Ancak yapılan analizler sonucunda, bazı takviye ürünlerinde kutu üzerinde belirtilen kuersetin miktarlarının, ölçülen değerlerle önemli ölçüde farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum hem tüketici güvenliği hem de bilimsel doğruluk açısından kaygı vericidir. Bu nedenle, üretici firmaların daha sıkı bir şekilde denetlenmesi ve tüketicilere içerik hakkında daha şeffaf ve güvenilir bilgi sunulması gerekmektedir.

Antioksidan analizlerinde sadece bir yöntem kullanmak yerine, farklı yöntemlerin birlikte kullanılması önerilir. Çünkü her yöntemin farklı mekanizmalarla ölçüm yaptığı ve tek başına yeterli bir değerlendirme sağlamadığı unutulmamalıdır.

Lipozomal ve fitozomal formülasyonlar, kuersetinin biyoyararlanımını ve antioksidan kapasitesini artırmaktadır. Bu nedenle, taşıyıcı sistemlerin optimize edilmesi ve bu tür formülasyonların geliştirilmesine yönelik araştırmaların teşvik edilmesi önemlidir.

Gelecek çalışmalarda, *in vitro* analizlerin *in vivo* biyoyararlanım çalışmaları ile desteklenmesi ve kuersetin içeren ürünlerin farmakokinetik ve terapötik etkilerinin daha kapsamlı şekilde araştırılması gerekmektedir.

Kuersetinin antioksidan kapasitesinin yanı sıra antienflamatuvar, antiproliferatif ve kardiyovasküler koruyucu etkilerinin de araştırıldığı çok yönlü çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Bestil, D. N., & Uysal, H. (2023). Flavonoidler ve Biyolojik Aktiviteleri. Antakya Veteriner Bilimleri Dergisi, 2(1), 49-55.
2. Akbay, G. D. (2021). Oleuropein ve Kuersetinin Covıd-19 Hastalığında Etkinliği. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6(3), 239-248.
3. Deepika, &Maurya, P. K. (2022). Healthbenefits of quercetin in age-relateddiseases. Molecules, 27(8), 2498.
4. Carrillo-Martinez, E. J., Flores-Hernández, F. Y., Salazar-Montes, A. M., Nario-Chaidez, H. F., &Hernández-Ortega, L. D. (2024). Quercetin, a flavonoid withgreatpharmacologicalcapacity. Molecules, 29(5), 1000.
5. Aghababaei, F., &Hadidi, M. (2023). Recentadvances in potentialhealthbenefits of quercetin. Pharmaceuticals, 16(7), 1020.
6. Xu, D., Hu, M. J., Wang, Y. Q., &Cui, Y. L. (2019). Antioxidantactivities of quercetinanditscomplexesformedicinalapplication. Molecules, 24(6), 1123.
7. Nijveldt, R. J., Van Nood, E. L. S., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A. (2001). Flavonoids: a review of probablemechanisms of actionandpotentialapplications. TheAmericanjournal of clinicalnutrition, 74(4), 418-425.
8. Mirza, M. A., Mahmood, S., Hilles, A. R., Ali, A., Khan, M. Z., Zaidi, S. A. A., ... &Ge, Y. (2023). Quercetin as a therapeuticproduct: evaluation of itspharmacologicalactionandclinicalapplications—a review. Pharmaceuticals, 16(11), 1631.
9. Boots, A. W., Haenen, G. R., &Bast, A. (2008). Healtheffects of quercetin: fromantioxidanttonutraceutical. Europeanjournal of pharmacology, 585(2-3), 325-337.
10. Kagawad, P., Gharge, S., Jivaje, K., Hiremath, S. I., &Suryawanshi, S. S. (2021). Qualitycontrolandstandardization of Quercetin in herbalmedicinesbyspectroscopicandchromatographictechniques. FutureJournal of PharmaceuticalSciences, 7(1), 176.
11. Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., &Latha, L. Y. (2011). Extraction, isolationandcharacterization of bioactivecompoundsfromplants' extracts. Africanjournal of traditional, complementaryandalternativemedicines, 8(1).
12. Shebeko, S. K., Zupanets, I. A., Popov, O. S., Tarasenko, O. O., &Shalamay, A. S. (2018). Effects of quercetinanditscombinations on health. InPolyphenols: mechanisms of action in humanhealthanddisease (pp. 373-394). AcademicPress.
13. Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M. T., Wang, S., ... &Yin, Y. (2016). Quercetin, inflammationandimmunity. Nutrients, 8(3), 167.
14. Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., &Rémésy, C. (2005). Bioavailabilityandbioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailabilitystudies. TheAmericanjournal of clinicalnutrition, 81(1), 230S-242S.
15. David, A. V. A., Arulmoli, R., &Parasuraman, S. (2016). Overviews of biologicalimportance of quercetin: A bioactive flavonoid. Pharmacognosyreviews, 10(20), 84.
16. Egert, S., &Rimbach, G. (2011). Whichsources of flavonoids: complexdietsordietarysupplements?.Advances in Nutrition, 2(1), 8-14.
17. Çimen, M. B. Y. (1999). Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. Turkiye Klinikleri Journal of MedicalSciences, 19(5), 296-304.
18. Morand, C., Crespy, V., Manach, C., Besson, C., Demigne, C., &Remesy, C. (1998). Plasmametabolites of quercetinandtheirantioxidantproperties. AmericanJournal of Physiology-Regulatory, IntegrativeandComparativePhysiology, 275(1), R212-R219.
19. Lakhanpal, P., & Rai, D. K. (2007). Quercetin: a versatile flavonoid. Internet Journal of Medical Update, 2(2), 22-37.
20. El-SaberBatiha, G., MagdyBeshbishy, A., G. Wasef, L., Elewa, Y. H., A. Al-Sagan, A., Abd El-Hack, M. E., ... &PrasadDevkota, H. (2020). Chemicalconstituentsandpharmacologicalactivities of garlic (Alliumsativum L.): A review. Nutrients, 12(3), 872.
21. Hollman, P. C., Van Trijp, J. M., Buysman, M. N., vdGaag, M. S., Mengelers, M. J., De Vries, J. H., & Katan, M. B. (1997). Relativebioavailability of theantioxidant flavonoid quercetinfromvariousfoods in man. FEBS letters, 418(1-2), 152-156.

