BAZI *THYMBRA* (YABANİ KEKİK) TÜRLERİNİN KİMYASAL İÇERİĞİ, ANTİOKSİDAN, ANTİKOLİNESTERAZ, ÜREAZ, TİROZİNAZ, SİTOTOKSİK, ANTİMİKROBİYAL VE KENELER ÜZERİNDEKİ AKARİSİT ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

EDA ÇAVUŞ KAYA

HAZİRAN 2022

DİYARBAKIR

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI *THYMBRA* (YABANİ KEKİK) TÜRLERİNİN KİMYASAL İÇERİĞİ, ANTİOKSİDAN, ANTİKOLİNESTERAZ, ÜREAZ, TİROZİNAZ, SİTOTOKSİK, ANTİMİKROBİYAL VE KENELER ÜZERİNDEKİ AKARİSİT ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

EDA ÇAVUŞ KAYA

DİCLE ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM-ÖĞRETİM VE SINAV YÖNETMELİĞİNİN BİR PARÇASI OLARAK
KİMYA ANA BİLİM DALINDA
DOKTORA TEZİ
OLARAK HAZIRLANMIŞTIR

HAZİRAN 2022

DİYARBAKIR

BAZI *THYMBRA* (YABANİ KEKİK) TÜRLERİNİN KİMYASAL İÇERİĞİ, ANTİOKSİDAN, ANTİKOLİNESTERAZ, ÜREAZ, TİROZİNAZ, SİTOTOKSİK, ANTİMİKROBİYAL VE KENELER ÜZERİNDEKİ AKARİSİT ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Eda ÇAVUŞ KAYA tarafından Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin bir parçası olarak hazırlanan bu çalışma, aşağıda bilgileri yazılı jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek **Kimya Ana Bilim Dalı**'nda **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Neslihan DALKILIÇ
Müdür, **Fen Bilimleri Enstitüsü**

Prof. Dr. Abdulselam ERTAŞ
Danışman, **Eczacılık Fakültesi,**
Dicle Üniversitesi

Sınav Jürisi:

Prof. Dr. Hamdi TEMEL(*) _____
Tıp Fakültesi, Yozgat Bozok Üniversitesi

Prof. Dr. Abdulselam ERTAŞ(**) _____
Eczacılık Fakültesi, Dicle Üniversitesi

Prof. Dr. Murat AYDEMİR _____
Fen Fakültesi, Dicle Üniversitesi

Prof. Dr. Engin TİLKAT _____
Fen Fakültesi, Batman Üniversitesi

Doç. Dr. Duygu Neval SAYIN İPEK _____
Veteriner Fakültesi, Dicle Üniversitesi

ONAY

Savunma Tarihi: 15 /06/2022

(*) Sınav Jürisi kısmının birinci satırına Jüri Başkanının bilgilerini yazınız.
(**) Sınav Jürisi kısmının ikinci satırına Tez Danışmanının bilgilerini yazınız.

Aileme…

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tez çalışmasında yer alan tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, bahse konu bu kural ve ilkelerin gerektirdiği üzere, bu çalışmada özgün olmayan tüm bilimsel içerikleri kurallara uygun biçimde alıntılayıp kaynak gösterdiğimi beyan ederim. Beyanımla çelişen herhangi bir delil bulunduğu takdirde tüm sorumluluğu üstleneceğimi kabul ederim.

Ad, Soyad: Eda ÇAVUŞ KAYA

İmza: …….……

TEŞEKKÜR

Öncelikle danışmanım Prof. Dr. Adulselam Ertaş'a çalışmanın daha fikir aşamasından, örnekleme, deney setlerini oluşturma, analizlerin yorumlanması ve tez taslağındaki düzeltmeler konularına kadar gösterdikleri destek ve sabırdan dolayı teşekkür ederim. Jüri üyelerime de bu tezin daha nitelikli bir hale gelmesi için yaptıkları eleştiri ve önerileri için teşekkür ederim.

Saygıdeğer hocam Prof. Dr. Hamdi Temel'e çalışmalarıma yaptığı değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sürecinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Mustafa Abdullah Yılmaz, Doç. Dr. İsmail Yener, Dr. Arş. Gör. Pelin Uğurlu ve Dr. Mehmet Akdeniz'e teşekkür ederim.

Tez bitkilerimin bir kısmını toplayan ve teşhisini yapan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü Dr. Mehmet Fırat'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım süresince yanımda olan ve manevi desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Canan Aytuğ Ava, Pelin Uğurlu ve Süreyya Kaçar'a teşekkür ederim.

Kıymetli dostum Sezer Kılıç'a destek ve yardımlarından dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Her koşulda yanımda hissettiğim ve bu günlere gelmemde en büyük destekçim olan, annem Sevim Çavuş, babam Bekir Çavuş, ablalarım Gülhanım ve Emine Çavuş'a bana olan inançlarını hiç yitirmedikleri için sonsuz teşekkür ederim.

Varlıklarıyla hayatımı mutlu kılan ve desteklerini esirgemeyen eşim Muhammed Ömer Kaya, çocuklarım Eren Deniz, Civan Selim ve Arda Fatih Kaya'ya sonsuz teşekkür ederim.

Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (DÜBAP), bu tez çalışması için sağladıkları finansal destek için (Proje No: ECZACILIK.18.002) için teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR v
İÇİNDEKİLER vi
ŞEKİLLER LİSTESİ xi
TABLOLAR LİSTESİ xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ xiv
ÖZET xvii
ABSTRACT xix
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK ÖZETLERİ 9
2.1 Çalışılan Türler Hakkında Genel Bilgiler 9
2.1.1 Lamiaceae (Babagiller) familyasının genel özellikleri 9
2.1.2 *Tyhmbra* L. cinsi 12
2.1.3 *Thymbra sintenisii* Bornm. & Azn. subsp. *isaurica* P.H.Davis 16
2.1.4 *Thymbra* Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı 17
2.1.5 *Thymbra* türleriyle ilgili yapılan kimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları 18
2.2 Bitkilerin Sekonder Metabolitlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Önemli Analitik Teknikler 72
2.2.1 Gaz kromatografisi (GC) 73
2.2.2 HPLC teknikleri 73
2.2.3 LC-MS teknikleri 74
2.2.4 LC-MS/MS (sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometresi) 74
2.3 Bitkisel Metabolitler 74
2.3.1 Flavonoidler 75
2.3.2 Fenolik asitler 75

2.3.3 Terpenler 76
2.4 Biyolojik Aktiviteler 77
2.4.1 Antioksidanlar 77
2.5 Antikolinesteraz Enzim Aktivitesi 79
2.5.1 Alzheimer Hastalığı 79
2.5.2 Asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) inhibitörleri 80
2.6 Üreaz Enzim Aktivitesi 80
2.7 Tirozinaz Enzim Aktivitesi 81
2.8 Elastaz Enzim Aktivitesi 81
2.9 Kollajenaz Enzim Aktivitesi 82
2.10 Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim Aktivitesi 82
2.11 Antimikrobiyal Aktivite 82
2.12 Sitotoksik Aktivite 84
2.12.1 Kanser 84
2.12.2 MTT ve sitotoksik aktivite 84
2.13 Nanopartikül 85
2.13.1 *Thymbra* türleriyle sentezlenen nanapartikül çalışmaları 90
2.13.2 Nanopartiküllerin karakterizasyonunda kullanılan teknikler 93
2.14 Keneler 95
2.14.1 Bitkisel kaynaklı akaristlerin keneler üzerindeki etkisini belirlemek için yapılan çalışmalar 100
2.14.2 Kullanılan uçucu yağların keneler üzerindeki akarisit etkisini belirlemek için yapılan testler 101
3. MATERYAL VE METOD 103
3.1 Bitkisel Materyal: Örneklerinin Toplanması ve Teşhis Edilmesi 103
3.2 Ekstrelerin Hazırlanması 103
3.3 Uçucu Yağların Elde Edilmesi 104

3.4 Kimyasal Standartlar ve Çözücüler 104
3.4.1 LC-MS/MS Çalışmalarında kullanılan kimyasallar 104
3.5 Kullanılan Cihaz ve Diğer Gereçler 104
3.6 Ekstrelerin Yağ Asidi için Analize Hazırlanması 105
3.6.1 GC-MS ile yağ asidi analizi çalışma şartları 105
3.7 Headspace-GC-MS/FID Cihazı ile Uçucu Yağ ve Aroma Analizi için Kromatografik Şartlar 105
3.8 LC-MS/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar 106
3.9 Antioksidan Aktivite Testleri 107
3.10 Antikolinesteraz Aktivite Testleri 107
3.11 Antiüreaz Aktivite Testi 108
3.12 Antitirozinaz Aktivite Testi 108
3.13 Elastaz Enzim Aktivitesi 108
3.14 Kollajenaz Enzim Aktivitesi 109
3.15 ACE Aktivitesi 109
3.16 Antimikrobiyal Özelliklerin Belirlenmesi 109
3.17 MTT Testi ile Sitotoksisitenin Belirlenmesi 110
3.17.1 Örneklerin hücre proliferasyonu üzerindeki etkilerinin araştırılması 110
3.18 Uçucu Yağ ve Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi ve Keneler Üzerindeki Öldürücü Etkisinin Belirlenmesi 111
3.18.1 Elde edilen uçucu yağlardan gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi 111
3.18.2 Elde edilen gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonu 111
3.18.3 Canlıların elde edilmesi ve muhafazası 112
3.18.4 Deney solüsyonlarının hazırlanması 112
3.18.5 Deney düzeneklerinin hazırlanması ve LC_{50} değerinin belirlenmesi. 112
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 115
4.1 Ekstre Verimi Sonuçları ve Tür Kodları 115

4.2 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin GC-MS ile Yağ Asidi Analizi Sonuçları ... 115

4.3 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin Uçucu Yağ ve Aroma Analiz Sonuçları 117

4.4 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin Etanol Ekstrelerinin LC-MS/MS ile Kantitatif Analizinin İncelenmesi..... 121

4.5 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları 125

4.5.1 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin DPPH Serbest ve ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları 125

4.5.2 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin CUPRAC Yöntemindeki Absorbans Sonuçları 127

4.6 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin Enzim İnhibisyon Aktivite Sonuçları 128

4.6.1 Çalışılan *Thymbra* türlerinin antikolinesteraz aktivite sonuçları 128

4.6.2 Çalışılan *Thymbra* türlerinin üreaz ve tirozinaz aktivite sonuçları 131

4.6.3 Çalışılan *Thymbra* türlerinin elastaz enzim inhibisyon aktivite sonuçları 133

4.6.4 Çalışılan *Thymbra* türlerinin kollajenaz enzim inhibisyon aktivite sonuçları 133

4.6.5 Çalışılan *Thymbra* türlerinin anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibisyon aktivite sonuçları 135

4.7 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları 136

4.8 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin Sitotoksisite Sonuçları 137

4.9 Elde Edilen Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu 139

4.9.1 Senetzlenen gümüş nanopartiküllerin ultraviyole ve görünür ışık (Uv-Vis) absorpsiyon spektroskopisi sonuçları..... 139

4.9.2 Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) sonuçları 141

4.9.3 Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin X-ışını kırınım analizi (XRD) sonuçları 147

4.9.4 Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) ile analiz sonucu ... 150

4.9.5 Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ile analiz sonucu 154

4.10 Uçucu Yağ ve Gümüş Nanopartiküllerin Keneler Üzerindeki Öldürücü Etkisinin Belirlenmesi 158

4.10.1 *T. spicata* var. *spicata* uçucu yağının 24 saatlik LC_{50} değeri 158

4.10.2 *T. sintenisii* subsp. *sintensii* uçucu yağının 24 saatlik LC_{50} değeri ... 159

4.10.3 *T. sintenisii* subsp. *isaurica* uçucu yağının 24 saatlik LC_{50} değeri 160

4.10.4 *T. spicata* var. s*picata* uçucu yağı ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin LC_{50} değeri 161

4.10.5 *T. sintenisii* subsp. *sintensii* uçucu yağı ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin LC_{50} değeri 162

4.10.6 *T. sintenisii* subsp. *isaurica* uçucu yağı ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin LC_{50} değeri 162

5. SONUÇ ve ÖNERİLER 163

KAYNAKLAR 171

ÖZGEÇMİŞ……..202

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 *Lamiaceae* familyasının dünya üzerinde yayılış haritası 9
Şekil 2.2 *T. spicata L. var spicata.*'nın Türkiye'de yayıldığı iller..... 14
Şekil 2.3 *Thymbra spicata* var. *spicata*..... 15
Şekil 2.4 *Thymbra sintenisii* Bornm. & Azn. subsp. *sintensii*'nin Türkiye'de yayıldığı iller 16
Şekil 2.5 *T. sintenisii* subsp. *sintensii* 16
Şekil 2.6 *Thymbra sintenisii* Bornm. & Azn. subsp. *isaurica* P.H.Davis'nın Türkiye'de yayıldığı iller 17
Şekil 2.7 *T. sintenisii* subsp. *isaurica*..... 17
Şekil 2.8 İzoprenoid molekülünün yapısı ve karbon sayısına göre terpenlerin sınıflandırılması 76
Şekil 2.9 Ag^{+}'nın Ag^{0} bitkisel kaynaklı indirgeyiciler vasıtasıyla olası indirgenme mekanizması..... 88
Şekil 2.10 AgNPs sentez mekanizması..... 88
Şekil 2.11 AgNP'lerin bakterisidal aktivitesi için olası mekanizma 89
Şekil 4.1 A: ÖR1, B:ÖR2, C:ÖR:3'e ait petrol eteri ekstrelerinin yağ asidi kromatogramları..... 117
Şekil 4.2 A:ÖR1ES, B:ÖR2ES ve C:ÖR3ES'ye ait uçucu yağ kromatogramları; D:ÖR1, E:ÖR2, F:ÖR3'ye ait aroma kromatogramları. 120
Şekil 4.3 LC-MS/MS yöntemiyle analiz edilen 37 standart kimyasalın TIC kromatogramı 123
Şekil 4.4 A:ÖR1K, B:ÖR1TÜ, C:ÖR2K, D:ÖR2TÜ, E:ÖR3K ve F:ÖR3TÜ etanol ekstrelerinin LC-MS/MS standart kromatogramı 124
Şekil 4.5 AgNP'rin kimyasal sentezi için olası mekanizma 139
Şekil 4.6 2 mM renksiz gümüş nitrat çözeltisi ve çözeltiye eklenen uçucu yağ miktarı arttıkça oluşan nanopartiküllerin sebep olduğu renk değişimi..... 140
Şekil 4.7 2 mM gümüş nitrat çözeltisi ve sentezlenen nanopartiküllerin UV-Vis spektrumları..... 141
Şekil 4.8 ÖR1ES ve AgNP1'e ait FT-IR spektrumu 143

Şekil 4.9 ÖR1ES ve AgNP1'e ait FT-IR spektrumu 144
Şekil 4.10 ÖR3ES ve AgNP3'e ait FT-IR spektrumu 146
Şekil 4.11 AgNP1'e ait XRD kırınım spektrumu. 147
Şekil 4.12 AgNP2'ye ait XRD kırınım spektrumu 148
Şekil 4.13 AgNP3'e ait XRD kırınım spektrumu. 149
Şekil 4.14 A:2 µm'de AgNP1' e ait SEM görüntüsü, B: AgNP1'in ortalama partikül boyutu dağılım histogramı 151
Şekil 4.15 A: 1µm'de AgNP2' e ait SEM görüntüsü, B: AgNP2'in ortalama partikül boyutu dağılım 152
Şekil 4.16 A: 5 µm'de AgNP3'e ait SEM görüntüsü, B: AgNP3'ün ortalama partikül boyutu..... 153
Şekil 4.17 A: AgNP1'in 200 nm'de TEM görüntüsü, B: AgNP1'in 1µm'de TEM görüntüsü C:AgNP1'in ortala 155
Şekil 4.18 A: AgNP2'in 200 nm'de TEM görüntüsü, B: AgNP2'in 1µm'de TEM görüntüsü, C:AgNP2'in 156
Şekil 4.19 A: AgNP3'ün 200 nm'de TEM görüntüsü, B: AgNP3'ün 0.5 µm'de TEM görüntüsü, C:AgNP3'ün ortala çap dağılım histogramı..... 157

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 Türkiye yetişen Lamiaceae Familyası'na ait takson sayısına göre en büyük 15 cins 10
Tablo 3.1 *Thymbra* türlerinin herbaryum kayıtları ve toplanma yeleri..... 103
Tablo 4.1 *Thymbra* türlerinin ekstre verimi ve tür kısaltmaları 115
Tablo 4.2 Thymbra türlerinin petrol eteri ekstrelerinin yağ asidi içerikleri..... 116
Tablo 4.3 *Thymbra* türlerinin uçucu yağ ve aroma analiz sonuçları..... 119
Tablo 4.4 *Thymbra* türlerinin etanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analiz sonuçları (µg analit/g ekstre)..... 123
Tablo 4.5 Çalışılan *Thymbra* türlerinin DPPH ve ABTS yöntemlerine göre antioksidan aktivite sonuçları 127
Tablo 4.6 Çalışılan *Tyhmbra* türlerinin CUPRAC aktivite sonuçları 128
Tablo 4.7 Çalışılan *Thymbra* türlerinin antikolinesteraz aktivite sonuçları..... 130
Tablo 4.8 Çalışılan *Thymbra* türlerinin antiüreaz, antitirozinaz, antielastaz, antikollajenaz, ACE aktivite sonuçları..... 135
Tablo 4.9 *Thymbra* türlerine ait uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi..... 137
Tablo 4.10 *Thymbra* türlerinin toksik ve sitotoksik aktivite sonuçları 138
Tablo 4.11 *T. spicata* var. *spicata* uçucu yağı için canlıların 24 saatlik ölüm oranı (%) 159
Tablo 4.12 *T. sintenisii* subsp. *sintensii* uçucu yağı için canlıların 24 saatlik ölüm oranı (%)..... 159
Tablo 4.13 *T. sintenisii* subsp. *isaurica* uçucu yağ için canlıların 24 saatlik ölüm oranı (%)..... 160
Tablo 4.14 Kimyasalların LC_{50} değerlerine göre zararlılık derecesi 160
Tablo 4.15 AgNP1 için canlıların 24 saatlik ölüm oranı (%) 162

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Simge	Açıklama
°C	Santigrat derece
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
µM	Mikromolar
µmol	Mikromol
cm	Santimetre
g	Gram
keV	Kiloelektronvolt
L	Litre
LC_{50}	Letal konsantrasyon
M	Molar
m/z	Yük bölükütle oranı
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Mili metre
nm	Nanometre
ppm	Milyonda bir birim
rpm	Dakikadaki devir sayısı
ʎ	Dalga boyu
θ	Kırınım yarı açısı
µg	Mikrogram

Kısaltma	**Açıklama**
ABTS	2,2–azinobis(3-etilbenzotiazolin-sulfonik asit)
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
AgNP1	Örnek 1 uçucu yağı ile sentezlenmiş gümüşnanopartikül
AgNP2	Örnek 2 uçucu yağı ile sentezlenmiş gümüşnanopartikül
AgNP3	Örnek 3 uçucu yağı ile sentezlenmiş gümüşnanopartikül
BChE	Bütirilkolinesteraz
BHA	Bütillenmiş hidroksi anizol
BHT	2,6-di-*t*-bütil-1-hidroksi toluen
CUPRAC	Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
DTNB	5,5-ditiyobis-(2-nitro benzoik asit)
EDX	Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi
EO	Uçucu yağ
ESI	Elektrosprey iyonlaştırma
FT-IR	Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi
GC	Gaz kromatografisi
GC-MS	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
LC	Sıvı kromatografisi
LC-MS/MS	Sıvı kromatografisi üçlü kuadrupol kütle spektrometresi
MS	Kütle spektrometresi
ÖR1ES	*T. spicata* var. *spicata*'ya ait uçucu yağ
ÖR1K	*T. spicata* var. *spicata*'nın kök etanol ekstresi

ÖR1TÜ	*T. spicata* var. *spicata*'nın toprak üstü etanol ekstresi
ÖR2ES	*T. sintenisii*. subsp. *sintensii*'ye ait uçucu yağ
ÖR2K	*T. sintenisii*. subsp. *sintensii*'nin kök etanol ekstresi
ÖR2TÜ	*T. sintenisii*. subsp. *sintensii*'nin toprak üstü etanol ekstresi
ÖR3ES	*T. sintenisii* subsp. *isaurica*'ya ait uçucu yağ
ÖR3K	*T. sintenisii* subsp. *isaurica*'nın kök etanol ekstresi
ÖR3TÜ	*T. sintenisii* subsp. *isaurica*'nın toprak üstü etanol ekstresi
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
UV-VİS	Ultraviyole ve Görünür Işık Absorpsiyon Spektroskopisi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XRD	X-ışını kırınım cihazı

ÖZET

BAZI *THYMBRA* (YABANİ KEKİK) TÜRLERİNİN KİMYASAL İÇERİĞİ, ANTİOKSİDAN, ANTİKOLİNESTERAZ, ÜREAZ, TİROZİNAZ, SİTOTOKSİK, ANTİMİKROBİYAL VE KENELER ÜZERİNDEKİ AKARİSİT ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ.

Çavuş Kaya, Eda
Doktora, Kimya Bölümü
Danışman: Prof. Dr. Abdulselam ERTAŞ
Haziran 2022, 224 sayfa

Lamiaceae (Labiatae) familyası, tıbbi özelliklere sahip türlerin zenginliği ile bilinmektedir ve bu türlerin çoğu Akdeniz bölgesinde çok yaygındır. Lamiaceae familyasına ait türlerin antioksidan, antikanser, antidiyabetik, nöroprotektik, antiinflamatuvar, antiviral, antifungal ve antibakteriyel etki gösterdiği bilinmektedir. Lamiaceae familyasına ait olan *Thymbra* L. cinsi Türkiye'de 3 türe ait toplam 5 takson ile temsil edilmektedir. Tez kapsamında *Thymbra* L. cinsine ait olan *Thymbra spicata* L. var. *spicata* L., *Thymbra sintenisii* Bornm. Et Aznav. subsp. *sintenisii* Bornm. Et Aznav., *T. sintenisii* Bornm. & Azn. subsp. *isaurica* P.H.Davis'in uçucu yağ ve etanol ekstreleri (kök ve toprak üstü kısımları) hazırlanmıştır. Elde edilen ekstrelerin kimyasal içeriği, biyolojik aktivitesi, nanopartikül oluşturma potansiyeli ve akarist etkileri detaylı bir şekilde incelenmiştir. Çalışılan 3 *Thymbra* türünün petrol eteri ekstresinin yağ asidi içeriği GC-MS ile tespit edilmiş ve palmitik asit ve α-linolenik asitin baskın bileşenler olduğu belirlenmiştir. *Thybmra* türlerinin uçucu yağ içeriği GC-MS/FID cihazı ile tespit edilmiştir. Karvakrolün (%71.19-63.78) her 3 türde de en çok bulunan bileşen olduğu belirlenmiştir. Türlerin aroma içeriği Headspace-GC-MS/FID ile tayin edilmiştir. Karvakrol (%24.71-20.79) ve γ-terpinen (%42.02-4.98) en çok bulunan bileşenler olarak belirlenmiştir. Çalışılan türlerin toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin fenolik içeriği daha önce grubumuz tarafından geliştirilen ve valide edilen LC-MS/MS metodu ile belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda tüm etanol ekstrelerinin hesperidin (32910.02- 3900.28 µg analit/g ekstre) bakımından zengin olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan belirleme çalışmaları sonucunda her 3 türünde yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle her 3 türün uçucu yağlarının ABTS (IC_{50}:1.50±0.014-1.50±0.01 µg/mL) ve CUPRAC ($A_{0.5}$:1.30±0.12-1.52±0.01 µg/mL) aktivitelerinin oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışılan türlerin enzim inhibisyon aktivite sonuçları genel olarak 3 türün de antikolinesteraz enzim inhibitörü olma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Yine özellikle uçucu yağ örneklerinin hem AChE (%İnhibisyon:95.65±1.45-78.52±1.81) ve hem de BChE (%İnhibisyon:97.94±0.71-94.23±4.61) yönteminde daha aktif oldukları tespit edilmiştir. *Thymbra* türlerinin toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin üreaz enzim inhibisyon aktivitesi göstermezken uçucu yağların üreaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği, aksine tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesinde ise toprak altı ve toprak üstü etanol

ekstrelerinin aktivite gösterirken uçucu yağların aktif olmadığı belirlenmiştir. Çalışılan *Thymbra* türlerinin genel olarak uçucu yağ, toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin standart oleanolik asite göre orta veya düşük seviyede elastaz enzim inhibisyon aktivitesi, standart epikateşin gallata göre düşük düzeyde kollajenaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca türlerin ACE enzim inhibisyon aktivitesi göstermediği belirlenmiştir. *Thymbra* türlerine ait üç uçucu yağın antimikrobiyal aktiviteleri Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerlerine göre belirlenmiş ve üç uçucu yağın da kullanılan bakterilere karşı orta düzeyde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan tüm örneklerin HT-29 ve MCF-7 hücreleri üzerinde düşük sitotoksik etkiye, PDF hücreleri üzerinde ise toksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışılan *Thymbra* türlerine ait uçucu yağlarla sentezlenen gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonu Ultraviyole ve Görünür Işık (Uv-Vis) Absorpsiyon Spektroskopisi, Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), X-Işını Kırınım Analizi (XRD), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX), Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ile yapılmıştır. Karakterizasyon çalışmaları sonucunda elde edilen veriler sentezlenen gümüş nanopartiküllerin varlığını kanıtlamaktadır. Çalışılan türlerin uçucu yağları ve bu uçucu yağlarla sentezlenen gümüş nanopartiküllerin *Hyalomma marginatum* türü kenelerin nimfleri üzerindeki 24 saatlik LC_{50} ve % mortalite değerleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar uçucu yağ ve gümüş nanopartiküllerin genel olarak *Hyalomma marginatum* türü kenelerin nimfleri üzerinde şiddetli derecede toksik olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Thymbra*, Biyolojik aktivite, Kimyasal içerik, Nanopartikül, Akarisit etki.

ABSTRACT

THE DETERMINATION OF SOME *THYMBRA* SPECIES (WILD THYME)' CHEMICAL CONTENT, ANTIOXIDANT, ANTICHOLINESTERASE, UREASE, TYROSINASE, CYTOTOXIC, ANTIMICROBIAL EFFECTS AND THEIR ACARICIDE IMPACTS ON TICKS.

Çavuş Kaya, Eda
Doctorate of Science in Department of Chemistry
Supervisor: Prof. Dr. Abdulselam ERTAŞ
June 2022, 224 pages

Lamiaceae (Labiatae) family is known for its rich species possessing medicinal properties and most of these species are very common in the Mediterranean region. In previous studies, it has been reported that species belonging to the Lamiaceae family have antioxidant, anticancer, anti-diabetic, neuroprotective, anti-inflammatory, anti-viral, anti-fungal and antibacterial effects. The genus *Thymbra* L., which belongs to the Lamiaceae family, is represented by a total of 5 taxa belonging to 3 species in Turkey. In the scope of the thesis, essential oil and ethanol extracts (root and stem parts) of the species belonging *Thymbra* L. Genus, *Thymbra spicata* L. var. *spicata* L., *Thymbra sintenisii* Bornm. Et Aznav. subsp. *sintenisii* Bornm. Et Aznav., *T. sintenisii* Bornm. & Azn. subsp. *isaurica* P.H.Davis were prepared. The chemical content, biological activity, nanoparticle formation potential and acaristic effects of the extracts were investigated in detail. Fatty acid content of petroleum ether extract of 3 *Thymbra* species was determined by GC-MS and it was determined that palmitic acid and α-linoleic acid were the dominant components. Essential oil content of *Thymbra* species was determined by GC-MS/FID. It was determined that carvacrol (%71.19-63.78) was the most abundant component in all 3 species. The aroma content of the species was determined by Headspace-GC-MS/FID and carvacrol (%24.71-20.79) and γ-terpinene (%42.02-4.98) were determined as the most abundant components. The phenolic content of ethanol extracts of underground and air parts of the species was determined by the LC-MS/MS method previously developed and validated by our group. The results showed that all ethanol extracts were rich in hesperidin (32910.02-3900.28 µg analyte/g extract). As a result of antioxidant determination studies all 3 species showed high antioxidant activity. In particular, ABTS (IC_{50}:1.50±0.014-1.50±0.01 µg/mL) and CUPRAC ($A_{0.5}$:1.30±0.12-1.52±0.01 µg/mL) activities of essential oils of all 3 species were determined to be quite high. The enzyme inhibition activity results of the studied species generally showed that all 3 species had the potential to be anticholinesterase enzyme inhibitors. In particular, essential oil samples were found to be more active in both AChE (%Inhibition:95.65±1.45-78.52±1.81) and BChE (%Inhibition:97.94±0.71-94.23±4.61) methods. It was determined that while essential oils showed urease enzyme inhibition activity, underground and air part ethanol

extracts of *Thymbra* species did not show urease enzyme inhibition activity. In contrast, in the tyrosinase enzyme inhibition activity, it was determined that while the essential oils were not active, the underground and air part ethanol extracts showed activity. In addition, it was determined that the species did not show ACE enzyme inhibition activity. Antimicrobial activities of three essential oils of *Thymbra* species were determined according to Minimum Inhibition Concentration (MIC) values and it was determined that all three essential oils had moderate antimicrobial activity against the bacteria. It was also determined that all studied samples had low cytotoxic effect on HT-29 and MCF-7 cells and toxic effect on PDF cells. Characterization of silver nanoparticles synthesized with essential oils of Thymbra species was performed by Ultraviolet and Visible Light (Uv-Vis) Absorption Spectroscopy, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), X-Ray Diffraction Analysis (XRD), Scanning Electron Microscope (SEM), Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (EDX) and Transmission Electron Microscopy (TEM). The data obtained from characterization studies proved the existence of synthesized silver nanoparticles. The 24-hour LC_{50} and % mortality values of the essential oils of the species and the silver nanoparticles synthesized with these essential oils on the nymphs of *Hyalomma marginatum* ticks were determined. The results showed that the essential oil and silver nanoparticles are generally severely toxic to the nymphs of *Hyalomma marginatum*.

Key Words: *Thymbra*, Biological activity, Chemical content, Nanoparticle, Acaricidal effect.

1. GİRİŞ

İnsanlığın var olmasıyla birlikte bitkiler hayatın vazgeçilmez kaynaklarından biri olmuştur. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) çoğunlukla gelişmekte olan ülkelerde nüfusun %80'inin (yaklaşık 4 milyar kişi) temel sağlık hizmetleri için hala bitki bazlı ilaçlardan faydalandığını (FAO) bildirmiştir (Güler vd., 2015). Bitkisel gelenekler, dünyanın kültürel mirası için önemli bir bileşendir. Dünyada 750.000 ila 1.000.000 arasında bitki türü olduğu tahmin edilmektedir. Bunların 500.000'i belirlenmiş ve adlandırılmıştır. Her yıl yaklaşık 2000 civarında yeni çiçekli bitki türü tanımlanmakta ve adlandırılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yayınladığı bir rapora göre, tedavi için kullanılan bitki sayısının 20.000 civarında olduğu tahmin edilmektedir (Heras vd., 1998; Keskin vd., 2018; WHO, 2002).

Şifalı bitkiler, insan kültürünün gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Bir ilaç kaynağı olarak, şifalı bitkiler hemen hemen tüm medeniyetlerin kültürlerinde her zaman ön planda olmuştur. Binlerce yıldır şifalı bitkiler sağlık bozukluklarını tedavi etmek, lezzet katmak, yiyecekleri muhafaza etmek ve salgınları önlemek için kullanılmıştır (Dar vd., 2017). Bitkilerin ilaç olarak kullanılma zamanının tam olarak belirlenmesi çok zordur. Deliller, bitkilerin yaklaşık 60 000 yıl önce ilaç olarak yetiştirildiğini göstermektedir (Solecki, 1975). Tıbbi bitkilerle ilgili bilgiler Hindistan, Çin ve Mısır'da neredeyse 5000 yıl öncesine, Yunanistan ve Orta Asya'da da en az 2500 yıl öncesine dayanmaktadır (Ang-Lee vd., 2001). İlaçların hazırlanmasında şifalı bitkilerin kullanıldığına dair en eski yazılı kanıt, Nagpur'da yaklaşık 5000 yıl öncesine kadar uzanan bir Sümer kil levhasında bulunmuştur (Qiu, 2007). 250'den fazla bitkiye atıfta bulunan yazıtta, bazıları alkaloid olan haşhaş, banotu ve mandrake gibi bitkilerden hazırlanan 12 faklı ilaç tarifinden bahsedilmektedir (Jamshidi-Kia vd., 2018). Eski Yunan halkı, bazı şifalı bitkilerin tıbbi özelliklerini de tanıyordu ve Yunan tıbbının kurucusu Hipokrat ve Hipokrat'ın öğrencisi Aristoteles de hastalıkların tedavisi için şifalı bitkileri kullanmışlardır. Yunan bilim adamı olan Theophrastus, Şifalı Bitkiler Okulu'nu kurmuştur. M.Ö. 75-45 yıllarında doktor ve cerrah olan Pedanius Dioscorides (M.Ö. 1. yüzyılda yaşamış), şifalı bitkiler üzerine bir dizi bilimsel çalışma şeklinde 600 şifalı bitkiyi tanımlamak için De Materia Medica adlı bir ansiklopedi yazmıştır (Madsen ve Bertelsen, 2005; Rios ve Recio, 2005; Zargari, 1992).

Dünyada bitkisel droglar için başlıca ticaret merkezleri Çin, Almanya, ABD, Fransa, İtalya, Japonya, İspanya, İngiltere ve Hong Kong'dur (Faydaoğlu ve Sucuoğlu, 2011). En fazla tıbbi ve aromatik bitki türü sayısı 4.941 ile Çin'de bulunurken 3.000 ile Hindistan, 2.564 ile ABD, 1.800 ile Vietnam, 1200 ile Malezya ve 1.000 ile Endonezya takip etmektedir. Türkiye'nin ise tıbbi ve aromatik bitki tür sayısı 500'dür (FAO, 2015). Türkiye florası, belirlenen 10.000'in üzerinde bitki çeşidi ile Avrupa'nın tamamının sahip olduğu bitki sayısına (yaklaşık 12.000) yakın olup, büyük bir çeşitlilik ve zenginlik göstermektedir. Floranın 1/3'ünü aromatik bitkiler oluşturmakta olup, 3.000 kadar bitki de endemiktir. Aktarlarda satılan bitki sayısı 300 civarında olup 70–100 kadar bitkinin ihracatı yapılmaktadır (Başer, 1997). Türkiye, coğrafi konumu, iklim ve bitki çeşitliliği, tarımsal potansiyeli, geniş yüzölçümü sayesinde tıbbi ve aromatik bitkiler ticaretinde önde gelen ülkelerden biridir (Bayram vd., 2010). Özellikle 1990'lı yıllardan sonra, tıbbi ve aromatik bitkilerin yeni kullanım alanlarının bulunması ve doğal ürünlere olan talebin artması ile bu bitkilerin kullanım hacmi her geçen gün artmaktadır. 2000 yılında tıbbi ve aromatik bitkiler piyasasının yıllık yaklaşık 60 milyar dolarlık bir pazar payına sahip olduğu kaydedilmiştir; bu rakam dünyadaki yıllık ilaç pazarının yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır (Suzer, 2005). Bitkisel ilaçların kişi başına en yüksek tüketiminin olduğu ülke Japonya'dır (Temel vd., 2018).

Tıbbi bitkiler geleneksel ilaçların zengin kaynakları olarak kabul edilmekte ve bu bitkilerden modern ilaçların çoğu üretilmektedir (Dar vd., 2017). Bitkisel kaynaklı ürünler genellikle kanserler (%2), karaciğer hastalıkları (%21), HIV (%22), astım (%24) ve romatolojik bozukluklar (%26) dahil olmak üzere kronik tıbbi hastalıkları olan hastalar tarafından tercih edilip kullanılmaktadırlar. Şu anda, mevcut ilaçların %50'sinden fazlasının bir şekilde şifalı bitkilerden üretildiği tahmin edilmektedir. Hepatit, AIDS vb. hastalıklara karşı ABD ilaç pazarında yaklaşık olarak 100 yeni bitki kullanılmış ve 1950-1970 yılları arasında vinkristin, reseinnamin, vinblastin, deseridin ve farklı bitkilerden elde edilen reserpin içeren yeni ilaçlar pazara sunulmuştur (Keskin, 2018). Ayrıca Fabricant ve Farnsworth (2001) yaptıkları araştırmalarda, küresel olarak kullanılan 122 kimyasal ilacın, halk hekimliğinde kullanılan 94 bitki türünden izole edildiğini ve bu bileşiklerin %80'inin aktif kullanımının, bunların önemini güçlendirebilecek etnomedikal kullanımları ile aynı veya ilişkili olduğunu

bulmuşlardır. 21. yüzyılın başlangıcında bile, WHO tarafından temel ve gerekli kabul edilen 252 ilacın %11'i çiçekli bitki kökenlidir (Veeresham, 2012). Bitkilerden elde edilen ilaçların bazıları aspirin, atropin, artemisinin, kolşisin, digoksin, efedrin, morfin, fizostigmin, pilokarpin, kinin, kinidin, reserpin, taksol, tübokürarin, vinkristin ve vinblastindir (Garg vd., 2021).

Bitkiler iyileştirme yeteneğini "fitokimyasallar" olarak adlandırılan ikincil metabolitleriyle elde eder. Fitokimyasallar (Yunanca bitki kelimesinden gelir) biyolojik olarak aktif, bitkilerde bulunan ve insanlar için makro ve mikro besinlere atfedilenlerden daha fazla sağlık yararları sağlayan doğal olarak oluşan kimyasal bileşiklerdir (Hasler, 1999). Fitokimyasallar bitkileri hastalık ve zararlılara karşı koruyarak, bitkinin rengine, aromasına ve lezzetine katkıda bulunmaktadırlar. Ayrıca bitki hücrelerini kirlilik, stres, kuraklık, UV ışınlarına maruz kalma ve patojenik saldırı gibi çevresel tehlikelerden korumaktadırlar (Gibson vd., 1998; Mathai, 2000). American Cancer Society'de (2004) belirtilen raporlara göre şimdiye kadar 4.000'den fazla fitokimyasal madde belirlenmiştir ve koruyucu fonksiyonu, fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılmıştır (Meagher ve Thomson, 1999). Yaklaşık 150 fitokimyasal madde detaylı olarak incelenmiştir. Fitokimyasallar bitkilerin kökleri, gövdeleri, yaprakları, çiçekleri, meyveleri veya tohumları gibi farklı kısımlarında birikmektedir (Costa vd., 1999). Pek çok fitokimyasal, özellikle de pigment molekülleri, çeşitli bitki dokularının dış katmanlarında yoğunlaşmaktadır. Bitkilerin kendilerini korumak için bu kimyasalları ürettiği iyi bilinmektedir, ancak son araştırmalar birçok fitokimyasalın insanları hastalıklara karşı koruyabildiğini de göstermektedir. Bitkilerde bulunan ikincil metabolitler antioksidan aktivite, antimikrobiyal etki, detoksifikasyon enzimlerinin modülasyonu, bağışıklık sisteminin uyarılması, trombosit agregasyonunun azalması, hormon metabolizması ve antikanser özelliğinin modülasyonu gibi biyolojik özelliklere sahiptirler. Fitokimyasallar temel besin maddesi değildir ve insan vücudunun yaşamını sürdürmesi için gerekli değildir, ancak bazı yaygın hastalıkları önlemek veya bunlarla savaşmak için önemli özelliklere sahiptirler (Narasinga, 2003). Fitokimyasalların faydalı sağlık etkilerini ortaya çıkarmak için birçok araştırma yapılmıştır. Bitkisel preparatın yüzlerce ampirik kullanımından sonra, 19. yüzyılın başlarında ilk olarak morfin, striknin, kinin vb. gibi aktif bileşiklerin izolasyonu şifalı bitkilerin kullanımında ve modern şifalı bitki

araştırmalarının başlangıcında yeni bir döneme işaret etmiştir (Hamburger ve Hostettmann, 1991). Fitokimyasallar alkaloitler, glikozitler, polifenoller, saponinler, terpenler ve antrakinonlar olarak sıralanabilir (Saxena vd., 2013).

Aromatik bitkiler yemek pişirme, ilaç, kozmetik ve yakıt alanlarında yüzyıllardır çok çeşitli ekonomik kullanımlara sahiptir (Box, 1982). Lamiaceae familyası, tıbbi özelliklere sahip türlerin zenginliği ile bilinmektedir ve bu türlerin çoğu Akdeniz bölgesinde çok yaygındır (Yaniv, 1982). Türkiye, Lamiaceae için önemli bir gen merkezi olarak kabul edilmektedir. Aile Türkiye'de 45 cins, 546 tür ve toplam 731 taksonla temsil edilmektedir. Ailede endemizm oranı %44.5'dir. Endemizm açısından Lamiaceae ailesi, Türkiye'deki en zengin üçüncü ailedir (Başer, 1993). Türkiye'de elliden fazla timol/karvakol tipi uçucu yağ içeren bitki "kekik" olarak adlandırılmakta ve kullanılmaktadır. Bunların çoğu *Thymus* (57 takson) cinsine ait olup diğer cinsler *Origanum* (31 takson), *Coridotyhmus* (1 takson), *Satureja* (14 takson) ve *Thymbra* (4 takson)'dır (Kocabaş ve Karaman, 2001). Uçucu yağlar açısından zengin olan Lamiaceae bitkileri, doğal tıp, farmakoloji, kozmetik ve aromaterapide büyük değere sahiptir (Raja, 2012).

Lamiaceae familyasına ait olan *Thymbra* cinsi, dünya genelinde 4 tür (*Thymbra calostachya* (Rech.f.) Rech.f., *Thymbra capitata* (L.) Cav., *Thymbra sintenisii* Born. et Aznav., *Thymbra spicata* L. var. *spicata* L.) ile temsil edilmektedir. Cinsin gen merkezi Doğu Akdeniz'dir. Batıda Portekiz kıyılarından (Akdeniz'in başlangıcı), doğuda Irak'a, güneyde Mısır ve Cezayir'e, kuzeyde Karadeniz'e kadar dağılım göstermektedir (Şeker, 2015). Türkiye'de Akdeniz bölgesinde yayılış gösterir ve yerel halk tarafından Karabaş kekik, Kara kekik, Sater veya Zahter olarak adlandırılmaktadır (Ünlü vd., 2009). Türkiye'de *Thymbra* L. cinsi 3 türe ait toplam 5 takson ile temsil edilmektedir; *T. capitata*, *T. sintenisii* subsp. *sintenisii*, *T. sintenisii* subsp. *isaurica*, *T. spicata* subsp. *intricata*, *T. spicata* subsp. *spicata*. Bu taksonlardan *T. sintenisii* subsp. *isaurica* ve *T. spicata* subsp. *intricata* taksonları ülkemize endemiktir. (Davis, 1982; Güner vd., 2012; Morales 1982).

Geleneksel Lübnan tıbbında *T. spicata*'dan, arteriyoskleroz, kan toksisitesi, öksürük, hipoglisemi, uykusuzluk, oftalmi, kısırlık, diş ağrılarını tedavi etmek için

yararlanılmaktadır. Ayrıca genellikle kardiyotonik ve oksitosik bir ajan olarak kullanılmaktadır. *Thymbra spicata* var. *intricata.* mezenkimal kök hücre proliferasyonunu ve osteojenik farklılaşmayı indüklemektedir (Mendi vd., 2017). *T. spicata*'nın kolesterol düşürücü, antioksidan ve karaciğer koruyucu etkileri bildirilmiştir (Akkol vd., 2009). Çeşitli kekik türlerinden elde edilen çaylar mide-bağırsak şikayetleri için geleneksel bir çaredir ve kekik yağından bağırsak parazitlerini, özellikle de kancalı kurtları vücuttan atmak için faydalanılmaktadır. Kekik gargaraları da diş eti enfeksiyonlarına karşı kullanılmaktadır. Ayrıca kekik yağı haricen cildi sivilceye karşı temizlemek için uygulanmaktadır. Bitkisel uygulamaların yanı sıra, kekik yağları lezzet ve gıda endüstrilerinde de kullanılmaktadır (Figueiredo vd., 2008).

Keneler, Arachnida sınıfına ve Acari alt sınıfına ait zorunlu hematofag ektoparazitlerdir (Nwanade vd., 2020). Ayrıca üç familya arasında dağılmış en az 898 tanınmış türe sahip, çeşitli bir hematofagöz eklembacaklı grubudur: *Argasidae* (194 tür), *Ixodidae* (703 tür) ve *Nuttalliellidae* (1 tür) (Norval vd., 2004). Çok çeşitli konakçıları parazite ederler. Keneler; theileriosis, babesiosis, dermatofilosis, anaplasmosis, ehrlichiosis, tularemia, kene kaynaklı ensefalit, Batı Nil ateşi, Kırım-Kongo kanamalı ateşi gibi çeşitli klinik durumlara neden olan bakteriler, virüsler, mantarlar, protozoanlar ve helmintler gibi önemli hastalık etkenlerini çiftlik hayvanlarına, evcil hayvanlara ve insanlara iletme kapasiteleri açısından sivrisineklere benzemektedirler (Sonenshine vd., 2002).

Kene kontrol programları, büyük ölçüde organoklorinler, organofosfatlar, piretroidler gibi ticari olarak temin edilebilen ektoparazitisitlerin ve izoksazolinlerin hayvanlarda veya çevrede kullanımına dayanmaktadır (de Oliveira vd., 2012; McTier vd., 2016) . Şu anda en yaygın olarak kullanılan kovucular, N, N-dietil-meta toluamid (DEET) ve 1-piperidinkarboksilik asit 2-(2hidroksietil)-1-metilpropilester (pikaridin) içermektedir (Adenubi vd., 2018). Tabletler, spreyler, sabunlar, şampuanlar, tozlar, emdirilmiş tasmalar, daldırma solüsyonları, dökme uygulamaları dahil olmak üzere farklı formülasyonlarda evcil hayvanlar, çiftlik hayvanları ve insanlar üzerinde kullanım için ticari kovucular veya akarisit ajanlar mevcuttur (Gassel vd., 2014). Bu kimyasalların uygun kullanımı kenelerin kontrolünde faydalıdır, ancak yanlış

uygulama ve yanlış kullanım, insanların ve hayvanların zehirlenmesine, dirençli türlerin ortaya çıkmasına, hayvansal gıda ürünlerinde (et ve süt) ilaç kalıntıları bulunması gibi sorunlara ve çevresel tehlikelere yol açabilmektedir (Babar vd., 2012). Bu engellerin üstesinden gelmek için, sentetik ajanların yerini alacak, düşük toksisiteye sahip, etkili ve çevre dostu bir alternatifin geliştirilmesi gerekmektedir. Sürdürülebilir tarım ilkeleriyle uyumlu alternatif kene kontrol yöntemlerine yönelik araştırma ve geliştirme çalışmaları aşılar, entomopatojenik mantarlar ve bitki bazlı alternatifler olarak kene antijenlerinin kullanımını içermektedir (Benelli vd., 2017a; Benelli vd., 2017b; Nana vd., 2015; Nana vd., 2016; Shahein vd., 2013).

Gıdanın ve çevrenin kirlenmesinin önlenmesi dünyamızı dönüştürmek için sürdürülebilir kalkınma hedeflerinden biri olduğundan, keneler ve kene kaynaklı hastalıkların neden olduğu tehdide çözüm bulmaya yönelik disiplinler arası yaklaşımlarla bir farmasötik fitoterapi endüstrisinin geliştirilmesi gerekmektedir. Bitkiler, yüksek yapısal çeşitliliğe sahip alkaloidler, steroidler, terpenoidler, flavonoidler ve fenolik bileşikler gibi zengin ikincil metabolit kaynaklarıdır (Wink, 2003). Birçok bitki ikincil metabolitlerini, patojen avcılara ve zararlılara karşı koruma sağlamak için sentezlemektedir. Bu maddeler hedef üzerinde büyüme düzenleyici hormonların bozulması, beslenme önleyici etkiler, yumurta gelişiminin engellenmesi, çiftleşmenin ve cinsel iletişimin bozulması, kitin oluşumunun engellenmesi ve kovucu etkinin önlenmesi gibi etkilerden bir veya daha fazlasını göstermektedir (Benelli vd., 2016). Akarisit kaynağı olarak kullanılan başlıca botanik aileler Asteraceae (%15), Fabaceae (%9), Lamiaceae (%10), Meliaceae (%5), Solanaceae (%6) ve Verbenaceae'dir (%5) (Benelli vd., 2017a). Bitki bazlı ürünler, organik hayvancılık üretimi için faydalı olmanın yanı sıra dirençli suşları kontrol etmek için alternatifler sağlayabilir.

Biyo-nanoteknoloji, son zamanlarda etkileyici ilerlemeler göstermektedir. Nanopartiküller eklembacaklılar ve halk sağlığı açısından önemi olan zararlılar için toksik etki gösteren yeni pestisitler olarak önerilmektedir (Amerasan vd., 2016; Benelli ve Lukehart, 2017; Marimuthu vd., 2012; Rai vd., 2009; Santhoshkumar vd., 2011). Özellikle, "yeşil sentez" nanopartiküllerin üretimi için bitki özütlerinin ve mikrobiyal filtratların kullanılması esasına dayanmaktadır. Hem kimyasal hem de yeşil bazlı üretim yollarıyla sentezlenen nanopartiküllerin yüksek akarisidal

toksisiteye sahip olduğunu belirten birçok çalışma bulunmaktadır. Metal nanopartiküller arasında gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), geniş spektrumları ve çoklu antimikrobiyal aktivite özellikleri nedeniyle antik çağlardan beri antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılmaktadır (Jo vd., 2009, Wei vd., 2009; Kim vd., 2012; Kiran Kumar vd., 2014; Sireesh Babu vd., 2017). AgNP'ler, farklı modlarla antimikrobiyal aktivite sergiler. AgNP'lerin memeli hücrelerine göre mikroorganizmalar için daha toksik olduğu görülmektedir. Ayrıca bitki büyüme uyarıcıları, böcek öldürücüler, mikrop öldürücüler, bakterisitler, antimikrobiyal maddeler ve sterilizatör olarak görev yaparlar. Gümüş, birçok uygulamada saf metalik formunda veya bir bileşik olarak kullanılır çünkü patojenlere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir, ancak insanlar için toksik değildir (Elchiguerra vd., 2005; Yeo vd., 2003). Kimyasal ve fiziksel yöntemlerle karşılaştırıldığında, bitki ve mikrobiyal kaynaklı bileşiklerin aracılık ettiği metal nanopartiküllerin hücre dışı sentezi daha ucuz, tek aşamalı bir işlemdir ve yüksek basınç, enerji, sıcaklık ve toksik kimyasal bileşiklerin kullanılmasını gerektirmemektedir. Bitki, bakteri, mantar ve alg özleri, gümüş nanoparçacıklarının (AgNP'ler) sentezlenmesinde kullanılmaktadır (Borase vd., 2014). Bitkilerin ikincil metabolitleri, oksitlenmiş fitokimyasalların, özellikle polifenollerin yüzey kaplaması yoluyla nanoparçacık yüzeyini stabilize ettikten sonra çekirdeklenme/birleşme/toplanmayı kontrol ederek metal iyonlarını azaltma ve sentezlenen metal nanoparçacıkların boyut ve şeklini ayarlama yeteneğine sahiptir (Kiran Kumar ve Mandal, 2015; Mohan Kumar vd., 2012).

Bu çalışmanın ilk aşamasında 2 farklı bölgeden toplanan yabani kekik türlerinin; *T. spicata*, *T. sintenisii. sintensii.*, *T. sintenisii* subsp. *isaurica'*nın toprak üstü ve toprak altı kısımlarının etanol ve petrol eteri ekstreleri hazırlanmıştır. Petrol eteri ile elde edilen ektrelerin yağ asidi içeriği GC-MS ile belirlenmiştir. Etanol ekstreleri LC-MS/MS cihazı ile *Thymbra* türlerine özgü bileşikler bakımından miktar tayinleri yapılması amaçlanmıştır. Bunun yanı sıra toplanan *Thymbra* türlerinden clevenger aparatı kullanılarak hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağların bileşimi GC-MS/FID cihazı ile türlerin aroma kompozisyonları ise direk bitkinin kendisinden Headspace-GC-MS/FID cihazı ile belirlenmiştir. Ayrıca, çalışılan *Thymbra* türlerinin elde edilen tüm ekstrelerinin, total fenolik içerikleri ile DPPH serbest radikal giderim aktivitesi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi ve CUPRAC bakır indirgeme

kapasitesi yöntemleriyle antioksidan etkileri, asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimleri inhibisyon yöntemleri ile antikolinesteraz aktiviteleri ile ayrıca üreaz, tirozinaz, elastaz, kollajenaz ve ACE enzim inhibisyon aktiviteleri incelenmiştir. Bu çalışmalara ilaveten, türlere ait uçucu yağların antimikroyal özllikleri Gram negatif bakteriler (*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeroginosa* ATCC27853), Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC19615) bakteriler ve mayaya (Candida albicans ATCC10231) karşı, minimum inhibitör konsantrasyon olarak disc broth dilution yöntemiyle (CLSI 2006) belirlenmiştir. Ayrıca toksik etkileri sağlıklı hücre serisi (PDF) üzerinde, sitotoksik etkileri ise kanserli MCF-7 (meme kanseri) ve HT-29 (kolon kanseri) üzerinde MTT yöntemi ile tespit edilmiştir.

Bilindiği gibiantioksidan özlellikleri yüksek olan bileşik ve ekstrelerin yükseltgeme potansiyellerinin yüksek olmasından dolayı nanopartikül oluşturma kapasiteleri daha yüksektir. Çalışmanın 2. aşamasında *Thymbra* türlerinden clevenger aparatı ile elde edilen antioksidan kapasitesi yüksek olan uçucu yağlar ve bu uçucu yağların $AgNO_3$ ile oluşturduğu nanopartiküllerin keneler üzerindeki öldürücü etkileri belirlenip karşılaştırılmıştır. Bu etkiyi belirlemek için akut toksisite (LC_{50}) deneyi larvalar üzerinde Larval Batırma Testi (Larval Immersion Test (AIT)) yöntemi kullanılarak uygulanmıştır. Böylece kenelerin zararlı etkilerinden korunmak amacıyla pestisitlere karşı doğal çevre dostu bir alternatif sunulmaya çalışılmıştır. Ayrıca sentezlenen AgNP'lerin karakterizsyonu Ultraviyole ve Görünür Işık (Uv-Vis) Absorpsiyon Spektroskopisi, Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM), X-Işını Kırınım Analizi (XRD) ile yapılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Çalışılan Türler Hakkında Genel Bilgiler

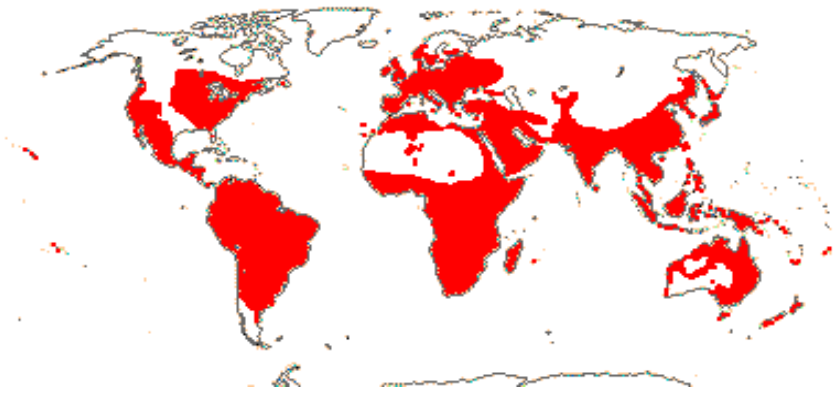
Lamiaceae veya Labiatae familyası, çiçekli bitkilerin en büyük ailelerinden biridir ve biyolojik ve tıbbi kullanımları olan çok çeşitli türleri içerimektedir.

2.1.1 Lamiaceae (Babagiller) familyasının genel özellikleri

Babagiller familyası olarak da bilinmektedirler. Lamiaceae dünyanın her yerine dağılmış, çoğunlukla çalı ve otlardan oluşan büyük bir bitki ailesidir. Aile Nane, Adaçayı, Kekik, Fesleğen gibi birçok tanınmış bitkiyi *Coleus, Leonotis* gibi süs bitkilerini ve *Henbit, Ground Ivy, Self-Heal* gibi yabani otları içermektedir (Beykut, 2018).

En büyük altıncı angiosperm ailesi olan Lamiaceae, 245'ten fazla cins ve 7886 tür içermektedir (Celep ve Dirmenci, 2017). Dünya genelinde en yaygın olarak bulunan cinsler *Salvia* L. (945 tür), *Scutellaria* L. (360 tür), *Stachys* L. (300 tür), *Plectranthus* L'Hér. (300 tür), *Hyptis* Jacq. (280 tür), *Teucrium* L. (250 tür), *Vitex* L. (250 tür), *Thymus* L. (220 tür) ve *Nepeta* L. (200 tür)'dir (Harley vd., 2004; Will vd., 2015).

Aile dünya genelinde Akdeniz ikliminin hüküm sürdüğü bölgelerde yayılış göstermektedir. Özellikle Güneybatı Asya, Kap bölgesi ve Madagaskar, Avustralya'nın tropikal bölgeleri ve Çin, Kuzey Amerika'da Meksika bölgesi ile Güney Amerika'da Şili kıyılarında yaygın olarak bulunmaktadır (Şekil 2.1). Tür yoğunluğu ve endemik tür bakımından en zengin bölgeler; Anadolu, Akdeniz havzası ve Güneybatı Asya bölgeleridir (Büyükkartal vd., 2009).



Şekil 2.1 *Lamiaceae* familyasının dünya üzerinde yayılış haritası(Heywood, 1978).

Tablo 2.1 Türkiye yetişen Lamiaceae Familyası'na ait takson sayısına göre en büyük 15 cins

No	Cins	Takson sayısı	Tür sayısı	Endemik takson sayısı ve endemizm oranı	Endemik tür sayısı ve endemizm oranı
1	*Stochys*	118	90	53 (45%)	43 (48%)
2	*Salvia*	107	100	58 (54%)	53 (53%)
3	*Sidertitis*	54	45	40 (74%)	36 (80%)
4	*Phlomis*	53	33	30 (57%)	16 (48%)
5	*Teucrium*	49	36	17 (35%)	15 (42%)
6	*Thymus*	47	42	20 (43%)	20 (48%)
7	*Nepeta*	46	39	20 (43%)	17 (44%)
8	*Scutellaria*	39	17	17 (44%)	6 (35%)
9	*Origanum*	31	27	18 (58%)	18 (67%)
10	*Marrubium*	27	21	17 (63%)	11 (52%)
11	*Lamium*	26	15	5 (19%)	4 (27%)
12	*Clinopodium*	25	16	7 (24%)	3 (19%)
13	*Ajuga*	23	13	7 (30%)	6 (46%)
14	*Ballota*	18	12	11 (61%)	8 (67%)
15	*Satureja*	17	16	6 (35%)	5 (31%)

Lamiaceae, Türkiye'deki takson sayısına göre üçüncü büyük familyadır (Tablo 2.1). Türkiye'de 346'sı endemik (%44.2 endemizm oranı) olmak üzere 782 Lamiaceae taksonu, tür sayısına göre 271'i endemik (%44.9 endemisim oranı) olmak üzere 603 Lamiaceae türü ve 19'u endemik (%82 endemizm oranı) olmak üzere 23 hibrit türü bulunmaktadır. Türkiye dünyadaki tüm Lamiaceae üyelerinin yaklaşık %10'una sahiptir. Bu veriler Türkiye'nin Dünya'daki Lamiaceae çeşitliliğinin merkezlerinden biri olduğunu kanıtlamaktadır. Türkiye yedi coğrafi bölgeye ve bunların alt bölgelerine sahiptir. Sonuçlar, Türk Lamiaceae taksonlarının çoğunun Akdeniz coğrafi bölgesinde, özellikle 283 taksonla Akdeniz coğrafi bölgesinin doğu kesiminde dağıldığını göstermiştir. En yüksek endemizm oranı Akdeniz coğrafik bölgesinin batı kesiminde (%43.5) bulunmaktadır. Diğer yüksek takson zengini bölgeler sırasıyla 188 ve 180 taksonla Batı Ege ve Doğu Anadolu bölgelerinin batı kesimidir (Celep ve Dirmenci, 2017).

Lamiaceae ailesindeki bitkilerin gövdeleri kare şeklindedir. Yapraklar basittir ve gövdede çiftler halinde bölünmemektedir. Her çift sonuncusuna dik açıdadır ve sıklıkla kıllı veya koku bezleri vardır. Aileye orijinal adı Labiatae'yi veren çiçekleridir. Biri diğerinden daha fazla çıkıntılı iki dudağı bulunmaktadır (labia Latince 'dudak'

anlamına gelir). Genel olarak, üst dudağın iki lobu vardır ve alt dudağın üzerinde bir başlık oluşturur ve alt dudak, tozlaşan böcekler için bir iniş platformu oluşturan üç lobdan oluşmaktadır. Çiçekler, gövdenin etrafında kıvrımlar veya daireler halinde oluşur ve her çiçek sivri bir kaliksten çıkıntı yapmaktadır. Her bir çiçek dört tohum üretebilir. Tohumlar çiçeğin dibinde oluşmaktadır ve kaliksin içinde gelişmektedir. Tohum kabuğu yoktur ve tohumlar olgunlaştığında sadece kaliksten dışarı çıkmaktadır (Theseedsite, 2021). Aileye ait türlerin çoğu aromatiktir ve uçucu yağlara sahiptir. Aromatik uçucu yağlar çoğunlukla yapraklarda bulunur, ancak bitkilerin tüm toprak üstü kısımlarında da bulunabilirler. Uçucu yağlar kozmetik, aroma, koku, parfümeri, böcek ilacı ve ilaç endüstrilerinde değerlidir (Özkan, 2008).

Uçucu yağlar (EO), aromatik bitkiler tarafından, özellikle Lamiaceae familyasında ikincil metabolitler olarak sentezlenen, tipik olarak güçlü bir kokuya sahip çeşitli bileşiklerin uçucu ve karmaşık karışımlarıdır (Garcia, 2016). Lamiaceae ailesinde meydana gelen ikincil metabolitlerin birinci ve en büyük grubu, hidroksil gruplarına sahip en az bir aromatik halka ile karakterize edilen polifenollerdir. Polifenoller, fenolik grup sayılarına ve yapısal elementlere bağlı olarak fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler, lignanlar, ligninler, kumarinler, antrakinonlar ve ksantonlar olarak sınıflandırılabilir (Ganesan ve Xu, 2017; Rasouli vd., 2017). İnsan vücudunda polifenoller, dokulara ve organlara zarar veren serbest radikallerin neden olduğu kronik hastalıklara karşı koruma sağlayan antioksidan özellikler sergilemelktedir (Uritu vd., 2018). Ayrıca antikanser, antidiyabetik, nöroprotektik, antiinflamatuvar, antiviral, antifungal veya antibakteriyel etki göstermektedirler (Alam vd., 2017; Ayub vd., 2017; Franceschelli vd., 2017; González-Sarrías vd., 2017; Luo vd., 2017; Miyamoto vd., 2017; Omodanisi vd., 2017).

Bir başka güçlü ikincil bileşik grubu ise terpenler, özellikle oksijenli terpenoidlerdir (Perveen, 2018). Sırasıyla terpenoidler, izopren birimlerinin sayısına bağlı olarak monoterpenler, seskiterpenler, diterpenler, sesterpenler ve triterpenler olarak kategorize edilir. Diterpenler, 10.000'den fazla farklı yapıya sahip çeşitli bitki metabolitleri sınıfını oluşturur ve Lamiaceae'de yaklaşık 50 farklı iskelet sunmaktadır (Hanson, 2016; Hanson vd., 2019). Çoğu diterpen, bitkilerin ekolojik etkileşimlerinde kritik bir rol oynar ve antibakteriyel, antifungal, antiprotozoal, enzim indükleyici,

antiinflamatuar, immün hücre fonksiyonunun ve antikanser özelliklerinin modülasyonu gibi hem *in vitro* hem de *in vivo* olmak üzere ilginç biyolojik aktiviteler göstermektedir (Bisio vd., 2019; Demetzos ve Dimas, 2001; Topçu vd., 2018;). Çalışmalar, bazı diterpenlerin, insan kaynaklı çeşitli hücre hatları üzerinde önemli sitotoksik ve sitostatik etkilere sahip olduğunu, apoptozun biyokimyasal yollarına ve hücre döngüsü fazına müdahale ettiğini ve proto onkojenlerin ekspresyonunu etkileyebileceğini göstermiştir (Banerjee vd., 2008; Demetzos ve Dimas, 2001). Lamiaceae'nin birçok üyesi ayrıca, bir nitrojen atomu içeren halka yapısına sahip olan alkaloidleri içermektedir. Birçok alkaloid toksiktir ve bitkiler tarafından kendilerini diğer organizmalardan gelen saldırılara karşı korumak için kullanılmaktadır (Khattak ve Khan, 2016; Debnath vd., 2018). Bu tür birçok bileşiğin güçlü bir sitotoksik etkisi vardır ve farklı hücre hatlarında çeşitli yollardan apoptozu indüklemektedirler (Aniszewski, 2007; Burnet vd., 2000).

Lamiaceae familyasının, ekonomik öneme sahip uçucu yağların en önemli kaynaklarından biri olarak kabul edilmesi ile (Perez-Gonzales vd., 2019), farmakoloji alanında ve kozmetik sanayisinde, parfümeri ve eczacılıkta antibiyotik kaynaklı (*Salvia* L., *Lavandula* L., *Rosmarinus* L., *Mentha* L., *Marrubium* L.) ve aromatik/baharat olarak (*Salvia* L., *Origanum* L., *Thymus* L., *Ocimum* L., *Satureja* L.) kullanılmaktadır (Alan vd., 2010). Yenilebilir yaprakları için yetiştirilenlerin yanı sıra, Lamiaceae bitki türleri, güzel çiçekleri nedeniyle süs amaçlı da yetiştirilmektedir. Örneğin, dekoratif amaçlı olarak *Nepeta* L., *Salvia* L., *Phlomis* L. ve *Ajuga* L. gibi cinsler kullanılmaktadır (Topcu ve Kusman, 2014; Mesquita vd., 2019). Familyanın bazı üyeleri dünyanın çeşitli yerlerinde halk ilacı olarak da kullanılmaktadır (Alan vd., 2010). Lamiaceae familyası tüm bu özellikleri nedeniyle dünyada en çok kullanılan ve ticareti yapılan familyalardan birisidir (Çinbilgel ve Kurt, 2019; Raja, 2012).

2.1.2 *Tyhmbra* L. cinsi

Lamiaceae familyasına (Labiatae) ait *Thymbra* L. cinsi, ekonomik açıdan önemli bir bitkidir. Çoğunlukla kurak veya yarı kurak, ılık ve dağlık bölgelerde meydana gelen dikotiledonlu bodur çalıları içerimektedir. Vahşi doğadan yoğun olarak toplanır ve tehdit altında kabul edilmektedir (Kizil, 2010).

Thymbra L. cinsi dünya genelinde *Thymbra calostachya*, *Thymbra capitata*, *Thymbra sintenisii*, *Thymbra spicata* olmak üzere 4 tür ile temsil edilmektedir. Cinsin gen merkezi Doğu Akdeniz'dir. Batıda Portekiz kıyılarından (Akdeniz'in başlangıcı), doğuda Irak'a kadar, güneyde Mısır ve Cezayir, kuzeyde Karadeniz'e kadar yayılım göstermektedir (Şeker, 2015).

Türkiye'de ise *Thymbra* L. cinsi *T. capitata*, *T. sintenisii* subsp. *sintenisii*, *T. sintenisii* subsp. *isaurica*, *T. spicata* subsp. *intricata*, *T. spicata* subsp. *spicata* olmak üzere 3 türe ait toplam 5 takson ile temsil edilmektedir. Bu taksonlardan *T. sintenisii* subsp. *isaurica* ve *T. spicata* subsp. *intricata* ülkemize endemiktir. Türkiye'de genel olarak Akdeniz bölgesinde yayılış göstermektedir (Davis, 1982; Güner vd., 2000; Morales, 1987)

Türkiye'de ticari kekiğin kaynakları arasındadır. Kuru yapraklar ve çiçek salkımları, Güneydoğu Anadolu'da zahter, sater, sivri kekik, kara kekik ve karabaş kekik olarak bilinmektedir. Halk arasında antiseptik ve uyarıcı bitki çayı ve özellikle keskin kokuları nedeni ile baharat olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1963).

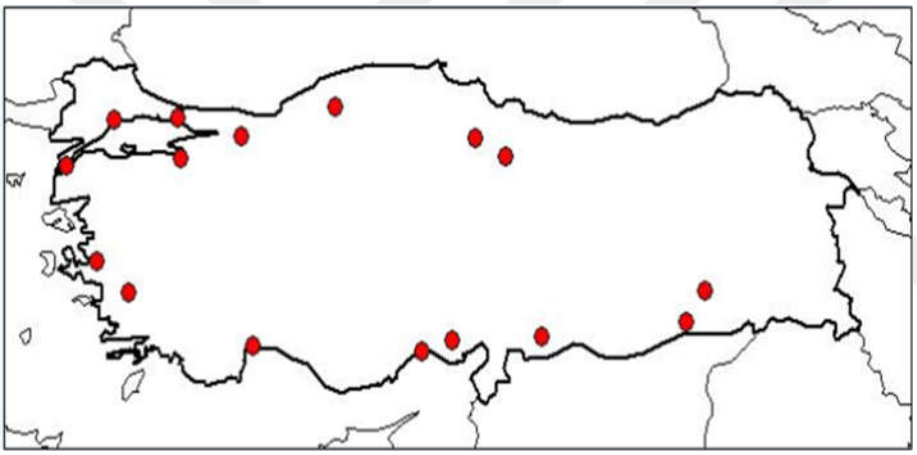
Thymbra üyeleri genellikle salgı tüylü küçük çalılardır. Çiçekleri mor veya beyaz renklerde olup keskin kokulu uçucu yağ içerir. Çiçek durumu yoğun bir başaktır. Çiçek kümeleri (vertisillasterler) 6 ile 10 arasında değişen çiçeklerden oluşur. Brakteleri üst yapraklara benzer ancak lekelidir. Brakteoller mızrağımsı, basık, uzun veya sil şeklinde tüylüdür. Kaliks tüpsü yapıda olup, sırt kısmından basık, iki dudaklı (korollanın ortasına kadar) ve boğazı tüylüdür. Meyveleri fındıkçık (nutlet) tipte olup, yumurtamsı şekildedir (Davis, 1982).

2.1.2.1 *Thymbra spicata* var. *spicata*

Thymbra spicata L. var. *spicata*, Lamiaceae familyasına ait tıbbi bir bitkidir ve Akdeniz bölgesi, Batı Avrupa, Kuzey Afrika ve Japonya'da bulunduğu bildirilen yaklaşık 400 türden oluşan *Thymbra* cinsinin bir üyesidir (Daneshvar-Royandezagh vd., 2009)."Zahter" ve "Karabas kekik" olarak da bilinen *T. spicata*, Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz bölgelerinde yaygın olarak bulunmaktadır (Şekil 2.2). Bitkinin yaprakları ve çiçekleri yiyecek, içecek ve tıbbi amaçla kullanılmaktadır.

Yapılan çalışmalar, çok düşük miktarlarda bulunan diğer bileşenlere ek olarak %70 karvakrol, *α*-terpinen ve *p*-simen bileşenleri içeren *T. spicata* uçucu yağlarının antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterdiğini bildirmiştir (Baydar vd., 2004; Ünlü vd., 2009). *T. spicata*'nın tüm uçucu yağları arasında baskın monoterpenik fenol olan karvakrol, antimikrobiyal, analjezik, anti inflamatuar, antioksidan, insektisidal, antiparazitik ve antitümör aktiviteleri gibi bazı özellikler göstermektedir (Aligiannis vd., 2001; Can Baser, 2008; Kizil, 2010; Sokmen vd., 2004).

T. spicata; çok yıllık, çalı yapıda, çiçeklenme dönemi 6-7. aylar arası, doğal yaşam alanı kuru sık sık kayalık (genellikle kalkerli), çalı içi, frigana ve bozkır yerler olan, 0-1000 m yükseklikte yetişen endemik olmayan bir *Thymbra* türüdür (TUBİVES, 2021).



Şekil 2.2 *T. spicata L. var spicata.*'nın Türkiye'de yayıldığı iller

(http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=2103)

10-40 cm'ye kadar uzayabilen çalı formundadır. Çiçekleri yukarıya doğru veya dikine, basit ya da bazen bölünmüş olarak dallanmış, genellikle iki karşı taraf üzerinde tüyler bulunan, dikenlere sahiptir. Yaprakları doğrusal ya da doğrusal mızrak şeklinde, geniş, tüysüz veya tabana doğru seyrek kirpiklidir. Çiçeklenme 8-10 cm oval ya da boyuna uzamış şekilde genellikle yoğun sıralanmıştır. Brakte mızrak şeklinde olup kısa süreli sillenmektedir. Brakteoller benzerdir fakat akut akümünatlı ve yoğun uzun silli olup morumsu, 1.5-2x kalikslidir. Kaliksler 4-6 mm morumsu kahverengi olup meyvede

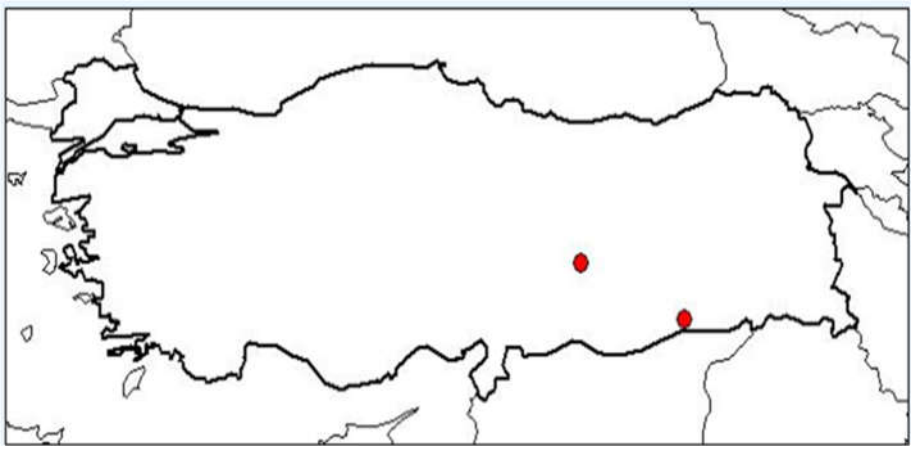
dökülmektedir. Korolla 12-16 mm leylak ya da pembe renklidir ve grandüler-noktalı olabilir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 *Thymbra spicata* var. *spicata* (*Foto: M.Fırat)*

2.1.2.2 *Thymbra sintenisii* Bornm. & Azn. subsp. *sintensii.*

Türkiye'de Doğu Anadolu Bölgesin'de yayılış göstermektedir (Şekil 2.4) (TÜBİVES, 2021). Endemik olmayan, çalımsı çok yıllık bitkilerdir. Gövde dik, salgı tüyleri kıvrılmış; yaprakları 6- 11.5 x 2-2.5 mm'dir. Brakteler 6-7.5 x 1.5-2 mm, marjlar kısa silli, brakteoller 3-4.5 x 1 mm, kenarlar kısa silli, kaliks 5-6 x 2 mm, kenar kısa sert tüylü, korolla 8 mm'dir. Yapraklar yeşil, grimsi-yeşil, doğrusal-mızrak şeklinde, çapraz, apeks sivri, geniş ila yuvarlak, kenar tam, taban geniş, her iki yüzey de trikomlarla kaplı, kırmızımsı, saplı veya sapsız salgı tüyleri bulunmaktadır. Brakteler mızrak şeklinde, apeks akut, her iki yüzeyde kısa tüylü, kenarlar siliat, salgı tüyleri gömülüdür. Brakteoller mızrak şeklinde, apeks akut, her iki yüzeyde kısa tüylüdür. Kaliks tüpü dorsal olarak sıkıştırılmış, salgı bezi kırmızımsı ve her iki yüzeye de gömülü haldedir. Kaliks boğazı uzun tüylüdür. Korolla beyaz, bilabiat, eglandüler ve kırmızımsı glandüler tüylüdür. Stamenler üst dudağı geçmez. Anterler 0.5 mm, filamentler 3-4 mm, ovaryum 4 loblu, stilus 9 mm, stigma 1 mm'dir (Şekil2.5) (Eken, 2005). Çiçeklenme zamanı Haziran-temmuz aylarıdır.