22. Tang, S. M., Deng, X. T., Zhou, J., Li, Q. P., Ge, X. X., &Miao, L. (2020). Pharmacologicalbasisandnewinsights of quercetinaction in respecttoits anti-cancereffects. Biomedicine&Pharmacotherapy, 121, 109604.
23. Frenț, O. D., Stefan, L., Morgovan, C. M., Duteanu, N., Dejeu, I. L., Marian, E., ... &Manole, F. (2024). A SystematicReview: Quercetin—Secondary Metabolite of theFlavonol Class, with Multiple HealthBenefitsandLowBioavailability. International Journal of MolecularSciences, 25(22), 12091.
24. Lee, J., & Mitchell, A. E. (2012). Pharmacokinetics of quercetinabsorptionfromapplesandonions in healthyhumans. Journal of agriculturalandfoodchemistry, 60(15), 3874-3881.
25. Liu, L., Barber, E., Kellow, N. J., & Williamson, G. (2025). Improvingquercetinbioavailability: A systematicreviewand meta-analysis of humaninterventionstudies. FoodChemistry, 143630.
26. Riva, A., Ronchi, M., Petrangolini, G., Bosisio, S., &Allegrini, P. (2019). Improved oral absorption of quercetinfromquercetinphytosome®, a newdeliverysystembased on foodgradelecithin. Europeanjournal of drugmetabolismandpharmacokinetics, 44, 169-177.
27. Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., &Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolismandstructure-activityrelationships. TheJournal of nutritionalbiochemistry, 13(10), 572-584.
28. Cook, N. C., &Samman, S. (1996). Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotectiveeffects, anddietarysources. TheJournal of nutritionalbiochemistry, 7(2), 66-76.
29. Reyes-Farias, M., &Carrasco-Pozo, C. (2019). The anti-cancereffect of quercetin: molecularimplications in cancermetabolism. International journal of molecularsciences, 20(13), 3177.
30. Ozgen, S., Kilinc, O. K., & Selamoğlu, Z. (2016). Antioxidantactivity of quercetin: a mechanisticreview. TurkishJournal of Agriculture-FoodScienceandTechnology, 4(12), 1134-1138.
31. Seo, H. S., Ku, J. M., Choi, H. S., Choi, Y. K., Woo, J. K., Kim, M., ... &Ko, S. G. (2016). Quercetininducescaspase-dependentextrinsic apoptosis throughinhibition of signaltransducerandactivator of transcription 3 signaling in HER2-overexpressing BT-474 breastcancercells. Oncologyreports, 36(1), 31-42.
32. Yang, F., Song, L., Wang, H., Wang, J., Xu, Z., &Xing, N. (2015). Quercetin in prostatecancer: Chemotherapeuticandchemopreventiveeffects, mechanismsandclinicalapplicationpotential. Oncologyreports, 33(6), 2659-2668.
33. Uttarawichien, T., Kamnerdnond, C., Inwisai, T., Suwannalert, P., Sibmooh, N., &Payuhakrit, W. (2021). Quercetininhibitscolorectalcancercellsinduced-angiogenesis in bothcolorectalcancercellandendothelialcellthroughdownregulation of VEGF-A/VEGFR2. ScientiaPharmaceutica, 89(2), 23.
34. Rather, R. A., &Bhagat, M. (2020). Quercetin as an innovativetherapeutictoolforcancerchemoprevention: Molecularmechanismsandimplications in humanhealth. Cancermedicine, 9(24), 9181-9192.
35. Asgharian, P., Tazekand, A. P., Hosseini, K., Forouhandeh, H., Ghasemnejad, T., Ranjbar, M., ... &Cho, W. C. (2022). Potentialmechanisms of quercetin in cancerprevention: focus on cellularandmoleculartargets. Cancercellinternational, 22(1), 257.
36. Chien, S. Y., Wu, Y. C., Chung, J. G., Yang, J. S., Lu, H. F., Tsou, M. F., ... & Chen, D. R. (2009). Quercetin-induced apoptosis acts through mitochondrial-and caspase-3-dependent pathways in human breast cancer MDA-MB-231 cells. Human & experimental toxicology, 28(8), 493-503.
37. Ward, A. B., Mir, H., Kapur, N., Gales, D. N., Carriere, P. P., & Singh, S. (2018). Quercetininhibitsprostatecancerbyattenuatingcellsurvivalandinhibiting anti-apoptoticpathways. World journal of surgicaloncology, 16, 1-12.
38. Amado, N. G., Predes, D., Fonseca, B. F., Cerqueira, D. M., Reis, A. H., Dudenhoeffer, A. C., ... &Abreu, J. G. (2014). Isoquercitrinsuppressescoloncancercellgrowth in vitro bytargetingtheWnt/β-cateninsignalingpathway. Journal of BiologicalChemistry, 289(51), 35456-35467.
39. Dewi, F. R. P., Marviella, S. T., Wahyuningsih, S. P. A., ROSYIDAH, A. L., LIM, V., Saik, A. Y. H., ... &Looi, M. L. (2024). Antimetastaticeffect of nanodiamond-conjugatedquercetinagainstcoloncancer: an in vivostudy. TurkishJournal of Biology, 48(5), 279-289.
40. Ranganathan, S., Halagowder, D., &Sivasithambaram, N. D. (2015). Quercetinsuppressestwisttoinduce apoptosis in MCF-7 breastcancercells. PloSone, 10(10),

e0141370.
41. Shi, H., Li, X. Y., Chen, Y., Zhang, X., Wu, Y., Wang, Z. X., ... & Zhou, J. (2020). Quercetininduces apoptosis viadownregulation of vascularendothelialgrowthfactor/Aktsignalingpathway in acutemyeloidleukemiacells. Frontiers in Pharmacology, 11, 534171.
42. Priya, S. D., & Devi, C. S. (1999). Protectiveeffect of quercetin in cisplatin-inducedcellinjury in theratkidney. Indianjournal of pharmacology, 31(6), 422-426.
43. Chen, S., Jiang, H., Wu, X., &Fang, J. (2016). Therapeuticeffects of quercetin on inflammation, obesity, andtype 2 diabetes. Mediators of inflammation, 2016(1), 9340637.
44. Sul, O. J., &Ra, S. W. (2021). Quercetinprevents LPS-inducedoxidativestressandinflammationbymodulating NOX2/ROS/NF-kB in lungepithelialcells. Molecules, 26(22), 6949.
45. Zhang, F., Zhang, Y., Zhou, J., Cai, Y., Li, Z., Sun, J., ... &Hao, G. (2024). Metaboliceffects of quercetin on inflammatoryandautoimmuneresponses in rheumatoidarthritisaremediatedthroughtheinhibition of JAK1/STAT3/HIF-1α signaling. MolecularMedicine, 30(1), 170.
46. Halliwell, B., &Gutteridge, J. M. (1985). Freeradicals in biologyandmedicine.
47. Vázquez-Flores, L. F., Casas-Grajales, S., Hernández-Aquino, E., Vargas-Pozada, E. E., &Muriel, P. (2017). Antioxidant, antiinflammatory, andantifibroticproperties of quercetin in theliver. InLiverPathophysiology (pp. 653-674). AcademicPress.
48. Jiang, Z., Yan, M., Qin, Y., Liu, Z., Duan, Y., Wang, Y., ... & Ke, J. (2024). Quercetinalleviatesulcerativecolitisthroughinhibiting CXCL8-CXCR1/2 axis: a network andtranscriptomeanalysis. Frontiers in Pharmacology, 15, 1485255.
49. Xiong, F., Shen, K., Long, D., Zhou, S., Ruan, P., Xin, Y., ... & Lu, Q. (2024). Quercetinameliorates lupus symptomsbypromotingthe apoptosis of senescentTfhcellsviathe Bcl-2 pathway. Immunity&Ageing, 21(1), 69.
50. Lesjak, M., Beara, I., Simin, N., Pintać, D., Majkić, T., Bekvalac, K., ... &Mimica-Dukić, N. (2018). Antioxidantand anti-inflammatoryactivities of quercetinanditsderivatives. Journal of functionalfoods, 40, 68-75.
51. Azeem, M., Hanif, M., Mahmood, K., Ameer, N., Chughtai, F. R. S., &Abid, U. (2023). An insightintoanticancer, antioxidant, antimicrobial, antidiabeticand anti-inflammatoryeffects of quercetin: A review. PolymerBulletin, 80(1), 241-262.
52. Qi, W., Qi, W., Xiong, D., &Long, M. (2022). Quercetin: Itsantioxidantmechanism, antibacterialpropertiesandpotentialapplication in preventionandcontrol of toxipathy. Molecules, 27(19), 6545.
53. Kannan, S., Balakrishnan, J., Govindasamy, A., &Arunagiri, R. (2022). New insightsintotheantibacterialmode of action of quercetinagainsturopathogenSerratiamarcescens in-vivoand in-vitro. ScientificReports, 12(1), 21912.
54. Tarabishi, A. A., Mashhoud, J., & Tahan, Z. S. (2024). Quercetinand rutin as a dualapproachtoantibacterialand anti-biofilmactivityviaironchelationmechanism. DiscoverFood, 4(1), 1-10.
55. Martiniakova, M., Babikova, M., &Omelka, R. (2020). Pharmacologicalagentsandnaturalcompounds: availabletreatmentsforosteoporosis. Journal of Physiology&Pharmacology, 71(3).
56. Wong, S. K., Chin, K. Y., &Ima-Nirwana, S. (2020). Quercetin as an agentforprotectingthe bone: a review of thecurrentevidence. International journal of molecularsciences, 21(17), 6448.
57. Yuan, Z., Min, J., Zhao, Y., Cheng, Q., Wang, K., Lin, S., ... &Liu, H. (2018). Quercetinrescued TNF-alpha-inducedimpairments in bone marrow-derivedmesenchymalstemcellosteogenesisandimprovedosteoporosis in rats. Americanjournal of translationalresearch, 10(12), 4313.
58. Derakhshanian, H., Djalali, M., Djazayery, A., Nourijelyani, K., Ghadbeigi, S., Pishva, H., ... &Dehpour, A. R. (2013). Quercetinpreventsexperimentalglucocorticoid-inducedosteoporosis: a comparativestudywithalendronate. CanadianJournal of PhysiologyandPharmacology, 91(5), 380-385.
59. Bayazid, A. B., &Lim, B. O. (2022). Quercetin is an activeagent in berriesagainstneurodegenerativediseasesprogressionthroughmodulation of Nrf2/HO1. Nutrients, 14(23), 5132.
60. Grewal, A. K., Singh, T. G., Sharma, D., Sharma, V., Singh, M., Rahman, M. H., ... &Abdel-Daim, M. M. (2021). Mechanisticinsightsandperspectivesinvolved in neuroprotectiveaction of

quercetin. Biomedicine&Pharmacotherapy, 140, 111729.
61. Islam, M. S., Quispe, C., Hossain, R., Islam, M. T., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., ... &Sharifi-Rad, J. (2021). Neuropharmacologicaleffects of quercetin: a literature-basedreview. Frontiers in pharmacology, 12, 665031.
62. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., &Chandra, N. (2010). Freeradicals, antioxidantsandfunctionalfoods: Impact on humanhealth. Pharmacognosyreviews, 4(8), 118.
63. Ames, B. N., Shigenaga, M. K., &Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, andthedegenerativediseases of aging. Proceedings of theNational Academy of Sciences, 90(17), 7915-7922.
64. Betteridge, D. J. (2000). What is oxidativestress?.Metabolism, 49(2), 3-8.
65. Pham-Huy, L. A., He, H., &Pham-Huy, C. (2008). Freeradicals, antioxidants in diseaseandhealth. International journal of biomedicalscience: IJBS, 4(2), 89.
66. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., &Telser, J. (2007). Freeradicalsandantioxidants in normal physiologicalfunctionsandhumandisease. Theinternationaljournal of biochemistry&cellbiology, 39(1), 44-84.
67. Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in thechemistry of oxidativestress: A review. Europeanjournal of medicinalchemistry, 97, 55-74.
68. Prior, R. L., &Cao, G. (2000). Antioxidantphytochemicals in fruitsandvegetables: dietandhealthimplications. HortScience, 35(4), 588-592.
69. Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., &Kalayci, O. (2012). Oxidativestressandantioxidantdefense. World allergyorganizationjournal, 5, 9-19.
70. Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., ... & Yılmaz, B. (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). MedicalJournal of Süleyman Demirel University, 26(3), 362-369.
71. Pisoschi, A. M., &Negulescu, G. P. (2011). Methodsfor total antioxidantactivitydetermination: a review. Biochem Anal Biochem, 1(1), 106.
72. Kumar, S., &Pandey, A. K. (2013). Chemistryandbiologicalactivities of flavonoids: an overview. Thescientificworldjournal, 2013(1), 162750.
73. Yılmaz, İ. (2010). Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. Journal of Turgut OzalMedical Center, 17(2), 143-154.
74. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., &Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a freeradicalmethodtoevaluateantioxidantactivity. LWT-FoodscienceandTechnology, 28(1), 25-30.
75. Miltonprabu, S., Tomczyk, M., Skalicka-Woźniak, K., Rastrelli, L., Daglia, M., Nabavi, S. F., ... &Nabavi, S. M. (2017). Hepatoprotectiveeffect of quercetin: Fromchemistrytomedicine. FoodandChemicalToxicology, 108, 365-374.
76. Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan, J. W. (2011). Introductionto modern liquidchromatography. John Wiley&Sons.
77. Dong, M. W. (2006). Modern HPLC forpracticingscientists. John Wiley&Sons.
78. Fekete, S., Fekete, J., Molnár, I., & Ganzler, K. (2009). Rapid high performance liquid chromatography method development with high prediction accuracy, using 5 cm long narrow bore columns packed with sub-2 μm particles and Design Space computer modeling. Journal of Chromatography A, 1216(45), 7816-7823.
79. Guiochon, G. (2006). Thelimits of theseparationpower of unidimensionalcolumnliquidchromatography. Journal of Chromatography A, 1126(1-2), 6-49.
80. International CouncilforHarmonisation of Technical RequirementsforPharmaceuticalsfor Human Use. (2022). Validation of analyticalprocedures Q2(R2) (Step 2b). https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf
81. Erim, Ü. C., & Ayşit, N. (2024). Development and validation of an RP-HPLC method to compare the apoptotic activity of quercetin found in marketed dietary supplements. Journal of Research in Pharmacy, 28(5), 1653-1664.
82. FoodandDrug Administration. (2015). Analyticalproceduresandmethodsvalidationfordrugsandbiologics. US Department of Healthand Human Services.
83. Ozgen, M., Reese, R. N., Tulio, A. Z., Scheerens, J. C., & Miller, A. R. (2006). Modified 2, 2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) methodtomeasureantioxidantcapacity of selectedsmallfruitsandcomparisontoferricreducingantioxidantpower (FRAP) and 2, 2 '-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. Journal of agriculturalandfoodchemistry, 54(4),