Şekil 2.4 *Thymbra sintenisii* Bornm. & Azn. subsp. *sintensii*'nin Türkiye'de yayıldığı iller (http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=2045)

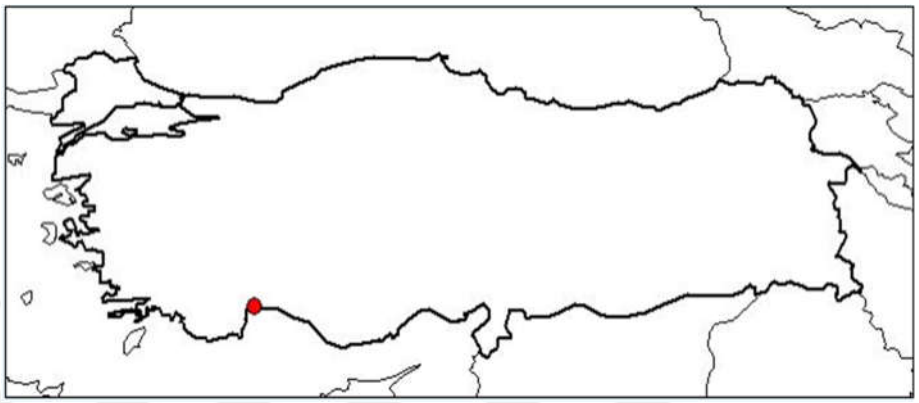


Şekil 2.5 *T. sintenisii* subsp. *sintensii.* (Foto: M.Fırat)

2.1.3 *Thymbra sintenisii* Bornm. & Azn. subsp. *isaurica* P.H.Davis

Çok yıllık, çalı formunda, kayalık yamaçlarda yetişen bir bitkidir. Endemik bir türdür ve Türkiye'de Akdeniz Bölgesi'nde yayılış göstermektedir (Şekil 2.6). Çiçeklenme zamanı Haziran-Temmuz aylarıdır (TÜBİVES, 2021). Gövde dik, salgı tüyleri kısa ve kıvrık değildir. Yaprakları 6-17 x 2.5-3 mm, brakteler 7.5-10 x 2 mm, kenarlar çok hücreli tüylü, brakteoller 6-7 x 1-1.5 mm, kenarlar uzun silli, kaliks 6,5 x 2-2.5 mm, kenar boşlukları uzun tüylü ve korolla 9 mm'dir. Yapraklar yeşil, grimsi-yeşil, doğrusal-mızrak şeklinde, çapraz, apeks sivri, geniş ila yuvarlak, kenar tam, taban geniş, her iki yüzey de trikomlarla kaplı, kırmızımsı, saplı veya sapsız salgı tüyleri bulunmaktadır. Brakteler mızrak şeklinde, apeks akut, her iki yüzeyde kısa tüylü, kenarlar siliat, salgı tüyleri gömülüdür. Brakteoller mızrak şeklinde, apeks akut, her iki yüzeyde kısa tüylüdür. Kaliks tüpü dorsal olarak sıkıştırılmış, salgı bezi kırmızımsı

ve her iki yüzeye de gömülü haldedir. Kaliks boğazı uzun tüylüdür. Korolla beyaz, bilabiat, eglandüler ve kırmızımsı glandüler tüylüdür. Stamenler üst dudağı geçmez. Anterler 0.5 mm, filamentler 3-4 mm, ovaryum 4 loblu, stilus 9 mm, stigma 1 mm'dir (Şekil 2.7) (Eken, 2005).



Şekil 2.6 *Thymbra sintenisii* Bornm. & Azn. subsp. *isaurica P.H.Davis'*nın Türkiye'de yayıldığı iller (http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=8013)



Şekil 2.7 *T. sintenisii* subsp. *isaurica* (Hepokur vd., 2020)

2.1.4 *Thymbra* Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı

Thymbra türleri halk arasında öncelikli olarak akciğer, mide ve bağırsak hastalıklarında tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kramp çözücü, antiseptik ve balgam söktürücü etki göstermektedir. Antimikrobiyal özelliği sayesinde bakteri oluşumunu da engellemektedir. Üst solunum yolu hastalıklarında gargara ve çay olarak tüketilmektedir.

Sindirim sisteminde meydana gelen ağrı ve kramplara da karşı da kekik çayı kullanılmaktadır. Adet zamanlarında görülen kramplı ağrılar da kekik çayı ile giderilmektedir. Ergenlikte oluşan sivilcelere karşı, vücuttaki yağarı eritmekte ve ödem atmakta da kullanılmaktadır. Ayrıca vücuttaki kan dolaşımını hızlandırdığı için kalp hastalıklarına karşı tüketilmektedir. Tansiyonu düşürmek için kullanılmaktadır. Böbrek taşlarının düşürülmesinde ve kan şekerini düzenlemekte kekikten faydalanılmaktadır. Kekiğin çiçekli sapı halk arasında idrar söktürücü olarak kullanılmaktadır. Mide bulantısını engelleyici ve gaz gidericidir. Bağırsakta görülen parazitlere kullanılmaktadır. Ayrıca ağızda görülen yaralarda ve diş ağrılarının giderilmesinde, egzama ve uyuz tedavilerinde kekikten faydalanılmaktadır. Hayvanların ağızları şap hastalığına karşı kekik suyu ile yıkanmaktadır. Ayrıca kekikten boyar madde olarak da faydalanılmaktadır (Benli ve Yiğit, 2005).

2.1.5 *Thymbra* türleriyle ilgili yapılan kimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları

Hepokur vd., (2020), yaptıkları bu çalışmada *T. capitata* türünün etanolik ekstraktının (TC-EtOH) kimyasal bileşimi, antimikrobiyal, antioksidan, sitotoksik aktivite ve in-vivo yara iyileştirici etkisini araştırmışlardır. TC-EtOH'ın kimyasal bileşimini gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ile analiz etmişleridir. Antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri sırasıyla 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), disk difüzyonu testi ve minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) yöntemleriyle belirlenmiştir. Sitotoksik aktivite MG63 (insan osteosarkomu) ve MCF-7 (insan meme karsinomu) hücre hatlarında 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5sülfophenil)-2H-tetrazolium-5-karboksanilid (XTT) yöntemiyle, Tümör nekroz faktörü alfa (TNF-a) seviyesi ELISA metoduyla belirlenmiştir. TC-EtOH'de tetratriakontan (%14.92), kafur (%12.50), terpineol (%10.77) ana bileşenler olarak belirlenmiştir. TC-EtOH'nın, *Candidatropicalis*'e (0.03 mg/mL) karşı güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. TC-EtOH'ın DPPH için IC_{50} değeri 21.5 µg/mL olarak belirlenmiştir. TC-EtOH'ın MG63 ve MCF-7 hücre serileri için IC_{50} değerleri sırasıyla 37.28 µg/mL ve 44.40 µg/mL olarak bulunmuştur. *In vivo* çalışmalardan elde edilen bulgulara göre, TC-EtOH ile tedavi edilen yaraların kontrol grubuna göre daha hızlı iyileşme gösterdiğini gözlemlenmiştir. Sonuç olarak *T. capitata* türlerinin doğal antioksidan ve ilaç endüstrisi için yeni bir farmasötik bileşik olabilceği raporlanmıştır.

Aslan vd., (2020), yaptıkları bu çalışma ile Türkiye'de Siirt ili florasında doğal yayılış gösteren *T. spicata* 'nın kalite özelliklerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Anadolu'da halk hekimliğinde kullanılan *T. spicata*'nın kurutulmuş yaprak ve çiçekleri baharat ve çay olarak, genç sürgünleri ise salata olarak kullanılmaktadır. Bitkinin uçucu yağ içeriği %0.5 ile %3.4 arasında değişmektedir. *T. spicata*'daki uçucu yağın önemli bir kısmı karvakrolden oluşmaktadır. Yaptıkları çalışmada, farklı yönlerden (kuzey, güney, doğu, batı) ve farklı hasat zamanlarında (çiçeklenme öncesi, tam çiçeklenme ve çiçeklenme sonrası) toplanan *T. spicata*'nın uçucu yağ oranı ve uçucu yağ bileşenleri belirlenmiştir. Çalışmalar tesadüf blokları deneme desenine göre bölünmüş parsellere göre 4 tekrarlamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar uçucu yağ oranının %2.13 ile %3.15 arasında değiştiğini göstermiştir. En yüksek uçucu yağ oranı (%3.15) tam çiçeklenme döneminde batı yönünden elde edilirken, en düşük uçucu yağ oranı (%2.13) çiçeklenme sonrası doğu yönünden elde edilmiştir. Uçucu yağda 19 ana bileşen ve 19 diğer bileşen çok küçük miktarlarda (toplam %2) olmak üzere toplam 38 bileşen tanımlamışlardır. Uçucu yağın ana bileşenin karvakrol (%39.29-65.97) olduğunu belirlemişlerdir.

Çelik vd., (2020), yaptıkları bu çalışma ile Türkiye'de yetişen Lamiaceae familyasının beş türünün (*Thymus cilicicus* Boiss. et Bal*, Clinopodium nepeta* L., *Nepeta italica* L., *T. spicata* L. ve *Ziziphora clinopodioides* L.) uçucu organik bileşikleri (VOC'ler) SPME/GC-FID/MS yöntemi ile tanımlamıştır. Beş tür, antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerini ortaya çıkarmak için taranmıştır. Beş türün fenolik bileşik analizleri, diyot dizisi algılamalı RP-HPLC kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tanımlanan toplam 73 bileşik arasında α-pinen (%2.2-13.8), β-pinen (%0.3-25.9), *p*-simen (%0.7-17.9), γ-terpinen (%0.4) -22.0%), karvakrol (%0.1-%40.2), sabinen (%1.2-%34.2), terpinen-4-ol (%0.2-%27.5), (E)-β-karyofillen (%0.1-13.8) ve (E)-β-farnesen (%0.4-19.7) en çok gözlemlenenlerdir. Lamiaceae familyasının beş türünün metanol ekstraktlarının minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri araştırılmış ve sonuçlar 23-959 µg/mL aralığında bulunmuştur; en belirgin antibakteriyel aktivitelerin *Mycobacterium smegmatis*'e (23-291 µg/mL) karşı olduğu belirlenmiştir. Metanol özütlerinin tümü, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal giderici deneylerinden tahmin edildiği gibi, etkili antioksidan kapasiteye (IC_{50}: 1.82-28.18 µmol/L Trolox/g numune) sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca fenoliklerin, özellikle benzoik asidin (sırasıyla 86.27, 27.85,

13.11, 9.59 mg/g ekstre), Lamiaceae familyasının beş türünün metanol özütlerinin biyolojik özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Şengün vd., (2020), yaptıkları bu çalışmada Türkiye'de yabani olarak yetişen *T. spicata*'nın ekstrakt ve uçucu yağının kimyasal bileşimi, toplam fenolik içeriği, antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. *T. spicata* özütü ve uçucu yağın kimyasal bileşimi GC–MS yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bitki ekstraktının ana bileşenleri karvakrol (%88.75) ve asetik asit (%11.25) iken, bitki uçucu yağının ana bileşenleri karvakrol (%56.03), trans karyofillen (%10.41), *p*-simen (%9.61) ve *γ*-terpinen (%6.87) olarak belirlenmiştir. Ekstrakt ve uçucu yağın toplam fenolik içeriğinin sırasıyla 1350 ve 3440 µg GAE/g olduğu bulunmuştur. Örneklerin antioksidan aktiviteleri DPPH ve $ABTS^{+}$ radikal giderim aktiviteleri kullanılarak test edilmiştir. Ekstrakt ve uçucu yağın antioksidan kapasitesinin (%İnhibisyon:50.51-98.28), fenolik içerikleri ile yüksek oranda ilişkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bitkinin antimikrobiyal etkileri disk difüzyon ve et suyu seyreltme yöntemleri ile yedi bakteriye karşı test edilmiştir. En yüksek inhibisyon zon değerleri, *T. spicata*'nın ekstraktı ve uçucu yağı için sırasıyla 15±7 mm ve 50±10 mm olarak *Staphylococcus aureus*'a karşı gözlenmiştir. Et suyu seyreltme yöntemine göre *Bacillus subtilis* ve *Listeria monocytogenes'*in *T. spicata* uçucu yağına en dirençli bakteriler olduğu (%0.625) bulunmuştur. Yağ numunesi, tüm test mikroorganizmalarına karşı yüksek bakterisit etki göstermiştir (%0.313–1.25). Bitkinin uçucu yağı, ekstrakttan daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Sonuç olarak, *T. spicata*'nın ilaç ve gıda endüstrisinde doğal bir antioksidan olarak ve antimikrobiyal ürünlerde kullanılabileceği belirtilmiştir.

Momeni vd., (2020), yaptıkları çalışmada, kontrol, salisilik asit (2.5 ve 5.0 mM) ve kitosan (0.5 ve 1.0 g/L) içeren yaprak uygulamalarının farklı toprak nemi koşullarında *T. spicata*'nın uçucu yağ kimyasal bileşimleri ve verimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ, GC-FID ve GC/MS ile analiz edilmiştir. Salisilik asit ve kitosan'ın püskürtülmüş yapraklar, kontrol grubu (1.7 mL/100 g) ile karşılaştırıldığında uçucu yağ veriminin (2.5-2.7 mL/100 g kuru madde) %30'dan %60'a önemli ölçüde iyileştiğini gözlemlemişlerdir. *T. spicata* uçucu yağında baskın bileşenlerin karvakrol (%48.40-79.1), *γ*-terpinen (%7.27-25.62),

limonen (%3.62-10.35), *p*-simen (% 1.69- 6.44) ve *β*-karyofillen (% 1- 1.5) olduğunu bulmuşlardır. Salisilik asit ve kitosan ile ilaçlama yapılan bitkilerde uçucu yağdaki karvakrol içeriğinin kontrol grubuna göre arttığını gözlemlemişlerdir.

Verdeguer vd., (2020), yaptıkları bu çalışmada *T. capitata*, *Mentha piperita*, *Eucalyptus camaldulensis* ve *Santolina chamaecyparissus* uçucu yağlarının (EO) zararlı ot *Erigeron bonariensis*'e karşı fitotoksisitesini sera koşullarında çıkış öncesi ve sonrası deneylerde belirlemişlerdir. EO'ları 2, 4 ve 8 µL/mL'de uygulamışlardır ve emülgatör olarak Fitoil kullanılmıştır. Çıkıştan sonra, sulama ve püskürtme olmak üzere iki uygulama yolu test edilmiştir. Çeşitli çimlenme parametreleri (çimlenme yüzdesi, ortalama çimlenme süresi ve çimlenme sürecinin senkronizasyonu) çıkış öncesi testlerde değerlendirilmiş ve çıkış sonrası fitotoksisite seviyesi belirlenmiştir. Ortaya çıkma öncesinde, tüm EO'lerin, kontrollere kıyasla tohum çimlenmesini önemli ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir (*T. capitata* > *E. camaldulensis* > *S. chamaecyparissus* > *M. Piperita*).

Hepokur vd., (2020), yaptıkları bu çalışma ile *T.sintenisii* subsp. *isaurica* ekstresinin (TSIE) fenolik bileşimini, antioksidan aktivitesini ve insan MCF-7 (meme karsinomu) hücreleri üzerinde ilk kez antikanser etkisini değerlendirmişlerdir. TSIE'nin antioksidan kapasitesi, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve toplam polifenol deneyleri kullanılarak belirlenmiştir. TSIE'nin antikanser aktiviteleri, MCF-7 (meme karsinomu) hücreleri üzerinde test edilmiştir. TSIE ekstraktlarının toplam polifenol değeri 73.02 mg gallik asit/g kuru bitki olarak bulunmuştur. TSIE için IC_{50} değerinin DPPH sonucu 27.15 µg/mL bulunmuştur. TSIE'nin antikanser etkisini incelemek için MCF-7 hücreleri üzerinde farklı konsantrasyonlarda uygulanmıştır ve TSIE'nin hücre canlılığını doza bağlı bir şekilde azalttığı gözlemlenmiştir. TSIE'nin bu antikanser özelliği, ilaç tasarımı için bitki araştırmasının önemini vurgulamaktadır.

Moukhles vd., (2020), yaptıkları bu çalışmada, Fas'tan toplanan *T. capitata*'nın toprak üstü kısımlarının uçucu yağ (EO) ve hidrolat ekstraktının (HE) kimyasal bileşimini belirlemeyi amaçlamışlardır. Yağların dört bakteri suşuna karşı antibakteriyel aktivitelerini değerlendirmek için Gram- (*E. coli, Pr. Mirabilis*) ve Gram + (*B. subtilis, Saureus*) ve ayrıca % 3 sodyum klorür ortamında alüminyum alaşımına (AA6063)

karşı korozyon önleyici güçlerini değerlendirmek için iki yöntem (potansiyodinamik polarizasyon ve empedans spektroskopisi (EIS) ölçümleri) kullanmışlardır. Analiz sonuçları, karvakrolün (%83.6) *T. capitata* EO'nun en baskın bileşiği olduğunu, ardından *p*-simenin (%5.4) ve *α*-humulen (%3.5) geldiğini, *T. capitata* HE ise neredeyse karvakrol (%98.5) ile birlikte eser miktarda bazı bileşikler bulunduğunu göstermiştir. Her iki yağ da test edilen bakteri suşlarına karşı önemli antibakteriyel aktivite göstermiştir. *T. capitata* EO, 2 g/L'lik bir konsantrasyonda %74.52'lik bir inhibisyon etkinliği gösterirken, *T. capitata* HE, aynı konsantrasyonda %85.55'lik bir inhibisyon etkinliği göstermiştir.

Al vd., (2020), yaptıkları bu çalışmada, Türkiye'de tüketilen sucuklarda gözlenen *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium* bakterilerine karşı *T. spicata* uçucu yağının (EO) antimikrobiyal aktivitesini belirlemişlerdir. Çalışmada elde edilen uçucu yağın bileşiminde ana bileşenin karvakrol (%43.6) olduğu ve *γ*-terpinen (%16.69), *p*-simen (%13.97) gibi toplam 47 bileşenin (%99.41) bulunduğu tespit edilmiştir. *T. spicata*'nın *in vitro* olarak ilgili patojenler üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği ancak artan miktarda EO kullanımının sucukta antimikrobiyal olarak etkili olmasının organoleptik özellikleri olumsuz etkilediği gözlemlenmiştir. Bu çalışma ile doğal katkı maddelerinin gıda teknolojisinde kimyasallara alternatif olarak gıda kaynaklı hastalıkları önlemek ve ürünlerin raf ömrünü uzatmak için potansiyel olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Omar vd. (2020) yaptıkları bu çalışmada, *Satureja thymbra* L., *T. spicata* (Lamiaccae) ve *Verbascum fruticulosum* Post'un (Scrophulariaceae) farklı ekstre türlerinin hemostatik etkinliğini Protrombin zamanı (PT) ve Aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı (aPTT) analizi ile değerlendirmişlerdir. İncelenen bitki türlerinin yapraklarının sulu, metanol ve etanol özleri, 50 mg/mL'lik bir nihai konsantrasyonda hazırlanmıştır. *In vitro* PT ve aPTT testleri, bir dijital pıhtılaşma analiz cihazı ile normal trombositten fakir plazma kan numuneleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, araştırılan tüm bitki türlerinin antikoagülasyon aktivitesini, aralarında gözlemlenen varyasyonlarla ortaya çıkarmıştır. *T. spicata*'nın sulu ve etanol özütleri ile *S. thymbra*'nın sulu özütü, PT değerlerini önemli ölçüde uzatmıştır ($p<0.05$). Tüm *V. fruticulosum* ekstrakt türlerinin PT değerleri üzerinde önemli bir etkisi olmadığı

gözlemlenmiştir. Kaydedilen aPTT verileri, çalışılan tüm bitki türlerinde aPTT değerlerini arttırdığı için tüm sulu ekstraktların kan hemostazı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bunların dışında, *T. spicata*'nın hem etanol hem de metanol özütleri ve *S. thymbra*'nın metanol özütü benzer etki göstermiştir. *T. spicata*'nın sulu ve etanol özütünün ve *S. thymbra*'nın sulu özütünün, kontrole göre hem PT hem de aPTT değerlerini önemli ölçüde artırdıkları için en güçlü antikoagülasyon etkisine sahip olduğu açıkça fark edilmiştir ($p<0.05$). Çalışılan bitki türleri arasındaki değişken antikoagülasyon biyoaktivitesi, farklı fitobileşenlerin çeşitli çözücülerdeki çözünürlük derecelerine atıfta bulunulabileceği ve bu nedenle, antikoagülanlar veya pıhtılaştırıcılar olarak bitki türü özütlerinin değerlendirilmesinin etkinliğinin, bitki türleri ve özütleme çözücüsü ile ilgili olduğu raporlanmıştır.

Anastasiou vd. (2020), bu çalışmada balık yetiştiriciliğinde kullanılabilecek potansiyel antimikrobiyal ve antioksidan ajanlar olarak 12 Akdeniz tıbbi aromatik bitkisi üzerinde çalışmışlardır. *In vitro* deneyler, çalışılan tüm bitkilerden elde edilen uçucu yağların (EO'lar), etkinliklerinin kimyasal bileşimlerine bağlı olmasıyla birlikte, antibakteriyel ve antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Daha spesifik olarak, karvakrol, *p*-simen ve *γ*-terpinen bakımından zengin EO'lar, yalnızca bakteriyel patojenlerin büyümesine karşı en güçlü inhibitör aktiviteyi (inhibitör konsantrasyonu: 26-88 μmol/mL) değil, aynı zamanda en büyük toplam antioksidan kapasitesini (ABTS:2591–5879 μmol/mL; CUPRAC:931–2733 μmol/mL) sergilemiştir. Bu bileşikler esas olarak Yunanistan'daki kültürlerden toplanan *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *T. capitata* ve *S. thymbra* EO'larında bulunmuştur. Yapılan çalışma ile spesifik EO'ların, çiftlik balıklarında bakteriyel hastalıkların ve oksidatif stresin tedavisinde umut verici adaylar olarak öne çıktığı belirtilmiştir.

Kontaxakıs vd. (2020), yaptıkları bu çalışmada üzümlerde hasat sonrası çürüme ve okratoksin A kontaminasyonunu önlemek ve tüketiciler için güvenli bir yöntem bulmak amacıyla uçucu yağların koruyucu olarak kullanım potansiyelini araştırmışlardır. Bu doğrultuda *Origanum dictamnus* (dittany), *Origanum onites* (kekik), *Origanum microphyllum* (mercan kökü), *T. capitata* (kekik), *S. thymbra* (geyik otu), *Rosmarinus officinalis* (biberiye), *Laurus nobilis* (defne) ve *Salvia officinalis* (ada çayı) uçucu yağlarını kullanmışlardır. Uçucu yağ bileşenleri, gaz

kromatografisi-kütle spektrometrisi analizi ile tanımlanmıştır. Uçucu yağların etkinliğinin ilk değerlendirmesi, 300 µL/L kadar olan konsantrasyonlarda *in vitro* olarak yapılmıştır. *In vitro* testlerin sonuçlarına göre, en etkili dört uçucu yağ (*O. dictamnus, O. onites, T. capitata* ve *S. thymbra*) hasat sonrası depolama sırasında Sultaniye üzümleri üzerinde test edilmiştir. Yüksek konsantrasyonda ortak bir bileşen olarak karvakrol ve/veya timol içeren dört uçucu yağın, tüm tedavilerde mantarın büyümesini önemli ölçüde azalttığı ve hatta engellediği gözlemlenmiştir. Sonuçlardan ortaya çıktığı gibi, *O. dictamnus, O. onites* ve *S. thymbra*'nın uçucu yağlarının, minimum 100 µL/L konsantrasyonu ile mantarın büyümesinin toplam inhibisyonuna neden olan en etkili yağlar olduğu, ardından minimum 200 µL/L konsantrasyonla toplam etkinlik gösteren *T. capitata.* uçucu yağının geldiği belirtilmiştir. *O. microphyllum, L. nobilis, S. officinalis* ve *R. officinalis'*in uçucu yağlarının *A. carbonarius*'un büyümesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olmasına rağmen, test edilen konsantrasyonların hiçbirinde büyümesini engelleyemedikleri gözlemlenmiştir.

Karpi´nski (2020), yaptığı bu çalışmada 72 Lamiaceae bitkisinden elde edilen uçucu yağların antifungal aktivitelerini araştırmıştır. Yapılan araştırmalar bunların yarısından fazlasının mantarlara karşı iyi derecede antifungal aktiviteye (minimum inhibitör konsantrasyonlar (MİK'ler)<1000 µg/mL) sahip olduğunu göstermiştir. En iyi aktivitenin (MİK<100), *Clinopodium, Lavandula, Mentha, Thymbra* ve *Thymus* cinslerinin bazı türlerinden elde edilen uçucu yağlara sahip olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada ayrıca kullanılan uçucu yağların en önemli bileşikleri de karakterize edilmiştir. Ana bileşenler olarak en yaygın bulunan kimyasal bileşenler *β*-karyofillen (41 bitki), linalool (27 bitki), limonen (26), *β*-pinen (25), 1,8-sineol (22), karvakrol (21) bulunur.), *α*-pinen (21), *p*-simen (20), *γ*-terpinen (20) ve timol (20)'dür.

Jouini vd., (2020), yaptıkları bu çalışmada, *T. capitata*, *Mentha* × *piperita* L. ve *Santolina chamaecyparissus* L. uçucu yağlarının (EO'lar) *Avena fatua* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) *P. Beauv*., *Portulaca oleracea* L., *Amaranthus retroflexus* L. üzerindeki herbisit potansiyelini değerlendirmeyi ve toprak mikroorganizmaları üzerindeki etkilerini belirlemeyi amaçlamıştır. Bir saksı deneyi kurulmuş ve irrigasyon yoluyla üç dozda, üç farklı EO uygulanmıştır. EO'ların yabancı ot büyümesi üzerindeki

etkinliği ve etkileri belirlenmiştir. Toprak mikrobiyal biyokütle karbon, azot mikrobiyal solunum ve ana mikrobiyal gruplar 7, 28 ve 56. günlerde belirlenmiştir. EO'lar, dozla birlikte toksisitelerini artırarak, herbisidal aktivite göstermişlerdir. *T. capitatata* tüm yabancı otlara karşı maksimum dozda en etkili olmuştur. *P. oleracea*'nın en dayanıklı yabani ot olduğu belirlenmiştir. Toprak mikroorganizmaları, EO'ların eklenmesiyle indüklenen geçici bir çalkantı döneminden sonra ilk işlevlerini ve biyokütlelerini geri kazanmışlardır. En yüksek dozda uygulanan *T. capitata* EO, toprak mikroorganizmalarının ilk işlevlerini geri kazanmalarına izin vermemiştir. Bu çalışma sonucunda EO'ların doğal herbisitler olarak büyük potansiyel sergilediği ancak yabani otları kontrol etmek ve toprak mikroorganizmalarını olumsuz etkilememek için optimum uygulama dozunun belirlenmesi gerektiği raporlanmıştır.

Bozkurt vd., (2020), bu çalışmada farklı bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimini ve gal oluşturan bitki patojenik bakteriyel hastalık ajanları *Rhizobium radiobacter*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* ve *Psavastanoi* pv. *nerii*'ye karşı antibakteriyel aktivitelerini belirlemişlerdir. Uçucu yağların kimyasal bileşimleri GC/MS ile belirlenmiştir. Uçucu yağların ana bileşenlerinin *T. spicata*'da (%66.88) ve *Origanum syriacum*'da (%79.8) karvakrol, *Thymus serpyllum'da* (%41.03), *Thymus sipyleus*'ta (%13.72) ve *Melissa officinalis*'te (%30.4) timol, *Origanum majorana*'da 4-terpineol (%31.67), *Ocimum basilicum*'da (%30.23) linalool, *Mentha spicata*'da (%55.58) karvon, *Lavandula stoechas* var. *stoechas* (%35.5), *Laurus nobilis* (%35.5) ve *Rosmarinus officinalis* (%18.47) içinde 1,8 sineole, *Salvia officinalis'*te kafur (%24.59) ve *Foeniculum vulgare'*de (%82.8) trans-anethole olduğu belirlenmiştir. İnhibisyon zonu çapı değerlerine göre, uçucu yağlar *Psavastanoi* pv. *savastanoi*'ye (7.0-44.67 mm), ardından *R. radiobacter* (9.6-37.67 mm) ve *Psavastanoi pv. nerii'*ye (6.33-18.33 mm) karşı çok güçlü antibakteriyel aktivite göstermiştir. Lamiaceae familyasına ait bitkilerin uçucu yağlarının genellikle Lauraceae ve Apiaceae familyalarına ait olanlardan daha verimli olduğu bulunmuştur. *O. syriacum*, *T. serpyllum* ve *T. spicata* uçucu yağlarının, test edilen tüm bakteri türlerine karşı en yüksek antibakteriyel aktivite sergileyen en umut verici uçucu yağlar olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın bulguları, uçucu yağların gal oluşturan bakteriyel hastalık ajanlarına karşı antibakteriyel ajanlar olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Quílez vd., (2020), yaptıkları çalışmada Lamiaceae familyasına ait 12 ticari tohum türünün potansiyel gıda katkı maddesi olarak kullanımını araştırmışlardır. Bunun için yağ verimi, lipid profili, tokoferol içeriği, fenolik profil ve antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. *Satureja hortensis*, *Satureja montana*, *Lavandula angustifolia*, *Lavandula latifolia* ve *O. vulgare*'den elde edilen yağların ω-3 çoklu doymamış yağ asitleri (sırasıyla 50.5; 52.4; 52.1; 48.5 ve 45.5 g/100 g), *Salvia lavandulifolia* ve *Rosmarinus officinalis*'ten elde edilen yağların ω-6 çoklu doymamış yağ asitleri (sırasıyla 52.2 ve 50.0 g/100 g) kaynakları olarak kabul edilebileceği belirlenmiştir. Toplam tokoferol konsantrasyonu, 42.8 ve 113.8 mg/100 g yağ arasında değişmiştir. En yüksek antioksidan kapasiteler, karvakrolün ölçülen başlıca fenolik monoterpen olduğu *T. capitata* ve *O. vulgare* tohum yağlarına karşılık gelmiştir. Ayrıca başak lavantada sinamoil apigenin türevleri ve hidroksikumarin apigenin türevlerinin varlığı ilk kez anlatılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda bu tohumların çoğunun, insan beslenmesini ilgilendiren biyoaktif bileşenler açısından zengin önemli bir yağ kaynağı olarak kabul edilebileceği belirtilmiştir.

Charfi vd., (2019), yaptıkları bu çalışmada, nar suyu niteliklerinin korunmasında *T. capitata* esansiyel yağının olası kullanımı incelemişlerdir. Yağın meyve suyunun fizikokimyasal ve mikrobiyolojik nitelikleri üzerindeki etkisini 5 ve 20 □'de 245 günlük depolama süresince izlemişlerdir. Arıtılmış meyve suları, 245 günlük depolamadan sonra pH, toplam şekerler ve fenolik içeriklerinde hafif bir düşüş göstermiştir. Ek olarak, uçucu yağın, meyve suyunun mikrobiyolojik kalitesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu ve depolamanın ilk gününden sonra bakteri sayısında azalmaya neden olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, *T. capitata* uçucu yağının, uzun süreli depolamada fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini korumak için nar suyunda doğal koruyucu olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Bener (2019), yaptığı bu çalışmada sıcaklık, ekstraksiyon süresi, solvent konsantrasyonu ve solvent-katı oranı faktörü olarak *T. spicata*'dan antioksidanların mikrodalga destekli ekstraksiyonunun modellenmesi ve optimize edilmesi için tepki yüzey metodolojisi kullanmıştır. Hazırlanan ekstraktlar, optimum çalışma koşullarında

toplam fenolik içerik (TPC), toplam antioksidan kapasite (TAC) ve radikal giderici aktivite (RSA) gibi yüksek düzeyde antioksidan özellik göstermiştir. *T. spicata* ekstraktının fenolik antioksidan profili, UPLC-PDA-ESI-MS/MS sistemi ile karakterize edilmiştir ve rosmarinik asit ana bileşen olarak bulunmuştur (1089.2±10.9 mg/100 g-DS). Bu çalışma ile optimize edilmiş ve modellenmiş Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon yönteminin, yenilebilir *T. spicata* L. bitkisinden antioksidanları etkin bir şekilde çıkarmak için gıda ve ilaç endüstrilerinde kullanılabileceği önerilmiştir.

Kirkan vd., (2019) yaptıkları bu araştırmada, *S. thymbra* ve *T. spicata*'nın esansiyel yağlarını bileşimlerinin yanı sıra antioksidan ve enzim inhibitör aktiviteleri açısından karakterize etmeye çalışmıştır. *S. thymbra*'dan elde edilen uçucu yağın ana bileşenlerinin *γ*-terpinen (%34.67), karvakrol (%32.45), *p*-simen (%11.46) ve *β*-karyofillen (%6.85) olduğu bulunmuştur. *T. spicata*'dan elde edilen uçucu yağda en bol bulunan bileşiklerin karvakrol (%63.23), *γ*-terpinen (%18.94) ve *p*-simen (%8.31) olduğu belirtilmiştir. Uçucu yağlar, ABTS, DPPH, FRAP ve ORAC analizlerine dayalı olarak antioksidan özelliklerin yanı sıra süperoksit, nitrik oksit ve hidroksil radikallerine karşı antiradikal aktivite ve demir iyonu şelatlama aktivitesi sergilemiştir. Uçucu yağların asetilkolinesteraz (AChE), butirilkolinesteraz (BChE), tirozinaz ve α-glukosidaza karşı inhibitör etkileri olduğu bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, her iki bitkiden elde edilen uçucu yağların, farmasötiklerde içerik olarak veya gıda endüstrisinde sağlığı geliştirmek için doğal katkı maddeleri olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Khalil vd., (2019), yaptıkları bu çalışmada, dünya çapında karaciğere bağlı morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biri olan alkolsüz yağlı karaciğer hastalığının (NAFLD) *in vitro* modellerini kullanarak *T. spicata* yapraklarından elde edilen ekstraktların antisteatotik ve antioksidan aktivitelerini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Çözücü olarak su (TW) veya etanol (TE) kullanılarak *T. spicat*a'nın toprak üstü kısımlarından iki farklı ekstrakt hazırlamışlardır. Ekstraktların kimyasal bileşimlerini, kütle spektrometrisi ile birleştirilmiş gaz ve sıvı kromatografisi ile karakterize etmişlerdir. Her iki ekstrakt da NAFLD gibi bir multisistemik patolojiyi taklit edecek şekilde tedavi edilen kültürlenmiş hepatik ve endotelyal hücreler üzerinde test edilmiştir. Lipid birikimi, serbest radikal üretimi, lipid peroksidasyonu, hücre göçü

üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Hem toplam fenolik hem de toplam flavonoid içeriğinin etanolik ekstraktta daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Rosmarinik asitin TW'de en çok bulunan polifenol iken, TE'nin ana bileşeninin karvakrol olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonuçları her ikisinin de NAFLD hücresel modellerinde lipid birikimini, oksidatif stresi ve iltihabı iyileştirdiğini göstermiştir. Ancak sulu ekstraktın hepatik steatozu azaltmak için daha etkili olduğu, etanolik ekstraktın ise daha yüksek antioksidan potansiyeli ve yara iyileştirme aktivitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Çalışma sonuçları *T. spicata* özlerinin, NAFLD ve obezite ile ilişkili metabolik hastalıkları tedavi etmek için doğal terapötik ajanlar veya diyet takviyeleri geliştirmek için umut verici biyoaktif ürünler olabileceğini göstermiştir.

Charfi vd., (2019), yaptıkları bu çalışmada *T. capitata* uçucu yağının kimyasal bileşimini ve antibakteriyel aktivitesini araştırmayı ayrıca, portakal suyunda 20 ve 5°C'de 30 günlük depolama sırasında üç patojenik bakteriye karşı aktivitesini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Uçucu yağı, bitkinin toprak üstü kısmının hidrodistilasyonu ile elde etmişlerdir. Yağın kimyasal bileşimini belirlemek için GC/MS ile analizini kullanmışlardır. Difüzyon yöntemi ve mikrotitrasyon deneyleri, *Escherichia coli* O157:H7 CECT 4267, *Listeria monocytogenes* CECT 4032 ve *Staphylococcus aureus* CECT 976'ya karşı antibakteriyel aktivitesini değerlendirmek için kullanılmıştır. GC/MS analizi ile yağın ana bileşeninin karvakrol (%75.52) olduğu bulunmuştur. Yağ, *Listeria monocytogenes*'e karşı en büyük inhibisyon değerini ve *Escherichia coli'*ye karşı en küçük MİK değerini göstermiştir. Portakal suyunda, yağ, her iki saklama koşulunda da tüm patojenik bakterilerin büyümesini engellediği gözlemlenmiştir. Fas *T. capitata* esansiyel yağının portakal suyunda patojenlerin inaktivasyonu için umut verici doğal bir alternatif olabileceği rapor edilmiştir.

Moukhles vd., (2019), yaptıkları bu çalışma ile Fasta yatişen *T. capitata*'nın hidrolatında (HEO) çözünen saf uçucu yağ (EO) ve uçucu yağın verim ve kimyasal bileşimindeki değişimi büyüme aşamasına göre incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlar, bitkinin çiçeklenme sonrası dönemde (%2.90) maksimuma ulaşmasıyla birlikte uçucu yağ veriminin arttığını ortaya koymuştur. Öte yandan, hidrolatlardaki çözünmüş uçucu yağ verimi, çiçeklenme aşamasında (%0.53) zirveye ulaşmış ve ardından düşüş göstermiştir. Yağların kimyasal içerik analizi GC-MS ile yapılmıştır ve büyüme

aşamasında bu bitkinin ana bileşiğinin karvakrol olduğu belirlenmiştir. En yüksek karvakrol içeriği, EO için çiçeklenme aşamasında (%84.26) ve HEO için çiçeklenme öncesi aşamada (%98.54) kaydedilmiştir. Bununla birlikte, EO'daki *p*-simen (%3.84-6.01) ve *γ*-terpinen (%3.45-5.68) konsantrasyonunun gelişimi, karvakrolün tersi gibi görünmektedir. Ayrıca, bu iki monoterpen hidrokarbon, HEO'da yoktur veya hemen hemen yoktur.

Gedikoğlu vd., (2019), yaptıkları bu çalıma ile *Thymus vulgaris* (kekik) ve *T. spicata'nın* (zahter) (a) uçucu yağlarını elde etmeyi (hidrodistilasyon [HD] ve mikrodalga destekli ekstraksiyon [MAE] yöntemleri ile), yağ ekstraksiyon yönteminin kimyasal bileşim, yağ verimi (%) üzerindeki etkisini belirlemeyi, serbest radikal giderici aktivite (IC_{50}), ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP) değeri ve antimikrobiyal özelliklerini ve (b) farklı solventlerin (metanol [%80] ve etanol) etkisini belirlemek için [80%]) fenolik asit bileşimi, toplam fenolik içeriği, toplam flavonoid içeriği, IC_{50} ve FRAP değerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Gaz kromatografisi kütle spektrometrisi analizi, HD ve MAE kullanıldığında sırasıyla timol (%55.35; %50.53) ve *p*-simen (%11.2; %11.79) miktarının *T. vulgaris*'te en yüksek olduğunu göstermiştir. Ancak en yüksek karvakrol (%68.20; %66.91) ve *γ*-terpinen (%13.25; %13.94) sırasıyla HD ve MAE kullanıldığında *T. spicata*'da bulunmuştur. *T. vulgaris* esansiyel yağının, *T. spicata* esansiyel yağına kıyasla hem HD hem de MAE için daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirtilmiştir. Hem *T. vulgaris* hem de *T. spicata*'nın metanol özütleri, etanol özütlerine kıyasla daha yüksek fenolik aktivite göstermiştir. Bununla birlikte, hem *T. vulgaris* hem de *T. spicata* uçucu yağları, seçilen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Uçucu yağlar tarafından *Staphylococcus aureus* ATCC 9144'e karşı en yüksek inhibisyon bölgesi (yarıçap) gösterilmiştir.

Kamer vd., (2019), yaptıkları bu çalışma ile peroksidaz benzeri bir katalizör olarak nanoceria kullanan sulu bir süspansiyonda oluşan reaktif türleri ölçmek için hızlı ve düşük maliyetli bir yöntem geliştirmeyi amaçlamışlardır. Nanoceria, hidrojen peroksitten reaktif türler (RS) oluşturmak için heterojen bir katalizör olarak {Ce(III) + sulu NH3} ile birlikte *T. spicata* (Zahter) özütü kullanılarak yeşil bir sentezle üretilmiştir. Çalışmada N,N-dimethyl-pphenylenediamine (DMPD) reaktifi, RS

varlığında şeffaftan kırmızı-mor renge bir renk değişimine eşlik eden 515 nm'de absorbans artışı nedeniyle kolorimetrik prob olarak kullanılmıştır. Geliştirilen yöntem, sentetik antioksidan numunelerin ve bitkisel infüzyonların DMPD radikal katyonu üzerindeki ağartma etkilerine göre RS giderim aktivitesinin yüzdesini belirlemek için kullanılmıştır. Önerilen yöntemi doğrulamak için, {nanoceria+H_2O_2} süspansiyonunun antioksidanlarla reaksiyondan önce ve sonra kuprik indirgeyici antioksidan kapasitesi (CUPRAC) reaktivitesi ölçülmüş ve CUPRAC absorbansları arasındaki fark, H_2O_2 fazlasının katalaz ile ayrıştırıldığı RS giderim işlemine dönüştürülmüştür. Sonuç olarak, nanoceria, hidrojen peroksit ve DMPD kombinasyonunun, CUPRAC yöntemi tarafından onaylandığı gibi, gıda ve bitki numunelerinin RS gderici antioksidan aktivitesini araştırmak için hızlı bir tespit sistemi sağladığı sonucuna varılabileceği belirtilmiştir.

Kaya ve Duran (2018), yaptıkları bu çalışmada, *Nigella sativa* L. ve *T. spicata* esansiyel yağlarının bileşenlerini ve antifungal aktivitesinin *Tricophyton rubrum* üzerindeki etkisini araştırmayı amaçlamışlardır. *T. spicata*'nın uçucu yağında %99,69'nu oluşturan otuz dokuz uçucu yağ bileşeni tespit edilmiştir. Ana uçucu yağ bileşenleri karvakrol (%58.32), *γ*-terpinen (%28.53), *o*-simen (%5.20) ve *α*-terpinen (%2.03) olduğu belirlenmiştir. *N. sativa* uçucu yağında ise %98.39'nu oluşturan yirmi dört uçucu yağ bileşeni tespit edilmiştir. Ana uçucu yağ bileşenlerinin anetol (%22.97), timokinon (%21.36), *α*-thujene (%6.22), longifolen (%5.76), *t*-izoeugenol (%3.55) ve karvakrol (%2.23) olduğu bulunmuştur. *N. sativa* ve *T. spicata*'nin uçucu yağlarının antifungal aktiviteleri mikrodilüsyon yöntemiyle değerlendirilmiştir. Standart antifungal ilaç olarak flukonazol seçilmiştir. *N. sativa* ve *T. spicata* uçucu yağlarının *T. rubrum*'a karşı antifungal aktivitesinin oldukça yüksek olduğu gözlemlenmiştir. *N. sativa* esansiyel yağları 1 ve 2 MİK ve MBC değerlerine sahipken, *T. spicata* uçucu yağları en iyi MİK ve MBC değerlerine (6.25 ve 12.5 mg/mL) sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmada *T. spicata* uçucu yağlarının *T. rubrum*'a karşı etkinliği daha yüksek bulunmuştur. *N. sativa* ve *T. spicata*'nın uçucu yağlarının yüzeysel mantar enfeksiyonlarının önemli bir etkisi olan *T. rubruma* karşı aktif bileşenler içerdiği belirtilmiştir.

Tutar vd., (2018), yaptıkları bu çalışmada *T. sintenisii* ekstresinin antimikrobiyal, antioksidan, sitotoksik ve yara iyileştirici etkileri araştırılmışlardır. *T. sintenisii*'nin toprak üstü kısımları etanol ile ekstre edilmiştir. Uçucu yağın kimyasal bileşimi gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi kullanılarak analiz edilmiştir. *T. sintenisii*'nin etanol özütünün antimikrobiyal aktivitesini, mikro-kuyu seyreltme yöntemi kullanılarak değerlendirmişlerdir. Antiradikal aktivitesi, spektrofotometrik yöntem kullanılarak ölçülmüştür. MCF-7 ve MG63 hücre hatlarında *T. sintenisii* etanol ekstraktının sitotoksik aktivitesi, XTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, timolün %64.97 ile ana bileşen olduğunu ortaya koymuştur. *T. sintenisii*'nin etanol özütü, *Candida tropicalis*'e (0.06 mg/mL) karşı güçlü antimikrobiyal aktivite ve *Shigella boyd*ii ve *Pseudomonas aeruginosa* (0.5 mg/mL) suşlarına karşı orta derecede aktivite sergilemiştir. *T. sintenisii*'nin etanol özütünün IC_{50} değerleri, 24 saatte MG63, 37.28 µg/mL, MCF-7, 44.40 µg/mL ve L929 44.84 µg/mL olarak bulunmuştur. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tedavi grubunun yara bölgesinde önemli ölçüde daha hızlı iyileşme gösterdiği gözlemlenmiştir. Yara alanı ölçümleri, yedinci günün sonunda, *T. sintenisii* 'nin etanol özütünün toplam yara alanını %30 oranında azalttığını, tedavi edilmeyenlerin ise %7 oranında azaldığını göstermiştir. Sonuçlar, *T. sintenisii* 'nin etanol özütünün terapötik potansiyele sahip olabileceğini göstermiştir.

Yılar (2018), yaptığı bu çalışmada, *Vaccinium myrtillus* L., *T. spicata*, *S. officinalis* bitkilerinin uçucu yağlarının antifungal ve fitotoksik aktivitesini belirlemeyi amaçlamıştır. Bu bağlamda bitki uçucu yağlarının 0 (Kontrol), 1, 3, 5, 10 muL/petri kabı dozunda *Pyrenophora graminea* bitki patogenezinde antifungal aktiviteleri ve bunların *Lepidum sativum* L., *Triticum aestivum* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Amaranthus retroflexus* L. üzerindeki fitotoksik etkileri 0 (Kontrol), 0.5, 1, 1.5, 5, 10 uL/petri kabı dozları kullanılarak test edilmiştir. Uçucu yağlar, antifungal ve fitotoksik çalışmalarda petri kaplarının kapaklarına yapıştırılan filtre kağıdına mikropipet ile emprenye edilerek uygulanmıştır. Yapılan deneyler sonucunda bitki esansiyel yağlarının L. *sativum*, *T. aestivum*, *P. vulgaris*, *A. retroflexus* .'nin fide çimlenmesi ve fide büyümesi üzerinde oldukça fitotoksik olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, bitki esansiyel yağlarının, kontrole kıyasla *P. graminea'*nın misel büyümesini engellediği ileri sürülmektedir. *P. graminea* için *V. myrtillus*, *T. spicata*, *S. officinalis* uçucu yağının LD_{10}, LD_{50} ve LD_{90} değerleri hesaplanmıştır. Deneyde kullanılan uçucu

yağların hastalık ve yabancı otların kontrolünde sentetik pestisitlere alternatif olacağı tahmin edilmektedir

Costa vd., (2018), yaptıkları çalışma ile etkili ve zararsız antitripanozomal ajanları keşfetmeyi hedefleyen 17 uçucu yağ ve dokuz ana bileşenin, *Trypanosoma brucei* üzerindeki etkilerini taramışlardır. Uçucu yağlar, taze bitki materyalinden hidrodistilasyon ile elde edilmiş ve GC-MS ile analiz edilmiştir. Tripanosidal aktivite, *T. brucei*'nin kan akımı tripomastigot kültürleri ve kolorimetrik resazurin yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Uçucu yağların makrofaj hücreleri üzerindeki sitotoksisitesini değerlendirmek için MTT testi kullanılmış ve seçicilik indeksleri hesaplanmıştır. Taranan 17 uçucu yağdan üçü yüksek tripanosidal aktivite göstermiştir (IC_{50}<10 μg/mL): *Juniperus oxycedrus* (IC_{50}=0.9 μg/mL), *Cymbopogon citratus* ($IC_{50=}$3.2 μg/mL) ve *Lavandula luisieri* ($IC_{50=}$5.7 μg/mL). Bu yağların, seçicilik ndeksinin en yüksek değerlerini (sırasıyla 63.4, 9.0 ve 11.8) gösteren makrofaj hücreleri üzerinde sitotoksik etkiye sahip olmadıkları belirlenmiştir. *Distichoselinum tenuifolium*, *Lavandula viridis*, *Oncophorus virens*, *Sceletium tortuosum*, *Syzygium aromaticum* ve *Thymbra capitata*'nın uçucu yağlarının da aktivite sergilediği (IC_{50}=10–25 μg/mL) ancak makrofajlar üzerinde sitotoksisite gösterdiği gözlemlenmiştir. Test edilen dokuz bileşikten *a*-pinen (IC_{50}=2.9 μg/mL) ve sitral ($IC_{50=}$18.9 μg/mL) en yüksek antitripanozomal aktiviteyi sergilemiştir. Sitral'in muhtemelen *Cymbopogon citratus'*un aktif bileşeni olduğu ve *α*-pinen'in *Juniperus oxycedrus* 'un antitripanozomal etkilerinden sorumlum bileşeni olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma ile Afrika Uyku Hastalığı tedavisi için değerli yeni molekül kaynakları olarak *J. oxycedrus, C. citratus* ve *L. luisieri* yağlarının önerilebileceği belirtilmiştir.

Koutsaviti vd., (2018), yaptıkları bu çalışmada, on dört bitki türünden elde edilen on altı uçucu yağın çeltik biti *Sitophylus oryzae*'nin erginlerine karşı kimyasal analizi ve fumigant toksisitesinin değerlendirilmesini amaçlamışlardır. Yapılan çalışmada *Apium nodiflorum*, *Bupleurum fruticosum*, *Crithmum maritimum*, *Liquidambar orientalis* ve *Laurus azorica* türlerinin uçucu yağları esas olarak monoterpen hidrokarbonlardan oluştuğu ve oksijenli monoterpenlerin *Laurus nobilis*, *Myrtus communis*, *Salvia fruticosa, S. pomifera* subsp. *calycina*, *S. officinalis* ve *T. capitata*'nın uçucu yağlarının ana bileşeni olduğu, ayrıca *Cotinus coggygria*, *S.*

microphylla ve *Teucrium capitatum*'un uçucu yağlarının seskiterpenler açısından zengin olduğu belirtilmiştir. En aktif uçucu yağların, *S. oryzae* yetişkinlerine karşı *T. capitata* (IC_{50}=3.4 mu L/L hava) ve *S. pomifera* subsp. *calycina* (IC_{50}= 4.4 mu L/L hava) olduğu ve *S. fruticosa*, *L. nobilis* ve *S. officinalis*'in uçucu yağlarının da oldukça toksik olduğu (IC_{50}=7.4-15.5 mu L/L hava) bulunmuştur. Test edilen diğer uçucu yağların çoğu orta ila düşük toksisiteler sergilerken (IC_{50}=17.7-37.9 mu L/L hava), *C. coggygria* ve *S. microphylla*'nınkiler belirgin bir aktivite sergilememiştir. Çalışmanın sonuçları, bazı uçucu yağların ve özellikle *T. capitata* ve *S. pomifera* subsp. *calycina*'nın yağlarının, pirinç biti *S. oryzae* gibi depolanan tahılın önemli zararlılarının kontrolü için umut verici fumigantlar olabileceğini göstermektedir.

El-Jalel vd., (2018), yaptıkları bu çalışmada, Al-Jabal Akhdar'dan toplanan yabani *T. capitatus*'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal aktivitesi üzerine farklı irtifaların etkisini araştırmayı amaçlamışlardır. Abu-Draa (görüş seviyesinden 650 m yukarıda) ve Sidi Al-Hamey (görüş seviyesinden 850 m yukarıda) ile temsil edilen iki farklı rakım seçilmiştir. Bu çalışmanın hem nitel hem de nicel varyasyonlarla ilgili olduğu belirtilmiştir. *T. capitatus* uçucu yağlarının yüzde verimi, hem Abu-Draa hem de Sidi Al-Hamry için sırasıyla %15 ve %104 olarak hesaplanmıştır. Her bir uçucu yağ için GC/MS analizi, Abu-Draa'dan %91.99'a karşılık gelen 14 uçucu bileşenin ve Sidi Al-Hamrey'den %96.54'e karşılık gelen 23 bileşiğin tanımlandığını ortaya çıkarmıştır. Ayrıca karvakrolün, Abu-Draa ve Sidi Al-Hamrey bölgelerindeki uçucu yağların her ikisinde de bulunan başlıca uçucu bileşen (sırasıyla %58.56 ve %24.28) olduğu belirtilmiştir. Abu-Draa'dan hazırlanan uçucu yağda bulunan ikinci ana uçucu bileşiğin β-karyofillen (%7,41), ardından oksidi (%6.26) olduğu bulunurken, öte yandan γ-terpinen, Sidi Alhamry'de hazırlanan yağda bulunan ikinci ana uçucu bileşiktir (%16.18) ve ardından karyofillen oksit (%10.43) gelmektedir. İncelenen yağların her ikisinde de hem fenolik hem de fenolik eterlerin ana bileşenler (sırasıyla %62.51, %33.74) olduğu ve bunun da her ikisi için de düşük rakımlı Abu-draa'dan hazırlanan yağda daha belirgin olan büyük bir antimikrobiyal aktivite ile sonuçlandığı yapılan çalışma ile belirtilmiştir.

Marin vd., (2018), yaptıkları bu çalışmada, Sythonia'da (Yunanistan) yabani olarak büyüyen *T. capitatus*'un yapraklarından hidrodistilasyon yoluyla elde edilen uçucu

yağın (EO) bileşimini GC-FID, GC-MS ve kantitatif 1H NMR spektroskopisi ile analiz etmişlerdir. Yağın yaklaşık %99.0'ını temsil eden otuz dokuz bileşik tanımlanmıştır. GC-FID tarafından belirlenen ana bileşenin karvakrol (%81.8), ardından linalool (%3.5) ve karyofillen (%3.5) olduğu bulunmuştur. Kantitatif 1H NMR spektroskopisi ile belirlenen karvakrol bolluğu %74.9'du ve GC-FID sonucu ile makul bir uyum içinde olduğu gözlemlenmiştir. Yağ, DPPH testinde antioksidan aktivite için test edilmiştir ve EC_{50} değeri 1.03 µg/mL olan doza bağlı bir serbest radikal süpürme aktivitesi göstermiştir. EO'nun antimikrobiyal etkisi Gram negatif, Gram pozitif bakteriler ve mantarlara karşı test edilmiştir. Test edilen EO, mantarlara, özellikle *S. cerevisiae*'ye karşı önemli aktivite göstermiştir. En duyarlı bakterilerin *E. coli* ATCC 25922, *E. fecalis* ve *S. epidermidis* olduğu bulunmuştur. Bu çalışma ile insan patojeni *Burkholderia cepacia,* ATCC 25416, *T. capitatus*'un araştırılmasında ilk kez kullanılmıştır.

Maskan ve Horuz (2017), yaptıkları bu çalışma ile *T. spicata* uçucu yağının verimini 100–175 ^{o}C ekstraksiyon proses sıcaklıklarında %2.5–3.4 olarak bulmuşlardır. Uçucu yağlar %79.5–86.2 oranında karvakrol içermektedir. Patates dilimlerinin derin yağda kızartılması sırasında hurma oleinin stabilitesi üzerine BHT ve *T. spicata* uçucu yağının etkilerini 180°C'de incelemişlerdir ve peroksit, *p*-anisidin, iyot değerleri, serbest yağ asidi ve rengindeki değişimleri belirlemişlerdir. *T. spicata* uçucu yağı ve BHT'nin, 50 kızartma döngüsünden sonra oleinin serbest yağ asidi içeriğini %0.27'den %0.21'e (oleik asit) düşürdüğü ve antioksidan ilavesinin yağın peroksit değerini değiştirmediği gözlemlenmiştir. Kızartma, kullanılmış yağların Hunter L değerini düşürmüş, a, b ve toplam renk farkı değerlerini artırmıştır. Kızartma sırasında kontrol yağı için *p*-anisidin değeri 15'ten 33'e değiştirilmiştir. BHT ve *T. spicata* uçucu yağı bu değeri 28'e düşürdüğü belirlenmiştir. Oleinin iyot değerleri, kontrol, BHT ve *T. spicata* uçucu yağı katkılı kızartma yağları için sırasıyla 54.5'ten 45'e, 49 ve 49'a düşmüştür. Derin yağda kızartma işlemi sırasında hurma oleini korumak için *T. spicata* uçucu yağının kullanılabileceği çalışma sonucunda belirtilmiştir.

Machado vd., (2017), yaptıkları bu çalışmada *T. capitata* uçucu yağı ve ana bileşiği olan karvakrolün planktonik ve biyofilm olarak yetiştirilen *Gardnerella vaginalis'e* karşı antibakteriyel aktivitesini ve vajinal laktobasillere etkisini

değerlendirmişlerdir. Planktonik hücrelere karşı antibakteriyel etkiyi değerlendirmek için minimum inhibitör konsantrasyon, minimum öldürücü konsantrasyon belirleme ve akış sitometrisi analizi kullanılmıştır. Antibiyofilm aktivitesi, biyokütlenin nicelleştirilmesi ve biyofilm yapısının konfokal lazer tarama mikroskobu ile görselleştirilmesi yoluyla ölçülmüştür. *T. capitata* uçucu yağı ve karvakrolün, *G. vaginalis'e* karşı güçlü bir antibakteriyel aktivite sergilediği gözlemlenmiştir. Ayrıca, vajinal laktobasillerin uçucu yağa önemli ölçüde daha toleranslı olduğu belirlenmiştir. *T. capitata* uçucu yağının, *G. vaginalis* biyofilm ile ilişkili enfeksiyonlara karşı umut verici bir terapötik ajan olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Delgado-Ada´mez vd., (2017), bu çalışmayla *T. capitata* ve *Thymus* türlerinin meyve ve çiçeklerinden elde edilen EO'ların antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri ile fitokimyasal bileşimini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Yüksek antioksidan kapasite gözlemlenmiştir ve bunun iyi antioksidan özelliklere sahip terpenoid ve fenoliklerin nispi miktarları ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Antioksidan aktivitelerin TAC > TZ > TC > TM (TC: *Thymus caespititius*; TAC: *T. capitata* ; TM: *Thymus mastichina*; TZ: *Thymus zygis*) şekilinde azaldığı gözlemlenmiştir. Antimikrobiyal aktivitenin sonuçları, test edilen tüm EO'ların, Gram pozitif ve negatif bakteriler dahil olmak üzere test edilen tüm mikrobiyal türlere karşı aktif olduğunu göstermiştir. Elde edilen minimum inhibisyon konsantrasyonu değerlerinin 0,1 ila 0,01 µL/mL aralığında olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, tahlil edilen tüm EO'lar, hem insan epiteloid serviks karsinomunda hem de histiositik lösemi hücre dizilerinde hücre ölümünü indüklemiştir. Genel olarak, bu çalışmanın sonuçları, *T. capitata* ve *Thymus* türlerinin meyve ve çiçeklerinden elde edilen EO'ların ilginç antioksidan özelliklere sahip olduğunu ve bulaşıcı hastalıkların ve kanserin tedavisi için potansiyel bir ilaç kaynağı oluşturduğu belirtilmiştir.

Al Hafi vd., (2017), yaptıkları bu çaılışmada, Lübnan'da yabani olarak yetişen *Satureja cuneifolia*, *Satureja thymbra*, *Coridothymus capitatus*, *Thymus syriacus* ve *T. spicata*'nın uçucu yağını hidrodistilasyon yoluyla ekstrakte etmişlerdir. GC/MS tarafından gerçekleştirilen fitokimyasal analizler, yukarıda bahsedilen türlerin ya karvakrol (%60.9) veya timol (%54.3) içerdiğini göstermiştir. Et suyu seyreltme

yöntemi kullanılarak *Candida albicans* ve altı patojenik bakteriye karşı *in vitro* antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesi sonucu, test edilen yağların 0.1 ila 0.8 mg/ml arasında değişen minimum inhibitör konsantrasyonu ile geniş bir aktivite spektrumuna sahip olduğunu belirlenmiştir. Test edilen türler arasında *S. thymbra* EO en yüksek antimikrobiyal potansiyeli gösterirken, *T. syriacus* en düşük inhibitör aktiviteyi göstermiştir. Bulunan sonuçlar, bu türlerin Lübnan halk tıbbında kullanımına dair bilimsel kanıtlar sunmakta ve sentetik antimikrobiyaller için doğal alternatifler olarak uygulanmasına destek vermektedir.

Elmi vd., (2017), yaptıkları bu çalışmada, *T. capitata* ve *R. officinalis* uçucu yağlarının domuz spermatozoasının temel morfo-fonksiyonel parametreleri üzerindeki etkilerini tanımlamayı amaçlamışlardır. Uçucu yağlar, gaz kromatografisi ile önceden karakterize edilmiştir ve difüzyonu kolaylaştırmak için emülgatörlerle eklenmiştir. Deney numuneleri, 10 farklı konsantrasyonda uçucu yağ (0.2–2 mg/mL, 0.2 aralıklarla) içeren 5 mL besiyerinde sabit sayıda spermin süspanse edilmesiyle hazırlanmıştır. 3 saatlik inkübasyondan sonra numuneler pH, canlılık, objektif hareketlilik ve akrozom durumu için analiz edilmiştir. Sonuçlar, uçucu yağların etkilerinin konsantrasyona bağlı olduğunu ve *R. officinalis*'in 0.6 mg/mL'ye kadar iyi tolere edildiğini göstermiştir. *T. capitata*, 0.4 mg/mL'den itibaren tam sperm öldürücü etki ile en düşük konsantrasyondan başlayarak spermleri bozmuştur. SEM tarafından teyit edilen hasar kalıpları farklı ve oldukça belirgin olarak belirlenmiştir. Beklendiği gibi, spermatozoanın dış uyaranlara karşı duyarlı olduğu ve farklı fonksiyonel modeller gösterebildiği kanıtlanmıştır, bu da eylem/toksisite mekanizmalarına ilginç içgörüler sağlamıştır. Mevcut çalışmanın sonuçları, bu bileşiklerin spermatozoa üzerindeki etkilerinin sistematik karakterizasyonuna yönelik ilk adımı temsil etmektedir.

Bayan vd., (2017), yaptıkları bu çalışmada, *T. spicata*'dan elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimini, antibakteriyel, antioksidan ve antifungal aktivitesini araştırmışlardır. *T. spicata* esansiyel yağının on dört kimyasal bileşeni belirlenmiştir. Uçucu yağın temel bileşenlerinin karvakrol (%78.53), *γ*-terpinen (%10.42) ve *p*-simen (%5.49) olduğu bulunmuştur. Uçucu yağın, 10 µL/L dozundaki tüm bitki patojenleri, miselyum büyümesini %100 engellemiştir. Metanolik ekstraktın toprak üstü

kısımlarının toplam fenolik ve flavonoid içerikleri oldukça zengin olduğu gözlemlenmiştir. *T. spicata*'dan elde edilen metanolik özütün iyi bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Uçucu yağ, seçilen *Xanthomonas spp* (ZI365, ZI366, ZI368, ZI370, ZI373, ZI375, ZI376, ZI378) bakteri izolatlarına karşı dikkate değer aktivite sergilemiştir. Yapılan çalışma *T. spicata*'nın güçlü antifungal, antibakteriyel ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

Neves vd., (2017), yaptıkları bu çalışmada esansiyel yağların (EO'lar) geniş bir biyolojik aktivite yelpazesi sunabileceği göz önünde bulundurularak, Portekiz'den toplanan *T. capitata*, *T. caespititius* ve *Myrtus communis* EO'ların bileşimi, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri, topikal emülsiyonlarda koruyucu ve antioksidan olarak değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Bazı emülsiyonların *in vivo* güvenlik uygulaması ayrıca test edilmiştir. *T. capitata* EO'in ana bileşenin karvakrol (%73), *Th. caespititius* EO'in *α*-terpineol (%27), *p*-simen (%14) ve karvakrol (%10) ve *M. komunis* EO'in ise 1,8-sineol (%37) olduğu belirlenmiştir. *T. capitata*, *T. caespititius* ve *M. communis* EO'ların minimum inhibitör konsantrasyonun, *C. albicans*'a karşı 0.4 µg/mL ve *A. brasiliensis*'e karşı ise 0.4 ila 30.7 µg/mL arasında olduğu bulunmuştur. Gram pozitif bakterilerin bütütn EO'lara Gram negatif bakterilerden daha duyarlı olduğu gözlemlenmiştir. *T. capitata* EO, *T. caespititius* ve *M. communis* EO'lardan önemli ölçüde daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Emülsiyonlara dahil edilen EO'lar, test edilen tüm mikroorganizmalara karşı koruyucu aktiviteye sahiptir ve *T. capitata* EO emülsiyonlarının güçlü serbest radikal gidrim aktivitesi (ROS) gösterdiği belirlenmiştir. *T. capitata*, *T. caespititius* ve *M. communis*, hazırlanan emülsiyonların mikrobiyolojik kalitesini önemli ölçüde iyileştirmiştir ve topikal formülasyonlarda kullanım için mevcut koruyuculara ve antioksidanlara güçlü bir alternatif oluşturabileceği bulunmuştur.

Ulukanlı vd., (2016), yaptıkları bu çalışmada, Amanos Dağları'ndaki *T. spicata'nın* toprak üstü kısımlarının uçucu yağını hidrodistilasyon yöntemi ile elde etmiş ve kimyasal içeriğini GC-MS ile analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda belirledikleri 15 bileşikten ana bileşenlerin karvakrol (%57.95), *γ*-terpinen (%18.95), *p*-simen (%9.43) ve 1-phellandren (%3.26) olduğunu bulmuşlardır. Uçucu yağın doza bağlı fitotoksik etkisi *Triticum aestivum, Zea mays, Lactuca sativa, Lepidium sativum* ve *Portulaca*

oleracea üzerinde bulunmuştur. *Bacillus subtilis* ATCC 6663, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida albicans* ATCC 14053, *Enterobacter hormaechei* ATCC 700323 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 üzerinde elde edilen antimikrobiyal sonuçların dikkat çekici olduğunu belirtmişlerdir. Genel olarak, Amanos Dağları'nda yetişen *T. spicata*'yı, biyopestisit gelişimi için potansiyel ve alternatif bir biyo-kaynak olarak önermişlerdir.

Carrasco vd., (2016), yaptıkları bu çalışmada İspanya'nın Güneydoğusunda yetiştirilen ve ekstrakte edilen kekik (*T. capitata* ve *O. vulgare*) uçucu yağlarının (EO'lar), bileşimlerini belirlemek için GC/MS kullanmışlardır. (E)-*β*-Karyofillen (%0.5-4.9), timol (%0.2-5.8), *p*-simen (%3.8.2), *γ*-terpinen (%2.1-10.7) ve karvakrol (%58.7-77.4) ana bileşenler olarak belirlenmiştir. Karakterizasyon, (-)-(E)-*β*-karyofillen, (+)-alfa-pinen ve (+)-*β*-pinenin ana enantiyomerler olarak belirlendiği enantioselektif gaz kromatografisi ile tamamlanmıştır. Antioksidan aktivite, serbest radikallere karşı aktiviteyi hesaba katan ve gücü azaltan çeşitli yöntemlerle pozitif olarak değerlendirilmiştir. Lipoksijenaz (LOX) ve asetilkolinesteraz (AChE) üzerinde görülen önemli inhibitör aktivite, potansiyel antiinflamatuar, antialzheimer ve özellikle karvakrol nedeniyle insektisidal aktiviteleri desteklemiştir. Yapılan çalışma ile bu özelliklerin, doğal kozmetik ve doğal farmasötik bileşenler olarak kekik EO'larının potansiyel kullanımını desteklediği belirtilmiştir.

Toncer vd. (2016), yaptıkları bu çalışmada, 30 Mayıs 2013 tarihinde *T. spicata* için 24 saat boyunca günde üç saatte bir (06:00-21:00 saatleri arasında) hasat edilen 12 farklı popülasyon arasında uçucu yağ ve bileşiminin varyasyonunu doğrulamayı amaçlamışlardır. Numunelerin uçucu yağı GC-MS/FID ile analiz edilmiştir. Sonuçlar, farklı zamanlarda hasat edilen *T. spicata*'nın uçucu yağ içeriğinin %2.02 ila 5.04 arasında değiştiğini ve böylece uçucu yağ içeriğinin öğle saatlerinde arttığını (maksimum saat 12:00'ye ulaştığını) ve öğleden sonra azaldığını kanıtlamıştır. T. spicata'nın uçucu yağı analiz edilmiş ve yağların %89.57-99.14'ünü temsil eden toplam 20 bileşen tespit edilmiştir. En yüksek karvakrol içeriği (%70.87) saat 6.00'daki, en düşük karvakrol içeriği ise %66.36 ile saat 12.00'deki hasattan elde edilmiştir. *p*-simen içeriğinde günlük varyasyon, maksimum saat 21:00'deki (%6.89) ve en az saat 09:00'daki (%5.02) hasatta gözlemlenmiştir. Uçucu yağın *γ*-terpinen içeriği bitkiler

saat 12:00'de hasat edildiğinde maksimum iken, en düşük içerik saat 06:00'da hasat edildiğinde bulunmuştur. Karvakrol içeriğinin sabah hasadında en yüksek olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar, yüksek yağ veriminin ve karvakrol içeriğinin sıcaklığa göre değiştiğini ve bitkinin gün içindeki hasat zamanı dikkate alınarak optimize edilebileceğini göstermektedir.

Haroun vd., (2016), yapıkları çalışmada *T. spicata*'nın farklı ekstraktları ile ampisilin, sefotaksim, amikasin ve siprofloksasin dahil olmak üzere farklı mekanizmalara sahip belirli antimikrobiyal ilaçlar arasındaki *in vitro* etkileşimi değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Bu amaç doğrultusunda *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumoniae*'nin çoklu ilaca dirençli suşları kullanılmıştır. Bitki özleri ve antimikrobiyal ajanlar arasındaki antibakteriyel aktivite ve sinerji etkileşiminin değerlendirilmesi, dama tahtası mikrodilüsyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bitki ham ekstraktları ile kullanılan antibiyotikler arasında suşa bağlı olarak farklı etkileşimler (sinerjistik, katkı maddesi ve kayıtsızlık) gözlenmiştir. Fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FIC) indeksinin, *S. aureus* için 0.02 ila 1.5 ve *K. pneumoniae* suşları için 0.25 ila 2 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. En iyi sinerjistik kapasite, sefotaksim aktivitesinin 8'den 128 katına çıktığı *S. aureus* suşlarına karşı sefotaksim ile ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar, *T. spicata* ekstraktlarının antibiyotiklerin antimikrobiyal etkisini güçlendirdiğini ve bu bitkinin ortaya çıkan çoklu ilaca dirençli *S. aureus* ve *K. pneumoniae*'ye karşı kombinasyon tedavisinde olası bir kullanımının olabileceğini belirtmektedir.

Saija vd. (2016), yaptıkları çalışmada Sicilya bölgesi genelinde yapılan geniş çaplı bir araştırmayla kekiklerin yabani olarak yetiştiği 45 farklı bölge tespit etmişlerdir. Bitkinin temel morfolojik özelliklerine dayanan küme analizi, biyotiplerin 3 ana gruba ayrılmasına yol açmıştır. Tüm numuneler, özütlerde ve uçucu yağlarda tanımlanan ikincil fitokimyasal metabolitleri için analiz edilmiştir. LC-UV-DAD/ESI-MS ve GC-FID/GC-MS, sırasıyla özleri ve uçucu yağları karakterize etmek için uygulanmıştır. Ekstraktlarda ana bileşenler olarak taxifolin-di-O-glukozit ve timusin ile 15 flavonoid türevi ve büyük bir rosmarinik asit baskınlığı olan 2 organik asit tanımlanmıştır. Uçucu yağlarda tam olarak karakterize edilen 37 bileşiğin tamamında karvakrol, ortalama %73.93'lük bir değerle ana bileşen olarak tanımlanmıştır. Tüm fitokimyasal

komplekslerin toplam fenol içeriği ve antioksidan aktivitesi, Folin-Ciocalteu (FC) tahlili ile lipozomal membranlarda UV radyasyonunun neden olduğu peroksidasyon (UV-IP testi) ve süperoksit radikalinin (O^{-2}) giderim aktivitesi ile belirlenmiştir.

Aazza vd., (2016), yaptıkları bu çalışmada Portekiz'de yetiştirilen altı Lamiaceae türünden (*T. capitata, Th. albicans, Th. caespititius, Th. carnosus, Th. lotocephalus* ve *Th. mastichina*) izole edilen uçucu yağların (EO'lar) *in vitro* antioksidan, antiinflamatuar, anti-hiperglisemik ve anti-asetilkolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. *Th. caespititius* ve *T. capitata* carvacrol/timol açısından zengin EO'lar, lipid peroksidasyonunu önleme ve 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) ve peroksil serbest radikallerini temizleme, lipoksijenaz ve α-amilazın inhibe edilmesi konusunda en iyi kapasiteyi göstermiştir. Ancak *Th. caespititius* ve *Th. lotocephalus* 1,8-sineole ve linalool açısından zengin EO'lar, α-glukozidazın inhibe edilmesinde iyi aktitivite göstermişlerdir. *T. capitata*, *Th. lotocephalus* ve *Th. albicans* EO'ları asetilkolinesterazı inhibe etmede en aktif uçucu yağlar olduğu belirlenmiştir. *Th. caespititius* ve *Th. mastichina* EO'ları, nitrik oksit (NO) radikallerinin ana temizleyicisi olduğu bulunmuştur. Portekiz menşeli aynı türden izole edilen uçucu yağların diğer metodolojiler kullanılarak *in vitro* biyolojik aktivitelerine ilişkin mevcut literatürün bir araştırması ile mevcut verilerin karşılaştırılması bazı farklılıklar göstermiştir. Örneğin, iki oksitlenebilir substratın (yumurta sarısı ve lesitin lipozomları) kullanılması, esas olarak nispeten düşük aktiviteye sahip numuneler için farklı sonuçlara yol açmıştır. Ek olarak, EO'lar ve bu karbonhidratlar arasında bir sinerjizm meydana geldiği için EO'ların peroksil radikallerini temizleme kapasitesinin de siklodekstrinlerin varlığından etkilendiği belirlenmiştir.

Karampoula vd., (2016), yaptıkları bu çalışmada Akdeniz baharatı *T. capitata*'nın hidrosolünün *Salmonella enterica* serovar Typhimurium 'un hem planktonik hem de biyofilm hücrelerine karşı antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmek ve etkisini yaygın olarak kullanılan bir endüstriyel biyosit olan benzalkonyum klorür (BC) ile karşılaştırmayı amaçlamışlardır. Bunu başarmak için, 6 dakikalık tedavilerin ardından dezenfektan aktivitesi, her iki hücre tipine karşı aynı log azalmalarını elde etmek için gereken konsantrasyonlar hesaplanarak her iki dezenfektan için karşılaştırmalı olarak

değerlendirilmiştir. Biyofilm hücrelerine karşı bakterisidal etkileri, aynı zamanda, hızlandırılmış konfokal lazer tarama mikroskopisi (CLSM) kullanılarak hücre inaktivasyonunun yerinde ve gerçek zamanlı görselleştirilmesiyle karşılaştırmalı olarak belirlenmiştir. İlginç bir şekilde sonuçlar, hidrosolün biyofilmlere ve planktonik hücrelere karşı neredeyse eşit derecede etkili olduğunu, biyofilme karşı aynı etkiyi elde etmek için planktonik hücrelere kıyasla 200 kat daha yüksek bir BC konsantrasyonuna ihtiyaç olduğunu ortaya koymuştur. Benzer şekilde hızlandırılmış CLSM, hidrosolün biyofilm yapısına kolayca nüfuz etmesi ve Salmonella biyofilminin üç boyutlu (3D) yapısına rağmen hücreleri hızla öldürmesi için önemli avantajı olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Tahtamouni vd., (2016), yaptıkları çaılışmada, *T. spicata*'nın mikro filizlerindeki büyüme, yağ verimi ve karvakrol içeriğini, üç ozmotik ajanın (sukroz, sorbitol, mannitol) yüksek seviyeleri (0.0, 0.1, 0.2, 0.3 ve 0.4 M) ile desteklenmiş MS ortamında 12 haftalık depolamadan sonra analiz etmilerdir. Elde edilen sonuçlar, depolama ortamında 0.2 M sakaroz kullanılmasının, koruma sırasında büyüme azalması ve koruma sonrasında mikro filiz geri kazanımının tam kapasitede (%100) sürdürülmesi açısından en iyi sonuçları verdiğini ortaya koymuştur. Bu arada, 3.8 µM ABA'ya ek olarak 0.1 M sorbitol veya mannitol, koruma sırasında mikro filiz büyümesini azaltabilmiştir. Sonuçlar ayrıca 0.2 M sakarozda önceden depolanan kurutulmuş mikro filizlerden ekstrakte edilen uçucu yağların toplam veriminin, yabani ana bitkide elde edilen miktara çok yakın ve önceden depolanmış mikro filizlerden ekstrakte edilen yağ verimlerinden çok daha yüksek olan %6.0 yağ verimi ürettiğini göstermiştir. Benzer şekilde maksimum karvakrol seviyesi ($9.7x10^{-4}$ M), 0.2 M sakarozda önceden depolanmış mikro filizlerde elde edilmiş olup; bu, yabani ana bitkinin kendisinden ekstrakte edilen karvakrol miktarından bile yüksek oludğunu göstermiştir.