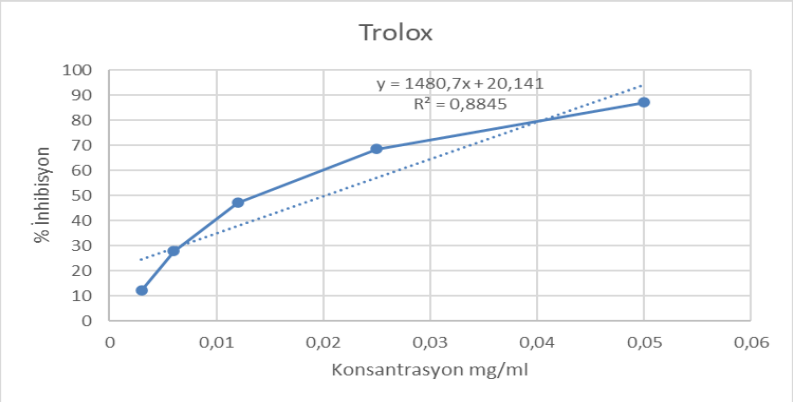
1151-1157.
84. Sharma, O. P., &Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidantassayrevisited. Foodchemistry, 113(4), 1202-1205.
85. Gulcin, İ., &Alwasel, S. H. (2023). DPPH radicalscavengingassay. Processes, 11(8), 2248.
86. Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesisanddevelopment of DPPH method of antioxidantassay. Journal of foodscienceandtechnology, 48, 412-422.
87. Hirano, R., Sasamoto, W., Matsumoto, A., Itakura, H., Igarashi, O., &Kondo, K. (2001). Antioxidantability of variousflavonoidsagainst DPPH radicalsand LDL oxidation. Journal of nutritionalscienceandvitaminology, 47(5), 357-362.
88. Erel, O. (2004). A novelautomateddirectmeasurementmethodfor total antioxidantcapacityusing a newgeneration, morestable ABTS radicalcation. Clinicalbiochemistry, 37(4), 277-285.
89. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidantactivityapplying an improved ABTS radicalcationdecolorizationassay. Freeradicalbiologyandmedicine, 26(9-10), 1231-1237.
90. Dudonne, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M., &Mérillon, J. M. (2009). Comparativestudy of antioxidantpropertiesand total phenoliccontent of 30 plantextracts of industrialinterestusing DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. Journal of agriculturalandfoodchemistry, 57(5), 1768-1774.
91. Benzie, I. F., &Strain, J. J. (1996). Theferricreducingability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidantpower": the FRAP assay. Analyticalbiochemistry, 239(1), 70-76.
92. Gohari, A. R., Hajimehdipoor, H., Saeidnia, S., Ajani, Y., &Hadjiakhoondi, A. (2011). Antioxidantactivity of somemedicinalspeciesusing FRAP assay.
93. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., &Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assaysforestimatingantioxidantactivityfromguavafruitextracts. Journal of foodcompositionandanalysis, 19(6-7), 669-675.
94. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidantcapacityindexfordietarypolyphenolsandvitamins C and E, usingtheircupricionreducingcapability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. Journal of agriculturalandfoodchemistry, 52(26), 7970-7981.
95. Rusmana, D., Wahyudianingsih, R., Elisabeth, M., Balqis, B., Maesaroh, M., &Widowati, W. (2017). Antioxidantactivity of Phyllanthusniruriextract, rutin andquercetin. TheIndonesianBiomedicalJournal, 9(2), 84-90.
96. Dwijayanto, A., Al-Yousefi, A. M. A. A., Puspasari, I., & Markom, M. (2025). Comparative Study on the Extraction of Crude Fucoidan from Brown Seaweed using Conventional, Microwave and Ultrasound-Assisted Methods. AJARCDE (Asian Journal of Applied Research for Community Development and Empowerment), 9(1), 1-6.
97. Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. sci. technol, 26(2), 211-219.
98. Huyut, Z., Beydemir, Ş., & Gülçin, İ. (2017). Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds. Biochemistry research international, 2017(1), 7616791.
99. Lv, Q. Z., Long, J. T., Gong, Z. F., Nong, K. Y., Liang, X. M., Qin, T., ... & Yang, L. (2021). Currentstate of knowledge on theantioxidanteffectsandmechanisms of action of polyphenoliccompounds. Natural Product Communications, 16(7), 1934578X211027745.
100. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Çelik, S. E. (2008). Mechanism of antioxidantcapacityassaysandthe CUPRAC (cupricionreducingantioxidantcapacity) assay. Microchimicaacta, 160, 413-419.
101. Kızılkaya, B., Akpınar, R., Baştemur, G. Y., & Özkorucuklu, S. P. (2024). Quantification of phenolic compounds in dietary supplements and antioxidant activities. Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia, 38(4), 853-862.
102. Çevik, D., Yıldırım, E. B., Güzelmeriç, E., & Yeşilada, E. (2024). Inconsistency between declared versus determined trans resveratrol and/or quercetin contents in food supplements. Journal of Research in Pharmacy, 28(6), 2078-2091.
103. Mureşan, M., Olteanu, D., Filip, G. A., Clichici, S., Baldea, I., Jurca, T., ... & Vicaş, L. (2021). Comparative study of the pharmacological properties and biological effects of polygonum aviculare L. Herba extract-entrapped liposomes versus quercetin-entrapped liposomes on doxorubicin-induced toxicity on HUVECs. Pharmaceutics, 13(9), 1418.
104. Liu, C., Cheng, X., Wu, Y., Xu, W., Xia, H., Jia, R., ... & Cheng, Z. (2023). Antioxidant activity of quercetin-containing liposomes-in-gel and its effect on prevention and treatment of cutaneous

eczema. Pharmaceuticals, 16(8), 1184.
105. Črnivec, I. G. O., Skrt, M., Polak, T., Šeremet, D., Mrak, P., Komes, D., Ulrih, N. P. (2024). Aspects of quercetinstabilityanditsliposomalenhancement in yellowonion skin extracts. Foodchemistry, 459, 140347.
106. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., &Paganga, G. (1996). Structure-antioxidantactivityrelationships of flavonoidsandphenolicacids. Freeradicalbiologyandmedicine, 20(7), 933-956.
107. Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of agricultural and food chemistry, 53(10), 4290-4302.Çevik, D., Yıldırım, E. B., Güzelmeriç, E., & Yeşilada, E. (2024). Inconsistencybetweendeclaredversusdetermined trans resveratroland/orquercetincontents in foodsupplements. Journal of Research in Pharmacy, 28(6), 2078-2091.

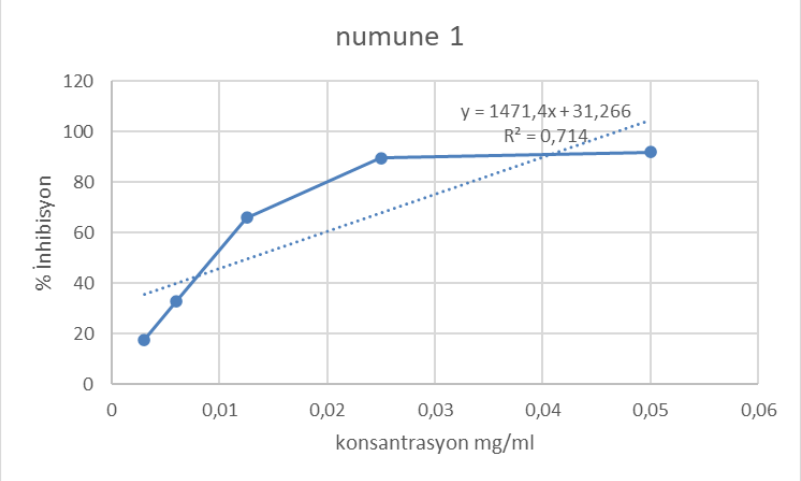
EKLER

Ek 1. Standart ve Örneklerin DPPH analizi sonucu oluşturulan kalibrasyon eğrileri

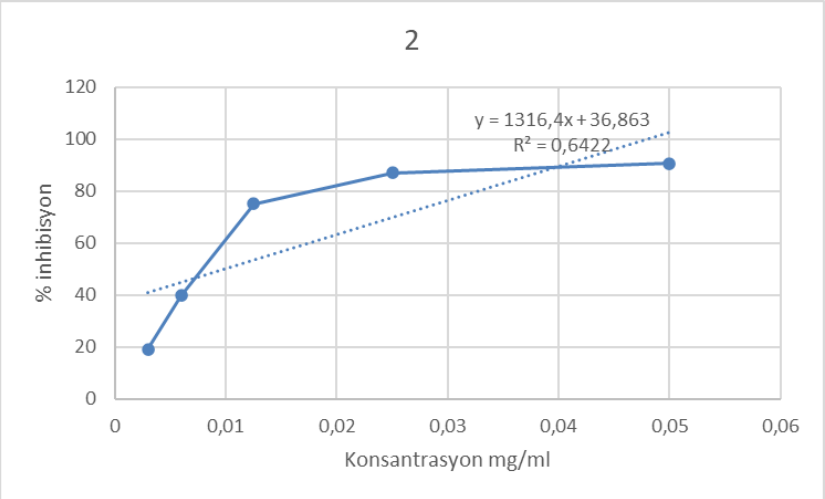
Standart (Trolox)