Tercan vd., (2016), yaptıkları bu çalışmada, Türkiye'de çok satılan ve yerel olarak en yaygın kullanılan bitki çayları olan adaçayı (*Salvia aramiensis* L.), biberiye (*R. officinalis* L.), ebegümeci (*Hibiscus sabdariffa* L), ıhlamur (*Tilia argentea* Desf.), sinameki (*Cassia angustifolia* Vahl.), yeşil çay (*Camellia sinensis* L.) ve zahterin (*T. spicata*) ağır metal içeriklerini 12 tekrarlı denylerle belirlemişlerdir. Yapılan analizler

sonucunda nem içeriği %5.49 (sinameki)–7.39 (ebegümeci) arasında değişirken, toplam kül içeriği %4.86 (yeşil çay)-10.54 (zahter) arasında bulunmuştur. Ham lif içeriği %31.65-26.76 (biberiye-ıhlamur) iken, asitte çözünen madde miktarı en yüksek ebegümeci (1.02), en düşük ıhlamur'da (0.37) ve suda çözünmeyen madde miktarı %2.72-8.16 (yeşil çay-sinameki) olarak bulunmuştur. Yapılan Deneylerde en yüksek ağır metal değerleri; Al için 1716.900 mg/mL (sinameki), Cu için 17.250 mg/mL (sinameki), Zn için 51.975 mg/mL (biberiye), Fe için 431.925 mg/mL (biberiye) olarak bulunmuştur. Tüm örneklerde Cd belirlenmemiştir. En yüksek ortalama Pb içeriği 4.350 mg/mL ile adaçayından elde edilmiştir. Yeşil çay, ebegümeci, ıhlamur ve sinameki örneklerinde neredeyse hiç Pb gözlemlenmemiştir.

Tuttolomondo vd., (2015), yaptıkları bu çalışmada, aynı tarımsal ve çevresel koşullar altında yetiştirilen *T. capitata*'nın 13 Sicilya biyotipinin agronomik ve kimyasal karakterizasyonu rapor etmişlerdir. Uçucu yağların (EO'lar) ana morfo-üretken parametreleri ve kalite kantitatif profili belirlenmiştir. EO'lar gaz kromatografisi-alev iyonizasyon detektörü ve gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi ile analiz edimiştir. Biyotipleri EO'ların kimyasal bileşimine göre gruplamak için hiyerarşik küme analizi ve temel bileşen analizi istatistiksel yöntemleri kullanılmıştır. EO veriminin 4.6 ile 8.1 (v/w) arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Toplam 38 EO bileşiği tanımlanmıştır. Çoğunlukla temsil edilen bileşiklerin, α-pinen, mirsen, α-terpinen, *p*-simen, γ-terpinen, borneol, karvakrol ve β-karyofillen olduğu belirtilmiştir. Tüm biyotiplerde, karvakrolün (%67.4-79.5) ana bileşik olduğu ve *T. capitata*'nın bir karvakrol kemotipi olduğu doğrulanmıştır. Sonuçlar, tüm Sicilya *Thymbra* biyotiplerinin test ortamının iklim koşullarına iyi bir adaptasyona sahip olduğunu göstermiştir.

Kızıl vd., (2015), yaptıkları çalışmada Türkiye'nin yarı kurak iklim koşullarında doğal olarak yetişmekte olan *T. spicata*'nın, çeşitli bölgelerden toplanan yabani popülasyonlarına ait tohumları Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu bölgesinde bulunan Diyarbakır'ın kurak iklim koşullarında yetiştirmişlerdir. *T. spicata*'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen hidrodistile uçucu yağların bileşenleri tanımlanmış ve gaz kromatografisi/kütle spektrofotometresi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Popülasyonların yaş ot verimleri 4925 kg /ha ile 13275 kg/ha arasında, kuru ot verimi 2035 ile 4782 kg /ha arasında ve kuru yaprak verimi 1347 kg /ha ile 3364 kg /ha

arasında değişmektedir. Kuru ottaki *T. spicata* popülasyonlarının uçucu yağ içeriğinin %2.25 ile %4.65 arasında değiştiği belirtilmiştir. Bitkilerin toplam yağ içeriği ve başlıca yağ bileşenleri olan karvakrol, *γ*-terpinen ve *p*-simen'in katkı yüzdesi, yöreler arasında önemli ölçüde farklılık göstermiştir. En yüksek karvakrol içeriği Diyarbakır-Dicle'den toplanan popülasyonda (%97.9) bulunmuştur. Sonuçlar, *T. spicata*'nın agronomik özelliklerinin, uçucu yağlarının ve kimyasal bileşimlerinin yetiştirme koşulları altında çevresel, genetik ve agronomik uygulamalardan etkilendiğini göstermiştir.

Miguel vd., (2015), yaptıkları çalışmada, Portekiz'de yetiştirilen *T. capitata* ve *Thymus* türlerinden elde edilen uçucu yağların antioksidan ve antiproliferatif aktivitelerini değerlendirmilşerdir. *Thymbra* ve *Thymus* esansiyel yağlarını iki kümeye ayırmış: karvakrol, timol, *p*-simen, *α*-terpineol ve *γ*-terpinenin hakim olduğu Küme I ve timol ve karvakrolün bulunmadığı ve ana bileşenin linalool olduğu Küme II olarak adlandırılmıştır. $ABTS^{\cdot+}$ ve peroksil serbest radikallerini giderim ve THP-1 lösemi hücrelerinin büyümesini önleme yeteneği, en yüksek timol ve karvakrol içeriğine sahip uçucu yağlarda gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, bu iki terpen-fenolik bileşiğin antioksidanlar ve THP-1 hücrelerine karşı sitotoksik ajanlar olarak önemini göstermektedir.

Uysal vd., (2015), yaptıkları bu çalışmada, *T. spicata'*nın uçucu yağını hem hidrodistilasyon hem de solventsiz mikrodalga ekstraksiyon yöntemleri ile elde etmiş ve uçucu yağların kimyasal bileşimleri ve antibakteriyel aktiviteleri incelenmişlerdir. *T. spicata*'dan solventsiz mikrodalga ekstraksiyonu ve hidrodistilasyon ile elde edilen her iki uçucu yağın ana bileşenlerinin sırasıyla karvakrol (% 44.8–36.1), *γ*-terpinen (%23.8–26.1) ve *p*-simen (%7.3–9.6) olduğu belirlenmiştir. Çözücü içermeyen mikrodalga ekstraksiyonundan elde edilen uçucu yağın, hidrodistilasyondan önemli ölçüde daha yüksek miktarlarda oksijenli bileşikler ve daha düşük miktarlarda monoterpen içerdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca çözücü içermeyen mikrodalga ekstraksiyonu ve hidrodistilasyondan elde edilen uçucu yağların antibakteriyel aktiviteleri, altı bakteri suşuna karşı disk difüzyon yöntemi ile değerlendirimiştir. Çözücü içermeyen mikrodalga ekstraksiyonu ile ekstrakte edilen uçucu yağın, *E. coli* ATCC 25922- ve *S. aureus* ATCC 25923+ haricinde test edilen bakterilere karşı

hidrodistilasyon ile ekstrakte edilen uçucu yağdan daha etkili olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle *S. aureus* ATCC 25923+'in, *T. spicata*'dan elde edilen uçucu yağlara karşı daha duyarlı olduğu belirtilmiştir. Taramalı elektron mikroskobu ölçümleri, (uçucu yağlarla dolu olan) hücrelerin, mikrodalga ısıtma ile daha şiddetli termal streslere ve lokalize yüksek basınca maruz kaldığını göstermektedir. Hücrelerin içinde oluşan basıncın, hücre duvarlarının genişleme ve parçalanma kapasitelerini aşmış olabileceği düşünülmektedir. Çalışma verilerine göre solventsiz mikrodalga ekstraksiyonu, hidrodestilasyondan daha hızlı ekstrakt salınımı ile sonuçlanmıştır.

Ozcan vd., (2015), yaptıkları bu çalışmada, *O. vulgare* ve *T. spicata* ekstraktlarının *Bacillus subtilis, Bacillus cereus* ve *Mycobacterium smegmatis* bakterilerine karşı duyarlılığını araştırmışlardır. *E. coli* O157:H7, İstanbul kekik ekstraktının etkisine karşı direnç göstermiştir. Karabaş kekik ekstraktına karşı en duyarlı mikroorganizmanın *M. smegmatis* iken, *Yersiniae enterocolitica* güçlü direnç göstermiştir. Ekstraktların inhibitör etkisi konsantrasyonlara bağlı olarak değişmiştir. Ekstrakt konsantrasyonuna karşı en duyarlı bakterilerin Gram (+) bakterilere sahip olan *M. smegmatis*, *B. subtilis* ve *B. cereus* olduğu belirtilmiştir. En dirençli bakteri Gram (-) bakteri olup, E. coli O157: H7, *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus* ve *Y. enterocolitica* olduğu bulunmuştur. Genel olarak farklı uygulama ve ekstraksiyon sistemleri ile elde edilen İstanbul ekstraktlarının antibakteriyel etkileri Karabaş kekik ekstraktlarına göre kısmen yüksek bulunmuştur.

Selimoglu vd., (2015), yaptıkları çalışmada beş bitki uçucu yağının *(Foeniculum vulgare Miller, Lavandula stoechas* L., *T. spicata*, *Teucrium polium* L. ve *Heracleum platytaenium* Boiss.) fumigant toksisitesi, *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Col.: Bruchidae) üzerinde laboratuvar koşullarında test etmişlerdir. Tek doz (100 µl/L) bitki esansiyel yağları başlangıçta *A. obtectus*'un yetişkin aşamasında test edilmiştir. *A. obtectus*'a karşı en büyük fumigant toksisitesi *F. vulgare* esansiyel yağında görülmüştür ve bunu *T. spicata* ve L. *stoechas* esansiyel yağları izledi. *F. vulgare*, *T. spicata* ve *L. stoechas* ile doz yanıtı biyoanalizlerinde hesaplanan LC_{50} değerleri sırasıyla 22.3 µl/L, 32.4 µl/L ve 46.3 µl/L olarak bulunmuştur. Üç bitkinin uçucu yağlarının ana bileşenleri GC-MS analizi ile belirlenmiştir. *F. vulgare* uçucu yağının ana bileşenleri anisol (%79) ve *L*-fenchone (%13) olarak bulunmuştur. *T. spicata* ve

L. stoechas'ın sırasıyla L-fenkon (%55), kafur (%24) ve okaliptol (%13) içerdiği belirtilmiştir. Ana bileşenler L-fenkon ve kafur, 48 saat içinde 80 µl/L dozda yaklaşık %100 ölüme neden olmuştur. Sonuçlar, *F. vulgare* esansiyel yağının veya bileşenlerinin, *A. obtectus*'un kontrolünde bir potansiyele sahip olabileceğini göstermektedir.

Dzamic vd., (2015), yaptıkları bu çalışma ile Libya'da yabani olarak yetişen *T. capitatus* uçucu yağının (EO) biyolojik özelliklerini değerlendirmiştirler. Yağın ana bileşiklerinin karvakrol (%68.19) ve timol (%12.29) olduğunu bulmuşlardır. 2.2 difenilpikrilhidrazil (DPPH) tahlili ile belirlenen antioksidan özellikler, yağ, timol ve karvakrol için IC_{50} değerlerinin sırasıyla 119, 403 ve 105 µg/mL olduğunu ortaya çıkarmıştır. Mikrodilüsyon yöntemi güçlü antibakteriyel ve özellikle antifungal potansiyel göstermiştir. Tetrazolium (MTT) kolorimetrik tahlil, insan hücre hatları MRC-5, HCT 116 ve HT-29'a (IC_{50}=30-150 µg/ml) karşı orta derecede sitotoksisite göstermiştir. Yapışma önleme deneyinde yağ ve ana bileşikler, *E. coli* ve *L. monocytogenes'*in kolon hücreleri HT-29'a yapışmasını azaltmıştır (sırasıyla *L. monocytogenes* ve *E.coli*'ye karşı %51 ve %39 inhibisyon). *T. capitatus* uçucu yağı, özellikle mantarlara karşı mükemmel antimikrobiyal etki ve kolonda patojen kolonizasyonunu azaltmak için önemli potansiyel ile birlikte orta düzeyde sitotoksik aktivite göstermiştir. Yapılan çalışma *T. capitatus*'un EO'sunun patojenlerin kolon epiteline kolonizasyonuna karşı koruyabileceğine dair ilk rapordur.

Hortigón-Vinagre vd., (2014), yaptıkları bu çalışmada, *T. capitata* esansiyel yağının antioksidan aktivitesi üzerine disiplinler arası deneysel bir araştırma yapmışlardır. Uçucu yağın, lipit peroksidasyon ürünü 4-hidroksi-2-nonenal ile muamele edilmiş neonatal sıçan kardiyomiyositlerinin model sistemi birincil kültürlerini kullanan biyolojik sistemlerde tekrar üretilebilir olup olmadığını test etmişlerdir. *T. capitata* uçucu yağının bileşimi ve *in vitro* antioksidan aktivitesi de değerlendirmişlerdir. Hücre canlılığı mitokondriyal membran potansiyeli ve reaktif oksijen türleri seviyesi, düşük konsantrasyonlarda *T. capitata* esansiyel yağı ile önceden inkübe edildikten sonra patofizyolojik dozlarda 4-hidroksi-2-nonenal (< 10 µM) veya araç ile tedavi edilen hücrelerde ölçülmüştür. Yenidoğan sıçan kardiyomiyositlerinin ölümünü önlemek için küçük dozların (< 40 mg/ml) çok dikkate değer olduğu kanıtlanmıştır. 20 mg/mL ile

uzun süreli ön inkübasyon (12 saat) 4-hidroksi-2 nonenal kaynaklı hücre ölümünü önlemiştir ve mitokondriyal membran potansiyel kaybını ve 4 hidroksi-2-nonenal'in neden olduğu reaktif oksijen türlerinin oluşumunu önlemiştir. 40 mg/mL'den daha yüksek dozlarda zararlı bir etki göstermiştir.

Kızıl vd., (2014) yaptıkları bu çalışmada, yedi kekik türünü (*O. onites*, *O. vulgare* var. *hirtum*, *O. vulgare* var. *gracile*, *O. syriacum*, *S. hortensis*, *T. spicata* ve *Th. vulgaris*) kullanmışlardır. Bitkilerin uçucu yağları hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilmiştir. Uçucu yağların çoklu antibiyotiğe dirençli bakteriler de dahil olmak üzere mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Bu çalışmada kullanılan tüm uçucu yağlar, çoklu dirençli suşların içeren Gram+ ve Gram- negatif bakterilere karşı çok etkili olduğu gözlemlenmiştir. Test edilen tüm uçucu yağların, özellikle *S. pyogenes*'e karşı çok etkiliolduğu belirtilmiştir. *S. hortensis*'in uçucu yağı maksimum antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri türlere göre değişiklik göstermiştir. Antioksidan aktivite sonuçları, inhibisyon değerlerinin yüzdesinin %28.32 ile %94.55 arasında değiştiğini göstermektedir. Uçucu yağlar arasında, *O. vulgare* var. *gracile* yağı en düşük antioksidan kapasiteyi (%28.32) gösterirken, *S. hortensis* en yüksek olanı (%94.55) göstermiştir. Genel olarak veriler, farklı kekik türleri uçucu yağının yararlı antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahip olduğunu ve gıda endüstrisinde ve diyet takviyesi olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Görmez ve Diler (2014), yaptığı bu çalışmada, üç Lamiaceae türü olan *T. spicata*, *O. onites* ve *S. thymbra* uçucu yağlarının *Saprolegnia parasitica Coker* suşlarına karşı kimyasal bileşimi ve antifungal aktivitesini değerlendirmişlerdir. Yağların bileşimi, gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) ile analiz edilmiştir. Yağların ana bileşeninin karvakrol (*T. spicata*'da %82.68, *O. onites*'te %82.24 ve *S. thymbra*'da %52.38) olduğu bulunmuştur. Uçucu yağların antifungal aktivitesi, bir tüp seyreltme ve disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Tüm uçucu yağların, 100 L/mL konsantrasyonunda mantar suşlarını inhibe ettiği gözlemlenmiştir. *O. onites* ve *T. spicata*'nın uçucu yağının aktif olduğu gözlemlenmiştir (sırasıyla MİK: 10 ve 50 L/mL). Timol, inhibe edici aktivite göstermemiştir. Uçucu yağların, saf karvakrolden daha güçlü inhibisyon sergiledi belirlenmiştir. *Tymbra, Origanum* ve *Satureja*

türlerinden elde edilen uçucu yağın, gökkuşağı alabalığının (*Oncorhyncus mykiss*) *S. parazitika* enfeksiyonuna karşı sağlık kontrolü olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu bulunmuştur.

Iriti vd., (2014) yaptıkları bu çalışmada, Lübnan'da yetişen ve geleneksel tıpta kullanılan beş yabani türden uçucu yağları hidrodistilasyon yöntemi ile elde etmişlerdir. Kimyasal bileşimlerini gaz kromatografisi (GC) ve GC-kütle spektrometrisi (GC-MS) ile belirlemiş ve ana bileşenlerin Juniperus excelsa *M. Bieb*'de *α*-pinen (farklı organlara göre %68.8-86.8), *T. spicata*'da karvakrol (%65.8) ve *Coridothymus capitatus* L. (%47), *Mentha spicata pulegone* L. subsp. *condensata* (Briq.) Greuter & Budet'de (%328) ve *Salvia fruticosa* (Mill.) K. Schum.'da 1,8-sineole (%48.7) olduğu belirlenmiştir. Uçucu yağların antiradikal kapasitesi, *in vitro* olarak 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS (+)) radikal katyonu ve 2,2-difenil-pikril hidrazil (DPPH.) ile analiz edilmiştir. İki test arasında iyi bir uyum kaydedilmiştir. *C. capitatus* ve *T. spicata* yağları, muhtemelen yüksek karvakrol seviyeleri nedeniyle en yüksek ABTS(+) ve DPPH radikal süpürme aktivitesini gösterirken, en düşük antiradikal kapasite *J. excelsa* yağı için rapor edilmiştir.

Danış vd., (2014), yaptıkları bu çalışmada, Türkiye'nin Hatay ilinde yetiştirilen *Rhus coriaria* L., *Ocimum basilicum* L., *R. officinalis* L., *S. officinalis* L. ve *T. spicata*'nin su ve metanol ekstraktlarının antioksidan, antiradikal ve asetilkolinesteraz inhibe edici özelliklerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Toplam antioksidan aktiviteleri 2,2-difenil-1 pikrilhidrazil (22–782.6 µg/mL EC_{50}),·OH giderim (3.93-33.43 µg/mL EC_{50}), ferrik (0.143–3.083 mmol trolox eşdeğeri (TE)/g) kullanılarak değerlendirildi) ve bakır indirgeyici antioksidan güç (0.143–3.083 mmolTE/g) olarak belirlenmiştir. *R. coriaria* yapraklarının metanolik ekstraktının fenolik bileşimi de araştırılmıştır ve aktif bileşik 4-*0*-metilgallik asit olarak tanımlanmıştır. Asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesinin en yüksek IC_{50} değeri (1.17± 0.04 mg/mL) *R. coriaria* yapraklarında gözlenmiştir. Temel bileşen analizi, *R. coriaria* yapraklarının diğer değerlendirilen bitkilerle karşılaştırıldığında daha fazla antioksidan ve anti-asetilkolinesteraz potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

El Abed vd., (2014), yaptıkları bu çalışmada, *Th. capitata* esansiyel yağının kıyılmış dana etine aşılanan *L. monocytogenes*'e karşı koruyucu etkisi, kimyasal bileşimi, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir. Ekstrakte edilen uçucu yağ, gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi ile kimyasal olarak analiz edilmiştir. Yağda karvakrolün na bileşen olduğu (%88.89), on dokuz bileşen tanımlanmıştır. Antioksidan aktivite, hem DPPH hem de ABTS testleri kullanılarak *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Bulgular, uçucu yağın, serbest radikal süpürücü DPPH ve ABTS deneyleri tarafından belirlenen sırasıyla 44.16 ve 0.463 µg/mL IC_{50} değerleri ile referans standartlarla (BHT ve askorbik asit) karşılaştırılabilir yüksek antioksidan aktivite sergilediğini göstermiştir. Ayrıca uçucu yağ, disk agar difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak antimikrobiyal aktivitesi açısından değerlendirilmiştir. Sonuçlar, inhibisyon bölgesinin orta ila güçlü (15–80 mm) arasında değiştiğini ve minimum inhibisyon konsantrasyonu değerlerinin 0.32 ila 20 µmg/mL arasında değiştiğini göstermiştir. Ek olarak, *in vivo* olarak *L. monocytogenes*'e karşı değerlendirilen uçucu yağ, açık ve güçlü inhibitör etki göstermiştir. 0.25 veya %1 (h/a) *T. capitata* esansiyel yağının kıymaya uygulanması *L. monocytogenes* popülasyonunu önemli ölçüde azaltmıştır.

Barakat vd., (2013), yaptıkları bu çalışmada, Lamiaceae familyasına ait ve Lübnan'da yabani olarak yetişen aromatik bir çalı olan *T. spicata*'yı, Nahr İbrahim'den on farklı hasat tarihinde (11 Ekim 2011'den 11 Mayıs 2012'ye kadar) toplamışlardır ve havada kurutulmuş toprak üstü kısımlarının Clevenger tipi hidrodistilasyon ile ekstrakte edilen uçucu yağlarının (EO.'lar) bileşimini kütle spektrometrisi (GC-MS) ile birleştirilmiş gaz kromatografisi ile belirlemişlerdir. Kimyasal bileşiklerin miktarı ve doğası, hasat tarihine bağlı olarak bir numuneden diğerine önemli ölçüde değişiklik göstermiştir. Oksijenli monoterpenler, sadece çiçeklenme aşamasında (Mayıs ayında) monoterpen hidrokarbonlara göre çoğunluk göstermişlerdir. Genel olarak *T. spicata*'nın yağında %89.4-98.7'yi oluşturan EO'ların yirmi yedi bileşiği tanımlanmıştır ve verim %3.5 ile %6.6 arasında değişmektedir. Ana bileşenler ise; karvakrol (%16.1-62.9), *α*-tujene (%1.7-4.8), mirsen (%1.1-5.1), *γ*-terpinen (%11.4-24.1) ve *p*-simen (%8.1-46.8) olarak bulunmuştur.

Bakhy vd., (2013), yaptıkları çalışmada, Fas Batı Rif'inden toplanan *T. capitata*'nın uçucu yağını (EO, 15 toplu numune ve 47 ayrı numune), tutma indeksleri (RI) ile kombine gaz kromatografisi (GC), gaz kromatografi-kütle spektrometrisi (GC-SM) ve ^{13}C NMR spektroskopisi kullanılarak analiz edilmiştir. Yirmi bileşen belirlenmiştir ve timol içeriği (%0.1-0.3) çok düşükken, karvakrol'ün (%68.2-%85.9) tüm numunelerin ana bileşeni olduğu belirlenmiştir. Kayda değer miktarlarda bulunan diğer bileşenler, *γ*-terpinen (%8.9'a kadar), *p*-simen (%7.1'e kadar), linalool (%4.4'e kadar) ve (E)-*β*-karyofillen (%4.1'e kadar) olarak bulunmuştur. Buna karşılık, EO verimi numuneden numuneye büyük ölçüde değişmiştir (%0.5-3.7). EO verimi ile toprağın rakımı, pH'ı, kimyasal bileşimi ve tanecikliği arasında bir ilişki kurulamamıştır.

Kızıl (2013), yaptığı bu çalışmada, Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz bölgesinde yetişen *T. spicata* popülasyonlarının 28 lokasyonu arasındaki klonları değerlendirmeyi, ekili koşullar altında popülasyonlar arasında fitokimyasal içeriğin karşılaştırılmasını, fitokimyasal içerik ve morfolojik özellikler arasındaki olası korelasyonların ni ve klonal seçim programlarında kullanım için verimle ilgili özelliklerin belirlenmesini amaçlamıştır. Araştırılan karakterler; bitki boyu, bitki taç çapı, başak uzunluğu, bitki başına taze ot ağırlığı, bitki başına kuru ot ağırlığı, bitki başına kuru yaprak ağırlığı, bitki başına gövde ağırlığı, yaprak/gövde oranı ve bitki başına uçucu yağ içeriğidir. İstatistiksel analiz, popülasyonların bitki başına gövde ağırlığı dışında çoğu morfolojik parametre üzerinde önemli etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Basit korelasyon analizi, kuru yaprak ağırlığının bitki boyu, taç çapı, taze ot ve kuru ot ile anlamlı ve pozitif bir korelasyona sahip olduğunu göstermiştir (sırasıyla r = 0.623, 0.784, 0.954 ve 0.983). *T. spicata*'nın uçucu yağının başlıca bileşiklerinin karvakrol, *α*-terpinen, 4-terpineol, 4-karen ve *α*-phellan olduğu belirlenmiştir. Farklı popülasyonların karvakrol içeriği %62.2-78.8 aralığında olduğu gözlemlenmiştir. Yabani popülasyonlar arasındaki yüksek değişkenlik nedeniyle bunlar üreme için önemli kaynaklar olarak kabul edilmiştir. Sonuçlar ayrıca, bu bitkileri elde etmek için doğa üzerindeki baskıyı kesinlikle azaltacak yeni bir çeşit veya çeşitlerin geliştirilmesi için yüksek tarımsal özelliklere sahip yüksek verimli klonların seçilmesi olasılığını daha da vurgulamaktadır.

Basbagci ve Erler (2013), yaptıkları bu çalışmada, mantar skatopsid sinekleri, Scatopse spp.'ye karşı alternatif mücadele olanaklarını araştırmışlardır. Bu amaçla pennyroyal (*Mentha pulegium* L.), adaçayı (*Salvia tomentosa* Miller.), yabani kekik (*T. spicata*) ve tuzlu *(S. thymbra*) bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar ve bunların ana bileşenleri (pulegone, *β*-pinen, karvakrol ve timol), mantar skatopsid sineklerinin yetişkinlerine karşı fumigant aktiviteleri için test edilmiştir. Test malzemelerinin fumigant aktivitesini belirlemek için çeşitli konsantrasyonlar (0.5, 1. 5 ve 10 µL/Lhava) ve maruz kalma süreleri (0.5, 1, 2 ve 4 saat) kullanılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, tüm uçucu yağlar ve bileşenleri değişen derecelerde fumigant toksisitesi göstermiştir ve *M. pulegium* uçucu yağı ve ana bileşeni pulegone en aktif olanıdır (0.5 saat sonra, IC_{50}=0.17 ve 0.13 µL/L hava). 4 saatlik bir maruz kalma süresinden sonra, hem yağ hem de bileşen, test edilen tüm konsantrasyonlarda %100 ölüm oranı göstermiştir. Daha kısa bir maruz kalma süresinden (2 saat) sonra bile, en düşük doz (0-0.5 µl/l hava) dışında tüm konsantrasyonlarda aynı ölüm oranını elde etmişlerdir. Tüm yanıtların test malzemesine maruz kalma süresine ve konsantrasyona bağlı olduğu bulunmuştur. Genel sonuçlar, test edilen uçucu yağların ve bunların ana bileşenlerinin mantar kontrolü için sentetik insektisitlere (fümigant olarak) potansiyel alternatifler olabileceğini göstermektedir.

Faria vd., (2013), yaptıkları bu çalışmada, 84 bitki örneğinden izole edilen uçucu yağlar (EO'lar) ve kaynatma suları, doğrudan temas deneyleri ile *B. xylophilus*'a karşı etkisisni belirlemişlerdir. İyi sonuç elde edilen bazı EO'lar fraksiyonlara ayrılmış ve hidrokarbonlar veya oksijen içeren moleküller içeren fraksiyonlar ayrı ayrı test edilmiştir. Yirmi EO, 2 L/mL'de %96 düzeltilmiş mortalite göstermiştir. Bunlar ayrıca daha düşük konsantrasyonlarda da uygulanmıştır. *R. graveolens*, *S. montana* ve *T. capitata* EO'ları öldürücü konsantrasyonlar (LC_{100})<0.4 L/mL göstermiştir. Düzeltilmiş mortalite gösteren oksijen içeren molekül fraksiyonları P 96%, her zaman karşılık gelen EO'lara benzer LC_{100} değerleri göstermemiştir, bu da fraksiyonlar arasında katkı maddesi ve/veya sinerjistik ilişkiler olduğunu düşündürmektedir. Dokuz kaynatma suyu (kalan hidrodistilasyon suları), minimum 125 L/mL konsantrasyonda %100 ölüm oranı göstermiştir. *R. graveolens*, *S. montana* ve *T. capitata* EO'larının, yüksek nematotoksik özellikleri nedeniyle *B. xylophilus* kontrolü için potansiyel çevre dostu alternatif olabileceği belirtilmiştir.

Hosni vd., (2013), yaptıkları bu çalışmada, enzimatik ön işlemin, *T. capitatus* ve *R. officinalis* yapraklarının uçucu yağlarının verimleri, kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. *T. capitatus*'ta selülaz, hemiselülaz ve her iki enzimin kombinasyonunun uygulanması uçucu yağ verimlerinde %63.55, %23.72 ve %109 artış, ayrıca ana bileşeni olan karvakrol miktarında da %2.7, %31 ve %38 oranında artış sağlamıştır. *R. officinalis*'te enzimatik işlem, selülaz, hemiselülaz ve her iki enzimin kombinasyonu için sırasıyla %5, %50 ve %20 oranında artan yağ verimi ile sonuçlanmıştır. *T. capitatus*'un aksine, *R. officinalis*'in selülaz, hemiselülaz ve selüloz/hemiselülaz ile muamele edilmiş örneklerinden ekstrakte edilen yağlarda ana bileşen 1,8-sineol miktarı %17.73, %36.92 ve %15.46 oranında düşmüştür. Aynı zamanda, uçucu yağlar (sırasıyla, *T. capitatus* ve *R. officinalis* için 1/32 ve 1/4 dilüsyonda) 6 gıda kaynaklı patojene (*E. coli*, *S. typhimurium*, *S. agalactiae*, *S. aureus*, *E. feacium* and *C. albicans*) karşı antimikrobiyal aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. Araştırılan tüm yağlar antimikrobiyal aktivite sergilemiştir ve hemiselülaz ile muamele edilmiş numunelerden verilenler en etkili olmuştur. Enzimatik ön işlemin, uçucu yağların verimini ve antimikrobiyal aktivitesini arttırmak için faydalı olabileceği ve gıda ve ilaç endüstrilerinde kullanım için iyi bir potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir.

Palmeira-de-Oliveira vd., (2012), yaptıkları bu çalışmada, *T. capitata* uçucu yağının farklı *Candida* türlerinin önceden oluşturulmuş biyofilmi üzerindeki etkisini değerlendirmektir. Klinik ve koleksiyon tipi suşlara karşılık gelen on beş *Candida* izolatı analiz edilmiştir. *T. capitata* uçucu yağı hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilmiştir ve kimyasal bileşimi GC/MS ile belirlenmiştir. Planktonik hücreler üzerindeki aktivite M27-A3'e göre değerlendirilmiştir. 24 saat önceden oluşturulmuş biyofilm biyokütlesi üzerindeki etkisi, kristal viyole prosedürü kullanılarak belirlenmiş ve metabolik aktivite, XTT/menadion tekniği uygulanarak incelenmiştir. Test edilen tüm türlerin biyofilm biyokütlesi ve metabolik aktivitesi, MİK değerlerinde %50'ye kadar azaltılmıştır. Etki, daha dirençli bir profil (%62) sunan *C. albicans* dışında, çift MİK değerlerinde daha belirgindir ve >%80 azalma sağlanmıştır. *T. capitata* uçucu yağı, *Candida* biyofilmleri üzerinde önemli bir etki göstermiştir.

Dirençli mukokutanöz kandidozun yönetimi için uygun bir farmasötik formülasyonda kullanılmak üzere değerli bir mantar önleyici ürün olarak önerilmektedir.

Kaya vd., (2012) yaptıkları bu çalışmada, uçucu yağların kolajen hidrolizatın antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri üzerindeki etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Uçucu yağlar *Laurus nobilis* L. (%3.7) ve *T. spicata*'den (%4.1) elde edilmiş ve GC-MS ile karakterize edilmiştir. Biyoteknolojik işlemle elde edilen kolajen hidrolizat uçucu yağlar ile modifiye edilerek %0.25, 0.50, 1.0 ve %2.0 *Thymbra* ve defne yağı içeren hidroalkolik çözeltiler hazırlanmıştır. Bu hidroalkolik çözeltiler, antioksidan aktivite ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivite ile karakterize edilmiştir. Antioksidan aktivitenin, hidrolizat ve uçucu yağlar arasındaki kombinasyon için daha etkili olduğu ve uçucu yağ konsantrasyonunun artmasıyla arttığı gözlemlenmiştir. Kollajen hidrolizat ve %2 *Thymbra* yağı içeren hidroalkolik solüsyon, özelliklerine göre tıp, ilaç, kozmetik, biyoteknoloji ve gıda endüstrisinde kullanılmak üzere en iyi antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteyi kanıtlamıştır.

Dirican vd., (2012), yaptıkları bu çalışma ile *T. spicata*'dan (su ekstraktı, metanol ekstraktı ve etanol ekstraktı) elde edilen farklı özütlerin genetik güvenliğini ve *T. spicata*'nın cıva ($HgCl_2$ olarak) kaynaklı genotoksisite üzerindeki etkilerini araştırmayı hedeflemişlerdir. Kültürlenmiş insan lenfositlerinde (n=5) DNA hasarlarını değerlendirmek için kardeş kromatid değişimi (SCE) ve mikronükleus (MN) deneyleri yapılmıştır. Sonuçlar, $HgCl_2$ tarafından indüklenen SCE ve MN oranlarının, *T. spicata*'nın varlığı ile hafifletildiğini açıkça ortaya koymuştur. Sonuç olarak bu çalışma, *T. spicata*'nın insan lenfositlerinde $HgCl_2$ kaynaklı genetik hasara karşı DNA'nın artan direncini sağladığını ilk kez göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına bakılarak, *T. spicata*'nın ağır metal kaynaklı genotoksisitenin baskılayıcısı olarak kullanılabilecek toksik olmayan bir materyal olduğu sonucuna varılabilmektedir.

Yağcı vd., (2012), yaptıkları bu çalışmada, *T. spicata*'nın çeşitli konsantrasyonlarında (1.39-5.49 mg/mL) ve sıcaklıklarda (90 ºC, 100 ºC ve 120 ºC) *T. spicata* yağının mısır ve palmiye yağlarının oksidatif stabilitesi üzerindeki antioksidan etkisini belirlemek için modifiye rancimat yöntemi kullanmışlardır. Karşılaştırma için, standart bir antioksidan olarak bütillenmiş hidroksiltoluen kullanılmıştır. *T. spicata* yağı, bu

çalışmada kullanılan konsantrasyonlarda hem mısır hem de hurma yağlarının oksidasyonu üzerinde önemli ölçüde etkili olmuştur. Spesifik olarak, mısır ve hurma yağlarının indüksiyon periyodu, *T. spicata* yağı varlığında önemli ölçüde uzamıştır. Bununla birlikte, bütillenmiş hidroksiltoluenin, yağların oksidasyonuna karşı *T. spicata* yağından daha etkili olduğu belirlenmiştir. *T. spicata* yağının, katı ve sıvı yağlarda kullanım için kolayca erişilebilir bir doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

El Hadj Ali vd., (2012) yaptıkları bu çalışmada, *T. capitata*'nın 14 yabani Tunus popülasyonundan elde edilen uçucu yağlar, beş ekolojik alanda (alt nemli, üst yarı kurak, ortalama yarı kurak, alt yarı kurak ve üst kurak alanlar) örneklenmiştir ve uçucu maddeler, gaz kromatografisi (GC) ve gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) teknikleri ile analiz edilmiştir. Toplam yağın %94.2 ila %99.5'ini temsil eden otuz dokuz bileşen tanımlanmıştır. Karvakrol (38; 51.1 – %75.9), *p*-simen (13; %3.7–15), *γ*-terpinen (12; 1.4–11.9) ve trans-*β*-karyofillen (22;2.9 – 4.6) başlıca bileşiklerdir. Bileşiklerin çoğu için popülasyonlar ve popülasyonların biyoiklimsel aşaması arasında önemli bir farklılık gösterilmiştir. Bir temel bileşen analizi (PCA) ve aritmetik ortalamalı (UPGMA) küme analizi ile ağırlıksız bir çift grup yöntemi kullanılarak tahmin edilen kimyasal popülasyon yapısı, tüm popülasyonlar ve bileşikler üzerinde ve popülasyonlar arasındaki Öklid mesafelerine dayalı olarak yüksekti. Her iki yöntem de popülasyonların ana bileşiklerden ziyade minör tarafından tanımlanan farklı gruplara ayrılmasına izin verdi. Mekansal bileşik dağılımı, yerel seçici çevresel faktörlerin kimyasal bileşim çeşitliliğini etkilediğini gösteren ekolojik faktörlerle bağlantılıdır. Koruma stratejileri, boyutlarının düşük olması ve yüksek düzeyde tahrip olmalarından dolayı tüm popülasyonları kapsamalıdır. Başlıca olanlar dışında belirli bileşikler sergileyen popülasyonlar öncelikle korunmalıdır. Popülasyonların yerinde korunması, biyoiklime göre uygun şekilde gerçekleştirilmelidir. Gaz kromatografisi (GC) ve gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) teknikleri ile analiz edilmiştir. Toplam yağın %94.2 ila %99.5'ini temsil eden otuz dokuz bileşen tanımlandı.Karvakrol (38; 51.1 – %75.9), *p*-simen (13; %3.7 – 15), *γ*-terpinen (12; 1.4–11.9) ve trans-*β*-karyofillen (22; 2.9 – 4.6) başlıca bileşiklerdir. Bileşiklerin çoğu için popülasyonlar ve popülasyonların biyoiklimsel aşaması arasında önemli bir farklılık gösterilmiştir. Bir temel bileşen analizi (PCA) ve aritmetik ortalamalı

(UPGMA) küme analizi ile ağırlıksız bir çift grup yöntemi kullanılarak tahmin edilen kimyasal popülasyon yapısı, tüm popülasyonlar ve bileşikler üzerinde ve popülasyonlar arasındaki Öklid mesafelerine dayalı olarak yüksekti. Her iki yöntem de popülasyonların ana bileşiklerden ziyade minör tarafından tanımlanan farklı gruplara ayrılmasına izin verdi. Mekansal bileşik dağılımı, yerel seçici çevresel faktörlerin kimyasal bileşim çeşitliliğini etkilediğini gösteren ekolojik faktörlerle bağlantılıdır. Koruma stratejileri, boyutlarının düşük olması ve yüksek düzeyde tahrip olmalarından dolayı tüm popülasyonları kapsamalıdır. Başlıca olanlar dışında belirli bileşikler sergileyen popülasyonlar öncelikle korunmalıdır. Popülasyonların yerinde korunması, biyoiklime göre uygun şekilde gerçekleştirilmelidir.

Okmen vd., (2012), bu çalışmada, Lamiaceae türlerinden elde edilen bitki esansiyel yağlarının *Aeromonas salmonicida* enfeksiyonları için kullanılabilirliğini *in vitro* ve *in vivo* koşullarda araştırmışlardır. Yerel olarak yetiştirilen gökkuşağı alabalığının organ ve dokularından toplam 18 *A. salmonicida* suşu elde edilmiştir. Tüm suşların penisilin, trimetoprim ve basitrasine %100 dirençli olduğu ve hepsinin antibiyotiklere karşı en geniş direnç profilini gösterdiği belirtilmiştir. 4 Lamiaceae türünün (*O. onites*, *O. vulgare* sp. *hirtum*, *T. spicata* var. *intricata* ve *S. thymbra*) toprak üstü kısımlarının su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların antibakteriyel etkileri 18 suşun 17'sinde yüksek bulunmuş ve inhibisyon zonları 14-25, 12-26, 10-30 ve 10-33 mm arasında değişmiştir. Ancak hiçbiri *A. salmonicida* FC84 suşu üzerinde etki göstermemiştir. *Origanum* esansiyel yağlarına en duyarlı bakteri *A. salmonicida* FC29 suşu ve en etkili esansiyel yağın *S. thymbra* olduğu bulunmuştur. Bu nedenle bu uçucu yağın FC29 suşu üzerindeki MİK değeri belirlenmiştir. Daha sonra bu uçucu yağın MİK değeri (800 µg) *in vivo* çalışmalar için balıklara enjekte edilmiştir. *S. thymbra* esansiyel yağının en etkili dozunun enjeksiyonu ve çeşitli dilüsyonları (400, 200, 100 µg/µL) deney balıklarında toksik etkiye ve toplam ölüme neden olmuştur. Düşük veya toksik etkisi olmayan dozlardaki uçucu yağ, balık kanının bakterisidal aktivitesini artırmadı ve bu da gökkuşağı alabalığını *A. salmonicida* enfeksiyonlarına karşı korumadığını göstermiştir. Öte yandan toksik olmayan düşük dozlarda *S. thymbra* esansiyel yağının bağışıklık uyarıcı olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Tawaha ve Hudaib (2012), yaptıkları bu çalımada Ürdün'de yetişen *Th. capitatus* Hoffmanns & Link'in (Lamiaceae) toprak üstü kısımlarından (çiçekler, çiçek tomurcukları ve yapraklar) hidrodamıtılan uçucu yağların bileşimini GC ve GC-MS ile analiz etmişlerdir. Bitkinin, kurutulmuş çiçeklerinden, çiçek tomurcuklarından ve yapraklardan sırasıyla %4.3, 4.0 ve %2.5 (h/a) verimleri ile uçucuyağ elde edilmiştir. Üç kısımdan elde edilen yağlarda, yağın >%99.0'unu temsil eden altmış dört bileşen, değişken içeriklerle başarıyla tanımlanmıştır. Terpenoid sınıfı bileşiminin, incelenen parçaların yağları arasında karşılaştırılabilir düzeyde olduğu bulunmuştur. Monoterpenoidlerin, baskın düzeyde oksijenli bileşenler ile çalışılan tüm parçaların en yüksek yağ fraksiyonunu temsil ettiği belirlenmiştir. Yaprak yağı en yüksek monoterpenoid içeriğini (%92.4), özellikle oksijenli (%71.3) gösterirken, en yüksek toplam fenolik (%66.8) çiçek yağında gözlenmiştir. Fenolik monoterpenoidler, timol ve karvakrol çiçeklerde, çiçek tomurcuklarında ve yapraklarda sırasıyla (%31.9-33.2), (%30.8-26.8) ve (%26.0-37.3) seviyeleri ile her zaman ana yağ bileşenleri olmuştur. Monoterpen hidrokarbonların, *p*-simen (%6.4-11.8) ve *γ*-terpinenin (%3.7-10.1) karakteristik varlığı, tüm parçaların yağlarında da gözlenmiştir. Öte yandan, seskiterpenoidler genel olarak tüm kısımlarda orta-düşük seviyelerde kaydedilmiştir; ancak hidrokarbonların ana seskiterpen bileşenleri olduğu belirtilmiştir. Çiçek tomurcuğu yağı en yüksek seskiterpenoid içeriğini (%8.4), özellikle hidrokarbonları (%6.5) gösterirken, en yüksek seviyede oksijenli seskiterpen (%2.9) yaprak yağında gözlenmiştir. *β*-karyofillen (%2.5-5.2) ve karyofillen oksit (%0.5-1.6) sırasıyla ana seskiterpenoid hidrokarbon ve oksijenli hidrokarbon olarak belirlenmişitir. İlginç bir şekilde, diğer kısımlarla karşılaştırıldığında yaprak yağı, hemen hemen tüm ana yağ bileşenlerinin en yüksek seviyelerini göstermiştir ve *p*-simen (%11.8), borneol (%2.7), karvakrol (%37.3) ve karyofillen oksit (%1.6) ve en düşük içerik *γ*-terpinen (%3.7), timol (%26.0) ve *β*-karyofillen (%2.5) içermektedir.

Demiralay vd., (2011), yaptıkları bu çalışmada, Isparta yöresine özgü bir bitki olan, Karabaş kekiği olarak da bilinen TSL (*T. spicata*) yağı ve Atorvastatin (ATS) TSL yağı alan sıçanların biyokimyasal parametreleri ve böbrek dokuları üzerine histopatolojik etkilerinin belirlenmeyi amaçlanmışlardır. Çalışmada ağırlıkları 200 ile 250 g arasında değişen 42 adet 4 aylık Wistar albino rat kullanılmıştır. Her birinde 7 rat olacak şekilde 6 eşit gruba oluşturulmuştur. Kontrol grubu standart pelet yemi ile

beslenmiştir. Kolesterol (Chol) grubu ve kontrol grupları dışındaki diğer gruplar, kolesterol seviyesi %1 olan pelet yemle beslenmiştir. 100 TSL, 200 TSL ve 300 TSL grupları, sırasıyla 100, 200 ve 300 mg/kg TSL yağı, %0.5 Sodyum Karboksi Metil Selüloz (SCMC) karışımı ile beslenmiştir. Öte yandan 50 mg/kg Atorvastatin (ATS) %0,5 Sodyum Karboksi Metil Selüloz (SCMC) süspansiyonu hazırlanarak 50 ATS grubuna gavaj tüpü ile uygulandmıştır. Kontrol grubuna 0.5 mL problu %0.5 SCMC verilmiştir. 30 gün sonra deney sonlandırılmış ve sıçanlardan kan ve doku örnekleri alınmıştır. Kan numunelerinde serum glikozu, Kan Üre Azotu (BUN), kreatin, toplam protein, albümin, alanin aminotrasferaz (ALT), aspartat aminotrasferaz (AST), alkalin fosfataz (ALP), kreatin kinaz (CK) , laktat dehidrojenaz (LDH), Toplam Kolesterol (TC), Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol (LDL-C), Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol (HDL-C), Trigliserit (TG), Oksitlenmiş LDL (ox-LDL), fibrinojen, homosistein, ve Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF) konsantrasyonları değerlendirilmiştir. Böbrek dokuları ise histopatolojik olarak incelenmiştir. Bu çalışmada TSL ve ATS'nin genel olarak biyokimyasal test sonuçlarını etkilemediği gözlenmiştir. Ayrıca TSL'nin hiperkolesterolemide etkili olabileceği ve 300 mg/kg TSL ile ATS'nin yaklaşık olarak aynı derecede bir antihiperkolesterolemik etki gösterdiği bulunmuştur. TSL ve ATS ile minör böbrek defektleri gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, TSL'nin etkilerinin daha büyük dozlarla arttığı belirlenmiştir.

Markovic vd., (2011), yaptıkları bu çalışmada, GC/MS kullanılarak analiz edilen *S. thymbra* ve *T. spicata*'dan izole edilen uçucu yağların kimyasal bileşimini ve antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. *S. thymbra* yağının ana bileşenleri timol (%33.8), *γ*-terpinen (%30.8) ve *p*-simen (%11.8) olarak bulunmuştur. *T. spicata* yağındaki ana bileşenler karvakrol (%74,5) ve *γ*-terpinen (%11.2)'dir. Yağlar ve ana bileşenleri, timol ve karvakrol, gıda zehirlenmelerine, bitki, hayvan ve insan patojenik mikroorganizmalara karşı antibakteriyel ve antifungal aktivite için mikrodilüsyon yöntemi uygulanarak test edilmiştir. *T. spicata* yağı ve karvakrol en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir.

Albano ve Miguel (2011), yaptıkları bu çalışmada, *Foeniculum vulgare* (Apiaceae), *Dittrichia viscosa* (Asteraceae), *O. vulgare*, *S. officinalis*, *T. capitata*, *Th.*

camphoratus, *Th. carnosus* ve *Th. mastichina* (Lamiaceae) ekstraktlarının antioksidan ve antiinflamatuar aktivitelerini araştırmışlardır ve bazı ekstraktlar ilk kez incelenmiştir. Kurutulmuş ve öğütülmüş bitki materyalinin kokusu giderilmiş, organik ve su çözücü özleri, farklı polariteye sahip çözücüler kullanılarak hazırlanmıştır. Antioksidan aktivite, difenilpirilhidrazil (DPPH) radikal giderim yöntemi ve bir enzimatik hipoksantin/ksantin oksidaz sistemi aracılığıyla süperoksit anyon radikallerinin giderilmesi ile değerlendirilmiştir. Anti-inflamatuar aktivite ise 5-lipoksijenazın inhibisyonu ile toplam fenolik içerik, Folin–Ciocalteu yöntemiyle bulunmuştur. *S. officinalis* ekstreleri, DPPH radikallerini ve süperoksit anyon radikallerinin gideriminde, *O. vulgare* ve *T. mastichina* özleri de sırasıyla DPPH ve süperoksit giderici olarak en etkili sonucu göstermiştir. 5-lipoksijenaz inhibisyonu için, ekstraktların çoğunda negatif bir korelasyon tespit edilmiştir.

Pirbalouti vd., (2011), yaptıkları çalışmada, *Thymus daenensis* var. *daenensis* Celak., *Zataria multiflora* Boiss., *T. spicata* ve *Bunium persicum* (Boiss.) dahil olmak üzere dört İran bitkisinin esansiyel yağının antifungal aktivitelerini, *Aspergillus niger* (PTCC 5298), *Aspergillus fumigates* (PTCC 5009), *Aspergillus flavus* (PTCC 5004) ve *Aspergillus parasiticus* (PTCC 5018)'e karşı agar disk difüzyon testi ile araştırmışlardır. Uçucu yağların bazıları, test edilen mantara karşı nispeten antifungal aktivite göstermiştir. İncelenen bitkilerden en aktif ekstraktların, *T. daenensis* ve *T. spicata* esansiyel yağından elde edilenler olduğu belirtilmiştir. Aktif ekstraktlar için MİK değerleri 64 ve 256 µg/ mL arasında değişmektedir. Elde edilen sonuçların, araştırılan bitkilerin antifungal potansiyelini doğruladığı görülmüştür. *T. daenensis* ve *T. spicata*'nın uçucu yağlarının *A. niger, A. fumigates, A. flavus* ve *A. paraziticus*'a karşı doğal antifungal olarak gıdaların korunmasında ve insan sağlığında kullanılabileceği belirtilmiştir.

Camprubi vd., (2011), yaptıkları bu çalışmada, mikorizal bitkilerin bozulmuş habitatların etkili kolonileştiricileri olarak bilindiği göz önüne alındığında, bitki büyümesinde arbusküler mikorizal (AM) simbiyozun etkisini on beş psammofilik bitki türünde (*Lotus creticus*, *Dorycnium pentaphyllum*, *Otanthus maritimus*, *T. capitata*, *Armeria maritima*, *Halimium halimifolium*, *Ononis natrix*, *Medicago marina*, *Genista umbellata*, *Crucinella maritima*, *Elymus farctus, Ammophila arenaria, Pancratium*

maritimum, Glaucium flavum ve *Limoniastrum monopetalum*) incelemişlerdir. Bir kıyı kumulundan izole edilen yerli AM mantarları konsorsiyumu ile bitki aşılamanın etkisini ve mikorizal olmayan bitkilere karşı seçilen *Glomus intraradices* BEG 72 izolatı ile karşılaştırmak için bu çalışmada yabani tohumlar kullanılmıştır. Altı aylık büyümeden sonra, on beş psammofilik türden on birinin AM mantar aşılamasına olumlu yanıt verdiğini ve hem kök hem de sürgün gelişiminin AM mantarlarının varlığından önemli ölçüde yararlandığı bulunmuştur. Doğal ortamlarından toplanan yabani tohumların çimlenmesinden sonra üretilen pek çok psammofilik türün, kısmen bitki yetiştirme substratında yeterli AM fungal inokulum eksikliğinden dolayı sınırlı büyüme gösterdiği sonucuna varılabileceği belirtimiştir.

El Ouariachi vd., (2011), yaptıkları bu çalışmada, Fas'ta yetişen *Th. capitatus* uçucu yağının kimyasal bileşiminin analizini, gaz kromatografisi (GC) ve gaz kromatografisi-kütle spektropisi (GC-MS) kullanılarak belirlemişlerdir. Uçucu yağın ana bileşenlerinin *p*-simen, karvakrol, geranil asetat ve borneol olduğu belirlenmiştir. Çözücü ekstraktlarındaki toplam fenolik ve flavonoid miktarları spektrometrik olarak belirlenmiştir. Uçucu yağ ve özlerin antioksidan aktivitesi, serbest radikal giderim yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) giderim aktivitesi, etil asetat>dietileter>uçucu yağ sırasında artmıştır. Ekstraktların antioksidan aktivite potansiyeli ile toplam fenolik ve flavonoid seviyeleri arasında bir ilişki gözlenmiştir. Son olarak *Th. capitatus*'un özleri ve uçucu yağları antioksidan aktivite göstermiş ve bu nedenle gıda ve/veya farmasötik endüstrilerinde doğal bir koruyucu bileşen olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Mohammed vd., (2010), yaptıkları bu çalışmada, sığır etinde lipid oksidasyonunu önlemek için *T. capitata* yağının kapasitesini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Yerel piyasadan satın alınan iki tür sığır eti örneğinde farklı konsantrasyonlarda uçucu yağ (0, 50, 75 ve 100 mg/5 g et) kullanılmıştır. Her iki et örneğinin protein içeriği %21 ve lipid içeriği %9 ile %15 arasında değişmektedir. Yağ ile kaplandıktan sonra iki tip et numunesi bir ay boyunca -17 ºC'de saklandı. 1 gün, 15 gün ve 30 gün sonra et örnekleri alınmış ve 85 ºC 90 dakika pişirilmiştir. Numuneler daha sonra antioksidan aktivite değerlendirmesi için TBARS modifiye yöntemine tabi tutulmuştur. Uçucu yağın, bir

aylık depolamadan sonra bile et oksidasyonunu önleyebildiği ve doza bağlı bir aktivite gösterdiği belirtilmiştir.

Kızıl (2010), yaptığı bu çalışmada, Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz bölgelerinde 121–1249 m yükseklikte bulunan 30 farklı lokasyondan toplanan *T. spicata* taksonlarının tohumlar arasındaki farklılıkları, otların mineral element içeriği, uçucu yağ verimi ve yağ kompozisyonunu belirlemek amacıyla yapmıştır. *T. spicata*'nın toprak üstü kısımlarından uçucu yağlar hidro damıtma ile elde edilmiştir ve bileşenleri gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi ile tanımlanmıştır. Sonuçlar, bitkinin Al, Ca, Mg, Na ve P mikro elementleri açısından zengin olduğunu göstermiştir. Örneklerin uçucu yağ bileşimi, iki farklı kemotipin karakterizasyonu ile %1.57–3.27 arasında değişmektedir. Diyarbakır-Kulp lokasyonundan toplanan örneklerin uçucu yağlarında %53 (yaklaşık) γ-terpinen bulunurken, diğer örnekler %49.7-94.5 aralığında baskın kimyasal bileşen olarak karvakrol içermektedir.

Salas vd., (2010), yaptıkları bu çalışma ile İspanyol *T. capitata* popülasyonlarının uçucu yağının kimyasal bileşimini incelemişlerdir. Aromatik monoterpenler (karvakrol ≥ %66; *p*-simen, %7.3- 9.2), monosiklik monoterpenler (γ-terpinen, %3.4-11.2; α-terpinen, %0.3-2.0), bisiklik monoterpenler (α-tujen, %0.9 2.0; α-pinen, %0.7-1.4, kamfen, %0.2-0.9), asiklik monoterpen (mirsen, %1.7-2.4) ve seskiterpenler (E)-karyofillen (%1.0-2.0) başta olmak üzere 38 bileşen tanımlanmıştır. Çiçeklenme ve meyve verme aşaması arasında önemli bir fark olmaksızın çok yüksek bir lipofilik antioksidan aktivite ölçülmüştür.

Machado vd., (2010), yaptıkları bu çalışmada, Bu çalışma, *T. capitata*, *O. virens*, *Thymus zygis* subsp. *sylvestris* kemo tipi timol ve *Lippia graveolens* aromatik bitkilerinden elde edilen fenolik bakımından zengin uçucu yağların anti-*Giardia* aktivitesini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Etkiler parazit büyümesi, hücre canlılığı uyumu ve morfolojisi üzerinde değerlendirilmiştir. Test edilen uçucu yağlar, *Giardia lamblia*'nın büyümesini engellemiştir. *T. capitata* esansiyel yağının en aktif uçucu yağ olduğu ve bunu *O. virens*, *T. zygis* subsp. *sylvestris* ve *L. graveolens* yağlarının takip ettiği belirtilmiştir. IC_{50} (71-257) µg/mL'de test edilen uçucu yağlar, inkübasyonun ilk saatinden itibaren parazit yapışmasını ($p< 0.001$) inhibe etmiştir ve zamana bağlı bir

şekilde parazit popülasyonunun neredeyse %50'sini öldürmeyi başarmıştır. Uçucu yağlar tarafından desteklenen ana ultrastrüktürel değişiklikler, tipik trofozoit görünümündeki, genellikle yuvarlak şekilli, düzensiz dorsal ve ventral yüzeydeki deformasyonlar, membran kabarcıklarının varlığı, sitoplazma ve çekirdeklerde elektrottans çökeltileri ve flagella ve ventral diskin içselleştirilmesi olarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler, uçucu yağların, muhtemelen plazmatik membran değişikliklerinin neden olduğu ozmoregülasyon kaybıyla ilişkili süreçlerle hücre ölümüne neden olduğunu göstermektedir. Deneyler, uçucu yağların memeli hücrelerinde sitotoksik etki göstermediğini ortaya koymuştur. Sonuç olarak *T. capitata*, *O. virens*, *T. zygis* subsp. *sylvestris* kemo tipi timol ve *L. graveolens* uçucu yağlarının antigiardiyal aktiviteye ve protozoan *G. lamblia*'nın neden olduğu paraziter hastalığın tedavisi için potansiyele sahip olduğu belirtilmektedir.

Machado vd., (2010), yaptıkları bu çalışmada, bazı uçucu yağların *G. lamblia* büyümesi üzerindeki etkisini belirlemişlerdir. Test edilen on sekiz uçucu yağ arasında, özellikle *T. capitata* ve *O. virens* (IC_{50} değerleri sırasıyla 71 ve 85 µg/mL) gibi yüksek oranda karvakrol içeren yağların etkin olduğunu bulmuşturlar. *Syzygium aromaticum* ve *T. zygis* subsp. *sylvestris* (100 ila 200 µg/mL arasında IC_{50} değerleri) ve ayrıca *Mentha x piperita* ve *L. graveolens* (IC_{50} değerleri 200 µg/mL üzerinde) daha az aktif olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçlar, birkaç uçucu yağın veya bileşenlerinin bazılarının *Giardia* enfeksiyonlarının klinik yönetiminde yararlı olabileceği kavramını desteklemektedir.

Kızıl (2009), yaptığı bu çalışmada, ekili ve yabani *T. spicata*, *T. sintenisii* ve *Tanacetum densum* subsp. *amani* bitkilerinin kurutulan toprak üstü kısımları, bir Clevenger tipi aparat kullanılarak 3 saat boyunca hidrodistilasyona tabi tutmuştur. Elde edilen uçucu yağlar GC/MS analizi kullanılarak analiz edildi ve uçucu yağ bileşenleri açısından karşılaştırıldı. Sonuçlar, her iki *Thymbra* türünün uçucu yağının ana bileşenlerinin karvakrol, *γ*-terpinen, *p*-simen, *β*-karyofillen, mirsen ve *α*-fellandren olduğunu göstermiştir. Yetiştirilen *T. spicata*'nın uçucu yağı, kültüre alınan türlerin karvakrol yüzdesine (%72.56) kıyasla daha düşük (%67.91) olduğu gözlenmiştir. Tersine, ekili *T. sintenisii'*nin alfa-pinen yüzdesinin, yabani formlara kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. *p*-simen, *T. sintenisii'*de ikinci ana bileşen olarak

bulunmuştur. *Tanacetum* yağı soluk yeşilimsi ve hoş bir kokuya sahip olduğu gözlemlenmiştir. Yabani form için %0.1 (v/w) ve ekili form için %0.15 verimle elde edilmiştir. Yağın %84.53-93.41'ini temsil eden yirmi üç bileşen karakterize edilmiş, bunlardan bisabolon oksit (%25.62), karvakrol (%26.73), izoborneol (%10.07), borneol (%14.05), *ß*-panasinsen (%8.95), okaliptol (%10.13) ve kafur'un (%4.71) ana bileşenler olduğu belirlenmiştir.

Uğur vd., (2009), yaptıkları bu çalışmada Anadolu'da halk hekimliğinde kullanılan *S. thymbra* (Lamiaceae) uçucu yağının kimyasal bileşimi ve *in vitro* antimikrobiyal aktivitesi değerlendirmişlerdir. Uçucu yağın, birden fazla antibiyotiğe dirençli *Stenotrophomonas maltophilia*'nın sekiz suşuna karşı antimikrobiyal aktivitesi, disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. *S. thymbra*'nın uçucu yağının kimyasal bileşimi GC, GC-MS analiz ile karakterize edildi. *S. thymbra*'nın uçucu yağının, test edilen tüm bakterilerin büyümesini engellediği ve inhibisyon bölgelerinin 24-33 mm olduğu belirlenmiştir. Maksimum inhibisyon etkisi *S. maltophilia* MU 136 üzerinde gözlemlenmiştir. Uçucu yağı karakterize eden ana bileşenin karvakrol (%55.8) ve diğer ana bileşenlerin *γ*-terpinen (%21.7), *p*-simen (%8.7) ve *α*- terpinen (%2.3) olduğu belirlenmiştir.

Ünlü vd., (2009), yaptıkları bu çalışmada *T. spicata*'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın bileşimini GC-MS ile analiz etmiş ve *in vitro* antimikrobiyal aktivitesi incelenmişlerdir. Uçucu yağın GC-MS analizi, yağın %97.04'ünü temsil eden yirmi üç bileşenin tanımlanmasıyla sonuçlanmıştır. Uçucu yağda tespit edilen başlıca bileşikler karvakrol (%60.39), *γ*-terpinen (%12.95) ve *p*-simen (%9.61)'dir. Uçucu yağın 21 bakteri ve yedi *Candida* türüne karşı *in vitro* etkinliği, disk difüzyon ve minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Uçucu yağ, çoğu mikroorganizmaya, özellikle test edilen mayalara karşı geniş bir spektrumda güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ayrıca bu çalışma, *T. spicata*'nın uçucu yağının antikandidal özellikleri hakkında ilk rapor olma özelliğini göstermektedir. Sonuç olarak, bu çalışma *T. spicata* uçucu yağının doğal bir antimikrobiyal kaynak olarak kabul edilebileceğini doğrulamaktadır.

Bentes vd., (2009), yaptıkları bu çalışmada, *T. capitata* ve *Th. mastichina*'nın çiçekli toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların (EO) suda çözünür hidrodistilasyon-sulu faz (RHAPhW), kloroformda çözünür fazlar (RHAPhC) ve kurutulmuş bitkiden elde edilen heksan (HEX), diklorometan (DCM) ve metanol (MeOH) ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini değerlendirmiştirler. EO'lar GC ve GC-MS ile analiz edilmiştir. Toplam fenol içeriği, Folin-Ciocalteu yöntemiyle, antioksidan aktivite, DPPH, TBARS, indirgeyici potansiyel, metal şelatlama ve süperoksit anyon temizleme aktivitesi belirlenmiştir. karvakrol (%75) ve 1,8-sineol'ün (%44), sırasıyla *T. capitata* ve *Th. mastichina* EO'ların ana bileşenleri olduğu bulunmuştur. *T. capitata*'nın DCM özlerinin ve *Th. mastichina*'nın MeOH özlerinin en yüksek fenol içeriğine sahip olduğu ve her iki bitki türünün de RHAPhW'lerinin en iyi serbest radikal giderici etki sergilediği belirtilmiştir. *T. capitata*'nın HEX ve MeOH özleri, lipid peroksidasyonunu en etkili şekilde önlemiştir. Sırasıyla *T. capitata* ve *Th. mastichina*'nın RHAPhW'leri ve MeOH özlerinin en güçlü indirgeme aktivitesine sahip olduğu belirtilmiştir. Sadece her iki türün MeOH özütlerinin Fe(II)'yi şelatlayabildi ve yalnızca RHAPhW'ler ve MeOH özütlerinin süperoksit radikallerini giderebildiği bu çalışma ile raporlanmıştır.

Daneshvar-Royandezagh vd., (2009), yaptıkları bu çalışmada, *in vitro* olarak yetiştirilen bitkilerden elde edilen kotiledon düğüm eksplantlarından mikro çoğaltma yapmışlardır. Bitkiler, 0.05 mg/LTDZ (Thidiazuron), 0, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08 ve 0.12 mg/L NAA (a naftalin asetik asit) içeren MS ortamında kültürlenmiştir. Gelişmekte olan sürgünler, 0.5 mg/L IBA (İndol-3-bütirik asit) ile takviye edilmiş ve MS ortamında köklenmiştir. Tüm bitkiler serada iklimlendirilmiştir.

Askun vd., (2009), yaptıkları bu çalışmada, iki kekik türünün (*Origanum minutiflorum O. Schwarz* ve P.H. Davis ve *T. spicata*) antibakteriyel ve antimikobakteriyel aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Bitkilerin metanol ekstraktlarının aktivitesi ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir. *T. spicata*, *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı yüksek düzeyde aktivite (minimum inhibitör konsantrasyon MİK 196 µg/ml) ve *E. coli*, *S. typhimurium*, *E. aerogenes* ve *S. epidermidis*'e karşı orta düzeyde aktivite (MİK 640 µg /ml) sergilemiştir. Karvakrol, rosmarinik asit, hesperidin ve naringenin, *T. spicata*

için başlıca fenolik bileşikler olarak tanımlanmıştır. *O. minutiflorum* için ana fenolik bileşikler olarak karvakrol, rosmarinik asit, eriodiktiol ve luteolin tanımlanmıştır.

Aslan vd., (2009), yaptıkları bu çalışmada, *T. spicata*, *Mentha spicata* var. *formasa* ve *Mentha spicata* subsp. *tomentosa*, *Sitophilus granarius* (L.) erişkinlerine karşı toksisiteleri açısından test edildi. Uçucu yağlar, 0.5, 0.75 ve 1 µL/L havaya karşılık gelen 4 L kapasiteli desikatörlerde 2, 3 ve 4 µL dozlarında uygulandı. Zararlıya karşı arzu edilen insektisidal aktiviteler test edilen tüm uçucu yağlar ile elde edilmiş olsa da, *M. spicata* subsp tomentosa yağının 0.5 µL/L hava dozunda ve 48 saatlik maruz kalma süresinde en etkili olduğu bulundu. Öte yandan, *M. spicata* subsp. *tomentosa* ve *M. spicata* var. *formasa*, 0.75 ve 1 µL/L hava dozlarında ve 24, 36 ve 48 saatlik maruz kalma sürelerinde benzer etkilere sahipti. Test edilen bitki uçucu yağlarının her biri için yetişkin *S. granarius*'a karşı toksisite doza ve maruz kalma süresine bağlıydı. Yetişkin *S. granarius*'ta sadece *M. spicata* subsp. *tomentosa* ve *M. spicata* var. *formasa* uçucu yağları ile 1 µL/L hava dozunda ve 36 ve 48 saatlik maruz kalma sürelerinde %100 ölüm oranı elde edilmiştir. *M. spicata* subsp. *tomentosa* ve *M. spicata* var. *formasa*'dan elde edilen *M. spicata* var. *formasa*, depolama tesislerinde S. *granarius*'a karşı potansiyel kontrol ajanları olabilir.

Baocy vd., (2008), yaptıkları bu çalışmada *T. sintenesii* Bornm. et Aznav. subsp. *isaurica* yağının *Aspergillus niger, Aspergillus parasiticus, Alternaria alternata, Botrytis cinerea, Fusarium oxysporium, Rhizoctonia solani'*nin misel büyümesi üzerindeki inhibitör etkisini belirlemişlerdir. Bitkinin uçucu yağı, tüm mantarların büyümesi üzerinde değişen seviyelerde antifungal etki sergilemiştir. %0.05 yağ seviyesi mantarların misel gelişimine karşı inhibitör etki göstermiştir. Diğer konsantrasyonlar, küflerin misel büyümesi üzerinde zayıf etki göstermiştir. İnkübasyonun 3. gününde *B. cinerea*'ya karşı %0.01 ve %0.03 dozluk belirli inhibisyon yüzdeleri diğer günlerde tamamen ortadan kalkmıştır. %0.01 ve %0.03 seviyelerinde inkübasyonun 3. gününden sonra*, A. alternata, B. cinerea, F. oxysporium* ve *R. solani*'ye karşı inhibisyon yüzdeleri %27-70, %20-71, %24-71 ve %30-64 olarak belirlenmiştir.

Galego vd., (2008), yaptıkları u çalışmada, Algarve (Portekiz) Tarım Bölge Müdürlüğü alanında yetiştirilen *T. capitata*, *O. vulgare*, *C. baetica* ve *Th. mastichina* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların antioksidankapasitelerini incelemiştirler. Hidrodistilasyon ile ekstrakte edilen yağlar, gaz kromatografisi ve kütle spektrometrisine bağlı gaz kromatografisi ile analiz edilmiştir. Antioksidan aktivite, 1,1-difenil-2 pikrilhidrazil (DPPH) radikali üzerindeki katyon giderim etkisini ölçen modifiye edilmiş tiyobarbitürik asit-reaktif maddeler (TBARS) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar, *O. vulgare* ve *T. capitata*'dan elde edilen yağların, BHT ve BHA'nın lipid oksidasyonunu önleme konusunda pratik olarak aynı kapasiteye sahip olduğunu göstermiştir. DPPH üzerindeki katyon giderici etki için *T. capitata* uçucu yağının en etkili olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçların, bu bitkilerdeki fenol bileşiklerinin göreceli olarak yüksek konsantrasyonları ile açıklanabileceği belirtilmiştir.

Askun vd., (2008), yaptıkları bu çalışmada, insanlar tarafından yaygın olarak kullanılan bazı Lamiaceae türlerinin (*T. spicata, S. hortensis., O. onites., O. vulgare* L. subsp. *hirtum (*Link*) Iestswaart, O. vulgare, O. minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis, *Sideritis vuralii* H. Duman & Baser and S. caesarea H. Duman, Aytaç & Baser) antifungal etkilerini araştırmışlardır. Mantar önleyici etkileri belirlemek için, bitki metanol ekstraktlarının toprak üstü kısımları, dört mantar türü olan Aspergillus flavus Link, *A. niger Raper* ve *Rezene*, *A. ochraceus* K. Wilh ve *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg'e karşı test edilmiştir. Üç bitki türü, *O. vulgare* subsp. *hirtum*, *O. minutiflorum* ve *T. spicata*, metanol ekstraktları, dört potansiyel mikotoksijenik mantara karşı 1.6 mg/mL minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ile antifungisit aktivite göstermiştir. Sonuçlar istatistiksel testler kullanılarak değerlendirilmiştir.

Azırak ve Karaman (2008), yaptıkları bu çalışmada, bazı bitkilerin (*Carum carvi* L., *Coriandrum sativum* L., *Foeniculum vulga*re Mill., *Lavandula stoechas* , *M. spicata*, *O. Onites* , *P. anisum* , *R. officinalis*, *S. officinalis* ve *T. spicata*) uçucu yağlarının tarla ve bahçe bitkilerinde yetişen yaygın yabancı ot türlerine (*Alcea pallida* Waldst. & Kit., *Amaranthus retroflexus* L., *Centaurea salsotitialis* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Rumex nepalensis* Spreng., *Sinapis arvensis* L. ve *Sonchus oleraceus* L.) karşı allelopatik etkilerini araştırmışlardır. Uçucu yağların farklı konsantrasyonları (3, 6, 10

ve 20 mL) yabancı ot tohumlarına karşı *in vitro* test edilmiş ve çimlenme üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Uçucu yağların ve konsantrasyonların inhibitör etkileri Freadman testi ile analiz edilmiştir. *C. carvi*, *M. spicata*, *O. onites* ve *T. spicata*'dan elde edilen uçucu yağlar, daha düşük konsantrasyonlarda yabancı ot tohumlarına karşı yüksek inhibitör etki göstermiştir. Ayrıca bu dört uçucu yağın ana bileşenleri (karvakrol, timol, karvon, limonen), aynı yabani otlara karşı dört farklı konsantrasyonda (500, 250, 125 ve 62.5 mg/mL) tohum çimlenmesi için test edilmiştir. Timol, karvakrol ve karvon, yabancı ot tohumlarına karşı düşük konsantrasyonlarda bile yüksek inhibisyon göstermiştir. Sadece *A. pallida* tohumları tüm uçucu yağlara ve bileşenlere karşı direnç göstermiştir.

Ünver vd., (2008), yaptıkları bu çalışmada, adaçayı (*S. officinalis*), defne (*L. nobilis*) ve kekik (*T. spicata*)'den elde edilen metanol-su (90:10; v/v) ekstraktının inhibe edici etkilerini, on bir türün klinik izolatları (*C. krusei*, *C. clus*, *Rhodotorula rubra*, *C. albicans* 10039, *C. tropicalis*, *C. glabrata* 70164, *C. parasilosis*, *C. deli*, *C. rhodotonla*, *C. holmii* ve *C. glabrata* 13b) üzerinde *in vitro* olarak test etmişlerdir. Adaçayı defne ve kekik ekstraktlarının antimikotik aktivitesini araştırmak için disk difüzyon yöntemi kullanılarak *in vitro* ön deney yapılmıştır. Kekik metanol özütü, test edilen tüm mayalara karşı çok yüksek antimikotik aktivite göstermiştir. Defne ekstraktının etkisi, 40 ppm seviyesinde C tropikalis için kekik ekstraktı kadar iyi etki göstermiştir. Genellikle adaçayının test edilen mayalar üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır.

Doğan vd., (2007), yaptıkları bu çalışmada, peroksidazı, *T. spicata*'dan ekstrakte etmiş ve daha sonra $(NH_4)_2SO_4$ çökeltme ve diyaliz ile kısmen saflaştırılmışlardır. Peroksidazın substrat özgünlüğü 2,2-azino-bis(3-etilbenz-tiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS), *o*-dianisidin, *o*-fenilendiamin, katekol ve guaiakol kullanılarak araştırılmıştır. Ayrıca tampon konsantrasyonu, pH, sıcaklık ve termal inaktivasyonun enzim aktivitesi üzerindeki etkileri de incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar (i) en iyi substratın *o*-dianisidin olduğunu, ardından sırasıyla ABTS, katekol, guaiakol ve *o*-fenilendiamin olduğu; (ii) en iyi tampon konsantrasyonu *o*-dianisidin ve katekol için 40 mM, ABTS ve guaiakol için 10 mM ve *o*-fenilendiamin için 100 mM olduğu; (iii) ABTS için optimum pH 2.5'tir ve *o*-fenilendiamin, *o*-dianisidin için 6.0 ve katekol ve guaiakol

için 7.0 olduğu (iv) katekol için optimum sıcaklık 20 ˚C, ABTS, guaiakol ve *o*-dianisidin için 40 ˚C ve *o*-fenilendiamin için 50 ˚C olduğu; ve (v) termal inaktivasyon deneylerindeki enzim aktivitesinin, substrat olarak *o*-dianisidin ile sıcaklıktaki artışla artarken, *o*-fenilendiamin ile azaldığı belirtilmiştir.

Lehtijarvi (2006), yaptığı bu çalışmada, *O. minutiflorum* (Türkiye'ye özgü), *O. onites*, *T. spicata* ve *S. cuneifolia*'nın uçucu yağlarının antifungal özelliklerini, Türkiye'deki çeşitli orman fidanlıklarından enfekteli fidanlardan elde edilen altı Rhizoctonia solani izolatına karşı test etmiştir. Uçucu yağları test etmek için kullanılan iki yöntemden uçuculuk testinin, temas testinden biraz daha etkili olduğu gözlemlenmiştir. Temas testinde tüm *Rhizoctonia* izolatları güçlü bir şekilde etkilenirken (>84.7), mantar izolatları uçucu testteki tüm uçucu yağlar tarafından tamamen inhibe edilmiştir. *R. solani* izolatının Rs6, *O. minutiflorum* (%100), *S. cuneifolia* (%100) ve *T. spicata* (%99.6) tarafından baskılanan en hassas izolat olduğu belirtilmiştir. *R. solani* izolatı Rs3 ayrıca *O. onites* (%99.1) tarafından güçlü bir şekilde inhibe edilmiştir.

Miceli vd., (2006), yaptıkları bu çalışmada, Güney Apulia'dan (İtalya) toplanan *T. capitata*'nın uçucu yağlarını, kimyasal değişkenliği kontrol etmek için gaz kromatografisi ve gaz kromatografisi kütle spektrometrisi teknikleri kullanılarak analiz etmişlerdir. Çalışma, yağların 75 bileşeni arasında en çok tekrarlayanların, her zaman yağların %50'sinden fazlasını oluşturan timol ve karvakrol ile *γ*-terpinen, borneol ve *p*-simen olduğunu göstermiştir. Küme analizi, üç kemotipin tanımlanmasına yol açmıştır: timol, karvakrol ve timol/karvakrol. Temel bileşen analizi, mirsen, *α*-terpinen ve *γ*-terpinen arasındaki doğrudan ilişkiyi göstermiştir. Ayrıca, daha düşük timol konsantrasyonlarına mirsen, *α*-terpinen ve *γ*-terpinende bir artış gözlemlenmiştir.