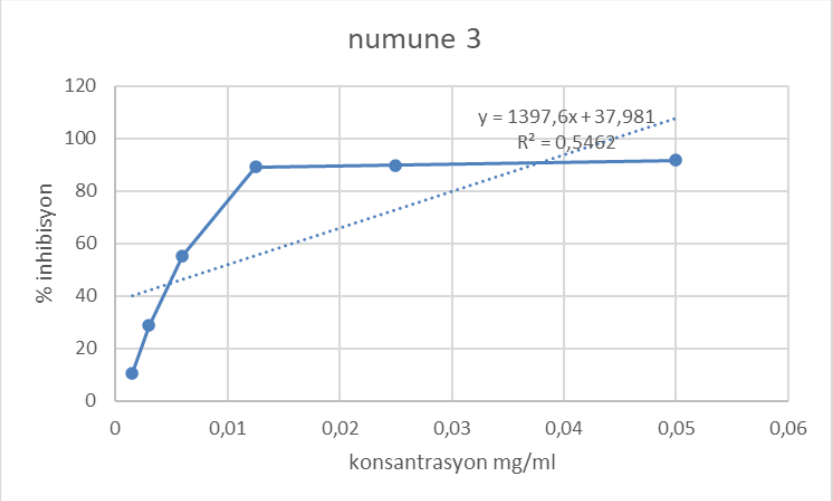
Numune 1



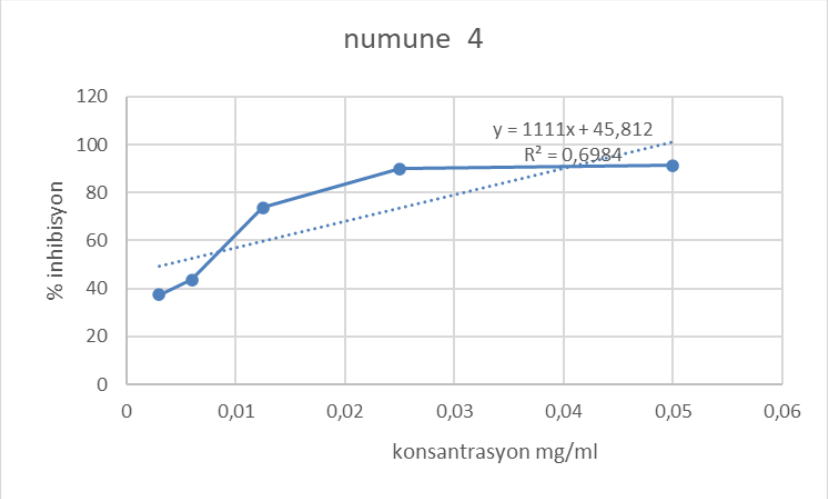
Numune 2



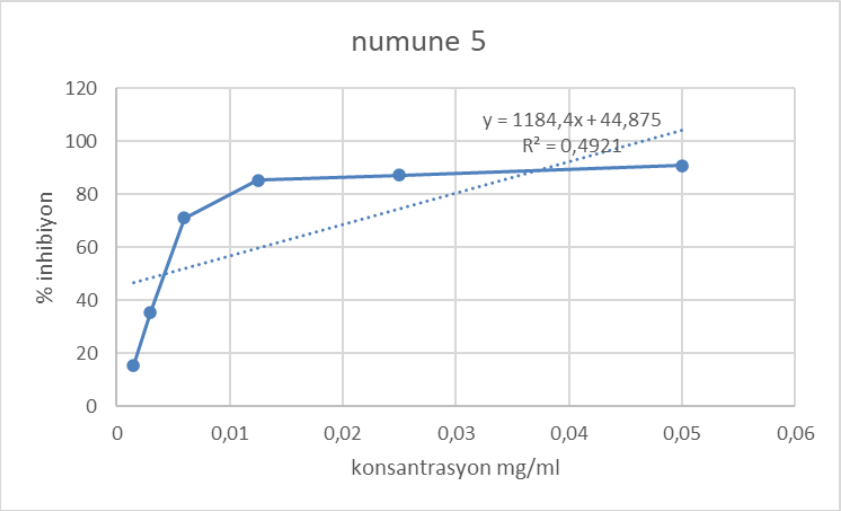
Numune 3



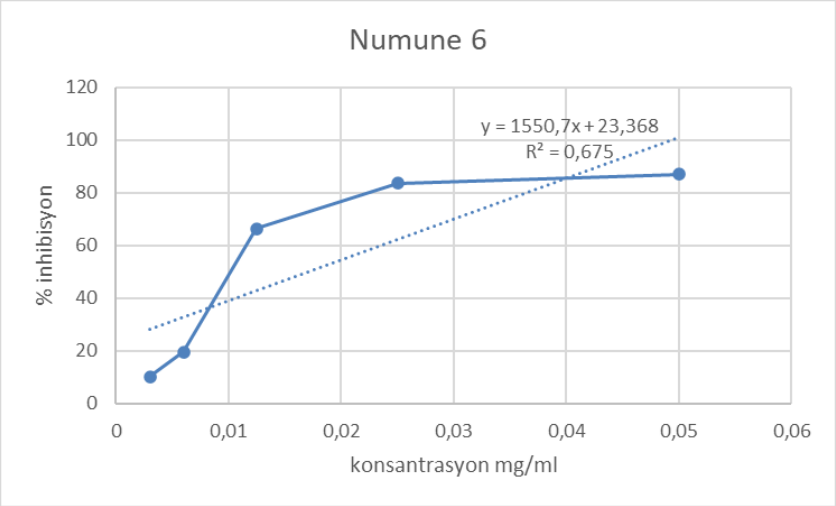
Numune 4



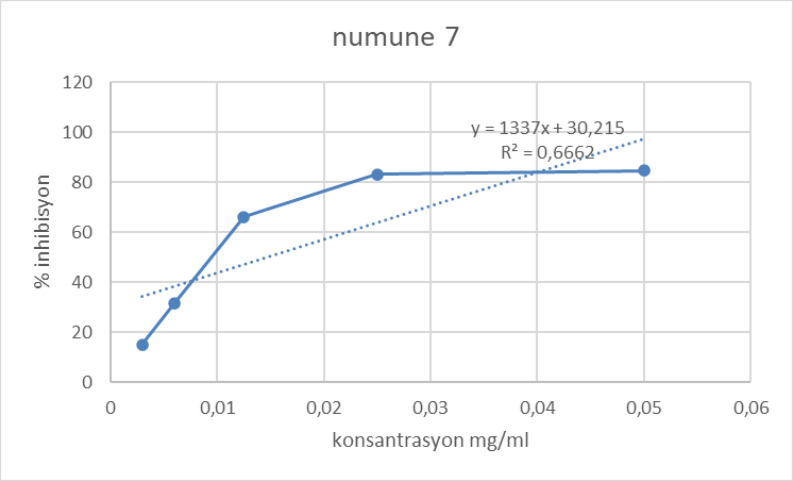
Numune 5



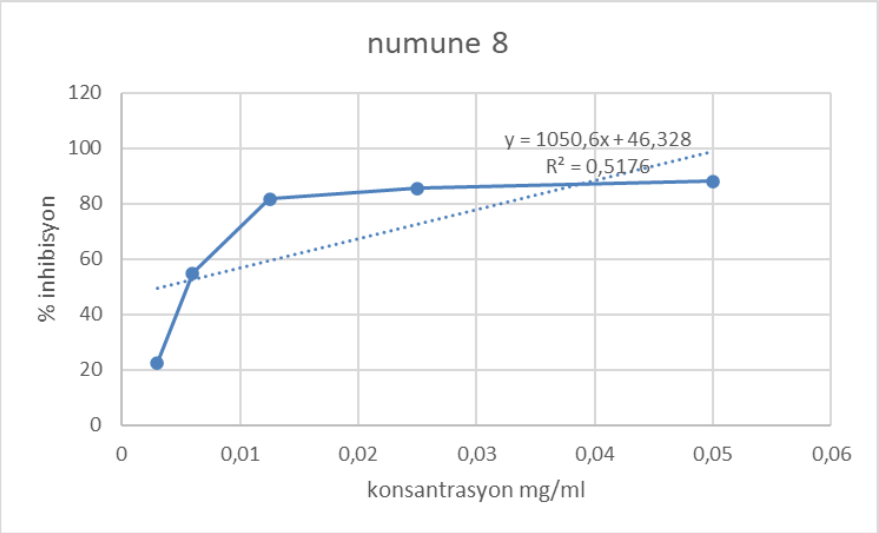
Numune 6



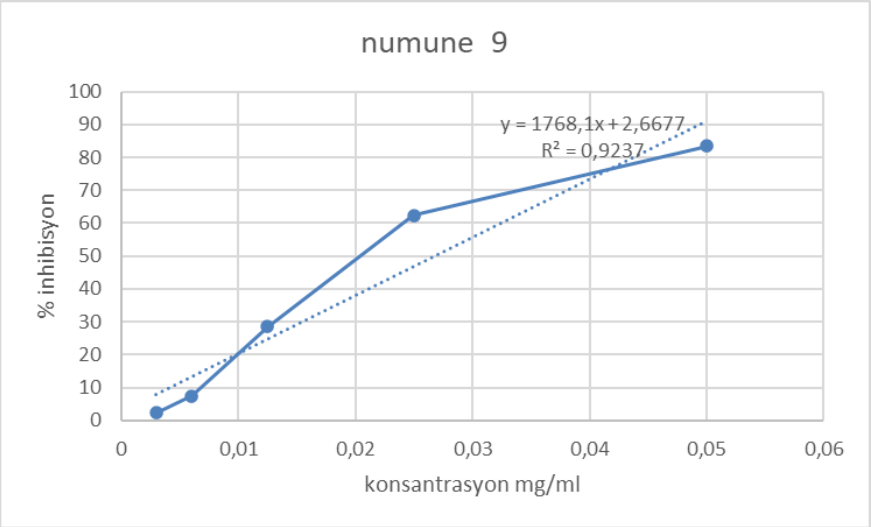
Numune 7



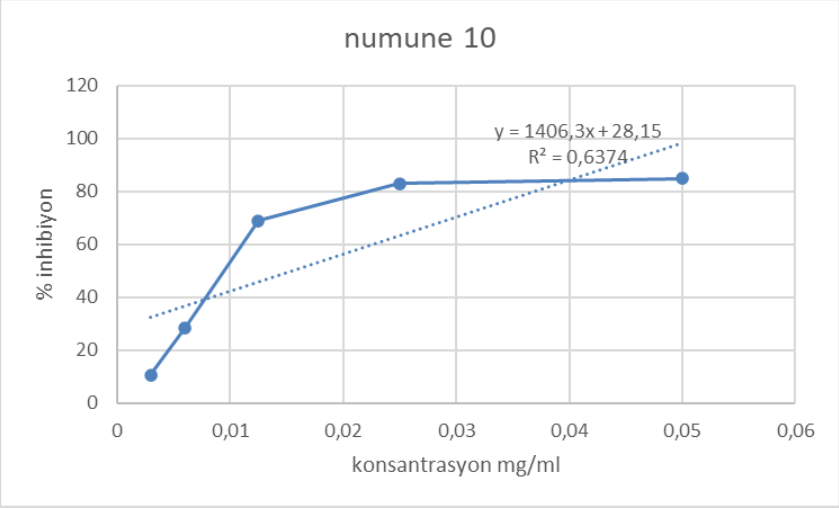
Numune 8