Kılıç (2006), *T. spicata*'nın taze yaprakları ve tuzlu su içindeki yaprakları hidrodistilasyon, headspace ve GC/MS teknikleri ile analiz etmiştir. Ana bileşenler karvakrol, *p*-simen, *β*-mirsen, *γ*-terpinen, *α*-terpinen ve *trans*-karyofillen olarak belirlenmiştir. Uçucu yağ ve ana bileşikler, karvakrol ve *trans*-caryophyllene, *E. coli, S. epidermidis, B. subtilis, S. aureus, S. typhimurium, K. pneumoniae, P. aeruginosa, E. faecalis* ve *C. albicans'a* karşı test edilmiştir. Uçucu yağ ve karvakrol, *P. aeruginosa*

hariç tüm mikroorganizmalara karşı güçlü aktivite gösterirken, trans-karyofillen sadece *C. albicans*'a karşı aktivite göstermiştir. Uçucu yağ ve karvakrol ayrıca güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Kizil ve Uyar (2006), yaptıkları bu çalışmada *Thymus kotschyanus*, *S. hortensis*, *O. onites* ve *T. spicata*'nın uçucu yağ bileşenlerini GC ile belirlemişlerdir. Bu bitkilerin uçucu yağlarının dört bitki patojenine karşı antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri 5, 10 ve 15 µg konsantrasyonlarında ve 24, 48 ve 72 It inkübasyon sürelerinde değerlendirilmiştir. GC tarafından belirlenen uçucu yağların ana bileşenleri, *Th. kotschyanus*'ta timol (%41.6), *O. onites* (%40.7), *S. hortensis* (%20.6) ve *T. spicata*'da (%81) karvakrol'dür. Her bitkinin sulu ve hekzan ekstraktlarının antibakteriyel aktiviteleri agar disk difüzyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Sonuçlar tüm uçucu yağların, *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* hariç *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseduomonas syringae* pv. *domates* ve *Macrophomina Phaseoli'*ye karşı antibakteriyel aktivite sergilediğini göstermiştir. Ayrıca gram + bakterilerin gram - bakterilere göre daha duyarlı olduğu gözlemlenmiştir.

Fleisher ve Fleisher (2005), yaptıkları bu çalışmada, *S. thymbra* ve *T. spicata*'nın örneklerinden elde edilen ekstraktlar, GC ve GC/MS ile detaylı olarak analiz edilmiştir. Bu çalışma ile her iki türün de oldukça küçük ve bileşimsel olarak ayrılmış popülasyonlarda büyüdüğü içeriğinde bulunan timol ve karvakrol içeren kemotiplerin varlığını doğrulamaktadır. Timol/karvakrol oranı dışında, her iki türün uçucu bileşen bileşimlerinin çok benzer olduğu bulunmuştur. Biyosentetik olarak birbiriyle ilişkili timol, karvakrol*, γ*-terpinen ve *p*-simene ek olarak, her iki türün diğer bileşenlerinin *β*-karyofillen, karyofillen oksit, timohidrokinon ve timokinon olduğu belirlenmiştir.

Faleıro vd., (2005), yaptıkları bu çalışmada, *T. capitata* ve *O. vulgare* uçucu yağlarının antilisteryal aktivitelerini 41 *Listeria monocytogenes* suşuna karşı test etmişlerdir. *T. capitata* uçucu yağının ana bileşeni karvakrol (%79) iken, *O. vulgare*'nin %70'ini oluşturan üç bileşenin timol (%33), *γ*-terpinen (%26) ve *p*-simen (%11) olduğu belirlenmiştir. *T. capitata* uçucu yağının, *O. vulgare* uçucu yağı ve kloramfenikol ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha yüksek antilisteriyal aktiviteye sergilediği gözlemlenmiştir. *T. capitata* uçucu yağı ve karvakrolün minimum inhibitör

konsantrasyon değerlerinin 0.05 ile 0.2 µL/mL arasında değiştiği belirtilmiştir. *T. capitata* uçucu yağının antioksidan aktivitesinin *O. vulgare*'den önemli ölçüde yüksek olduğu bulunmuştur. *T. capitata* ve *O. vulgare* esansiyel yağlarının kullanımının, gıda ve diğer endüstrilerde *L. monositogen'*lerinin kontrolünde güçlü bir araç oluşturabileceği belirtilmiştir.

Miguel vd., (2005), yaptıkları bu çalışmada, *T. capitata*, *Th. mastichina* ve *Th. camphoratus*'un uçucu yağlarının ağırlıklı olarak oksijen içeren monoterpenlerden (%61-76) oluştuğunu belirlemişlerdir. *T. capitata* yağının ana bileşeninin karvakrol (%72), *Th. mastichina*'nın 1,8-sineol (%49) ve linalool (%17), *Th. camphoratus*'un ise linalil asetat (%15) ve 1,8-sineol (%11) olduğu bulunmuştur. Uçucu yağlar ve bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ile karşılaştırıldığında yer fıstığı yağında zayıf serbest radikal giderim özelliği göstermiştir. Ayçiçek yağında, hem uçucu yağlar hem de sentetik antioksidanlar, nispeten düşük serbest radikal gidrrim yeteneği sergilemiştir. Birkaç günlük depolamadan sonra asit değerinde önemli farklılıklar tespit edilmiştir.

Biavati vd., (2004), yaptıkları bu çalışmada, Türkiye'den toplanan *Satureja cuneifolia* Ten. ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica*'nın toprak üstü kısımlarının hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağlarının bileşenleri ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemiştirler. Genel olarak, GC profillerinin yaklaşık %97'sini oluşturan toplam otuz üç bileşik tanımlanmıştır. *S. cuneifolia*'nın yağının ana bileşenlerinin karvakrol, (%45.39), *p*-simen (%16.28), *γ*-terpinen (%12.59), timol (%8.34) ve *cis*-osimen (%2.33) olduğu belirlenmiştir. *T. sintenisii* subsp. *isaurica* yağının ana bileşenleri ise, *p*-simen (%37.44), karvakrol (%32.22), borneol (%5.98) ve *γ*-terpinen (%5.40) olarak tanımlanmıştır. Her iki yağın da antimikrobiyal aktivitesi, tarım gıda ve farmasötik alanlarında önemli bir role sahip olan çeşitli bakteri (Gram+ ve Gram-) ve mayalara karşı denenmiştir. Sonuçlar, uçucu yağların farklı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Bazı türler test edilen konsantrasyonların hiçbirinden etkilenmemiştir. Mayalar ve bakteriler arasında en duyarlı mikroorganizmaların *Clostridium tyrobutyricum*, *Bacillus licheniformis* ve *Bifidobactenum dentium* olduğu bulunmuştur. Test edilen yağlar, *Bacillus, Brevibacillus* ve *Lactobacillus* cinslerinin çoğu türüne karşı zayıf aktivite sergilemiştir.

Salgueiro vd., (2004), yaptıkları bu çalışmada, *T. capitata* uçucu yağının *Candida, Aspergillus* ve dermatofit suşları üzerindeki bileşimi ve antifungal aktivitesi araştırmışlardır. Bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen 22 adet uçucu yağ numunesi hidrodistilasyon ile elde edilmiş ve GC ve GC-MS ile analiz edilmiştir. Tüm numunelerin, yüksek oranda karvakrol (%60.0-65.8) ve bunun biyogenetik öncülleri, γ-terpinen (%8.2-%9.5) ve *p*-simen (%6.0-7.5) içeren karvakrol tipinde olduğu belirlenmiştir. *Candida* (7 klinik izolat ve 3 ATCC tipi suş), *Aspergillus* (5 klinik izolat, 2 CECT ve 2 ATCC tipi suş) ve 5 dermatofit klinik suşuna karşı antifungal aktiviteyi değerlendirmek için minimum inhibitör konsantrasyon (MİC) ve minimum letal konsantrasyon (MLC) yöntemleri kullanılmıştır. *Candida* suşları üzerindeki etki mekanizmasını netleştirmek için germ tüpünün inhibisyonu ve propidium iyodür (PI) ile akış sitometrisi analizi kullanılmıştır. Yağ, 0.08 ila 0.32 µL/mL arasında değişen MİK değerleri ile özellikle dermatofitler için test edilen tüm suşlar için antifungal aktivite sergilemiştir. *Candida* ile ilgili olarak, MİK değerlerinden daha düşük konsantrasyonlar germ tüpü oluşumunu engellemiştir. Kısa bir inkübasyon süresinden sonra hücreler hızla PI'ye dahil olmaktadır, bu da mantar öldürücü etkinin esas olarak zarın doğrudan lezyonundan kaynaklandığı anlamına gelmektedir.

Baydar vd., (2004), yaptıkları bu çalışmada, dört Lamiaceae türünün (*O. minutiflorum, O. onites, T. spicata* ve *S. cuneifolia*) toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi ve antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. GC ile yapılan analizler sonucundan yağların ana bileşenin karvakrol (*O. onites*'de %86,9, *O. minutiflorum*'da %84,6, *T. spicata*'da %75.5 ve *S. cuneifolia*'da %53.3) olduğu bulunmuştur. Dört uçucu yağın Aeromonas hydrophila, Bacillus amyloliquefaciens*, B. brevis, B. cereus, B. subtilis, C. xerosis, E. faecalis, E. coli, K. pneumoniae, L. monocytogenes, M. luteus, M. smegmatis, P. vulgaris, S. aureus* ve *Yersinia enterocolitica*'ya karşı etkisi kağıt disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Tüm uçucu yağların <1/100 (h/h) konsantrasyonlarında tüm bakterileri inhibe ettiği gözlemlenmiştir. *T. spicata*'nın uçucu yağının en etkili yağ olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, gıda sistemlerinde gıda kaynaklı bakterilerin büyümesini önlemek ve işlenmiş gıdaların raf ömrünü uzatmak için bu dört esansiyel yağın kullanılabileceğini göstermiştir.

Hancı vd., (2003), yaptıkları bu çalışmada, *T. spicata*'nın buhar akış hızının (1.03 ve 0.64 L/h), damıtma süresinin ve partikül boyutunun (0.50, 1.00, 2.05 mm) uçucu yağ verimi ve bileşiklerin ekstraksiyon sırası üzerindeki etkileri incelenmişlerdir. Logaritmik modelin deneysel verilerle uyuştuğunu gözlemlemişlerdir. Buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın bileşimi, öğütmenin verim üzerinde olumsuz bir etkisi olduğu için sadece bütün yapraklar için araştırılmıştır. Elde edilen yağın karvakrol içeriği açısından oldukça zengin olduğu bulunmuştur. Her iki buhar akış hızı için de oksijenli monoterpenler en hızlı şekilde geri kazanılmıştır. 75 dakikalık damıtma için bütün yaprakların (2.05 mm) ve daha yüksek bir buhar akış hızının (1.03 L/saat) kullanılması, en düşük monoterpen hidrokarbon miktarını veren, oksijenli bileşiklerin tam geri kazanımını ve daha kısa sürede en yüksek verimi veren optimum olarak seçilmiştir. Bu optimum koşulda verim %1.57 olmuştur. Uçucu yağ, %53.1 oksijenli bileşikler, %25.7 monoterpen hidrokarbonlar, %4.4 seskiterpenler ve %14.1 *p*-simen içermektedir.

Özel vd., (2003), yaptıkları çalışma ile *T. spicata*'nın yapraklarından elde edilen uçucu yağları subkrirtik su kullanılarak ekstrakte etmişler ve farklı sıcaklıklarda (100, 125, 150 ve 175°C) ekstraksiyon verimlerini araştırmışlardır. *T. spicata*'nın uçucu yağlarının bileşenleri, C18 katı faz ekstraksiyonu ile sulu ekstraktan çıkarılmıştır. Bileşenlerin tanımlanması, GC - TOF/MS kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Uçucu yağ verimleri sırasıyla 100, 125, 150 ve 175°C), basınçlar (20, 60 ve 90 bar) ve akış hızları (1.2 ve 3 ml/min.) için %2.5, %2.7, %3,7, %3.5 olarak bulunmuştur. *T. spicata*'dan elde edilen uçucu yağların subkrirtik su ekstraksiyonu, 30 dakika boyunca 150 ve 60 bar'da en yüksek ekstraksiyon verimini sergilemiştir.

Önen vd., (2002), yaptıkları bu çalımada, bitkisel uçucu yağların tohum çimlenmesi ve yabancı otların fide büyümesi üzerindeki engelleyici etkilerini petri kabı deneyleriyle araştırmışlardır. Uçucu yağlar, Türkiye'nin Tokat bölgesinden toplanan beş farklı bitki türünün (A. *vulgaris*, *M. spicata*, Ocimum basilicum L., *S. officinalis*, *T. spicata*) yaprak ve çiçeklerinden elde edildi. Uçucu yağların biyoherbisidal aktiviteleri, farklı familyalardan sekiz yabani ot türüne (*Agrostemma githago* L., *Amaranthus retroflexus* L., *Cardaria draba* (L.) Desv., *Chenopodium album* L.,

Echinochloa crus-galli (L.) P.B., *Reseda lutea* L., *Rumex crispus* L., *Trifolium pratense* L.) karşı dört konsantrasyonda (2, 5, 10 ve 20 µL) test edilmiştir. Deneylerde kullanılan tüm uçucu yağlar, test edilen yabancı otların tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerinde oldukça fitotoksik olmuştur. Artan uçucu yağ konsantrasyonu ile tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerindeki engelleyici etkilerin arttığı gözlemlenmiştir. 10 ve 20 µl/petri kabı konsantrasyonlarında *A. vulgaris* ve *S. officinalis*'in *R. crispus* üzerinde uçucu yağ uygulamaları haricinde, tohumların çimlenmesi tamamen engellenmiştir. *T. spicata* esansiyel yağı tohum çimlenmesi üzerinde en yüksek inhibitör etkiye sahipken, *S. officinalis* esansiyel yağı 2 ve 5 µL/petri kabı konsantrasyonlarında en az inhibitör etkiye göstermiştir. *S. officinalis* uçucu yağ uygulamalarında diğer uygulamalara göre fideler kısaltılmış ve kalınlaştırılmıştır. Bazı yabancı ot türlerinde *A. vulgaris* esansiyel yağ tedavileri için de benzer semptomlar gözlenmiştir. Uçucu yağların inhibitör etkileri de yabancı ot türlerine göre farklılık göstermiştir. *A. retroflexus*, *E. cruss-galli* ve *R. lutea*'nın bu çalışmada kullanılan diğer yabancı ot türlerine göre uçucu yağlara karşı daha duyarlı olduğu ve *R. cricus*'un daha dirençli olduğu gözlemlenmiştir.

Basim vd., (2000), yaptıkları bu çalışmada, *T. spicata*'nın uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi, ekonomik olarak önemli bazı bitki patojenik bakterilere (*Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michigenensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Agrobacterium tumefaciens* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*) karşı araştırıldı. Farklı dozların hem temas hem de uçucu faz etkileri *in vitro* olarak iki farklı yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Temas etkisinin belirlenmesinde *E. amylovora*, *E. c. carotovora*, *C. m. michigenensis*, *P. s. syringae*, *A. tumefaciens ve X. a. vesicatoria* için uçucu yağın Minimum Bakterisidal Konsantrasyonları sırasıyla (MBC) 276, 413, 405, 344, 328 ve 323 mg/mL olarak bulunmuştur. *E. amylovora* için uçucu yağın uçucu fazının MBC'leri, *E. c. carotovora*, *C.m. michigenensis*, *P. s. syringae*, *A. tumefacians* ve *X. a. vesicatoria* için sırasıyla 51, 563, 91, 684, 98 ve 41 mg/mL hava olarak bulunmuştur. *E. c. carotovora* ve *P. s. syringae* hariç, uçucu faz yağının test bakterileri için daha toksik olduğu belirlenmiştir.

Muller-Riebau vd., (1995), yaptıkları bu çalışmada, Türkiye'nin güneyinde yabani olarak yetişen *T. spicata, S. thymbra, S. fruticosa, L. nobilis, M. pulegium, Inula viscosa, Pimpinella anisum, Eucalyptus camaldulensis* ve *O. minitiflorum* bitkilerinin uçucu yağları GC-FID ile araştırılmış ve 20 bileşen tespit edilmiştir. Başlıca bileşenlerin *γ*-terpinen, *p*-simen, timol ve karvakrol ile 1,8-sineole, pulegone ve anetol olduğu tespit edilmiştir. Biyolojik analizler, toprak kaynaklı bitki hastalıklarına neden olan *Fusarium moniliforme*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* ve *Phytophthora capsici'*ye karşı mantar toksisitesinin, uçucu yağlardaki fenolik fraksiyonun (özellikle timol ve veya karvakrol) farklı konsantrasyonlarından kaynaklandığını göstermiştir.

Ravid vd., (1985), yaptıkları bu çalışmada, İsrail'de yabani olarak yetişen *T. spicata* ve *S. thymbra*'nın uçucu yağlarını GLC ve GC-MS vasıtasıyla araştırmıştır. Yağların ana bileşenleri karvakrol, timol, *γ*-terpinen, *p*-simen olarak bulmuşlardır. On bir monoterpen hidrokarbon, iki seskiterpen hidrokarbon ve dokuz oksijenli monoterpen tanımlamışlardır.

2.2 Bitkilerin Sekonder Metabolitlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Önemli Analitik Teknikler

İnsanlık tarihi boyunca, bitkisel doğal ürünler araştırılmış ve birçok hastalığın tedavisinde kullanılmışlardır. Bu bağlamda en üretken kaynaklar olan tıbbi bitkiler, ilaç keşfi için hedef bileşikler bulmak üzere taranacak yüzlerce molekül içerirler (Huang vd., 2004; McChesney vd., 2007). Genellikle, bir bitki yüzlerce kimyasal bileşen içermesine karşın sadece birkaç bileşeni biyoaktif olur (Li vd., 2011). Bu yüzden, klinik araştırmaların güvenilirlik ve tekrarlanabilirliğinden emin olmak ve farmakolojik fayda ve zarar perspektifinden kalite kontrolü artırmak için, tıbbi bitkilerin bütün biyoaktif bileşenlerinin belirlenip ölçülmesi gereklidir. Halbuki, bitkisel ekstrelerin kompleks ve değişken içerikleri tıbbi bitkilerin kimyasal kompozisyonunun belirlenmesinde kullanılan ayrım ve belirleme yöntemleri için zorluklar oluşturmuştur (Marston ve Hostettmann, 2009; Yılmaz, 2015).

Kromatografi, kompleks karışımlardaki çeşitli maddeleri birbirinden ayırmak için kullanılan önemli bir ayırma yöntemidir. Tüm kromatografik uygulamalarda bir "sabit

faz" ve bir de "hareketli faz" bulunur. Sabit faz katı ve sıvı hareketli faz ise sıvı ve gaz olabilir. Bir karışımdaki maddeler hareketli faz ile sürüklenerek sabit faz üzerinden taşınır. Örnekteki maddelerin sabit faz tarafından tutunma süreleri farklı olduğundan, her bir maddenin sabit faz üzerinde gruplaşarak ilerlemesine yol açar, böylece karışım içindeki maddeleri birbirinden ayırmak ve tanımak mümkün olabilmektedir.

2.2.1 Gaz kromatografisi (GC)

Gaz kromatografisi (GC) uçucu ve ısıya dayanıklı maddelerin analizinde kullanılan bir analitik ayırma yöntemidir. Gaz kromatografisinde, numune buharlaştırılır ve kromatografik kolonun girişine enjekte edilir. Gaz kromatografisinde diğer yöntemlerin aksine gaz fazı maddenin molekülleri ile etkileşmez. Hareketli faz olarak kullanılan gazın (genel olarak helyum, argon ve azot gibi inert gazlar kullanılır) tek işlevi, maddeleri kolon boyunca taşımaktır. Gaz seçimi kullanılan dedektör türüne göre seçilir. Gaz halindeki maddeler uçuculuklarına göre farklı hızlarda ilerleyerek detektöre ulaşırlar. Bitkilerin uçucu (esansiyel) yağlarının kompozisyonu ve yağ asitleri gibi uçucu olmayan bileşenler de türevlendirilerek uçucu hale getirilip Gaz kromatografi yöntemleri ile analiz edilirler.

2.2.2 HPLC teknikleri

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi, İngilizcesi High Performance Liquid Chromatography olan kelimelerin başharfleri kullanılarak HPLC olarak kısaltılmıştır. Yüksek performans; yüksek ayrımı ifade eder. Mobil fazın yüksek basınçla ilerlemesi sağlandığı için de yüksek basınçlı sıvı kromatografi denilmektedir.

Sıvı kromatografisi, numune bileşenlerinin bir sıvı hareketli faz ve bir katı sabit faz (yüksek yüzey alanına sahip küçük gözenekli partiküller içeren) arasında dağıldığı bir ayrım tekniğidir. Gaz kromatografisinin aksine HPLC'de sabit fazla güçlü bir şekilde etkileşen örnek molekülleri kolonda daha uzun süre tutunur ve dolayısıyla daha uzun alıkonma zamanına sahip olurlar. Sıvı kromatografisinde, hareketli faz pompa yardımıyla kolona gönderilir. Numunenin kolona girmesiyle, analitler durgun fazda farklı oranlarda zaman geçirir ve iki faz arasında farklı oranlarda dağılım gösterirler. Kolondan çıkan maddeler dedektöre ulaşır ve bir sinyal üretirler. Oluşan sinyalin

yoğunluğu ve süresi maddenin miktarı ve yapısıyla ilgilidir. Oluşan bu sinyaller bir bilgisayar tarafından kaydedilerek kromatogramlara dönüştürülür (Yılmaz, 2015).

2.2.3 LC-MS teknikleri

Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi (LC-MS) tekniği sıvı kromatografisinin fiziksel ayırma özellikleri ile kütle analizine olanak tanıyan MS teknolojisinin birleşmesiyle oluşan bir tekniktir. Kütle spektrometresi (MS), yapı aydınlatılması, organik, biyoorganik ve organometalik bileşiklerin doğrulanması ve çevre, farmasötik, adli tıp, gıda ve diğer bilimlerde miktarsal analiz için sıklıkla kullanılmaktadır. MS dedektörleri bilinmeyen maddelerin yapısal tayini ve doğrulanması için geniş ölçüde kullanılmaktadır (Chiu ve Muddiman, 2008; Watson ve Sparkman, 2007).

2.2.4 LC-MS/MS (sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometresi)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birleşen LC-MS/MS (üçlü kuadrupol) cihaz sistemleri bitkilerin sekonder metabolitlerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde en çok kullanılan tekniklerdendir. LC-MS cihazı ile HPLC kolonunda belli bir ayrımdan geçen analitlerin ana iyon (parent ion) da denilen moleküler iyonlarını belirleyerek bileşenlerin nicel veya nitel analizleri yapılır. Ancak, birçok fitokimyasal aynı molekül ağırlığına sahip olduğundan LC-MS cihazı tarafından belirlenen m/z oranları da aynı çıkmaktadır. Kromatografik olarak da ayrılamayan bazı moleküllerin tam olarak doğrulanması bu yöntemle mümkün olmamaktadır. Tekli kuadrupol LC-MS sistemine göre daha karmaşık cihaz tasarımlarından olan LC-MS/MS sistemleri bu sorunu ortadan kadırarak molekül ağırlığı ve kromatografik alıkonma zamanı aynı olan moleküllerin dahi nicel ve nitel analizini mümkün kılmaktadır.

2.3 Bitkisel Metabolitler

Bilinen birçok tıbbi biyolojik aktivitenin sorumlusu doğada bulunan tabii bitkilerdir. Şifalı bitkiler, yeni ilaçlar ve sağlık ürünlerinin ana kaynağını oluşturmaktadırlar (Ivanova vd., 2005). Çeşitli aktif fitobileşiklerin, bitkilerden ekstraksiyonu ve karakterizasyonu sonucunda bazı yüksek aktivite gösteren ilaçların ortaya çıkmasına yol açmıştır (Mandal vd., 2007). Birçok kanıt, bitkilerde bulunan sekonder

metabolitlerin insan sağlığı ve beslenmesi konusunda önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Bitkiler canlı organizmalar olduklarından, bu organizmanın yaşaması için gereken madde ve enerjiyi sağlayan kimyasal reaksiyonların tamamı metabolizmayı oluşturur. Bitkiler, genel olarak primer ve sekonder metabolitler olarak sınıflandırılan organik bileşikler sentezlerler. Primer metabolitler, fotosentez, solunum, büyüme ve gelişme ile ilgili temel rolleri olan bileşiklerdir. Bu bileşiklere örnek olarak nükleotitler, aminoasitler, karbonhidratlar ve proteinler verilebilir. Bazı bitkilerde ise beklenmeyen oranlarda yüksek konsantrasyonlarda birikebilen diğer fitokimyasallar ise sekonder metabolitlerdir. Yapısal olarak pek çok farklılıklar gösteren sekonder metabolitler kemotaksonomik çalışmalarda tanısal olabilecek şekilde bitki dünyasında dağılım gösterirler (Croteau vd., 2000; Dewick, 2002). Sekonder metabolitler, biyosentetik kökenleri dikkate alınırsa, fenolik bileşikler, terpenoidler, alkalotidler ve kükürt içeren bileşikler olarak dört ana gruba ayrılırlar (Yılmaz, 2015).

2.3.1 Flavonoidler

Flavonoidler, üçlü karbon köprüsüyle iki aromatik halkanın birleştiği polifenolik bileşiklerdir. Bu bileşikler, bitki dünyasında bulunan fenoliklerin en kalabalık sınıfıdırlar (Harborne, 1993). "Flavonoid" terimi genellikle 15 karbon atomu bulunan, C6-C3-C6 karbon iskeletini içeren geniş bir doğal ürün sınıfını veya özellikle de fenilbenzopiran iskeletine sahip bileşikleri tanımlamada kullanılır.

2.3.2 Fenolik asitler

Fenolik asitler bitki dünyasının ana fenolik sınıflarından biri olup genel olarak hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinnamik asitler olarak iki gruba ayrılırlar.

2.3.2.1 Hidroksibenzoik asitler

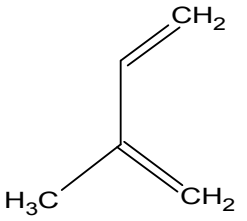
Hidroksibenzoik asitler C6-C1 genel iskelet yapısına sahip olup doğrudan benzoik asitten türemişlerdir. Hidroksibenzoik asit türevi olan bileşikler aromatik halkanın hidroksillenme ve metillenmesi ile farklılık gösterirler. Salisilik, syringic, vanilik, gallik, *p*-hidroksibenzoik, protokateşik, gentisik ve ellagic asitler bitkilerde en çok bulunan hidroksibenzoik asitlerdir (Yang vd., 2001).

2.3.2.2 Hidroksisinnamik asitler

C6-C3 iskelet yapısına sahip olan hidroksisinnamik asitler bitkilerde esterler ve glikozitler gibi birçok konjüge formda bulunurlar. Sinnamik asitler, fenil-propanoidler, kumarinler, lignanlar, izoflavonoidler, stilbenler, auronlar, antosiyanidinler, spermidinler ve tanenlerin üretildiği biyosentetik yolda üretilirler (Vogt 2010). Bu sekonder metabolitler, bitkilerin büyümesi, gelişimi, üremesi ve hastalıklara karşı direncinde anahtar bir fizyolojik rol oynarlar (Ververidis vd., 2007; Solecka, 1997). Hidroksisinnamik asit türevleri arasında *p*-kumarik, ferulik, kafeik, sinapik ve klorojenik asitler doğada en yaygın olanlarıdır.

2.3.3 Terpenler

Terpenler, bir diğer adıyla izoprenoidler, en çok farklılık gösteren bitkisel metabolitler olup bitkilerde oldukça yaygındır. Terpen bileşikleri, bitki dokularında çoğunlukla serbest halde, glikozitli yapıda, organik esterleri halinde veya proteinlerle birleşmiş olarak bulunurlar (Sönmez, 1995). İzopren molekülünün kondensasyonu ile terpen bileşikleri oluşur. Şekil 2.8, izoprenoid molekülünün yapısını ve karbon sayısına göre terpenlerin sınıflandırılmasını göstermektedir.



İzopren Molekülü
(C_5H_8)

Şekil 2.8 İzoprenoid molekülünün yapısı ve karbon sayısına göre terpenlerin sınıflandırılması

Terpenleri fiziksel özelliklerine göre iki sınıfa ayırabiliriz:

1. Uçucu Terpenler: Uçucu yağlar olarak da bilinen ve su buharıyla sürüklenebilen küçük moleküllü terpenlerdir.

2. **Uçucu Olmayan Terpenler:** Daha büyük moleküllere sahip olan bazı seskiterpenler, diterpenler, sesterterpenler, triterpenler vb.

2.3.4 Yağ asitleri

Yağ asitleri yapısal olarak uzun zincirli karboksilik asitlerdir. Yağ asitleri birbirinden farklı zincir uzunluğu, taşıdıkları tek veya çift bağ sayısı ve doymamışlık derecesine göre ayrılırlar. Yağların en önemli yapı taşı olan yağ asitlerinin çoğu 4-24 karbon zinciri arasında dağılım gösterirler. Yağ asitleri biyolojik membranların önemli yapı taşı olan glikolipit ve fosfolipidlerin yapısında bulunur.

Yağ asitleri doymuş ve doymamış yağ asitleri olmak üzere ikiye ayrılırlar. Uzun hidrokarbon kuyruğuna sahip olan ve tek bağ içeren yağ asitleri doymuş yağ asitleridir. Doymamış yağ asitleri ise yapılarında bir ya da birden fazla çift bağ ihtiva ederler. Genel olarak tabiatta doymamış yağ asitleri doymuşlara oranla iki kat daha fazla bulunur. Doymamış yağ asitleri yapılarında bir tane çift bağ ihtiva ederse tekli doymamış yağ asidi, birden fazla çift bağ ihtiva ederse çoklu doymamış yağ asidi adı verilir. Doymamış yağ asitlerinin çift bağ işaretinin yeri "n", "delta" ve "omega" işaretlerinden herhangi biri ile gösterilebilir. Doğal yağlarda çift bağ metil grubundan başlamak üzere çoğunlukla 3. ya da 6. karbon atomundan sonra meydana gelir ve bu yağ asitleri omega-3 ya da omega-6 olarak isimlendirilir (Horton vd., 1993). Bitkisel yağlarda bulunan en önemli doymuş yağ asidi palmitik (C16:0) ve stearik asittir (C18:0).

2.4 Biyolojik Aktiviteler

2.4.1 Antioksidanlar

Vücudumuzdaki ve besinlerdeki lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve oksidasyona uğrayabilir ve canlı organizma için zararlı olabilecek oksidasyon ürünleri oluşturabilirler (Papas 1996). Bu durum yaygın olarak “Oksidatif Stres” şeklinde ifade edilir. Serbest radikaller tarafından oluşturulabilecek oksidatif stresi bertaraf etmek için antioksidanlar oldukça önem arzetmektedirler. Antioksidanlar serbest radikalleri temizleyebilen ve hücre hasarını engelleyebilen maddelerdir. Antioksidanlar dört farklı mekanizmayla etki gösterebilirler:

- Temizleyici: Serbest radikalleri etkileyip tutan veya daha zayıf bir moleküle çeviren başka bir deyişle "toplayıcı" etki gösteren antioksidanlardır.
- Bastırıcı etki: Serbest radikallerle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma yani bastırma şeklinde etki gösterirler.
- Onarıcı etki: Serbest radikallerin neden olduğu hasarı onararak etki gösterirler.
- Zincir kırıcı etki: Serbest radikalleri kendilerine bağlayarak zincir tepkimelerini kırıp fonksiyonlarını engelleme şeklinde etki gösterirler.

Antioksidanlar, sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin yanı sıra, gıdanın hava, ışık ve sıcaklık gibi çevresel faktörlere maruz kalması sonucunda oluşan serbest radikallerle başlayan oksidasyonu önlemek ve geciktirmek amacıyla gıdalara eklenmektedirler (Hras vd., 2000). Antioksidanlar doğal antioksidanlar ve sentetik antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Doğal kaynaklı antioksidanlar, bitkilerde bulunan fenolik bileşikler (tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler), azotlu bileşikler (alkaloitler, klorofil türevleri, proteinler, aminler), organik asitler ve karotenoitlerdir (Larson, 1988, Hudson, 1990). Sistein, metiyonin, histidin, triptofan ve lizin (Taylor vd Richardsoni, 1980) gibi aminoasitler ile sülfürlerce zengin olan tiyoredoksin (Buchanan vd., 1994) proteini de antioksidan özellik gösterirler.

Sentetik antioksidanlar ise genel olarak gıdaların bozunmasını önlemek ve raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadırlar. Günümüzde yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanlar bütillenmiş hidroksi tolüen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), tersiyer butil hidrokinon (TBHQ) ve PG (propil gallat) tır. Ancak sentetik antioksidanlar ve oluşturdukları yan ürünlerin çeşitli hastalıklara yol açabileceğini ortaya koyan çalışmalar vardır (Tepe vd., 2007; Yamazaki vd., 2007). Bu nedenle doğal kaynaklardan, sentetik antioksidanların yerini tutabilecek yeni antioksidan maddelerin bulunmasına yönelik çalışmalar giderek önem kazanmış ve bu alanda yapılan araştırmalar artmıştır.

2.4.1.1 Antioksidan aktivite tayin yöntemleri

Antioksidan aktivitenin tayin edilmesi amacıyla kullanılan yöntemlerden bazıları şunlardır:

- CUPRAC (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi (Apak vd., 2004).
- FRAP (Demir (III) iyonu indirgeme antioksidan gücü) yöntemi (Benzie ve Strain, 1996).
- Folin Ciocalteu yötemi (Singleton vd., 1999).
- TRAP (Toplam radikal tutma parametresi) yöntemi (Wayner vd., 1985).
- Luminol yöntemi (Whitehead vd., 1992).
- DCFH-DA (Diklorofloresin-diasetat) yöntemi (Valkonen ve Kuusi, 1997).
- Fikoeritrin (PE) esaslı yöntemler (Ghiselli vd., 1995).
- Krosin yöntemi (Tubaro vd., 1998).
- DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi (Blois, 1958).
- ORAC (Oksijen radikal absorbans kapasitesi) yöntemi (Prior ve Cao, 1999).
- TOSC (Toplam oksiradikal süpürme kapasitesi) yöntemi (Winston vd., 1998).
- Siklik voltametri yöntemi (Kohen vd., 1999).
- β-Karoten renk açılım yöntemi (Miller, 1971).
- Süperoksit anyon radikali giderim aktivitesi yöntemi (Liu vd., 1997).
- ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi (Re vd., 1999).
- Metal bağlama yöntemi (Dinis vd., 1994).

2.5 Antikolinesteraz Enzim Aktivitesi

2.5.1 Alzheimer Hastalığı

Alman psikiyatrist Aloist Alzheimer tarafından 1906 yılında tanımlanmış olan Alzheimer hastalığı (AH), yaşlılardaki primer dejeneratif demansın en sık görülen formudur. Demans, bilinci açık bir insanın günlük yaşamını etkileyecek derecede zihinsel ve sosyal uyum yeteneğinin azalması durumudur (Karaman, 2002). Alzheimer merkezi sinir sisteminin bazı kısımlarında nöron ve sinaps kaybıyla ortaya çıkan; bilişsel işlevlerde azalma, öz bakım yetersizlikleri, nöropsikiyatrik ve davranışsal

bozukluklar gibi belirtiler gösteren progresif nörodejeneratif bir hastalıktır (Gilman, 1997; Lleó vd., 2006).

Asetilkolin (ACh) beyinin bellek ile ilgili bölgelerinde önemli bir nörotransmiterdir Alzheimer hastalığında ACh azalması bellek bozukluğu ile ilişkilidir. Alzheimer hastalığında temel sorun kolinerjik sistemdeki azalma ve glutamat toksisite artışı sonucunda nöron kaybı oluşmasıdır. Alzheimer hastalığında meydana gelen kolinerjik kaybın, depresyon, ajitasyon, anksiyete, psikoz gibi çeşitli davranışsal ve psikiyatrik belirtilerin hastalarda gözlenmesine neden olduğu belirtilmiştir.

2.5.2 Asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) inhibitörleri

Normal erişkin beyninde AChE yaygın olarak bulunurken, BChE sınırlı miktarlarda bulunmaktadır (Appleyard, 1992). Asetilkolinesteraz enzimi uyarılabilen tüm dokularda bulunurken, butirilkolinesteraz enzimi ise merkezi ve periferal sinir sistemi, karaciğer ve plazmada bulunmaktadır (Hartman, 2010).

Kolinesteraz inhibitörlerinin Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanımı ilk olarak Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (US Food and Drug Administration, FDA) tarafından kanıtlanmıştır. Alzheimer hastalarındaki tedavi edici etkileri 6 ile 36 hafta arasındaki tedavi süresince incelenmiş ve bilişsel fonksiyonlarındaki artış gözlenmiştir (Mohs vd., 2001; Raskind vd., 2004).

2.6 Üreaz Enzim Aktivitesi

Üreaz enzimi (Üre amidohidrolaz; E.C. 3.5.1.5.), hidrolaz kategorisine giren, üreyi karbon dioksit ve amonyuma normal reaksiyonlara göre 1014 kat daha hızlı kataliz eden bir enzimdir (Hirayama vd., 2000; Kayastha vd., 1999).

Üreazın işlevi *in vivo* ve ortamlarda oluşan üreyi hidroliz etmek ve oluşan ürünleri azot kaynağı olarak organizmanın kullanmına sunmaktır. Bu ürünlerden biri olan amonyum iyonu bitkiler ve toprak mikroorganizmaları tarafından alıkonup kullanılır (Mobley ve Hausinger, 1989).

2.7 Tirozinaz Enzim Aktivitesi

Tirozinaz, melanositlerdeki melanini biyosentetik yolunda üç farklı reaksiyonla kataliz etmektedir. Birinci yol; L-DOPA'nın dopakinon'a oksidasyonu. İkinci yol; tirozinin L-DOPA'ya hidroksilasyonu. Bunlara ek olarak üçüncü yol ise, insanlarda siklizasyon, dopakinonun ve oksidatif polimerizasyonu da içeren bir seri kompleks reaksiyonla melaninine dönüşmesidir (Sugumaran, 1991).

Anormal melanin pigmenti üretimi insanlarda çok ciddi bir estetik sorundur. Genel itibariyle orta ve ileriki yaşlarda sık bir şekilde rastlanır (Kalka vd., 2000). Kozmetik olarak mühimdir ve özellikle yumuşak derinin iyi olduğunun bir işareti olarak değerlendirildiği kültürlerde veya fiziksel güzelliğe oldukça önem verilen kültürlerde hem hayat kalitesini hem de görünüşü düşürmektedir (Mantle vd., 2001). Eksojen sebepler özellikle ultraviyole ışığa maruz kalma melasma, çil vesolar lentigines gibi pigmental anormalliklerin yaygın sebebidir (Maeda ve Fukuda, 1991). Bazı kimyasallara ve ilaçlara maruz kalmanın yanı sıra belirli hastalıkların varlığı da hiperpigmentasyonla sonuçlanmaktadır. Depigmente edici ajanlar genel itibariyle hiperpigmentasyon bozuklukların giderilebilmesi için reçetelenmektedir (Kubo, 1992).

2.8 Elastaz Enzim Aktivitesi

Elastaz, peptit bağlarını parçalayan hidrolazları içeren serin proteaz ailesine ait bir enzimdir. Bir glikoproteindir ve polipeptit zinciri 218 amino asitten oluşmaktadır (Kacem, 2011).

İnsan derisinde iki tip elastaz mevcuttur; nötrofil elastaz ve deri fibroblast elastaz. Her ikisi de kırışıklık oluşumuyla bağlantılı yaylı liflerin bozulmasından esas olarak sorumludur. Deride UV radyasyonuna maruz kalma, reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu hızlandırmaktadır ve bu durum antioksidan savunma mekanizmalarını bastırarak, derideki proteinlerin ve diğer makromoleküllerin oksidatif stres ve oksidatif fotohasarıyla sonuçlanmaktadır. ROT, elastazların aşırı üretimine, kolajenin azalmasına ve dejenerasyonuna ve UV ışınlarının neden olduğu glikozaminoglikanların birikmesine yol açar ve elastik lif ağını etkiler. Ciltte bu tür bir tahribat, kırışma ve sarkmalara sebep olmaktadır (Roy vd., 2013). Bu sebeple elastaz

aktivitesinin inhibisyonu cilt yaşlanmasına karşı korunmada etkili bir yöntem olarak kullanılabilmektedir (Xu vd., 2010).

2.9 Kollajenaz Enzim Aktivitesi

Kollajen, laninin ve fibronektin gibi matriks proteinlerinin metalloproteazlar ve serin proteazlar tarafından yıkılması hücre göçünü kolaylaştırmaktadır. Kollajenaz da bu enzimlerden biridir (Moon vd., 2010). Bu enzimler dokunun yeniden yapılanması, dokuların ve sistemlerin normal yapılanışı, yara iyileşmesi ve normal gelişimsel süreç gibi fizyolojik durumlarda önemli bir rol oynadıkları gibi tümör hücrelerinin çevre dokulara yayılma ve işlevini bozma gibi patolojik süreçlerde de yer almaktadırlar (Visse ve Nagase, 2003).

2.10 Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim Aktivitesi

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE), renin-anjiyotensin sisteminin (RAS) önemli bir bileşenidir ve anjiyotensin I'i anjiyotensin II'ye dönüştürerek kan damarlarının daralmasına neden olarak dolaşım homeostazında kritik bir rol oynamaktadır. Bu enzim ayrıca glikoz metabolizmasında kas hücreleri tarafından glikoz alımını indükleyen bradikinin tarafından düzenlenmektedir. Ek olarak, farklı dokulardaki lokal RAS'lar, akciğer ve iskelet kasları dahil olmak üzere çeşitli dokularda hücre büyümesini desteklemektedir (Puthucheary vd., 2011). ACE inhibitörleri, hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıkların tedavisi için farmasötik ilaçlar olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Fuku vd., 2019).

2.11 Antimikrobiyal Aktivite

Günümüzde, çoklu direnç gösteren bakterilerle ilişkili tedavi başarısızlıkları insan sağlığı açısından küresel endişeye neden olmuştur (Guschin vd., 2015, Martin vd., 2015). Bu sebeple, yeni antibiyotiklerin keşfedilmesi önemli bir bulgudur. Bitkiler, çeşitli hayvan organizmaları, prokaryotik bakteriler ve ökaryotik mikroorganizmalardan üretilen doğal kaynaklı ürünler günümüzde yeni ilaç moleküllerinin ana kaynakları olmaya devam etmektedir.

Bitkiler ve diğer doğal kaynaklar, çok çeşitli kompleks ve yapısal olarak farklı bileşikler ihtiva ederler. Son zamanlarda, birçok araştırmacı bitki ve mikrobiyal

ekstraktları, uçucu yağlar, saf sekonder metabolitler ve potansiyel antimikrobiyal ajanlar olarak yeni sentezlenen moleküllerin araştırılmasına odaklanmıştır (Mabona vd., 2013; Nazzaro vd., 2013; Runyoro vd., 2006).

İn vitro antimikrobiyal aktiviteyi belirlemede birçok yöntem kullanılmaktadır. Bunların başlıcaları agar disk difüzyon ve broth dilüsyon yöntemleridir. Agar disk difüzyon metotunda agar içeren petri kapları standardize edilmiş sayıda mikroorganizma içeren inokulum ile aşılanır. Ardından test bileşiğinin farklı konsantrasyonlarını içere kağıt diskler (yaklaşık 6 mm çapında) petrilere yerleştirilir. Uygun sıcaklık ve sürede inkübasyon sonrasında diskler etrafında oluşan inhibisyon zonu antimikrobiyal aktiviteyi ifade eder. Genel olarak antimikrobiyal ajan ağara difüze olur ve test mikroorganizmasının çimlenmesini ve büyümesini engeller.

Dilüsyon metotları minimal inhibitör konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesinde en uygun yöntemdir. MİK değeri antimikrobiyal ajanın gözle görünür üremeyi inhibe ettiği en düşük değer olarak ifade edilir ve sonuçlar µg/ mL veya mg/l şeklinde belirlenir. Minimal bakterisidal konsantrasyon (MBK) ise antimikrobiyal ajanın test mikroorganizmasının %99.9'unu öldürdüğü konsantrasyon olarak tanımlanır. Broth dilüsyon yöntemi (makrodilüsyon, mikrodilüsyon) en temel antimikrobiyal testlerindendir. Bu yöntemde antimikrobiyal ajanın seri dilüsyonları (örneğin; 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 µg/ml) sıvı besiyeri içeren tüplerde hazırlanır. Tüplerin içerdiği sıvı besiyeri miktarı minumum 2 mL (makrodilüsyon) veya 96 kuyucuklu mikroplateler kullanılarak daha düşük miktarda (mikrodilüsyon) olabilir. Ardından her tüp 0.5 McFarland turbilitesine eşitlenmiş mikrobiyal inokulum ile aşılanır. Uygun sıcaklık ve sürede inkübasyon sonrasında değerlendirme yapılır (Algan, 2019).
Yukarıda bahsettiğimiz testler dışında;

- Antimikrobiyal gradyan yöntemi (Etest)
- Agar kuyucuk yöntemi
- İnce tabaka kromatografi (İTK)-biyootografi
- ATP biyoluminesans yöntemi
- Akış sitoflorometri yöntemi gibi yöntemler de kullanılmaktadır

2.12 Sitotoksik Aktivite

2.12.1 Kanser

Kanser önemi giderek artan bir sağlık ve yaşam sorunu durumundadır. Ölüm nedeni olarak, kalp ve damar hastalıklarının hemen ardından gelmektedir. Dünyada yaklaşık her yıl 7 milyon insan kansere yakalanmakta ve 5 milyon insan kanser nedeniyle yaşamını yitirmektedir. Türkiye'de ise her yıl 150 bin kişi kansere yakalanmakta ve yaklaşık 400 bin insan da kanserle yaşamaktadır (Tuncer, 2007). Dünyada ölüm nedenleri içinde ikinci sırada olan kanserin 2030 yılında hızla artarak ölüm nedenleri arasında birinci sıraya yükselmesi öngörülmektedir (Tuncer, 2007). Ülkemiz istatistiklerinde ise bu oran %38 kalp damar hastalıkları ve %29 kanser hastalıkları ile ölümler seyretmektedir. Kadınlarda en sık görülen kanser hastalıkları başta meme kanseri olmak üzere, akciğer, uterus ve kolon kanserleri takip etmektedir. Erkeklerde ise en sık görülen kanser türleri başta akciğer kanseri olmak üzere, prostat, mide ve kolon kanserleri takip etmektedir (Tuncer vd., 1994). Günümüzde çoğu kanser çeşidinin kesin tedavisi sadece erken teşhis ile sağlanabilmektedir. Sıklıkla uygulanan tedavi yöntemleri cerrahi, kemoterapi ve radyoterapidir.

Tüm dünyada bir yandan kanser ve benzeri hastalıkların artması, öte yandan insanların eğitim seviyesinin yükselmesi, internet ve medya sayesinde sağlıklı beslenme ve dolayısıyla antioksidan ve antikanser bileşikler ve fonksiyonel gıdalara (nutraceuticals) olan ilgi artmıştır. Bu nedenlerle hem koruyucu olarak, hem de hastalıklarla mücadele etmede ve/veya özellikle yaşlı nüfusun yaşam kalitesini arttırabilmek için kullanılacak olan gıda tamamlayıcısı veya hazır gıdalara konan gıda koruyucularının yanı sıra kanser ve yaşlanmayla ilgili rahatsızlıklarda kullanılacak olan ilaçlar için doğal ürünlere olan ilgi çok fazladır (Atta-Urrahman ve Choudhary 2001, Mukherjee vd., 2007). Bu ilgi konuya uzak bilim adamlarının zannetiğinin aksine Amerika, Almanya, Japonya ve Kanada gibi gelişmiş ülkelerde çok daha da fazladır. Dolayısıyla dünyada bu konularla ilgili araştırmalar hızla sürmektedir.

2.12.2 MTT ve sitotoksik aktivite

Hücre kültürü, çok hücreli organizmalara ait hücrelerin, laboratuvar ortamında özel olarak tasarlanmış kaplarda, ısı, nem, besin gibi ortam şartlarının kontrol edilerek kontaminasyondan uzak bir şekilde yaşatılmasıdır. Hücre kültürünün sıkça tercih

edildiği alanlar kanser, aşı çalışmaları, ilaç geliştirilmesi ve *in vitro* sitotoksisite çalışmalarıdır (Gilbert ve Boutros, 2016). Sitotoksisite, hücre ölümüne neden olan anlamına gelmektedir. Sitotoksisite araştırmaları, bir maddenin sitotoksik potansiyelinin olup olmadığının belirlenmesi amacıyla yapılır. Hücre temelli sitotoksisite çalışmaları, gerek uygulama kolaylığı, gerekse *in vivo* çalışmalardan elde edilen verilerle uyum göstermesi nedeniyle, hayvan deneylerine alternatif olarak doğmuş ve toksikoloji laboratuvarlarında sıkça tercih edilir hale gelmiştir (Riss ve Moravec, 2004). Sitotoksisite, incelenen maddenin dozuna ve maruziyet süresine bağlı olarak hücrelere değişik derecelerde zarar veren bir olaydır. Hücreler, sitotoksik maddeye maruz kalırsa apoptoz, otofaji ve nekroz gibi olaylar sonucu ölebilir ya da sitostazis nedeniyle proliferasyon özelliklerini kaybedebilirler (Galluzzi vd., 2009). Hücre bazlı sitotoksisite çalışmaları ile test edilen maddenin sitostatik ve sitotoksik etkileri hakkında temel bilgi edinilir (Riss ve Moravec, 2004). Deneysel olarak kimyasal, biyolojik ya da fiziksel etkenlere maruz bırakılan hücrelerin, maruziyet sonrasındaki canlılıklarının belirlenmesi, bu çalışmaların önemli bir basamağıdır. Hücre canlılığının belirlenmesi için uygulanan çok sayıda test vardır. Yapılan sitotoksisite çalışmasının tipi ne olursa olsun, önemli olan çalışma sonundaki canlı/ölü hücre miktarının belirlenmesidir (Riss ve Moravec, 2004). Sitotoksisite belirleme metodları genel olarak kolorimetrik, lüminesans ve enzimatik yöntemlerdir. Kolorimetrik metodlarda, 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür (MTT), 3-(4,5- dimetiltiyazol-2-yl)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4- sülfofenil)-2H-tetrazolyum (MTS), 2,3-bis-(2- metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid (XTT), 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)- 5-(2,4-disülfofenil)-2H-tetrazolyum (WST) gibi tetrazolyum tuzları kullanılarak renk değişikliği ya da kristal viyolet, nötral kırmızısı gibi boya maddeleri kullanılarak hücrelerin spesifik boyanması esasına dayalı ölçüm yapılır (Borenfreund ve Puerner, 1985).

2.13 Nanopartikül

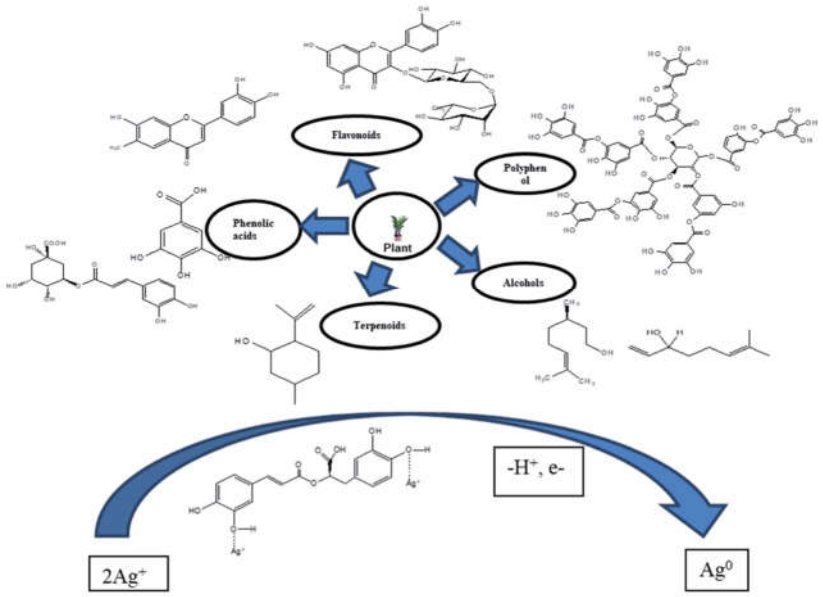
Nanoteknoloji, nano ölçekte şekil ve boyutu kontrol ederek yapıların üretimi, tasviri, manipülasyonu ve uygulanması için kullanılan terimdir (Sarsar vd., 2013). Nanoteknoloji günümüzde en dinamik araştırma alanıdır ve nanoparçacıkların (NP'ler) sentezi dünya çapında önemli ölçüde artmaktadır. NP'ler boyut (1-100 nm), şekil ve

yapıları dikkate alınarak tamamen yeni veya geliştirilmiş özellikler göstermektedir (Jahn, 1999; Slawson vd., 1992,) ve genel olarak inorganik ve organik NP'ler olarak kategorize edilebilirler. İnorganik NP'ler yarı iletken NP'leri (ZnO, ZnS, CdS gibi), metalik NP'leri (Au, Ag, Cu, Al gibi) ve manyetik NP'leri (Co, Fe, Ni gibi) içerirken, organik NP'ler karbon NP'leri (fullerenler, karbon nanotüpler gibi) içermektedir. Altın ve Ag (soy metal) NP'ler sahip oldukları esneklikle üstün özellikler sağladıkları için yoğun ilgi görmektedir (Vadlapudi ve Kaladhar, 2014). AgNP'ler, aynı kimyasal bileşime sahip daha büyük partiküllerle karşılaştırıldığında kayda değer biyokimyasal reaktivite, katalitik aktivite ve atomik davranış ile sonuçlanan önemli bir yüzey alanına sahiptir (Xu vd., 2006). Ag-NP'lerin oluşumu, kataliz, plazmonik, optoelektronik, biyolojik sensörler, antimikrobiyal aktiviteler, DNA dizilimi, yüzeyle güçlendirilmiş raman saçılımı (SERS), iklim değişikliği ve kontaminasyon kontrolü, enerji üretimi, bilgi depolama ve biyomedikal uygulamalar, temiz su teknolojisindeki potansiyel uygulamaları nedeniyle büyük ilgi görmüştür (Rafique vd., 2017).

NP'ler kimyasal yöntemler, fiziksel yöntemler ve biyolojik yöntemler kullanılarak sentezlenebilir (Chaudhuri ve Chandela 2016). Yukarıdan aşağıya (fiziksel) yaklaşımda, AgNP'ler, termal ayrıştırma, ışınlama, lazer ablasyon, ark deşarjı vb. gibi farklı yöntem ve teknikler kullanılarak dökme malzemelerinden elde edilmektedir. Aşağıdan yukarıya (kimyasal ve biyolojik) yaklaşımda ise AgNP'ler, istenen şekil ve büyüklükte AgNP'ler oluşturmak üzere tepki veren temel yapı taşlarından elde edilmektedir. Genel olarak, AgNP'lerin kimyasal sentezinde üç ana bileşen kullanılmaktadır: (i) metal öncüleri, (ii) indirgeyici ajanlar ve (iii) stabilize edici/kapatıcı ajanlar (Natsuki vd., 2015). Kimyasal ve fiziksel yöntemler toksik kimyasalların kapsamlı kullanımı, sürecin çevre dostu olmayan doğası, karmaşık enstrümantasyon için yüksek enerji girdisi gerektiren pahalı kimyasallara ihtiyaç duyar ve ayrıca, insanlar için dayanılmaz toksisite üretebilecek yüzeyde adsorbe edilmiş bazı toksik kimyasalların ortaya çıkması ve biyomedikal uygulamalarda olumsuz etkilerin oluşmasına sebep olmaktadırlar (Verma vd., 2015). Kimyasal yöntem, çoğunlukla toksik, yanıcı olan, çevresel sorunlar, düşük malzeme dönüşümleri ve yüksek enerji gereksinimleri nedeniyle kolayca atılamayan kimyasal indirgeyici, kapatıcı ve stabilize edici maddeleri gerektirmektedir (Thakkar vd., 2016).

Biyolojik sentez sürecinde mayalar, algler, mantarlar, bitkiler ve mikro organizmalar gibi doğal özler kullanılmaktadır (Velgosova vd., 2016). Son zamanlarda bitki özlerini kullanan biyosentez yöntemi, Ag^{+} iyonlarını AgNP'lere indirgeyen, aynı zamanda onları kaplayan, aglomerasyonu önleyen ve toksisiteyi azaltan çeşitli metabolitlerin mevcudiyeti nedeniyle dünya çapında geniş ilgi görmüştür (Chaudhuri ve Malodia, 2017). Bitki aracılı sentez, herhangi bir zararlı kimyasalın katılımı olmadan gerçekleştiği için yeşil sentez olarak bilinir (Philip, 2011). Ayrıca, mikroorganizma temelli biyosentezin de indirgeyici biyomoleküllere sahip olduğu ve doğada çevre dostu olduğu, ancak yavaş sentez hızı ve çok meşakkatli parametreler nedeniyle mikroorganizmalardan NP sentezlemenin zor olması gibi bazı sınırlamalara sahip olduğu araştırılmıştır (Kotthaus vd., 1997; Li vd., 2007; Shi vd., 2013; Tseng vd., 2005; Zhang ve Wang, 2003). Ayrıca, bu tür sentez, bitki aracılı bir sentezin aksine, AgNP'lerin şekil ve boyutlarında daha az çeşitlilik sergiler (Raj ve Jayalakshmy, 2015). Yeşil sentez, dayanıklı bir yaklaşım, daha hızlı sentez oranı, çevre dostu olma, maliyet etkinliği ve büyük ölçekli üretim ve şekil-boyut çeşitliliği gibi içsel nitelikleri nedeniyle diğer yöntemlere göre üstündür (Ijaz vd., 2021).

AgNP'lerin biyolojik sentezi sırasında, bitkilerin içeriğinde bulunan polisakkaritler, polifenolik bileşikler, vitaminler, amidler, alkaloidler, terpenoidler, tanen, organik asitler ve aromatik dikarboksilik asitler gibi fitokimyasal bileşikler sayesinde Ag^{+}' Ag^{0}'a indirgenmektedir (Şekil 2.9) (El-Seedi vd., 2019; Heinlaan vd., 2008; Qu vd., 2011).



Şekil 2.9 Ag^{+}'nın Ag^{0} bitkisel kaynaklı indirgeyiciler vasıtasıyla olası indirgenme mekanizması.

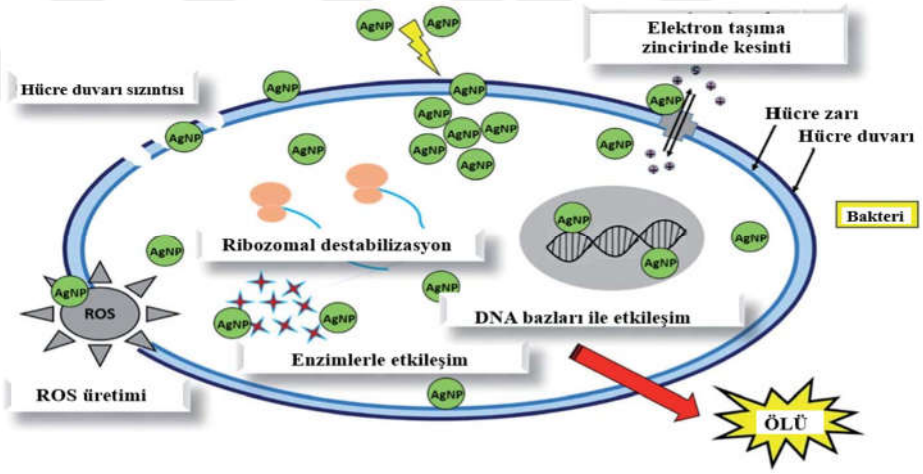
AgNP'leri yeşil sentez yöntemiyle hazırlamak için solvent ortamı, çevre ve stabilite malzemesi gibi farklı faktörler söz konusudur. AgNP'lerin biyojenik sentezi ucuzdur, daha az toksiktir, daha kararlıdır, çevre dostudur ve bu sentez yöntemi çok basit, hızlı ve ayrıca doğal stabilize edici ajanların varlığından dolayı tek adımlıdır (Kumar ve Yadav, 2009; Raveendran vd., 2003). Nano boyutlu bir parçacık oluşturmak için gümüş iyonu indirgeme, aglomerasyon ve stabilizasyonu gösteren şematik bir diyagram Şekil 2.10'da gösterilmektedir.



Şekil 2.10 AgNPs sentez mekanizması

Yapılan çalışmalar sonucunda algler, briyofitler, pteridofitler, gymnospermler ve biyopolimer kaynaklardan sentezlenen AgNP'lerin boyut aralığının 50 nm'nin altında olduğu ve anjiyospermler, algler ve bakteri kaynaklarından sentezlenen AgNP'lerin boyut aralığının 100 nm ve üzerinde olduğu bulunmuştur (Srikar vd., 2016).

AgNP'lerin boyutu ne kadar küçükse, bakteri membranına daha büyük bir yüzey sağladığı için bakterisidal aktivitenin o kadar büyük olduğu bildirilmektedir. Pozitif yüklü Ag iyonu ile negatif yüklü hücre zarı arasındaki etkileşim, hücre morfolojisinin bozulmasına ve dolayısıyla hücre sızıntısına neden olarak hücre ölümüyle sonuçlanmaktadır. AgNP'ler ayrıca hücre dışı ve hücre içi zar proteinlerinin fosfor ve kükürtüne güçlü bir şekilde bağlanır ve böylece hücre replikasyonunu, solunumunu ve nihayetinde hücrenin ömrünü etkiler. Bunun dışında AgNP'ler ayrıca membran proteininin tiyol ve amino gruplarıyla da bağlanabilir ve hücre solunumunu engelleyen reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna yol açar. AgNP'lerin mükemmel bakterisidal aktivitesi, bakteri suşunun plazma zarı ve peptidoglikan hücre duvarı ile etkileşime atfedilebilir (Sondi ve Salopek-Sondi, 2004). AgNP'lerin hücre duvarı ile etkileşiminin, gözenekler veya çukurlar oluşturarak membran geçirgenliğini arttırdığı ve böylece bakterilerin ölümüne neden olduğu öne sürülmüştür (Şekil 2.11) (Morones vd., 2005; Yu ve Yam, 2004)



Şekil 2.11 AgNP'lerin bakterisidal aktivitesi için olası mekanizma (Vanlalveni vd., 2011)

AgNP'lerin çeşitli mantarlara karşı antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir (Bankar vd., 2010; Raut vd., 2014). AgNP'lerin *C. albanicans* türlerin üzerinde membran bütünlüğünü bozarak hücre zarının yapısını bozmakta ve dolayısıyla tomurcuklanma sürecini engelleyerek antifungal etki göstermektedir (Kim vd., 2009). Ayrıca yapılan çalışmalar AgNP'lerin şeklinin, anti-fungal aktivite üzerinde önemli bir etkiyesahip olduğunu göstermiştir (Rai vd., 2012).

AgNP'lerin dang vektörü *Aedes aegypt* ve *Culex quinquefasciatus*, filariasis vektörü *C. quinquefasciatus* ve sıtma vektörü *A. subpictus, A. aegypti, A. subpictu* ve diğer parazitlere karşı etkili larva öldürücü ajanlar olduğu bulunmuştur (Kumar ve Yadav, 2011; Marimuthu vd., 2011; Mondal vd., 2014; Rajakumar ve Rahuman, 2011; Santoshkumar vd., 2011; Suresh vd., 2014). AgNP'ler tarafından kükürt içeren proteinlerin ve fosfor içeren DNA'nın denatürasyonunun, organellerin ve enzimlerin denatürasyonuna yol açmasının larvisidal aktiviteden sorumlu olduğuna inanılmaktadır (Gnanadesigan vd., 2010).

Rhizopus oryzae mantar türlerinden sentezlenen AgNP'ler, kirlenmiş suyun arıtılması ve pestisitlerin adsorpsiyonu için ve *Lactobacillus fermentum* hücrelerinden elde edilenler, anti-biyo kirlenme maddesi olarak kullanılmıştır (Das vd., 2012; Zhang vd., 2014). AgNP'lerden, hava dezenfeksiyonu, su dezenfeksiyonu, yeraltı suyu, biyolojik su dezenfeksiyonu ve yüzey dezenfeksiyonu gibi birçok çevresel sorunu gidermek etmek için yararlanılmaktadır (Tran vd., 2013). Ayrıca AgNP'lerin tıp alanında kullanımına ilişkin birkaç rapor bulunmaktadır. AgNP'ler terapötik ajanlar, hastalık teşhisi için glikonano sensörleri ve ilaç dağıtımı için nano taşıyıcılar olarak kullanılmıştır. AgNP'lerin radyasyon terapisinde, H_2O_2 sensöründe, ESR-Dozimetride, ağır metal iyon sensörleri olarak ve metilen mavisi gibi boyaların indirgenmesi için katalizör olarak kullanımına ilişkin raporlar da mevcuttur (Srikar vd., 2016).

2.13.1 *Thymbra* türleriyle sentezlenen nanapartikül çalışmaları

Tang vd., (2021), yaptıkları bu çalışmada, *T. spicata* özütü ve ultrasyon ışımaları yardımıyla, herhangi bir toksik indirgeme ve kapatma maddesi kullanmadan, Fe_3O_4 nanoparçacıklarının yüzeyinde Ag nanoparçacıklarının immobilizasyonu için çevre dostu bir yaklaşımı anlatmayı amaçlamışlardır. Fe_3O_4NP'ler ve AgNP'lerin bir hibrit nanoyapıda (Fe3O4@T.spicata/AgNP'ler) kombinasyonu, hedeflenen biyomedikal uygulamalar için umut verici bir stratejiyi temsil etmektedir. Yapı, morfoloji ve fizikokimyasal özellikler, fourier dönüştürülmüş kızılötesi spektroskopisi (FT-IR), alan emisyon taramalı elektron mikroskobu (FESEM), transmisyon elektron mikroskobu (TEM), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDS), X-ışını kırınımı

(XRD), endüktif olarak eşleştirilmiş plazma (ICP) ve titreşimli numune manyetometresi (VSM9 gibi çeşitli analitik tekniklerle karakterize edilmiştir. Materyalin kimyasal uygulamalarına su içinde A3 birleştirme ile çeşitli propargilaminlerin çok bileşenli sentezine yönelmişlerdir ve bu da mükemmel verimlerle sonuçlanmıştır. Güçlü paramanyetizma nedeniyle, katalizör kolayca yalıtılabilmiştir ve herhangi bir sızıntı ve reaktivitede önemli bir değişiklik olmaksızın 8 döngüde yeniden kullanılmıştır. DPPH testi, hibrit nanoyapı ve bütillenmiş hidroksitoluen için benzer antioksidan potansiyelleri ortaya çıkarmıştır. Hibrit nanoyapı, 139 µg/mL konsantrasyonda DPPH moleküllerinin yarısını inhibe etmiştir. Hibrit nanoyapının anti-insan kolorektal kanser aktivitelerini araştırmak için, yaygın insan kolorektal kanser hücre hatlarında MTT tahlili kullanılmıştır. Hibrit nanoyapının, çok düşük hücre canlılığına ve Ramos 2G6.4C10, HCT-8 (HRT-18) ve HCT 116 hücre hatlarına karşı doza bağlı olarak anti-insan kolorektal kanser etkilerine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Hibrit nanoyapının IC_{50} değerleri, Ramos.2G6.4C10, HCT-8 [HRT-18] ve HCT 116 hücre hatlarına karşı sırasıyla 289, 311 ve 174 µg/mL olarak belirlenmiştir. Elde edilen hibrit nanoyapının, klinik çalışma denemelerinde yukarıdaki bulguların kabul edilmesinden sonra insanlarda kolorektal kanser teşhisi için bir antikanser ilacı olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Matin vd., (2019), yaptıkları bu çalışmada, *T. spicata*'nın sulu ekstresini kullanılarak gümüş nanoparçacıkların (Ag NP'ler) biyosentezini gerçekleştirmiş ve daha sonra sentezlenen NP'lerin şekli ve boyutunu UV-Vis, TEM, SEM, EDX, XRD, DLS ve FT-IR gibi farklı tekniklerle karakterize etmişlerdir. Sentezlenen AgNP'lerin difüzyon yöntemi ile *E. coli* (PTTC 1707), *S. aureus* (PTTC 1112), *B. cereus* (PTTC 1154) ve *A. Niger* (PTTC 5012) ve *C. albicans*'a (PTTC5027) karşı antibakteriyel aktiviteleri değerlendirilmiş ve minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) belirlenmiştir. AgNP'lerin örneklere karşı önemli antimikrobiyal aktivite sergilediği ve düşük konsantrasyonlarda bakteri ve mantarların büyümesini engellediği gözlemlenmiştir.

Tanreh vd., (2018), yaptıklatrı bu çalışmada, *T. spicata* yapraklarından elde edilen toksik olmayan ve sürdürülebilir doğal ekstraktı, indirgeyici, stabilize edici ve kapatıcı madde olarak kullanrak, paladyum nanoparçacıklarının (Pd NP'ler) temini için basit ve ekolojik bir yol geliştirmişlerdir. UV-vis spektroskopisi, X-ışını kırınımı, Fourier

dönüştürülmüş kızılötesi spektroskopisi, alan emisyon taramalı elektron mikroskobu, transmisyon elektron mikroskobu ve enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi, sentezlenen PdNPs@Thymbra spicata katalizörünü sınıflandırmak için kullanılmıştır. PdNPs@Thymbra spicatanın, Suzuki-Miyaura çapraz bağlama reaksiyonlarında ve oda sıcaklığında 4-nitrofenolün indirgenmesinde yeniden kullanılabilir bir nanokatalizör olarak mükemmel davranış sergilediği gözlemlenmiştir. Nanokatalizör, mükemmel ürün verimleri ile ve katalitik davranışta önemli bir azalma olmaksızın sayısız çalışmada yeniden kullanılmıştır.

Erci vd., (2018), yaptıkları bu çalışmada, gümüş (Ag) nanoparçacıklarını (NP'ler), ilk kez *T. spicata* (Zahter) sulu yaprak ekstraktlarının farklı konsantrasyonları kullanılarak oda sıcaklığında yeşil sentez yöntemiyle elde etmişlerdir. *Cynara scolymus* (Enginar) ve *M. piperita* (Nane) yaprak ekstresi kullanılarak AgNP'lerin sentezi ile ekonomik açıdan önemli üç bitkinin yaprak ekstresi kullanılarak sentezlenen nanopartiküllerin biyolojik aktiviteleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Nanopartiküller, farklı spektroskopik ve mikroskobik analizlerle karakterize edilmiştir. Biyosentezlenmiş AgNP'lerin TEM analizi, AgNP'lerin boyut ve şeklinin bitki özü konsantrasyonu ile değiştiğini ortaya koymuştur. Üç farklı bitkinin yaprak ekstraktlarından biyolojik olarak sentezlenen AgNP'ler, iki farklı gram-negatif ve gram-pozitif bakteriye karşı antibakteriyel aktivitede önemli farklılıklar göstermiştir. Ayrıca bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, *T. spicata* yaprağı ekstresi kullanılarak sentezlenen gümüş nanoparçacıkların antibakteriyel ve sitotoksik aktivitesinin şekle bağımlılığını göstermektedir. Farklı şekillerdeki nanopartiküller, çoğunlukla küresel nanopartiküllere kıyasla en güçlü antibakteriyel ve sitotoksik aktivite sergilemiştir. Mevcut sonuçlar göre, gümüş nanoparçacıkların biyolojik aktivitelerinin nanoparçacık şeklinden ve sentezde kullanılan bitki özütünün kaynağından etkilendiği belirtilmiştir.

Veisi vd., (2017), yaptıkları bu çalışmada, *T. spicata* yapraklarının ekstraktının aracılığı ile Ag nanopartiküllerinin (AgNP'ler) yeşil sentezini gerçekleştirmişlerdir. Bu sentezde hiçbir stabilizatör veya yüzey aktif madde kullanılmamıştır. Sentezlenen AgNP'lerin karakterişzasyonu alan emisyon taramalı elektron mikroskobu (FESEM), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDS), Fouriertransform kızılötesi (FT-IR)

spektroskopisi, X-ışını kırınım analizi (XRD), transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve UV-Vis cihazları kullanılarak yapılmıştır. AgNPs/Thymbra'nın oda sıcaklığında suda $NaBH_4$ varlığında 4-nitrofenol (4-NP), Rodamin B (RhB) ve Metilen mavisi (MB) dahil olmak üzere farklı boyaları azaltabilen kullanışlı bir nanokatalizör olduğu gözlemlenmiştir. UV-Vis spektroskopisi yardımıyla kataliz reaksiyonları incelenmiştir.

2.13.2 Nanopartiküllerin karakterizasyonunda kullanılan teknikler

2.13.2.1 Ultraviyole ve görünür ışık (uv-vis) absorpsiyon spektroskopisi

Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) absorpsiyon spektroskopisi bir ışının örnekten geçtikten sonraki şiddetinin ölçülmesidir. UV-Vis cihazı; Lambert-Beer eşitliğine göre moleküllerin tek dalga boyundaki (monokromatik) ışınları absorbe etmesine dayanmaktadır.

Absorbans (A) = Ɛ.c.l = -log10T
Ɛ =Absorpsiyon katsayısı (L/mol.cm)
c=Maddenin konsantrasyonu (mol/L)
l=Işık yolu (cm)

UV-vis spektroskopisi, ilk sentez aşamasında gümüş nanoparçacıkların oluşumunu açıklayan basit fakat çok etkili bir tekniktir ve yüzey plazmon rezonansından dolayı AgNP'lerin şekline, boyutuna ve dağılımına bağlı olarak çok karakteristiktir.

2.13.2.2 Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FT-IR)

FTIR, sentezlenen metal nanoparçacığın yüzey kimyasını araştırmak ve biyomoleküllerin nanoparçacık sentezine katılımını gözlemlemek ve (Rajeshkumar ve Bharath 2017) ve farklı indirgenme maddelerini analiz etmek için kullanılan bir tekniktir.

FTIR'da kızılötesi ışınlar numune üzerine düşürülür ve bir kısmı numune tarafından emilirken geri kalanı numuneden geçmektedir. Ortaya çıkan spektrumlar, numunenin özelliği olan absorpsiyon ve iletimi göstermektedir (Rohman ve Man, 2009). FTIR,

gümüş nitratın gümüşe indirgenmesinde biyolojik moleküllerin işlevini belirlemek için uygun maliyetli, basit ve invaziv olmayan bir tekniktir.

2.13.2.3 Enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDX)

EDX, bir numunenin elementel bileşiminin analizi için önemli bir tekniktir ve nanoteknolojiye uygulanması belgelenmiştir. Tüm elementler, X-ışını spektrumunda benzersiz bir tepe kümesi üreten farklı atomik yapılara sahiptir ve bunlar, herhangi bir nanoparçacığın elementel bileşimini incelemek için kullanılabilir (Noruzi, 2015).

2.13.2.4 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

SEM, temel olarak parçacıkların morfolojisini belirlemek için kullanılan bir tekniktir. SEM, yüzey görüntüleme yöntemidir, dolayısıyla SEM'in kullanılmasıyla parçacık boyutu, parçacık boyutu dağılımı, yüzey morfolojisi ve nanomalzeme şekilleri belirlenebilmektedir (Parashar vd., 2011).

2.13.2.5 Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)

Geçirimli elektron mikroskobu teknikleri ile atomik veya nanometre altı uzamsal çözünürlüğe sahip numunenin doğrudan görüntülemesi, kırınım ve spektroskopik bilgileri, kimyasal bileşimi eş zamanlı veya seri bir şekilde sağlayabilmektedir (Almatroudi, 2020).

2.13.2.6 X-ışını kırınım analizi (XRD)

XRD, X-ışınlarının malzemeye derinlemesine nüfuz etmesiyle kristalli metalik nanoparçacıkların yapısını gözlemlemek için yaygın olarak kullanılan analitik bir tekniktir (Rajeshkumar ve Bharath, 2017; Vijayaraghavan ve Ashok kumar, 2017). XRD verilerinden parçacık boyutunu hesaplamak için, Debye–Scherrer denklemi uygulanmaktadır ($d = K\lambda/\beta \cos\theta$). Burada d parçacık boyutu (nm), K Scherrer sabiti, λ X-ışınının dalga boyu, β tam genişliğin maksimum yarısını ve θ latis düzlemine karşılık gelen kırınım açısını göstermektedir (Bragg açısının yarısı). XRD, nanomalzemelerin incelenmesi için güçlü bir yöntemdir (Sharma vd., 2012).

2.14 Keneler

Keneler, dünyanın birçok yerinde yaygın olarak bulunan, başta memeliler ve kuşlar olmak üzere tüm omurgalı canlılardan gelişme dönemlerinin tamanında kan emmek zorunda olan ektoparazitlerdir. Keneler Ixodidae, Argasidae ve Nuttalliellidae olmak üzere 3 familya içerisinde incelenmektedir. Ixodidae familyası 13 cins içerisinde yaklaşık 713 tür, Argasidae familyası 4 cins içinde yaklaşık 185 tür içermektedir. Nuttalliellidae Nuttalliella namaqua adında sadece bir türü bulunmaktadır (Barker ve Murrell, 2004).

Kenelerin yaşamları; yumurta, altı bacaklı larva, sekiz bacaklı nimf ve ergin olmak üzere 4 evrelidir. Larvalar ve nimfler kan ile beslendikten sonra deri değiştirerek bir sonraki evreye geçerler. Larvalar doyana kadar bir konak üzerinde beslenir, toprağa düşer ve gömlek değiştirerek nimf haline dönüşürler. Nimfler konak bulduktan sonra doyana kadar tekrar kan emer, toprağa düşer ve gömlek değiştirdikten sonra ergin haline dönüşürler (Keskin, 2009).

Kenelerin vücudu, diğer akarlarda olduğu gibi ağız organellerinin bulunduğu gnathosoma ve tek parçalı olan vücut kısmı idiosomadan oluşmuştur. Keneler açken dorso-ventral basıktır. Vücutları sert kitini bir tabaka ile örtülüdür. Ixodidae ve Argasidae ailesinde bulunan kenelerin vücutlarındaki kitin dağılımı farklıdır. Argasidae ailesinde kitin oranı daha az ve daha homojen dağılımlıdır. Ixodidae ailesinde ise kenelerin gelişme dönemlerine ve cinsiyetlerine göre vücudunun çeşitli bölgelerinde kitinizasyonun arttığı ve kitin plaklarının oluştuğu görülmüştür. Bu nedenle Ixodidae'ler sert keneler olarak Argasidae'ler ise yumuşak keneler olarak isimlendirilirler (Dik 2003). Kenelerin larvaları vücut yüzeyinden solunum yaparlar. Ancak Ixodidae kenelerinin nimf ve olgunlarında ventralde IV. coxaların gerisinde, Argasidae kenelerinde ise III. ve IV. coxa arasında bir adet stigma olarak adlandırılan solunum deliği bulunmaktadır. Bu delikler sayesinde solunum yaparlar (Mullen ve Durden, 2002).

Keneler sivrisineklerden sonra dünya çapında insan hastalıkları açısından ikinci büyük vektör grubudur, evcil ve yaban hayvanlarında ise hastalık oluşturan patojenlerin bir numaralı vektörüdür; bu nedenle oldukça büyük ekonomik kayıplara neden

olmaktadırlar (Ghosh vd., 2007; Rymaszewska, 2007). Günümüzde, dünyada kabul edilen 907 kene türünün yaklaşık %10'u, 200 kadar hastalığın bulaştırılması ile ilişkilidir (Jongejan ve Uilenberg, 2004; Labuda ve Nuttall, 2004). Normal koşullarda biyolojisini insan üzerinde tamamlama eğiliminde olan herhangi bir kene türü olmasa da insanlardan kan emdiği belirlenen 222 kene türü vardır. Ancak bunlardan sadece 33 tanesi sıklıkla insanı bir konak olarak tercih eder. Bu 33 türden 28'inin de doğrudan hastalık etkenlerini bulaştırmada rol aldığı bilinmektedir (Anderson ve Magnarelli, 2008; Estrada-Peña ve Jongejan, 1999; Gargılı vd., 2010). Kenelerin sebep olduğu hem insanlarda hem de hayvanlarda hastalık oluşturup bazen ölümle sonuçlanan hastalıklar arasında Babesiosis, Theileriosis, Hepatozoonosis, Borreliosis, Anaplasmosis, Tularemi, Ehrlichiosis, Kırım Kongo Kanamalı Ateşi bulunmaktadır (Gazyağcı ve Aydenizöz, 2010).

Türkiye iklimi, yüzey şekli ve bitki örtüsü bakımından, kenelerin biyolojik aktivitelerini sürdürmek için uygun koşullara sahip bir ülkedir, bu nedenle ülkemizde pek çok kene türüne rastlamamız mümkündür (Güler, 1982; Güler vd., 1993). Türkiye'de bugüne kadar 41'i Ixodidae ve sekiz tanesi Argasidae ailesinden olmak üzere toplam 49 kene türü olduğu bildirilmiştir (Yılmazer, 2018). *Hyalomma*, yaz kenesigiller (Ixodidae) familyasına ait bir kene cinsidir. *Hyalomma* cinsine dahil kene türlerinin hem insanlar ve hem de hayvanlarda hastalık oluşturan çeşitli parazit, bakteri ve virüsün vektörü olduğu bilinmektedir. Dünya çapında bilinen 30 Hyalomma türü vardır; bunlardan sekizi ülkemizde bulunmaktadır; *Hyalomma aegyptium*, *Hyalomma anatolicum*, *Hyalomma detritum*, *Hyalomma dromedarii*, *Hyalomma excavatum, Hyalomma marginatum, Hyalomma rufipes* (Bakırcı vd., 2011). *Akdeniz Hyalomma*'sı olarak da bilinen ve ülkemizde hemen her iklim bölgesinde bulunan *Hyalomma marginatum* Asya, Avrupa'nın doğusu ve Kuzey Afrika'da yayılım gösterir ve aralarında Türkiye de olmak üzere bu bölgelerdeki 30'dan fazla ülkede Kırım Kongo kanamalı ateşi epidemilerinden sorumludur (Ergonul, 2006; Jameson vd., 2012; Yukarı vd., 2011).

Kene kontrol programları büyük ölçüde organoklorinler, organofosfatlar, piretroidler gibi ticari olarak temin edilebilen ektoparazit öldürücülerin ve daha yakın zamanda hayvanlarda veya çevrede böcek büyüme düzenleyicileri ve izoksazolinlerin

kullanımına dayanmaktadır (de Oliveira vd., 2012; McTier vd., 2016). Şu anda en yaygın olarak kullanılan kovucular arasında N, N-dietil-meta-toluamid (DEET) ve 1-piperidinkarboksilik asit 2 (2-hidroksietil)-1-metilpropilester (pikaridin) bulunmaktadır (Cisak vd., 2012). Tabletler, spreyler, sabunlar, şampuanlar, tozlar, emdirilmiş yakalar, daldırma solüsyonları, dökme ve spot uygulama uygulamaları dahil olmak üzere farklı formülasyonlarda evcil hayvanlar, çiftlik hayvanları ve insanlarda kullanım için ticari kovucular ve/veya akarisit ajanlar mevcuttur (Gassel vd., 2014). Bu kimyasalların uygun kullanımı kene kontrolünde faydalıdır, ancak yanlış uygulama ve yanlış kullanım insan ve hayvanların zehirlenmesine, dirençli suşların ortaya çıkmasına, hayvansal gıda ürünlerinde (et ve süt) ilaç kalıntısı sorunlarına ve çevresel tehlikelere yol açmaktadır (Babar vd., 2012). Bu engellerin üstesinden gelmek için, sentetik ajanların yerini alacak düşük toksisiteye sahip etkili ve çevre dostu bir alternatifin geliştirilmesi gerekmektedir. Sürdürülebilir tarım ilkeleriyle uyumlu alternatif kene kontrolü yöntemlerine yönelik Araştırma ve Geliştirme, kene antijenlerinin aşı olarak kullanımını (Shahein vd., 2013), entomopatojenik mantarları (Nana vd., 2015; Nana vd., 2016) ve bitki bazlı alternatifleri (Benelli vd., 2017a; Benelli vd., 2017b) içermektedir.

Kene istilasına uğramış alanlara maruz kalmanın sınırlandırılması ve kovucuların kullanılması, evcil hayvanlarda ve insanlarda kenelerin ve kene kaynaklı hastalıkların önlenmesinde de etkili kabul edilmektedir. Kene kovucu ve/veya akarisit özelliklere sahip güvenli ve etkili bileşik(ler) bulmak amacıyla, birçok incelemede görüldüğü gibi, kene kontrolünde geleneksel olarak kullanılan bitki özleri üzerine araştırmalar son yıllarda artmıştır (Adenubi vd., 2018; Atanasov vd., 2015). Bitkiler, fitofag böceklere karşı kovucu, beslenme caydırıcı veya toksik madde olarak hizmet eden çok sayıda ikincil bileşik üretmektedir (Levin, 1976). Savunma amaçlı fitokimyasallar büyüme düzenleyiciler, nitrojen bileşikleri, fenolikler, proteinaz inhibitörleri ve terpenoidler olmak üzere beş geniş kategoriye ayrılmaktadır. Kenelere karşı kovuculuk açısından test edilen fitokimyasalların büyük çoğunluğunun terpenoid olduğu gözlemlenmiştir. Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar, keneler dahil olmak üzere hematofagöz eklembacaklılara karşı itici özellikler de sergilemektedir. (Bissinger ve Roe, 2010).

Bitki kaynaklı uçucu yağların akarisit ve böcek öldürücü etkileri, içerdikleri aktif maddeler ve biyoaktif bileşikler ile ilişkilidir (Bakkali vd., 2008). Farklı çalışmalar, bazı bileşenlerin toksik bileşenlerin hücresel birikimine ve emilimine yardımcı olduğu için uçucu yağın bir bütün olarak daha etkili olduğunu göstermiştir (Yang vd., 2005). Uçucu yağlar, hedef organizmalarda çeşitli biyolojik değişiklikler üreterek farklı etki biçimlerine sahiptir. Uçucu yağların bazı temel biyolojik etkileri; sitotoksisite (Powers vd., 2018), fototoksisite (Erdogan Eliuz vd., 2017), mutajenite ve kanserojenlik (Bakkali vd., 2008) ve nörotoksisitedir (Gnerre vd., 2001) ve ayrıca anti-mutajeniktirler (Taherkhani, 2015).

Uçucu yağların moleküler düzeyde ve hücresel boyutta akarisit etkileri önceki çalışmalarda araştırılmıştır (Ribeiro vd., 2010). Akarların TRP iyon kanallarını, GABA reseptörlerini ve asetilkolinesteraz aktivitesini hedef alarak sinir sistemini etkileyebilmekte (Isman, 2006; Tong ve Coats, 2010) ve ayrıca içeriğinde bulunan bileşikler, enerji açığı nedeniyle hedef türün ölümüne sebep olmaktadır. Örneğin, birçok uçucu yağda bulunan karvakrolün ATP sentezini azalttığı ve aynı zamanda geçirgenliği arttırdığı ve bunun sonucunda hücrenin iç pH'nın düştüğü gösterilmiştir. Ayrıca K^+ iyonlarının sızmasına neden olmaktadır (Can Başer, 2008). Benzer şekilde, öjenol ve anetol gibi fenilpropanoidlerin, sitokrom P450 enzimini inhibe ederek ve mitokondriyal solunum ile etkileşim yoluyla akarisit etkisi olduğu varsayılmaktadır (Tabari vd., 2020).

Genellikle uçucu yağlar hücrelerde nükleer mutasyon üretmezler. Bununla birlikte, mutasyonların eklembacaklılarda doğrudan veya fototoksisite gibi başka bir reaksiyonun sonucu olarak üretildiği bazı istisnalar da bulunmaktadır (Koul ve Walia, 2009). Örneğin, *M. spicata*'dan elde edilen uçucu yağın, sinek *Drosophila melanogaster*'da genotoksik olduğu ve somatik mutasyonları indüklediği rapor edilmiştir (Karpouhtsis vd., 1998). Bitki özlerinin ve bunların uçucu yağlarının mutajenez (antimutajenler) ve karsinojenez (antikarsinojenler) inhibitörleri olarak hareket edebileceğine dair artan kanıtlar da bulunmaktadır (Craig, 1999; Weisburger, 2001).

Çeşitli çalışmalar, uçucu yağların böceklere karşı fototoksik etkilerini doğrulamıştır (Konovalov, 2014; Koul ve Walia, 2009). Bazı uçucu yağlar, ışığa maruz kaldığında aktive olan ve fototoksik etkiler üreten fotoaktif moleküller açısından zengindir. Bu fototoksik etkiler, ya fotoaktivasyon sırasında üretilen ve hücrelerin makromoleküllerine zarar veren reaktif singlet oksijen türleri tarafından uygulanır ya da fotoaktive edilmiş moleküller, DNA'ya doğrudan zarar vererek genotoksik etkiler üretebilir (Averbeck vd., 1990; Bakkali vd., 2008; Erdoğan Eliuz vd., 2017; Koul ve Walia, 2009). Bu fotoaktif moleküllerin kendileri karanlıkta ne sitotoksik ne de mutajeniktir. Temel yapılarını bozmadan zarlardan geçmektedirler (Bakkali vd., 2008). Örneğin, *Citrus bergamia* uçucu yağı, ultraviyole ışığa maruz kaldığında DNA'ya bağlanan ve sitotoksisiteye neden olan, eklembacaklılarda oldukça mutajenik bazı ürünler üreten psoralenlere sahiptir (Towers, 1986).

Daha önceki çalışmalarda (Florio vd., 1993) büyük olasılıkla merkezi sinir sistemi içindeki katekolamin seviyelerinde üretilen artışlar yoluyla akarisitlerin çoğunun monoamin oksidaz (MAO) aktivitesi üzerindeki inhibitör etkilerle motor fonksiyon üzerinde etki ederek hareket ettiği öne sürülmüştür.

Uçucu yağlar, keneler de dahil olmak üzere çeşitli eklembacaklılara karşı kovucu olarak kullanılmaktadır (Benelli ve Pavela, 2018). Repellentler, uygulandıkları yüzeyde lokal olarak hareket ederek hayvanlar veya insanların eklembacaklılar tarafından ısırılmasını engelleyen maddelerdir. Genellikle esansiyel yağlar cilde uygulanır, ancak bazılarının ağızdan uygulansa bile etkili olduğu bildirilmektedir (Stjernberg ve Berglund, 2000). Eklembacaklıların cilt üzerine inmesini veya cilt ile temasını engelleyen bir buhar bariyeri oluşturarak etki göstermektedirler.

Uçucu yağlar etkilerini soluma, yutma veya akarların vücut yüzeyiyle temas gibi farklı yollardan göstermekte ve sinir sisteminin işleyişine zarar vermektedirler (Abbas vd., 2018; Castro vd., 2018; Khater, 2012).

2.14.1 Bitkisel kaynaklı akaristlerin keneler üzerindeki etkisini belirlemek için yapılan çalışmalar

Nchu vd. (2012), yaptıkları bu çalışmada, *Tagetes minuta* L. (*Asteraceae: Asterales*) uçucu yağının *H. rufipes* kenelerine karşı kene önleyici özelliğini incelemiştirler. Bitkinin çiçek, yaprak ve yumuşak gövdesinden elde edilen kombinasyonunun hidro-damıtma yoluyla uçucu yağını elde etmişlerdir. Gaz kromatografisi (GC) ve gaz kromatografisine bağlı kütle spektrometrisi (GC-MS) kullanarak bitkinin kimyasal bileşimi karakterize edilmiştir. Uçucu yağda yüksek oranda monoterpen gözlemlenmiştir ve tanımlanan ana bileşiklerin cis-ocimene (%28.5), beta-ocimene (%16.83) ve 3-metil-2-(2-metil-2-butenil)-furan (%11.94) olduğu belirtilmiştir. *H. rufipes* yetişkinlerinin, *T. minuta*'nın uçucu yağına önemli ($p < 0.05$) derecede kovucu tepki gösterdiği gözlemlenmiştir. Probit analizi, erkek keneler için *T. minuta* uçucu yağının kovucu EC_{50} değerinin 0.072 mL/mL (CI 0.053 mL/mL ila 0.086 mL/mL) ve dişi keneler için 0.070 mL/mL (CI 0.052 mL/mL ila 0.084 mL/mL) olduğunu göstermiştir. Erkek ve dişi keneler arasında kovucu tepkilerde önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir. Uçucu yağ ayrıca elde edilen sonuçlar, *T. minuta*'nın potansiyel bir kene önleyici madde kaynağı olabileceğini göstermiştir.

Magano vd., (2011), yaptıkları bu çalışmada, *Lippia javanica* uçucu yağının (distilatın n-heksan özleri) *H. marginatum rufipes* Koch., 1844'ün yetişkinleri üzerindeki kovucu etkilerini değerlendirmek için uygun bir *in vitro* kene tırmanma kovucu biyo-tahlili geliştirilmiştirler. *L. javanica*'nın uçucu yağının distilatının GC-MS analizi ana bileşenlerinin myrcene (%13.4), 1,8-sineole (%8), dihidrotageton (%7.9), ipsenon (%9.6), bisiklo (3.1.1) heptanes-2-on (%20.8) ve 2-bütanon (%13.3) olduğunu ortaya çıkarmıştır. Veriler Kruskal Wallis analizine tabi tutulduğunda, *H. marginatum rufipes*'in yetişkinleri üzerinde *L. javanica*'nın uçucu yağı için anlamlı (*p 0.05*) bir doza bağlı kovma tepkisi gözlemlenmiştir.

Çetin vd., (2010), yaptıkları bu çalışmada, *S. thymbra*'nın (Lamiaceae) uçucu yağ hidrodistilatı ve ana bileşenleri olan karvakrol ve γ-terpinenin akarisit aktivitesini, sahada toplanmış ve beslenmemiş yetişkin *H. marginatum*'a karşı değerlendirmiştirler. Distilat, bu kene türüne karşı 5, 10, 20 ve 40 µL/L'de test edilirken iki ana bileşenin her biri 10 µ/L'de test edildi. Genel olarak, *S. thymbra* distilatına karşı kene ölüm

oranının konsantrasyon ve maruz kalma süresi ile arttığı gözlemlenmiştir. En az 40 µL/L uçucu yağ içeren pamuk fitillerinden gelen buharlara maruz kalan keneler, 3 saatte tam (%100) ölümle sonuçlanmıştır. Daha düşük konsantrasyonlar, 24 saatte tam ölüm, 3 saat sonra ≥%90 ölüm sağlanmıştır. Karvakrol ile muamele edilmiş fitillere maruz bırakılan keneler, 3. saatte %93'ten fazla yıkılma üretmiş, ancak 24 saatte yaklaşık %57'si ölmüştür. *γ*-terpinen 105 dakika ila 3 saat arasında ≥%90 oranında yıkım ürettiği, ancak 24 saatte kenelerin yalnızca yaklaşık %87'sinin öldüğü gözlemlenmiştir.

Mkoloa ve Magano (2007), yaptıkları bu çalışmada, *L. angustifolia* esansiyel yağının *H. marginatum rufipes*'in yetişkinleri üzerindeki kovucu etkilerini %5, 10 ve 20 % v/v konsantrasyonlarında incelemiştirler. *L. angustifolia* esansiyel yağının tüm konsantrasyonlarında yüksek yüzdeli iticilik (aralık 70-100) gösterdiği, ancak %5 v/v'de sadece ilk 40 dakika boyunca, diğer konsantrasyonlarda ise 120 dakika (%10 ve %20 v/v) devam ettiği bvelirtilmiştir. *L. angustifolia*'nın kovucu gücü, çalışmanın 2 saatlik periyodu için ticari bir referans olan DEET (N,N-dietil-m-toluamid) ile (*p>0.05*) karşılaştırılmıştır.

2.14.2 Kullanılan uçucu yağların keneler üzerindeki akarisit etkisini belirlemek için yapılan testler

- **Larva paket testi (Larval Packet Test, LPT):** Stone ve Haydock (1962) tarafından geliştirilen larva paket testi (LPT), FAO (1984) tarafından benimsenmiştir. Kene larvaları, teknik akarisit emdirilmiş filtre kağıdı paketlerinde inkübe edilmektedir.

- **Larva daldırma testi (Larval İmmersion Test, LIT)**: İlk olarak Shaw (1966) tarafından geliştirilmiştir. Shaw'un daldırma sandviç tekniğinin avantajı, larvaların akarisit çözeltisine veya süspansiyonuna daldırılmasıdır ve bu genellikle toksisiteyi arttırmaktadır.

- **Yetişkin daldırma testi (Adult İmmersion Test, AIT):** Teknik veya ticari akarisitlere daldırılmış, dişi keneler kullanılmaktadır. Birkaç yazar tarafından

benimsenmiştir (Hitchcock, 1953; Whitnall ve Bradford, 1947), ancak en yaygın olarak Drummond ve arkadaşlarının (1973) protokolünden alıntı yapılmıştır. AIT için standart bir protokol yoktur (Sabatini, 2001).

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Bitkisel Materyal: Örneklerinin Toplanması ve Teşhis Edilmesi

Siirt ve Antalya'dan toplanan 3 farklı *Thymbra* türü gölgede kurumaya bırakıldı. Bitkilerin teşhisi Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümünden Arş. Gör. Mehmet FIRAT tarafından yapılmıştır. Kurutulmuş bitki örnekleri Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumu'nda (VANF) saklanmaktadır. Bitkilerin herbaryum kayıtları ve toplanma yerlerine ait bilgiler Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1 *Thymbra* türlerinin herbaryum kayıtları ve toplanma yeleri

***Thymbra* Türü**	**Herbaryum No**	**Toplanma Yeri**	**Toplanma Zamanı**
Thymbra spicata L. var. *spicata* L.	M.Fırat (VANF) 31098	Siirt	09.08.2014
Thymbra sintenisii Bornm. &Aznav. subsp. *sintenisii* Bornm. &Aznav.	M.Fırat (VANF) 31112	Siirt	09.08.2014
T. sintenisii Bornm. & Azn. subsp. *isaurica* P.H.Davis	M.Fırat (VANF) 31082	Antalya	10.07.2014

3.2 Ekstrelerin Hazırlanması

Siirt ve Antalya'dan toplanan *Thymbra* türlerinin kimyasal içerik analizleri ve biyolojik aktivite testleri için toprak altı ve toprak üstü kısımları ayrıldı. Türler öğütücü yardımıyla toz haline getirildikten sonra her bir türden yeteri kadar tartıldı ve tartılan bitki miktarları not edildi. Daha sonra bitki örneklerinin üzerine petrol eteri (50 mL, 3x24 saat) ilave edilerek çalkalayıcı ile 260 rpm'de ekstrakte edildi. Süzme ve çözücü uçurma işlemlerinden sonra ham ekstreler elde edildi. Elde edilen bu ekstreler bitkilerin yağ asidi kompozisyonunu belirlemek üzere kullanıldı. Kalan bitki örneklerinin üzerlerine etanol (50 mL, 3x24 saat) ilave edilerek çalkalayıcı ile 260 rpm'de ekstrakte edildi. Süzme ve çözücü uçurma işlemlerinden sonra ham ekstreler elde edildi. Bu ekstreler etanolde çözülerek 4000 mg/L derişiminde 10'ar mL çözeltiler hazırlandı ve sonra bu çözeltilerden seyreltilerek 1000 mg/L derişiminde 5'şer mL'lik çözeltiler hazırlandı. LC-MS/MS analizi için hazırlanan etanol ekstrelerinden 1000 mg/mL örnekler hazırlandı. Örnekler cihazlara verilmeden önce ekstre çözeltileri 0,22 µm şırınga ucu filtreden geçirilerek HPLC viallerine aktarıldı.

3.3 Uçucu Yağların Elde Edilmesi

Çalışılan *Thymbra* türlerinin uçucu yağını elde etmek için 100 g kuru türün toprak üstü kısımları tartılarak 500 mL'lik balona alındı. Üzerine 200 mL saf su eklenip çalkalandı ve Clevenger aparatı ile iki saat süreyle hidrodestilasyon işlemine tabi tutularak türün uçucu yağı elde edildi. Sistem soğuduktan sonra dereceli kısma toplanan uçucu yağ sulu fazdan ayrılarak miktarı (mL) tespit edildi. Tartımı alınan örnek miktarına (g) göre 100 g örnekteki uçucu yağ miktarı uçucu yağ oranı (%) olarak hesaplanmıştır.

3.4 Kimyasal Standartlar ve Çözücüler

3.4.1 LC-MS/MS Çalışmalarında kullanılan kimyasallar

Hiperozit, hiperisin, hiperforin, psödohiperisin, hesperidin, protokateşik asit, klorojenik asit, luteolin-7-glikozit, rutin, apigetrin, kersitrin, astragalin, kersetin, luteolin, apigenin, metanol, formik asit, ultra saf su ve amonyum format.

3.5 Kullanılan Cihaz ve Diğer Gereçler

- LC-MS/MS (Shimadzu Marka 8040 Model)
- Headspace-GC-MS/FID (Agilent Marka)
- FTIR-ATR (Perkin Elmer Spectrum 100)
- UV-VIS-NIR Spektrofotometre (Shımadzu UV-3600)
- SEM (FEI QUANTA 250 FEG)
- TEM (JEOL JEM-1010)
- EDX ((FEI QUANTA 250 FEG)
- XRD
- Soğutmalı Santrifüj
- Eliza Okuyucu (Biotech EON Marka Microplate Reader)
- Ultra saf su cihazı (Elga marka)
- Etüv (Nüve marka)
- pH metre (Metler Toledo marka)
- Hassas terazi (Metler Toledo marka)
- -20 Derin dondurucu (Uğur Marka)
- IKA RV10 Model Evaporatör (Buchi V850 model vakum kontrol ünitesi ve Lauda RA8 model soğutucu ile birlikte)

- Çalkalayıcı (VWR marka)
- Ultrasonik banyo
- Blender (Öğütücü)
- Rotaevaporator (Büchi, İsviçre)
- Otomatik tekli ve çoklu pipetler (10-100 µL, 100-1000 µL, 500-5000 µL) (Eppendorf marka)

3.6 Ekstrelerin Yağ Asidi için Analize Hazırlanması

100 mg yağ örneği, 0,1M KOH çözeltisi ve metanol (2 mL) içinde 1 saat geri çeviren soğutucuda tutulup çözelti soğutulduktan sonra 5 mL su ilave edildi. Sulu karışım, 0,5 mL HCl çözeltisi ile nötralize edilip ve hekzan/dietil eter (1/1; 3-5 mL) karışımı ile ekstre edildi. Organik tabaka ayrılarak ve su ile yıkanarak (10 mL), daha sonra susuz Na_2SO_4 üzerinde kurutuldu. Organik çözücü rota evaporatörde uçurularak yağ asidi esterleri elde edildi (Kılıç vd., 2007).

3.6.1 GC-MS ile yağ asidi analizi çalışma şartları

GC-MS analizi apolar Restek Rt-2560 kolonunda (100m x 0.25mm x 0.20µm film kalınlığı) helyum gazı (1 mL/dak ve 20 psi) ile yapılıp GC fırın sıcaklığı 100 °C'de 4 dakika tutulup, 240 °C'ye 3°C/dakika hızla çıkarıldı ve bu sıcaklıkta (240 °C) 10 dakika sabit tutuldu. Split oranı 1:50 olarak ayarlanarak injeksiyon hacmi 1.0 µL'dir. Kütle spektrometresi (EI/MS) 70 eV iyonizasyon enerjisine ayarlandı. Kütle spektrometresi tarama aralığı *m/z* 45-450 atomik kütle birimi (amu) aralığına ayarlandı. NIST ve Wiley GC-MS kütüphaneleri bileşenlerin belirlenmesinde kullanıldı. Ayrılan bileşenlerin relatif yüzde miktarı, bilgisayarlı integratorla toplam iyon kromatografisinden hesaplandı (Ertas vd., 2021).

3.7 Headspace-GC-MS/FID Cihazı ile Uçucu Yağ ve Aroma Analizi için Kromatografik Şartlar

Hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağların bileşenleri Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde bulunan Agilent marka 7890A Model GC/FID gaz kromatografi ve Agilent marka 5977B model kütle spektrometresi (MS) cihazı ile belirlenmiştir. GC-MS/FID analizi apolar HP-5MS kolonunda (30m x 0,25mm x 0.25 µm film kalınlığı) helyum gazı (1mL/dak ve 20 psi) ile yapıldı. GC fırın sıcaklığı

60°C'de 5 dakika tutulup, 240°C'ye 3°C /dakika hızla çıkarılarak ve bu sıcaklıkta (240°C) 5 dakika sabit tutuldu. Helyum gazı (10mL/dak ve 20 psi) olup split oranı 1:25 olarak ayarlandı. Enjeksiyon hacmi 1.0 µL alındı ve Kütle spektrometresi (EI/MS) 70 eV iyonizasyon enerjisine ayarlandı. Kütle spektrometresi tarama aralığı *m/z* 40-400 atomik kütle birimi (amu) aralığına ayarlandı. Ayrılan bileşenlerin relatif yüzde miktarı GC-FID analizinde toplanan verilerden hesaplandı. Kovats Indisi (KI) hesaplamasında referans noktalar olarak alkanlar kullanıldı. Uçucu yağ bileşenlerinin tanımlanması retansiyon zamanlarının ve kütle spektrumlarının, orijinal örneklerin retansiyon zamanları ve kütle spektrumları ile karşılaştırılması ile yapıldı. Ayrıca NIST ve Wiley GC-MS kütüphaneleri uçucu yağ bileşenlerin belirlenmesinde kullanıldı.

Aroma analizi için tüm kromatografik şartlar uçucu yağ analiz parametreleri ile aynı olup farklı olarak numune ekstraksiyonu SPME (Katı faz mikroekstraksiyon) yöntemi ile yapılmıştır. Direk kuru bitkinin kendisinden alınan 1-2 g örnek 20 mL'lik Headspace vialine alınarak 40ºC'de 15 dk boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresince açığa çıkan aroma bileşikleri kullanılan SPME fiberi tarafından adsorplanmış ve adsoplanan örnek Headspace örnekleme bloğu ile GC-MS/FID cihazına numune gönderilmiştir (Adeniz vd., 2021; Akdeniz vd., 2022; Bakır vd., 2020).

3.8 LC-MS/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar

37 Fitokimyasalın kalitatif ve kantitatif analizinde kullanılan LC-MS/MS sistemi; Shimadzu Neexera model UHPLC cihazı ile Shimadzu LCMS 8040 model üçlü kuadrupol kütle spektrometre cihazının birleşiminden oluşmaktadır. Kullanılan sıvı kromatografi sistemi LC-30 AD model gradient pompa. DGU-20A3R model degazer. CTO-10ASvp model kolon fırını ve SIL-30AC model oto örnekleyiciden oluşmaktadır. Kromatografik ayrım. Inertsil ODS-4 model C18 (100 mm×2.1 mm. 2µm) kolonda gerçekleştirilmiştir. Analiz sırasında kolon fırını 35 ºC'ye ayarlanmıştır. Elüsyon gradiyentinde hareketli faz A için ultrasaf su ve hareketli faz B için asetonitril kullanılmıştır. Ayrıca. daha iyi bir kromatografik ayrım ve iyonlaştırmayı kolaylaştırmak için su fazına 10 mM amonyum format ve % 0.1 formik asit eklenmiştir. Analitlerin optimum ayrımının gerçekleşmesi için yapılan pek çok

denemenin ardından en uygun UHPLC gradiyent profili 5-20% B (0-10 dk). 20% B (10-22 dk). 20-50% B (22-36 dk). 95% B (36-40). 5% B (40-50 dk) şeklinde optimize edilmiştir. Hareketli faz akış hızı 0.25 mL/dk ve enjeksiyon hacmi 4 µL olarak belirlenmiştir. Üçlü kuadrupol kütle spektrometresi hem negatif hem de pozitif modda çalışan bir ESI (elektrosprey iyonlaştırma) kaynağı ile donanımlıdır. LC-ESI-MS/MS verileri cihazda kayıtlı olan by LabSolutions (Shimadzu. Kyoto. Japonya) yazılımı ile toplanarak işlenmiştir. Analitlerin miktarsal tayini için cihaz ile MRM (multiple reaction monitoring) modunda çalışılmış ve moleküler (parent) iyonlar bir veya iki parçalanma ürünü (product ions) (ilki kantitatif amaçlı diğeri kalitatif amaçlı kullanılmıştır) ile kombine edilmiştir (Ertas vd., 2022; Yılmaz vd., 2022)

3.9 Antioksidan Aktivite Testleri

Çalışılan *Thymbra* türlerinin antioksidan özelliklerini belirlemek için DPPH serbest radikali, ABTS katyon radikali ve CUPRAC (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemleri kullanıldı (Apak vd., 2004; Blois, 1958; Re vd., 1999). Bu üç antioksidan test yönteminde de standart referans olarak α-Tocopherol ve BHT (Butylated hydroxytoluene) bileşikleri kullanıldı. Örneklerin IC_{50} hesaplamaları için stok çözeltiden 100, 50, 25, 10, 5, 2 ve 1 µg/mL konsantrasyonları hazırlandı (Saruhan Fidan vd.,2021; Yaris vd., 2021) .

3.10 Antikolinesteraz Aktivite Testleri

Çalışılan *Thymbra* türlerinin toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin Anticholinesterase enzim altivitesini belirlemek için Ellman vd., (1961) tarafından geliştirilen AChE ve BChE inhibisyonuna dayanan spektrofotometrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Kısaca 10 µL numune solüsyonu, 130 µL tampon (100 mM, Na_3PO_4 pH 8) ve 20 µL enzim karıştırılarak oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. Karışıma 20 µL DTNB ve 20 µL substrat eklendi, 412 nm'de 10 dakika inkübasyondan sonra absorbanslar kaydedildi. Asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) aktivite test yöntemi için galantamin standart referans madde olarak kullanıldı. Örneklerin çalışılan enzime karşı inhibisyonlarını hesaplamak için AChE, BChE inhibisyonu (%) = 100-(OD test well /OD control) × 100 denklemi kullanıldı. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda % inhibisyon değerleri hesaplandı (Ozhan Kocakaya vd., 2020).

3.11 Antiüreaz Aktivite Testi

Çalışılan *Thymbra* türlerinin üreaz aktivitelerini belirlemek için Hina vd. (2015) tarafından geliştirilen yöntem kullanıldı. Mikroplakadaki kuyucuklara önce etanol içinde hazırlanan çözeltilerinden 10 µL ve enzim çözeltisinden 25 µL konuldu daha sonra 50 µL substrat (üre) ilave edildi. Mikroplaka ELISA okuyucuya yerleştirilerek 630 nm dalga boyunda ilk absorbans okundu. Bu çözelti 15 dakika süre ile 30ºC de inkübe edildi. 15 dakika sonra bu çözeltinin üzerine 45 µL fenol reaktifi ve 70 µL alkali reaktif konuldu. 20 dk inkübasyondan sonra son okuma yapıldı ve absorbanslar kaydedildi. Üreaz için tiyoüre standart referans madde olarak kullanıldı. Örneklerin çalışılan enzime karşı inhibisyonlarını hesaplamak için üreaz inhibisyonu (%) = 100-(OD test well /OD control) × 100 denklemi kullanıldı. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda %inhibisyon değerleri hesaplandı (Akdeniz vd., 2021b).

3.12 Antitirozinaz Aktivite Testi

Çalışılan *Thymbra* türlerinin tirozinaz aktivitelerini belirlemek için Hearing ve Jimenez (1987) tarafından geliştirilen yöntem kullanıldı. Substrat olarak L-DOPA ve standart tirozinaz inhibitörleri olarak da kojik asit kullanıldı. Hazırlanan örnekler tirozinaz enzimiyle inkübasyona tutularak, reaksiyona substrat eklenerek devam edildi. 475 nm'de spektrofotometre ile okuma yapıldı. Örneklerin çalışılan enzime karşı inhibisyonlarını hesaplamak için tirozinaz inhibisyonu (%) = 100-(OD test well /OD control) × 100 denklemi kullanıldı. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda % inhibisyon değerleri hesaplandı (Yiğitkan vd., 2021).

3.13 Elastaz Enzim Aktivitesi

Çalışılan *Thymbra* türlerinin elastaz inhibe edici aktivitesi Kraunsoe vd., (1996) tarafından geliştirilen yöntemde küçük değişiklikler yapılarak uygulandı. Örneklere 40µL (0,1M Tris-Cl, pH=8) tampon solüsyonu, 10µL numune etanol solüsyonu ve 20µL elastaz enzim solüsyonu eklendi ve 10 dakika (37°C) inkübe edildikten sonra tampon solüsyonu (0.1M Tris-Cl, pH=8) ile hazırlanan 30µL 1.015mM substrat (N-süksinil-(Ala)-3-nitroanilid) solüsyonu ilave edildi ve 37°C'de 20 dakika inkübe edildi. Daha sonra 410 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Elastaz enzim aktivitesini belirlemek için oleanolik asit standart referans madde olarak kullanıldı. Örneklerin çalışılan enzime karşı inhibisyonlarını hesaplamak için elastaz inhibisyonu (%) = 100-

(OD test well /OD control) × 100 denklemi kullanıldı. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda % inhibisyon değerleri hesaplandı.

3.14 Kollajenaz Enzim Aktivitesi

Kollajenaz inhibe edici aktivite, Thring vd., (2009) tarafından geliştirilen yöntemde küçük değişiklikler yapılarak uygulandı. Örneklere 20µL DMSO içinde hazırlanan numune solüsyonu ve 10µL kolajenaz enzim solüsyonu (0.8 U/mL) 50µL fosfat tamponu (pH:7.5) ilave edildi ve 25°C'de 15 dakika inkübe edildi. Daha sonra 20µL substrat solüsyonu (N-(3-[2-Furyl]acryloyl)-Leu-Gly-Pro-Ala) eklendi, 25°C'de 20 dakika inkübe edildi. 340 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Kollajenaz enzim aktivitesini belirlemek için epikateşin gallat standart referans madde olarak kullanıldı. Örneklerin çalışılan enzime karşı inhibisyonlarını hesaplamak için kollajenaz inhibisyonu (%)=100-(OD test well /OD control)×100 denklemi kullanıldı. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda % inhibisyon değerleri hesaplandı.

3.15 ACE Aktivitesi

Kwon vd., (2006) tarafından geliştirilen yöntem değiştirilerek kullanıldı. 50 µL numune çözeltisi, 2 mU ACE içeren 200 µL NaCl-borat tampon çözeltisi (0.3 M NaCl, pH 8.3) ile 25°C'de 10 dakika süreyle inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, reaksiyon çözeltisine 100 µL 5.0 mM substrat (hippuril-histidil-lösin) ilave edildi ve çözelti, 37°C'de 1 saat süreyle inkübe edildi. Kör numune (enzim ve substrat yerine tampon solüsyonu içeren), kontrol (numune ekstraktı yerine saf su içeren) ve boş (numune ekstraktı ve enzim yerine tampon içeren) analiz edildi. Reaksiyon, 150 µL 0.5 N HC1 eklenerek sonlandırıldı ve ortaya çıkan hippurik asidin belirlenmesi, 228 nm dalga boyunda ultraviyole dedektörü (HPLC-UV) ile yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile gerçekleştirildi. ACE aktivitesini belirlemek için lisinopril standart referans madde olarak kullanıldı. Örneklerin çalışılan enzime karşı inhibisyonlarını hesaplamak için ACE inhibisyonu (%)=100-(OD test well /OD control)×100 denklemi kullanıldı. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda % inhibisyon değerleri hesaplandı.

3.16 Antimikrobiyal Özelliklerin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivite Gram negatif bakteriler (*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeroginosa* ATCC27853), Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* 25923,

Streptococcus pyogenes ATCC19615) bakteriler ve mayaya (Candida albicans ATCC10231) karşı, minimum inhibitör konsantrasyon olarak disc broth dilution yöntemiyle (CLSI 2006) belirlendi.

0.1 mL Mueller-Hinton broth, 0.1 mL farklı uçucu yağ konsantrasyonları içeren 96 oyuklu plakalar, 105 CFU/mL'ye eşit 0.005 mL kültür ile aşılandı. Uygun sıcaklık ve sürede inkübasyondan sonra MİK değerleri belirlendi. Ampisilin ve flukonazol sırasıyla bakteri ve maya için pozitif kontrol olarak kullanıldı. Tüm testler üç tekrar halinde yapıldı (Ertas vd., 2015)

3.17 MTT Testi ile Sitotoksisitenin Belirlenmesi

Bu çalışmada insan kaynaklı sağlıklı ve kanserli hücre serileri kullanıldı. Bu amaçla sağlıklı hücre serisi (PDF), meme kanseri hücre serisi (MCF-7) ve kolon kanseri serisi (HT-29) ATCC firmasından temin edildi. Hücre serilerinin moleküler ve biyokimyasal analizleri yapabilecek yeterli sayıya ulaşabilmeleri ve daha sonraki çalışmalarda kullanılmak amacıyla dondurulabilmeleri için kültürleri yapıldı. MCF-7 ve HT-29 hücre serileri %10' luk FBS, 2mM L-Glutamine ve 100 units/mL penicillin/streptomycin içeren tam medium DMEM içinde hücre kültürü ortamında çoğaltıldı. Hücre kültürleri, 37 ºC, %5' lik CO_2' li nemli ortamda (Thermo Steri-Cycle 371) tutuldu. Haftada üç kez, 900 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek hücreler steril kabin içerisinde 1x106 hücre/mL miktarda seyreltilerek pasajları yapıldı. Ayrıca, hücre serilerinin ileride yapılacak olası çalışmalar sebebiyle saklanması için 2x106 hücre, %70 DMEM, %20 FBS ve %10 Dimetil sülfoksid' den (DMSO) (Sigma-Aldrich) oluşan soğutulmuş solüsyon içerisinde 1 gün -80 ºC' bekletildikten sonra sıvı azotta muhafaza edildi (Irtegun Kandemir vd., 2022)

3.17.1 Örneklerin hücre proliferasyonu üzerindeki etkilerinin araştırılması

Elde edilen ekstrelerin, kanser hücrelerinin (MCF-7 ve HT-29) ve sağlıklı hücre serisinin (PDF) proliferasyonu üzerindeki etkileri MTT Hücre Proliferasyon Kiti (Sigma) kullanılarak ve firmanın kullanım talimatlarına uyularak yapıldı (Mojarrab vd., 2013). Kısaca, $1x10^4$ hücre 96-well plate yerleştirildi ve 37 ºC, %5' lik CO2' li nemli ortamda hücrelerin plate yapışması için 24 saat bekletildi. 24 saat sonra, hücreler örnekler ile çeşitli konsantrasyonlarda 48 saat muamele edildi. 48 saatlik muameleden sonra, hücreler 10 µL MTT solüsyonu ile 4 saat inkübe edildi.

İnkübasyon sonrasında koyu mavi renkte formazan boyası oluştu. Hücreleri kitle birlikte gelen yıkama solüsyonu ile yıkayıp 2 saat oda sıcaklığında karanlıkta beklettikten sonra formazan boyasının 570 nm de absorbansı plate reader (Thermo/ MultiscanGo) ile ölçüldü. MTT assay her bir konsantrasyon için üç paralel olarak gerçekleştirildi ve her bir MTT assay 3 defa tekrarlandı.

3.18 Uçucu Yağ ve Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi ve Keneler Üzerindeki Öldürücü Etkisinin Belirlenmesi

3.18.1 Elde edilen uçucu yağlardan gümüş nanopartikülllerin yeşil sentezi

3 farklı *Thybmra* türünden elde edilen antioksidan özelliği yüksek olan uçucu yağlara aynı prosedür uygulanarak gümüş nanopartikülleri (AgNP) elde edilmiştir. 0.01 g uçucu yağ tartılarak bir behere alındı. Üzerine 1 mL dimetil sülfoksit (DMSO) eklenerek çözüldü ve 10 mL saf su ilavesi ile seyreltildi. Çözeltinin pH'sı pH metre vasıtasıyla 0.1 M sodyum hidroksit (NaOH) kullanılarak 7'ye ayarlandı. Elde edilen çözelti bir ısıtıcı üzerinde kaynamakta olan 100 mL 2 mM gümüş nitrat ($AgNO_3$) çözeltisine damla damla ilave edildi. İlaveyle birlikte renksiz olan $AgNO_3$ çözeltisinin rengi koyu yeşile dönmeye başaldı ve bu renk değişimi bize AgNP'lerin oluştuğunu gösterdi. Elde edilen koyu renkli çözelti 10.000 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı faz döküldü ve katı faz saf suyla yıkanarak etüvde 65°C'de 24 saat kurumaya bırakıldı. Nanopartiküller ÖR:1'den elde edilen AgNP1, ÖR:2'den elde edilen AgNP2 ve ÖR:3'den elde edilen AgNP3 olarak kodlandırıldı.

3.18.2 Elde edilen gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonu

Elde edilen AgNP'lerin karakterizasyonu Ultraviyole ve Görünür Işık (Uv-Vis) Absorpsiyon Spektroskopisi, Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), X-Işını Kırınım Analizi (XRD), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX), Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ile yapıldı. Analizler Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜBTAM) ve Harran Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (HÜBTAM)'dan hizmet alımı ile yapıldı.

3.18.3 Canlıların elde edilmesi ve muhafazası

Deneylerde kullanılan canlılar Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Kene Üretim Merkezinden satın alınmıştır. Canlılar deneylerde kullanılıncaya kadar metabolik faaliyetlerini durdurmak ve böylece canlı kaybını minimumda tutmak amacıyla 4±1 □C de ve ortalama %95 bağıl nem değerine sahip buzdolabında özel bir kapta muhafaza edilmiştir.

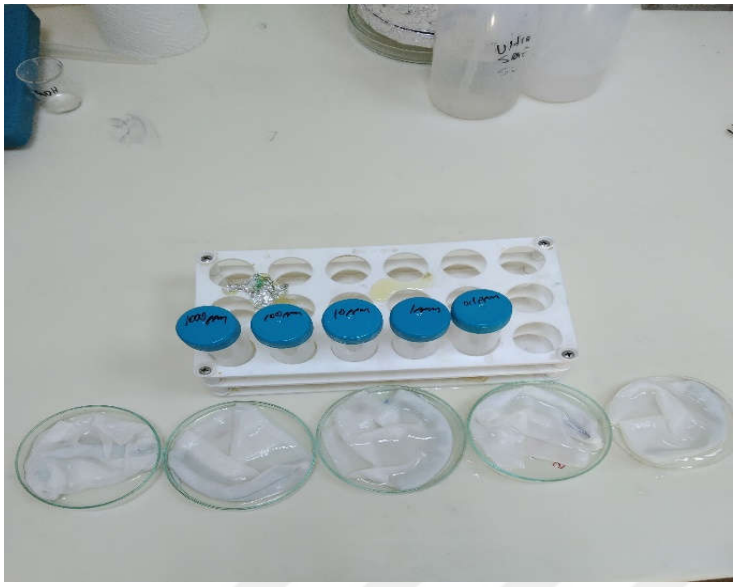
3.18.4 Deney solüsyonlarının hazırlanması

Elde edilen uçucu yağlar 5 mL %70'lik etanolde çözülmüştür. Daha sonra bu solüsyonlardan son konsantrasyonları 100 mg/mL olacak şekilde saf su ile dilüe edilerek stok solüsyonlar hazırlanmıştır. 50 mL'lik deney konsantrasyonları stok solüsyonlardan direkt olarak saf su ile sulandırılarak elde edilmiştir. Aralık belirleme deneylerinden sonra ÖR1 için deney konsantrasyonları 5, 15, 20, 35, 45, 65 mg/mL; ÖR2 için 0.5, 2, 5, 10, 20, 30 mg/mL ve ÖR3 için 5, 15, 25, 35, 45, 55 mg/mL olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu için saf su ve çözücü kontrol grubu için ise %70'lik etanolün %1'lik (APHA 1998) konsantrasyonu kullanılmıştır.

Elde edilen AgNP1'in ultrasonik banyoda 20 dakika bekletildikten sonra 100 mg/mL'lik stok çözeltisi hazırlanmıştır. Aralık belirleme deneylerinden sonra AgNP1 için deney konsantrasyonları 20, 30, 40, 60, 80 mg/mL olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu için canlılara saf su uygulanmıştır.

3.18.5 Deney düzeneklerinin hazırlanması ve LC_{50} değerinin belirlenmesi

1-2 aylık kene larvalarında akut toksisitenin belirlenmesi için larval daldırma testi (larval immersion test) uygulanmıştır (Chaparro-Gutiérrez vd., 2020). Deneyler sırasında larvaların muhafazası için sıvı ve hava geçiren, pamuklu, fermuarlı özel olarak yapılmış larval keseler kullanılmıştır. Bu keseler içine her bir deney grubu ve tekrar için 50 larva konulmuş ve larvalar deney solüsyonlarına bu keseler içerisinde daldırılmıştır. Deneylerde sadece hareketli ve sağlıklı larvalar kullanılmıştır. LC_{50} değerini belirlemek için larval keseler içlerinde 50 mL deney solüsyonu bulunan petri kaplarına daldırılmıştır.



Şekil 3.1 Larval keseler içinde deney solüsyonlarına batırılan keneler

Larval keseler deney solüsyonlarında 5 dk bekletildikten sonra çıkarılarak süzülmüştür. Süzülen keseler 28±1□C ye ayarlanmış ve ortalama %95 bağıl nem değerine sahip etüvde 24 saat inkübe edilmiştir.



Şekil 3.2 Deney solüsyonuna batırılan kenelerin 24 saat'lik etüvde inkübasyon aşaması.

24 saat sonunda LC_{50} değerini belirlemek için bu keseler etüvden çıkarılarak ölen bireyler sayılmıştır. Ekstremitelerinde hiçbir haraketlilik olmayan bireyler ölü

sayılmıştır. Tüm deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. LC_{50} değerleri SPSS 20 programında Probit Analizi (Finney, 1952) ile hesaplanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Ekstre Verimi Sonuçları ve Tür Kodları

Çalışılan *Thymbra* türlerinin uçucu yağ, toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin % verimleri ve tür kodları Tablo 4.1'de verilmiştir. Genel olarak *Thymbra* cinsine ait üç türün uçucu yağ verimlerinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Üç örneğin uçucu yağ verim sonuçları karşılaştırıldığında ise özellikle ÖR1ES (*T. spicata* L. var *spicata.)* örneğinin uçucu yağ veriminin (%4.94) en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerine bakıldığında ÖR2TÜ ve ÖR3TÜ'ye ait etanol ekstrelerinin (sırasıyla %15.08, %13.75) ÖR2K ve ÖR3K etanol ektrelerine (sırasıyla %13.09, %11.91) göre veriminin daha yüksek olduğu, aksine ÖR1K'nın etanol ekstresinin (%16.773) ise ÖR1TÜ etanol ekstresine (%11.870) göre daha yüsek verime sahip olduğu bulunmuştur. Tüm etanol ekstreleri içinde ise en yüsksek verimin ÖR1K'e (%16.773) sahip olduğu ve genel olarak ekstre verimlerinin birbirine yakın ve yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.1 *Thymbra* türlerinin ekstre verimi ve tür kısaltmaları

***Thymbra* Türü**	**Tür Kodu**	**Türlerin ekstre % verimi (g/g)**
T. spicata var. *spicata* uçucu yağ	ÖR1ES	4.94
T. spicata. var. *spicata* kök	ÖR1K	16.77
T. spicata var. *spicata* toprak üstü	ÖR1TÜ	11.87
T. sintenisii. subsp. *sintensii* uçucu yağ	ÖR2ES	1.41
T. sintenisii subsp. *sintensii* kök	ÖR2K	13.09
T. sintenisii subsp. *sintensii* toprak üstü	ÖR2TÜ	15.98
T. sintenisii subsp. *isaurica* uçucu yağ	ÖR3ES	1.89
T. sintenisii. subsp. *isaurica* kök	ÖR3K	11.99
T. sintenisii. subsp. *isaurica* toprak üstü	ÖR3TÜ	13.75

4.2 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin GC-MS ile Yağ Asidi Analizi Sonuçları

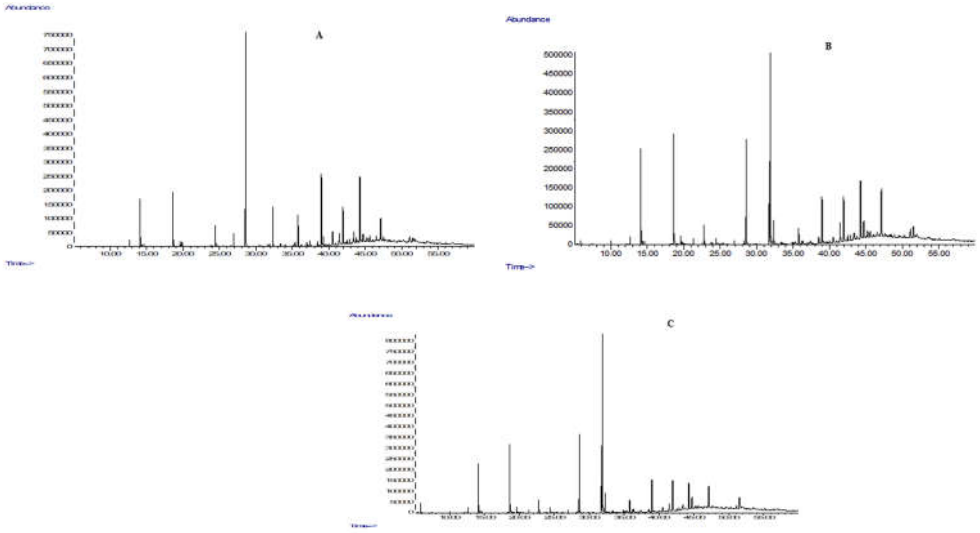
Çalışılan 3 *Thymbra* türünün tüm kısımları kullanılarak hazırlanan petrol eteri ekstresinin yağ asidi içeriği GC-MS ile tespit edilmiştir (Tablo 4.2). ÖR1 (*T. spicata* var. *spicata)*, ÖR2 (*T. sintenisii* subsp. *sintensii*), ÖR3 (*T. sintenisii* subsp. *isaurica*) türlerinin yağ asidi içeriği %100 oranında aydınlatılmış (Tablo 4.2) ve kromatogramları Şekil 4.1'de verilmiştir. ÖR1 için 6 bileşen, ÖR2 için 8 bileşen, ÖR3 için 7 bileşen belirlenmiştir. ÖR1'in ilk 3 ana bileşeninin palmitik asit (%47.96), behenik asit (%18.17) ve lignoserik asit metil ester (%11.91) olduğu, ÖR2 için *α*-linolenik asit (%40,37), palmitik asit (%18.48), linoleik asit (%11.29), ÖR3 için ise *α*-

linolenik asit (%41.36), palmitik asit (%18.03) ve linoleik asit (%14.39) olduğu belirlenmiştir. Örnekler kendi aralarında değerlendirildiğinde ÖR1'in palmitik asit bakımından zengin olduğu ve *α*-linolenik asit içermediği, aksine ÖR2 ve ÖR3'ün ana bileşeninin ise *α*-linolenik asit olduğu tespit edilmiştir.

Literatürde *Thymbra* türleri ile yapılmış yağ asidi kompozisyonu belirleme çalışması bulunmamaktadır. Bununla birlikte Daga vd., (2022) Lamiaceae familyasına ait 5 tür ile (*Ocimum basilicum* L., *Majorana hortensis* Moench., *Origanum vulgare* L., *Rosmarinus officinalis* L., ve *Thymus vulgaris* L.) yağ asidi bileşimi belirleme çalışması yapmıştır. Çalışma sonuçlarına göre *α*-linoleik asit ve palmitik asitin türler için ana bileşen olduğunu belirlemişlerdir. Literatürde bulunan sonuçlar tez kapsamında çalışılan 3 *Thymbra* türü için bulduğumuz sonuçlarla karşılaştırıldığında ÖR1'in *α*-linoleik asit içermemekle birlite ana bileşenin palmitik ve araşidik asit olduğu, ÖR2 ve ÖR3 için ise bulunan sonuçların literatür ile paralel olduğu belirlenmiştir. Tez kapsamında ilk kez *T. spicata, T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica* türlerinin yağ asidi kompozisyonu belirlenmiş ve literatüre kazandırılmıştır.

Tablo 4.2 *Thymbra* türlerinin petrol eteri ekstrelerinin yağ asidi içerikleri

No	RT	Bileşenler	ÖR1	ÖR2	ÖR3
1	24.42	Miristik asit (C14:0)	4.89	1.24	-
2	28.57	Palmitik asit (C16:0)	47.96	18.48	18.03
3	31.74	Linoleik asit (C18:2n6c)	-	11.29	14.39
4	31.86	Alfa-Linolenik asit (C18:3n6)	-	40.37	41.36
5	32.31	Stearik asit (C18:0)	9.19	4.44	4.67
6	35.78	Araşidik asit (C20:0)	7.88	3.35	3.22
7	38.97	Behenik asit (C22:0)	18.17	10.13	8.93
8	41.94	Lignoserik asit metil ester	11.91	10.70	9.40
Toplam Tanımlanan (%)			**100.00**	**100.00**	**100.00**



Şekil 4.1 A: ÖR1, B:ÖR2, C:ÖR:3'e ait petrol eteri ekstrelerinin yağ asidi kromatogramları.

4.3 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin Uçucu Yağ ve Aroma Analiz Sonuçları

Çalışılan *Thybmra* türlerinin uçucu yağ içeriği GC-MS/FID cihazı ile tespit edilmiştir (Tablo 4.3). ÖR1ES, ÖR2ES, ÖR3ES türlerinin uçucu yağ bileşimi sırasıyla %98.89, %98.56, %98.35 oranında aydınlatılmıştır ve uçucu yağların içeriğinde sırasıyla 21, 24 ve 23 tane bileşen bulunduğu belirlenmiştir. Çalışılan örneklerde en çok bulunan üç ana bileşene bakıldığında ÖR1ES için karvakrol (%71.19), *γ*-terpinen (%13.54) ve *o*-simen (% 5.00) olduğu tespit edilmiştir. ÖR2ES'de ise ana bileşelerin karvakrol (%66.78), *o*-simen (% 12.14) ve *γ*-terpinen (%4.02) olduğu, ÖR3ES'e bakıldığında ise ana bileşenlerin yine karvakrol (%63.78), *o*-simen (% 11.58) ve *γ*-terpinen (%9.32) olduğu belirlenmiştir. Örnekler kendi aralarında değerlendirildiğinde karvakrol bakımından en zengin olan örneğin ÖR1ES (%71.19) olduğu görülmektedir. Ayrıca ÖR1ES'de *γ*-terpinen miktarının %13.54, ÖR2ES ve ÖR3ES örneklerinden daha yüksek (sırasıyla %4.02 ve %9.32) olduğu belirlenmiştir. *o*-simen miktarları incelendiğinde ise ÖR1ES için %5.00, ÖR2ES ve ÖR3ES için sırasıyla %12.14 ve %11.58 olduğu bulunmuştur. Elde edilen verilere bakıldığında *γ*-terpinen'in ÖR1ES için ikincil ana bileşen, *o*-simen'in ise ÖR2ES ve ÖR3ES için ikincil ana bileşen olduğu tespit edilmiştir.

GC-MS ile yapılan uçucu yağ içeriği çalışmalarına bakıldığında Shahmohammadi vd., (2021) *T. spicata* uçucu yağındaki ana bileşenlerin izotimol (%36.24), *γ*-terpinen

(%17.94), *o*-simen (%10.92) olduğunu, Markovic vd., (2011) ise *T. spicata* uçucu yağındaki ana bileşenlerin karvakrol (%74,5) ve *γ*-terpinen (%11.2) olduğunu tespit etmişlerdir. Kızıl (2009) *T. sintenisii* ile yaptığı çalışmada türe ait uçucu yağda bulunan ana bileşenlerin karvakrol (%74.35), *p*-simen (%8.69) ve , *γ*-terpinen (%8.13) olduğunu belirlemiştir. Biavati vd., (2004) yaptıkları çalışmada *T. sintenisii* subsp. *isaurica*'in uçucu yağ içeriğindeki ana bileşenlerin *p*-simen (%37.44), karvakrol (%32.22), burneol (%5.98) ve *γ*-terpine (%5.40) olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin tez kapsamında elde ettiğimiz sonuçlarla paralel olduğu görülmektedir.

Çalışılan *Thybmra* türlerinin toprak üstü kısımlarının aroma içeriği Headspace-GC-MS/FID ile tayin edilmiştir (Çizelge 4.3). ÖR1, ÖR2 ve ÖR3'ün aroma içeriği bileşimi sırasıyla %99.33, %98.03, %99.07 oranında aydınlatılmış ve sırasıyla 22, 23 ve 19 tane bileşen bulunduğu belirlenmiştir. Aroma içerikleri incelendiğinde en çok bulunan üç ana bileşenin ÖR1 için *γ*-terpinen (%42.02), karvakrol (%21.12) ve *o*-simen (%12.21) olduğu, ÖR2 için *o*-simen (%35.44), karvakrol (%20.79) ve karyofillen (%16.93) olduğu, ÖR3 için ise *γ*-terpinen (%31.44), karvakrol (%24.71) ve *o*-simen (%19.14) olduğu tespit edilmiştir. Üç örnek kendi aralarında karşılaştırıldığında karyofillen'in ÖR1 ve ÖR3'de ana bileşenler arasında bulunmazken ÖR2'de (%16.93) ana bileşenler arasında olduğu belirlenmiştir. Karvakrol açısından en zengin türün ÖR3 (%24.71) olduğu ve türlerin karvakrol mikralarının birbirine yakın olduğu bulunmuştur. *γ*-terpinen miktarı bakımından türler incelendiğinde ise en zengin türün ÖR1 (%42.02) olduğu, *o*-simen miktarı açısından en zengin türün ise ÖR2 (%35.44) olduğu tespit edilmiştir.

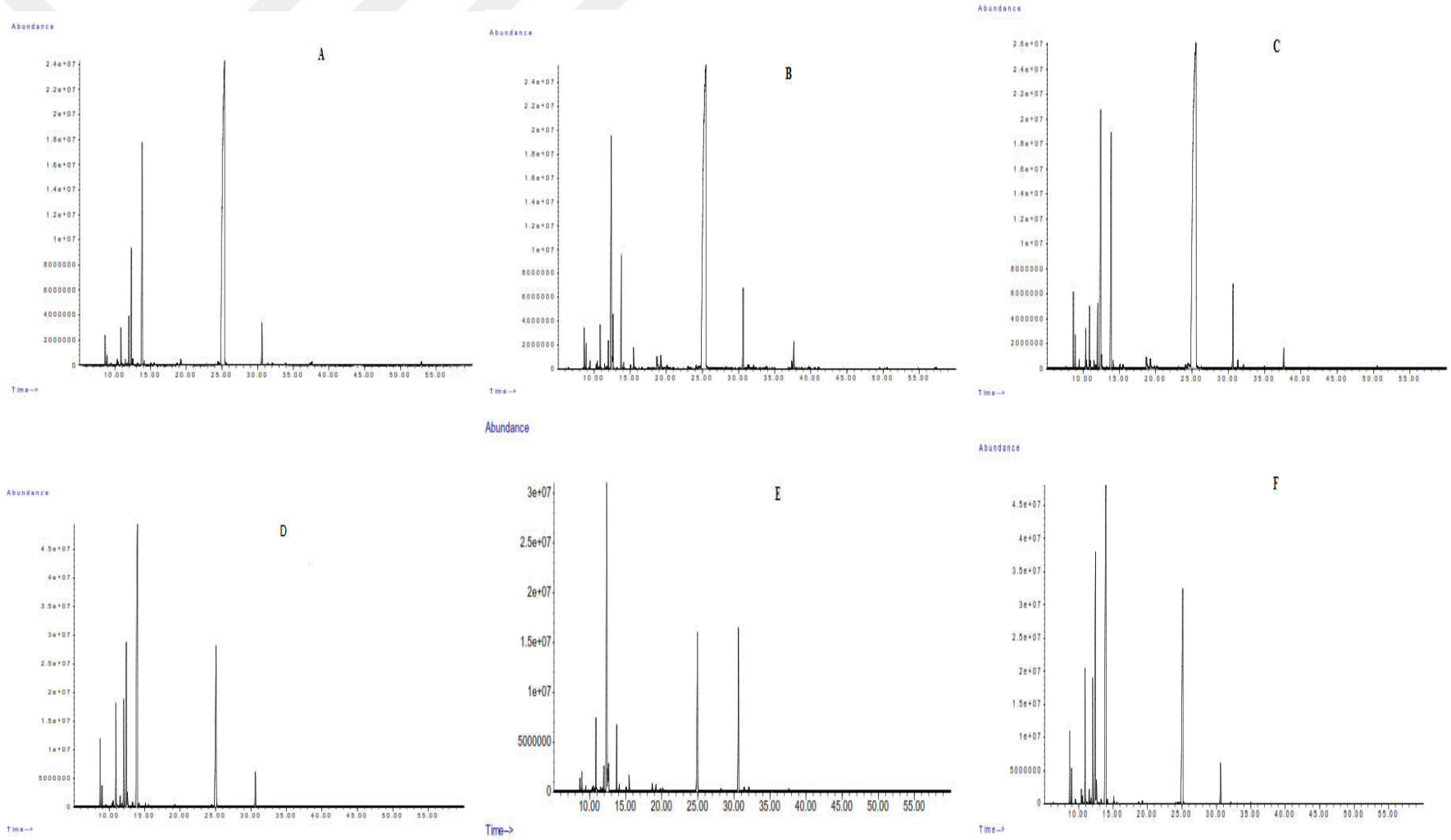
Literatürde *T. spicata* ile yapılmış aroma içeriği belirleme çalışmaları bulunmasına rağmen *T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica* ile yapılmış çalışma bulunmamaktadır ve ilk kez bu tez kapsamında çalışılmıştır. Çelik vd., (2020), yaptıkları bu çalışma ile Türkiye'de yetişen Lamiaceae familyasının beş türünün (*Thymus cilicicus, Clinopodium nepeta* L., *Nepeta italica* L., *T. spicata* ve *Ziziphora clinopodioides*) uçucu organik bileşiklerini SPME/GC-FID/MS yöntemi ile tanımlamıştır. Tanımlanan toplam 73 bileşik arasında en fazla bulunanların *α*-pinen (%2.2-13.8), *β*-pinen (%0.3-25.9), *p*-simen (%0.7-17.9), *γ*-terpinen (%0.4-22.0),

karvakrol (%0.1-40.2), sabinen (%1.2-%34.2), terpinen-4-ol (%0.2-27.5), (E)-*β*-karyofillen (%0.1-13.8) ve (E)-*β*-farnesen (%0.4-19.7) olduğunu belirlemişleridir. Daha önce yapılan çalışmaların tez kapsamında elde edilen sonuçları desteklediği görülmektedir.

Genel olarak uçucu yağ ve aroma sonuçları karşılaştırıldığında türlerin karvakrol miktarlarının aroma örneklerinde uçucu yağ örneklerine göre azaldığı, *o*-simen miktarlarının arttığı belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen verilere göre *Thymbra* cinsine ait bu üç türün karvakrol kaynağı olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.3 *Thymbra* türlerinin uçucu yağ ve aroma analiz sonuçları

	Uçucu yağ analiz sonuçları					Aroma analiz sonuçları				
No	**RI[a]**	**Bileşenler[b]**	**ÖR1ES**	**ÖR2ES**	**ÖR3ES**	**RI**	**Bileşenler**	**ÖR1**	**ÖR2**	**ÖR3**
1	927	3-Tujen	0.94	1.01	1.52	929	3-Tujen	3.35	0.83	2.80
2	934	*α*-Pinen	0.32	0.65	0.68	936	α-Pinen	1.07	1.28	1.38
3	950	Kampen	0.05	0.22	0.19	952	Kampen	0.11	0.41	0.19
4	975	1-Okten-3-ol	0.22	0.14	0.97	977	1-Okten-3-ol	0.18	0.31	0.67
5	979	*β*-Pinen	0.11	0.23	0.18	981	*β*-Pinen	0.32	0.39	0.37
6	990	*β*-Mirsen	1.29	1.22	1.39	992	*β*-Mirsen	6.20	5.39	6.39
7	1006	*α*- Felandren	0.20	0.14	0.19	1008	*α*- Felandren	0.64	0.32	0.67
8	1018	*α*-Terpinen	1.91	0.91	1.68	1013	3-Karen	0.23	0.24	0.26
9	1026	*o*-Simen	5.00	12.14	11.58	1020	*α*-Terpinen	6.53	1.94	6.13
10	1030	Limonen	0.36	0.45	0.51	1028	*o*-Simen	12.21	35.44	19.14
11	1033	Ökaliptol	-	1.65	-	1030	Limonen	-	2.34	1.57
12	1061	*γ*-Terpinen	13.54	4.02	9.32	1031	*β*- Felandren	1.39	-	-
13	1068	Terpineol	0.18	0.24	0.20	1033	Ökaliptol	-	1.97	-
14	1090	Terpinolen	-	0.12	0.12	1048	*β*-Okimen	0.37	-	0.24
15	1099	Linalool	0.12	0.80	0.20	1065	*γ*-Terpinene	42.02	4.98	31.44
16	1169	endo-Borneol	0.11	0.88	0.68	1067	Terpineol	0.23	0.51	0.37
17	1180	Terpinen-4-ol	0.42	0.81	0.56	1091	Terpinolen	0.25	0.42	-
18	1199	*β*-Fenkil Alkol	-	0.37	0.11	1099	Linalool	-	1.29	-
19	1291	Timol	0.35	0.49	0.67	1169	endo-Borneol	0.09	0.77	0.12
20	1310	Karvakrol	71.19	66.78	63.78	1180	Terpinen-4-ol	0.14	0.69	0.15
21	1427	Karyofillen	2.22	3.54	2.91	1193	*β*-Fenkil Alkol	0.05	0.18	-
22	1461	*α*-Humulen	0.10	0.23	0.11	1291	Timol	0.16	0.15	0.11
23	1586	Spatülenol	0.11	0.33	0.10	1305	Karvakrol	21.12	20.79	24.71
24	1593	Karyofilen oksit	0.15	1.19	0.70	1428	Karyofillen	2.61	16.93	2.36
25	-	-	-	-		1461	*α*-Humulen	0.07	0.46	-
Toplam Tanımlanan (%)			**98.89**	**98.56**	**98.35**	**Toplam Tanımlanan (%)**		**99.33**	**98.03**	**99.07**
a: Kovartz Endeksi, b:HP-SMS kolonu										



Şekil 4.2 A:ÖR1ES, B:ÖR2ES ve C:ÖR3ES'ye ait uçucu yağ kromatogramları; D:ÖR1, E:ÖR2, F:ÖR3'ye ait aroma kromatogramları.

4.4 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin Etanol Ekstrelerinin LC-MS/MS ile Kantitatif Analizinin İncelenmesi

Çalışılan üç türün toprak altı (K) ve toprak üstü (TÜ) etanol ekstrelerinin fenolik içeriği daha önce grubumuz tarafından geliştirilen ve valide edilen LC-MS/MS metodu ile belirlenmiştir (Yılmaz vd., 2018). Örneklerin etanol ekstrelerinin ÖR1K için 16 bileşen, ÖR1TÜ için 18 bileşen, ÖR2K için 15 bileşen, ÖR2TÜ için 18 bileşen, ÖR3K için 17 bileşen, ÖR3TÜ için 18 bileşen içerdiği tespit edilmiştir (Tablo 4.4) . Elde edilen sonuçlar incelendiğinde ÖR1K için üç ana bileşenin hesperidin (27174.64 µg analit/g ekstre), rozmarinik asit (9875.75) ve malik asit (2862.41) olduğu, ÖR1TÜ için hesperidin (9151.19), rozmarinik asit (5735.78) ve naringenin (3228.28) olduğu, ÖR2K için hesperidin (20297.3), rozmarinik asit (11571.54) ve malik asit (1079.38) olduğu, ÖR2TÜ için hesperidin (32910.02), nikotiflorin (6723.16) ve rozmarinik asit (6223.42) olduğu, ÖR3K için hesperidin (24169.69), rozmarinik asit (5538.63) ve malik asit (2692.59) olduğu, ÖR3TÜ için ise yine rozmarinik asit (5343.08), hesperidin (3900.28) ve naringenin (2342.18) olduğu belirlenmiştir.

Elde dilen veriler ışığında çalışılan üç türün de yüksek oranda hesperidin, rozmarinik asit, naringenin ve malik asit içerdiği görülmektedir. Örneklerin toprak üstü etanol ekstrelerinde bulunan bileşen sayısının ve miktarının genel olarak toprak altı etanol ekstresinde bulunan bileşen sayısından daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca genel olarak örneklerin kök ve toprak üstü etanol ekstrelerinin benzer içeriğe sahip olduğu gözlemlenmiştir. Literatürde bu çalışma ile paralel olarak özellikle Labiateae familyasında çalışılan tüm türlerin toprak üstü kısımlarının fenolik ve flavonoid içerikleri bakımından daha zengin olduğu söylenebilir. Akdeniz vd., (2021) *Salvia multicaulis* ile yaptığı çalışmada hem doğal hem de kültüre alınan bitki örneklerinin rosmarinik asit (sırasıyla 27.65 ve 26.25 mg analit/g ekstrakt) yönünden zengin olduğunu bulmuşlardır. Aydın vd., (2021) *Salvia marashica* ile yaptıkları çalışmada yüseksek seviyede antioksidan özelliklere sahip metanol ekstraktının LC-MS/MS analizinde rosmarinik asit (33330.62±1534.89 µg analit/g) bakımından çok zengin olduğunu ve diğer bileşenlerin *t*-kafeik asit (752.65±35.39), tannik asit (346.55±12.83), kinik asit (333.45±12.31), protokateşik asit (234.62±8.98) olduğunu tespit etmişlerdir. Oreopoulou vd., (2018) Labiateae familyasına ait *Origanum dictamnus, O. hirtum, O. onites, R. officinalis* ve *S. thymbra* ile çalışmış ve LC-MS

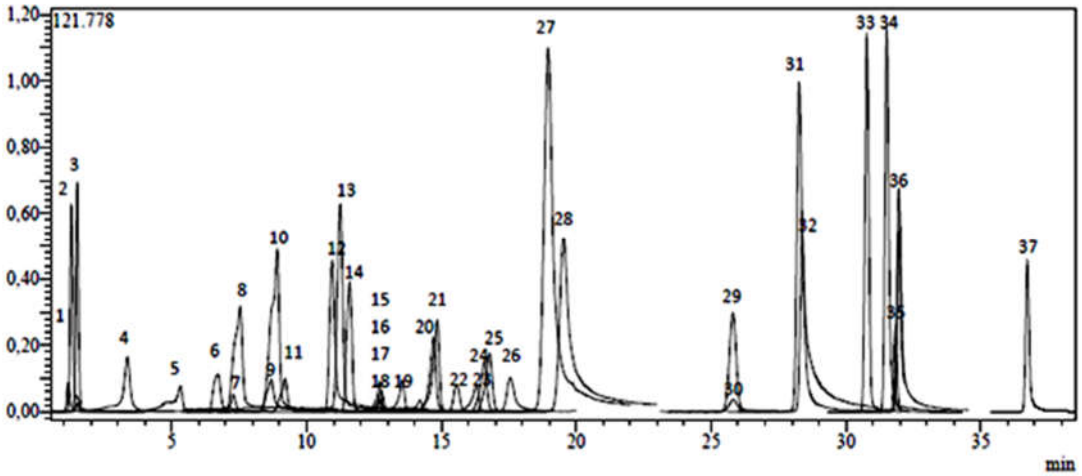
analizi sonucunda türlere ait tüm ekstraktların kafeik asit ve rozmarinik asit gibi fenolik asitler açısından zengin olduğunu, *R. officinalis*'in ise karnosik asit açısından zengin olduğunu belirlemişlerdir.

Literatürde *Thymbra* türlerinin fenolik ve flavonoid içerikleri ile ilgili çalışmalara bakıldığında ise Khalil vd., (2019) *T. spicata* ile taptıkları çalışmada etanolik ekstraktın rozmarinik asit (%38.6) bakımından zengin olduğunu belirlemişlerdir. Gedikoğlu vd., (2019) yaptıkları çalışmada *T. spicata* metanol ve etanol özütlerinin kimyasal bileşimi karşılaştırmışlardır. *T. spicata* için rozmarinik asidin etanol ekstraktında %7.65, metanol ekstraktında %15.65 olarak bulmuşlardır. Askun vd., (2009), yaptıkları çalışmada *T. spicata* için karvakrol, rozmarinik asit, hesperidin ve naringenini başlıca fenolik bileşikler olarak tanımlamışlardır. Literatürde bulunan sonuçlar genel olarak tez kapsamında *T. spicata* için elde edilen verilerle paralellik gösterirken, *T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica* ile yapılan çalışma bulunmamaktadır ve ilk kez bu tez kapsamında çalışılmıştır.