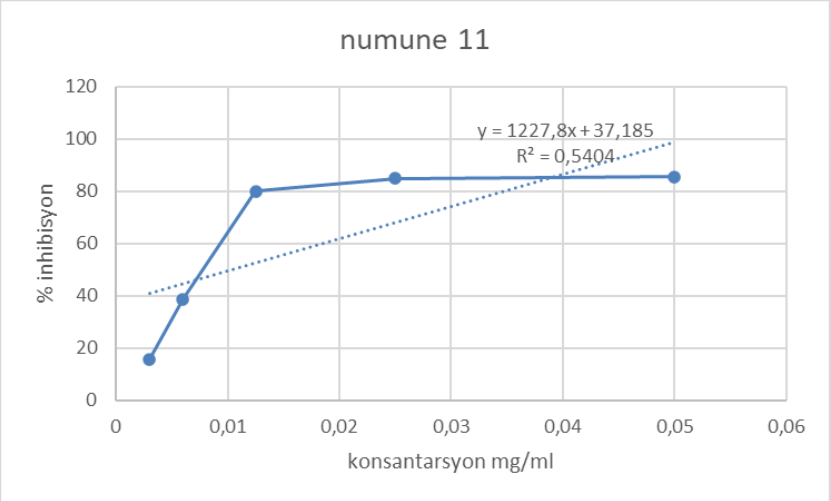
Numune 9



Numune 10

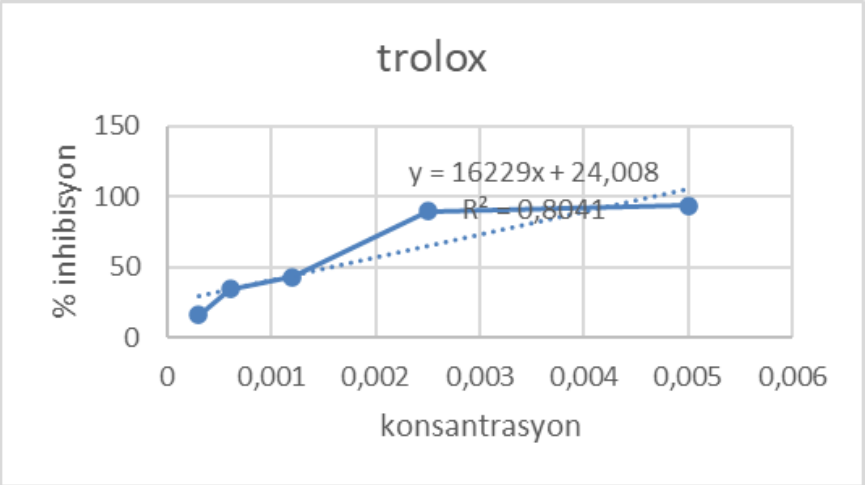


Numune 11

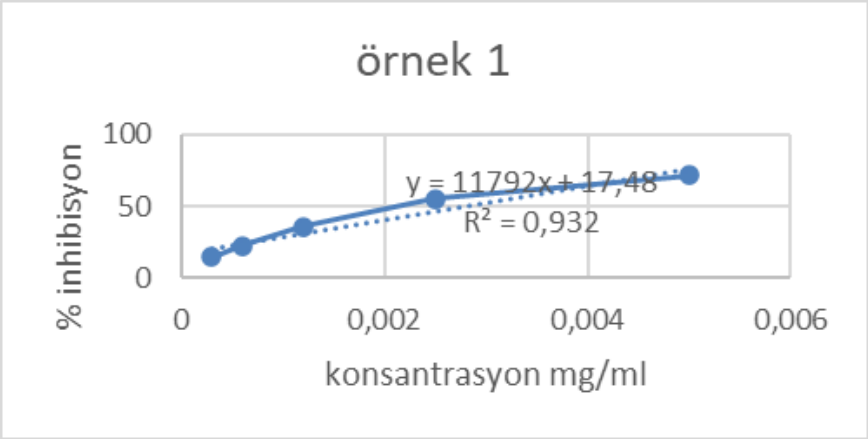

numune 11
y = 1227,8x + 37,185
R² = 0,5404
% inhibisyon
konsantarsyon mg/ml
120
100
80
60
40
20
0
0
0,01
0,02
0,03
0,04
0,05
0,06

Ek 2 : Ek 1. Standart ve Örneklerin ABTS•+ analizi sonucu oluşturulan kalibrasyon eğrileri

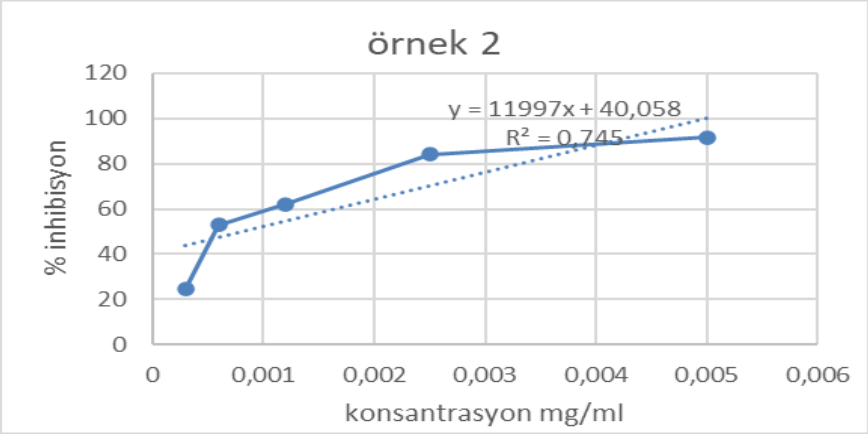
Standart (Trolox)



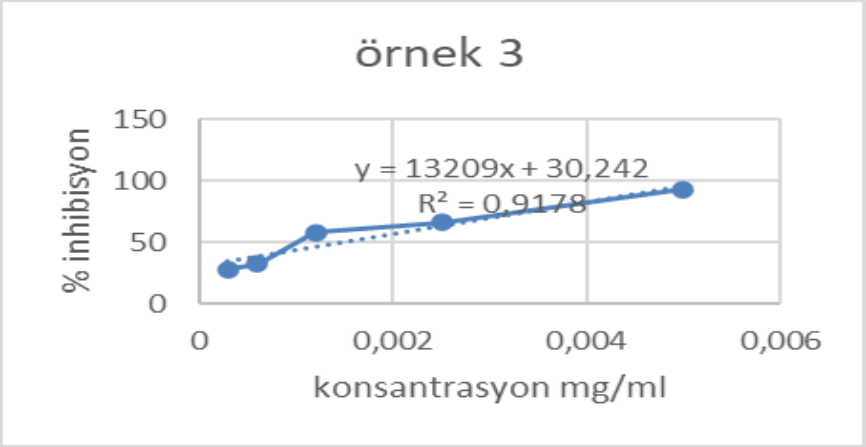
Numune 1



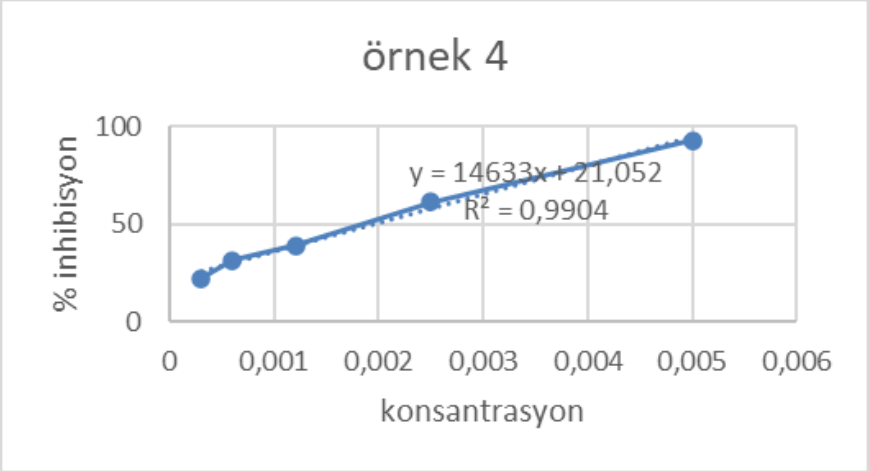
Numune 2



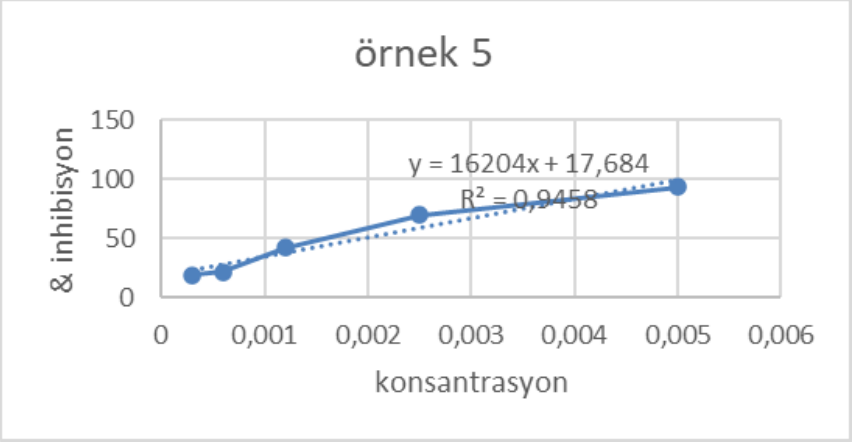
Numune 3



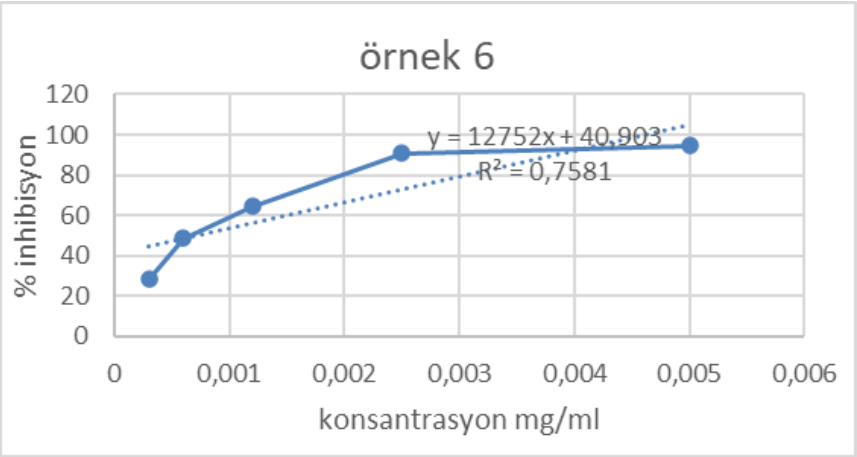
Numune 4



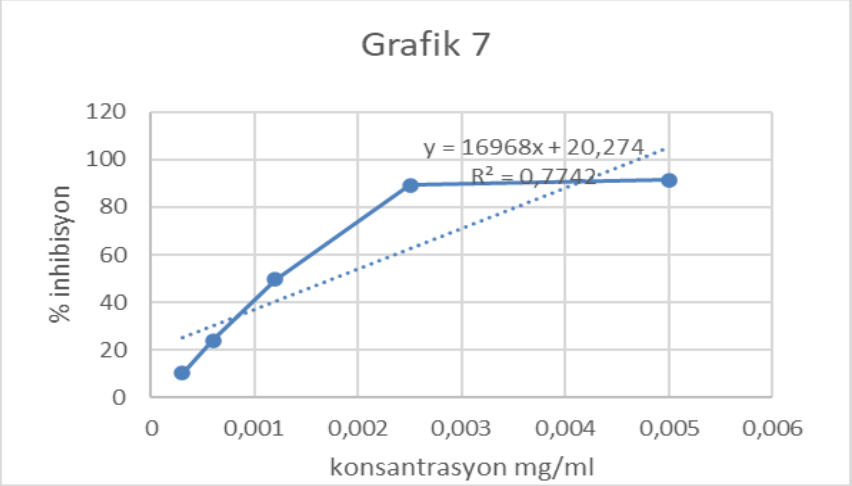
Numune 5



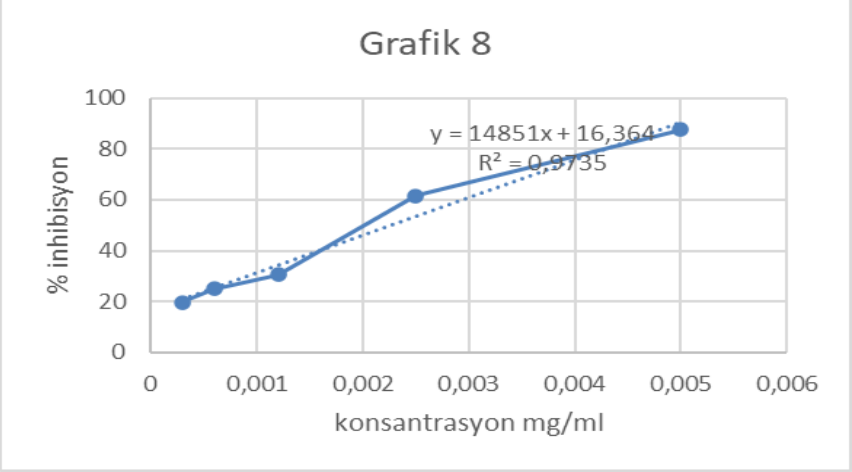
Numune 6



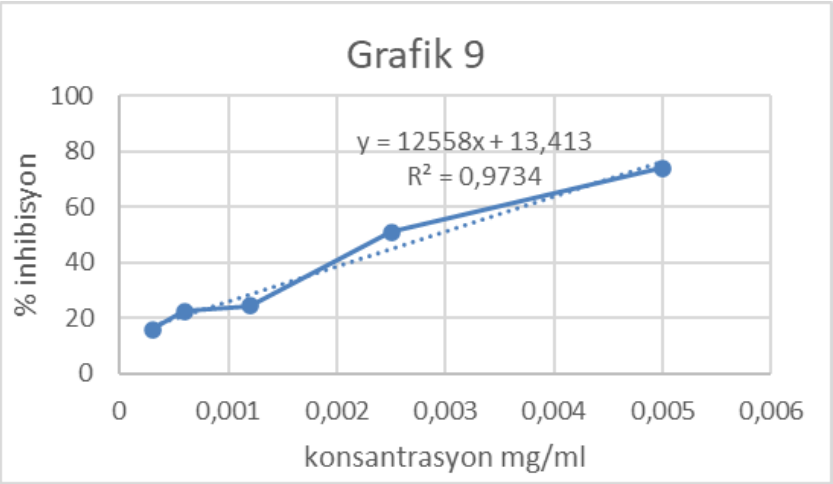
Numune 7



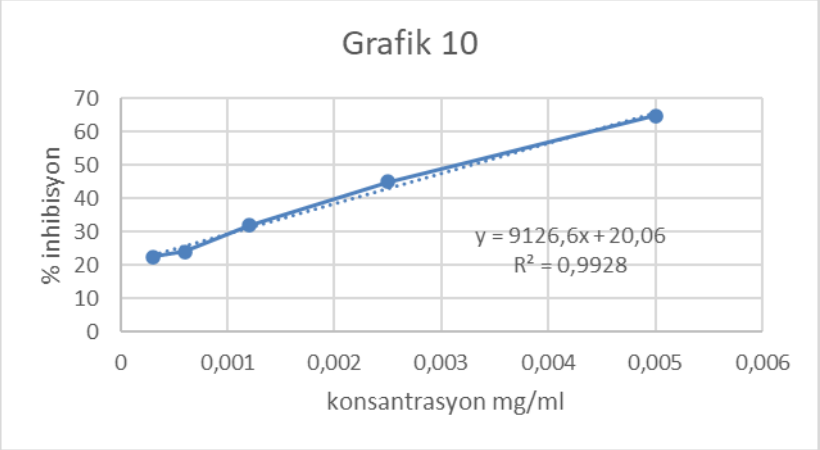
Numune 8



Numune 9



Numune 10



Numune 11