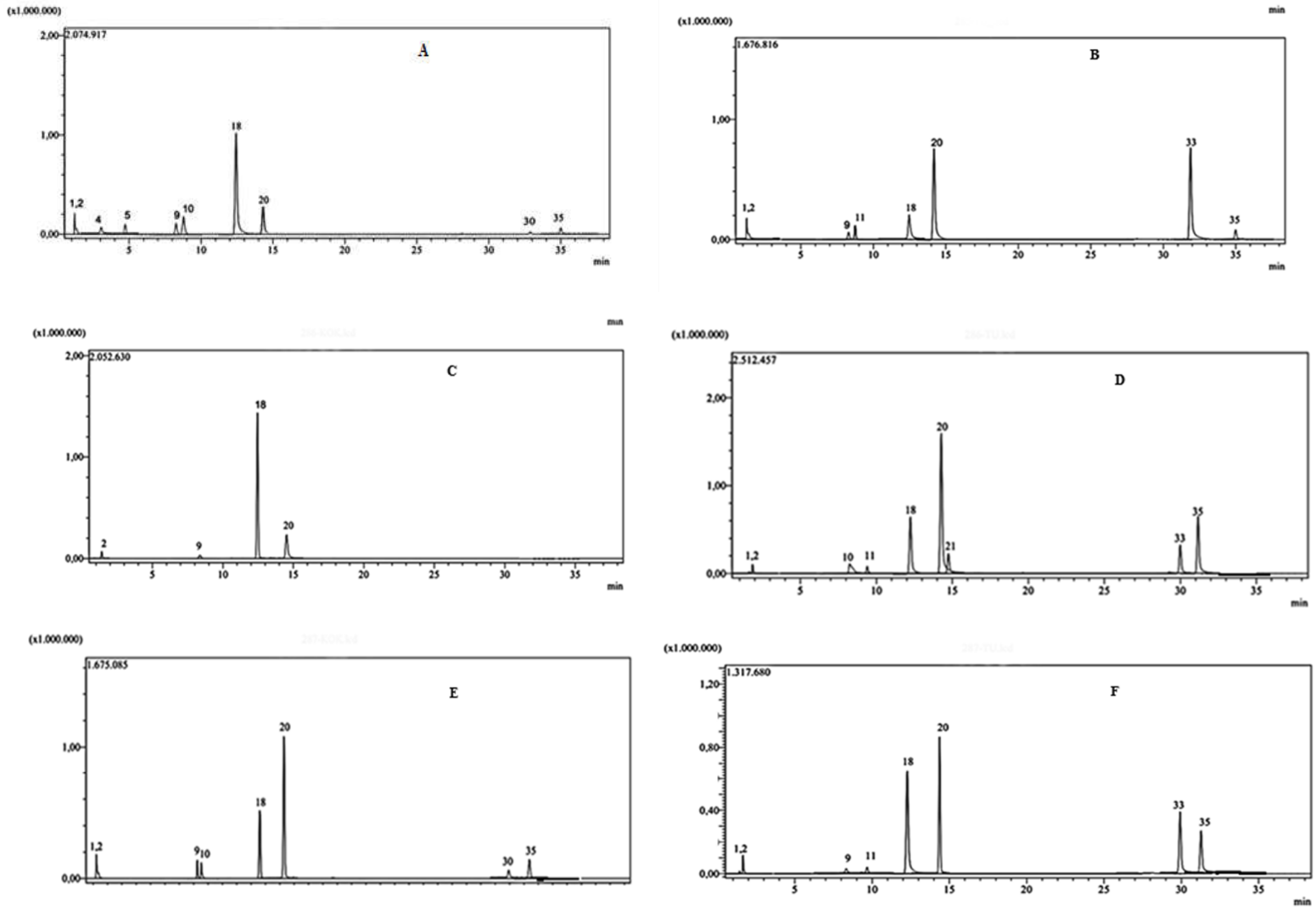
Tablo 4.4 *Thymbra* türlerinin etanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analiz sonuçları (µg analit/g ekstre)

	Analit	Ana İyon(m/z)[b]	RT[a]	U[f]	ÖR1K	ÖR1TÜ	ÖR2K	ÖR2TÜ	ÖR3K	ÖR3TÜ
1	Kinik asit	190.95	1.13	0.0082	92.99	48.53	99.25	174.58	73.01	113.64
2	Malik asit	133.00	1.23	0.0113	2862.41	246.29	1079.38	507.35	2692.59	597.11
3	Fumarik asit	115.00	1.48	0.0124	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
4	Gallik asit	168.85	3.00	0.0282	10.95	43.39	10.13	16.17	8.64	18.78
5	Protokateşik asit	152.95	4.93	0.0411	16.21	7.61	28.13	57.03	12.82	27.30
6	Pirokatekol	109.00	6.48	0.0235	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
7	Klorojenik asit	353.15	7.13	0.0069	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	11.73
8	4-OH-benzoik asit	136.95	7.39	0.0289	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
9	Vanilik asit	166.90	8.57	0.0508	112.97	198.39	230.55	411.38	189.12	237.31
10	Kafeik asit	178.95	8.80	0.0354	129.10	111	215.61	327.63	114.72	82.21
11	Sirinjik asit	196.95	9.02	0.0238	9.40	281.14	2.78	258.31	111.01	265.57
12	Vanilin	151.00	10.87	0.0280	48.04	21.28	71.56	45.29	33.87	12.1
13	Salisilik asit	136.95	11.16	0.0329	7.93	16.88	3.52	15.39	8.14	39.68
14	*p*-Kumarik asit	162.95	11.53	0.0516	11.77	58.3	19.92	62.06	19.83	47.61
15	Rutin	609.05	12.61	0.0159	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
16	Ferulik asit	192.95	12.62	0.0494	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
17	Sinapinik asit	222.95	12.66	0.0281	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
18	Hesperidin	610.90	12.67	0.0262	27174.64	9151.19	20297.3	32910.02	24169.69	3900.28
19	İzokersitrin	463.00	13.42	0.0133	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
20	Rozmarinik asit	359.00	14.54	0.0713	9875.75	5735.78	11571.54	6223.42	5538.63	5343.08
21	Nikotiflorin	593.05	14.68	0.0276	51.08	61.7	29.76	6723.16	158.76	20.61
22	o-kumarik asit	162.95	15.45	0.0513	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
23	Roifolin	577.05	16.11	0.0941	6.11	36.66	N.D.	255.61	10.53	7.53
24	Kersitrin	447.15	16.41	2.0079	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
25	Apigetrin	431.00	16.59	0.0597	N.D.	12.54	N.D.	137.07	N.D.	N.D.
26	Kumarin	147.05	17.40	0.0237	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
27	Mirisetin	317.00	18.72	0.0126	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
28	Fisetin	284.95	19.30	0.0148	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
29	Sinnamik asit	147.00	25.61	0.0143	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
30	Likiritigenin	254.95	25.62	0.0341	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
31	Kersetin	300.90	28.17	0.0543	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
32	Luteolin	284.75	28.27	0.0174	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
33	Naringenin	284.75	30.68	0.0521	9.80	3228.28	23.45	1283.39	270.84	2342.18
34	Apigenin	270.95	31.43	0.0650	N.D.	43.94	N.D.	29.94	4.73	56.03
35	Hesperetin	268.95	31.76	0.0562	241.26	532.63	536.67	3919.57	594.47	1960.14
36	Kamferol	300.95	31.88	0.0209	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
37	Krisin	284.75	36.65	2.0083	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

RT[a]: Alıkonma zamanı, Ana iyon(m/z)[b]:Standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), U[f] (%):%95 güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2), N.D.: Gözlemlenmedi



Şekil 4.3 LC-MS/MS yöntemiyle analiz edilen 37 standart kimyasalın TIC kromatogramı



Şekil 4.4 A:ÖR1K, B:ÖR1TÜ, C:ÖR2K, D:ÖR2TÜ, E:ÖR3K ve F:ÖR3TÜ etanol ekstrelerinin LC-MS/MS standart kromatogramı

4.5 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları

Çalışılan *Thymbra* türlerinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının etanol ekstrelerinin ve uçucu yağ örneklerinin antioksidan aktiviteleri DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi ve CUPRAC (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemleriyle belirlenmiştir. Tüm antioksidan aktivite yöntemlerinde standart madde olarak α-TOC ve BHT kullanılmıştır.

4.5.1 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin DPPH Serbest ve ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Sonuçları

DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yönteminde çalışılan *Thymbra* türlerinin toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin uçucu yağlarına göre daha aktif olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.5). Örnekler içinde ÖR1ES'in (IC_{50}:103.36±1.90 µg/mL) en düşük aktiviteyi, ÖR1K'ün (IC_{50}:24.50±1.32 µg/mL) ise en yüksek aktiviteyi gösterdiği bulunmuştur. Toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin kendi aralarında karşılaştırılması sonucunda birbirlerine yakın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi sergilediği görülmektedir. Ayrıca ÖR1K (IC_{50}:24.50±1.32 µg/mL), ÖR2K (IC_{50}:41.99±1.12 µg/mL), ÖR2TÜ (IC_{50}:28.66±0.77 µg/mL), ÖR3K (IC_{50}:48.91±2.66 µg/mL), ÖR3TÜ (IC_{50}:46.30±0.66 µg/mL) örneklerinin standart referans olan BHT'ye (IC_{50}:60.43±0.50 µg/mL) göre daha yüksek α-TOC'a (IC_{50}:15.98±0.79 µg/mL) göre ise daha düşük aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Literatüre baktığımızda Kirkan vd., (2019) yaptıkları çalışmada *T. spicata* uçucu yağının DPPH serbest radikali giderim aktivitesini IC_{50}:121.94 ± 0.44 µg/mL, Saidi vd., (2012) IC_{50}:1.28 µg/mL olarak, Eruygur vd., (2017) *T. spicata*'nın etanol ekstresinin aktivitesini IC_{50}:16.91 µg/mL olarak, Tutar vd., (2018) *T. sintenisii'*nin etanol ekstresinin aktivitesini IC_{50}:12.5 µg/ml, Hepokur vd., ise *T. sintenisii* subsp. *isaurica*'nın etanol eksraktının aktivitesini IC_{50}: 27.15 µg/mL olarak belirlemişlerdir.

Çalışılan *Thymbra* türlerinin ABTS katyon radikali giderim aktivitesi sonuçları (Tablo 4.5) incelendiğinde ise uçucu yağların toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerine göre daha aktif olduğu belirlenmiştir. Uçucu yağlar içinde en yüksek aktiviteyi ÖR2ES (IC_{50}:1.50±0.014 µg/ml) gösterirken ÖR1ES (IC_{50}:1.80±0.053 µg/mL) ve ÖR3ES (IC_{50}:1.80±0.012 µg/mL) yakın seviyede aktivite sergilemektedir. Türlerin etanol

ekstreleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise toprak üstü etanol ekstrelerinin toprak altı etanol ekstrelerine göre daha aktif olduğu ve etanol ekstreleri içinde en aktif örneğin ÖR3TÜ (IC_{50}:4.96±0.087 µg/mL) olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca tüm uçucu yağların standart referanslar olan α-TOC (IC_{50}:9.57±2.50 µg/mL) ve BHT'ye (IC_{50}:11.46±2.1 µg/mL) göre çok yüksek, etanol ekstrelerinin ise yüksek seviyede ABTS katyon radikali giderim aktivitesi sergilediği tespit edilmiştir.

Literatürde yapılan çalışmalarda Sengun vd.,'nin (2021), *T. spicata'*nın sulu ekstraktı ve uçucu yağının ABTS radikalinin sırasıyla %91.89'unu ve %98.28'ini inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Kirkan vd., (2019), *T. spicata* uçucu yağının ABTS katyon radikali giderim aktivitesini IC_{50}:276.08 ± 2.39 mg/L, Eruygur vd., (2017) *T. spicata'*nın etanol ekstresinin aktivitesini IC_{50}: 5.2 ± 0.009 µg/mL olarak tespit etmişlerdir. Literatürde de görüldüğü üzere *T. spicata* uçucu yağı ve etanol ekstresi yüksek seviyede ABTS katyon radikali giderim aktivitesi sergilemekte ve varolan sonuçlar tez kapsamında elde edilen verilerle pararlellik göstermektedir. Ayrıca literatürde *T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica'*nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi üzerine çalışma bulunmamaktadır ve tez kapsamında ilk kez çalışılmıştır. Genel olarak bakıldığında üç türün literatür ile paralel olarak tüm uçucu yağ ve etanol ekstrelerinin DDPH serbest radikali giderim aktivitesi yönteminde orta, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yönteminde ise çok yüksek seviyede antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.5 Çalışılan *Thymbra* türlerinin DPPH ve ABTS yöntemlerine göre antioksidan aktivite sonuçları

Tür kodları	DPPH Serbest Radikali (IC_{50}, µg/mL)	ABTS Katyon Radikali (IC_{50}, µg/mL)
ÖR1ES	103.36±1.90	1.80±0.05
ÖR1K	24.50±1.32	10.77±0.95
ÖR1TÜ	73.53±1.79	5.25±0.80
ÖR2ES	65.16±1.22	1.50±0.01
ÖR2K	41.99±1.12	11.46±1.97
ÖR2TÜ	28.66±0.77	7.68±0.06
ÖR3ES	161.30±3.25	1.80±0.04
ÖR3K	48.91±2.66	13.75±0.04
ÖR3TÜ	46.30±0.66	4.96±0.09
α-TOC	**15.98±0.79**	**9.57±2.50**
BHT	**60.43±0.50**	**11.46±2.1**

a: Sonuçlar IC_{50} değerleri olarak verilmiştir. Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

4.5.2 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin CUPRAC Yöntemindeki Absorbans Sonuçları

Çalışılan *Thymbra* türlerinin antioksidan aktiviteleri ayrıca CUPRAC (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi ile de bakılmıştır (Tablo 4.6). Elde edilen sonuçlar incelendiğinde türelerin uçucu yağ örneklerinin etanol ekstrelerine göre daha yüksek CUPRAC aktivitesi sergilediği görülmektedir. Tüm örnekler içinde ÖR1ES'nin ($A_{0.5}$:1.30±0.12 µg/mL) en yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Etanol ekstreleri içinde ise en yüksek aktiviteyi ÖR1TÜ'nün ($A_{0.5}$: 6.31±0.08 µg/mL) sergilediği görülmektedir ve genel olarak toprak üstü kısımlarının etanol ekstrelerinin toprak altına göre daha aktif olduğu belirlenmiştir. Ayrıca her 3 uçucu yağın da birbirlerine yakın ve standart referans olan BHT ($A_{0.5}$:13.73±0.24 µg/mL) ve α-TOC'e ($A_{0.5}$:14.44±0.17 µg/mL) karşı oldukça yüksek aktivite sergiledikleri tespit edilmiştir.

Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında Kirkan vd., (2019), *T. spicata* uçucu yağının CUPRAC aktivitesini 138.38±1.91 mg/L olarak belirlemişlerdir. Yine Labiateae familyasına ait *Thymus* türleri ile yapılan çalışmalara bakıldığında Küçükaydın vd., (2021) *Thymus cariensis* Hub.-Mor. & Jalas ve *T. cilicicus* Boiss. & Balansa'nın metanol ekstraktlarının CUPRAC aktivitelerini sırayla $A_{0.50}$: 29.54±0.05 µg/mL ve $A_{0.5}$:24.79±0.02 µg/mL olarak bulmuşlardır. Djebili vd., (2021)

Thymus algeriensis ve *Origanum glandulosum* 'un uçucu yağı ile yaptıkları çalışmada CUPRAC aktivitelerini sırası ile $A_{0.50}$:29.21±0.74 µg/mL $A_{0.50}$:38.08±0.70 µg/mL olarak belirlemişlerdir. Literatürde *T. spicata* ile yapılmış sınırlı sayıda CUPRAC aktivitesi belirleme çalışması bulunmasına rağmen *T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica* ile yapılan çalışma bulunmamaktadır ve tez kapsamında ilk kez çalışılmıştır.

Çalışılan *Thymbra* türlerinin genel olarak CUPRAC yönteminde ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yönteminde olduğu gibi çok yüksek bir potansiyelinin olduğu belirlenmiştir. Yine bu sonuçların LC-MS/MS içerik sonuçları ile parallelik gösterdiği görülmektedir. Bu çalışmanın aksine literatürde *T. spicata* uçucu yağının CUPRAC aktivitesinin düşük olduğu belirlenmiştir. Bu değişimin türlerin yetiştikleri bölgelerin iklim ve toprak yapısından etkilendiği söylenebilir.

Tablo 4.6 Çalışılan *Tyhmbra* türlerinin CUPRAC aktivite sonuçları

Tür kodları	1 µg/mL	2.5 µg/mL	5 µg/mL	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	$A_{0.5}$ (µg/ml)
ÖR1ES	0.46±0.01	0.65±0.02	0.92±0.12	2.56±0.78	≥4	≥4	≥4	1.30±0.12
ÖR1K	-	-	-	0.42±0.02	0.80±0.03	1.41±0.06	0.14±0.01	13.43±0.16
ÖR1TÜ	-	-	-	0.45±0.03	1.12±0.05	1.84±0.05	3.04±0.03	6.31±0.08
ÖR2ES	0.34±0.02	0.58±0.03	0.75±0.22	1.69±0.32	≥4	≥4	≥4	1.52±0.01
ÖR2K	-	-	-	0.36±0.04	0.72±0.02	1.23±0.02	2.26±0.03	15.61±0.20
ÖR2TÜ	-	-	-	0.31±0.05	0.72±0.04	0.36±0.03	0.40±0.06	196.2±2.01
ÖR3ES	0.39±0.04	0.68±0.04	0.82±0.11	2.28±0.30	≥4	≥4	≥4	1.42±0.10
ÖR3K	-	-	-	0.22±0.02	0.452±0.04	0.77±0.05	1.57±0.02	29.28±1.81
ÖR3TÜ	-	-	-	0.39±0.03	0.799±0.03	1.42±0.07	1.92±0.45	8.066±0.05
BHT	**0.21±0.02**	**0.39±0.03**	**0.41±0.02**	**0.47±0.045**	**1.28±0.08**	**2.08±0.11**	**3.85±0.14**	**13.73±0.24**
***α*-TOC**	**0.17±0.04**	**0.32±0.01**	**0.38±0.03**	**0.43±0.01**	**0.52±0.60**	**2.16±0.10**	**3.88±0.03**	**14.44±0.17**

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

4.6 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin Enzim İnhibisyon Aktivite Sonuçları

4.6.1 Çalışılan *Thymbra* türlerinin antikolinesteraz aktivite sonuçları

Çalışılan *Thymbra* türlerinin antikolinesteraz aktiviteleri asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzim inhibisyonu yöntemlerine göre belirlenmiştir (Tablo 4.7).

Çalışılan örneklerin toprak altı, toprak üstü etanol ekstrelerinin ve uçucu yağ örneklerinin asetilkolinesteraz enzim inhibisyon sonuçları irdelendiğinde toprak altı kısımlarının düşük, toprak üstü kısımlarının orta, uçucu yağların ise yüksek düzeyde asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Tüm örnekler içerisinde ÖR3ES'in (%İnhibisyon:95.65±1.45) en yüksek

asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesini gösterdiği tespit edilmiştir. Toprak altı kısımlarında en yüksek asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesini ÖR2K (%İnhibisyon:46.04±1.09), toprak üstü kısımlarında ise ÖR2TÜ (%İnhibisyon:49.49±0.97) göstermektedir. Genel olarak uçucu yağlar incelendiğinde ÖR3ES'nin (%İnhibisyon:95.65±1.45) satandart galantamin'e (%İnhibisyon:79.13±0.33) göre çok yüksek seviyede, ÖR1ES (%İnhibisyon: 76.09±1.63) ve ÖR2ES'nin (%İnhibisyon:78.52±1.81) ise satandart galantamin düzeyinde asetilkolinesteraz enzim inhibibe edici aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışılan türlerin bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları incelendiğinde ekstrelerin tümünün yüksek seviyede aktivite sergilediği görülmektedir (Tablo 4.7). Örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise AChE yönteminin aksine toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin uçucu yağlara göre daha aktif olduğu belirlenmiştir ve tüm örnekler içinde ÖR2K'nin (%İnhibisyon:99.98±0.19) en yüksek bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Uçucu yağlar içinde en aktif örneğin ÖR1ES (%İnhibisyon:97.94±0.71) olduğu, belirlenmiştir. Genel olarak bakıdığında ekstrelerin tümünün standart galantamin'e (%İnhibisyon:76.12±0.83) göre çok yüksek seviyede bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi sergilediği ve bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi üzerinde oldukça etkili olduğu görülmektedir.

Thymbra türlerinin antikolinesteraz aktiviteleri sonuçlarına göre en yüksek asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesini ÖR3ES (%İnhibisyon:95.65±1.45) gösterirken, en yüksek bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesini ise ÖR2K'ün (%İnhibisyon:99.98 ±0.19) sergilediği tespit edilmiştir. Genel olarak çalışılan türlerin antikolinesteraz inhibitörü olma potansiyeline sahip olduğu görülmektedir. Bu çerçevede daha detaylı çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı aşikardır.

Eruygur vd., (2021) *T. spicata*'nın etanol ekstraktı ile yaptıkları çalışmada standart takrine karşı AChE ve BChE değerlerini sırasıyla IC_{50}:0.23 µg/mL ve IC_{50}:1.64 µg/mL olarak bulmuşlardır. Küçükaydın vd., (2021) Labiateae familyasına ait *Thymus cariensis* ve *T. cilicicus'*un hekzan, metanol ve aseton ekstrelerinin AChE ve BChE aktivitelkerini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda test edilen bitki ekstreleri

arasında, *T. cariensis*'in metanol ekstresi, AChE (IC_{50}:68.65±0.08 µg/mL) ve BChE'ye (IC_{50}:102.3±0.80 µg/mL) karşı en yüksek inhibitör aktiviteyi göstermiştir. AChE'ye karşı, *T. cilicicus* ve *T. cariensis*'in aseton ekstraktları da sırasıyla 75.61±0.48 ve 87.10±0.25 µg/mL IC_{50} değerleriyle güçlü inhibitör aktivite göstermiştir. *T. cilicicus* metanol ekstraktının (IC_{50}:177.5±0.60 µg/mL) ve *T. cariensis* heksan ekstraktının (IC_{50}:190.2±0.18 µg/mL) AChE'ye karşı orta düzeyde aktivite, BChE'ye karşı düşük aktivite (IC_{50}:>200 µg/mL) gösterdiğini belirlemişlerdir. Yapılan çalışmada AChE ve BChE'ye karşı, IC_{50} değerleri sırasıyla 5.42±0.10 ve 45.80±0.90 µg/mL olan galantamin referans bileşik olarak kullanılmıştır. Yine Yener (2020) Labiateae familyasına ait *Salvia poculata'*nın AChE enzimine karşı aktif olmadığını, ancak kök etanol ekstraktının BChE enzimine karşı iyi derecede (%İnhibisyon:63.01±1.12) aktivite gösterdiğini belirlemiştir. Aydın vd., (2021) *Salvia marashica'*nın metanol ve aseton ektraktı ile yaptıkları çalışmada her iki ekstraktın da AChE enzim inhibisyonu göstermediğini ancak BChE enzim inhibisyon testinde metanol ekstraktının (%İnhibisyon:74.59±3.27) aseton ekstraktına (%İnhibisyon:50.63±1.93) göre daha aktif olduğunu belirlemişlerdir. Literatüre bakıldığında *T. spicata* ile yapılmış sınırlı sayıda antikolinesteraz aktivitesi belirleme çalışması bulunmasına rağmen *T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica* ile yapılan çalışma bulunmamaktadır ve tez kapsamında ilk kez çalışılmıştır. Bulduğumuz sonuçlar Labiateae familyasına ait diğer türlerle karşılaştırıldığında genel olarak tez kapsamında çalışılan *Thymbra* türlerinin daha yüksek seviyede antikolinesteraz aktivitesi sergilediği görülmektedir.

Tablo 4.7 Çalışılan *Thymbra* türlerinin antikolinesteraz aktivite sonuçları

Tür Kodları	**AChE (% İnhibisyon)[a]**	**BChE (% İnhibisyon)[a]**
ÖR1ES	76.09±1.63	97.94±0.71
ÖR1K	25.70±1.58	98.71±0.55
ÖR1TÜ	46.93±0.18	96.85±1.22
ÖR2ES	78.52±1.81	97.52±0.35
ÖR2K	46.04±1.09	99.98 ±0.19
ÖR2TÜ	49.49±0.97	98.89±1.06
ÖR3ES	95.65±1.45	94.23±0.61
ÖR3K	40.41±0.43	98.54±0.91
ÖR3TÜ	57.93±0.33	99.82±0.58
Galantamin[b]	79.13±0.33	76.12±0.83

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir (200 µg/mL). b:Standart madde.

4.6.2 Çalışılan *Thymbra* türlerinin üreaz ve tirozinaz aktivite sonuçları

Çalışılan *Thymbra* türlerinin üreaz ve tirozinaz enzim inhibisyon aktiviteleri verilmiştir Tablo 4.8'de verilmiştir.

Elde edilen veriler incelendiğinde türlere ait toprak altı ve toprak üstü etanol ekstreleri üreaz enzim inhibisyon aktivitesi göstermezken, uçucu yağların ise üreaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Uçucu yağlar içinde en yüksek aktiviteyi ÖR3ES (%İnhibisyon:57.14±7.77) göstermektedir. Standart olarak kullanılan tiyoüre (%İnhibisyon:96.15±0.78) ile karşılaştırıldığında ÖR3ES (%İnhibisyon:57.14±7.77), ÖR2ES (% İnhibisyon:42.31±0.78) ve uçucu yağlar içinde en düşük aktiviteyi gösteren ÖR1ES'nin (%İnhibisyon:34.62±2.33) orta seviyede üreaz enzim inhibisyon aktivitesi sergilediği belirlenmiştir.

Çalışılan *Thymbra* türlerinin tirozinaz enzim inhibisyon aktiviteleri incelendiğinde (Tablo 4.8) genel olarak türlere ait uçucu yağların tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi göstermezken, toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin orta düzey tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışılan tüm ekstreler içerisinde en yüksek aktiviteyi ÖR1K (%İnhibisyon:43.58±0.44) ve ÖR2K'ün (%İnhibisyon:43.20±1.21) gösterdiği ve standart kojik asite (%İnhibisyon:91.20±0.73) göre orta seviyede tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi sergiledikleri belirlenmiştir. Yine etanol ekstreleri içerisinde ÖR3K (%İnhibisyon:36.54±3.07) ve ÖR2TÜ'nün (%İnhibisyon:34.78±13.76) standart kojik asite (%İnhibisyon:91.20±0.73) göre düşük seviyede tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesine sahip oldukları tespit edilmiştir. Genel olarak elde edilen veriler incelendiğinde türlere ait uçucu yağların aktif olmadığı, etanol ekstreleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise toprak altı kısımlarının toprak üstüne göre daha aktif olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak çalışılan *Thymbra* türlerinin toprak altı ve toprak üstü etanol ekstreleri üreaz enzim inhibisyon aktivitesi göstermezken uçucu yağların üreaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği, aksine tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesinde ise toprak altı ve

toprak üstü etanol ekstrelerinin aktivite gösterirken uçucu yağların aktif olmadığı belirlenmiştir.

Literatürde *Thymbra* türlerinin antiüreaz ve antitirozinaz aktivitesinin belirlenmesi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmakla birlikte Kirkan vd., (2019) yaptıkları bir çalışmada *T. spicata* uçucu yağının tirozinaz enzim inhibisyon değerini IC_{50}: 19.49 mg/L olarak belirlemiştir ve elde edilen sonuç standart olarak kullanılan kojik aside (IC_{50}: 0.13 mg/L) göre düşük seviyede aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Tez kapsamında gerçekleştirdiğimiz antitirozinaz aktivite belirleme çalışmasında ise *T. spicata, T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica'*ya ait uçucu yağların aktivite göstermezken, her 3 türe ait toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin standart olarak kullanılan kojik aside göre düşük seviyede aktiviteye sahip olduğunu belirlenmiştir. El Aanachi vd., (2021), Lamiaceae familyasına ait *S. officinalis*, *O. majorana*, *Marrubium vulgare*, *M. spicata, Mentha pulegium,* ve *Lavandula pinnata* türlerinin metanol ekstrelerinin antiüreaz ve antitirozinaz aktivitesini belirlemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda ekstrelerin antitirozinaz enzim aktivitesini *S. Officinalis* (%İnhibisyon:94.57±0.11 µg/mL), *O. majorana* (%İnhibisyon:91.30±0.17), *M. vulgare* (%İnhibisyon:82.74±0.64), *M. spicata* (%İnhibisyon:89.91±0.40), *M. pulegium* (% İnhibisyon: 84.82 ± 0.55) ve *L. pinnata* (%İnhibisyon:87.17 ± 0.10) olarak bulmuşlardır. Standart olarak kullanılan kojik aside (%İnhibisyon:66.95±2.24) göre bütün bitki ekstrelerinin yüksek sevide antitirozinaz inhibisyon aktivitesine sahip olduğu, en aktif türün ise *S. officinalis* olduğunu belirlemişlerdir. Yine bu türlere ait metanol ekstrelerinin antiüreaz enzim aktivitesini *S. Officinalis* (%İnhibisyon:86.22±0.78), *O.majorana* (%İnhibisyon:89.41± 0.28), *M. vulgare* (%İnhibisyon:88.59±0.25), *M. spicata* (%İnhibisyon:61.96± 0.39), *M. pulegium* (%İnhibisyon:2.89±1.03) ve *L. pinnata* (%İnhibisyon:88.23±0.45) olarak bulmuşlardır. Sonuçlar standart olarak kullanılan tiyoüre (% İnhibisyon: 98.90 ± 0.05) ile karşılaştırıldığında bütün ekstrelerin yüksek seviyede antiüreaz inhibisyon aktivitesine sahip olduğu en aktif türün ise *O. Majorana* olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan çalışmalara bakıldığında Lamiaceae familyasına ait türlerin genel olarak yüksek seviyede tirozinaz ve üreaz enzim aktivitesine sahip olduğu görülmektedir. Literatürde *Thymbra* türü ile yapılmış sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Lamiaceae familyasındaki diğer türlerin aksine tez kapsamında yaptığımız çalışma sonucunda

Thymbra türüne ait her 3 örneğinde düşük seviyede tirozinaz ve üreaz enzim aktivitesi sergilediği belirlenmiştir. Ayrıca *T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica* ile tez kapsamında ilk kez üreaz ve tirozinaz aktivitesi belirleme çalışması yapılmış ve literatüre kazandırılmıştır.

4.6.3 Çalışılan *Thymbra* türlerinin elastaz enzim inhibisyon aktivite sonuçları

Thymbra türlerine ait örneklerin elastaz enzim inhibisyon aktivite sonuçları Tablo 4.8' de verilmiştir.

Örneklere ait sonuçlar incelendiğinde ÖR1ES'nin aktivite göstermediği ve genel olarak uçucu yağ, toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin standart oleanolik asite (%İnhibisyon:35.70±0.46) göre orta veya düşük seviyede elastaz enzim inhibisyon aktivitesi sergilediği belirlenmiştir. Tüm örnekler içinde en aktif örneğin ise ÖR2K (%İnhibisyon:15.47±0.46) olduğu ve standart oleanolik asite (%İnhibisyon: 35.70±0.46) göre orta derecede elastaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir.

Literatürde *Thymbra* türleri ile yapılmış elastaz enzim inhibisyon aktivite belirleme çalışması bulunmamaktadır. Bakır vd., (2020) Lamiaceae familyasından olan *Salvia hypargeia* Fisch. & C.A.Mey. ile yaptığı çalışmada türün yaprak, dal, çiçek ve karışık etanol ekstrelerinin standart oleanolik asite (%İnhibisyon:39.48±0.33) karşı aktivite göstermediğini fakat kök kısmından elde edilen etanol ekstresinin yüksek seviyede (%İnhibisyon:41.83±1.05) aktivite sergilediğini belirlemişlerdir. Tez kapsmında ilk kez çalışılan üç *Thymbra* türünün elastaz enzim inhibisyon aktivitesi belirlenip literatüre kazandırılmıştır.

4.6.4 Çalışılan *Thymbra* türlerinin kollajenaz enzim inhibisyon aktivite sonuçları

Thymbra türlerine ait örneklerin kollajenaz enzim inhibisyon aktivite sonuçları Tablo 4.8' de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde üç örneğe ait uçucu yağ, toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin standart epikateşin gallata (% İnhibisyon:79.84±1.78) göre düşük

düzeyde kollajenaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Tüm örnekler içinde en aktif örneğin ÖR2TÜ (%İnhibisyon:17.36±0.95) olduğu ve epikateşin gallata (% İnhibisyon:79.84±1.78) göre düşük seviye kollajenaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği bulunmuştur. Tablo 4.8'de görüldüğü üzere ÖR2'ye ait uçucu yağ, toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin diğer iki türe göre daha aktif olduğu belirlenmiştir.

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde Lamiaceae familyasına ait olan *Salvia aramiensis* Rech. f türü ile Karatoprak vd., (2020) yaptığı çalışmada, türe ait %70'lik metanol ekstresinin kollajenaz enzim inhibisyon aktivitesini 50, 100 ve 200 µg/mL'de belirlemiş ve 25 µg/mL konsantrasyonundaki rozmarinik asidi pozitif kontrol olarak kullanmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda (% İnhibisyon:69.54±1.49) ve 200 µg/mL (%İnhibisyon:72.66±0.70) konsantrasyonlarında *S. aramiensis* ekstraktları ile pozitif kontrol olarak kullanılan rosmarinik asit (%İnhibisyon:72.89±0.99) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. ($p>0.05$). *S. aramiensis* ekstraktının farklı konsantrasyonlarının kollajenaz enzim inhibisyonu %66.64-72.66 arasında bulunmuştur. Literatürde *Thymbra* türleri ile yapılmış kollajenaz enzim inhibisyon aktivitesini belirleme çalışması bulunmamakla birlikte çalıştığımız türler olan *T. spicata*, *T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica* ile tez kapsamında ilk kez çalışma yapılıp sonuçlar literatüre kazandırılmıştır.

Tablo 4.8 Çalışılan *Thymbra* türlerinin antiüreaz, antitirozinaz, antielastaz, antikollajenaz, ACE aktivite sonuçları

Tür Kodları	Üreaz (% İnhibisyon)[a]	Tirozinaz (%İnhibisyon)[a]	Elastaz (%inhibisyon)[a]	Kollajenaz (%İnhibisyon)[a]	ACE (%İnhibisyon)[a]
ÖR1ES	34.62 ± 2.33	A.D.	A.D.	10.57±0.30	A.D.
ÖR1K	A.D.	43.58 ± 0.44	7.31±1.85	1.57 ± 1.90	A.D.
ÖR1TÜ	A.D.	16.67 ± 8.05	7.31±7.38	13.55± 0.19	19.4±0.014
ÖR2ES	42.31 ± 0.78	A.D.	13.99±10.88	13.11±0.30	A.D.
ÖR2K	A.D.	43.20 ± 1.21	15.47±0.46	11.31±2.38	A.D.
ÖR2TÜ	A.D.	34.78 ± 13.76	9.92±6.46	17.36±0.95	10.1±0.06
ÖR3ES	57.14 ± 7.77	A.D.	13.29±1.98	10.36±0.60	A.D.
ÖR3K	A.D.	36.54 ± 3.07	9.92±3.69	8.96±0.01	A.D.
ÖR3TÜ	A.D.	A.D.	11.23±0.92	8.79±0.24	A.D.
Tiyoüre[b]	**96.15±0.78**	-	-	-	-
Kojik Asit[b]	-	**91.20 ± 0.73**	-	-	-
Oleanolik Asit[b]	-	-	**35.70±0.46**	-	-
Epikateşin Gallat[b]	-	-	-	**79.84±1.78**	-
Lisinopril[b]	-	-	-	-	**100.1±0.94**

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir (200 µg/mL).

d: Standart madde. A.D.: Aktif değil

4.6.5 Çalışılan *Thymbra* türlerinin anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibisyon aktivite sonuçları

Thymbra türlerine ait örneklerin ACE enzim inhibisyon aktivite sonuçları Tablo 4.8' de da verilmiştir.

Çalışılan *Thymbra* türlerinin ACE enzim inhibisyon aktivite sonuçları incelendiğinde genel olarak uçucu yağ ve toprak altı etanol ekstrelerinin aktivite göstermediği, sadece ÖR1TÜ (%İnhibisyon:19.40±0.01) ve ÖR2TÜ'nün (%İnhibisyon:10.10±0.06) standart lisinoprile (%İnhibisyon:100.10±0.94) göre düşük düzeyde ACE enzim inhibisyon aktivitesi sergilediği tespit edilmiştir.

Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında Loizzo vd., (2008), Lamiaceae familyasına ait *Salvia acetabulosa*'nın metanol ekstraktının ACE enzim inhibisyon aktivitesini IC_{50}:52.7 µg/mL, *Marrubium radiatum*'un kloroform ektsraktının aktivitesini IC_{50}:72.8 µg/mL, *Calamintha origanifolia'*nın kloroform ektsraktının aktivitesini IC_{50}:106.2 µg/mL, *Hyssopus officinalis'*ın n-hekzan ektsraktının

aktivitesini IC_{50}:52.0 µg/mL olarak bulmuşlar ve kaptoprili pozitif kontrol ACE inhibitörü olarak kullanmışlardır. Yapılan çalışma Lamiaceae familyasına ait çalışılan bu türlerin güçlü birer ACE enzim inhibitörü olduğunu ortaya koymaktadır. Tez kapsamında *Thymbra* türleriyle yaptığımız çalışmada ise *T. spicata*, *T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica'*nın uçucu yağlarının ACE enzim inhibisyon aktivitesi göstermediği, toprak altı ve toprak üstü etanol eksrelerinden de sadece ÖR1TÜ (%İnhibisyon:19.4±0.01) ve ÖR2TÜ'nün (%İnhibisyon:10.10±0.06) standart lisinoprile (%İnhibisyon:100.10±0.94) göre düşük düzeyde ACE enzim inhibisyon aktivitesi sergilediği tespit edilmiştir. Literatürde tez kapsamında çalışılan *Thymbra* türleriyle ilgili ACE enzim inhibisyon aktivitesi çalışması bulunmamakla birlikte ilk kez tez kapsamında çalışılmış ve sonuçlar literatüre kazandırılmıştır.

4.7 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Thymbra türlerine ait üç uçucu yağın gram-negatif, gram-pozitif ve maya bakterileri üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerlerine göre belirlenmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde üç uçucu yağın da kullanılan bakterilere karşı orta düzeyde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve MİK değerlerinin 312 µg/mL ile 1250 µg/mL arasında değiştiği tespit edilmiştir (Tablo 4.9).

Literatürde *T. spicata* ile yapılmış antimikribiyal aktivite çalışmaları incelendiğinde Marković vd., (2011), *T. spicata* uçucu yağının gram pozitif ve nagatif bakteriler olan *Escherichia coli (*ATCC 35210*), Pseudomonas aeruginosa (*ATCC 27853*), Salmonella typhimurium (*ATCC 13311*), Listeria monocytogenes (*NCTC 7973*), Enterococcus faecalis (human isolate), Bacillus cereus (clinical isolate), Micrococcus flavus (*ATCC 10240*) ve Staphylococcus aureus (*ATCC 6538*)* üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda *T. spicata* uçucu yağının sırasıyla 0.1 µg/mL ve 0.6 µg/mL'lik çok düşük MİK ve MBC ile Gram negatif bakteri *P. aeruginosa*'ya karşı en iyi antibakteriyel aktiviteyi gösterdiğini belirlemişlerdir. En dirençli bakterilerin ise MİK değeri 1.25 µg/mL ve MBC değeri 2.5 µg/mL olan *L. monositogenleri* olduğunu kanıtlanmışlardır ve ayrıca aktivitesinin aynı olduğu *M. flavus* ve *E. faecalis* hariç tüm vakalarda streptomisinden daha yüksek

bir antibakteriyel potansiyel gösterdiği bulunmuştur. Tutar vd., (2018), *T. sintenisii'*nin toprak üstü kısmının etanol ekstraktının antimikrobiyal aktivitesini *Klebsiella pneumoniae (*ATCC 10031*), Shigella boydii (*ATCC 9905*), Pseudomonas aeruginosa (*ATCC 27853*), Proteus vulgaris (*ATCC 7829*), Staphylococcus aureus (*ATCC 25923*), Bacillus cereus (*ATCC 10987*), P. aeruginosa, Acinetobacter baumannii, S. Aureus* bakteri üzerinde belirlemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda *T. sintenisii*'nin uçucu yağında bulunan timol'ün (%64.97), gram-pozitif ve negatif-bakterilerin çoğuna karşı bakteriyostatik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *S. boydii* ve *P. aeruginosa* (klinik izolat) suşlarına karşı *T. sintenisii* aktivitesi 0,5 mg/mL, diğer bakteri suşlarına karşı ise ≥2 mg/mL MİK değeri tespit edilmiştir. Ekstrakt, 0.06 mg/mL ile *C. tropikalis*'e karşı oldukça güçlü bir aktivite göstermiştir. *T. sintenisii* etanol ekstraktının antimikrobiyal aktivite düzeyi MİK değerleri açısından karşılaştırıldığında, en güçlü etkiyi önce *C. tropikalis*, ardından *S. boydii* ve *P. aeruginosa* suşlarına karşı gösterdiği tespit edilmiştir. Test edilen diğer suşlara karşı antimikrobiyal etkinin daha zayıf olduğu bulunmuştur.

Tablo 4.9 *Thymbra* türlerine ait uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi

	MİK Değeri (µg/mL)				
	Gram-negatif Bakteriler		**Gram-pozitif Bakteriler**		**Maya Bakterileri**
Örnek	***E. coli***	***P. aeruginosa***	***S. aureus***	***S. Pyogenes***	***C. albicans***
ÖR1ES	1250±0.44	312±0.5	1250±0.32	312±0.11	625±0.20
ÖR2ES	625±0.20	312±0.16	625±0.44	625±0.21	625±0.36
ÖR3ES	1250±0.83	312±0.20	1250±0.52	312±0.29	312±0.46
Pozitif Kontrol	**7.815±0.4**	**na**	**1.95±0.3**	**7.815±0.1**	**3.125±0.2**

4.8 Çalışılan *Thymbra* Türlerinin Sitotoksisite Sonuçları

Thymbra türlerine ait uçucu yağ, toprak üstü ve toprak altı etanol ekstrelerinin toksik etkileri sağlıklı hücre serisi (PDF) üzerinde, sitotoksik etkileri ise kanserli MCF-7 (meme kanseri) ve HT-29 (kolon kanseri) üzerinde MTT yöntemi ile tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde çalışılan tüm örneklerin HT-29 ve MCF-7 hücreleri üzerinde düşük sitotoksik etkiye, PDF hücreleri üzerinde ise toksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.10). Bu nedenle bu türlerin halk arasındaki kullanımında dikkat edilmesi gerektiği söylenebilir.

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde Tutar vd., (2018) *T. sintenisii'*nin toprak üstü kısmının etanol ekstraktının toksik aktivitesini MCF-7 (insan meme kanseri hücre dizisi, ATCC HTB-22), MG63 (insan osteosarkom hücre dizisi, ATCC CRL-1427) üzerinde belirlemişler ve sağlıklı L929 fare fibroblast hücre hattını kontrol olarak kullanmışlardır. Yapılan çalışma sonuçlarına göre ekstraktın 40 µg/mL ve üzeri konsantrasyonlarda her iki hücre hattı üzerinde sitotoksik etkileri olduğu bulunmuş ve IC_{50} değerleri 24 saatte MG63 için 37.28 µg/mL, MCF-7 için 44.40 µg/mL ve L929 için 44.84 µg/mL olarak belirlemişlerdir. Yine Eruygur vd., (2017) *T. spicata* ile yaptıkları çalışmada etanol ekstraktının (IC_{50}:340 µg/mL) MCF-7 kanser hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteye sahip olduğunu, ancak PC-3 insan prostat kanseri hücreleri üzerinde etkili olmadığını göstermektedir. *T. spicata*'nın akciğer kanseri hücre dizisi SK-Mes-1 üzerindeki hidro-alkolik ekstresinin (IC_{50}:110 µg/mL) doza bağımlı olarak sitotoksik etki gösterdiğini belirlenmişlerdir. Hepokur vd., (2020) *T. sintenisii* subsp. *isaurica* etanol ekstraktının MCF-7'nin hücre kültürü üzerindeki IC_{50} değerlerini 24 ve 48 saat boyunca sırasıyla 7.55 µg/mL, 10.48 µg/mL olarak ve L929'un hücre kültürünün IC_{50} değerlerini 24 ve 48 saat boyunca sırasıyla 12.63 µg/mL, 9.26 µg/mL olarak bulmuşlardır.

Tablo 4.10 *Thymbra* türlerinin toksik ve sitotoksik aktivite sonuçları

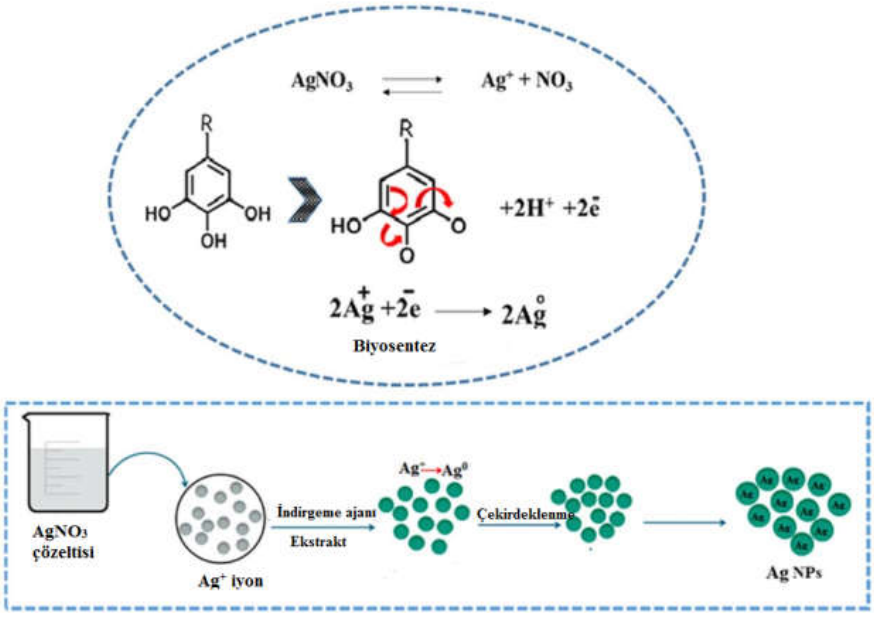
	HT-29	**MCF-7**	**PDF**
Kod	**(200 mg/L)[a]**	**(200 mg/L)[a]**	**(200 mg/L)[a]**
ÖR1ES	145.82±1.23	70.11±1.34	31.63±2.54
ÖR1K	562.40±3.65	99.29±1.52	197.19±3.72
ÖR1TÜ	455.12±0.76	92.67±0.81	46.46±1.53
ÖR2ES	188.54±2.42	56.48±0.49	34.30±0.87
ÖR2K	459.57±1.98	113.36±1.37	47.59±5.01
ÖR2TÜ	677.09±5.71	101.66±1.25	190.27±2.79
ÖR3ES	145.96±1.68	60.39±0.79	24.63±0.48
ÖR3K	956.87±6.32	91.59±3.67	357.25±4.95
ÖR3TÜ	631.54±8.47	96.01±0.93	201.48±1.64

a: 200 mg/L konsantrasyondaki % canlılık değerleri

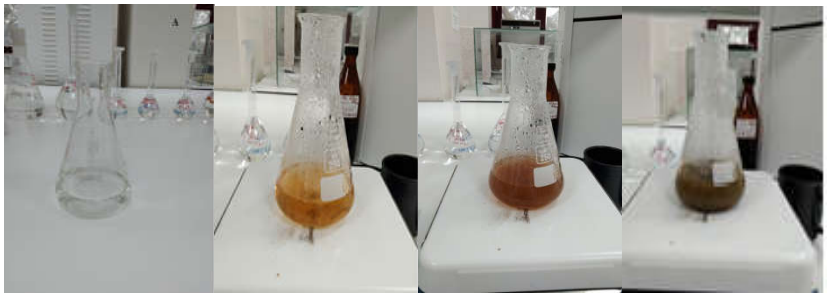
4.9 Elde Edilen Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

4.9.1 Senetzlenen gümüş nanopartiküllerin ultraviyole ve görünür ışık (Uv-Vis) absorpsiyon spektroskopisi sonuçları

UV-vis spektroskopisi, yüzey plazmon rezonans (SPR) fenomeni nedeniyle metalik nanoparçacıkların karakterizasyonunda kullanılan ilk tekniktir. Yüzey plazmon rezonansı, nanoparçacık yüzeyinin etrafındaki iletim bandındaki elektronların toplu olarak uyarılmasıdır ve elektronlar, parçacık boyutu ve şekline göre belirli bir titreşim modu oluşturmaktadırlar. Bu nedenle, metalik nanopartiküller, UV-vis bölgesinde karakteristik optik absorpsiyon spektrumları sergilemektedir (Manju vd.,, 2016). Tez kapsamında indirgeyici ajan olarak 3 farklı uçucu yağ kullanılarak sentezlediğimiz AgNP'lerin etkinliğini doğrulamak için numuneler UV-Vis spektroskopisi ile 300 ila 800 nm arasında analiz edildi ve partikül oluşumu Yüzey Plazmon Rezonans (SPR) bantları ile gözlemlendi. $AgNO_3$ çözeltisine eklenen uçucu yağların içeriğinde bulunan farklı fonksiyonel grupların (alkoller, aldehitler, aminler, karboksil, ketonlar, hidroksil) sahip oldukları hidroksil grubu oksitlenmekte ve iki elektronu serbest bırakmaktadır. Bu elektronlar $2Ag^+$ iyonlarının Ag^0 atomlarına indirgemesi sonucu AgNP'lerin oluşumu meydana getirmektedir (Perveen vd.,, 2021) (Şekil 4.5). Yaptığımız çalışmada bu indirgenme reaksiyonu renksiz çözeltinin sarımsı kahverengiye dönüşmesiyle doğrulanmıştır (Şekil 4.6).



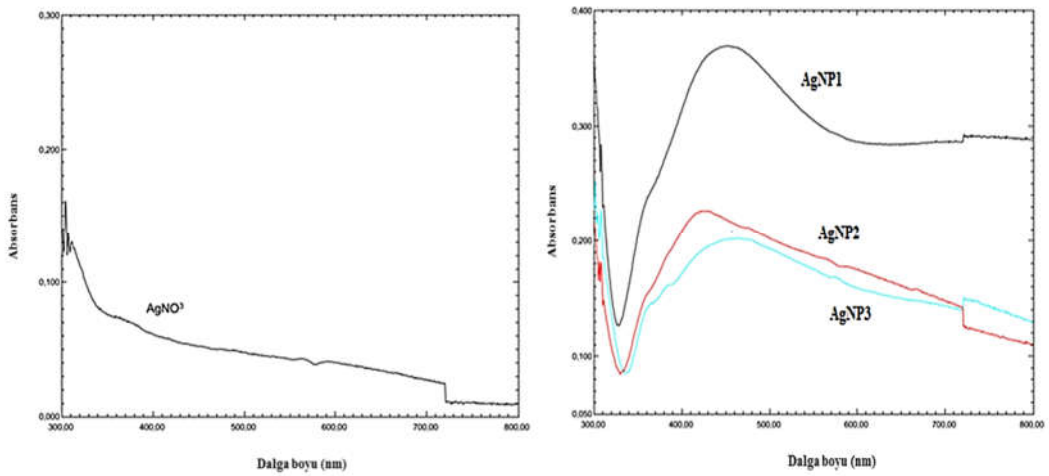
Şekil 4.5 AgNP'rin kimyasal sentezi için olası mekanizma



Şekil 4.6 2 mM renksiz gümüş nitrat çözeltisi ve çözeltiye eklenen uçucu yağ miktarı arttıkça oluşan nanopartiküllerin sebep olduğu renk değişimi

UV bölgesinde, AgNP'ler, nanoparçacık boyutuna bağlı olan yüzey plazmonlarının uyarma modu nedeniyle karakteristik bir absorbans bandı vermektedir. Bu yüzey plazmon rezonans (SPR) bantları, kuantum boyut etkilerine bağlı olarak kırmızıya kayma veya mavi kaymaya maruz kalmaktadır (Vimala vd.,, 2014). Genel olarak, daha yüksek dalga boylarındaki geniş SPR pikleri, partikül boyutu büyümesini gösterirken, daha kısa dalga boyundaki dar pikler daha küçük boyutlu AgNP'lerin oluşumunu doğrulamaktadır (AlMasoud vd.,, 2021) Ayrıca piklerin dar olaması nanopartiküllerin monodispersif olduğu, geniş pik aralığının ise nanopartiküllerin polidispersif olduğunu göstermektedir.

T. spicata, *T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica'*nın uçucu yağlarını kullanarak sentezlediğimiz ve sırasıyla AgNP1, AgNP2 ve AgNP3 kodunu verdiğimiz AgNP'lerin ve $AgNO_3$'ün UV-Vis spektrumları Şekil 4.7'de verilmiştir. Spektrumlar incelendiğinde AgNP1'in 452 nm'de, AgNP2'nin 428 nm'de, AgNP3'ün ise 464 nm'de SPR pikleri verdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca bu dalgaboyu aralığında $AgNO_3$'ün herhangi bir karakteristik piki görülmemiş ve gümüş nitratın AgNP'lere indirgendiği doğrulanmıştır. Elde edilen nanopartiküller kendi aralarında karşılaştırıldığında AgNP2'nin maviye kayma eğilimde olduğu ve diğer 2 nanopartiküle göre daha küçük parçacık boyutuna sahip olduğu, AgNP2 ve AgNP3'ün ise kırmızıya kayma eğilimde olup daha büyük tanecik boyutuna sahip olduğu öngörülmüştür. Genel olarak geniş pik aralığından dolayı 3 nanopartikülün de polidispersif yapıda olduğu düşünülmektedir. Literatürde elde edilen verilere göre 400-500 nm aralığındaki pikler iyi kalitede AgNP'lerin elde edildiğinin göstergesi olarak düşünülmektedir (Al Masoud vd., 2021).



Şekil 4.7 2 mM gümüş nitrat çözeltisi ve sentezlenen nanopartiküllerin UV-Vis spektrumları

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde *Thymbra* türlerine ait uçucu yağlarla yapılmış herhangi bir gümüş nanapartikül sentez çalışması bulunmamaktadır. Bununla birlikte Erci vd. (2017) *T. spicata* sulu ekstraktı ile sentezledikleri AgNPs'nin farklı kosantrasyonlarda UV-Vis ile absorbasını 458 ve 444 nm olarak bulmuşlardır. de Oliveira Brisola Maciel vd., (2020) *Syzygium aromaticum* L.'nin uçucu yağı ile sentezlediklerin AgNP'nin 450 nm'de absarbsiyon piki gösterdiğini belirlemişlerdir. Literatürde *T. spicata* sulu ekstraktı ile sentezlenmiş ve UV-Vis ile karakterize edilmiş sınırlı sayıda gümüş nanopartikül çalışması bulunmasına rağmen *T. spicata*, *T. sintenisii ve T. sintenisii* subsp. *isaurica'*nın uçucu yağları ile sentezlenmiş gümüş nanopartikül çalışması bulunmamakla birlikte ilk kez tez kapsamında çalışılıp literatüre kazandırılmıştır.

4.9.2 Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) sonuçları

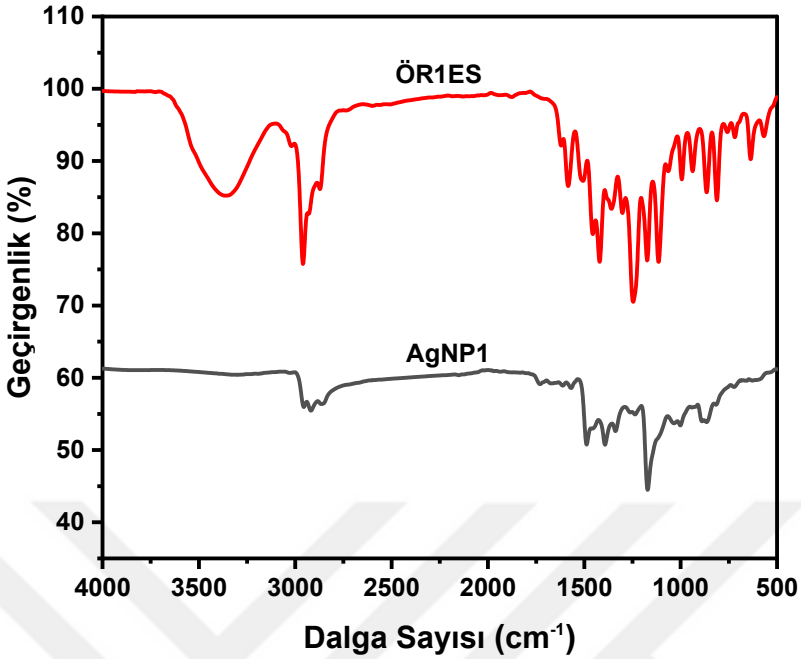
4.9.2.1 AgNP1 ve ÖR1ES'ye aite ait FT-IR sonuçları

AgNP1 ve ÖR1ES'ye aite ait FT-IR spektrumları şekil Şekil 4.8'de verilmiştir.

ÖR1ES'ye ait FT-IR spektrumu incelendiğinde 3365 cm^{-1}'de uçucu yağın içeriğinde bulunan alkol veya fenollere ait O-H gerilmesine ait yayvan bir pik gözlenmektedir. 2959 cm^{-1}'de $–CH_3$ asimetrik gerilmesi, 2928 cm^{-1}'de benzen halkasına bağlı $–CH_2$ asimetrik ve $–CH_3$ simetrik gerilmesi, 2868 cm^{-1}'de $–CH_3$ simetrik gerilme ve bükülmesi, 1618 ve 1583 cm^{-1}'de aromatik halkaya ait C=C-C simetrik gerilmesinden kaynaklanan pikler gözlemlenmektedir. 1456 cm^{-1}'de $-CH_3$ asimetrik bükülme ve –

CH_2 makaslanma, 1420 cm^{-1}'de $–CH_3$ simetrik bükülmesine ait pikler görülmektedir. 1247, 1173, 865 cm^{-1}'de uçucu yağın ana bileşeni olan karvakrolün karakteristik pikleri gözlemlenmiştir (Bertuola vd., 2020). 1115 cm^{-1}'de karvakrolün orto sübtitisyonundan kaynaklanan keskin bir pik ve 994 cm^{-1}'de yine karvakrolün 1:2:4 sübtitisyonundan karakteristik pikleri belirlenmiştir. 1064 cm^{-1}'de eter bileşiklerine ait C-O-C asimetrik gerilmesi, 938 cm^{-1}'de $–CH_2$ dalgalanma, 865 cm^{-1}'de eter bileşiklerine ait –C-O-C simetrik gerilme, 812 cm^{-1}'de ise –C-H düzlem dışı dalgalanmasına ait pikler gözlemlenmiştir.

ÖR1ES ile sentezlenen AgNP1'e ait FT-IR spektrumu incelendiğinde ise ÖR1ES e ait spektrumda 3365 cm^{-1}'de uçucu yağın içeriğinde bulunan alkol veya fenollere ait O-H gerilmesinden kaynaklanan yayvan pikin kaybolduğu belirlenmiştir. Bu durum AgNP'nin oluşumunda O-H fonksiyonel grubunun elektronlarını verip Ag^{+1}'i Ag^0'a indirgeyerek nanopartikül oluşumuna indirgeyici ajan olarak katkı sağladığını söyleyebiliriz. 2956 cm^{-1}'de $–CH_3$ asimetrik gerilmesi, 2918 cm^{-1}'de benzen halkasına bağlı $–CH_2$ asimetrik ve $–CH_3$ simetrik gerilmesi, 2857 cm^{-1}'de $–CH_3$ simetrik gerilme ve bükülmesi, 1613 ve 1566 cm^{-1}'de aromatik halkaya ait C=C-C simetrik gerilmesinden kaynaklanan pikler gözlemlenmektedir. 1487 cm^{-1}'de $-CH_3$ asimetrik bükülme ve $–CH_2$ makaslanma, 1459 cm^{-1}'de $–CH_3$ simetrik bükülmesine ait pikler görülmektedir. 1237, 1171, 865 cm^{-1}'de ise uçucu yağın ana bileşeni olan karvakrolün karakteristik pikleri gözlemlenmiştir. Uçucu yağa ait fonksiyonel grupların FT-IR spektrumunda gözlemlenmesi AgNP1'in oluşumunda uçucu yağa ait bileşenlerin indirgeyici yada stabilize edici ajan olarak görev aldığını kanıtlamaktadır.

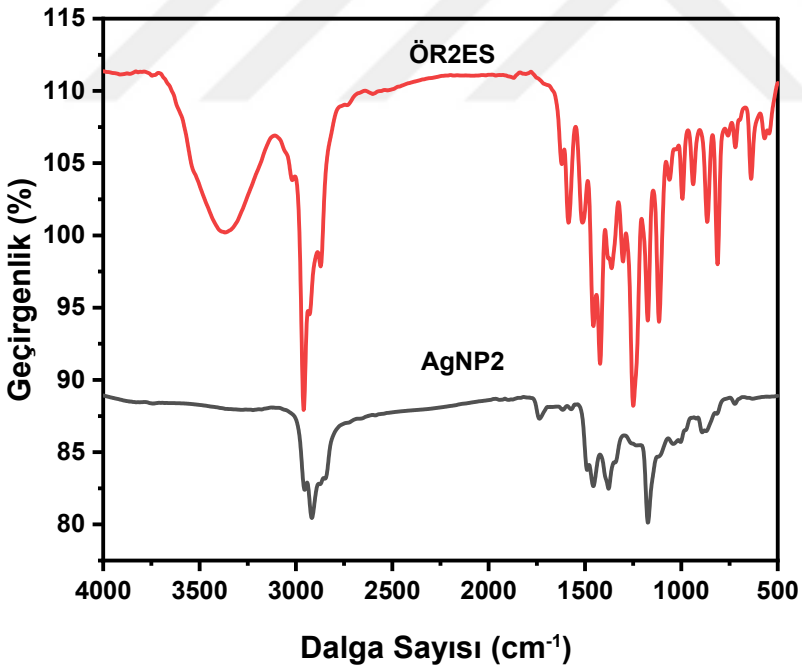


Şekil 4.8 ÖR1ES ve AgNP1'e ait FT-IR spektrumu

4.9.2.2 AgNP2 ve ÖR2ES'ye ait FT-IR sonuçları

AgNP2 ve ÖR2ES'ye aite ait FT-IR spektrumları şekil Şekil 4.9'da verilmiştir. ÖR2ES'ye ait FT-IR spektrumu incelendiğinde 3367 cm^{-1}'de uçucu yağın içeriğinde bulunan alkol veya fenollere ait O-H gerilmesine ait yayvan bir pik gözlenmektedir. 2959 cm^{-1}'de $–CH_3$ asimetrik gerilmesi, 2928 cm^{-1}'de benzen halkasına bağlı $–CH_2$ asimetrik ve $–CH_3$ simetrik gerilmesi, 2867 cm^{-1}'de $–CH_3$ simetrik gerilme ve bükülmesi, 1618 ve 1585 cm^{-1}'de aromatik halkaya ait C=C-C simetrik gerilmesinden kaynaklanan pikler gözlemlenmektedir. 1456 cm^{-1}'de $-CH_3$ asimetrik bükülme ve $–CH_2$ makaslanma, 1421 cm^{-1}'de $–CH_3$ simetrik bükülmesine ait pikler görülmektedir. 1249, 1174, 865 cm^{-1}'de uçucu yağın ana bileşeni olan karvakrolün karakteristik pikleri gözlemlenmiştir (Bertuola vd., 2020). 1115 cm^{-1}'de karvakrolün orto sübtitisyonundan kaynaklanan keskin bir pik ve 994 cm^{-1}'de yine karvakrolün 1:2:4 sübtitisyonundan karakteristik pikleri belirlenmiştir. 1061 cm^{-1}'de eter bileşiklerine ait C-O-C asimetrik gerilmesi, 938 cm^{-1}'de $–CH_2$ dalgalanma, 812 cm^{-1}'de ise –C-H düzlem dışı dalgalanmasına ait pikler gözlemlenmiştir.

ÖR2ES ile sentezlenen AgNP2'e ait FT-IR spektrumu incelendiğinde ise ÖR1ES e ait spektrumda 3365 cm^{-1}'de uçucu yağın içeriğinde bulunan alkol veya fenollere ait O-H gerilmesinden kaynaklanan yayvan pikin kaybolduğu belirlenmiştir. Bu durum AgNP'nin oluşumunda O-H fonksiyonel grubunun elektronlarını verip Ag^{+1}'i Ag^{0}'a indirgeyerek nanopartikül oluşumuna indirgeyici ajan olarak katkı sağladığını söyleyebiliriz. 2956 cm^{-1}'de $–CH_3$ asimetrik gerilmesi, 2917 cm^{-1}'de benzen halkasına bağlı $–CH_2$ asimetrik ve $–CH_3$ simetrik gerilmesi, 2873 cm^{-1}'de $–CH_3$ simetrik gerilme ve bükülmesi, 1615 ve 1572 cm^{-1}'de aromatik halkaya ait C=C-C simetrik gerilmesinden kaynaklanan pikler gözlemlenmektedir. 1486 cm^{-1}'de $-CH_3$ asimetrik bükülme ve $–CH_2$ makaslanma, 1456 cm^{-1}'de $–CH_3$ simetrik bükülmesine ait pikler görülmektedir. 1231, 1173 cm^{-1}'de ise uçucu yağın ana bileşeni olan karvakrolün karakteristik pikleri gözlemlenmiştir. Uçucu yağa ait fonksiyonel grupların FT-IR spektrumunda gözlemlenmesi AgNP2'in oluşumunda uçucu yağa ait bileşenlerin indirgeyici yada stabilize edici ajan olarak görev aldığını kanıtlamaktadır.



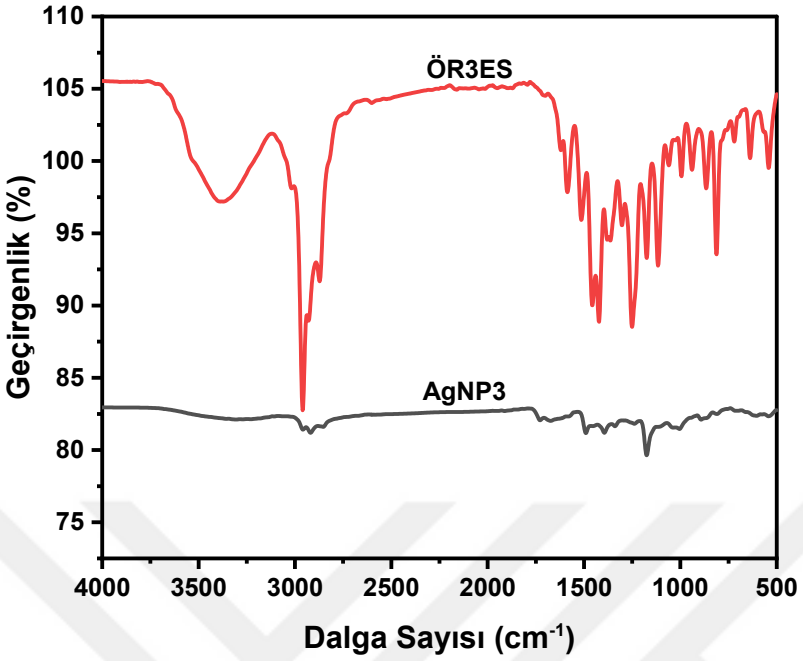
Şekil 4.9 ÖR2ES ve AgNP2'e ait FT-IR spektrumu

4.9.2.3 AgNP3 ve ÖR3ES'ye ait FT-IR sonuçları

AgNP3 ve ÖR3ES'ye aite ait FT-IR spektrumları şekil Şekil 4.10'da verilmiştir.

ÖR3ES'ye ait FT-IR spektrumu incelendiğinde 3370 cm^{-1}'de uçucu yağın içeriğinde bulunan alkol veya fenollere ait O-H gerilmesine ait yayvan bir pik gözlenmektedir. 2959 cm^{-1}'de $–CH_3$ asimetrik gerilmesi, 2928 cm^{-1}'de benzen halkasına bağlı $–CH_2$ asimetrik ve $–CH_3$ simetrik gerilmesi, 2873 cm^{-1}'de $–CH_3$ simetrik gerilme ve bükülmesi, 1618 ve 1586 cm^{-1}'de aromatik halkaya ait C=C-C simetrik gerilmesinden kaynaklanan pikler gözlemlenmektedir. 1457 cm^{-1}'de $-CH_3$ asimetrik bükülme ve $–CH_2$ makaslanma, 1422 cm^{-1}'de $–CH_3$ simetrik bükülmesine ait pikler görülmektedir. 1250, 1174, 865 cm^{-1}'de uçucu yağın ana bileşeni olan karvakrolün karakteristik pikleri gözlemlenmiştir (Bertuola vd., 2020). 1115 cm^{-1}'de karvakrolün orto sübtitisyonundan kaynaklanankeskin bir pik ve 994 cm^{-1}'de yine karvakrolün 1:2:4 sübtitisyonundan karakteristik pikleri belirlenmiştir. 1059 cm^{-1}'de eter bileşiklerine ait C-O-C asimetrik gerilmesi, 939 cm^{-1}'de $–CH_2$ dalgalanma, 812 cm^{-1}'de ise –C-H düzlem dışı dalgalanmasına ait pikler gözlemlenmiştir.

ÖR3ES ile sentezlenen AgNP3'e ait FT-IR spektrumu incelendiğinde ise ÖR3ES'ye ait spektrumda 3370 cm^{-1}'de uçucu yağın içeriğinde bulunan alkol veya fenollere ait O-H gerilmesinden kaynaklanan yayvan pikin kaybolduğu belirlenmiştir. Bu durum AgNP'nin oluşumunda O-H fonksiyonel grubunun elektronlarını verip Ag^{+1}'i Ag^{0}'a indirgeyerek nanopartikül oluşumuna indirgeyici ajan olarak katkı sağladığını söyleyebiliriz. 2956 cm^{-1}'de $–CH_3$ asimetrik gerilmesi, 2917 cm^{-1}'de benzen halkasına bağlı $–CH_2$ asimetrik ve $–CH_3$ simetrik gerilmesi, 2873 cm^{-1}'de $–CH_3$ simetrik gerilme ve bükülmesi, 1615 ve 1572 cm^{-1}'de aromatik halkaya ait C=C-C simetrik gerilmesinden kaynaklanan pikler gözlemlenmektedir. 1486 cm^{-1}'de $-CH_3$ asimetrik bükülme ve $–CH_2$ makaslanma, 1456 cm^{-1}'de $–CH_3$ simetrik bükülmesine ait pikler görülmektedir. 1231, 1173 cm^{-1}'de ise uçucu yağın ana bileşeni olan karvakrolün karakteristik pikleri gözlemlenmiştir. Uçucu yağa ait fonksiyonel grupların FT-IR spektrumunda gözlemlenmesi AgNP3'ün oluşumunda uçucu yağa ait bileşenlerin indirgeyici yada stabilize edici ajan olarak görev aldığını kanıtlamaktadır.



Şekil 4.10 ÖR3ES ve AgNP3'e ait FT-IR spektrumu

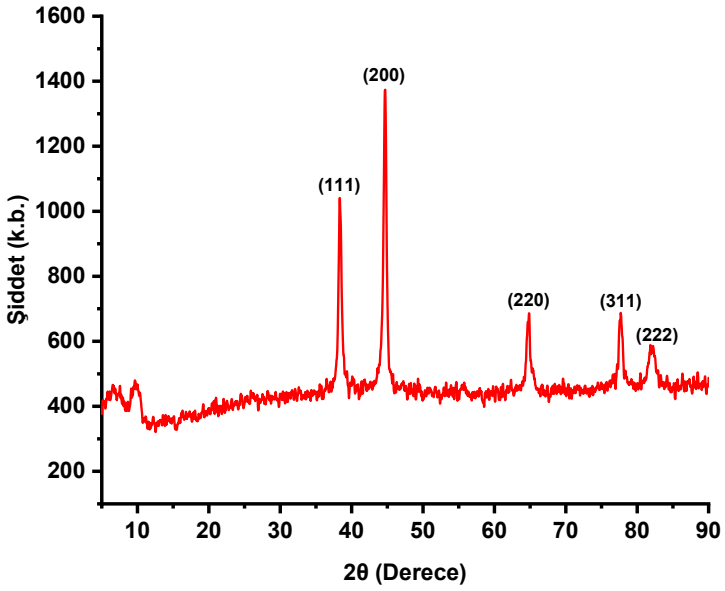
Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde Matin vd., (2019) yaptıkları çalışmada *T. spicata* su ekstraktı ile sentezledikleri nanopartikülün FT-IR ile karakterize etmişlerdir. *T. spicata* ekstraktının FT-IR spektrumunda 3414-3413 cm^{-1}'de O-H gerilmesinden kaynaklanan yayvan pik, 2923-2924 cm^{-1}'de C-H gerilmesi, 1618-1616 cm^{-1}'de C=C gerilmesi, 1070-1051 cm^{-1}'de fenolik yapıya ait C-O piki ve 1637 cm^{-1}'de C=O geriliminden kaynaklan bir pik belirlemişlerdir. Erci vd., (2017) *T. spicata* ekstraktı ile sentezledikleri gümüş nanopartikül ve ekstraktın FT-IR spektrumlarını karşılaştırarak nanopartikülün yapısında bulunan fonksiyonel grupları belirlemişleridir. *T. spicata* ekstraktında 3322.89, 1634.51 ve 599.62 cm^{-1}'de gözlemlenen piklerin gümüş nanopartiküle ait spektrumda 3335.26, 2359.17, 1635.38 and 600.25 cm^{-1}'e kaydığını belirlemişlerdir. Literatürde *T. spicata*, *T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica* uçucu yağı ile sentezlenen gümüş nanopartikül çalışması bulunmamaktadır. Üç nanopartikül İlk kez tez kapsamında sentezlenip FT-IR ile karakterizasyonu yapılmış ve literatüre kazandırılmıştır.

4.9.3 Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin X-ışını kırınım analizi (XRD) sonuçları

X-ışını kırınım tekniği 3 farklı uçucu yağ ile sentezlenen AgNP'lerin kristal yapı ve faz analizini belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Her bir nanopartikül için 2θ= 0º-90º arasında ölçüm alınmış ve bu açılara karşılık gelen düzlemler belirlenmiştir.

4.9.3.1 AgNP1'e ait X-ışını kırınım analizi sonucu

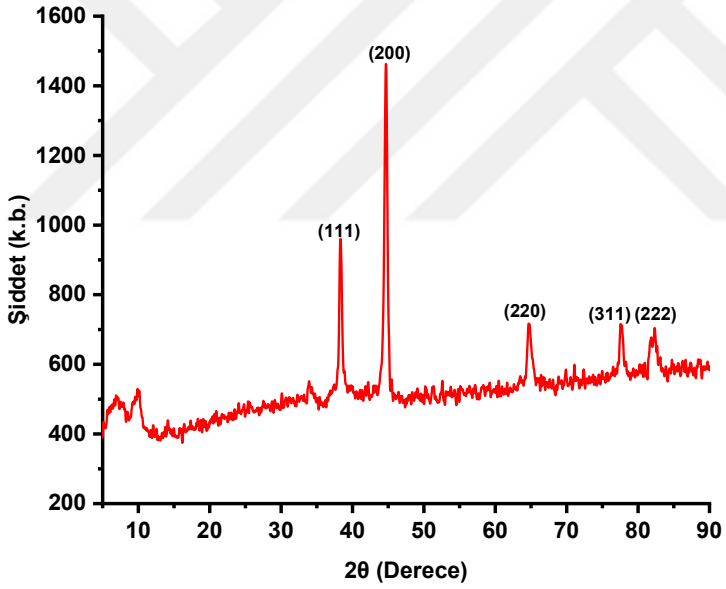
ÖR1ES ile sentezlenen AgNP1'e ait X-ışını kırınım deseni Şekil 4.11'de verilmiştir. Elde edilen kırım desenine göre 2θ=38.34º, 44.68º, 64.86º, 77.20º, 81.86º'ye karşılık gelen gümüş için karakteristik hkl düzlemleri sırasıyla (111), (200), (220), (311), (222) olarak belirlenmiştir. En şiddetli pikin 2θ= 44.68º açısına tekabul eden (200) düzlemi olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu karakteristik pikler AgNP1'in yüzey merkezli kübik kristal sistemine sahip olduğunu teyit etmekte ve gümüş nanopartiküllerin ÖR1ES ile indirgenerek başarılı bir şekilde hazırlandığını göstermektedir. Ayıca sentezlenen AgNP1'in tanecik boyutu Debye-Scherrer ($D=0.9\lambda/\beta\cos\Theta$) eşitliği kullanılarak hesaplanmış ve 18.51 nm olarak bulunmuştur. Kırınım deseninde gözlemlenen diğer pikleri ise nanopartikülün yapısında uçucu yağın varlığınadan kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.11 AgNP1'e ait XRD kırınım spektrumu.

4.9.3.2 AgNP2'ye ait X-ışını kırınım analizi sonucu

ÖR2ES ile sentezlenen AgNP2'e ait X-ışını kırınım deseni Şekil 4.12'de verilmiştir. Elde edilen kırım desenine göre 2θ=38.34º, 44.68º, 64.64º, 77.56º, 81.82º'ye karşılık gelen gümüş için karakteristik hkl düzlemleri sırasıyla (111), (200), (220), (311), (222) olarak belirlenmiştir. En şiddetli pikin 2θ= 44.68º açısına tekabul eden (200) düzlemi olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu karakteristik pikler AgNP2'nin yüzey merkezli kübik kristal sistemine sahip olduğunu teyit etmekte ve gümüş nanopartiküllerin ÖR2ES ile indirgenerek başarılı bir şekilde hazırlandığını göstermektedir. Ayıca sentezlenen AgNP2'nin tanecik boyutu Debye-Scherrer ($D=0.9\lambda/\beta\cos\Theta$) eşitliği kullanılarak hesaplanmış ve 19.02 nm olarak bulunmuştur. Kırınım deseninde gözlemlenen diğer pikleri ise nanopartikülün yapısında uçucu yağın varlığınadan kaynaklandığı düşünülmektedir.

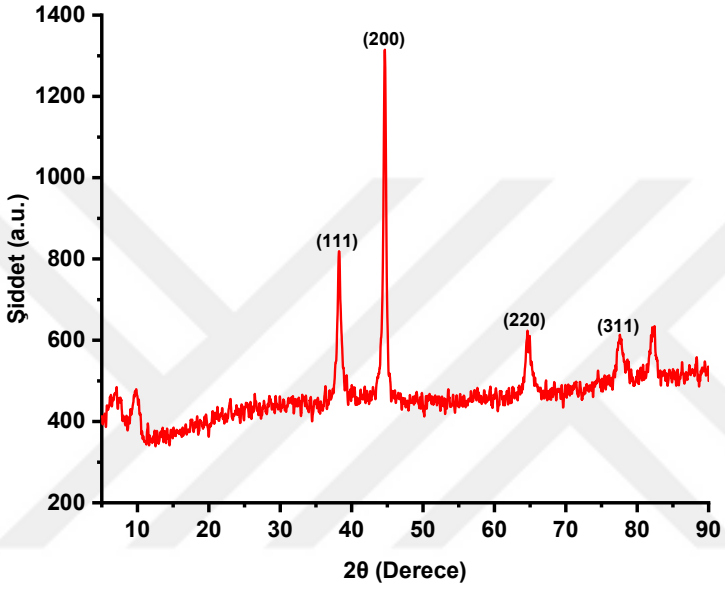


Şekil 4.12 AgNP2'ye ait XRD kırınım spektrumu

4.9.3.3 AgNP3'ye ait X-ışını kırınım analizi sonucu

ÖR3ES ile sentezlenen AgNP3'e ait X-ışını kırınım deseni Şekil 4.13'de verilmiştir. Elde edilen kırım desenine göre 2θ=38.28º, 44.10º, 64.44º, 77.36º karşılık gelen gümüş için karakteristik hkl düzlemleri sırasıyla (111), (200), (220), (311) olarak belirlenmiştir. En şiddetli pikin 2θ= 44.66º açısına tekabul eden (200) düzlemi olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu karakteristik pikler AgNP3'ün yüzey merkezli kübik

kristal sistemine sahip olduğunu teyit etmekte ve gümüş nanopartiküllerin ÖR3ES ile indirgenerek başarılı bir şekilde hazırlandığını göstermektedir. Ayıca sentezlenen AgNP3'ün tanecik boyutu Debye-Scherrer eşitliği ($D=0.9\lambda/\beta\cos\Theta$) kullanılarak hesaplanmış ve 20.15 nm olarak bulunmuştur. Kırınım deseninde gözlemlenen diğer pikleri ise nanopartikülün yapısında uçucu yağın varlığınadan kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.13 AgNP3'e ait XRD kırınım spektrumu.

Tez kapasmında sentezlenen 3 nanopartikül kendi aralarında karşılaştırıldığında AgNP1, AgNP2 ve AgNP3'ün yüzey merkezli kübik sisteminde kristallendiği belirlenmiştir. Ayrıca tanecik boyutu bakamından incelendiğinde AgNP1'in en küçük 18.51 nm ile en küçük boyuta sahip olduğu bulunmuştur.

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde Hojat vd., (2017) *T. spicata*'nın yapraklarından elde ettiği sulu ekstrakt ile sentezlediği gümüş nanopartikülün XRD kırınım spektrumunda 38.28°, 44.40°, 64.57º ve 77.48°'de kırınım pikleri elde etmiş ve gümüş için karakteristik hkl düzlemlerini sırasıyla (111), (200), (220), (311) olarak belirlemişlerdir. Sonuç olarak sentezledikleri gümüş nanopartikülün kübik kristal sistemine sahip olduğunu söylemişlerdir. Elde edilen sonuç tez kapsamında sentezlediğimiz nanopartiküller ile uyum göstermektedir. Literatürde *T. spicata*

ekstraktı kullanılarak sentezlenen sınırlı sayıda gümüş nanopartikül çalışması bulunmasına rağmen *T. spicata*, *T. sintenisii ve T. sintenisii* subsp. *isaurica* uçucu yağı ile sentezlenen gümüş nanopartikül çalışması bulunmamaktadır. Üç nanopartikül İlk kez tez kapsamında sentezlenip XRD ile karakterizasyonu yapılmış ve literatüre kazandırılmıştır.

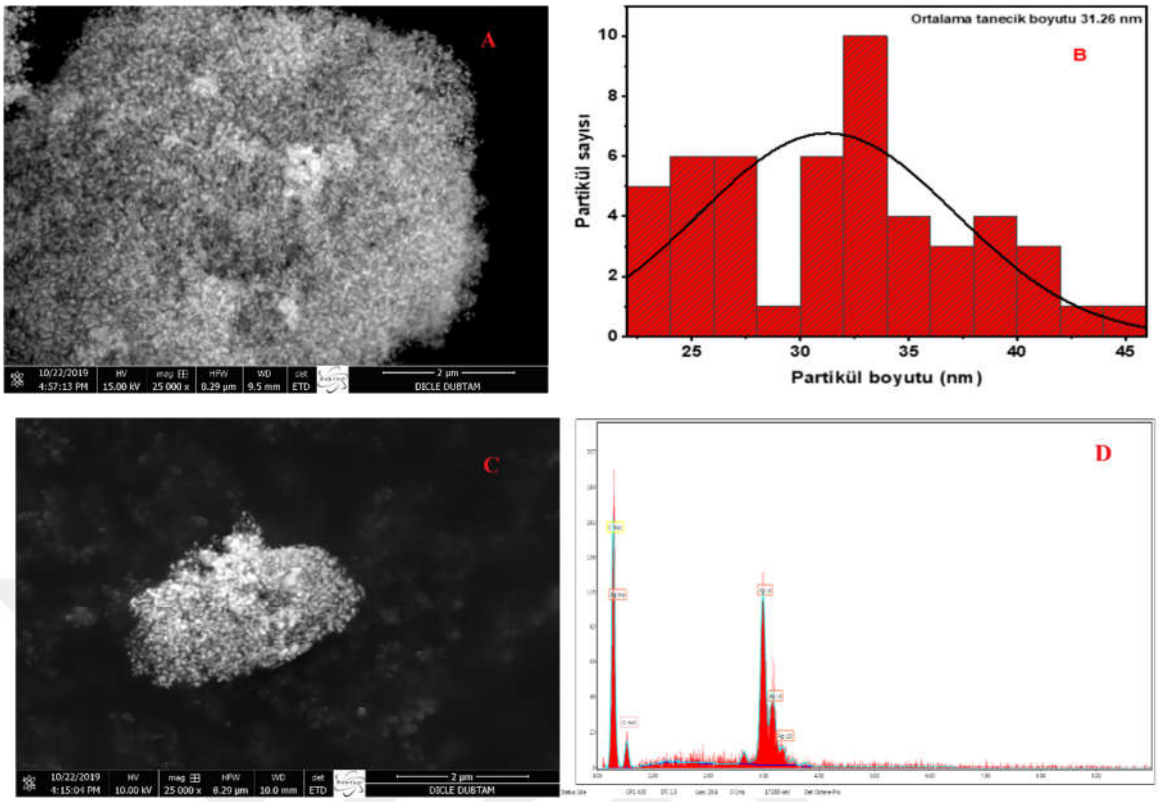
4.9.4 Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) ile analiz sonucu

Sentezlenen AgNP'lerin yapısı ve yüzey morfolojisi Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile kimyasal yapısı ise Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX) ile belirlenmiştir.

4.9.4.1 AgNP1'e ait SEM ve EDX analiz sonucu

AgNP1'e ait Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 4.14'de verilmiştir. Yapılan analiz sonucunda nanopartikülün yüzey morfolojisinin küresel, çubuk, üçgen ve altıgen şeklinde olduğu görülmüştür. İmaj j programı ile rastgele seçilen 50 noktanın partikül boyutu belirlenerek ortalama partikül boyutunun ise 31.26 nm olduğu belirlenmiştir.

AgNP1'e ait Enerji Dağılımlı X-Işını (EDX) spektrumu 0-18 keV aralığında belirlenmiş ve elde edilen spektrum Şekil 4.14'de verilmiştir. EDX spektrumu incelendiğinde sentezlenen gümüş nanopartikül 3 keV civarında güçlü bir emilim gösterdiği gözlemlenmiştir. Genel olarak metalik gümüş nanokristallerin, yüzey plazmon rezonansları (SPR) nedeniyle yaklaşık 3 keV'de tipik bir optik absorpsiyon zirvesi gösterdiği daha önceki çalışmalarda belirlenmiştir (Ibrahim, 2015). EDX spektrumundan elde edilen veriler Ag'in %51.11, C'un %36.36 ve O'in %12.12 oranında AgNP'in yapısında bulunduğunu ve baskın elementin Ag olduğunu kanıtlamıştır. EDX spektrumunda C ve O'in varlığı gümüş nanopartüllerin yüzeyinde uçucu yağdan kaynaklanan biyomoleküllerin varlığını göstermektedir (Lee vd., 3013).



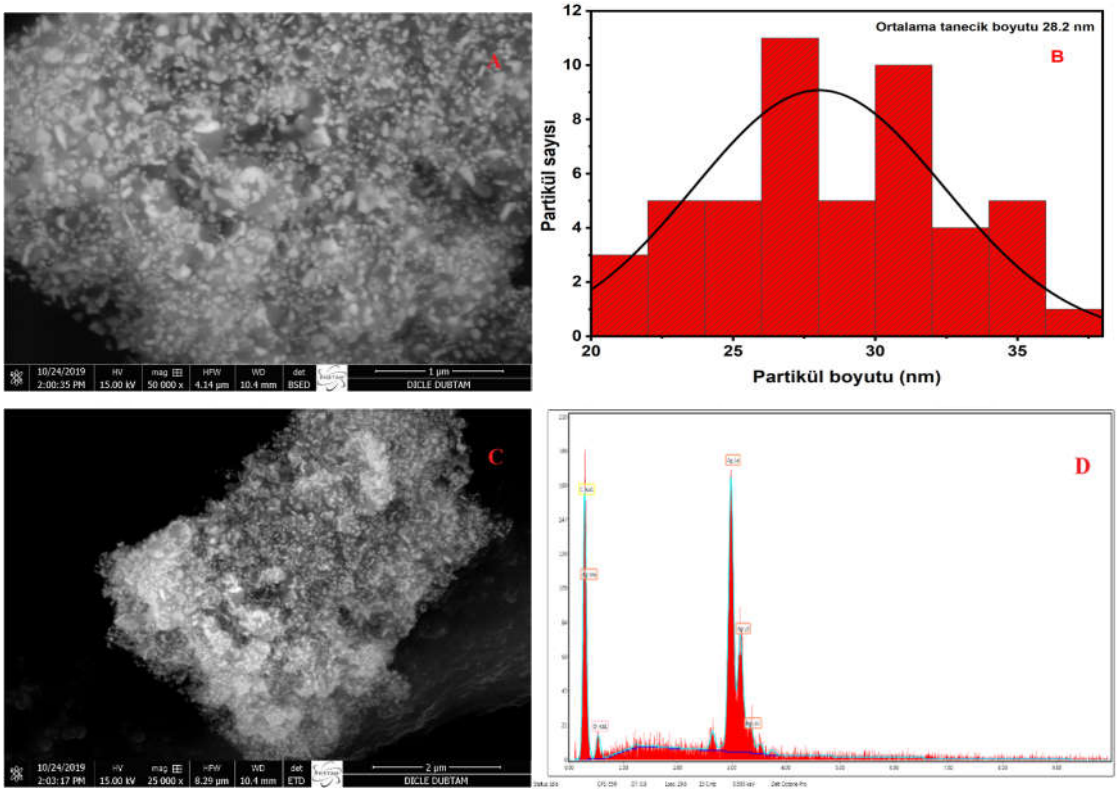
Şekil 4.14 A:2 µm'de AgNP1' e ait SEM görüntüsü, B: AgNP1'in ortalama partikül boyutu dağılım histogramı (nm), C: 2 µm'de AgNP1' e ait SEM görüntüsü, D: AgNP1'in EDX spektrumu.

4.9.4.2 AgNP2'e ait SEM ve EDX analiz sonucu

AgNP2'e ait Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 4.15'de verilmiştir. Yapılan analiz sonucunda nanopartikülün yüzey morfolojisinin küresel, çubuk, üçgen ve altıgen şeklinde olduğu görülmüştür. İmaj j programı ile rastgele seçilen 50 noktanın partikül boyutu belirlenerek ortalama partikül boyutunun ise 28.2 nm olduğu belirlenmiştir.

AgNP2'e ait Enerji Dağılımlı X-Işını (EDX) spektrumu 0-9 keV aralığında belirlenmiş ve elde edilen spektrum Şekil 4.15'de verilmiştir. EDX spektrumu incelendiğinde sentezlenen gümüş nanopartikül 3 keV civarında güçlü bir emilim gösterdiği gözlemlenmiştir. Genel olarak metalik gümüş nanokristallerin, yüzey plazmon rezonansları (SPR) nedeniyle yaklaşık 3 keV'de tipik bir optik absorpsiyon zirvesi gösterdiği daha önceki çalışmalarda belirlenmiştir (Ibrahim, 2015). EDX spektrumundan elde edilen veriler Ag'in %63.14, C'un %29.60 ve O'in %7.25 oranında AgNP'in yapısında bulunduğunu ve baskın elementin Ag olduğunu

kanıtlamıştır. EDX spektrumunda C ve O'in varlığı gümüş nanopartüllerin yüzeyinde uçucu yağdan kaynaklanan biyomoleküllerin varlığını göstermektedir (Lee vd., 3013).



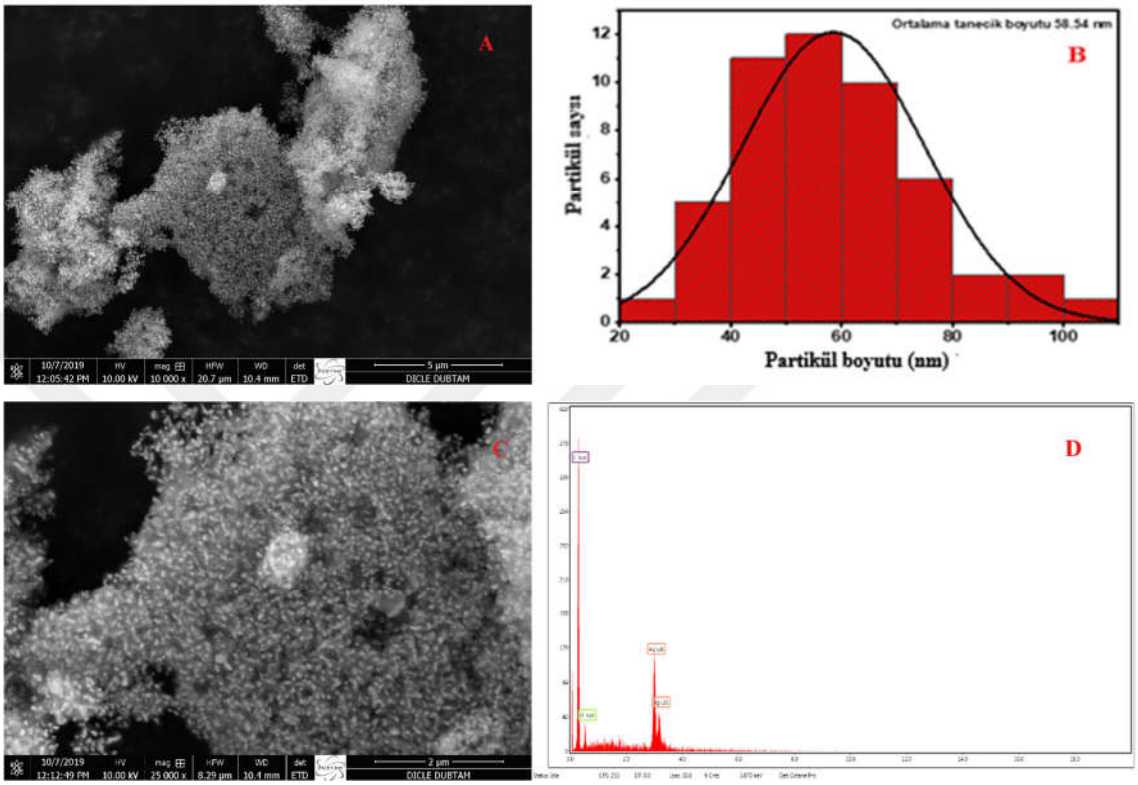
Şekil 4.15 A: 1µm'de AgNP2' e ait SEM görüntüsü, B: AgNP2'in ortalama partikül boyutu dağılım histogramı (nm), C: 2 µm'de AgNP2' e ait SEM görüntüsü, D: AgNP2'in EDX spektrumu.

4.9.4.3 AgNP3'e ait SEM ve EDX analiz sonucu

AgNP3'e ait Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 4.16'da verilmiştir. Yapılan analiz sonucunda nanopartikülün yüzey morfolojisinin küresel, çubuk, üçgen ve beşgen şeklinde olduğu görülmüştür. İmaj j programı ile rastgele seçilen 50 noktanın partikül boyutu belirlenerek ortalama partikül boyutunun ise 58.54 nm olduğu belirlenmiştir.

AgNP3'e ait Enerji Dağılımlı X-Işını (EDX) spektrumu 0-18 keV aralığında belirlenmiş ve elde edilen spektrum Şekil Şekil 4.16'de verilmiştir. EDX spektrumu incelendiğinde sentezlenen gümüş nanopartikül 3 keV civarında güçlü bir emilim gösterdiği gözlemlenmiştir. Genel olarak metalik gümüş nanokristallerin, yüzey plazmon rezonansları (SPR) nedeniyle yaklaşık 3 keV'de tipik bir optik absorpsiyon zirvesi gösterdiği daha önceki çalışmalarda belirlenmiştir (Ibrahim, 2015). EDX

spektrumundan elde edilen veriler Ag'in %59.85, C'un %33.55 ve O'in %6.60 oranında AgNP'in yapısında bulunduğunu ve baskın elementin Ag olduğunu kanıtlamıştır. EDX spektrumunda C ve O'in varlığı gümüş nanopartüllerin yüzeyinde uçucu yağdan kaynaklanan biyomoleküllerin varlığını göstermektedir (Lee vd., 3013).



Şekil 4.16 A: 5 µm'de AgNP3'e ait SEM görüntüsü, B: AgNP3'ün ortalama partikül boyutu dağılım histogramı (nm), C: 2 µm'de AgNP3' e ait SEM görüntüsü, D: AgNP3'in EDX spektrumu.

Sentezlene 3 nanopartikül kendi aralarında değerlendirildiğinde en küçük partikül boyutuna 28.2 nm ile AgNp2'nin sahip olduğu belirlenmiştir. Genel olarak 3 nanopratikülünde küresel, çubuk, üçgen ve altıgen formda yüzey morfolojisine sahip olduğu gözlemlenmiştir. EDX analiz sonucuna göre ise her 3 nanopartikülün de yüksek miktarda Ag içerdiği ve nanopartikül yüzeyinde uçucu yağdan kaynaklanan biyolojik moleküllerin varlığından dolayı C ve O bulunduğu kanıtlanmıştır.

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde ise Matin vd., (2019) *T. spicata* su ekstraktı ile sentezledikleri nanopartikülün SEM görüntüleri ile yüzey morfolojisinin küresel ve tanecik boyutunun 20 nm olduğunu tespit etmişlerdir. EDX analizi sonucunda nanopartikülün kimyasal bileşiminde Ag: %60.20, C:%24.68, N: %12.81 ve Cl: %2.31 oranında olduğunu belirlemişlerdir. Yine Erci vd., (2018) *T. spicata* su

ekstraktı ile sentezledikleri nanopartikülün SEM görüntüleri sonucunda yüzey morfolojisinin küresel olduğunu belirlemişlerdir. Sentezledikleri nanopartikülün EDX spektrumu ile karateristik gümüş emilim pikini 3 keV civarında gözlemlemişlerdir.

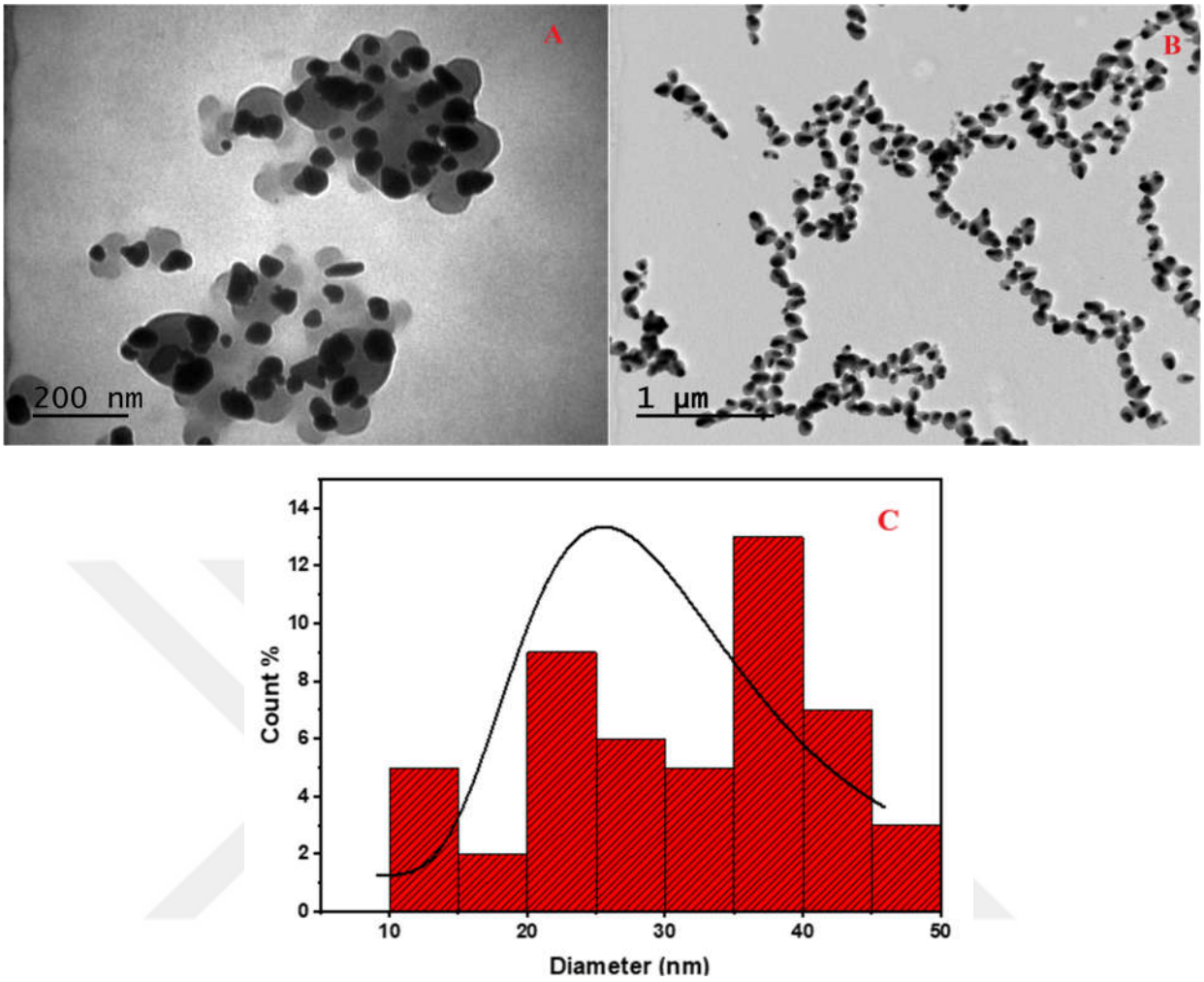
Literatürde *T. spicata* ekstraktı kullanılarak sentezlenen sınırlı sayıda gümüş nanopartikül çalışması bulunmasına rağmen *T. spicata*, *T. sintenisii ve T. sintenisii* subsp. *isaurica* uçucu yağı ile sentezlenen gümüş nanopartikül çalışması bulunmamaktadır. Üç nanopartikül ilk kez tez kapsamında sentezlenerek SEM ve EDX ile karakterizasyon çalışması yapılıp literatüre kazandırılmıştır.

4.9.5 Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ile analiz sonucu

Sentezlenen AgNP'lerin yüzey morfolojisi ve partikül büyüklüğü Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) kullanılarak belirlenmiştir.

4.9.5.1 AgNP1'e ait geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analiz sonucu

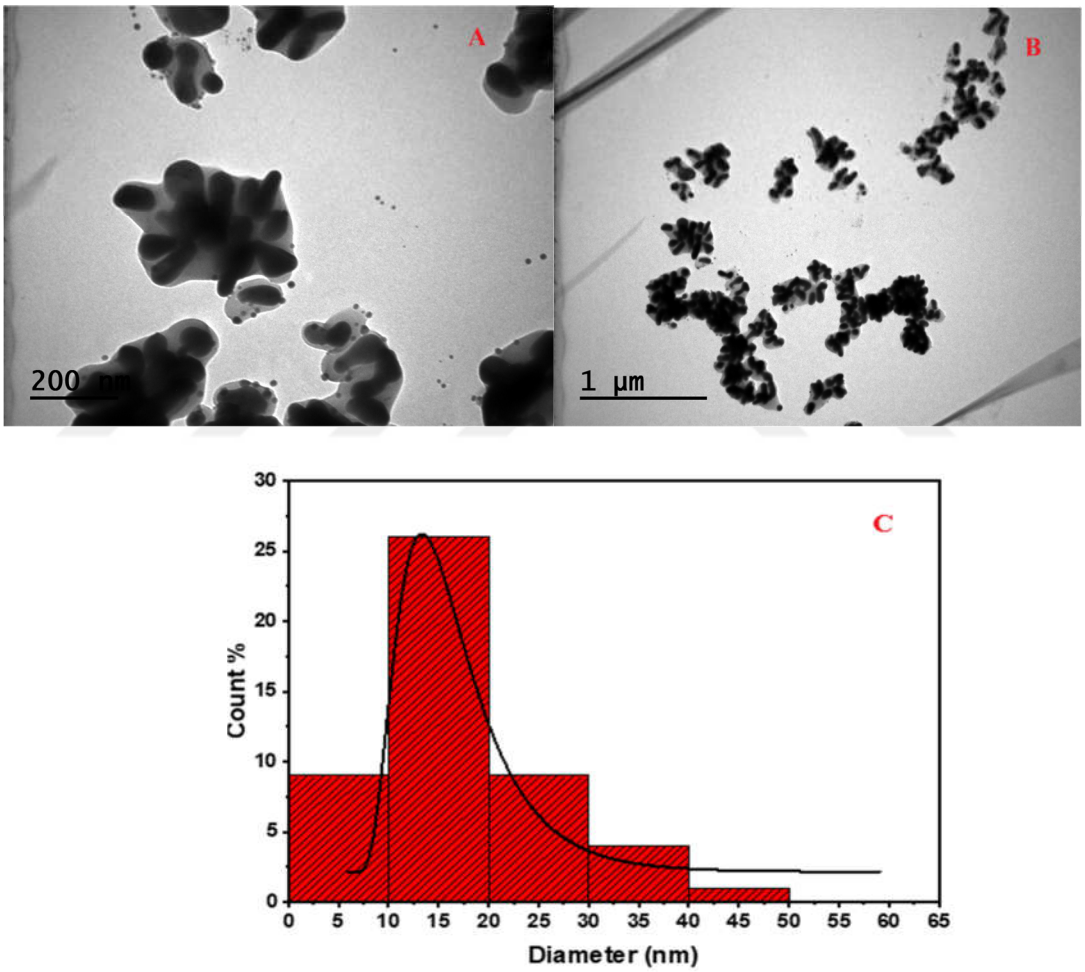
AgNP1'e ait TEM görüntüleri ve partiküllerin çap dağılım histogramı Şekil 4.17'de verilmiştir. AgNP1'in TEM görüntülerinden rastgele seçilen ve büyüklükleri 10-47 nm arasında değişen 50 partikül üzerinden ortalama çapı 30.94 nm olarak bulunmuştur. AgNP1'in yüzey morfolojisini belirlemek için TEM görüntüleri incelendiğinde partiküllerin üçgen, çubuk, küresel ve altıgen formda olduğu belirlenmiştir ve SEM görüntülerinden elde edilen sonuçlarla uyum göstermektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda nanopartiküllerin yeşil sentezinde kullanılan ekstrakt miktarının az olmasının partiküllerin üçgen, küre, altıgen ve düzensiz şekillerde oluşmasına, ekstrakt miktarının arttırılmasının ise daha küçük boyutlarda küresel nanopartiküllerin oluşmasına sebep olduğu belirtilmektedir (Erci vd., 2018).



Şekil 4.17 A: AgNP1'in 200 nm'de TEM görüntüsü, B: AgNP1'in 1µm'de TEM görüntüsü C:AgNP1'in ortala çap dağılım histogramı.

4.9.5.2 AgNP2'ye ait geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analiz sonucu

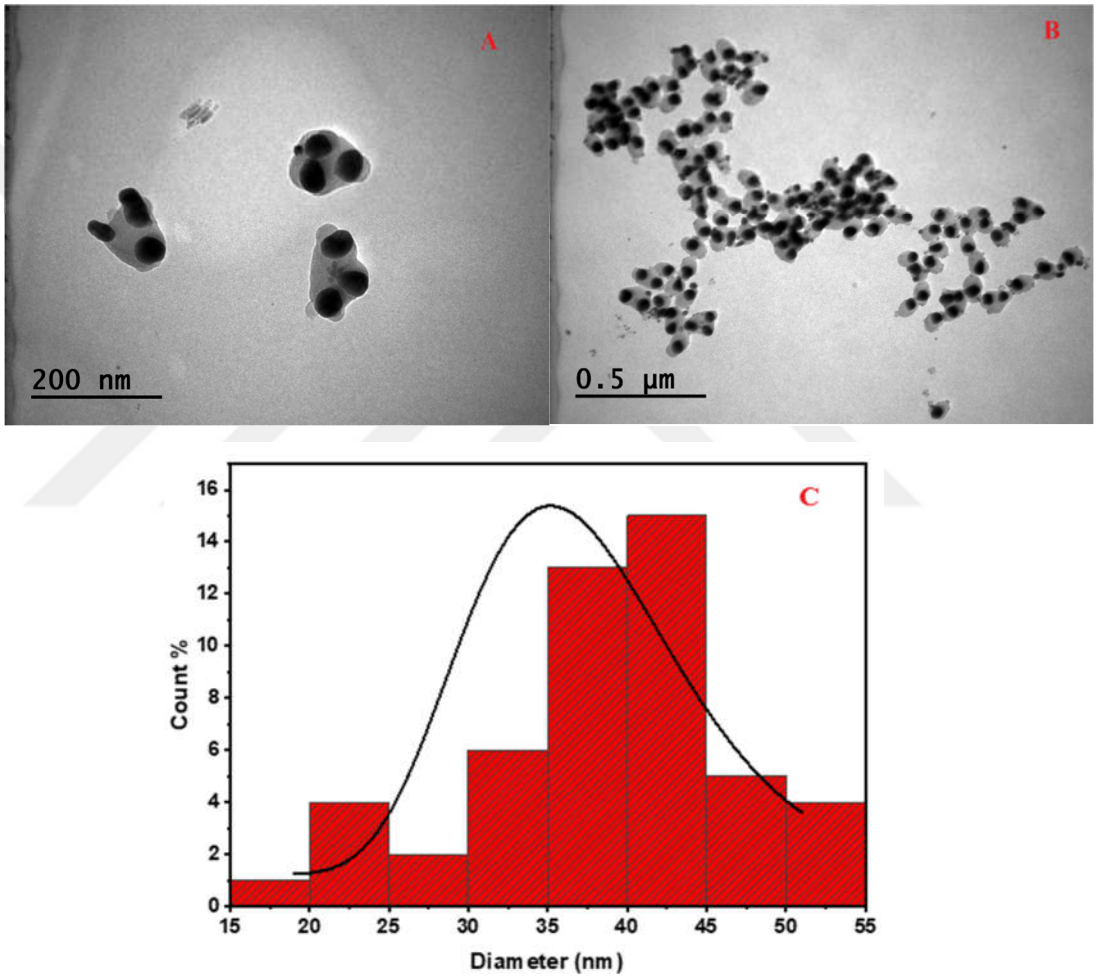
AgNP2'ye ait TEM görüntüleri ve partiküllerin çap dağılım histogramı Şekil 4.18 'de verilmiştir. AgNP2'nin TEM görüntülerinden rastgele seçilen ve büyüklükleri 6-43 nm arasında değişen 50 partikül üzerinden ortalama çapı 18.51 nm olarak bulunmuştur. AgNP2'nin yüzey morfolojisini belirlemek için TEM görüntüleri incelendiğinde partiküllerin üçgen, çubuk, küresel ve altıgen formda olduğu belirlenmiştir ve SEM görüntülerinden elde edilen sonuçlarla uyum göstermektedir.



Şekil 4.18 A: AgNP2'in 200 nm'de TEM görüntüsü, B: AgNP2'in 1µm'de TEM görüntüsü, C:AgNP2'in ortalama çap dağılım histogramı

4.9.5.3 AgNP3'e ait geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analiz sonucu

AgNP3'e ait TEM görüntüleri ve partiküllerin çap dağılım histogramı Şekil 4.19'da verilmiştir. AgNP3'ün TEM görüntülerinden rastgele seçilen ve büyüklükleri 22-51 nm arasında değişen 50 partikül üzerinden ortalama çapı 38.18 nm olarak bulunmuştur. AgNP3'ün yüzey morfolojisini belirlemek için TEM görüntüleri incelendiğinde partiküllerin üçgen, çubuk, küresel ve beşgen formda olduğu belirlenmiştir ve SEM görüntülerinden elde edilen sonuçlarla uyum göstermektedir.



Şekil 4.19 A: AgNP3'ün 200 nm'de TEM görüntüsü, B: AgNP3'ün 0.5 µm'de TEM görüntüsü, C:AgNP3'ün ortala çap dağılım histogramı.

Sentezlenen nanopartiküller kendi aralarında karşılaştırıldığında AgNP2'nin en küçük ortalama partikül çapına (18.51 nm) sahip oluğu belirlenmiştir. Ayrıca yüzey morfolojileri incelendiğinde her 3 partikülün de küresel, üçgen, çubuk ve altıgen formda olduğu belirlenmiştir.

Literatürde yapılan çalışmalar işcelendiğinde Erci vd., (2018), *T. spicata* su ekstraktı ile farklı konsantrasyonlarda sentezledikleri ve Ts1AgNPs–Ts2AgNPs kodunu verdikleri nanopartiküllerin ortalama çaplarını sırasıyla 70.2 ve 25.1 nm olarak belirlemişlerdir. Ayrıca yüzey morfolojisi incelemeleri sonucunda partiküllerin Ts1AgNPs inin üçgen, küresel ve altıgen formda, Ts2AgNPs için küresel formda olduğunu belirlemişlerdir. Yine Matin vd., (2019) *T. spicata* su ektraktı ile sentezledikleri gümüş nanopartikülün ortalama tanecik büyüklüğünü 20 nm olarak bulmuşlardır. Literatürde *T. spicata* ekstraktı kullanılarak sentezlenen sınırlı sayıda gümüş nanopartikül çalışması bulunmasına rağmen *T. spicata*, *T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica* uçucu yağı ile sentezlenen gümüş nanopartikül çalışması bulunmamaktadır. Üç nanopartikül ilk kez tez kapsamında sentezlenerek TEM ile karakterizasyon çalışması yapılıp literatüre kazandırılmıştır.

4.10 Uçucu Yağ ve Gümüş Nanopartiküllerin Keneler Üzerindeki Öldürücü Etkisinin Belirlenmesi

LC_{50} değeri bir toksik maddeye maruz kalmış canlıların %50'sinin öldüğü değeri ifade etmektedir. Tez çalışması kapsamında ÖR1ES, ÖR2ES, ÖR3ES, AgNP1, AgNP2 ve AgNP3'ün *Hyalomma marginatum* türü keneler üzerindeki 24 saatlik LC_{50} ve % mortalite değerleri belirlenmiştir.

4.10.1 *T. spicata* var. *spicata* uçucu yağının 24 saatlik LC_{50} değeri

ÖR1ES'nin 24 saatlik LC_{50} değerinin tespiti için aralık belirleme deneyleri sonucunda belirlenen 6 farklı konsantrasyon (5, 15, 25, 35, 45, 65 mg/mL) *Hyalomma marginatum* türü nimflere uygulanmıştır. 24 saat sonunda LC_{50} değeri %95'lik güvenilirlik sınırlarında (14.569-22.557) 18.48 mg/mL olarak bulunmuştur. 24 saatlik ölüm oranı (%); 5 mg/mL'de %16, 15 mg/mL'de %46, 25 mg/mL'de %56, 35 mg/ml'de %66, 45 mg/mL'de %76, 65 mg/mL'de %86 olarak belirlenmiş ve Tablo

4.11'de verilmiştir. Elde edilen veriler uçucu yağ konsantrasyonu arttıkça % ölüm oranının arttığını göstermektedir.

Tablo 4.11 *T. spicata* var. *spicata* uçucu yağı için canlıların 24 saatlik ölüm oranı (%)

Konsantrasyon (mg/mL)	Canlı Sayısı	24 Saatlik Ölüm Oranı (%)
5	50	16
15	50	46
25	50	56
35	50	66
45	50	76
65	50	86

4.10.2 *T. sintenisii* subsp. *sintensii* uçucu yağının 24 saatlik LC_{50} değeri

ÖR2ES'nin 24 saatlik LC_{50} değerinin tespiti için aralık belirleme deneyleri sonucunda belirlenen 6 farklı konsantrasyon (0.5, 2, 5, 10, 20, 30 mg/mL) *Hyalomma marginatum* türü nimflere uygulanmıştır. 24 saat sonunda LC_{50} değeri %95'lik güvenilirlik sınırlarında (7.878-20.062) 11.82 mg/mL olarak bulunmuştur. 24 saatlik ölüm oranı (%); 0.5 mg/mL'de %10, 2 mg/mL'de %26, 5 mg/mL'de 40, 10 mg/mL'de %52, 20 mg/mL'de %54 ve 30 mg/mL'de %62 olarak belirlenmiş ve Tablo 4.12'de verilmiştir. Elde edilen veriler uçucu yağ konsantrasyonu arttıkça % ölüm oranının arttığını göstermektedir.

Tablo 4.12 *T. sintenisii* subsp. *sintensii* uçucu yağı için canlıların 24 saatlik ölüm oranı (%)

Konsantrasyon (mg/mL)	Canlı Sayısı	24 Saatlik Ölüm Oranı (%)
0,5	50	10
2	50	26
5	50	40
10	50	52
20	50	54
30	50	62

4.10.3 *T. sintenisii* subsp. *isaurica* uçucu yağının 24 saatlik LC_{50} değeri

ÖR3ES'nin 24 saatlik LC_{50} değerinin tespiti için aralık belirleme deneyleri sonucunda belirlenen 6 farklı konsantrasyon (5, 15, 25, 35, 45, 55 mg/mL) *Hyalomma marginatum* türü nimflere uygulanmıştır. 24 saat sonunda LC_{50} değeri %95'lik güvenilirlik sınırlarında (47.917-78.937) 57.64 mg/mL olarak bulunmuştur. 24 saatlik ölüm oranı (%); 5 mg/mL'de %0, 15 mg/mL'de %10, 25 mg/mL'de %16, 35 mg/mL'de %20, 45 mg/mL'de %36 ve 55 mg/mL'de %56 olarak belirlenmiş ve Tablo 4.13'de verilmiştir. Elde edilen veriler uçucu yağ konsantrasyonu arttıkça % ölüm oranının arttığını göstermektedir.

Tablo 4.13 *T. sintenisii* subsp. *isaurica* uçucu yağ için canlıların 24 saatlik ölüm oranı (%)

Konsantrasyon (mg/mL)	Canlı Sayısı	24 Saatlik Ölüm Oranı (%)
5	50	0
15	50	10
25	50	16
35	50	20
45	50	36
55	50	56

Yapılan çalışmalar sonucunda LC_{50} değeri 11.82 mg/mL olan ÖR2ES'nin *Hyalomma marginatum* türü kenelerin nimfleri üzerinde en öldürücü etkiye sahip uçucu yağ olduğu belirlenmiştir. Kannan'ın (1997) kimyasalların LC_{50} değerlerine göre zararlılık derecesini belirlemek için yaptığı çalışma sonuçları Tablo 4.14'te verilmiştir. Kannan'ın yaptığı bu çalışma sonuçlarına göre tez kapsamında çalıştığımız uçucu yağlardan ÖR1ES ve ÖR2ES'in *Hyalomma marginatum* türü kenelerin nimfleri üzerinde şiddetli derecede (LC_{50} sırasıyla 18.48 ve 11.82 mg/mL), ÖR3ES'in (LC_{50} 57.64 mg/mL) ise orta derecede toksik etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 4.14 Kimyasalların LC_{50} değerlerine göre zararlılık derecesi

Zararlılık derecesi	LC_{50}/LD_{50} mg/kg/mL/L
Aşırı derecede toksik	<1
Şiddetli derecede toksik	1-50
Orta dercede toksik	51-500
Az toksik	501-5000
Pratik olarak toksik değil	5001-15000
Nispeten zararsız	>15000

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde Qiao vd., (2021), Lamiaceae ailesine ait olan *Thymus mongolicus, Origanum vulgare* ve Lauraceae ailesine ait olan *Cinnamomum verum* türlerinin uçucu yağlarını *Haemaphysalis longicornis* türü keneler üzerindeki akarisit etkisini belirlemişlerdir. *C. verum* ve *O. vulgare*'nin uçucu yağlarının, *H. longicornis'*in larvalarına karşı önemli akarisit aktiviteye sahip olduğunu, LC_{50} değerlerinin sırasıyla 16.07 ve 18.02 mg/mL ve LC_{95} değerlerinin sırasıyla 120.37 ve 130.09 mg/mL olduğunu belirlemişlerdir. *O. vulgare* ve *T. mongolicus*'un uçucu yağlarının, yetişkin *H. longicornis*'e karşı sırasıyla LC_{50} değerlerinin sırasıyla 43.50 ve 44.21 mg/mL ve LC_{95} değerlerini sırasıyla 113.66 ve 137.99 mg/mL olduğunu tespit etmişlerdir. Yine Ribeiro vd., (2010), yaptıkları çalışmada Lamiaceae ailesine ait olan *Hesperozygis ringens* türüne ait uçucu yağın *Riphicephalus (Boophilus) microplus* türünün larvaları üzerindeki akarisit etkisini belirlemişlerdir ve larvalar için LC_{50} değerini 0.260 µl/mL olarak bulmuşlardır.

Literatürde *T. spicata*, *T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica* uçucu yağlarının keneler üzerindeki akarist etkisiyle ilgili çalışma bulunmamakla birlikte ilk kez tez kapsamında bu 3 uçucu yağın *Hyalomma marginatum* türü kenelerin nimfleri üzerindeki akarisit etkisi belirlenip literatüre kazandırılmıştır.

4.10.4 *T. spicata* var. s*picata* uçucu yağı ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin LC_{50} değeri

AgNP1'in 24 saatlik LC_{50} değerinin tespiti için aralık belirleme deneyleri sonucunda belirlenen 5 farklı konsantrasyon (20, 30, 40, 60, 80 mg/mL) *Hyalomma marginatum* türü nimflere uygulanmıştır. 24 saat sonunda LC_{50} değeri %95'lik güvenilirlik sınırlarında (30.01-42.72) 36.30 mg/mL olarak bulunmuştur. 24 saatlik ölüm oranı (%); 20 mg/mL'de %13, 30 mg/mL'de %20, 40 mg/mL'de %30, 60 mg/mL'de %35 ve 80 mg/mL'de %38 olarak belirlenmiş ve Tablo 4.15'de verilmiştir. Elde edilen veriler nanopartikül konsantrasyonu arttıkça % ölüm oranının arttığını göstermektedir.

Tablo 4.15 AgNP1 için canlıların 24 saatlik ölüm oranı (%)

Konsantrasyon (mg/mL)	Canlı Sayısı	24 Saatlik Ölüm Oranı (%)
20	50	13
30	50	20
40	50	30
60	50	35
80	50	38

4.10.5 *T. sintenisii* subsp. *sintensii* uçucu yağı ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin LC_{50} değeri

AgNP2 ile yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler Probit Analizi ile hesaplandığında Chi-Square testine göre $p \leq 0.05$ olduğu için heterojenite faktörü göz önüne alınmıştır. Bu duruma göre AgNP2'nin canlılar üzerinde önemli bir öldürücü etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir.

4.10.6 *T. sintenisii* subsp. *isaurica* uçucu yağı ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin LC_{50} değeri

AgNP3 ile yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler Probit Analizi ile hesaplandığında Chi-Square testine göre $p \leq 0.05$ olduğu için heterojenite faktörü göz önüne alınmıştır. Bu duruma göre AgNP3'ün canlılar üzerinde önemli bir öldürücü etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında Lamiaceae ailesine ait *T. spicata, T. sintenisii* ve *T. sintenisii* subsp. *isaurica'*nın uçucu yağ ve etanol ekstreleri (kök ve toprak üstü kısımları) hazırlanmıştır. Elde edilen ekstrelerin kimyasal içeriği, biyolojik aktivitesi, nanopartikül oluşturma potansiyeli ve akarist etkileri detaylı bir şekilde incelenmiştir.

Çalışılan *Thymbra* türlerinin uçucu yağ, toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin % verimleri belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonuçlarına göre ÖR1ES örneğinin uçucu yağ veriminin (% 4.94) en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Tüm etanol ekstreleri içinde ise en yüsksek verimin ÖR1K'e (%16.773) sahip olduğu ve genel olarak ekstre verimlerinin birbirine yakın ve yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çalışılan 3 *Thymbra* türünün toprak üstü kısımlarının petrol eteri ekstresinin yağ asidi içeriği GC-MS ile tespit edilmiştir. ÖR1, ÖR2, ÖR3 türlerinin yağ asidi içeriği %100 oranında aydınlatılmıştır. ÖR1 için 6 bileşen, ÖR2 için 8 bileşen, ÖR3 için 7 bileşen belirlenmiştir. ÖR1 ilk 3 ana bileşeninin palmitik asit (%47.96), behenik asit (%18.17) ve lignoserik asit metil ester (%11.91) olduğu, ÖR2 için α-linolenik asit (%40,37), palmitik asit (%18.48), linoleik asit (%11.29), ÖR3 için ise α-linolenik asit (%41.36), palmitik asit (%18.03) ve linoleik asit (%14.39) olduğu belirlenmiştir.

Çalışılan *Thybmra* türlerinin uçucu yağ içeriği GC-MS/FID cihazı ile tespit edilmiştir. ÖR1ES, ÖR2ES, ÖR3ES türlerinin uçucu yağ bileşimi sırasıyla %98.89, %98.56, %98.35 oranında aydınlatılmıştır ve uçucu yağların içeriğinde sırasıyla 21, 24 ve 23 tane bileşen bulunduğu belirlenmiştir. Çalışılan örneklerde en çok bulunan üç major bileşene bakıldığında ÖR1ES'de ana bileşenlerin karvakrol (%71.19), γ-terpinen (%13.54) ve *o*-simen (% 5.00) olduğu tespit edilmiştir. ÖR2ES'de ise ana bileşelerin karvakrol (%66.78), *o*-simen (%12.14) ve γ-terpinen (%4.02) olduğu, ÖR3ES'e bakıldığında ise ana bileşenlerin yine karvakrol (%63.78), *o*-simen (% 11.58) ve γ-terpinen (%9.32) olduğu belirlenmiştir.

Çalışılan *Thybmra* türlerinin toprak üstü kısımlarının aroma içeriği Headspace-GC-MS/FID ile tayin edilmiştir. ÖR1, ÖR2 ve ÖR3'ün aroma içeriği bileşimi sırasıyla %99.33, %98.03, %99.07 oranında aydınlatılmış ve sırasıyla 22, 23 ve 19 tane bileşen

bulunduğu belirlenmiştir. Aroma içerikleri incelendiğinde en çok bulunan üç ana bileşenin ÖR1 için *γ*-terpinen (%42.02), karvakrol (%21.12) ve *o*-simen (%12.21) olduğu, ÖR2 için *o*-simen (%35.44), karvakrol (%20.79) ve karyofillen (%16.93) olduğu, ÖR3 için ise *γ*-terpinen (%31.44), karvakrol (%24.71) ve *o*-simen (%19.14) olduğu tespit edilmiştir.

Çalışılan üç türün toprak altı (K) ve toprak üstü (TÜ) etanol ekstrelerinin fenolik içeriği daha önce grubumuz tarafından geliştirilen ve valide edilen LC-MS/MS metodu ile belirlenmiştir ve ÖR1K için 16 bileşen, ÖR1TÜ için 18 bileşen, ÖR2K için 15 bileşen, ÖR2TÜ için 18 bileşen, ÖR3K için 17 bileşen, ÖR3TÜ için 18 bileşen içerdiği tespit edilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde ÖR1K için üç ana bileşenin hesperidin (27174.64 µg analit/g ekstre), rozmarinik asit (9875.75) ve malik asit (2862.41) olduğu, ÖR1TÜ için Hesperidin (9151.19), rozmarinik asit (5735.78) ve naringenin (3228.28) olduğu, ÖR2K için hesperidin (20297.3), rozmarinik asit (11571.54) ve malik asit (1079.38) olduğu, ÖR2TÜ için hesperidin (32910.02), nikotiflorin (6723.16) ve rozmarinik asit (6223.42) olduğu, ÖR3K için hesperidin (24169.69), rozmarinik asit (5538.63) ve malik asit (2692.59) olduğu, ÖR3TÜ için ise yine rozmarinik asit (5343.08), hesperidin (3900.28) ve naringenin (2342.18) olduğu belirlenmiştir.

DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yönteminde çalışılan *Thymbra* türlerinin toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin uçucu yağlarına göre daha aktif olduğu belirlenmiştir. Örnekler içinde ÖR1ES'in (IC_{50}:103.36±1.90 µg/mL) en düşük aktiviteyi, ÖR1K'ün (IC_{50}:24.50±1.32 µg/mL) ise en yüksek aktiviteyi gösterdiği bulunmuştur. Toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin kendi aralarında karşılaştırılması sonucunda birbirlerine yakın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi sergilediği görülmektedir. Örneklerin standart referans olan BHT'ye (IC_{50}:60.43±0.50) göre daha yüksek *α*-TOC'a (IC_{50}:15.98±0.79 µg/mL) göre daha düşük aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çalışılan *Thymbra* türlerinin ABTS katyon radikali giderim aktivitesi sonuçları incelendiğinde ise uçucu yağların toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerine göre daha aktif olduğu belirlenmiştir. Uçucu yağlar içinde en yüksek aktiviteyi ÖR2ES

(IC_{50}:1.50±0.014 µg/mL) gösterirken ÖR1ES (IC_{50}:1.80±0.053 µg/mL) ve ÖR3ES (IC_{50}:1.80±11.4) µg/mL eşit seviyede aktivite sergilemektedir. Türlerin etanol ekstreleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise toprak üstü etanol ekstrelerinin toprak altı etanol ekstrelerine göre daha aktif olduğu ve etanol ekstreleri içinde en aktif örneğin ÖR3TÜ (IC_{50}:4.96±0.087 µg/mL) olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca tüm uçucu yağların standart referanslar olan α-TOC (IC_{50}:9.57±2.50 µg/mL) ve BHT'ye (IC_{50}:11.46±2.1 µg/mL) göre çok yüksek, etanol ekstrelerinin ise yüksek seviyede ABTS katyon radikali giderim aktivitesi sergilediği tespit edilmiştir.

Çalışılan *Thymbra* türlerinin antioksidan aktiviteleri ayrıca CUPRAC (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi ile de bakılmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde türelerin uçucu yağ örneklerinin etanol ekstrelerine göre daha yüksek CUPRAC aktivitesi sergilediği görülmektedir. Tüm örnekler içinde ÖR1ES'nin ($A_{0.5}$:1.30±0.12 µg/mL) en yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca genel olarak bakıldığında ÖR2TÜ dışındaki tüm örneklerin starndart referans olan BHT ($A_{0.5}$:13.73±0.24 µg/mL) ve α-TOC'e ($A_{0.5}$:14.44±0.17 µg/mL) karşı oldukça yüksek aktivite sergiledikleri tespit edilmiştir.

Çalışılan türlerin toprak altı, toprak üstü etanol ekstrelerinin ve uçucu yağ örneklerinin asetilkolinesteraz enzim inhibisyon sonuçları irdelendiğinde toprak altı kısımlarının düşük, toprak üstü kısımlarının orta, uçucu yağların ise yüksek düzeyde asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Tüm örnekler içerisinde ÖR3ES'in (%İnhibisyon:95.65±1.45) en yüksek asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesini gösterdiği tespit edilmiştir ve standart galantamin'e (%İnhibisyon:79.13±0.33) göre çok yüksek seviyede asetilkolinesteraz enzim inhibe edici aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışılan türlerin bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi sonuçları incelendiğinde ekstrelerin tümünün yüksek seviyede aktivite sergilediği görülmektedir. Örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise AChE yönteminin aksine toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin uçucu yağlara göre daha aktif olduğu belirlenmiştir. Genel olarak bakıldığında ise ekstrelerin tümünün standart

galantamin'e (%İnhibisyon:76.12±0.83) göre çok yüksek seviyede bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi sergilediği görülmektedir.

Elde edilen veriler incelendiğinde türlere ait toprak altı ve toprak üstü etanol ekstreleri üreaz enzim inhibisyon aktivitesi göstermezken, uçucu yağların ise orta derecede üreaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Uçucu yağlar içinde en yüksek aktiviteyi ÖR3ES (%İnhibisyon:57.14±7.77) göstermektedir. Standart olarak kullanılan tiyoüre (%İnhibisyon:96.15±0.78) ile karşılaştırıldığında ÖR3ES'in (%İnhibisyon:57.14±7.77) orta seviyede üreaz enzim inhibisyon aktivitesi sergilediği belirlenmiştir.

Çalışılan *Thymbra* türlerinin tirozinaz enzim inhibisyon aktiviteleri incelendiğinde genel olarak türlere ait uçucu yağların tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi göstermezken, toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin orta düzey tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışılan tüm ekstreler içerisinde en yüksek aktiviteyi ÖR1K (%İnhibisyon:43.58±0.44) ve ÖR2K'ün (%İnhibisyon:43.20±1.21) gösterdiği ve standart kojik asite (%İnhibisyon:91.20±0.73) göre orta seviyede tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi sergiledikleri belirlenmiştir.

Örneklere ait sonuçlar incelendiğinde ÖR1ES'nin aktivite göstermediği ve genel olarak uçucu yağ, toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin standart oleanolik asite (%İnhibisyon:35.70±0.46) göre orta veya düşük seviyede elastaz enzim inhibisyon aktivitesi sergilediği belirlenmiştir. Tüm örnekler içinde en aktif örneğin ise ÖR2K (%İnhibisyon:15.47±0.46) olduğu ve standart oleanolik asite (%İnhibisyon:35.70±0.46) göre orta derecede elastaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir.

Thymbra türlerine ait örneklerin kollajenaz enzim inhibisyon aktivite sonuçları incelendiğinde üç örneğe ait uçucu yağ, toprak altı ve toprak üstü etanol ekstrelerinin standart epikateşin gallata (%İnhibisyon: 79.84±1.78) göre düşük düzeyde kollajenaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Tüm örnekler içinde en aktif örneğin ÖR2TÜ (%İnhibisyon:17.36±0.95) olduğu ve epikateşin gallata

(%İnhibisyon:79.84±1.78) göre düşük seviye kollajenaz enzim inhibisyon aktivitesi gösterdiği bulunmuştur.

Çalışılan *Thymbra* türlerinin ACE enzim inhibisyon aktivite sonuçları incelendiğinde genel olarak uçucu yağ ve toprak altı etanol ekstrelerinin aktivite göstermediği, sadece ÖR1TÜ (%İnhibisyon:19.40±0.01) ve ÖR2TÜ'nün (%İnhibisyon:10.10±0.06) standart lisinoprile (%İnhibisyon:100.10±0.94) göre düşük düzeyde ACE enzim inhibisyon aktivitesi sergilediği tespit edilmiştir.

Thymbra türlerine ait üç uçucu yağın gram-negatif, gram-pozitif ve maya bakterileri üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerlerine göre belirlenmiştir. Elde veriler incelendiğinde üç uçucu yağın da kullanılan bakterilere karşı orta düzeyde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve MİK değerlerinin 312 µg/mL ile 1250 µg/mL arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Thymbra türlerine ait uçucu yağ, toprak üstü ve toprak altı etanol ekstrelerinin toksik etkileri sağlıklı hücre serisi (PDF) üzerinde, sitotoksik etkileri ise kanserli MCF-7 (meme kanseri) ve HT-29 (kolon kanseri) üzerinde MTT yöntemi ile tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde çalışılan tüm örneklerin HT-29 ve MCF-7 hücreleri üzerinde düşük sitotoksik etkiye, PDF hücreleri üzerinde ise toksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonu Ultraviyole ve Görünür Işık (Uv-Vis) Absorpsiyon Spektroskopisi, Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), X-Işını Kırınım Analizi (XRD), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX), Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ile yapıldı.

Uv-Vis analizi sonucunda elde edilen spektrumlar incelendiğinde AgNP1'in 452 nm'de, AgNP2'nin 428 nm'de, AgNP3'ün ise 464 nm'de SPR pikleri verdiği gözlemlenmiş ve uçucu yağlarla sentezlenen nanopartiküllerin oluşumu elde edilen SPR pikleri ile kanıtlamıştır.

FT-IR analizi sonucunda her 3 uçucu yağa ait fonksiyonel grupların parmak izi bölgesinde oluşturduğu pikler AgNP1, AgNP2 ve AgNP3'ün FT-IR spektrumlarında gözlemlenmiş ve nanopartikül oluşumu kanıtlanmıştır.

Elde edilen nanopartiküllerin XRD kırınım desenleri incelendiğinde her 3 nanopartikülün de (111), (200), (220), (311), (222) hkl düzlemlerinde pikler verdiği ve yüzey merkezli kübik formda kristallendiği belirlenmiştir. Ortalama partikül boyutunun AgNP1 için 18.51 nm, AgNP2 için 19.02 nm, AgNP3 için 20.15 nm olduğu belirlenmiştir.

Sentezlenen AgNP'lerin yapısı ve yüzey morfolojisi Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile kimyasal yapısı ise Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX) ile belirlenmiştir. elde edilen SEM görüntüleri değerlendirildiğinde AgNP1'in yüzey morfolojisinin küresel, çubuk, üçgen ve altıgen şeklinde olduğu ve ortalama partikül boyutunun ise 31.26 nm olduğu belirlenmiştir. EDX spektrumundan elde edilen veriler ışığında Ag'nin %51.11, C'un %36.36 ve O'in %12.12 oranında AgNP1'in yapısında bulunduğunu belirlenmiştir. AgNP2'nin yüzey morfolojisinin küresel, çubuk, üçgen ve altıgen şeklinde olduğu ve partikül boyutunun ise 28.2 nm olduğu belirlenmiştir. EDX spektrumundan elde edilen veriler Ag'in %63.14, C'un %29.60 ve O'in %7.25 oranında AgNP2'in yapısında bulunduğunu göstermektedir. AgNP3'ün yüzey morfolojisinin küresel, çubuk, üçgen ve beşgen şeklinde olduğu ve partikül boyutunun ise 58.54 nm olduğu belirlenmiştir. EDX spektrumundan elde edilen veriler Ag'in %59.85, C'un %33.55 ve O'in 6.60 oranında AgNP3'ün yapısında bulunduğunu göstermektedir.

Sentezlenen AgNP'lerin yüzey morfolojisi ve partikül büyüklüğü Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) kullanılarak belirlenmiştir. AgNP1'in TEM görüntülerinden partiküllerin ortalama çapı 30.94 nm olarak bulunmuştur ve partiküllerin üçgen, çubuk, küresel ve altıgen formda olduğu belirlenmiştir. AgNP2'nin TEM görüntülerinden partiküllerin ortalama çapı 18.51 nm olarak bulunmuştur ve partiküllerin üçgen, çubuk, küresel ve altıgen formda olduğu tespit edilmiştir. AgNP3'ün TEM görüntülerinden partiküllerin ortalama çapı 38.18 nm olarak bulunmuştur. AgNP3'ün yüzey morfolojisini belirlemek için TEM görüntüleri

incelendiğinde partiküllerin üçgen, çubuk, küresel ve beşgen formda olduğu belirlenmiştir.

Tez çalışması kapsamında ÖR1ES, ÖR2ES, ÖR3ES, AgNP1, AgNP2 ve AgNP3'ün *Hyalomma marginatum* türü kenelerin nimfleri üzerindeki 24 saatlik LC_{50} ve % mortalite değerleri belirlenmiştir. ÖR1ES'nin 24 saatlik LC_{50} değerinin tespiti için aralık belirleme deneyleri sonucunda belirlenen 6 farklı konsantrasyon (5, 15, 25, 35, 45, 65 mg/mL) *Hyalomma marginatum* türü nimflere uygulanmıştır. 24 saat sonunda LC_{50} değeri %95'lik güvenilirlik sınırlarında (14.569-22.557) 18.48 mg/mL olarak bulunmuştur. ÖR2ES'nin 24 saatlik LC_{50} değerinin tespiti için aralık belirleme deneyleri sonucunda belirlenen 6 farklı konsantrasyon (0.5, 2, 5, 10, 20, 30 mg/mL) *Hyalomma marginatum* türü nimflere uygulanmıştır. 24 saat sonunda LC_{50} değeri %95'lik güvenilirlik sınırlarında (7.878-20.062) 11.82 mg/mL olarak bulunmuştur. ÖR3ES'nin 24 saatlik LC_{50} değerinin tespiti için aralık belirleme deneyleri sonucunda belirlenen 6 farklı konsantrasyon (5, 15, 25, 35, 45, 55 mg/mL) *Hyalomma marginatum* türü nimflere uygulanmıştır. 24 saat sonunda LC_{50} değeri %95'lik güvenilirlik sınırlarında (47.917-78.937) 57.64 mg/mL olarak bulunmuştur. AgNP1'in 24 saatlik LC_{50} değerinin tespiti için aralık belirleme deneyleri sonucunda belirlenen 5 farklı konsantrasyon (20, 30, 40, 60, 80 mg/mL) *Hyalomma marginatum* türü nimflere uygulanmıştır. 24 saat sonunda LC_{50} değeri %95'lik güvenilirlik sınırlarında (30.01-42.72) 36.30 mg/mL olarak bulunmuştur. AgNP2 ve AgNP3 için yapılan deneyler sonucumda anlamlı veriler alınamamıştır.

Sonuç olarak halk arasında yaygın bir şekilde kekik olarak kullanılan 3 *Thymbra* türünün detaylı bir şekilde kimyasal içerik ve biyolojik aktiviteleri incelenip bilim dünyasına kazandırılmıştır. Genel olarak çalışılan türlerin yüksek antioksidan ve antikolinesteraz enzim aktiviteleri ile orta düzey antimikrobiyal, üreaz, tirozinaz ve elastaz aktiviteleri nedeniyle tüketilmelerinin insan sağlığı üzerinde olumlu etkilerinin olacağı söylenebilir. Fakat hem literatür bilgileri hem de türlerin sağlıklı insan hücre serisi (PDF) üzerindeki toksisite sonuçlarına göre türlerin kullanımında doza dikkat edilmesi gerektiği unutulmamalıdır. Ayrıca çalışılan türlerin hem yüksek uçucu yağ verimleri hem de içerdikleri yüksek karvakrol miktarı nedeniyle bu türler karvakrol için kaynak türler olarak kullanılabilir.

KAYNAKLAR

Aazza, S., vd., (2016). Antioxidant, Anti-inflammatory and Anti-hyperglycaemic Activities of Essential Oils from *Thymbra capitata*, *Thymus albicans*, *Thymus caespititius, Thymus carnosus, Thymus lotocephalus* and *Thymus mastichina* from Portugal. *Natural Product Communıcatıons,* 11(7), 1029-1038.

Abbas, A., vd., (2018). Acaricidal and insecticidal effects of essential oils against ectoparasites of veterinary importance. *Boletin Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 17(5),441-452.

Adenubi, O., vd., (2018). *In vitro* bioassays used for evaluating plant extracts with tick repellent and acaricidal properties: a critical review. *Veterinary Parasitology,* 254, 160-171.

Adenubia, O.T., vd., (2018). Pesticidal plants as a possible alternative to synthetic acaricides in tick control: A systematic review and meta-analysis. *Industrial Crops and Products,* 123, 779-806.

Akdeniz, M., vd., (2021). A potential species for cosmetic and pharmaceutical industries: Insight to chemical and biological investigation of naturally grown and cultivated *Salvia multicaulis* Vahl. *Industrial Crops & Products*. 168, 113566.

Akdeniz, M., vd., (2021), Biological and chemical comparison of natural and cultivated samples of Satureja macrantha C.A.Mey. *Records of Natural Products*, 15(6), 568-584.

Akdeniz, M., vd., (2022). Determination of fingerprints contents of different extracts and parts of six endemic Salvia taxa by GC□MS: Source species for valuable compounds with drug or drug potential. *Biomedical Chromatography*, e5263.

Akkol, E.K., vd., (2009). Cholesterol□reducer, antioxidant and liver protective effects of *Thymbra spicata* L. var. *spicata*. *Journal of Ethnopharmacology*, 126 (2), 314–319.

Al Hafi, M., vd., (2017). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Satureja, Thymus*, and *Thymbra* Species Grown in Lebanon. *Chemıstry & Bıodıversıty,*14(5).

Al, S. ve Yıldırım, Y. (2020). Antimicrobial Activity of *Thymbra spicata* L. Essential Oil in Turkish Dry Fermented Sausages. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 67, 227-233.

Alam, P., vd., (2017). Quantitative analysis of rutin, quercetin, naringenin, and gallic acid by validated RP- and NP-HPTLC methods for quality control of anti-HBV active extract of Guiera senegalensis. *Pharmaceutical Biology,* 55, 1317-1323.

Alan, S., vd., (2010). Lallemantia Fisch. & Mey. cinsi üzerinde taksonomik, morfolojik ve anatomik araştırmalar. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 39(1), 17-34.

Albano, S.M. ve Miguel, M.G. (2011). Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrıal crops and products,* 33(2), 338-343.

Algan, M. (2019). Pistacia terebinthus Galinin Bazı Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Batman. 62.

Alhusban, A.A., vd., (2019). The Safety Assessment of Toxic Metals in Commonly Used Pharmaceutical Herbal Products and Traditional Herbs for Infants in Jordanian Market. *Bıologıcal Trace Element Research,* 187(1), 307-315.

Ali, I.B., vd., (2012). Variation of Volatiles in Tunisian Populations of *Thymbra capitata* (L.) CAV. (Lamiaceae). *Chemıstry & Bıodıversıty,* 9(7), 1272-1285.

Aligiannis, N., vd., (. 2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 49(9), 4168-4170.

Al Masoud, N., vd., (2021). Green nanotechnology synthesized silver nanoparticles: Characterization and testing its antibacterial activity. *Green Processing and Synthesis,* 10(1), 518-528.

Almatroudi, A. (2020). Silver nanoparticles: synthesis, characterisation and biomedical applications. *Open Life Sciences*,15, 819-839.

Amerasan, D., vd., (2016). Myco-synthesis of silver nanoparticles using Metarhizium anisopliae against the rural malaria vector Anopheles culicifacies Giles (Diptera: Culicidae). *Journal of Pest Science,* 89, 249–256.

American Cancer Society 2000. Phytochemicals. Erişim [http://www.cancer.org/eprise/main/docroot/ETO/content/ETO_5_3X_Phytochemicals], Erişim Tarihi: 06. 2000.

American Public Health Association (APHA). (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition. American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, Washington, D.C.

Anastasiou, T.I., vd., (2020). Comparative Evaluation of Essential Oils from Medicinal-Aromatic Plants of Greece: Chemical Composition, Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity against Bacterial Fish Pathogens. *Molecules,* 25, 148.

Anderson, J.F. ve Magnarelli, L.A. (2008). Biology of ticks. *Infectious Disease Clinics of North America,* 22(1), 195-215.

Ang-Lee, M.K., vd., 2001. Herbal medicines and perioperative care. *Journal of the American Medical Association*, 286(2), 208-16.

Aniszewski, T. (2007). Alkaloids–Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role. Elsevier Science. Amsterdam, The Netherlands.

Apak, R., vd., (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981.

Appleyard, M.E. (1992). Secreted acetylcholinesterase: non-classical aspects of a classical enzyme. *Trends in Neurosciences*, 15, 485-490.

Askun, T., vd., (2008). Effects of Some Lamiaceae Species Methanol Extracts on Potential Mycotoxin Producer Fungi. *Pharmaceutıcal Bıology,* 46(10-11), 688-694.

Askun, T., vd., (2009). *In Vitro* Activity of Methanol Extracts of Plants Used As Spices Against Mycobacterium Tuberculosis and Other Bacteria. *Food Chemıstry,* 116(1), 289-294.

Aslan, E. ve Arslan, D. (2020). Effects of Different Aspects And Harvest Times On Essential Oil Ratıo And Components of Wild Thyme (*Thymbra spicata* L. var. spicata). *Fresenıus Envıronmental Bulletın,* 29(5), 3812-3817.

Aslan, I., vd., (2009). Toxıcıty Of Essentıal Oıl Vapours Obtaıned From Several Plants Specıes Agaınst The Granary Weevıl, Sitophilus granarius (L.). *Fresenıus Envıronmental Bulletın,* 18(9A), 1717-1722.

Atanasov, A.G., vd., (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: a review. *Biotechnology Advances,* 33(8), 1582-1614.

Atta-ur-Rahman ve Choudhary, M.I. (2001). Bioactive Natural Products as a Potential Source of New Pharmacophores, A Theory of Memory. *Pure and Applied Chemistry*, 73, 555-560.

Averbeck, D., vd., (1990). Genotoxicity of bergapten and bergamot oil in Saccharomyces cerevisiae. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 7(2-4), 209-229.

Aydin, S.K., vd., (2021). Di-, and Triterpenoids Isolation and LC-MS Analysis of *Salvia marashica* Extracts with Bioactivity Studies. *Records Of Natural Products*, 15(6), 463-475.

Ayub, M.A., vd., (2017). Variation in Phenolic Profile, *β*-Carotene and Flavonoid Contents, Biological Activities of Two Tagetes Species from Pakistani Flora. *Chemistry & Biodiversity*, 14(6), e1600463.

Azirak, S. ve Karaman, S. (2008). Allelopathic Effect Of Some Essential Oils And Components On Germination Of Weed Species. *Acta Agrıculturae Scandınavıca Sectıon B-Soıl And Plant Scıence,* 58(1), 88-92.

Babar, W., vd., (2012). An inventory of the plants used for parasitic ailments of animals. *Pakıstan Veterınary Journal,* 32(2), 183-187.

Baier, A.C., (2009). Regulating nanosilver as a pesticide. Erişim:[https://blogs.edf.org/health/2009/02/12/regulating-nano-silver-as-a-pesticide/]. Erişim Tarihi: 12.02.2009.

Bakhy, K., vd., (2013). Wild *Thymbra capitata* from Western Rif (Morocco): Essential Oil Composition, Chemical Homogeneity and Yield Variability. *Natural Product Communıcatıons,* 8(8), 1155-1158.

Bakırcı, S., vd., (2011). *Hyalomma rufipes* (Koch, 1844) infesting cattle in the West Aegean region of Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences,* 35(5), 359-363.

Bakir, D., vd., (2020). A GC–MS method validation for quantitative investigation of some chemical markers in Salvia hypargeia Fisch. & C.A. Mey. of Turkey: Enzyme inhibitory potential of ferruginol. *Journal of Food Biochemistry*, 44, e13350.

Bakkali, F., vd., (2008). Biological effects of essential oils–a review. *Food and Chemical Toxicology,* 46(2), 446-475.

Banerjee, A., vd., (2008). The Chemistry of Bioactive Diterpenes. *Current Organic Chemistry*, 12, 1050-1070.

Bankar, A., vd., (2010). Banana Peel Extract Mediated Novel Route or the Synthesis of Silver Nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 368(1), 58-63.

Baocy, Y., vd., (2008). Inhibition of Some Fungi by Essential Oil of Thymbra sintenesii Bornm. et Aznav. subsp isaurica in Model System. *Journal Of Essentıal Oıl Bearıng Plants,* 11(3), 311-318.

Barakat, A., vd., (2013). Variation in the essential oils of Thymbra spicata L. growing wild in Lebanon according to the date of harvest. *Journal of Essentıal Oil Research,* 25(6), 506-511.

Barker, S.C. ve Murrell, A. (2004). Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology,* 129, 15- 36.

Basbagci, G. ve Erler, F. (2013). Evaluatıon Of Some Essentıal Oıls And Theır Major Components Agaınst Mushroom Scatopsıd Flıes As Fumıgants. *Fresenıus Envıronmental Bulletın,* 22(11), 3170-3178.

Baser, K.H.C. (1993). Essential Oils of Anatolian Labiatae: A Profile. *Acta Horticulturae*, 333(333), 217-238.

Basim, H., vd., (2000). Antibacterial Effect Of Essential Oil Of *Thymbra spicata* L. var. Spicata On Some Plant Pathogenic Bacteria. Zeıtschrıft *Fur Pflanzenkrankheıten Und Pflanzenschutz-Journal Of Plant Dıseases And Protectıon,* 107(3), 279-284.

Başer, K.H.C., (1997). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin İlaç ve Alkollü İçki Sanayilerinde Kullanımı. İstanbul Ticaret Odası.,

Bayan, Y., vd., (2017). Determination of Chemical Compositions, Antifungal, Antibacterial And Antioxidant Activity of *Thymbra spicata* L. from Turkey. *Fresenıus Envıronmental Bulletın*, 26(12), 7595-7599.

Baydar, H., vd., (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum, Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, 15(3), 169-172.

Bayram, E., vd., (2010). Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Artırılması Olanakları. *Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*. , 11-15 Ocak 2010, Ankara.

Baytop, T. (1963). Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri. İstanbul Üniv. Yayınları, İstanbul.

Bekut, M., vd., (2018). Potential of selected Lamiaceae plants in anti(retro) viral therapy. *Pharmacological Research,* 133, 301-314.

Benedek, B., vd., (2007). *Achillea millefolium* L. Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition. *Journal of Ethnopharmacology,* 113(2), 312-317.

Benelli, G. ve Lukehart, C.M. (2017). Special issue: applications of green-synthesized nanoparticles in pharmacology, parasitology and entomology. *Journal of Cluster Science*, 28, 1-2.

Benelli, G. ve Pavela, R. (2018). Repellence of essential oils and selected compounds against ticks-a systematic review. *Acta Tropica,* 179, 47-54.

Benelli, G., vd., (2016a). Tick repellents and acaricides of botanical origin: a green roadmap to control tick-borne diseases. *Journal of Parasitology Research,* 115(7), 2545-2560.

Benelli, G., vd., (2016b). Tick repellents and acaricides of botanical origin: a green roadmap to control tick-borne diseases. *Parasitology Research*, 115(7), 2545-2560.

Benelli, G., vd., (2017a). Nanoparticles as effective acaricides against ticks. A review. *Ticks and Tick-borne Diseases***,** 8(6), 821-826.

Benelli, G., vd., (2017b). Commentary: making green pesticides greener. The potential of plant products for nanosynthesis and pest control. *Journal of Cluster Science,* 28, 3-16.

Bener, M. (2019). Modeling and Optimizing Microwave-Assisted Extraction of Antioxidants From *Thymbra spicata* L. and Characterization of Their Phenolic Constituents. *Food Science Biotechnology,* 28(6), 1733-1745.

Benli, M. ve Yiğit, N. (2005). Ülkemizde Yaygın Kullanımı Olan Kekik (*Thymus vulgaris*) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi,* 08(03), 1-8.

Bentes, J., vd., (2009). Antioxidant Activities of The Essential Oils And Extracts of Portuguese *Thymbra capitata* and *Thymus Mastichina*. *Italian Journal Of Food Science,* 21(2), 183-195

Biavati, B., vd., (2004). Composition and Antimicrobial Properties of *Satureja Cuneifolia* Ten. and *Thymbra Sintenisii* Bornm. et Aznav. *subsp*. *isaurica* Ph. Davis Essential Oils. *Annals Of Mıcrobıology,* 54(4), 393-401.

Bisio, A., vd., (2019). Quinone diterpenes from *Salvia* species: Chemistry, botany, and biological activity. *Phytochemistry Reviews*, 18, 665-842.

Bissinger B.W. ve Roe, R.M. (2010). Tick repellents: Past, present, and future. *Pesticide Biochemistry and Physiology,* 96, 63-79.

Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.

Borase, H.P., vd., (2014). Plant extract: a promising biomatrix for ecofriendly, controlled synthesis of silver nanoparticles. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 173, 1-29.

Borenfreund E. ve Puerner J.A. (1985). Toxicity determined *in vitro* by morphological alterations and neutral red absorption. *Toxicology Letters,* 24(2-3), 119-124.

Box, A. (1982). Production of Aromatic Plants, Climatic Models, Aromatic Plants; Basic and Applied Aspects. Proceedings of International Symposium on Aromatic Plants, Yunanistan. 7, 87-99.

Bozkurt, İ.A., vd., (2020). Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils Isolated from Medicinal Plants against Gall Forming Plant Pathogenic Bacterial Disease Agents. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(6), 1474-1482.

Buchanan, B.B., vd., (1994). Perspectives in biochemistry and biophysics: thioredoxin: a multifunctional regulatory protein with a bright future in tecnology and medicine. *Archives of Biochemistry and Biophysics,* 314, 257-260.

Burnet, M.W., vd., (2000). The stachydrine catabolism region in Sinorhizobium meliloti encodes a multi-enzyme complex similar to the xenobiotic degrading systems in other bacteria. *Gene***,** 244, 151-161.

Büyükkartal, N., vd., (2009). Marrubıum globosum Montbret ve Aucher Ex Benth.' de Tohum Kabuğunun Yapısı. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 10(1), 223-227.

Camprubi, A., vd., (2011). Greenhouse inoculation of psammophilic plant species with arbuscular mycorrhizal fungi to improve survival and early growth. *European Journal Of Soıl Bıology,* 47(3), 194-197.

Can Baser K. (2008). Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Current Pharmaceutical Design,* 14(29), 3106-3119.

Carrasco, A., vd., (2016). *Origanum vulgare* and *Thymbra capitata* Essential Oils from Spain: Determination of Aromatic Profile and Bioactivities. *Natural Product Communications,* 11(1), 113-120.

Castro, K.N.D.C., vd., (2018) . *In vitro* efficacy of essential oils with different concentrations of 1,8-cineole against Rhipicephalus (Boophilus) microplus. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria,* 27(2), 203-210.

Celep, F. ve Dirmenci, T. (2017). Systematic and Biogeographic overview of Lamiaceae in Turkey. *Natural Volatiles and Essential Oils,* 4(4), 14-27.

Cetin, H., vd., (2010). Acaricidal activity of *Satureja thymbra* L. essential oil and its major components, carvacrol and *γ*-terpinene against adult *Hyalomma marginatum* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology,* 170(34), 287-90.

Chaparro-Gutiérrez, J.J., vd., (2020). Interpretation of the larval immersion test with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) microplus from Colombian farms, *Ticks Tick Borne Dis*., 11(2), 101323.

Charfi, S., vd., (2019). *Thymbra capitata* Essential Oil Use to Preserve Physicochemical and Microbiological Qualities of Pomegranate Juice. *Food Science and Technology Research,* 25(2), 257-263.

Charfi, S., vd., (2019). Study of Chemical Composition And Antibacterial Activity Of Moroccan Thymbra Capitata Essential Oil And İts Possible Use İn Orange Juice Conservatio. *Materials Today,* 13, 706-712.

Cisak, E., vd., (2012). Repellents and acaricides as personal protection measures in the prevention of tick-borne diseases. *Journal of Agricultural Food.*, 19(4), 625-30.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) M7-A7. (2006) Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard. 7th ed, PA, USA: CLSI: Wayne, 2006.

Cooksey, C.J., vd., (997). Evidence of the indirect formation of the catecholic intermediate substrate responsible for the autoactivation kinetics of tyrosinase. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 26226–26235.

Costa, M.A., vd., (1999). Toward Engineering the Metabolic Pathways of Cancer-Preventing Lignans in Cereal Grains and Other Crops. In Recent Advances in Phytochemistry, Editör; J.T. Romeo, *Phytochemicals in Human Health Protection, Nutrition, and Plant Defense,* 67-87, New York.

Costa, S., vd., (2018). *In Vitro* Susceptibility Of Trypanosoma Brucei Brucei To Selected Essential Oils And Their Major Components. *Experımental Parasıtology*, 190, 34-40.

Craig, W.J., (1999). Health-promoting properties of common herbs. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70(3), 491-499.

Croteau, R., vd., (2000). Natural products (Secondary metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plant*, 1250-1318.

Çelik, G., vd., (2020). Biological Activity, and Volatile and Phenolic Compounds From Five Lamiaceae Species. *Research Artıcle,* 36, 223-232.

Çinbilgel, İ. ve Kurt, Y. (2019). A research on species diversity and ethno botanical utilization of lamiaceae family in Southern Turkey. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(1), 90-107.

Daga, P., vd., (2022). Extraction, fatty acid profile, phytochemical composition and antioxidant activities of fixed oils from spices belonging to Apiaceae and Lamiaceae family. *Journal of Food Science and Technology*, 59, 518-531.

Daneshvar-Royandezagh, S., vd., (2009). *In Vıtro* Micropropagation of Garden Thyme (*Thymbra spıcata* L. var. *spıcata* L.) Collected From Southeastern Turkey Using Cotyledon Node. *Biotechnology & Biotechnological Equipment,* 23(3), 1319-1321.

Danis, O., vd., (2014). Evaluatıon of Antioxidant, Radical-Scavenging and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities of Various Culinary Herbs Cultivated In Southern Turkey. *Journal Of Food Bıochemıstry,* 38(6), 602-611.

Dar, R. A., vd., (2017). General overview of medicinal plants: A review. *The Journal of Phytopharmacology*, 6(6), 349-351.

Das, S.K., vd., (2012). Silver-NanoBiohybrid Material: Synthesis, Characterization and Application in Water Purification. *Bioresource Technology*, 124, 495-499.

Davis, P. H. (1982). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press, Yayın No:7, Sayfa: 382-384. Edinburgh.

de las Heras, B., vd., (1998). Antiinflammatory and antioxidant activity of plants used in traditional medicine in Ecuador. *Journal of Ethnopharmacology*, 61(2), 161-6.

de Oliveira, P.R., vd., (2012). Potential of the insect growth regulator, fluazuron, in the control of Rhipicephalus sanguineus nymphs (Latreille, 1806) (Acari:

Ixodidae): determination of the LD95 and LD50. *Experimental Parasitology*, 131(1), 35-39.

Debnath, B., vd., (2018). Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. *Materials Today Chemistry*, 9, 56-72.

Delgado-Adamez, J., (2017). Chemical Composition And Bioactivity Of Essential Oils From Flower And Fruit Of Thymbra Capitata And *Thymus* Species. *Journal Of Food Scıence And Technology-Mysore*, 54(7), 1857-1865.

Demetzos, C. ve Dimas, K.S. (2001). Labdane-type diterpenes: Chemistry and biological activity. *Studies in Natural Products Chemistry*, 25, 235-292.

Demiralay, H., vd., (2011). The investigation of the Anti-hypercholesterolemic Activities of *Thymbra spicata* Labiata Oil (Karabas Thyme Oil) and Atorvastatin. *Journal of the Chemıcal Socıety Of Pakıstan,* 33(5), 733-743.

Dewick, P.M. (2002). Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 2nd edition, John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England.

Dik, B. (2003). Veteriner Entomoloji, S.Ü. Basımevi, Sayfa:167-188, Konya.

Dinis, T. C. P., vd., (1994). Action of phenolic derivatives as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics,* 315, 161-169.

Dirican, E., vd., (2012). Modulatory effects of *Thymbra spicata* L. different extracts against the mercury induced genotoxicity in human lymphocytes *in vitro*. *Cytotechnology,* 64(2), 181-186.

Djebili, S., vd., (2021). Volatile compound profle and essential oil composition of three wild Algerian aromatic plants with their antioxidant and antibioflm activities. *Journal of Food Measurement and Characterization.*

Dogan, S., vd., (2007). Partial characterization of peroxidase from the leaves of thymbra plant (Thymbra spicata L. var. spicata). *European Food Research And Technology,* 225(5-6), 865-871.

Dzamic, A.M., vd., (2015). Libyan *Thymus capitatus* essential oil: antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and colon pathogen adhesion-inhibition properties. *Journal of Applıed Mıcrobıology,* 119(2), 389-399.

Eken, S. (2005). Morphological and Anatomical Studies on *Thymbra sintenisii* Bornm. & Aznav. (Labiatae). *Turkish Journal of Botany,* 29, 389-397.

El Aanachi, S.,vd., (2021). *In vitro* study of the antioxidant, photoprotective, anti-tyrosinase, and anti-urease effects of methanolic extracts from leaves of six Moroccan Lamiaceae. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 1785-–1795.

El Abed, N., vd., (2014). Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Thymus capitata Essential Oil with Its Preservative Effect against Listeria monocytogenes Inoculated in Minced Beef Meat. *Evıdence-Based Complementary And Alternatıve Medıcıne,* 2014, 11.

El Ouariachi, vd., (2011). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils and solvent extracts of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns and link from Morocco. *Journal Of Medıcınal Plants Research,* 5(24), 5773-5778.

Elchiguerra, J. L., vd., (2005). Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *Journal of Nanobiotechnology,* 3, 6.

El-Jalel, L.F.A., vd., (2018). Difference İn Chemical Composition And Antimicrobial Activity Of *Thymus capitatus* L. Essential Oil at Different Altitudes. *Future Journal Of Pharmaceutıcal Scıences*, 42, 156-160.

Ellman, G.L., vd., (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95.

Elmi, A., vd., (2017). *Thymbra capitata* (L.) Cav. and *Rosmarinus officinalis* (L.) Essential Oils: *In Vitro* Effects and Toxicity on Swine Spermatozoa. *Molecules,* 22(12).

El-Seedi, vd., (2019). Metal Nanoparticles Fabricated by Green Chemistry Using Natural Extracts: Biosynthesis, Mechanisms, and Applications. *RSC Adv.*, 9(42), 24539-24559.

Erci, F., vd., (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using *Thymbra spicata* L. var. *spicata* (zahter) aqueous leaf extract and evaluation of their morphology-dependent antibacterial and cytotoxic activity. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology,* 46(1), 392-392.

Erdogan Eliuz, E.A., vd., (2017). *In vitro* phototoxicity and antimicrobial activity of volatile oil obtained from some aromatic plants. *Journal of Essential Oil Bearing Plants,* 20(3), 758–768.

Ergonul, O. (2006). Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infectious Diseases*, Ticks (Acari). *Veterinary.* 6, 203-214.

Eruygur, N., vd., (2017). A study on the antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activity of Thymbra spicata L. var. spicata ethanol extract. *Cumhuriyet Medical Journal,* 39(3), 531-538.

Eruygur, N., vd., (2021). Composition characterization and biological activity study of Thymbra spicata l. var. spicata essential oil**.** *Cumhuriyet Science Journal,* 42(3), 565-575.

Ertas, A., vd., (2021), Bioguided isolation of secondary metabolites from Salvia cerino-pruinosa Rech. f. var. cerino-pruinosa. *Records of Natural Products,* 15(6), 568-584.

Ertas, A., vd., (2015). Chemical constituents of Mentha longifolia subsp. noeana with antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activities. *Records of Natural Products,* 9(1), 105-115.

Ertas, A., vd., (2022). Essential oil, aroma and fatty acid profiles of five endemic Salvia taxa from Turkey with chemometric analysis, Chemistry & Biodiversity, 19, e202100408.

Estrada-Peña, A. ve Jongejan, F. (1999). Ticks feeding on humans: A review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. *Experimental and Applied Acarology*, 23, 685-715.

Fabricant, D.S. ve Farnsworth, N.R. (2001). The Value of Plants Used in Traditional Medicine for Drug Discovery. *Environmental Health Perspectives*, 109(suppl 1), 69–75.

Faleiro, L., vd., (2005). Antibacterial And Antioxidant Activities Of Essential Oils İsolated From *Thymbra Capitata* L. (cav.) And *Origanum Vulgare* L. *Journal of Agrıcultural And Food Chemıstry,* 53(21), 8162-8168.

FAO, (2015). Corparate Document Repository. Impact of Cultivation and Gathering of Medicinal Plants on Biodiversity. Erişim [(http://www.fao.org/docrep/005/aa010e/aa010e02.html]. (Erişim Tarihi: 11.11.2015).

Faria, J.M.S., vd., (2013). Bioactivity against Bursaphelenchus xylophilus: Nematotoxics from essential oils, essential oils fractions and decoction waters. *Phytochemıstry,* 94, 220-228.

Faydaoğlu, E. ve Sürücüoğlu, M.S. (2011). Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi,* 11(1), 52–62.

Figueiredo, A. C., vd., (2008). Portuguese *Thymbra* and *Thymus* Species Volatiles: Chemical Composition and Biological Activities. *Current Pharmaceutical Design*, 14, 3120-3140.

Finney, D. J. (1952). Probit Analysis., Cambridge University Press., Cambridge, England.

Fitsiou, E., vd., (2016). Antioxidant and anti□ proliferative properties of the essential oils of *Satureja thymbra* and *Satureja* parnassica and their major constituents. *Anticancer Research*, 36(11), 5757-5763.

Fleisher, Z. ve Fleisher, A. (2005). Extract Analyses Of *Satureja thymbra* L. And *Thymbra Spicata* L. Aromatic Plants Of The Holy Land and the Sinai. Part XVII. *Journal of Essentıal Oil Research,* 17(1), 32-35.

Florio, J.C., vd., (1993). Effects of amitraz on motor function. *Pharmacology & Toxicology*, 73, 109-114.

Franceschelli, S., vd., (2017). Biological effect of licochalcone C on the regulation of PI3K/Akt/eNOS and NF-κB/iNOS/NO signaling pathways in H9c2 cells in response to LPS stimulation. *International Journal of Molecular Sciences,* 18, 690.

Fuku, N., vd., (2019). Sports, Genetics of muscle fiber composition. *Exercise and Nutritional Genomic**s,*** 295-314.

Galego, L., vd., (2008). Editörler: Gardner, G., Craker, L.E. Acta Horticulturae, Antioxidant Activity Of The Essential Oils Of *Thymbra Capitata*, *Origanum Vulgare, Thymus Mastichina*, and *Calamintha Baetica*. Proceedıngs Of The Internatıonal Symposıum On Plants As Food And Medıcıne: The Utilization And Development of Horticultural Plants For Human Health, 325, 765, Seoul, Kuzey Kore.

Galluzzi, L., vd., (2009). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death & Differentiation,* 16, 1093-1107.

Ganesan, K. ve Xu, B. (2017). A critical review on polyphenols and health benefits of black soybeans**.** *Nutrients*. 9, 455.

Garcia, C.S.C., vd., (2016). Pharmacological perspectives from Brazilian Salvia officinalis (Lamiaceae): Antioxidant, and antitumor in mammalian cells. *Anais da Academia Brasileira de Ciências,* 88, 281-292.

Garcia-Canovas, F., vd., (1982). The role of pH in the melanin biosynthesis pathwayi *Journal of Biological Chemistry,* 257, 8738-–8744.

Gargılı, A., vd., (2010). Evaluation of ticks biting humans in Thrace province, Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(Suppl-A), 141-146.

Gassel, M., vd., (2014). The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: selective inhibition of arthropod *γ*-aminobutyric acid and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 45, 111-124.

Gazyağcı, A.N. ve Aydenizöz, M. (2010). Keneler ve Kenelerin Taşıdığı Bazı Önemli Hastalıklar. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 34(2), 131-136.

Gedikoğlu, A., vd., (2019). Evaluation of Thymus Vulgaris and Thymbra Spicata Essential Oils And Plant Extracts For Chemical Composition, Antioxidant, And Antimicrobial Properties. *Food Science Nutrition,* 7, 1704-1714.

Ghiselli, A., vd., (1995). A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radical Biology and Medicine,* 18, 29-36.

Ghosh, S., vd., (2007). Upcoming and future strategies of tick control: a rewiew. *Journal of Vector Borne Diseases,* 44(2), 79-89.

Gibson, E.L., vd., (1998). Fruit and Vegetable Consumption, Nutritional Knowledge and Beliefs in Mothers and Children. *Appetite*, 31(2), 205-228.

Gilbert, D.F. ve, Boutros, M. (2016). A protocol for a highthroughput multiplex cell viability assay. *Methods in Molecular Biology,* 1470, 75-84.

Gilman, S., (1997). Alzheimers disease. *Perspectives in Biology and Medicine*, ; 40(2), 230-45.

Gnanadesigan, M., vd., (2011). Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Mangrove Plant Extract and Their Potential Mosquito Larvicidal Property. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(10), 799-803.

Gnerre, C., vd., (2001). Monoamine oxidase inhibitory activity of some Hypericum species native to South Brazil. *ournal of Pharmacy and Pharmacology,* 53(9), 1273-1279.

González-Sarrías, A., vd., (2017). Neuroprotective effects of bioavailable polyphenol-derived metabolites against oxidative stress-induced cytotoxicity in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Journal of Agricultural Food*, 65, 752-758.

Gormez, O. ve Diler, O. (2015). *In vitro* Antifungal activity of essential oils from *Tymbra, Origanum, Satureja* species and some pure compounds on the fish pathogenic fungus, *Saprolegnia* parasitica. *Aquaculture Research,* 45(7), 1196-1201.

Guschin, A., vd., (2015). Treatmentefficacy treatment failures and selection of Mycoplasma genitalium during treatment of male urethritis with Josamycin. *BMC Infectious Diseases*, 15, 40.

Güleç Ceylan, vd., (2016). Alfa 1 Antitripsin Eksikliginde Molekiiler Taninin Onemi: Olgu Sunumu. *Van Tıp Dergisi*, 23(1), 92-94.

Güler, B., vd., (2015). Medicinal plants used by traditional healers in Bozüyük (Bilecik– Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 173, 39-47.

Güler, S. (1982). Ankara ve civarındaki koyun ve keçilerde kış ixodidaeleri üzerine araştırmalar. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1, 45-54.

Güler, S. vd., (1993). Malatya ve bazı Güneydoğu Anadolu illerinde sığır, koyun ve keçilerde bulunan kene (Ixodidea) türleri. *Doğa Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 17, 229-231.

Güner, A., vd., (2000). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press., yayın No:11. Edinburgh.

Hamburger, M. ve, Hostettmann, K. (1991). Bioactivity in Plants: The Link between Phytochemistry and Medicine. *Phytochemistry,* 30(12), 3864-3874.

Hanci, S.S., vd., (2003). Isolation Of Volatile Oil From Thyme (*Thymbra Spicata*) By Steam Distillation. *Nahrung-Food,* 47(4), 252-255.

Hanson, J.R. (2016). Diterpenoids of terrestrial origin. *Natural Product Reports*, 33, 1227-1238.

Hanson, J.R., vd., (2019). Diterpenoids of terrestrial origin. *Natural Product Reports*, 36, 1499-1512.

Harborne, J.B. (1993). *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. Chapman & Hall, London.

Harley, R.M., vd., (2004). The families and genera of vascular plants. Springer, 418, Berlin, Heidelberg.

Haroun, M. F. ve Al-Kayali, R.S. (2016). Synergistic effect of Thymbra spicata L. extracts with antibiotics against multidrug- resistant Staphylococcus aureus and Klebsiella pneumoniae strains. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences.,* 19(11), 1193-1200.

Hartman, R. E., (2010). Actions of Bioactive Phytochemicals in Cell Function and Alzheimer's Disease Pathology. Cadenas, E and Packer, L. (Eds.) Micronutrients and Brain Health. Taylor & Francis Group.

Hasler, C.M. ve Blumberg, J.B. (1999). Symposium on Phytochemicals: Biochemistry and Physiology. *Journal of Nutrition*, 129, 756S-757S.

Hearing VJ. ve Jiménez, M., (1987) Mammalian tyrosinase--the critical regulatory control point in melanocyte pigmentation. *International Journal of Biochemistry*, 19, 1141-7.

Heinlaan, M., vd., (2008). Toxicity of Nanosized and Bulk ZnO, CuO and TiO2 to Bacteria *Vibrio fischeri* and *Crustaceans Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*. 71(7), 1308-1316.

Hepokur, C., vd., (2020). Evaluation of Antioxidant And Anticancer Effects Of *Thymbra Sintenisii* subsp. *isaurica* Extract. *Journal Of Cancer Research And Therapeutıcs,* 16(4), 822-827.

Hepokur, C., vd., (2020). *In Vitro* Antimicrobial, Antioxidant, Cytotoxic Activities, And Wound Healing Potential of *Thymbra capitata* Ethanolic Extract. *Turkish Journal of Biochemistry*, 45(6), 843-849.

Heywood, V.H., (1978). Flowering Plants Of the World. Oxford Unıversty yayınları. 336, İngiltere.

Hina Z., vd., (2015). Anti-urease Activity of Mimusopselengi Linn (Sapotaceae). *European Journal of Medicinal Plants,* 6, 223-230.

Hirayama, C., vd., (2000). Purification and properties of urease from the leaf of mulberry, *Morus alba*. *Phyotochemistry,* 53, 325-330.

Hojat, V., vd., (2017). Green synthesis of the silver nanoparticles mediated by Thymbra spicata extract and its application as a heterogeneous and recyclable nanocatalyst for catalytic reduction of a variety of dyes in water. *Journal of Cleaner Production,* S0959652617322321.

Hortigon-Vinagre, M.P., vd., (2014). Thymbra capitata Essential Oil Prevents Cell Death Induced by 4-Hydroxy-2-Nonenal in Neonatal Rat Cardiac Myocytes. *Planta Medıca,* 80(15), 1284-1290.

Horton, H.R., vd., (1993). Principles of biochemistry. Neil Patterson Püblishers Prentice Hail International, Inc., USA.

Hosni, K., vd., (2013). Enzyme-assisted extraction of essential oils from thyme (*Thymus capitatus* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): Impact on yield, chemical composition and antimicrobial activity. *Industrıal Crops And Products,* 47, 291-299.

Hras, A.R., vd., (2000). Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with alpha-tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chemistry*, 71, 229-233.

Hudson, B.J.F. (1990). Food Antioxidants. Elsevier Applied Science, 1-316. London and New York.

Ibrahim, H.M. (2015). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences,* 8,265-275.

Ijaza, M. vd., (2021). Green Synthesis Of Silver Nanoparticles By Using Various Extracts: A Review. *Inorganıc And Nano-Metal Chemıstry.* 51(5), 744-755.

Iriti, M., vd., (2014). Chemical composition and antiradical capacity of essential oils from Lebanese medicinal plants. *Journal Of Essentıal Oıl Research,* 26(6), 466-472.

Irtegun Kandemir, S., vd., (2022). Investigation of cytotoxic and apoptotic effects of 63 compounds obtained from Salvia species: Promising anticancer agents. *Journal of Food Biochemistry*, e14226.

Isman, M.B. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*. 51, 45-66.

Ivanova D., vd., (2005). Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology,* 96, 145-150.

Jahn W., (1999). Review: chemical aspects of the use of gold clusters instructural biology. *Journal of Structural Biology,* 127(2), 106-112.

Jameson, L.J., vd., (2012). Importation of Hyalomma marginatum, vector of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus, into the United Kingdom by migratory birds**.** *Ticks and Tick-borne Diseases*, 3, 95-99.

Jamshidi-Kia, F., vd., (2018). Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of Herbmed Pharmacology***,** 7(1), 1-7.

Jo, Y.K., vd., (2009). Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. *Plant Disease,* 93, 1037–1043.

Jongejan, F. ve Uilenberg, G. (2004). The global importance of ticks. *Parasitolology,* 129, 3-14.

Jouini, A., (2020). Potential Effects of Essential Oils Extracted from Mediterranean Aromatic Plants on Target Weeds and Soil Microorganisms. *Plants,* 9, 1289.

Kacem, R. (2011). Effects of Nigella (Nigella sativa L.) Seed Extract on Human Neutrophil Elastase Activity. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 823-829.

Kalka, K., vd., (2000). Biomelanin antioxidants in cosmetics: assessment based on inhibition of lipid peroxidation. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology,* 13, 143-149.

Kamer, G., vd., (2019). Nanoceria-Based Reactive Species Scavenging Activity Of Antioxidants Using N,N-dimethyl-*p*-phenylenediamine (DMPD) Probe. *Analytıcal Methods*, 11(14), 1908-1915.

Karaba□Yavasoglu, N.U., vd., (2006). Evaluation of the antinociceptive and anti□ inflammatory activities of *Satureja thymbra* L. essential oil. *Pharmaceutical Biology*, 44(8), 585–591.

Karaman, Y. (2002). Alzheimer Hastalığı ve Diğer Demanslar, 90-210, Kayseri.

Karampoula, F., vd., (2016). Hydrosol of Thymbra capitata Is a Highly Efficient Biocide against *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Biofilms. *Applıed And Envıronmental Mıcrobıology,* 82(17), 5309-5319.

Karatoprak, S.G., vd., (2020). Potential Antioxidant and Enzyme Inhibitory Effects of Nanoliposomal Formulation Prepared from *Salvia aramiensis* Rech. f. Extract. *Antioxidants,* 9, 293.

Karpi´nski, T.M. (2020). Essential Oils of Lamiaceae Family Plants as Antifungals. *Biomolecules,* 10, 103.

Karpouhtsis, I., vd., (1998). Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 46, 1111-1115.

Kaya, D.A. ve Duran, N. (2018). Antıfungal Actıvıty of *Nigella Sativa* L. and *Thymbra Spicata* L. Essentıal Oils Against *Tricophyton Rubrum*. 7th International Conference on Advanced Materials and Systems, 18-20 Ekim 2018, Bucharest, Romaya, 439-444.

Kaya, D.A., vd., (2012). The Effect of *Laurel* and *Thymbra Essentıal* Oils on Antıoxıdant and Antımıcrobıal Propertıes Of Collagen Hydrolysate. *Romanıan Bıotechnologıcal Letters,* 17(5), 7694-7701.

Kayastha, A.M. ve Das, N. (1999). A simple laboratory experiment for teaching enzyme immobilization with urease and its aplication in blood urea estimation, *Biochemical Education,* 27, 114-117.

Keskin, A. (2009). Amasya İlinde Bulunan Sert Kenelerin (Acarı: Ixodıdae) Faunistik Açıdan İncelenmesi. Yüksek Lisans Yezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, 82.

Keskin, C. (2018). Medicinal Plants and their Traditional Uses. *Journal Of Advances In Plant Bıology,* 1(2), 8.

Keskin, C., vd., (2018). Determination of *in vitro* antioxidant and antimicrobial properties of shoot and root extracts of Astragalus diphtherites FENZL var. diphtherites and Astragalus gymnalopecias RECH. FIL. obtained bydifferent solvents. *Kahramanmaras Sutcu Imam University Journal of Natural Sciences,* 21(2), 157-166.

Khalila, M., vd., (2019). Antisteatotic and antioxidant activities of Thymbra spicata L. extracts in hepatic and endothelial cells as *in vitro* models of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Ethnopharmacology*, 239, 111919.

Khater, H.F. 2012. Prospects of botanical biopesticides in insect pest management. *Pharmacologia,* 2(5), 244-259.

Khattak, S. ve Khan, H. (2016). Anti-cancer Potential of Phyto-alkaloids: A Prospective Review. Curr. *Cancer Treatment Reviews,* 12, 66-75.

Khoury, M., vd., (2016). Report on the medicinal use of eleven Lamiaceae species in lebanon and rationalization of their antimicrobial potential by examination of the chemical composition and antimicrobial activity of their essential oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 17.

Kılıç, T. (2006). Analysis Of Essential Oil Composition Of Thymbra Spicata Var. Spicata: Antifungal, Antibacterial And Antimycobacterial Activities. *Zeıtschrıft Fur Naturforschung Sectıon C-A Journal Of Bıoscıences,* 61(5-6), 324-328.

Kim, K.J., vd., (2009). Antifungal Activity and Mode of Action of Silver Nanoparticles on Candida albicans. *Biometals*, 22(2), 235-242.

Kim, S.W., vd., (2012). Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. *Mycobiology*, 40(1), 53–58.

Kiran Kumar, H.A. ve Mandal, B.K. (2015). Activity study of biogenic spherical silver nanoparticles towards microbes and oxidants. *Spectrochim. Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 135, 639–645.

Kiran Kumar, H.A., vd., (2014). Antimicrobial and antioxidant activities of Mimusops elengi seed extract mediated isotropic silver nanoparticles. *Spectrochim. Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy,* 15(130), 13-8.

Kirkan, B., vd., (2019). Composition, and Antioxidant and Enzyme İnhibition Activities, of Essential Oils From *Satureja Thymbra* and *Thymbra spicata* var. *spicata*. *Research Artıcle*, 34, 436–442.

Kizil S. (2010). Determination of essential oil variations of Thymbra spicata var. spicata L. naturally growing in the wild flora of East Mediterranean and Southeastern Anatolia regions of Turkey. *Industrial Crops and Products*, 32, 593-600.

Kizil, S. (2009). Essential Oil Composition of Some Wild and Cultivated Medicinal Plants. 1st International Medicinal and Aromatic Plants Conference on Culinary Herbs, 30 Nisan 2009, Antalya, Türkiye. Cilt 826, S. 261-26.

Kizil, S. (2010). Determination of essential oil variations of *Thymbra spicata* var. *spicata* L. naturally growing in the wild flora of East Mediterranean and Southeastern Anatolia regions of Turkey. *Industrial Crops and Products*, 32(3), F593-600.

Kizil, S. (2013). Selection of A clones from *Thymbra spicata* var. *spicata* by clonal selection method. *Industrıal Crops And Products,* 41, 1-9.

Kizil, S. ve, Uyar, F. (2006). Antimicrobial Activities Of Some Thyme (*Thymus, Staureja, Origanum* And *Thymbra*) Species Against İmportant Plant Pathogens. *Asıan Journal Of Chemıstry,* 18(2), 1455-1461.

Kizil, S., vd., (2015). Biological Activities of Origanum, Satureja, Thymbra and Thymus Species Grown in Turkey. *Journal Of Essentıal Oıl Bearıng Plants*, 17(3), 460-468.

Kizil, S., vd., (2015). Variation of agronomical characteristics and essential oil components of zahter (*Thymbra spicata* L. var. *spicata*) populations in semi-arid climatic conditions. *Turkısh Journal of Fıeld Crops,* 20(2), 242-251.

Kocabas, Y. Z. ve Karaman, S. (2001). Essential Oils of Lamiaceae Family from South East Mediterranean Region (Turkey). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4(10), 1221-1223.

Kohen, R., Beit-Yannai, E., Berry, E. M., Tirosh, O.vd., (1999). Overall low molecular weight antioxidant activity of biological fluids and tissues by cyclic voltammetry. *Methods in Enzymology,* 300, 285-296.

Konovalov, D.A. (2014). Polyacetylene compounds of plants of the Asteraceae family.

Kontaxakıs, E., vd., (2020). Evaluation of Eight Essential Oils for Postharvest Control of Aspergillus carbonarius in Grapes. *Journal of Food Protection*, 83(9), 1632-1640.

Kotthaus, S., vd., (1997). Study of Isotropically Conductive Bondings Filled with Aggregates of Nano-Sited Ag-Particles. *IEEE Trans. Components, Packaging, and Manufacturing Technology,* 20(1), 15-20.

Koul, O. ve Walia, S. (2009). Comparing impacts of plant extracts and pure allelochemicals and implications for pest control. *CAB Reviews*, 4(09), 1-30.

Koutsaviti, A., vd., (2018). Chemical Composition And Fumigant Activity Of Essential Oils From Six Plant Families Against *Sitophilus Oryzae* (Col: Curculionidae). *Journal Of Pest Scıence*, 91(2), 873-886.

Kubo, I. ve Yokokawa, Y. (1992). Two tyrosinase inhibiting flavonol glycosides from Buddleia coriacea. *Phytochemistry,* 31(1), 1075-1077.

Kucukaydin, S., vd., (2021). HPLC-DAD phytochemical profiles of *Thymus cariensis* and *T. cilicicus* with antioxidant, cytotoxic, anticholinesterase, anti-urease, anti-tyrosinase, and antidiabetic activities. *South Afrıcan Journal Of Botany*, 143, 155-163.

Kumar, G. A., vd., (Faheem M., Singh, S. 2021). Role of Medicinal Plant in Human Health Disease. *Asian Journal of Plant Science and Research,* 11(1), 19-21.

Kumar, V. ve Yadav, S.K. (2009). Plant-Mediated Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles and Their Applications. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 84, 151-157.

Kumar, V. ve Yadav, S.K. (2011). Synthesis of Stable, Polyshaped Silver and Gold Nanoparticles Using Leaf Extract of Lonicera japonica L. *International Journal of Green Nanotechnology,* 3(4), 281-291.

Labuda, M. ve Nuttall, P.A. (2004). Tick-borne viruses. *Parasitology*, 129, 221-245.

LAMIACEAE (formerly LABIATAE) - The Mint Family. Erişim:[http://theseedsite.co.uk/lamiaceae.html]. Erişim Tarihi: 05.20.2021.

Larson, R.A. (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27, 969-978.

Lee, H.J., vd., (2013). *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 88, 1971-1977.

Lehtijarvi, H.T.D. (2006). Antifungal effect of essential oils from some Turkish herbs against Rhizodonia solani Kuhn. *Phytopathologıa Medıterranea,* 45(3), 261-265.

Lerman, I. ve Hammes, S.R. (2018). Neutrophil elastase in the tumor microenvironment. *Steroids*, 133, 96-101.

Levin, D.A. (1976). The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores, *Annual Review of Ecology and Systematics*, 7, 121-159.

Li, S., vd., (2007). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Capsicumannuum L. Extract. *Green Chemistry,* 9, 852-858.

Lindberg Madsen, H. ve Bertelsen, G. (1995). Spices as antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, 6(8), 271-7.

Liu, F., vd., (1997). Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sciences*, 60(10), 763-771.

Lleó, A., vd., (2006). Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. *Annual Review of Medicine*, 57, 513-33.

Loizzo, M.R., vd., (2008). *In vitro* inhibitory activities of plants used in Lebanon traditional medicine against angiotensin converting enzyme (ACE) and digestive enzymes related to diabetes. *Journal of Ethnobiology,* 119(1), 109-16.

Lubbers, M.W., vd., (1996), Purification and characteriiztion of urease from Schizosaccharomyces pombe. *Canadian Journal of Microbiology***,** 42, 132-140.

Luo, J., vd., (2017). Phenolic Fractions from Muscadine Grape “Noble” Pomace can Inhibit Breast Cancer Cell MDA-MB-231 Better than those from European Grape “Cabernet Sauvignon” and Induce S-Phase Arrest and Apoptosis. *Journal of Food Science,* 82, 1254-1263.

Mabona, U., vd., (2013). Antimicrobial activity of Southern African medicinal plants with dermatological relevance: from an ethnopharmacological screening approach, to combination studies and the isolation of a bioactive compound. *Journal Ethnopharmacol*, 148, 45-55.

Machado, D., vd., (2017). Thymbra Capitata Essential Oil As Potential Therapeutic Agent Against *Gardnerella Vaginalis* Biofilm-Related İnfections. *Future Mıcrobıology*, 12(5), 407-416.

Machado, M., vd., (2010). Anti-Giardia activity of phenolic-rich essential oils: effects of *Thymbra capitata*, *Origanum virens*, *Thymus zygis* subsp. *sylvestris* and *Lippia graveolens* on trophozoites growth, viability, adherence, and ultrastructure. *Parasıtology Research,* 106(5), 1205-1215.

Machado, M., vd., (2010). Effects of Essential Oils on the Growth of Giardia lamblia Trophozoites. *Natural Product Communıcatıons,* 5(1), 137-141.

Maeda, K. ve Fukuda, M. (1991). *In vitro* effectiveness of everal whitening cosmetic components in human melanocytes. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists,* 42, 361-368.

Magano, S. R., vd., (2011). *In vitro* investigation of the repellent effects of the essential oil of Lippia javanica on adults of *Hyalomma marginatum rufipes*. *African Journal of Biotechnology,* 10(44), 8970-8975.

Mamta, S. vd, (2013). Phytochemistry of Medicinal Plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry,* 1(6), 168-182.

Mandal V., (2007). Microwave assisted extraction - an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*, 1, 7-18.

Manju, S., vd., (2016). Antibacterial, antibiofilm and cytotoxic effects of Nigella sativa essential oil coated gold nanoparticles. *Microbial Pathogenesis,* 91, 129-135.

Mantle, D., vd., (2001). Adverse and beneficial effects of plant extracts on skin and skin disorders. *Adverse Drug Reaction Toxicology Review*, 20, 89-103.

Marimuthu, S., vd., (2011). Evaluation of Green Synthesized Silver Nanoparticles against Parasites. *Parasitology Research,* 108, 1541-1549.

Marimuthu, S., vd., (2012). Lousicidal activity of synthesized silver nanoparticles using Lawsonia inermis leaf aqueous extract against Pediculus humanus capitis and Bovicola ovis. *Parasitology Research*, 111(5), 2023-33.

Marin, M., vd., (2018). Wild Thymus capitatus Hoff. Et Link. Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oil. *Journal Of Essentıal Oıl Bearıng Plants*, 21(2), 388-399.

Markovic, T., vd., (2011). Chemıcal analysıs and antımıcrobıal actıvıtıes of the essentıal oıls of *Satureja Thymbra* L. and *Thymbra Spıcata* L. and theır maın components. *Archıves Of Bıologıcal Scıences,* 63(2), 457-464.

Marston, A. ve Hostettmann, K. (2009). Natural product analysis over the last decades. *Planta Medica*, 75, 672–682

Martin, I., vd., (2015). Antimicrobial resistance to Neisseria gonorrhoeae in Canada: 2009–2013. *Canada Communicable Disease Report*, 41, 35-41.

Martinez Bugallo, F., vd., (2017). Spectrum of Alpha-1 Antitripsin Deficiency Mutations Detected in Tenerife. *Archivos de Bronconeumologfa*, 53(10), 595-596.

Maskan, M. ve Horuz, E. (2017). Evaluation Of Antioxidant Properties Of Za'atar (Thymbra Spicata) Essential Oils As Natural Antioxidant For Stability Of Palm Olein During Deep-Fat Frying Process. *Journal Of Food Scıence And Technology-Mysore,* 54(7), 1794-1801.

Mathai, K. (2000). Nutrition in the Adult Years. Editörler; Mahan, L.K. and Escott-Stump, S., In Krause's Food, Nutrition, and Diet Therapy, 274-275.

Matina T.A.B., vd., (2019). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles: Thymbra spicataL extract approach and study their antibacterial and antifungal activity. *Eurasian Chemical Communications,* 527-544.

Matina, T.A.B., vd., (2019). Biosynthesis And Characterization Of Silver Nanoparticles: A Thymbra Spicatal Extract Approach And Study Their Antibacterial And Antifungal Activity. *Iranian Chemical Communication,* 7, 637-654.

McTier, T.L., vd., (2016). Discovery of sarolaner: a novel, orally administered, broad-spectrum, isoxazoline ectoparasiticide for dogs. *Veterinary Parasitology*, 222, 3.

Meagher, E. ve Thomson, C. (1999). Vitamin and Mineral Therapy. In Medical Nutrition and Disease, *Blackwell Science Inc.*, 33-58.

Mendi, A., vd., (2017). *Thymbra spicata* var. *intricata* induces mesenchymal stem cell proliferation and osteogenic differ□entiation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60, e17160391.

Mesquita, L.S.S., vd., (2019). Exploring the anticancer properties of essential oils from family Lamiaceae. *Food Reviews International*, 35(2), 105-131.

Miceli, A., vd., (2006). Essential oil variability in *Thymbra capitata* (L.) cav. growing wild in Southern Apulia (Italy). *Bıochemıcal Systematıcs And Ecology,* 34(6), 528-535.

Miguel, M.G., vd., (2005). Evaluation Of The Antioxidant Activity Of *Thymbra Capitata, Thymus Mastichina* and *Thymus Camphoratus* Essential Oils. *Journal Of Food Lıpıds,* 12(3), 181-197.

Miguel, M.G., vd., (2016). Antioxidant and Antiproliferative Activities of the Essential Oils from *Thymbra capitata* and *Thymus* Species Grown in Portugal. *Evıdence-Based Complementary And Alternatıve Medıcıne,* 8.

Mikumo, H., vd., (2017). Neutrophil elastase inhibitor sivelestat ameliorates gefitinib-naphthalene-induced acute pneumonitis in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 486(1), 205-209.

Miller, H.E. (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, *48,* 91.

Miyamoto, T., vd., (2017). Development of novel monoclonal antibodies directed against catechins for investigation of antibacterial mechanism of catechins. *Journal of Microbiological Methods*, 137, 6-13.

Mkolo, M.N. ve Magano, S.R. (2007). *In vitro* anti-tick properties of the essential oil of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) on *Hyalomma rufipes* (Acari: Ixodidae). *Journal of the South African Veterinary Association,* 78(3), 149-52.

Mobley, H.L.T. ve Hausinger, R.P. (1989). Microbial ureses: Significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiological Reviews*, 53, 85-108.

Mohammed, A.D., vd., (2011). Antioxidant Activity of Thymbra capitata Essential Oil in Meat-Treated Oil. International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants (SIPAM), 26-28 Mart 2009, Djerba, TUNISIA. Cilt 853, S. 319-322.

Mohan Kumar, K., vd., (2012). Green synthesis of silver nanoparticles using Terminalia chebula extract at room temperature and their antimicrobial studies. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 91, 228–233.

Mohs, R.C., vd., (2001). A 1-year, placebo-controlled preservation of function survival study of donepezil in AD patients published correction appears in Neurology. *Neurology,*57, 481-488.

Momeni, M., vd., (2020). ffect of Foliar Applications of Salicylic Acid and Chitosan on the Essential Oil of *Thymbra spicata* L. under Different Soil Moisture Conditions. *Journal of Essential Oil Bearing Plants,* 23(5), 1142-1153.

Mondal, N.K., vd., (2014). Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Its Application for Mosquito Control. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(1), S204-S210.

Moon, H.I., vd., (2010). Identification of potential and selective collagenase, gelatinase inhibitors from *Crataegus pinnatifida*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20, 991-993.

Moore, S.J. vd., (2007). Hill, Plant-based insect repellents, Editörler: Debboun, M., Frances, S., Strickman, D. Insect Repellents: Principles, Methods, and Uses, CRC Press, 275-303, Boca Raton, USA.

Morales, R. (1987). El género Thymbra L. (Labiatae), *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 44(2), 349-380.

Morones, J.R., vd., (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16, 2346-2353.

Moukhles, A., vd., (2019). Seasonal Variation İn Yield And Chemical Composition Of Moroccan *Thymbra Capitata* (l.) cav. Essential Oil and İts Corresponding Hydrolat Extracted Essential Oil. *Moroccan Journal Of Chemıstry,* 7(2), 346-352.

Moukhles, A., vd., (2020). Chemical Composition, *In Vitro* Antibacterial Activity and Corrosion Inhibition of Essential Oil and Hydrolat Extract from Aerial Parts of *Thymbra capitata* (L.) cav. Harvested at Northern Morocco. *Journal of Essential Oil Bearing Plants,* 23(2), 375-389.

Mukherjee, P.K., vd., (2007). Acetylcholinesterase Inhibitors From Plants. *Phytomedicine,* 14, 289-300.

Mullen, G., Durden, L.(2002). Medical and Veterinary Entomology. Academic Press, Sayfa:792, London.

Mullerrıebau, F., vd., (1995). Chemıcal-Composıtıon And Fungıtoxıc Properties To Phytopathogenıc Fungi Of Essential Oils Of Selected Aromatic Plants Growıng Wild In Turkey. *Journal Of Agrıcultural And Food Chemıstry*, 43(8), 262-2266.

Nana, P., vd., (2015). Efficacy of spot-spray application of Metarhizium anisopliae formulated in emulsifiable extract of *Calpurnia aurea* in attracting and infecting adult *Rhipicephalus appendiculatus* ticks in semi-field experiments. *Journal of Pest Science,* 88, 613-619.

Nana, P., vd., (2016). Compatibility of Metarhizium anisopliae with *Calpurnia aurea* leaf extracts and virulence against *Rhipicephalus pulchellus*. *Journal of applied entomology*, 140(8), 590-597.

Narasinga, R., (2003). Bioactive phytochemicals in Indian foods and their potential in health promotion and disease prevention. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 12(1), 9-2.

Natsuki, J., vd., (2015). A Review Of Silver Nanoparticles: Synthesis Methods, Properties And Applications. *International Journal of Materials Science and Applications,* 4(5), 325-332.

Nazzaro, F., vd., (2013). Effect of essential oils on pa-thogenic bacteria. *Pharmaceuticals,* 6, 1451-1474.

Nchu, F., vd., (2012). *In vitro* anti-tick properties of the essential oil of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) on *Hyalomma rufipes* (Acari: Ixodidae). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research,* 79(1).

Neves, A., vd., (2017). Characterization of Portuguese *Thymbra capitata*, *Thymus Caespititius* and *Myrtus Communis* Essential Oils in Topical Formulations. *Flavour And Fragrance Journal,* 32(5), 392-402.

Noruzi M. (2015). Biosynthesis of gold nanoparticles using plant extracts. *Bioprocess and Biosystems Engineering,* 38(1), 1-14.

Norval, R., vd., (2004). Vectors: Ticks, *Infectious Diseases of Livestock*, . 1, 3-42.

Nwanade, C.F., vd., (2020). Botanical acaricides and repellents in tick control: current status and future directions. *Experimental and Applied Acarology*, 81(1), 1-35.

Okmen, G., vd., (2012). *In vivo* and *In vitro* Antibacterial Activities of Some Essential Oils of Lamiaceae Species on *Aeromonas salmonicid*a Isolates from Cultured Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal Of Anımal And Veterınary Advances,* 11(15), 2762-2768.

Omar, G., vd., (2020). *In Vitro* Haemostatic Efficacy Of Aqueous, Methanol And Ethanol Plant Extracts Of Three Medicinal Plant Species in Palestine. *Brazilian Journal of Biology*, 80(4).

Omodanisi, E.I., vd., (2017). Assessment of the anti-hyperglycaemic, anti-inflammatory and antioxidant activities of the methanol extract of *Moringa oleifera* in diabetes-induced nephrotoxic male wistar rats. *Molecules*, 22, 439.

Oreopoulou, A., vd., (2018). Antioxidant recovery from hydrodistillation residues of selected Lamiaceae species by alkaline extraction. *Journal Of Applıed Research On Medıcınal And Aromatıc Plants*, 8, 83-89.

Ozcan, M.M., vd., (2015). Antibacterial effects of Istanbul Thyme (*Origanum vulgare* L. subsp *hirtum* (Link) letsw.) and Karabas thyme (*Thymbra spicata* L. var. *spicata*) extracts. *Journal of food safety and food qualıty-archıv fur lebensmıttelhygıene,* 66(6), 177-181.

Ozhan Kocakaya, S., vd., (2020), Selective in-vitro enzymes' ınhibitory activities of fingerprints compounds of Salvia species and molecular docking simulations. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research,* 19(2), 187-198.

Ozkan M. (2008). Glandular and eglandular hairs of *Salvia recognita* Fisch. & Mey. (Lamiaceae) in Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*, 37, 93-95.

Önen, H., vd., (2002). Bioherbicidal Effects Of Some Plant Essential Oils On Different Weed Species. *Zeıtschrıft Fur Pflanzenkrankheıten Und Pflanzenschutz-Journal Of Plant Dıseases And Protectıon,* 18, 597-605.

Özel, M.Z., vd., (2003). Subcritical Water Extraction Of Essential Oils From *Thymbra spicata*. *Food Chemıstry,* 82(3), 381-386.

Öztürk, M. (2012). Anticholinesterase and antioxidant activities of Savoury (*Satureja thymbra* L.) with identified major terpenes of the essential oil. *Food Chemistry*, 134(1), 48-54.

Palmeira-de-Oliveira, A., vd., (2012). The anti-Candida activity of *Thymbra capitata* essential oil: Effect upon pre-formed biofilm. *Journal Of Ethnopharmacology,* 140(2), 379-383.

Parashar, U.K., vd., (2011). Study of mechanism of enhanced antibacterial activity by green synthesis of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 22, 415104.

Parvez, S., vd., (2007). Naturally occurring tyrosinase inhibitors: mechanism and applications in skin health, cosmetic and agriculture industries. *Phytotherapy Research,* 21(1), 805-816.

Pérez-González, C., vd., (2019). Cytotoxic activity of essential oils of some species from lamiaceae family. Editör: Istifli, E. S., Ila, H.S. Cytotoxicity-Definition, Identification, and Cytotoxic Compounds. Intech Open, 105, London, UK.

Perveen, R.,vd., (2021). Green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles with Brassicaceae seeds. *Materials Research Express,* 8, 5.

Perveen, S. (2018). Introductory Chapter: Terpenes and Terpenoids. In Terpenes and Terpenoids, London, UK.

Philip, D. (2011). Mangifera indica Leaf-Assisted Biosynthesis of Well Dispersed Silver Nanoparticles. *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc*., 78, 327-331.

Pirbalouti, A.G., vd., (2011). Antifungal activity of the essential oil of Iranian medicinal plants. *Journal Of Medıcınal Plants Research,* 5(20), 5089-5093.

Powers, C., vd., (2018). Antifungal and cytotoxic activities of sixty commercially-available essential oils. *Molecules*, 23(7), 1549.

Prior, R.L. ve Cao, G. (1999). *In vivo* total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology & Medicine,* 27, 1173-1181.

Puthucheary, Z., vd., (2011). The ACE Gene and Human Performance. *Sports Medicine,* 41(6), 433-448.

Qiao, Y., vd., (2021). Chemical composition of essential oils from *Thymus mongolicus, Cinnamomum verum*, and *Origanum vulgare* and their acaricidal effects on *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae), *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 224(112672), 0147-6513.

Qiu, J., (2007). Traditional medicine: a culture in the balance. *Nature*, 448(7150), 126-8.

Qu, J., vd., (2011). Zinc Accumulation and Synthesis of ZnO Nanoparticles Using Physalis alkekengi L. *Environmental Pollution,* 159(7), 1783-1788.

Quílez, M., vd., (2020). Seed Oil from Mediterranean Aromatic and Medicinal Plants of the Lamiaceae Family as a Source of Bioactive Components with Nutritional. *Antioxidants,* 9, 510.

Rafique, M., vd., (2017). A Review On Green Synthesis Of Silver Nanoparticles And Their Applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology,* 45(7), 1272–1291.

Rai, M.,.vd., (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances,* 27(1), 76-83.

Rai, M.K., vd., (2012). Silver Nanoparticles: The Powerful Nanoweapon against Multidrug-Resistant Bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 112, 841-852.

Raj, L. ve ., Jayalakshmy, E. (2015). Biosynthesis and Characterization of Zinc Oxide Nanoparticles Using Root Extract of Zingiber officinale. *Oriental Journal of Chemistry,* 31(1), 51-56.

Raja, R. R. (2012). Medicinally potential plants of Labiatae (Lamiaceae) family: An overview. *Research journal of medicinal plant*, 6, 203–213.

Rajakumar, G. ve Rahuman, A.A. (2011) Larvaidal Activity of Synthesized Silver Nanoparticles Using Eclipta prostrata Leaf Extract against Filariasis and Malaria Vectors. *Acta Tropica,* 118(3), 196-203.

Rajeshkumar, S. ve Bharath, L.V. (2017). Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles – a review on biomolecules involved, characterisation and antibacterial activity. *Chemico-Biological Interactions*, 273, 219-27.

Raskind, M.A., vd., (2004). The cognitive benefits of galantamine are sustained for at least 36 months: A long-term extension trial. *Archives of Neurology,* 61, 252-256.

Rasouli, H., vd., (2017). Polyphenols and their benefits: A review. *International Journal of Food Properties*, 20, 1700-1741.

Raut, R.W., vd., (2014). Photosensitized Synthesis of Silver Nanoparticles Using Withania somnifera Leaf Powder and Silver Nitrate. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 132, 45-55.

Raveendran, P., vd., (2003). Completely "green" synthesis and stabilization of metal nanoparticles". *Journal of the American Chemical Society,* 125, 13940-13941.

Ravid, U. ve Putievsky, E. (1985). Composition of Essential Oils of *Thymbra spicata* and *Satureja thymbra* Chemotypes. *Planta Medica.,* 337-338.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C.vd., (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology& Medicine,* 26, 1231-1237.

Ribeiro, V.L.S., vd, (2010). Acaricidal properties of the essential oil from *Hesperozy gisringens* (Lamiaceae) on the cattle tick *Riphicephalus (Boophilus*) microplus. *Bioresource Technology,* 101, 2506-2509.

Ribeiro, V.L.S., vd., (2007). Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemum* on the cattle tick *Boophilus microplus*. *Veterinary Parasitology,* 147(1-2), 199-203.

Rios, J.L. ve, Recio, M.C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 80-4.

Riss, T.L. ve Moravec, R.A. (2004). Use of multiple assay endpoints to investigate the effects of incubation time, dose of toxin, and plating density in cell-based cytotoxicity assays. *Assay Drug Development Technologies,* 2(1), 51- 62.

Rohman, A. ve Man, Y.B.C. (2010). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. *Food Research International,* 43(3), 886-892.

Roy, A..vd., (2013). *In vitro* techniques to assess the proficiency of skin care cosmetic formulations. *Pharmacognosy Reviews*, 7(14), 97-106.

Runyoro, D. K., vd., (2006). Screening of Tanzanian medicinal plants for anti-Candida activity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6, 11.

Rymaszewska, A. (2007). Symbiotic bacteria in oocyte and ovarian cell mitochondria of the tick Ixodes ricinus: biology and phylogenetic position. *Parasitology Research,* 100(5), 917-920.

Sabatini, G.A., vd., (2001). ests to determine LC50 and discriminating doses for macrocyclic lactones against the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Veterinary Parasitology*, 95, 53–62.

Saidi, M., vd., (2012). *In vitro* antimicrobial and antioxidant activity of black thyme (*Thymbra spicata* L.) essential oils. *Romanian Archives of Microbiology and Immunology*, 71, 61-69.

Saija, A., vd., (2016). Phytochemical, Ecological and Antioxidant Evaluation of Wild Sicilian Thyme: *Thymbra capitata* (L.) cav. *Chemıstry & Bıodıversıty,* 13(12), 1641-1655.

Salas, J.B., vd., (2010). Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Thymbra capitata* (L.) cav. in Spain. *Acta Botanıca Gallıca,* 157(1), 55-63.

Salgueiro, L.R., vd., (2004). Chemical Composition And Antifungal Activity Of The Essential Oil Of *Thymbra Capitata*. *Planta Medıca,* 70(6), 572-575.

Santhoshkumar, T., vd., (2012). Evaluation of stem aqueous extract and synthesized silver nanoparticles using *Cissus quadrangularis* against *Hippobosca maculata* and *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus. *Experimental Parasitology*, 132(2), 156-165.

Santoshkumar, T., vd., (2011). Synthesis of Silver Nanoparticles Using Nelumbo nucifera Leaf Extract and Its Larvicidal Activity against Malaria and Filariasis *Vectors. Parasitology Research*, 108, 693-702.

Saruhan Fidan, H., vd., (2021), Comparison of chemical and biological properties of in vivo and in vitro samples of Salvia siirtica Kahraman, Celep & Dogan extracts prepared with different solvents, *South African Journal of Botany*, 142, 421-429.

Sarsar, V., vd., (2013). Green Synthesis Of Silver Nanoparticles Using Leaf Extract of *Mangifera Indica* and Evaluation of Their Antimicrobial Activity**.** *Journal of Microbiology and Biotechnology Research.,* 3, 27-32.

Selimoglu, T., vd., (2015). Fumigant toxicity of some plant essential oils to *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Turkıye Entomoloji Dergısı-Turkısh Journal Of Entomology,* 39(1), 109-118.

Sengun, I.Y., vd., (2021). Chemical compositions, total phenolic contents, antimicrobial and antioxidant activities of the extract and essential oil of *Thymbra spicata* L. growing wild in Turkey. *Journal of Food Measurement and Characterization,* 15, 386-393.

Shahein, Y.E., vd., (2013). Identification of four novel Rhipicephalus annulatus upregulated salivary gland proteins as candidate vaccines. *The Protein Journal,* 32(5), 392-398.

Shahein, Y.E., vd., (2013). Identification of four novel *Rhipicephalus annulatus* upregulated salivary gland proteins as candidate vaccines. *Protein J.* 32(5), 392-398.

Shahmohammadi, M., vd., (2021). Extraction and identification of the components of *Thymbra spicata* L. and *Satureja khuzestanica Jamzad* Oils native to Ilam province by headspacesolid phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Eurasian Chemical Communications,* 3, 841-853.

Sharma, R., vd., (2012). X-ray diffraction: a powerful method of characterizing nanomaterials. *Recent Research in Science and Technology*, 4, 77–9.

Shi, L., vd., (2013). Highly Sensitive ZnO Nanorodand Nanoprism-Based NO2 Gas Sensors: Size and Shape Control Using a Continuous Hydrothermal Pilot Plant. *Langmuir*, 29(33), 10603-10609.

Siedle, B., vd., (2007). Natural compounds as inhibitors of human neutrophil elastase. *Planta Medica*, 73(5), 401-420.

Sienczyk, M., vd., (2011). Simple phosphonic inhibitors of human neutrophil elastase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(5), 1310-1314.

Sindhu, Z.D. (2018). Acaricidal and insecticidal effects of essential oils against ectoparasites of veterinary importance. *Boletin Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas,* 17(5), 441-452.

Singleton, V.L., vd., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants,* 299, 152-178.

Sireesh Babu, M., vd., (2017). Biofabrication of size controllable silver nanoparticles-a green approach. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 167, 236-241.

Slawson, R.M., vd.,(1992). Silver accumulation and resistance in *Pseudomonas stutzeri. Arch Microbiol.,* 158(6), 398-404.

Sokmen, M., vd., (2004). *In vitro* antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanumacutidens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3309-3312.

Solecka, D. (1997). Role of phenylpropanoid compounds in plant responses to different stress factors. *Acta Physiologiae Plantarum*, 19, 257-268.

Solecki, R., (1975). Shanidar IV. a Neanderthal flower burial in Northern Iraq. *Science*, 190(4217), 880-1.

Sondi, I. ve Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(1), 177-182.

Sonenshine, D., vd., (2002). Ticks (Ixodida). *Medical and Veterinary Entomology*, 517-558.

Sönmez, U. (1995). *Salvia napifolia* Jacq. bitkisinden elde edilen yeni diterpenoit bileşiklerinin yapı araştırması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Srikar, S,K., vd., (2016). Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Review. *Green and Sustainable Chemistry*, 6, 34-56.

Stjernberg, L. ve Berglund, J. (2000). Garlic as an insect repellent. *Journal of the American Medical Association,* 284, 831.

Sugumaran, M. (1991), Molecular mechanisms for mammalian melanogenesis comparison with insect cuticular sclerotization. *Federation of European Biochemical Societies Letter*, 293, 4-10.

Suresh, P.,vd., (2005). Suzer Farmakoloji. Klinisyen Tıp Kitabevleri, Yayın No:3, Sayfa: 533. İstanbul.

Şeker, E. (2015). Türkiyede'ki *Thymbra* L. (Lamiaceae) Cinsinin Polen ve Tohum Morfolojisi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 1.

Şengün, I.Y., vd., (2020). Chemical Compositions, Total Phenolic Contents, Antimicrobial And Antioxidant Activities Of The Extract And Essential Oil Of Thymbra spicata L. Growing Wild in Turkey. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 386-393.

Şenol, F.S. (2016). Bitkisel Kaynakli Kozmetik Uriin Geli§tirilmesi Uzerine Farmakognozik Araştirmalar. Doktora Tezi, Gazi Universitesi Saglik Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Tabari, M.A., vd., (2020). Acaricidal activity, mode of action, and persistent efficacy of selected essential oils on the poultry red mite (Dermanyssus gallinae). *Food Chem. Toxicol*., 138, 111207.

Taherkhani, M. (2015). Anti-cancer, cytotoxic activity, mutagenic and anti-mutagenic activities of *Artemisia aucheri* essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants,* 18(6), 1329-1337.

Tahtamouni, R., vd., (2016). Analysis of growth, oil yield, and carvacrol in *Thymbra Spicata* L. after slow-growth conservation. *Turkısh Journal Of Agrıculture And Forestry,* 40(2), 213-221.

Tang, T., vd., (2021). In Situ Supported Of Silver Nanoparticles On Thymbra Spicata Extract Coated Magnetic Nanoparticles Under The Ultrasonic Condition: Its Catalytic Activity In The Synthesis Of Propargylamines And Their Antihuman Colorectal Properties In The *In Vitro* Condition. *Journal of Molecular Liquids,* 338, 11645.

Tanreh, S., vd., (2018). Green Synthesis of Pd Nanoparticles Mediated by Thymbra Spicata Leaves Extract and Its Application as a Recyclable Nanocatalyst for Reduction of 4-Nitrophenol and Suzuki Reactions. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 28, 1001-1010.

Tawaha, K.A. ve Hudaib, M.M. (2012). Chemical Composition of the Essential Oil from Flowers, Flower Buds and Leaves of Thymus capitatus Hoffmanns. & Link from Jordan. *Journal Of Essentıal Oıl Bearıng Plants,* 15(6), 988-996.

Taylor, M.J. ve, Richardson, T. (1980). Antioxidant activity of cysteine and protein sulfhydryls in a linoleate emulsion oxidized by haemoglobin. *Journal of Food Science,* 45, 1223-1227.

Temel, M., vd., (2018). Dünyada ve Türkiye'de Tıbbi -Aromatik Bitkilerin Üretimi ve Ticareti. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi,* 21(Özel Sayı), 198-214.

Tepe, B., vd., (2007). Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia verticillata* (L.) subsp. *verticillata* and *S. verticillata* (L.) subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm. *Food Chemistry,*100, 985-989.

Tercan, H.S., vd., (2016). Determination of Heavy Metal Contents and Some Basic Aspects of Widely Used Herbal Teas in Turkey. *Revısta De Chımıe.,* 67(5), 1019-1022.

Thakkar, S., vd., (2016). Eco-friendly phytosynthesis of silver nanoparticles using colchicum autumnale and its characterization. *International Journal of Advanced Research*, 4(6), 1903-1915.

Toncer, Ö., vd., (2016). Diurnal Variation Effects in Essential Oils of Wild Thyme (*Thymbra spicata* var. *spicata* L.) Under Cultivation Conditions. *Journal of Essential Oil Bearing Plants,* 19(8), 2037-2048.

Tong, F. ve Coats, J.R. (, 2010). Effects of monoterpenoid insecticides on [3 H]-TBOB binding in house fly GABA receptor and 36Cl− uptake in American cockroach ventral nerve cord. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98(3), 317-324.

Topcu, G. ve Kusman, T. (2014). Lamiaceae family plants as a potential anticholinesterase source in the treatment of alzheimer's disease. *Bezmiâlem Science,* 1, 1-25.

Topçu, G., vd., (2018). Bioactive constituents of Anatolian Salvia species. Editör: Georgiev, V., Atanas, P. In Salvia Biotechnology. Springer, New York, USA.

Towers, G.H.N. (1986). Significance of phototoxic phytochemicals in insect herbivory. *Journal of Chemical Ecology,* 12(4), 813-821.

Tran, Q.H., vd., (2013). Silver Nanoparticles: Synthesis, Properties, Toxicology, Applications and Perspectives. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 4., Article ID: 033001.

Tseng, W.L., vd., (2005). Nanoparticle-Filled Capillary Electrophoresis for the Separation of Long DNA Molecules in the Presence of Hydrodynamic and Electrokinetic Forces. *Electrophoresis*, 26(16), 3069-3075.

Tsimogiannis, D., vd., (2017). Exploitation Of The Biological Potential Of Satureja Thymbra Essential Oil And Distillation By-Products. *Journal Of Applıed Research On Medıcınal And Aromatıc Plants,* 4(1), 12-20.

Tubaro, F., vd., (1998). Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics. *Free Radical Biology & Medicine,* 24, 1228-1234.

Tuncer, İ., (1994). Türkiye'de Kanser Sıklığı. Tübitak ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana.

Tuncer, M. (2007). Kanserin Ülkemiz ve Dünyada Önemi, Hastalık Yükü ve Kanser Kontrol Politikaları. Ankara: T.C. S.B. Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı.

Tutar, U., vd., (2018). Antimicrobial, Antioxidant, Cytotoxic and Wound Healing Effects of *Thymbra sintenisii* Extract. *Indıan Journal Of Pharmaceutıcal Scıences,* 80(5), 868-874.

Tuttolomondo, T., vd., (2015). Agronomical and chemical characterisation of *Thymbra capitata* (L.) cav. biotypes from Sicily, Italy. *Natural Product Research,* 29(14), 1289-1299.

TÜBİVES. (2021). Türkiye Bitkileri Veri Servisi. Erişim: [http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=2103]. Erişim Tarihi: 12.06.2021.

TÜBİVES. (2021). Türkiye Bitkileri Veri Servisi. Erişim: [http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=2103]. Erişim Tarihi: 12.06.2021.

TÜBİVES. (2021). Türkiye Bitkileri Veri Servisi. Erişim: [http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=2045]. Erişim Tarihi: 12.06.2021.

Ugur, A., vd., (2009). Antimicrobial Activity and Chemical Composition of the Essential Oil of *Satureja thymbra* L. from Mugla (Turkey). I. International Medicinal and Aromatic Plants Conference On Culınary Herbs. 30 Nisan 2009, Antalya, Türkiye. Cilt 826, S. 405-411.

Ulukanli, Z., vd., (2016). Secondary Metabolites and Bioactivities of *Thymbra spicata* var. *spicata* in Amanos Mountains. *Food And Bıoproducts Processıng*, 100, 570-577.

Uysal, B., vd., (2015). Comparative Antibacterial, Chemical and Morphological Study of Essential Oils of *Thymbra spicata* var. *spicata* Leaves by Solvent-Free Microwave Extraction and Hydro-Distillation. *Internatıonal Journal Of Food Propertıes,* 18(11), 2349-2359.

Ünlü, M., vd., (2009). Chemical composition, anti-bacterial and antifungal activity of the essential oil of *Thymbra spicata* L. from Turkey. *Nat Prod Res.,* 23(6), 572-579.

Ünver, A., vd., (2008). Antimycotic activity of methanol extracts of sage (*Salvia officinalis* L.), Laurel (*Laurus Nobilis* L.) and Thyme (*Thymbra spicata* L.). *Journal Of Essentıal Oıl Bearıng Plants,* 11(1), 90-95.

Vadlapudi, V. ve Kaladhar, D. (2014). Review: green synthesis of silver and gold nanoparticles. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 19, 834-842.

Valkonen, M. ve Kuusi, T. (1997)7. Spectrophotometric assay for total peroxyl radical-trapping antioxidant potential in human serum. *Journal of Lipid Research,* 38, 823-833.

Van Herbaryum. (2021). Van Sanal Herbaryumu. Erişim: [http://vanherbaryum.yyu.edu.tr/flora/azortandir/thymbraspsp/index.htm}]. Erişim tarihi: 15.06.2021.

Siva, G.V., vd., (2014). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Delphinium denundatum* Root Extract Exhibits Antibacterial and Mosquito Larvicidal Activities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 127(5), 61-66.

Veeresham, C. (2012). Natural products derived from plants as a source of drugs. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research,* 3(4), 200-1.

Veisi, H., vd., (2017). Green Synthesis Of The Silver Nanoparticles Mediated By *Thymbra spicata* Extract And İts Application As A Heterogeneous And Recyclable Nanocatalyst For Catalytic Reduction Of A Variety Of Dyes In Water. *Journal of Cleaner Production,* 170, 1536e1543.

Velgosova, O., vd., (2016). Influence of pH on Green Synthesis of Ag Nanoparticles. *Mater. Lett.,* 180, 336–339.

Verdeguer, M., vd., (2020). Herbicidal Activity of *Thymbra capitata* (L.) cav. Essential Oil. *Molecules,* 25, 2832.

Verma, K.D., vd., (2015). Swift Green Synthesis Of Silver Nanoparticles Using Aqueous Extract Of *Tamarindusi indica* Leaves And Evaluation of Its Antimicrobial Potential**.** *International Journal of Innovative Science Engineering and Technology*, 4(11), 11182-11190.

Ververidis, F., vd., (2007). Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health. *Biotechnology Journal*, 2(10), 1214-1234.

Vijayaraghavan, K. ve Ashok Kumar, T. (2017). Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: a review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications. *Journal of Environmental Chemical Engineering,* 5(5), 4866-83.

Vimala, K., vd., (2014). Sundarraj, S., Paulpandi, M., Vengatesan, S., Kannan, S. Green synthesized doxorubicin loaded zinc oxide nanoparticles regulates the Bax and Bcl-2 expression in breast and colon carcinoma. *Process Biochemistry,* 49(1), 160-172.

Visse, R. ve Nagase, H. (2003). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation Research*, 92, 827-39.

Vogt, T. (2010). Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant*, 3, 2-20.

von Nussbaum, F. ve Li, V.M.J. (2015). Neutrophil elastase inhibitors for the treatment of (cardio)pulmonary diseases: Into clinical testing with pre-adaptive pharmacophores. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(20), 4370-4381.

Watson, J.T. ve Sparkman, O.D. (2007). Introduction of Mass Spectrometry: Instrumentation, Applications and Strategies for Data Interpretation. (4th Eds), John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, England.

Wayner, D.D.M., vd., (1985). Quantitative measurement of the total peroxyl radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. *FEBS Letters,* 187, 33-37.

Wei, D., vd., (2009). The synthesis of chitosan-based silver nanoparticles and their antibacterial activity. *Carbohydrate Research,* 344, 2375-2382.

Weisburger, J.H. (2001). Antimutagenesis and anticarcinogenesis, from the past to the future. *Mutation Research*, 480, 23-35.

Whitehead, T.P., vd., (1992). Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids. *Analytica Chimica Acta,* 266(2), 265-277

WHO policy perspectives on medicines (traditional medicine)-Growing needs and potential) No.2 May 2002. WHO Geneva.

Will, M., vd., (2015). Towards a new classification of Salvia s.l.: (re)establishing the genus Pleudia Raf. *Turkish Journal of Botany*, 39, 693-707.

Winiarski, L., vd., (20129. Human neutrophil elastase phosphonic inhibitors with improved potency of action. *Journal of Medicinal Chemistry,* 55(14), 6541-6553.

Wink, M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64(1), 3-19.

Winston, G.W., vd., (1998). A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radical Biology and Medicine,* 24, 480-493.

Xu, G. H., vd., (2010). Evaluation of human neutrophil elastase inhibitory effect of iridoid glycosides from *Hedyotis diffusa*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(2), 513-515.

Yagci, S., vd., (2012). Antıoxıdatıve Effect of *Thymbra spicata* On Oxıdatıve Stabılıty of Palm And Corn Oıls. *Internatıonal Journal Of Food Properties,* 15(3), 656-664.

Yamazaki, E., vd., (2007). Antioxidant activity of Japanese pepper (*Zanthoxylum piperitum*) fruit. *Food Chemistry*, 100, 171-177.

Yang, C.S., vd., (2001). Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual Review of Nutrition*, 21, 381-406.

Yang, P., vd., (2005). Adulticidal activity of five essential oils against *Culex pipiensquinquefasciatus*. *Journal of Pest Science,* 30(2), 84-89.

Yaniv, Z.,, vd., (1982). Labiatae as medicinal plants in Israel. Aromatic Plants; Basic and Applied Aspects. Proceedings of International Symposium on Aromatic Plants, Yunanistan. 7, 265-269.

Yaris, E., vd., (2021), Isolation of secondary metabolites of two endemic species: Salvia rosifolia Sm. and Salvia cerino-pruinosa Rech. f. var. elazigensis (Lamiaceae), Journal of Food Measurement and Characterization. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15:4929–4938.

Yener, I. (2020). Determination of antioxidant, cytotoxic, anticholinesterase, antiurease, antityrosinase, and antielastase activities and aroma, essential oil, fatty acid, phenolic, and terpenoid-phytosterol contents of *Salvia poculata. Industrial Crops and Products,* 155, 112712.

Yeo, S.Y., vd., (2003). Preparation of nanocomposite fibers for permanent antibacterial effect. *Journal of Materials Science*, 38, 2143-2147.

Yılmaz, A.M., vd., (2018). A comprehensive LC-MS/MS method validation for the quantitative investigation of 37 fingerprint phytochemicals in Achillea species: A detailed examination of *A. coarctata* and *A. Monocephala. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences,* 30(154), 413-424.

Yılmazer, N. (2018). The genome size of some species of *Hyalomma* ticks from Turkish Thrace. *Systematic and Applied Acarology*, 23(11), 2122-2128.

Yilar, M. (2018). Phytotoxıc And Antıfungal Actıvıtıes Of Thyme, Bılberry, Sage Essentıal Oıls. *Fresenıus Envıronmental Bulletın,* 27(8), 5559-5569.

Yigitkan, S., vd., (2021). Chemical Composition and Biological Activity of Ixiolirion tataricum (Pall.) Schult. & Schult.f. var. tataricum. *Records of Agricultural and Food Chemistry*, 1, 27-34.

Yilmaz, M. A., vd., (2022). Development and validation of a novel LC–MS/MS method for the quantitation of 19 fingerprint phytochemicals in Salvia species: A chemometric approach. *Journal of Chromatographic Science*, bmab125.

Yu, D. ve Yam, V.W.W. (2004). Controlled Synthesis of Monodisperse Silver Nanocubes in Water. *Journal of the American Chemical Society*, 126(41), 13200-13201.

Yukarı, B.A., vd., (2011). Laboratuvarda Hyalomma marginatum'un bazı biyolojik özellikleri. *Türkiye Parazitoloji Dergisi,* 35, 40-42.

Zargari, A. (1992). Medicinal Plants. *Tehran University Press*, 889.

Zhang, M., vd., (2014). The Antibacterial and Anti-Biofouling Performance of Biogenic Silver Nanoparticles by Lactobacillus fermentum. *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*, 30(3), 347-357.

Zhang, W.Z. ve Wang, G. (2003). Research and Development for Antibacterial Materials of Silver Nanoparticle. *New. Chem. Mater*., 31, 42-44.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler		
Soyad, Ad		Çavuş Kaya, Eda
Web sayfası (Research Gate, Academia, vs.)		
Eğitim Bilgileri		
Derece	Kurum	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Atatürk Üniversitesi	2012
Lisans	Atatürk Üniversitesi	2009
Lise	Tevfik Serdar Anadolu Lisesi	2003
İş Deneyimi		
Dönem (Yıl)	Şirket, Kurum	Görev
2011-halen	Dicle Üniversitesi	Araştırma görevlisi
Yabancı Dil		
ÜDS: 76		
Yayınlar		
1. Transfer hydrogenation reaction using novel ionic liquid based Rh(I) and Ir(III)-phosphinite complexes as catalyst. 2. 3. 4.		
Özel İlgiler		

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ BENZERLİK BİLDİRİMİ FORMU

Öğrencinin Adı, Soyadı	Eda ÇAVUŞ KAYA		
Öğrenci No	12803507		
Ana Bilim Dalı	Kimya		
Program Türü	Proje ☐	Yüksek Lisans ☐	Doktora ☒
Tez Danışmanı (Ünvanı, Adı, Soyadı)	Prof. Dr. Abdulselam ERTAŞ		
(Varsa) II. Tez Danışmanı (Ünvanı, Adı, Soyadı)			
Tez Başlığı	Bazı *Thymbra* (Yabanı Kekik) Türlerinin Kimyasal İçeriği, Antioksidan, Antikolinesteraz, Üreaz, Tirozinaz, Sitotoksik, Antimikrobiyal ve Keneler Üzerindeki Akarisit Etkilerinin Belirlenmesi.		
RAPOR BİLGİLERİ			
Raporlama Aşaması	Tez Savunma Sınavı Sonrası		
Sayfa Sayısı	224		
Raporlama Tarihi	20/06/2022		
Benzerlik Oranı (%)	%23		

Yukarıda bilgileri verilen tez çalışmamın toplam 224 sayfalık kısmına ilişkin, 20/06/2022 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin isimli intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %23 olarak tespit edilmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

☐Başlangıç Bölümleri (Kabul ve Onay sayfası, Teşekkür sayfası, Özet/Abstract) hariç

☐Kaynaklar hariç

☐Alıntılar hariç/dâhil

☒Diğer (Her şey dahil)

Tezimin benzerlik oranı, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İntihal Raporu Uygulama Esaslarında belirtilen üst sınır benzerlik oranını aşmamaktadır. Benzerlik oranım üst sınır benzerlik oranının altında olsa dahi aksinin tespit edilmesi durumunda her türlü yasal sorumluğu kabul ettiğimi ve hukuki sonuçlarına razı olduğumu bildirir,
gereğini arz ederim.

Öğrencinin Adı, Soyadı: Eda ÇAVUŞ KAYA

Tarih: 20/06/2022

İmza

Danışman Adı, Soyadı: Prof. Dr.Abdulselam ERTAŞ Tarih:20/06/2022	İmza:
Ana Bilim Dalı Başkanı Adı, Soyadı: Prof. Dr. Berrin ZİYADANOĞULLARI Tarih:20/06/2022	İmza: