TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KEKİK OLARAK KULLANILAN *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* BİTKİLERİNİN KİMYASAL İÇERİKLERİ, ANTİMİKROBİYAL, ANTİOKSİDAN VE ANTİALZHEİMER AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Eyyüp TUNCAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet BOĞA

DİYARBAKIR- 2019

TÜRKİYE CUMHURİYETİ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KEKİK OLARAK KULLANILAN *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* BİTKİLERİNİN KİMYASAL İÇERİKLERİ, ANTİMİKROBİYAL, ANTİOKSİDAN VE ANTİALZHEİMER AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Eyyüp TUNCAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet BOĞA

DİYARBAKIR- 2019

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Eyyüp TUNCAY'ın hazırladığı "Kekik olarak kullanılan *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus var. kotschyanus* bitkilerinin kimyasal içerikleri, antimikrobiyal, antioksidan ve antialzheimer aktivitelerinin belirlenmesi" başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 11/07/2019

Danışman Doç. Dr. Mehmet BOĞA

Jüri Üyeleri		İmza
Jüri Başkanı	Doç Dr. M. Hüseyin ALKAN	
Üye	Doç. Dr. Mehmet BOĞA	
Üye	Doç.Dr. Nesrin HAŞİMİ	

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun …/…/20.. tarih ve ……..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

…./…./……

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

14/06/2019

Eyyüp TUNCAY

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana her konuda destek veren, tez çalışmam sırasında uygun ortam sağlayan ve yönlendiren, desteğini benden esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, danışman hocam Doç.Dr. Mehmet BOĞA'ya bana olan güveni ve desteği için teşekkür ederim.

Tez bitkilerimi toplamamda desteğini esirgemeyen ve teşhisini yapan İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Dr. Öğretim Üyesi Yeter YEŞİL'e teşekkür ederim.

Antimikrobiyal aktivite testlerini yapan İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Dr. Öğretim Üyesi Emel MATARACI KARA'ya teşekkür ederim.

GC-MS analizleri için Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Gökhan ZENGİN'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince benden desteğini esirgemeyen aileme ve eşim Evin AYGÜN TUNCAY'a; anlayışları için çocuklarım Eymen Renas ve Ahmed Zana TUNCAY'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ONAY i
BEYAN ii
TEŞEKKÜR iii
KISALTMA VE SİMGELER DİZİNİ vii
ŞEKİL DİZİNİ ix
RESİM DİZİNİ x
TABLO DİZİNİ xi
1.1. ÖZET 1
1.2. ABSTRACT 3
2.GİRİŞ VE AMAÇ 1
3. GENEL BİLGİLER 8
3.1 Botanik Bilgiler 8
3.1.1. Labiatae (Lamiaceae) familyası 8
3.1.2 *Thymus* L. cinsi 9
3.1.3.*Thymus fallax* FISCH. & MEY……..…….....10
3.1.4.*Thymus kotschyanus* BOISS & HOHEN var. *kotschyanus* (RONNIGER) JALAS……...…..……..... 11
3.2.*Tyhmus* Türlerinin Biyolojik Etkileri ve Halk Arasında Kullanım Alanları…… 13
3.3. *Thymus fallax* Bitkisi ile İlgili Literatür Çalışmaları……... . 13
3.4.*Thymus kotschyanus* Bitkisi ile İlgili Literatür Çalışmaları…… .16
3.5. *Thymus* Türleri ile Yapılan HPLC ve LC-MS/MS Çalışmaları……...21
3.6. Uçucu Yağlar ve Genel Özellikleri 25
3.6.1. Uçucu yağların etkileri ve kullanım alanları…….25
3.7. Antioksidanlar…… 25
3.7.1 Birincil veya fenolik antioksidanlar…….. 26
3.7.2. İkincil antioksidanlar……...…….27

3.7.3. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri 28
3.8. Alzheimer Hastalığı ile İlgili Genel Bilgiler…… …..30
3.8.1. Kolinesteraz inhibitörlerinin Alzheimer hastalığındaki mekanizması……. 31
3.9.LC-MS/MS……32
4.GEREÇ VE YÖNTEM…….34
4.1.Çalışmanın Yapıldığı Yer…….....34
4.2. Bitkisel Materyaller..... 34
4.3. Ekstrelerin Hazırlanışı..... 34
4.4. Uçucu Yağ Eldesi..... 34
4.5.Antimikrobiyal aktivite tayini…… ….35
4.6. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi …… ..35
4.6.1. Toplam fenolik içeriklerinin belirlenmesi …..…… …..35
4.6.2. Toplam flavonoit içeriklerinin belirlenmesi…… …….36
4.7.Antioksidan Tayin Yöntemleri..... 37
4.7.1. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yöntemi 37
4.7.2. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi 38
4.7.3. CUPRAC yöntemi (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) 38
4.7.4. β-Karoten renk giderim yöntemi…… 38
4.8. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi 39
4.8.1. Asetilkolinesteraz enzimi (AChE) aktivite testi..... 39
4.8.2. Butirilkolinesteraz enzimi (BChE) aktivite testi 39
4.9. İstatiksel Hesaplamalar 40
4.10. Kromatografik Yöntemler..... 40
4.10.1. Gaz kromatografisi-kütle spektoskopisi şartları..... 40
4.10.2. LC-MS/MS şartları 41
5.BULGULAR…… 42
5.1.Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları……...42
5.2. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları…….. 43
5.2.1. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi sonuçları……..... 43
5.2.2. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi sonuçları..... 44

5.2.3. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite sonuçları.....45

5.2.4. β-Karoten renk giderim yöntemi aktivite sonuçları…..……...46

5.3. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları 46

5.4. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus var*. *kotschyanus* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları ……..… 47

5.5. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Kimyasal İçerikleri ……...…….……48

5.5.1. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitki türlerinin GC/MS ile analizi……48

5.5.2. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitki türlerinin LC-MS/MS ile analizi……..…….50

6.TARTIŞMA 54

7. SONUÇ 58

8. KAYNAKLAR.....60

9. ÖZGEÇMİŞ 73

10. ORJİNALLİK RAPORU 75

KISALTMA VE SİMGELER DİZİNİ

DPPH : 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil

ABTS : 2,2′-Azinobis (3-etilbenzotrazolin-6-sülfonat)

CUPRAC : Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi

LC-MS/MS : Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi

GC-MS : Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi

MIC : Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

ROT : Reaktif Oksijen Türleri

BHA : Bütillenmiş hidroksi anisol

BHT : Bütillenmiş hidroksi toluen

α-TOC : α-Tokoferol

$O_2^{\bullet}$: Süperoksit radikali

$OH^{\bullet}$: Hidroksil radikali

FDA : Amerikan Gıda ve İlaç Cemiyeti

RAPD : Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA

MA-HS-SPME: Mikrodalga Destekli-Headspace-Katı Faz Mikroekstraksiyon

AgNPs : Gümüş Nanopartiküller

GC-FID : Gaz Kromatografi-Alev İyonizasyon Dedektörü

MA-HS-SDME: Mikrodalga Destekli Headspace Tek Damla Mikroekstraksiyon

HS-SDME : Headspace Tek Damla Mikroekstraksiyon

MDE : Mikrodalga Distilasyon Ekstraksiyonu

HD : Hidrodistilasyon

MAE : Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

SFME : Çözücüsüz Mikrodalga Ekstraksiyonu

HPLC-DAD : Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Diode Array Dedektör

TLC : İnce Tabaka Kromatografisi

RSC : Radikal Giderme Kapasitesi

EDTA : Etilendiamintetraasetik asit

DNA : Deoksiriboz nükleik asit

$RO^{\bullet}$: Alkoksi radikalleri

$ROO^{\bullet}$: Peroksit radikalleri

ROOH : Hidroperoksitler

GP : Glutatyon Peroksidaz

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

KOAH : Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

AH : Alzheimer Hastalığı

APP : Amiloid Prekürsör Proteini

PSEN1-2 : Presenilin 1-2

ACh : Asetilkolin

NFY : Nörofibril Yumakları

AChE : Asetilkolinesteraz

BuChE : Butirilkolinesteraz

AChEI : Asetilkolinesteraz İnhibitörleri

DTNB : 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)

RSD : Bağıl Standart Sapma

RT : Alıkonma Zamanı

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. *Thymus fallax* bitkisinin Türkiye'de yayılış gösterdiği yerler 11
Şekil 2. *Thymus kotschyanus* BOISS & HOHEN var. *kotschyanus* (RONNIGER) JALAS bitkisinin Türkiye'de yayılış gösterdiği yerler 12
Şekil 3. En çok kullanılan radikal uzaklaştırıcı deneylerde yer alan kimyasal reaksiyonlar 30
Şekil 4. Pirokatekolün ölçü grafiği 36
Şekil 5. Kersetinin ölçü grafiği 37
Şekil 6.*Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri 43
Şekil 7. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktiviteleri 44
Şekil 8. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktiviteleri 45
Şekil 9. *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkisinden hazırlanan ekstrenin GC/MS spektrumu 49
Şekil 10. *T. fallax* bitkisinden hazırlanan ekstrenin GC/MS spektrumu 50
Şekil 11. LC-MS/MS analizinde kullanılan standartların kromatogramı 51
Şekil 12. *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* kök ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı 51
Şekil 13. *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* torak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı 51
Şekil 14. *T. fallax* kök ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı 52
Şekil 15. *T. fallax* toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı 52

RESİM DİZİNİ

Resim 1. *Thymus* türü genel görünüm 9
Resim 2. *Thymus* türü yaprak ve çiçek görünümü 10
Resim 3. *Thymus fallax* bitkisinin görünümü 11
Resim 4. *Thymus kotschyanus* BOISS VE HOHEN var. *kotschyanus* (RONNIGER) JALAS bitkisinin görünümü 12

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Bitkilerin Kök ve Toprak üstü Kısımlarının Toplam Miktarları, Elde Edilen Ekstre Miktarı ve Verimi 34
Tablo 2. Ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları 42
Tablo 3.*Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri* 44
Tablo 4.*Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktiviteleri* 45
Tablo 5.*Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin CUPRAC aktiviteleri* 45
Tablo 6. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin antikolinesteraz aktivite sonuçları[a] 46
Tablo 7. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları[a] 47
Tablo 8.*Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin GC/MS analiz sonucu 48
Tablo 9. *T. fallax* ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin LC-MS/MS analiz sonuçları 52

Kekik olarak kullanılan *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* Bitkilerinin Kimyasal İçerikleri, Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antialzheimer Aktivitelerinin Belirlenmesi

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Eyyüp TUNCAY

Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet BOĞA

Anabilim Dalı: Analitik Kimya

1.1. ÖZET

Amaç: *Thymus* cinsi genel olarak yemeklere tat ve koku verici amaçla kullanılır ve tıbbi ve ekonomik önemi olan bitkiler sınıfındandır. Birçok biyolojik ve farmakolojik aktivitesi bilinen *Thymus* cinsine ait *T. fallax* ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin LC-MS/MS ve GC-MS cihazları ile kimyasal içeriklerinin belirlenmesi; antioksidan, antikolinesteraz ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: : *T. fallax* ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin kök ve toprak üstü etanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile fenolik, GC-MS ile uçucu yağlarının içerikleri belirlendi. Tüm ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoit içerikleri sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlendi. Antioksidan aktiviteleri (β-karoten renk giderimi, DPPH serbest, ABTS katyon radikali giderimi ve Cuprac yöntemleri), antikolinesteraz aktiviteleri (asetil- ve bütiril-kolineteraz yöntemleri) ve ile antimikrobiyal aktiviteleri (minimum inhibisyon konsatrasyonu) belirlendi.

Bulgular: *T. fallax* kök ekstresi en yüksek toplam fenolik içeriğe, *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* toprak üstü ekstresi en yüksek toplam flavonoit içeriğe sahip olduğu belirlendi. DPPH serbest radikal giderim yönteminde *T. fallax* toprak üstü ekstresi, ABTS katyon radikal giderim yönteminde kök ekstresinin yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* toprak üstü ve kök kısımlarının antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre *Candida tropikalis*' karşı iyi aktivite gösterdiği belirlendi. GC/MS analizine göre *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkisinin major bileşenleri karvakrol (%48,5) ve timol (%22,5) iken *T. fallax* bitkisinin ise bisiklogermakren (%21,5) ve germakren D (%16,5) olduğu tespit edildi. LC-MS/MS analizine göre; *T. fallax* toprak üstü ve kök, *T. kotschyanus* var.

kotschyanus toprak üstü ekstrelerinde kinik asit, rozmarinik asit ve nikotiflorin, *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* kök ekstresinde fumarik asit, kinik asit ve kafeik asit ve major bileşenler olarak tespit edildi.

Sonuç: *T. fallax*'ın yüksek fenolik içeriğinden kaynaklı yüksek antioksidan potansiyele sahip olduğu söylenebilir. Bitkilerin antikolinesteraz aktivitesi ve LC-MS/MS ile kimyasal içeriği ilk kez bu tezde çalışıldı. Böylece kimyasal içerikleri ve yukarıda belirtilen aktiviteleri belirtilen bitki türlerinden elde edilen sonuçlar bilim dünyasına kazandırılmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Thymus fallax, Thymus kotschyanus* var. *eirophorus,* Antioksidan, Alzheimer, GC/MS, LC-MS/MS.

Determination of the chemical content of *Thymus fallax* and *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* used as Thyme, Investigation of Antimicrobial, Antioxidant and Antialzheimer Activities

Student's Surname and Name: TUNCAY Eyyüp

Adviser of Thesis: Assoc. Prof. Dr. Mehmet BOĞA

Department: Analytical Chemistry

1.2. ABSTRACT

Aim: The genus *Thymus* is commonly used for food taste and odor purposes and is of medicinal and economic importance. The aim of this study was to investigate the chemical contents, antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activities of *T. fallax* and *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* plants of *Thymus* genus which are known for their biological and pharmacological activities by LC-MS/MS and GC-MS.

Material and Method: The content of phenolics by LC-MS / MS and essential oils by GC-MS of root and aerial parts of ethanol extracts of *T. fallax* and *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* plants were determined. Total phenolic and flavonoit contents of all extracts were determined as pyrocatechol and quercetin equivalents, respectively. Antioxidant (β-carotene decolorisation, DPPH free, ABTS cation radical scavenging and Cuprac methods), anticholinesterase (acetyl- and butyryl-cholineterase methods) and antimicrobial activities (minimum inhibition concentration method) were determined.

Results: *T. fallax* root extract has the highest total phenolic content, *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* aerial part extract was found to have the highest total flavonoit content. It was determined that *T. fallax* aerial part extract in DPPH free radical scavenging method and root extract showed high activity in ABTS cation radical scavenging method. Aerial and root parts of *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* were determined good antimicrobial activity against *Candida tropicalis*. According to GC/MS analysis, major components of *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* were carvacrol (48.5%) and thymol (22.5%), while bicyclogermacrene (21.5%) and germacrene D (16.5%) were detected for *T. fallax*. According to LC-MS/MS analysis; quinic acid, rosmarinic acid and nicotiflorin compounds for *T. fallax* aerial

and root extracts and *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* aerial parts extracts, fumaric acid, quinic acid and caffeic acid were identified as major components for *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* root extract,.

Conclusion: It can be said that *T. fallax* has high antioxidant potential due to its high phenolic content. The anticholinesterase activity and chemical content of the plants by LC-MS / MS were studied for the first time in this thesis. Thus, the results obtained from the plant species whose chemical contents and activities mentioned above were introduced to the scientific World.

Key words: *Thymus fallax, Thymus kotschyanus* var. *eirophorus*, Antioxidant, Alzheimer, GC/MS, LC-MS/MS.

2.GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından, insanların ortalama %80'inin sağlık alanındaki ilk ihtiyaçlarını geleneksel ilaçlar ile karşıladıkları ve bu tedavilerin çoğunun da bitki ekstreleri ile etkin maddelerinden oluştuğu tahmin edilmektedir (1). Tıbbi bitkilerin iyileştirici özellikleri fenolik içeriklerine, en çok da flavonoitler ile fenolik asitlere bağlanmaktadır (2).

Dış yörüngelerinde eşleşmemiş bir elektron bulunduran serbest radikaller, genellikle kararsız ve çok reaktiftirler. Bu yüzden çevrelerindeki atom ve moleküllere saldırırlar. Serbest radikallerin büyük kısmı reaktif oksijen içeren türler ile reaktif azot içeren türlerden oluşmaktadır (3). Oksijen, canlılarda kimyasal reaksiyonlarda en çok görev yapan elementlerden biri olduğundan metabolizmada kolaylıkla serbest radikale dönüşebilir ve bu nedenle oksijenden oluşan radikaller canlılar için önem arz etmektedir (4). Ayrıca teknolojinin gelişmesiyle beraber artan çevre kirliliği, sigara, UV gibi dış etkenler de eklendiğinde serbest radikal oluşumu tetiklenmektedir (5).

Antioksidanlar, vücudun reaktif oksijen türlerini (ROT) temizleyici antagonistleri olarak düşük miktarlarda ve oksidasyonu kolay olan maddelerdir. Materyallerin oksidasyonunu yüksek oranda geciktirerek ya da engelleyerek etkilerini gösterirler (6). Ancak vücut içerisinde meydana gelen oksidanlara ek olarak dış etkenlerle maruz kalınan oksidanların miktarının artışıyla antioksidanların koruması sınırlı kalmaktadır. Metabolizmada üretilen H_2O_2, $HO^{\cdot}$ ve $O_2^{\cdot -}$ gibi ROT'ların miktarındaki artış antioksidanlarla dengelenemediğinde denge oksidanlar tarafına kayar ve oksidatif stres gelişir (7).

Uzun yıllardır sentetik antioksidanlar olarak bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), gıdaların besin değerini kaybetmesini engellemek ve raf ömrünü uzatmak amacıyla gıda üreticileri tarafından kullanılmışlardır. Ancak bilim insanları tarafından yapılan çalışmalarda bu sentetik antioksidanların kanserojen oldukları bildirilmiştir (8). Bu sebeple, insan sağlığını tehdit eden sentetik antioksidanların yerine bitkisel materyallerin kullanımı dünya çapında büyük bir ilgi görmüştür. Şifalı bitki araştırmalarına olan bu ilgi, geleneksel terapötik potansiyeli olan bitkisel ürünler üzerine odaklanmıştır (9).

Günümüzde, yaşam standartlarının iyileşmesi ve yaşam süresinin uzamasıyla beraber dünyanın yaşlı nüfusu da artmaktadır. İleri yaş demans hastalığı olan Alzheimer hastalığı görülme sıklığı da artan yaşam süresiyle artış göstermektedir. 2016 yılında yayınlanan Dünya Alzheimer Raporu'nda, şu anda demansla yaşayan yaklaşık 47 milyon kişi sayısının 2050 yılında 131 milyon olacağı bildirilmiştir (10).

Bilişsel ve işlevsel olarak seyreden kötüleşme ile hafızada ve diğer entellektüel faaliyetlerde bozulmayla karakterize olan Alzheimer hastalığı nörodejeneratif bir hastalıktır. Alzheimer hastalığının en önemli ayırıcı özellikleri; neokortikal bölgede nöronlar arasında beta amiloid plaklarının birikimi, nöron içinde fibriller yumakların varlığı ve sinaptik iletinin bozulmasıdır. Beta amiloid, amiloid prekürsör proteinin proteolitik işlemlenmesi sonucu oluşan bir peptiddir ve Alzheimer hastalığında beta amiloid peptidler birikerek, suda çözünmeyen sert plaklar oluştururlar. Nörofibriller yumakların içinde yer alan tau proteini mikrotübülle ilişkili olup, Alzheimer hastalığında hiperfosforile durumdadır (11).

Alzheimer hastalığında merkezi sinir sisteminde selektif olarak gözlenen asetilkolin miktarındaki azalma ve kolinerjik ileti bozulması ile karakterize edilen kolinerjik yetmezlik, hastalığın patogenezisinde önemli bir role sahip olduğundan; hastalıkta asetilkolin miktarının arttırılmasının bilişsel fonksiyonlarda iyileşme sağlayabileceği düşünülmektedir. Amerikan Gıda ve İlaç Cemiyeti (FDA) 1993 yılından itibaren takrin, donepezil, rivastigmin ve galantamin olmak üzere dört tane kolinesteraz inhibitörünün Alzheimer hastalarında kullanılmasını onaylamıştır. Ancak bu ilaçların hastalık üzerinde etkilerinin az ve geçici olduğu ifade edildiğinden kolinerjik sistemin yanı sıra hastalıkta gözlenen diğer patolojik değişimlere de etki edebilecek multimodal ilaçların geliştirilmesine yönelik araştırmalar halen devam etmektedir (12).

Türkiye' de Lamiacea familyasına ait kekik, nane, adaçayı, lavanta, reyhan gibi tıbbi ve aromatik öneme sahip çok çeşitli ve tür sayısı bakımından oldukça fazla bitki bulunmaktadır. Lamiaceae familyasının bir üyesi olan *Thymus* cinsi genel olarak yemeklere tat ve koku verici amaçla kullanılır ve tıbbi ve ekonomik önemi olan bitkiler sınıfındandır. Birçok biyolojik ve farmakolojik aktivitesi bilinen *Thymus* cinsine ait *Thymus fallax* ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin LC-MS/MS ve GC-

MS cihazları ile kimyasal içerikleri, antimikrobiyal, antioksidan, antikolinesteraz ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

3. GENEL BİLGİLER

3.1 Botanik Bilgiler

3.1.1. Labiatae (Lamiaceae) familyası

1789 yılında De Jussieu tarafından Labiatae olarak adlandırılan familyanın ismini 1836'da Lindley Lamiaceae olarak değiştirmiştir (13).

Tzima ve ark. 2018 yılında yayınladıkları çalışmada, Lamiaceae familyasının yaklaşık olarak 236 cins ve 6900 ile 7200 tür barındırdığını bildirmişlerdir (14). Bu aileye ait tıbbi bitkiler, çeşitli hayvan ve insan hastalıklarının tedavisinde antibakteriyel, antioksidan, antitümöral, antifungal, analjezik ve böcek öldürücü olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır. Lamiaceae familyasının iyi bilinen cinsleri *Thymus, Origanum, Salvia, Lamium, Teucrium, Stachys, Marrubium, Satureja, Ajuga ve Phlomis*'tir. Bu familyadaki en büyük cins yaklaşık 1000 türü mevcut olan *Salvia* cinsidir (15).

Thymus cinsini de içeren Lamiaceae familyasında; gövde dört köşeli olup yapraklar genellikle basittir ancak bazen parçalı ve dekussat dizilişli de olabilir. Çiçekler her nodusta vertisillastrum durumunda, zigomorf ve bilabiattır. Çiçeklerde kaliks beş loblu, kalıcı genellikle bilabiattır; korolla bilabiattır fakat bazen üst dudak eksik olabilir. Bazen iki stamen bulunabileceği gibi çoğu zaman dört tanedir, flamentler eşit boydadır ve genellikle didinamdır. Ovaryum iki karpelden meydana gelmiş dört gözlü ve üst durumludur, her gözde bir ovül bulunur; stilus ginobaziktir, meyve dört nukstan meydana gelen bir şizokarptır (16).

Bu familyada 200 cins ve 3500 tür bulunmaktadır. Türkiyede doğal olarak yetişen 43 cins vardır. *Lamiaceae* bitkileri özellikle terpenoid bileşikler yönünden zengindir, ayrıca flavonoitler, uçucu yağlar, az da olsa kinoid yapıda maddelerle bazen basit alkaloidleri de taşırlar.

Lamiaceae kozmopolit bir familya olup, başta Akdeniz fitocoğrafik bölgesi olmak üzere yeryüzünün bütün bölgelerine yayılmış, yaklaşık 170 – 250 cins ve 3000 – 3500 tür ile temsil edilmektedir. Türkiye'de ise 45 cins ve 546 'dan fazla tür ile

önemli familyalardandır. Familya üyelerinin çoğu uçucu yağ içermelerinden dolayı farmakoloji, parfümeri ve kozmetik sanayisi için önem arz etmektedir (17-20).

Türkiye, coğrafik olarak farklı iklim kuşaklarının bulunduğu bir konuma sahip olmasıyla, bitki çeşitliliği açısından zengin bir ülkedir. Alternatif tıpta farmakolojik etkilerinden sıklıkla faydalanılan Lamiaceae familyasına ait bitkiler bakımından da önemli bir gen merkezidir. Lamiaceae familyası ülkemizde 46 cins ve 260'ı endemik olan 586 tür ile temsil edilir. %44,2 olan endemizm oranı ile Türkiye'nin bitki tür ve çeşitliliği açısından en zengin üçüncü familyasıdır (21-23).

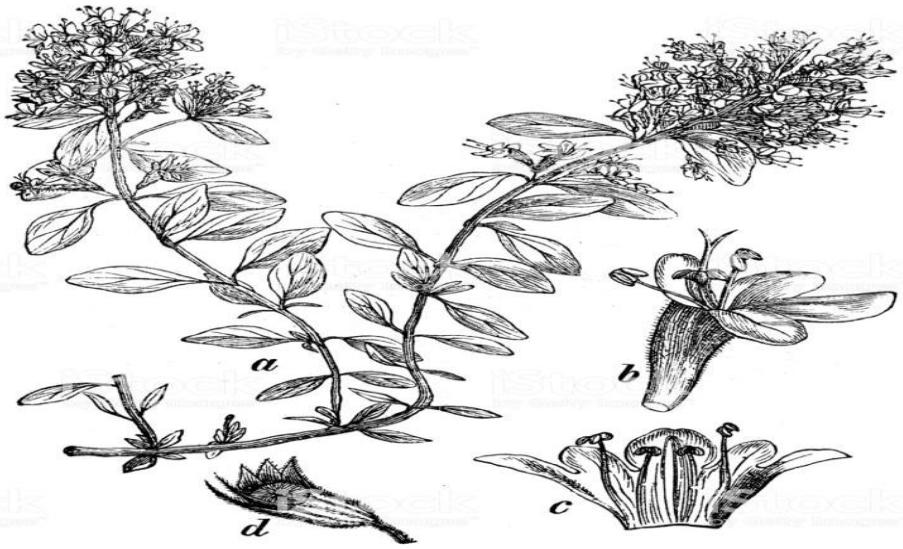
Yapılan analizler sonucunda Thymus'larda yaklaşık 270 terpen olduğu saptanmakla birlikte bunlardan bir ya da birkaçının baskın olduğu rapor edilmiştir. Özellikle timol, karvakrol, linalool, p-simen, geraniol, borneol en önemli terpenlerdir. Bitkiler aleminde monoterpenoid fenollerin en önemli kaynağı ise Thymus türleridir (24).

3.1.2. *Thymus* L. cinsi

Çalı formunda, genellikle 10-40 cm boylanan, çok yıllık ve dipten dallanan odunsu gövdeye sahip bir bitkidir. Yapraklar 5-12 x 2-3 mm haç görünüşünde karşılıklı dizilişte, orta damar belirgin çıkıntılı, kenarları düz ve iki yüzü de gri-yeşil renktedir.



Resim 1. *Thymus* türü genel görünüm



Resim 2. *Thymus* türü yaprak ve çiçek görünümü

3.1.3. *Thymus fallax* FISCH. & MEY.

Tabandan dallanan dik gelişen çalımsı, 10-30 cm boyunda bitkiler. Gövde 4 yüzeyli kısa geriye dönük tüylü, yanal yaprak demetleri iyi gelişmiş, çiçek düzenin altındaki 1-2 internod uzundur. Yapraklar 7-8,5-13 x 1-2-4 mm merceksi eliptik, kuneat, akutumsu ortada ya da ortanın altında en geniş, ince kenarları çoğu kez dar undulat bazen zayıfça geriye kıvrık kısa puberulent ya da tüysüz, tabanda seyrek silli ya da değil, yağ damlacığı çok, şarap rengi; yanal damarlar 2 çift, çoğunlukla belirgin değil, yanal sürgünlerin genç yaprakları sık puberulent ya da skabros çiçek düzeni seyrek baş, 2-4 cm ye kadar uzunluktadır. Brakteler yapraklara benzer. Brakteoller 1-2 mm Pediseller 4 mm ye kadar. Kaliks 3,5-4-4,8 mm, tüp ± silindirik, ± dudaklara eşit, skarboz, ventral tarafı hırsut, genellikle sık yağ damlacıklı; dudaklar eşit, üst dudak tüpten geniş, orta dişi 0,6-0,8-1,2 mm, silli ya da değil. Korolla beyazdan mora kadar, 7 mm ye kadar, kırmızı yağ damlacıklı.

Çiçeklenme Zamanı: Haziran-Ağustos

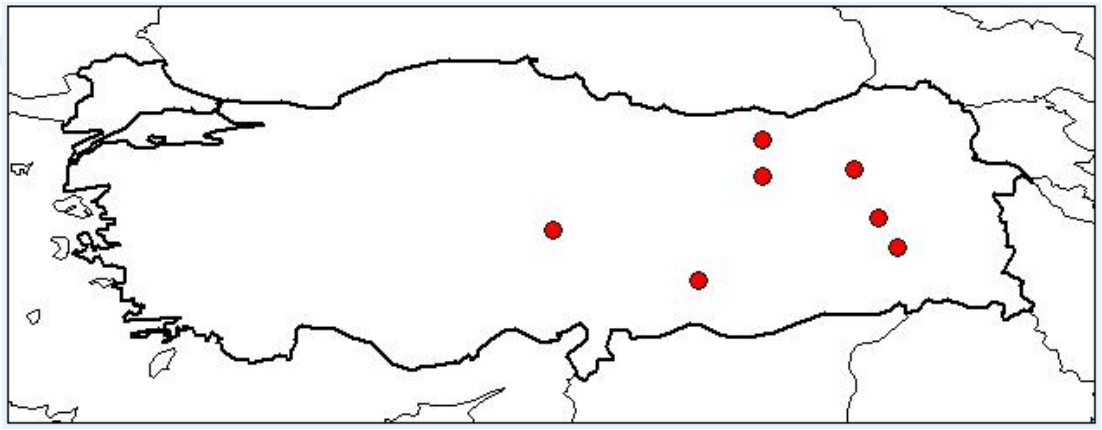
Yetişme Ortamı: Kalkerli alanlar, step

Yetişme Yüksekliği: 1400-2500 m

Genel Yayılış: İran, Ir-Tur



Resim 3. ***Thymus fallax*** **bitkisinin görünümü**



Şekil 1. ***Thymus fallax*** **bitkisinin Türkiye'de yayılış gösterdiği yerler**

3.1.4. *Thymus kotschyanus* BOISS & HOHEN var. *kotschyanus* (RONNIGER) JALAS

Tabandan dallanan, ± dik gelişen cüce çalımsı, 3-15 cm boyunda bitkilerdir. Gövde 4 yüzeyli, değişik tip tüylü, geriye dönük pubesentten pannoza kadar, yanal yaprak demetleri genellikle yok. Yapraklar 1-2 mm petiol dahil 9-13 x 4,5-6-9 mm, ovattan lanseolata kadar, akutumsu, tabanda küt ya da yuvarlak se silli, ortada ya da ortanın altında en geniş, tüysüzden sık, uzun, beyaz tüylüye kadar değişir, silli; yağ damlacığı çok, koyu renkli, yanal damarlar çoğunlukla 3 çift, alt yüzeyde belirgin, alt damar çifti bazen kenara kadar ve kenarda kalınlaşma yapar. Çiçek düzeni genellikle sık kapitat, 1-2 x 1-1,5 cm, bazen uzamış ve alt vertisillatlar ayrı. Brakteler yapraklara benzer. Brakteoller 0,5-1,5-2,5 mm, genellikle pedisele eşit. Kaliks 3,2-4,5-5,6 mm, tüp ± silindirik, genellikle dudaklardan kısa, genellikle sık yağ

damlacıklı; dudaklar eşit, üst dudak tüpten geniş, orta dişi 0,7-1,2 mm lanseolat-aristat, silli ya da değil. Korolla 6-7,5 mm, beyaz ya da soluktan koyu pembeye kadardır.

Çiçeklenme Zamanı: Mayıs-Temmuz

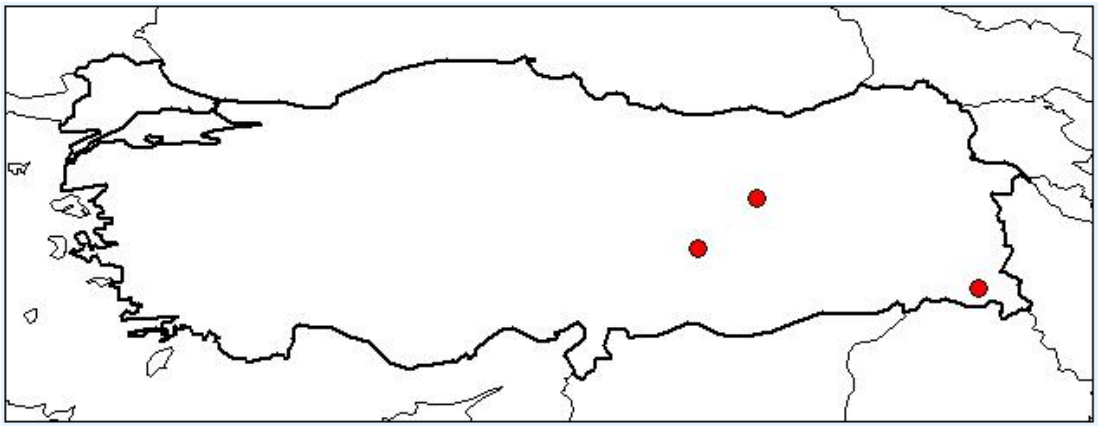
Yetişme Ortamı: Kalkerli alanlar, Astragalas-Thymus stepi

Yetişme Yüksekliği: 800-2500 m

Genel Yayılış: Kafkaslar, Azerbaycan, İran, Irak, İran-Turan element.



Resim 4. *Thymus kotschyanus* BOISS & HOHEN var. *kotschyanus* (RONNIGER) JALAS bitkisinin görünümü



Şekil 2. *Thymus kotschyanus* BOISS & HOHEN var. *kotschyanus* (RONNIGER) JALAS bitkisinin Türkiye'de yayılış gösterdiği yerler

3.2.Thymus Türlerinin Biyolojik Etkileri ve Halk Arasındaki Kullanım Alanları

Thymus ekstreleri geleneksel tıpta, oral olarak dispepsi ve diğer gastrointestinal rahatsızlıklarda; soğuk algınlığı, bronşit ve boğmacaya bağlı öksürügün tedavisinde; larenjit ve tonsillite karsı gargara şeklinde kullanılır. *Thymus* ekstresi topikal olarak küçük yaraların tedavisinde, soğuk algınlığında, ağız boşluğu hastalıklarında ve oral hijyende antibakteriyel ajan olarak kullanılır. *Thymus* uçucu yağı ve timol, yara iyi edici merhem ve antiseptik ilaçlar, solunum rahatsızlıklarının tedavisi için şuruplar ve inhalasyon preparatlarının terkibine girmektedir (25).

Thymus türlerinde bulunan uçucu yağlar ve fenolik bileşikler (polifenoller ve özellikle flavonoitler) sebebiyle bitki yüksek farmakolojik aktivite göstermektedir (26, 27).

Halk arasındaki ismiyle kekiğin, kullanımına ait en eski kayıtlar antik Mısırlılar'a kadar ulaşmaktadır. Antibakteriyel ve antiviral özellikleri nedeniyle Mısırlılar tarafından sterilizasyon amacıyla kullanmışlardır. Günümüzde ise kekik, öncelikle baharat olarak kullanılır. Çocuklarda kansızlığı önler. Egzama ve uyuz tedavisinde kullanılır (28).

3.3. *Thymus fallax* Bitkisi ile İlgili Literatür Çalışmaları

Çaçan ve ark.' nın yapmış olduğu çalışmada, *T. kotschyanus* var. *glabrescens*, *T. kotschyanus* var. *kotschyanus*, *T. hausknechtii*, *T. pubescens* var. *pubescens*, *T. fallax* bitkilerinin yapraklarının yağ asidi analizi GC analizi ile yapılmıştır. *T. fallax* için yağ asidi analizi sonucunda ana bileşenler %42,91 linolenik asit, %21,88 palmitik asit %19,47 ile linoleik asit olarak tespit edilmiştir (29).

Dizajeyekan ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, Doğu Azerbaycan'ın iki farklı bölgesinde (Bozgosh ve Mianeh Bölgeleri) *T. fallax* için uçucu yağları kantitatif ve kalitatif olarak değerlendirilmiştir. Uçucu yağın ana bileşenleri olarak timol (%43,43-61,14), borneol (%3,89-7,01), karvakrol (%3,88-6,5) ve p-simen (%4,58-6) belirlenmiştir (30).

Onaran ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *T. fallax*, *Origanum vulgare* ve *Mentha dumetorum* bitkilerinin uçucu yağlarındaki kimyasal bileşenlerinin analizi GC-MS ile yapılmıştır. *T. fallax* için timol (%41,48), o-simen (%26,75), γ-terpinen(%15,84), 2-isoproil-1-metoksi-4-metilbenzen (%5,10), terpineolen (%2,11)

ve karvakrol (%1,28) ana bileşenler olarak belirlenmiştir. Sonuçlar özellikle *T. fallax'* ın antifungal aktivite için test edilen üç mantarın büyümesini inhibe ederek güçlü antifungal aktivite göstermiştir (31).

Küçükbay ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *Thymus migricus, T. fallax* ve *T. pubescens* bitkilerinin uçucu yağ analizi yapılmış olup *T. fallax* için ana bileşenler cis-karveol (%29,6) ve α-terpineol (%10,8) olarak belirlenmiştir. Uçucu yağları ile yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmasında üç *Thymus* türünün de bakteriostatik etki gösterdiği gözlemlenmiştir (32).

Yılar ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *T. fallax*, *Mentha dumetorum* ve *Origanum vulgare* bitkilerinin hidrodistilasyon yoluyla izole edilen uçucu yağlarındaki kimyasal bileşenlere bakılmıştır. *T. fallax*'ın ana bileşenleri timol (%41,48), o-simen (%26,75), γ-terpinen(%15,84), terpinolin (%2,11) olarak tespit edilmişitir. Ayrıca bu çalışmada *T. fallax* bitkisinin uçucu yağlarındaki kimyasal bileşenlerin herbisidal etkisi gözlemlenmiştir (33).

Rustaiee ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, bazı *Thymus* türleri arasında kimyasal ve genetik benzerlik olup olmadığına bakılmıştır. Bunun için uçucu yağ bileşenleri ve genetik çeşitlilik verilerine bakılarak GC, GC/MS ve RAPD (rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA) analizi ile altı *Thymus* türü üzerinde çalışılmıştır. *T. fallax* uçucu yağlarındaki ana bileşenler karvakrol (%69,2), p-simen (%15,4), timol (%5,3) olarak belirlenmiştir (34).

Yıldırım ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, Lamiaceae familyasından yedi türün uçucu yağlarının *Sitophilus granarius* üzerindeki insektisit etkisine bakılmıştır. *T. fallax*'ın uçucu yağının *S. granarius* üzerine insektisit etkisi gözlemlenmiştir (35).

Rustaiee ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *T. fallax*'tan hidrodistilasyon ile izole edilen uçucu yağların GC, GC/MS analizi ile uçucu yağ içeriğine bakılmıştır. Bu analiz sonucunda ana bileşen olarak karvakrol (%69,2), p-simen (%15,4), timol (%5,3) ve γ-terpinen (%4,5) belirlenmiştir (36).

Kotan ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *Satureja spicigera*, *Thymus fallax*, *Achillea biebersteinii* ve *A. millefolium* bitkilerinde GC ve GC/MS analizi ile uçucu yağları ve bunların n-heksan, kloroform, aseton ve metanol ekstrelerinin 25 tarım

bitkisi patojenine karşı antibakteriyel etkilerine bakılmıştır. *T. fallax* uçucu yağı ana bileşen olarak karvakrol (%51,26), β-karyofilen (%5,25), γ-kadinen (%5,13), 1,8-sineol (%5,12) ve timol (%4,29) içerdiği gözlemlenmiş ve bunların potansiyel antibakteriyel etkisi tespit edilmiştir. Özellikle major bileşenler olan karvakrol ve timolde bu etki daha belirgin olarak görülmüştür (37).

Unal ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *Ziziphora clinopodioides*, *Thymus fallax*, *Hypericum heterophyllum*, *H. hyssopifolium* subsp. *elongatum* var. *elongatum* ve *H. scabrum* türlerinin on adet patojenik bakteri ve mantar üzerindeki antimikrobiyal etkilerine bakılmıştır. *T. fallax*'ın su, etanol ve aseton ekstreleri güçlü antioksidan aktivite göstermiştir. Bu çalışmanın sonucunda *T. fallax*'ın gıda endüstrisinde potansiyel antioksidan ve antimikrobiyal olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (38).

Semnani ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *T. fallax*, *T. kotschyanus* ve *T. pubescens* bitkilerinin toprak üstü kısımlarının metanol ekstreleri ve uçucu yağlarının farklı dozları fareler üzerinde denenerek yüzme performanslarına bakılmıştır. Çalışmada kullanılan uçucu yağların miktarları arttıkça hareketsizliğin arttığı gözlenmiş ve bulgulardan *T. fallax*'ın *T. kotschyanus*'tan daha fazla antidepresan aktivite gösterdiği anlaşılmıştır (39).

Özgen ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *T. sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus*, *Teucrium chamaedrys* L., *Mentha longifolia* (L.) subsp. *longifolia*, *Salvia limbata* ve *T. fallax* türlerinin antioksidan özelliklerine, 2,2-difenil 1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal temizleyici etkisi ve ekstrelerin total fenolik bileşiklerine bakılmıştır. Bu çalışmada en yüksek DPPH radikali temizleme etkisi *T. fallax*'ta gözlemlenmiştir (40).

Öztürk ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *T. fallax*'ın toprak üstü kısımlarının metanol ekstresi disk diffüzyon testi kullanılarak antibakteriyel aktivitesine bakılmıştır. Kontrol antibiyotikleri ofloksasin, sulbaktam, safoperazon ve netilmisin kullanılmıştır. Sonuçlar *T. fallax*'ın özellikle *Arthrobacter atrocyaneus*, *Bacillus sphaericus*, *Enterobacter hormaechei*, *Staphylococcus cohnii* ssp. *cohnii*, *Pseudomonas syringae* ve *Kocuria rosea* bakterileri üzerinde çok iyi düzeyde antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (41).

Barazandeh'in yapmış olduğu çalışmada İran'ın Hamedan bölgesinden toplanmış *T. fallax* yapraklarından hidrodistilasyonla uçucu yağ elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağ GC ve GC/MS ile analiz edilmiştir. Çalışma sonunda major olarak timol (%65,9) ve γ-terpinen (%10,8) olarak tespit edilmiş ve toplamda 23 adet bileşik bulunmuştur (42).

3.4. *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* Bitkisi ile İlgili Literatür Çalışmaları

Piryaei ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus* Boiss'in uçucu yağ bileşenlerinin analizi yapılmıştır. Çalışmada kullanılan MA-HS-SPME (Mikrodalga Destekli-Headspace-Katı Faz Mikroekstraksiyon) yönteminin, maliyet etkinliği, basitlik ve çözücü bağımsızlığı avantajlı yönleri sayesinde, yağ tayini ve *T. kotschyanus*' dan özütlenmesinde en uygun teknik olduğu gözlemlenmiştir. Major bileşen olarak karvakrol, γ-terpinen ve p-simen olarak belirlenmiştir (43).

Mohammadi ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus ve T. vulgaris*'in farklı ekotiplerinin uçucu yağ bileşenlerine bakılmıştır. *T. kotschyanus*'un GC/MS analizi ile uçucu yağında çıkan sonuçlarda timol, karvakrol, linalol, p-simen ve γ-terpinen ana bileşenler olarak belirlenmiştir (44).

Gholami ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus* kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (AgNPs) bazı bakteriler üzerine antimikrobiyel aktivitesine bakılmıştır. Sentezlenen AgNPs'ler, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilise* gibi gram pozitif bakterilerin büyümesini inhibe edici etki göstermiştir. 500–1000 µg/ml'de *Klebsiella pneumonia* üzerine ve 250–1000 µg/ml'de ise *Escherichia coli* büyümesi üzerine inhibe edici etki göstermiştir (45).

Hamelian ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus* kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (AgNPs) antioksidan, antibakteriyel ve sitotoksik etkilerine bakılmıştır. Sentezlenen AgNPs'lerşn Agar Disk metodu, MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyon) ve MBK (Minimum Bakterisidal Konsantrasyon) ile antibakteriyel özelliklerine; standart antioksidan olarak bütil hidroksitoluen (BHT) kullanılarak DPPH serbest radikal deneyi ile antioksidan aktivitesine bakılmıştır. Çok güçlü antimikrobiyel ve antioksidan etki gözlemlenmiştir (46).

Cacan ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Satureja hortensis, S. boissieri, Thymus kotschyanus* var. *glabrescens, T. kotschyanus* var. *kotschyanus, T. hausknechtii, T. pubescens* var. *pubescens, T. fallax, Origanum vulgare* subsp. *gracile* ve *O. acutidens* türlerinin yapraklarının yağ asiti bileşenlerinin GC ile analizi yapılmıştır. *T. kotschayanus* var. *glabrescens* için linolenik asit metil esteri (%53,46), palmitik asit metil esteri (%21,47) ve linoleik asit (%13,53); *T. kotschayanus* var. *kotschyanus* için linolenik asit (%44,59), palmitik asit (%21,50) ve linoleik asit (%16,98) metil esterleri ana bileşenler olarak belirlenmiştir (47).

Tohidi ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada İran'ın farklı bölgelerinden toplanmış *Thymus kotschyanus* türünün uçucu yağlarının GC/MS analizleri ile biyoaktif bileşikleri ve kimyasal bileşenlerindeki çeşitliliğe bakılmıştır. Bitkiler arasında uçucu yağ verimleri %1-1,41 arasında çeşitlilik göstermiş ve total bileşenlerin %88,7-99,9'unu içeren 38 bileşik içinde timol (%6,8-66,15), karvakrol (%2,38-20,06), linalol (%1,39-22,23), α-terpineol (%0,16-11,64) ve geraniol (%0,36-11,37) ana bileşenler olarak görülmüştür (48).

Boroomand ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Thymus kotschyanus* bitkisini de içeren yedi farklı bitki türünün fitokimyasal bileşenlerine, toplam fenol ve mineral içeriklerine ve antioksidan aktivitelerine bakılmıştır. *Thymus kotschyanus* için ana bileşen olarak karvakrol (%31), biosol (%21,7), m-simen (%6,41) ve (z)-7-hekzadekenal (%4,19) tespit edilmiştir. *A. sieberi* ve *T. kotschyanus*' un en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir (49).

Kiliç ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* ve *T. kotschyanus* var. *glabrescens* türlerinde HS-SPME/GC-MS analizi ile uçucu yağ miktarlarına bakılmıştır. *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* için timol (%31,2), karvakrol (%19,5), p-simen (%11,2) ve γ-terpinen (%8,4); *T. kotschyanus* var. *glabrescens* için ise timol (%2,3), karvakrol (%24,3) ve p-simen (%17,6) ana bileşen olarak tespit edilmiştir (50).

Maharramov ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus* ve *T. collinus* türlerinin uçucu yağları ve ekstraktlarının gastrointestinal parazitlere karşı antihelmintik etkisine bakılmıştır. In-vitro koşullarda parazitlere karşı antihelmintik etki belirlenmiştir. Ayrıca in-vivo şartlarda ise doğal enfekte koyunlarda mide-

bağırsak parazitlerine karşı antihelmintik etki incelenmiştir. In-vitro koşullarda parazitlerin daha kısa sürede öldükleri saptanmıştır. In-vivo şartlarda *T. kotschyanus* uçucu yağının antihelmintik etkisi %88,1 olarak tespit edilmiştir (51).

Mobaiyen ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada doğal ortamda yetişen ve kültür *T. kotschyanus* uçucu yağlarının biyolojik aktiviteleri ve bileşenleri karşılaştırılmıştır. Doğal olanın ana bileşenleri timol (%29,96), p-simen (%21,35) ve α-pinen (%12,72); kültürü yapılanın ise timol (%47,48) ve α-pinen (%5,49) olarak belirlenmiştir. Sonuçlar, kültürü yapılanların antioksidan potansiyelinin belirgin bir ölçüde arttığını göstermiştir (52).

Afshari ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus*'tan on dört ekotipik uçucu yağ elde edilmiş ve bunların antioksidan ve antigenotoksik etkilerinde çeşitliliğe ve varyasyonlara bakılmıştır. Ana ekotipik yağlar timol ve karvakrol (%27,2-75,6) olarak belirlenmiştir. Farklı bölgelerden toplanan *T. kotschyanus* uçucu yağlarının sağladığı faydalar da değişken olarak gözlenmiştir. Bu yağlar, antioksidan ve antigenotoksik potansiyele sahip ucuz bir doğal kaynak olarak değerlendirilmiştir (53).

Farsani ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus, T. vulgaris, T. carmanicus, T. daenensis* subsp. *lancifolius* ve *T. daenensis* subsp. *daenensis* türlerinin kök ve tohum ekstrelerinin HIV-1 replikasyonu ve CD4 lenfosit ekspresyonu üzerine etkilerine bakılmıştır. Bütün türlerde metanol ekstreleri yüksek konsantrasyonlarda (200 ve 500 µg/ml) anti HIV-1 aktivite göstermiştir. Yine tüm kök ekstreleri varlığında CD4 yoğunluğu azalmıştır (54).

Zhiani ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada GC-MS analizi ile *T. kotschyanus* ve *T. vulgaris*'in kimyasal bileşenleri ile *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri üzerine antimikrobiyal etkileri karşılaştırılmıştır. Bu türlerde ana bileşenler olarak γ-terpinen, timol, α-pinen, kamfen, oleik asit,1-okten-3ol, trans-karyofilen, β-mirsen, α-thujen ve 1,8-sineol belirlenmiştir. *Thymus vulgaris*'in uçucu yağları *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkili olduğu gözlemlenmiştir (55).

Malekitabar ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus* ve *T. pubescense* türlerinin GC-FID ve GC/MS analizi ile uçucu yağ analizi yapılmış ve DPPH ve ABTS yöntemleri ile antioksidan özelliklerine bakılmıştır. *T. kotschyanus*'ta uçucu yağın ana bileşenleri α-terpineol (%16,9), 1,8-sineol (%14,4), linalol (%9,6), timol (%7,2) ve geranil asetat (%5,4) olarak belirlenmiştir. İki türün de antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (56).

Baharfar ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus* türünden elde edilen flavonoit, polifenol ve antosiyanince zenginleştirilmiş ekstrelerde antibakteriyel ve antioksidan aktiviteye bakılmıştır. Fenolik ve flavonoit içeren bileşikler güçlü antioksidan aktivite göstermiştir. Yüksek DPPH giderim aktivitesine sahip ve gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel etki gözlenmiştir (57).

Gholivand ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus*'ten elde edilen monoterpen, seskiterpen ve uçucu yağları üzerine mikrodalga ışınlarının etkisi incelenmiştir. HS-SDME (Headspace Tek Damla Mikroekstraksiyon), MAHS-SDME (Mikrodalga Destekli Headspace Tek Damla Mikroekstraksiyon), MDE (Mikrodalga distilasyon Ekstraksiyonu) ve HD (Hidrodistilasyon) metodları ile yapılan analizde mikrodalgaya maruziyetin uçucu yağ üzerine cidi bir etkisinin olmadığı tespit edilmişitir (58).

Aliakbarlu ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Thymus vulgaris, T. kotschyanus, Ziziphora tenuior* ve *Z. clinopodioides* türlerinden elde edilen uçucu yağların antioksidan ve antibakteriyel özelliklerine bakılmıştır. Sonuçlar türlerin güçlü antibakteriyel ve antioksidan etkiye sahip olduğunu göstermiştir. *Z. clinopodioides* ve *T. vulgaris*'in diğer türlere göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (59).

Küçükbay ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* ve *T. kotschyanus* var. *glabrascens* türlerinin kimyasal bileşenlerine, antimikrobiyal ve antioksidan etkilerine bakılmıştır. *T. kotschyanus* var. *eriophorus* ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus*'un ana bileşenleri geraniol (%55,0-59,1) ve geranil asetat (%27,1-28,8); *T. kotschyanus* var. *glabrascens* için ise ana bileşenler karvakrol (%57,2) ve p-simen (%11,0) olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan yağlar,

ketokonazol ve kloramfenikol antibiyotikleri ile karşılaştırıldığında orta derecede antibakteriyel etki göstermiştir. Ayrıca türlerin dikkate değer antioksidan etkileri de tespit edilmiştir (60).

Khanavi ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus*'un HD ve MD ile elde edilen uçucu yağ bileşenlerine GC ve GC-MS analizi ile bakılmıştır. Ana bileşenler karvakrol, p-simen, γ-terpinen ve l-borneol olarak belirlenmiştir. Ayrıca HD ile elde edilen karvakrol veriminde MD ile elde edilenden %20 gibi bir değerde bir fazlalık tespit edilmiştir (61).

Nickavar ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. daenensis*, *T. kotschyanus* ve *T. pubescens* türlerinin fenolik içeriği ve antioksidan kapasitesi değerlendirilmiştir. Türlerin antioksidan ve serbest radikal yakalama aktivitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir (62).

Amiri'nin yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus*, *T. eriocalyx* ve *T. daenensis* subsp. *lancifolius* türlerinin uçucu yağ bileşenleri GC ve GC-MS ile analiz edilmiştir ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır. Ana bileşen olarak timol (%16,4–42,6), karvakrol (%7,6–52,3) ve γ-terpinen (%3–11,4) tespit edilmiştir. Diğer iki türde daha fazla olmakla birlikte *T. kotschyanus*' un da antioksidan özelliğe sahip olduğu görülmüştür (63).

Ghasemi ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus*'un uçucu yağının, arı kovanlarındaki Varroa böceğini kontrol altına almak için alternatif akarisit olarak kullanım potansiyeli olduğunu göstermiştir (64).

Azar ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus* var. *pseudkotschyanus*' un yaprak, kök ve sap ekstrelerinin farklı ekstraksiyon metotlarıyla uçucu yağ bileşenleri belirlenmiştir. HD (Hidrodistilasyon), SFME (Çözücüsüz mikrodalga ekstraksiyonu), MAE (mikrodalga ekstraksiyonu), SPME (Katı faz mikro ekstraksiyon) ile elde edilen ekstreler GC ve GC/MS ile analiz edilmiştir. Bütün yöntemlerde ana bileşen karvakrol olarak tespit edilmiştir (65).

Bakhtiarian ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus* ekstresinin bir sıçanın arka ayağında oluşan ödem üzerine indometazin ile kıyas edilerek antibakteriyel etkisine bakılmıştır. Hazırlanan ekstre uygulandıktan dört saat sonra

indometazin ile anlamlı bir benzerlik göstermiştir. Metanolik ekstre doza bağlı olarak artan bir antienflamatuar etki göstermiştir (66).

Toroglu ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *T. kotschyanus* subsp. *glabrescens*' in uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerine bakmışlardır. Bunun için; *Micrococcus luteus, Bacillus cereus, Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa, Mycobacterium smegmatis, Escherichia coli, Yersinia enterocolitica, Bacillus brevis, Klebsiella oxytocica, Rhodotorula rubra, Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida albicans* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ve MİK değeri ile belirlenmiştir. Standart olarak vancomycin, erythromycin ve nystatinin kullanıldığı çalışmada *T. kotschyanus* subsp. *glabrescens*' in uçucu yağı güçlü antimikrobiyal ve antifungal aktivite göstermiştir (67).

Shafaghat ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *T. caucasicus, T. kotschyanus* ve *T. vulgaris* türlerinin yapraklarından elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşenleri ve biyolojik aktivitelerinin karşılaştırılması yapılmıştır. *T. kotschyanus* için ana bileşenler karvakrol (%24,4), β-karyofilen (%14,5), γ-terpinen (%12,4), α-fellandren (%10,8), p-simen (%9,8) ve timol (%6,8) olarak belirlenmiştir. Türlerin tamamı antioksidan ve antibakteriyel aktivite göstermiştir (68).

Azar ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus* var. *pseudkotschyanus*'un yaprak, kök saplarının GC-MS ile analizinde ana bileşen olarak timol (%31,8), karvakrol (%24,3), p-simen (%12,3) ve 1,8-sineol (%5,8) olarak belirlenmiştir (69).

3.5. *Thymus* Türleri ile Yapılan HPLC ve LC-MS/MS Çalışmaları

Taşkın ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii* türünün ekstreleri üzerinde in-vivo olarak antienflamatuvar; invitro olarak da antioksidan, antikolinesteraz, antimikrobiyal ve antiüreaz etkilerine bakılmıştır. Bitkinin metanol ekstrelerinin HPLC-DAD ve LC-MS/MS kullanılarak yapılan analizinde yüksek miktarda fenolik bileşikler tespit edilmiş; güçlü antioksidan ve antikolinesteraz etki saptanmıştır. Ayrıca *Staphylococcus aureus' a* karşı kuvvetli antibakteriyel etki yanında in-vivo olarak da antienflamatuvar etki saptanmıştır. Bitkinin metanol ekstrelerinde klorojenik asit, luteolin7-O-glukozit, 3-

O-feruloilkinik asit, kersetin-3-O-heksozit ve apigenin-7-O-glukuronid bileşikleri tespit edilmiştir(70).

Gomes ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Thymus carnosus* Boiss. türünün dekoksiyon ve hidroetanolik ekstrelerinin LC-MS analizi sonucunda ana fenolikler olarak rozmarinik asit ve salvianolik K asit belirlenirken daha düşük oranlarda luteolin, apigenin ve eriodiktiyol glikozitleri tespit edilmiştir. Oleanolik asit ve ursolik asit ise sadece hidroetanolik ekstrede tespit edilmiştir (71).

Ziani ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Thymus pallescens, Saccocalyx satureioides, Ptychotis verticillata* ve *Limoniastrum guyonianum* türlerinin sulu ekstrelerinde HPLC-DAD-ESI/MS analizi ile fenolik bileşikleri ve antibakteriyel aktiviteleri araştırılmıştır. *T. pallescens*' te rozmarinik asit ve 13 fenolik bileşik ana bileşen olarak tespit edilmiştir (72).

Jovanovic ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Thymus serpyllum* L. bitkisinden elde dilen polifenollerin ekstraksiyon işlemlerinin optimizasyonu için bazı teknikler (maserasyon, ısı ve ultrason kaynaklı ekstraksiyon) kullanılmıştır. Bu çalışmada LC/MS ve HPLC analizleri ile 9 polifenolik bileşik tespit edilmiştir. Bunlar 6,8-di-C-glukozilapigenin, klorojenik asit, 6-hidroksiluteolin 7-O-glukozit, kafeik asit, luteolin 7-O-glukuronid, apigenin glukuronid, salvianolik asit K izomeri, rozmarinik asit ve salvianolik asittir. Bu çalışma, gıda maddelerinin ve ilaçların formülasyonunda kullanılmak üzere polifenol bakımından zengin yabani kekik ekstrelerinin üretiminde ilk adım sayılır (73).

Jesionek ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Thymus vulgaris* bitkisinde ince tabaka kromatografisi (TLC) ve LC-MS/MS analizleri ile antibakteriyel bileşikler belirlenmiştir. Bu amaçla yapılan çalışmada eriodiktiyol ve 4,4′-dihidroksi-5,5′-diizopropil-2,2′-dimetil-3,6-bifenilodion olmak üzere iki adet biyoaktif bileşik tespit edilmiştir (74).

Milevskaya ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada HPLC kullanılarak *Salvia officinalis, Thymus serpyllum, Origanum vulgare* ve *Melissa officinalis* türlerindeki fenolik bileşikler belirlenmiştir. Kinik asit, 3,4-dihidroksifenillaktik asit, kafeik asit ve rozmarinik asit bütün bitkilerde tespit edilirken; 5-O-kaffeoilkinik asit, 4-O-

kaffeoilkinik asit, rutin ve 3,5-dikaffeoilkinik asit sadece *T. serpyllum*'da tespit edilmiştir (75).

Köksal ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada LC-MS/MS analizi ile *Thymus vulgaris* bitkisinden elde edilen sulu ve etanol ekstrelerde polifenolik bileşiklere ve antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Bu çalışmada kaffeik asit, ferulik asit, ellacik asit, kersetin, pirogallol, p-hidroksi benzoik asit, vanillin, p-kumarik asit, gallik asit ve askorbik asit gibi polifenolik bileşikler tespit edilmiştir (76).

Sönmezdağ ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada LC-ESI-MS/MS ve GC-MS kullanılarak *Thymus serpyllum* bitkisindeki fenolik ve uçucu yağ bileşenlerine araştırılmıştır. LC-ESI-MS/MS ile yapılan analizde 18 adet fenolik bileşik tespit edilmiştir. Gallik asit, protokateşik asit, apigenin 6,8-di-C-glukozit, kaffeik asit, klorojenik asit, naringin, ferulik asit, luteolin-O-diglukuronid, rutin, luteolin 7-O-glukuronid, rozmarinik asit-glukozit, luteolin 7-O-glukozit, apigenin O-glukuronid, metil kamferol O-rutinozit, kamferol O-glukuronid, luteolin tespit edilen fenolik bileşiklerdir. Bu bileşiklerden luteolin 7-O-glukozit, luteolin ve rozmarinik asit en yüksek miktarda bulunan fenolik bileşenler olarak tespit edilmiştir (77).

Ertas ve ark.'ın çalışmasında *Thymus nummularius* bitkisinin LC-MS/MS analizi ile metanol ekstrelerinde fenolik bileşikleri ve uçucu yağlarındaki biyolojik ve kimyasal profilleri araştırılmıştır. Yapılan çalışmada fenolik bileşikler olarak kinik asit, malik asit, tr-akonitik asit, gallik asit, klorojenik asit, protokateşik asit, tannik asit, tr-kaffeik asit, p-kumarik asit, rozmarinik asit, rutin, hesperidin, hiperozid, 4-hidroksi benzoik asit, salisilik asit, kumarin, kersetin, naringenin, luteolin, kamferol, ve apigenin tespit edilmiştir (78).

Varga ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Thymus vulgaris*, *T. serpyllum*, *T. pulegioides* ve *T. glabrescens* türlerinin hidrofilik ekstrelerinde LC-MS analizi ile fenolik bileşikleri belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada aynı türlerin uçucu yağlarının kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal aktivitesi çalışılmıştır. LC-MS analizi sonuçlarına göre türlerin tamamında kateşin, kafeik asit, klorojenik asit, epikateşin, p-kumarik asit, dihidrokersetin, ferulik asit, rutin, eriodiktiyol, rozmarinik asit, apigenin-7-glukozit, naringenin, kersetin, hesperetin, apigenin fenolik bileşikleri tespit edilmiştir (79).

Kivilompolo ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Ocimum basilicum*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Mentha spicata* ve *Thymus vulgaris* türlerinin LC analizi ile antioksidan fenolik asitleri incelenmiştir. Yapılan çalışmada *T. vulgaris* için fenolik bileşik olarak gallik asit, klorojenik asit, kafeik asit, vanilik asit, siringic asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve rozmarinik asit tespit edilmiştir (80).

Simeoni ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L. ve *Thymus vulgaris* L. türlerinde UHPLC-MS/MS analizi ile polifenolik bileşenleri araştırılmıştır. Yapılan çalışmada *T.* vulgaris L. bitkisinde fenolik bileşik olarak gallik asit, kaftarik asit, klorojenik asit, 4-OH benzoik asit, 4-OH fenilasetik asit, izokersetin, kafeik asit, vanilik asit, sirinjik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, şikorik asit, rutin, o-kumarik asit, rozmarinik asit, sinnamik asit ve kersetin tespit edilmiştir (81).

Jaouadi ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. capitatus* L. türünün UHPLC-DAD-ESI/MS analizi ile fenolik bileşiklerindeki çeşitliliği araştırılmıştır. Yapılan çalışmada üç fenolik asit (rozmarinik asit, salvianolik asit A, salvianolik asit E), üç flavanon (hesperidin, eriodiktiyol ve naringenin), iki flavon apigeninin C-glikozit isomeri, bir flavanol gallokateşin, bir flavanonol taksifolin ve bir adet de fenolik monoterpen (karvakrol) olmak üzere toplamda 11 adet fenolik bileşik tespit edilmiştir (82).

Boutaoui ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Thymus algeriensis* bitkisinin farklı ekstrelerinde HPLC-PDA analizi ile fitokimyasal bileşenlerine incelenmiştir. Bu amaçla yapılan ekstrelerden hidroalkolik ekstrede kateşin, 4-hidroksi benzoik asit, vanilik asit, epikateşin, sirinjik asit, p-kumarik asit, rutin, t-ferulik asit, naringin, 2,3-dimetoksi benzoik asit, benzoik asit, o-kumarik asit, naringenin, karvakrol; süperkritik sulu ekstrede gallik asit, kateşin, vanillik asit, epikateşin, izovanilin, p-kumarik asit, naringin, harpagozit; mikrodalga kaynaklı ekstresinde ise gallik asit, kateşin, klorojenik asit, 4-hidroksi benzoik asit, vanillik asit, epikateşin, sirinjik asit, 3-hidroksi benzoik asit, izovanillin, p-kumarik asit, rutin, sinapinik asit, t-ferulik asit, naringin, 2,3-dimetoksi benzoik asit, benzoik asit, o-kumarik asit, kersetin fenolik bileşikler olarak tespit edilmiştir (83).

3.6. Uçucu Yağlar ve Genel Özellikleri

Uçucu yağlar toplumda uçan yağ, eterik yağ, kokulu yağ, esans yağı, uçucu yağ veya ruh gibi farklı isimlerle bilinmektedir. Esas olarak terpenlerden oluşan suda çözünmeyen, fakat organik çözücülerde kolaylıkla çözünen karışımlardır. Özellikle çiçek ve meyvelerde daha fazla bulunurlar (84).

3.6.1. Uçucu yağların etkileri ve kullanım alanları

Bir çok aromatik bitki; tohum, meyve, yaprak ya da köklerinde bulunan aktif kimyasal bileşikler nedeniyle, farklı etki şekillerinden dolayı, çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Bu bitkilerin hayvan besleme bilimi açısından iştah açıcı ve sindirimi stimüle edici özellikleri yanında antiseptik etkileri de büyük önem taşımaktadır. Etken maddelerine göre etkileri değişmekle birlikte pek çok uçucu yağ; antimikrobiyal, karminatif, koloretik, sedatif, diüretik, antispazmodik etkilere sahiptir (85). Tüm uçucu yağlar IgG ve IgA üretimini artırmak suretiyle, bağışıklık sistemini kuvvetlendirmektedir (86).

Aromatik bitkilerin uçucu yağlarının antimikrobiyal etkileri çeşitli araştırmalarla ortaya konmuştur. Yüksek dozlarda uçucu yağ tüketilmesi sonucunda bağırsak enterosit hücrelerinin yapısında bulunan Na+ ve K+ iyonlarının yoğunluğu değişmektedir. Böylece adenosin trifosfataz enziminin aktivitesi engellenmekte ve bağırsaktaki besin maddelerinin taşınması işlemi zarar görmektedir (87).

3.7. Antioksidanlar

Antioksidanlar, vücudun reaktif oksijen türlerini (ROT) temizleyici antagonistleri olarak düşük miktarlarda ve oksidasyonu kolay olan maddelerdir. Materyallerin oksidasyonunu yüksek oranda geciktirerek ya da engelleyerek etkilerini gösterirler (6). Ancak vücut içerisinde meydana gelen oksidanlara ek olarak dış etkenlerle maruz kalınan oksidanların miktarının artışıyla antioksidanların koruması sınırlı kalmaktadır. Metabolizmada üretilen H_2O_2, $HO^{\cdot}$ ve $O_2^{\cdot -}$ gibi ROT'ların miktarındaki artış antioksidanlarla dengelenemediğinde denge oksidanlar tarafına kayar ve oksidatif stres gelişir (7).

Antioksidanlar üç farklı yolda etkilerini gösterirler:

1. Bir veya daha fazla protonu serbest bir radikal veya serbest bir peroksit radikali ile değiştirerek çoğalma reaksiyonunu durdurma (fenolik ajan)
2. Metalleri bağlayarak serbest radikallerin oluşumunu azaltma veya bloke etme (şelatlayıcı ajanlar)
3. Reaktif oksijen veya ROT'nin (oksijen veya ROT süpürme ajanı) konsantrasyonunu azaltma (88).

Temelde birincil ve ikincil antioksidanlar şeklinde iki ana antioksidan grubu vardır. Fenolik bileşikler ayrıca birincil antioksidanlar olarak adlandırılırken, şelatlayıcı ve oksijen/ROT giderici ajanlar ikincil antioksidanlar veya sinerjik antioksidanlar olarak adlandırılır. Etki mekanizmaları kimyasal yapılarına göre farklılık gösterir (89).

3.7.1. Birincil veya fenolik antioksidanlar

Fenolik antioksidanlar, temelde otooksidasyon sürecindeki serbest radikallerin oluşumunu önleyerek etki eder. Bunu da bir proton transfer ederek gerçekleştirir. Oksidasyon reaksiyonları, zincir reaksiyonlarını başlatabilen serbest radikalleri üretebilir. Gıdalarda, petrol ürünlerinde veya bir hücrede zincir reaksiyonları oluştuğunda, ürünlerde hasara veya hücrede ölüme neden olabilir. Antioksidanlar, serbest radikal ara maddeleri uzaklaştırmak suretiyle bu zincir reaksiyonları sonlandırmakta ve daha ileri oksidasyon reaksiyonlarını engellemektedir. Antioksidanlar, zincir reaksiyonlarını kendileri okside ederek durdurabilirler (90).

$AH + ROO\bullet \rightarrow A\bullet + ROOH$

$AH + R\bullet \rightarrow A\bullet + RH$

$AH + RO\bullet \rightarrow A\bullet + ROH$ (AH: antioksidan, A•: radikal)

Genel olarak kullanılan primer veya fenolik antioksidanlar BHT, BHA, TBHQ veya galatlar gibi sentetik antioksidanlardır. BHA ve BHT gibi yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanların olası olumsuz sağlık etkileri ile ilgili endişeler, çoğunlukla yaygın olarak tüketilen doğal kaynaklı gıdalardan elde edilen antioksidanların bulunmasına yönelik araştırmalara yönelimi artırmıştır (91). Karasal bitkiler, sağlığı teşvik eden diğer fitokimyasalların yanı sıra, en değerli doğal

antioksidan kaynaklarından birini oluşturur. Özellikle, otlar ve baharatlar, yüksek polifenol içerikleri nedeniyle güçlü antioksidan aktiviteler göstermiştir (92).

Tokoferoller, polifenoller, protein ve peptidler doğal antioksidanlardandır. Bitkisel yağlarda doğal olarak bulunan tokoferoller, doğal fenolik antioksidanlar arasındadır (93).

Sağlığa ve gıda kalitesinin korunmasına potansiyel katkılarını ortaya koyma çabası içinde, otlar ve baharatlardaki biyoaktif bileşiklere büyük önem verilmiştir. Daha önce yapılan birkaç çalışma, doğal kaynaklardan gelen polifenollerin, sentetik antioksidanların kullanımına potansiyel bir alternatif olabileceğini öne sürmüştür. Bu antioksidanlar, tüketicinin de rahatlıkla kabulünü kazandığı gibi sentetik eşdeğerleri ve bunların güvenlikleri için birçok düzenleme gerekliliklerinin de azlığı ile avantajlara sahiptir. Çeşitli botanik kaynaklardan gelen doğal antioksidanlar, tek bir türe, cinse, kökene, popülariteye, uygulamalara, biyoaktivitelere, seçilen antioksidan gruplarına, belirli fitokimyasal gruplara odaklanarak düzenli olarak incelenmiştir. Bu bağlamda, 236 cins ve yaklaşık 6900-7200 tür ile dünyadaki en büyük bitki ailelerinden biri olan Lamiaceae, ekstraktlarının yüksek radikal giderme kapasitesini (RSC) gösteren sayısız araştırmaya konu olmuştur (94,95).

3.7.2. İkincil antioksidanlar

Sinerjik antioksidanlar, düşük veya dolaylı antioksidan özelliklere sahiptir. Ancak fenolik antioksidanlarla kombinasyon halinde kullanıldığında, sağladıkları sinerjik etkiler nedeniyle fenolik bileşiklerin etkinliğini önemli ölçüde arttırma özelliğine sahiptirler. Bu sinerjik etkiler;

(1) fenolik antioksidanların yenilenmesi,

(2) antioksidan oksidasyonu sonrası peroksitlerin dekompozisyonunun önlenmesi,

(3) oksidasyon reaksiyonlarında iz metal katalizörünün inaktivasyonu ve

(4) oksidasyon reaksiyonlarının ortadan kaldırılması veya azaltılmasıdır (89).

Sinerjik antioksidanlar, şelatlayıcı ve oksijen giderici ajanlar olarak iki ana gruba ayrılabilir.

Şelatlayıcı ajanlar, kimyasal yapılarındaki eşleşmemiş elektronlarla metal iyonları ile stabil kompleksler oluşturarak oksidasyon reaksiyonlarının katalizörü olan metali etkisiz hale getirir. Demir iyonları ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow \cdot OH + OH^- + Fe^{3+}$) gibi geçiş metalleri tarafından katalize edilen Fenton reaksiyonu, ·OH radikallerinin üretilmesine neden olan ünlü bir kimyasal reaksiyondur. Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA), polifosfatlar, tartarik ve sitrik asit en yaygın şelatlama ajanlarıdır. Protein hidrolizi ile açığa çıkan peptitler de şelatlama özelliği gösterir. Metal iyonlarını şelatlamak için en reaktif amino asit, imidazol içeren histidindir (89).

Oksijen giderimi reaksiyon mekanizması, ortamda bulunan serbest oksijen molekülleri ile reaksiyona girerek onları oksidasyon reaksiyonları için kullanılamaz hale getirmektir. Bu antioksidanlar, $HO^{\cdot}$, $O_2^{\cdot -}$, H_20_2 ve singlet oksijeni ($^1 0_2$) gibi ROT'ları ortadan kaldırabilir (89).

Oksijen veya ROT gidericileri içerisinde askorbik ve izoaskorbik asit, sülfitler ile fruktanlar, rafinoz ailesi oligosakaritleri, arabinoksilatlar, p-glukanlar gibi sindirilmeyen karbonhidratlar, protein ve glutatyon gibi peptidlerin yanı sıra süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GP) gibi vücut enzimleri de bulunmaktadır (89).

3.7.3. Antioksidan aktivite tayin metodları

3.7.3.1. Antioksidan içerik tayini

Antioksidan içeriğin belirlenmesi için, Diode-Array-Detektörü (DAD), Kütle Spektroskopisi (MS) veya floresan detektörü ile birleştirilmiş HPLC gibi kromatografik yöntemler kullanılabileceği gibi daha az spesifik kolorimetrik yöntemler de kullanılabilir (96).

Total polifenol içeriği: Folin-Ciocalteu reaktifiyle kolorimetrik spektrofotometre yöntemiyle belirlenebilir. Bu reaktif fosfomolibdik / fosfotungstik asit kompleksleri içerir. Ana dezavantajlardan biri, reaktifin fenolikler dışındaki diğer bileşikler tarafından azaltılabilmesi nedeniyle total polifenol içerik yönteminin spesifik olmamasıdır (97).

Total antosiyanin içeriği: Genellikle pH diferansiyel yöntemle bulunur. Antosiyanin pigmentleri, farklı absorbans spektrumları ile pH'da oluşturulan bir değişiklik ile geri

dönüşümlü yapısal değişimlere uğrar. Siyanidin-3-glukozit standart olarak kullanılır ve sonuçlar genellikle numunenin veya ekstrenin kütlesinin gramı başına siyanidin-3-glukozit kütlesi (C_3G) olarak ifade edilir. Toplam antosiyanin miktarının doğru ve hızlı ölçümlerini sağlar (98).

Askorbik asit içeriği: Askorbik asit içeriği titrasyon, spektrofotometri, kromatografi veya voltametri gibi çeşitli yöntemlerle belirlenebilir. Sonuçlar genellikle mg askorbik asit / 100 g taze ağırlık olarak ifade edilir (99).

3.7.3.2. Radikal uzaklaştırma deneyleri

Fenolik antioksidanların (ArOH) radikalleri temizlediği mekanizmayı açıklamak için genel olarak üç yol tartışılır:

1. H-atom transferi (HAT)

   $ArOH + R\cdot \rightarrow ArO\cdot + RH$

2. Kademeli olarak elektrontransfer-proton transferi (ET-PT)

   $ArOH + R\cdot \rightarrow ArOH^{\cdot +} + R^{-} \rightarrow ArO\cdot + RH$

3. Sıralı proton kaybı elektron transferi (SPLET)

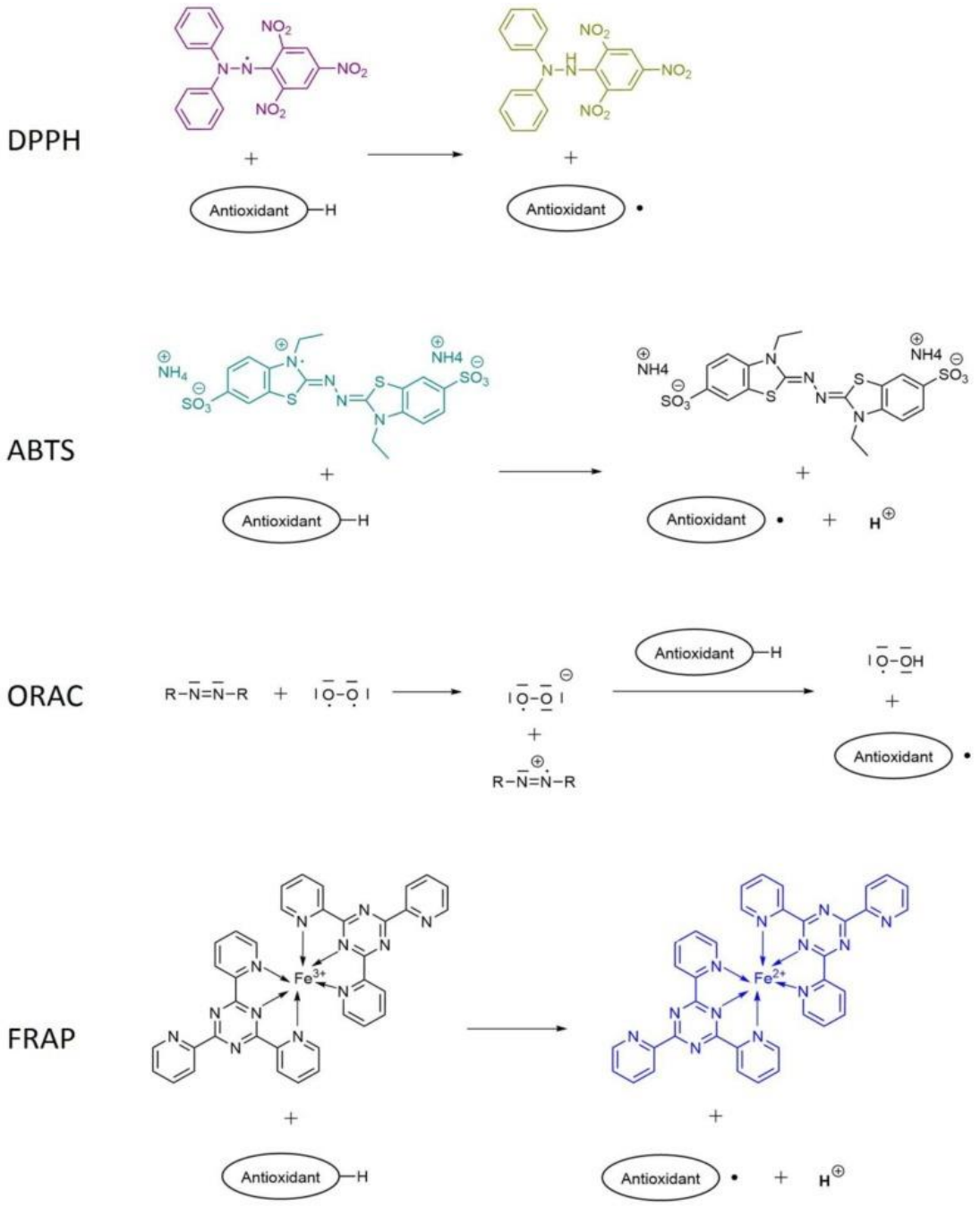
   $ArOH \rightarrow ArO^{-\cdot}$

   $ArO^{-} + R\cdot \rightarrow R^{-} + ArO\cdot$

   $R^{-} + H^{+} \rightarrow RH$

İlk yol (HAT), bir O-H bağının homolitik ayrışmasıyla ilgilidir. Yük ayrımı içermediğinden, kutupsal olmayan çözücülerde baskın mekanizma olduğu kabul edilmiştir. 2. (ET-PT) ve 3. (SPLET) yollar ise polar çözücüler için tercih edilmelidir (100).

Şekil 3'te en çok kullanılan radikal uzaklaştırıcı deneylerde yer alan kimyasal reaksiyonlar şematize halde gösterilmiştir.



Şekil 3. En çok kullanılan radikal uzaklaştırıcı deneylerde yer alan kimyasal reaksiyonlar

3.8.Alzheimer Hastalığı ile İlgili Genel Bilgiler

Günümüzde, yaşam standartlarının iyileşmesi ve yaşam süresinin uzamasıyla beraber dünyanın yaşlı nüfusu da artmaktadır. İleri yaş demans hastalığı olan Alzheimer hastalığının görülme sıklığı da artan yaşam süresiyle birlikte artış göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Alzheimer hastalığını (AH), diğer

demanslar da dahil olmak üzere, 2016 yılında iskemik kalp hastalığı, felç, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve alt solunum yolu enfeksiyonlarından sonra dünya çapında beşinci ölüm nedeni (yaklaşık 2 milyon ölüm) olarak tanımlamıştır (101). 2016 yılında yayınlanan Dünya Alzheimer Raporu'nda şu anda demansla yaşayan yaklaşık 47 milyon kişi sayısının 2050 yılında 131 milyon olacağını bildirilmiştir (World Alzheimer Report 2016). AH, Kuzey Amerika ve Avrupa'daki demans vakalarının yaklaşık % 60-80'ini oluşturur ve dünya çapında demansa bağlı ölümlerin en büyük nedenidir (102).

AH, etkilenen bireyin normal günlük yaşam aktivitelerini aşamalı olarak engelleyen çeşitli bilişsel bozuklukların görüldüğü nöropatolojik bir durumdur (103). AH'de klinik belirtilerin başlıcaları günlük yaşantıyı etkileyen bellek kaybı ve yapılan işlerde zorluk yaşama, konuşmada güçlük, yargılamada azalma ile birlikte problem çözme ve plan yapmada azalma şeklindedir (104).

AH patolojisinde amiloid plaklar ve nörofibril yumakların (NFY) yanında asetilkolin (ACh) ve hiperfosforile tau proteini gibi diğer faktörler de AH'nin başlaması ve ilerlemesinde ilişkili olduğu düşünülmektedir. AH patogenezinde amiloid hipotezi, amiloid prekürsör proteinin (APP), β ve γ-sekretaz enzimleriyle proteolitik bölünmesi ile oluşan amiloid beta proteininin (Aβ) patolojik formlarının temizlenmesindeki dengesizlik sonucu beyinde birikimini önerir. NFY'lerin oluşumu ve ardından nöronal disfonksiyon ve nörodejenerasyonla ile sürecin ilerlediği düşünülmektedir (105,106).

Yoğun plaklardaki fibriler amiloidin AH'nin gelişiminde kritik olduğu düşünülse de, son yıllarda yapılan çalışmalar ışığında çözünür Aβ oligomerlerinin en patolojik formları olabileceği düşünülmektedir (107).

3.8.1. Kolinesteraz inhibitörlerinin Alzheimer hastalığındaki mekanizması

Genel olarak AH'nin mevcut klinik tedavisi esas olarak kolinerjik hipoteze dayanmaktadır. Bu hipotez, beyindeki ACh seviyelerinin azalmasının, AH hastalarında hafıza ve bilişsel bozukluklara yol açtığını ve ACh metabolizmasının inhibe edilmesinin, ACh seviyesini artırabileceğini, böylece semptomların hafiflediğini önerir (108). Bu görüşe dayanarak, Amerikan Gıda ve İlaç Cemiyeti

(FDA) 1993 yılından itibaren takrin, donepezil, rivastigmin ve galantamin olmak üzere dört tane kolinesteraz inhibitörünün Alzheimer hastalarında kullanılmasını onaylamıştır. Ancak bu ilaçların hastalık üzerinde etkilerinin az ve geçici olduğu ifade edildiğinden kolinerjik sistemin yanı sıra hastalıkta gözlenen diğer patolojik değişimlere de etki edebilecek multimodal ilaçların geliştirilmesine yönelik araştırmalar halen devam etmektedir (12).

Asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE), merkezi sinir sisteminde ACh'yi parçalayabilen iki kolinesteraz türüdür. AChE'nin aksine, AH'deki BChE'nin patolojik mekanizması henüz tam olarak tanımlanmamıştır. Her ne kadar birkaç çalışma BChE'nin AH tedavisinde faydalı olabileceğini gösterse de, BChE temel olarak periferik dokularda dağılabilir, dolayısıyla BChE'nin inhibisyonu periferik sistemde ters etkilere neden olabilir. Şöyle ki, hem AChE hem de BChE inhibe edici aktiviteleri ile AH tedavisi için onaylanan ilk ilaçlardan biri olan takrin, periferik sistemdeki ciddi hepatotoksisite ve diğer yan etkileri nedeniyle geri çekilmiştir (108).

AH'nin semptomatik tedavisinde, klinisyenler tarafından en çok tercih edilen asetilkolinesteraz inhibitörleridir (AChEI). Asetilkolinesterazın sinapstaki yıkımını engelleyerek etkisini gösteren AChEI'ler, bu sayede asetilkolinin kullanılabilirliğini arttırır. Her ne kadar periferik kolinerjik yan etkileri olsa da, düşük dozlu kullanımında genellikle iyi tolere edilir (101). Ayrıca, düşük afiniteli bir N-metil-D-aspartat reseptör antagonisti olan memantin orta ve şiddetli AH'de kullanılır. Fizyolojik etkilerine müdahale etmeden L-glutamat uyarıcı nörotoksisitesiyi azaltmayı amaçlar (109).

3.9. LC-MS/MS

LC/MS sistemleri, geleneksel olarak analiz edilmesi zor olan numunelerin analizini kolaylaştırır. GC/MS'in gücüne ve kullanışlılığına rağmen birçok bileşiğin GC / MS ile analiz edilmesi imkansızdır. LC / MS, kütle spektrometrisinin etkili analitik kullanımından dolayı çok daha fazla sayıda organik bileşiğe genişletir. Analit moleküllerine çok az ısı verirler veya hiç ısı vermezler, çoğu organik bileşiğe LC ve LC / MS bazlı yöntemler uygulanabilir. Örnek tipleri küçük farmasötik bileşiklerden büyük proteinlere kadar çeşitlilik gösterir. LC / MS 'in GC / MS'den çok daha yaygın

bir yöntem olması büyük, polar, iyonik, termal olarak dengesiz bileşiklerin analizi için uygundur. Bu bileşiklerin bazıları, GC / MS'ye uygun hale getirilebilir. Ancak LC / MS türevlendirme ile zaman alan kimyasal modifikasyon ihtiyacını ortadan kaldırır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer

Bu yüksek lisans tez çalışması Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Araştırma Laboratuvarı 1'de gerçekleştirilmiştir.

4.2. Bitkisel Materyaller

Thymus fallax ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkileri 9 Haziran 2014 tarihinde İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilimdalı Dr. Öğretim Üyesi Yeter YEŞİL tarafından Tunceli'de toplandı ve teşhis edildi. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi herbaryumunda kayıt altına alındı (Sırasıyla ISTE No: 104463 ve 104402).

4.3. Ekstrelerin Hazırlanışı

Thymus fallax ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin kök ve toprak üstü kısımları gölgede kurutulup toz edildikten sonra tabloda belirtilen miktarlardaki bitki etanol ile oda sıcaklığında arada çalkalanarak masere edildi (24 saat x 3). Rotary evaporatörde çözücüsü buharlaştırıldıktan sonra ekstre elde edildi.

Tablo 1. Bitkilerin Kök ve Toprak üstü Kısımlarının Toplam Miktarları, Elde Edilen Ekstre Miktarı ve Verimi

Bitki	Bitki Miktarı	Ekstre Miktarı	Verim (%)
Thymus fallax Toprak üstü	35,2302 g	0,18219g	0,51741
Thymus fallax Kök	71,6627 g	0,71638g	0,99965
Thymus kotschyanus var. *kotschyanus Toprak üstü*	48,0713 g	1,02446g	2,13112
Thymus kotschyanus var. *kotschyanus Kök*	56,0475 g	0,78728g	1,40466

4.4. Uçucu Yağ Eldesi

Bitkilerden 100'er gram alınarak 1 litrelik balona kondu ve 500 ml su ilave edildi. 3 saat kaynadıktan sonra Clevenger apareyi ile uçucu yağı elde edildi. GC-MS analizleri yapılana kadar Na_2SO_4 ile kurutularak +4 °C'de bekletildi.

4.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları İstanbul Üniversitesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

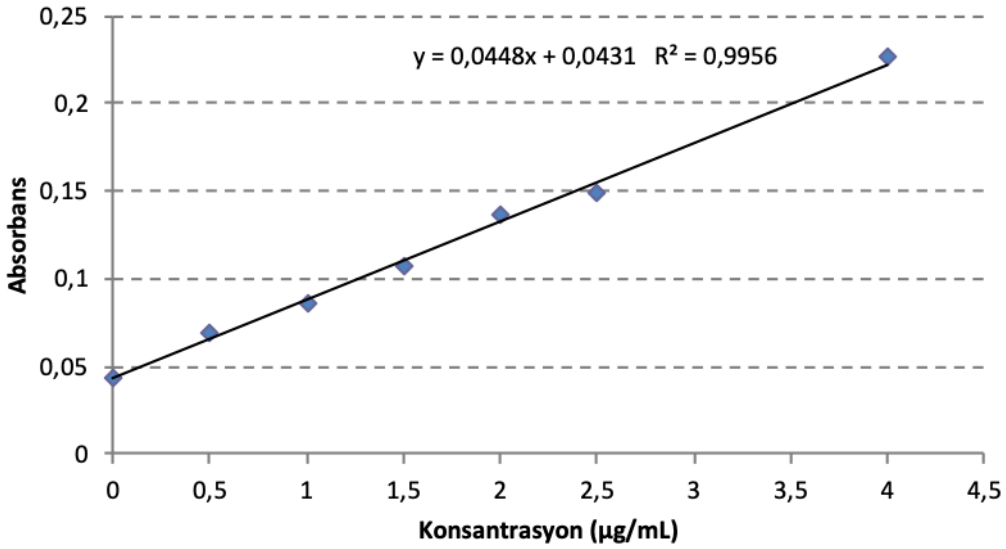
Ekstrelerin antimikrobiyal aktiviteleri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Proteus mirabilis* ATCC 14153, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Candida albicans* ATCC 10231'e karşı Minumum Inhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterleri doğrultusunda microdilüsyon yöntemiyle saptanmıştır (110,111). Çalışmada kullanılan bakterilerin inokulumu Mueller-Hinton buyyon (Difco, Detroid, USA) besiyerindeki 4-6 saatlik kültürlerinden $5x10^5$ kob/ml (koloni oluşturan birim); *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Candida albicans* ATCC 10231 için ise RPMI-1640 (Sigma) besiyerindeki 24 saatlik kültüründen $0.5\text{-}2.5x10^3$ kob/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Ekim yapılmış mikroplaklar bakteriler için 35 ºC'de18-24 saat, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Candida albicans* ATCC 10231 için ise 35 ºC'de 48 saat inkübe edilmiştir. Sefuroksim, sefuroksim-Na, seftazidim, amikasin ve flukonazol deney boyunca kontrol amacıyla referans antibiyotik olarak bakteri ve mantarlar için ayrı çalışılmış ve bunlara ait değerler CLSI'ın kabul aralığında bulunmuştur (112). Gözle görünür üremenin olmadığı en düşük madde konsantrasyonu MİK değeri olarak değerlendirilmiştir.

4.6. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoit İçeriklerinin Belirlenmesi

4.6.1. Toplam fenolik içeriklerinin belirlenmesi

Thymus fallax ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin toplam fenolik içerikleri, Slinkard ve Singleton'ın metodu esasına dayanılarak pirokatekole eşdeğer olarak belirlendi (113). 100 ppm konsantrasyonda pirokatekol çözeltisi ile 1000 ppm konsantrasyonlarda *Thymus fallax* ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstrelerinin hazırlanmasının ardından, bu stok çözeltilerden belirli oranlarda hazırlanan örneklere, üçer paralel çalışma yapılmak

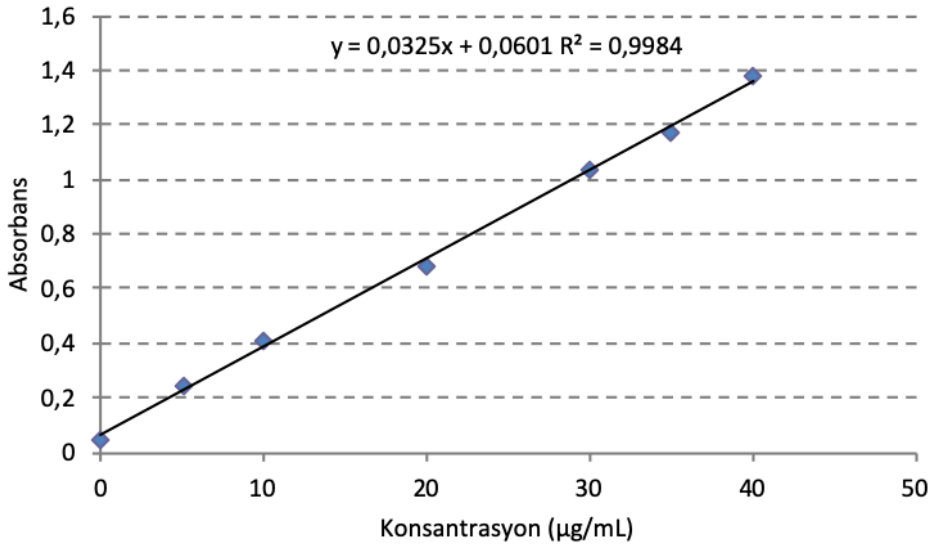
suretiyle, FCR ve %2'lik Na_2CO_3 çözeltisi ilavesi ve 2 saatlik bekleme süreci ardından 760 nm'de absorbansları okundu. Toplam fenolik içerikler, Şekil 4'te de gösterilen standart pirokatekol grafiğinden saptanan Absorbans = 0,0448x + 0,0431 R^2 = 0,9956 eşitliğine dayalı belirlendi.



Şekil 4. Pirokatekolün ölçü grafiği

4.6.2. Toplam flavonoit içeriklerinin belirlenmesi

Thymus fallax ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin toplam flavonoit içerikleri, Moreno ve ark.nın kullandığı metot esasına dayanılarak kersetine eşdeğer olarak belirlendi (114). 1000 ppm konsantrasyonda kesretin çözeltisi ile 1000 ppm konsantrasyonlarda *Thymus fallax* ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstrelerinin hazırlanmasının ardından, bu stok çözeltilerden belirli oranlarında hazırlanan örneklere, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle, potasyum asetat ve alüminyum nitrat çözeltisi ilavesi ve 40 dakika bekleme süreci ardından 415 nm'de mikroplaka okuyucu kullanılarak absorbansları okundu. Toplam flavonoit içerikler, Şekil 4.2'de de gösterilen standart kersetin grafiğinden saptanan Absorbans A= 0,0325x + 0,0601 (R^2: 0,9984) eşitliğine dayalı belirlendi.



Şekil 5. Kersetinin ölçü grafiği

4.7. Antioksidan Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivite tayini için *Thymus fallax ve T. kotschyanus var. kotschyanus* bitkilerinin etanol ekstrelerinin DPPH serbest radikal giderim, ABTS katyon radikal giderim aktivitesi ve CUPRAC yöntemleri ile aktiviteleri tayin edildi. Bütün yöntemlerin grafiklerindeki konsantrasyonlar reaksiyon karışımındaki son konsantrasyonlardır.

4.7.1. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) serbest radikal giderim yöntemi

Thymus fallax ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin serbest radikal giderme aktiviteleri, Blois'in metodu esasına dayanılarak 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali ile belirlendi (115). *Thymus fallax ve T. kotschyanus var. kotschyanus* bitkilerinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstrelerinden alınan 10 mg ile hazırlanan stok çözeltilerden belirli miktar oranlarında hazırlanan örneklere, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle, DPPH ilavesi ardından 30 dakika bekleme sürecinden sonra 517 nm'de absorbansları okundu ve BHA, BHT ve α-Toc standartları baz alınarak değerlendirildi. Ayrıca ekstrelerde saptanan absorbanslardan % İnhibisyon değeri ($A_{kontrol} - A_{örnek}$) / $A_{kontrol}$ x 100 eşitliğine dayalı belirlendi.

4.7.2. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi

Thymus fallax ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin katyon radikali giderme aktiviteleri, Re ve ark.nın metodu esasına dayanılarak 2,2'-azino-bis(3etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) ile belirlendi (116). *Thymus fallax ve T. kotschyanus var. kotschyanus* bitkilerinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstrelerinden alınan 10 mg ile hazırlanan stok çözeltilerden belirli miktar oranlarında hazırlanan örneklere, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle, ABTS çözeltisi ilavesi ve 6 dakika bekleme süreci ardından 734 nm'de absorbansları okundu ve BHA, BHT ve α-Toc standartları baz alınarak değerlendirildi. Ayrıca ekstrelerde saptanan absorbanslardan % İnhibisyon değeri $(A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}$ x 100 eşitliğine dayalı belirlendi.

4.7.3. CUPRAC yöntemi

Thymus fallax ve T. kotschyanus var. kotschyanus bitkilerinin antioksidan aktivitesi CUPRAC yöntemi için, Apak ve ark.nın da metot esası olan, antioksidanlarla renkli Cu(I)-Nc kelata dönüşen Cu(II)Neokuproin (Nc) kompleksinin kullanımına dayanılarak belirlendi (117). *Thymus fallax ve T. kotschyanus var. kotschyanus* bitkilerinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstrelerinin stok çözeltilerinin hazırlanmasının ardından, bu stok çözeltilerden belirli miktar oranlarında hazırlanan örneklere, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle Cu (II), neokuproin ve NH_4OAc tamponu ilavesi ve 1 saat bekleme süreci ardından 450 nm'de absorbansları okundu ve BHA, BHT ve α-Toc standartları baz alınarak değerlendirildi.

4.7.4. β-Karoten renk giderim yöntemi

Ekstrelerin 1000 ppm`lik çözeltileri hazırlanarak stok çözeltilerden 2, 5, 10 ve 20 µL alınarak distile su ile hacimleri 40 µL`ye tamamlanarak ve üzerlerine β-karoten-linoleik asit çözeltisinden her bir örneğe 160 µL ilave edilir edilmez mikroplaka reader ile başlangıç absorbansları 490 nm`de ölçüldü. Hazırlanan çözeltiler $50^{O}C$`de 120 dakika bekletildi (109). Bu süre sonunda absorbanslar tekrar ölçüldü. β-Karotenin renk giderim oranı aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$R = \ln (a/b)/t$

In: Doğal logaritma, a: Başlangıç absorbansı, b: 2 saat inkübasyondan sonraki absorbans, t: Zaman (dakika)

Toplam antioksidan aktivite, kontrole göre % inhibisyon olarak aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

Toplam Antioksidan Aktivite (%İnhibisyon) = $[(R_{kontrol} - R_{örnek}) / R_{kontrol}] \times 100$

$R_{kontrol}$: Kontrolün renk giderim oranı, $R_{örnek}$: Örneğin renk giderim oranı

4.8. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi

Ellman ve ark. tarafından 1961 yılında hızlı kolorimetrik belirleme yöntemi olarak uygulanan metod, AChE ile yıkılan asetilkolinden açığa çıkan tiyokolinin 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile reaksiyonu sonucu oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunun mikroplaka reader ile ölçümüne dayanır ve çalışmamızda Ellman metodu kullanılarak aktivite tayini gerçekleştirildi (118).

4.8.1. AChE aktivite testi

Thymus fallax ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin AChE aktivitesi için belirtildiği üzere Ellman metodu kullanıldı (118). 4000 ppm konsantrasyonlarda *Thymus fallax ve T. kotschyanus var. kotschyanus* bitkilerinin toprak üstü ve köklerinin etanol ekstrelerinin hazırlanmasının ardından, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle, yöntemde kullanılan mikroplakalara fosfat tamponu, stok çözeltiden belirli miktar ve asetilkolinesteraz enzimi ilavesi ve 10 dakika bekleme süreci ardından DTNB reaktifi ve asetiltiyokolin iyodür eklenip ELISA okuyucu kullanılarak 412 nm'de absorbansları okundu ve galantamin standardı baz alınarak değerlendirildi. Ayrıca ekstrelerde saptanan absorbanslardan % İnhibisyon değeri $(A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol} \times 100$ eşitliğine dayalı belirlendi.

4.8.2. BChE aktivite testi

Thymus fallax ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin BChE aktivitesi için belirtildiği üzere Ellman metodu kullanıldı (118). 4000 ppm konsantrasyonlarda *Thymus fallax* ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin toprak üstü ve

köklerinin etanol ekstrelerinin hazırlanmasının ardından, üçer paralel çalışma yapılmak suretiyle, yöntemde kullanılan mikroplakalara fosfat tamponu, stok çözeltiden belirli miktar ve butirilkolinesteraz enzimi ilavesi ve 10 dakika bekleme süreci ardından DTNB reaktifi ve butiriltiyokolin iyodür eklenip ELISA okuyucu kullanılarak 412 nm'de absorbansları okundu ve galantamin standardı baz alınarak değerlendirildi. Ayrıca ekstrelerde saptanan absorbanslardan % İnhibisyon değeri $(A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}$ x 100 eşitliğine dayalı belirlendi.

4.9. İstatistik Hesaplamalar

Antioksidan ve antikolinesteraz aktivite deneyleriyle saptanan veriler üç paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak uygulandı. Sonuçlar Student's t-testine göre %95 güven sınırları içinde bulundu. Anlamlılık sınırı için $p<0,05$ kabul edildi. En küçük kareler yönteminin kullanıldığı doğrusal regresyon analizi eğim, intersept ve korelasyon katsayılarının değerlendirilmesiyle yapıldı.

4.10. Kromatografik Yöntemler

4.10.1. Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) şartları

Thymus fallax ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin Clevenger apareyi kullanılarak hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağların bileşenleri Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesinde GC-FID ve GC/MS teknikleri ile analiz edildi.

GC-MS analizi, Agilent 7890A GC'ye (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA) bağlı Agilent 5975 GC-MSD ile yapıldı. 60 m x 0.25 mm, 0.25 µm film kalınlığı standartlarına sahip HP-Innowax FSC kolonundan 1,2 mL/dk hızla taşıyıcı gaz olarak %99,99 saflıktaki helyum geçirildi. GC'deki fırın sıcaklığı ilk olarak 10 dk boyunca 60°C ayarlandı, 10 dk sonra dakikada 4°C'lik artış ile 220°C'ye getirildi ve yine 10 dk boyunca 220°C ayarlandı. Ardından dakikada 1°C'lik artış ile 240°C'ye programlandı. Split oranı da 40:1 şeklinde sisteme kaydedildi. Enjektör sıcaklığı da 250°C olarak programlandı. Kütle ağırlığı 35-450 m/z olarak ayarlandı ve kütle spektrumları 70 eV'da alındı. GC-FID analizi, Agilent 7693A serisi otomatik numune cihazı kullanılarak otomatik enjeksiyonla gerçekleştirildi; N-heksan (%10, h/h) ile seyreltilmiş 1µL uçucu yağ GC-MS sistemine enjekte edildi.

GC analizi, Agilent 7890A GC sistemi ile gerçekleştirildi. GC-MS ile aynı elüsyon sırasını saptayabilmek adına, aynı operasyonel koşullar kullanılarak eş zamanlı üçlü enjeksiyonlar yapıldı. FID sıcaklığı 300 °C idi. Bileşenlerin tanımlanması, aynı deneysel koşullar altında, n-alkanlar (C_8-C_{30}) serilerine göre birlikte enjeksiyonla belirlenen tutunma indeksi temelinde gerçekleştirildi. Kütle spektrumlarının; NIST 05 ve Wiley 8. Versiyon ve bilinen uçucu yağ bileşenlerinden oluşturulan home-made MS kütüphanesi ile karşılaştırılmasının yanı sıra, tutunma indekslerinin literatür değerleri ile karşılaştırılmasıyla daha ileri bir tanımlama yapıldı (119).

4.10.2.Sıvı kromatografisi-sıralı kütle spektroskopisi (LC-MS/MS) şartları

Thymus fallax ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin LC-MS-MS analizleri, Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarlarında hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi.

5. BULGULAR

Tez çalışmasında, çalışılan *T. fallax* ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* türlerinin LC-MS/MS cihazı ile toprak altı ve toprak üstü kısımlarının etanol ekstrelerinin sekonder metabolit profilleri çıkarıldı.

T. fallax ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin toprak üstü ve kök kısımlarından hazırlanan etanol ekstrelerinin β-karoten renk giderim metodu, DPPH serbest radikali giderimi, ABTS katyon radikali giderimi aktivitesi ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak antioksidan aktivite tayinleri yapıldı. Tüm ekstrelerin toplam fenolik miktarları pirokatekole eşdeğer, toplam flavonoit miktarları da kersetine eşdeğer olarak belirlendi ve dört ekstrenin antikolinesteraz aktivite tayini asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimlerinin kullanıldığı Ellman yöntemi ile yapıldı.

Thymus fallax ve Thymus kotschyanus var. kotschyanus bitkilerinin GC-MS ile uçucu yağlarının içerikleri, antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri incelendi ve LC-MS/MS ile fenolik bileşik içerikleri çalışıldı.

5.1. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Miktarları

Tüm ekstrelerin toplam fenolik miktarları pirokatekole eşdeğer, toplam flavonoit miktarları da kersetine eşdeğer olarak belirlendi. Tablo 2'de de görüleceği üzere; dört ekstre için toplam fenolik miktarının toplam flavonoit miktarından daha yüksek olduğu; en yüksek toplam flavonoit miktarlarının *T. kotschyanus var. kotschyanus* (TKETÜ) ekstresinde olduğu; *T. fallax* kök ekstresinin toplam fenolik miktarının, *T. fallax* toprak üstü (TFTÜ) ve *T. kotschyanus var. kotschyanus* toprak üstü (TKETÜ) ekstrelerinin fenolik miktarlarından daha yüksek olduğu tespit edildi.

Tablo 2. Ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoit miktarları

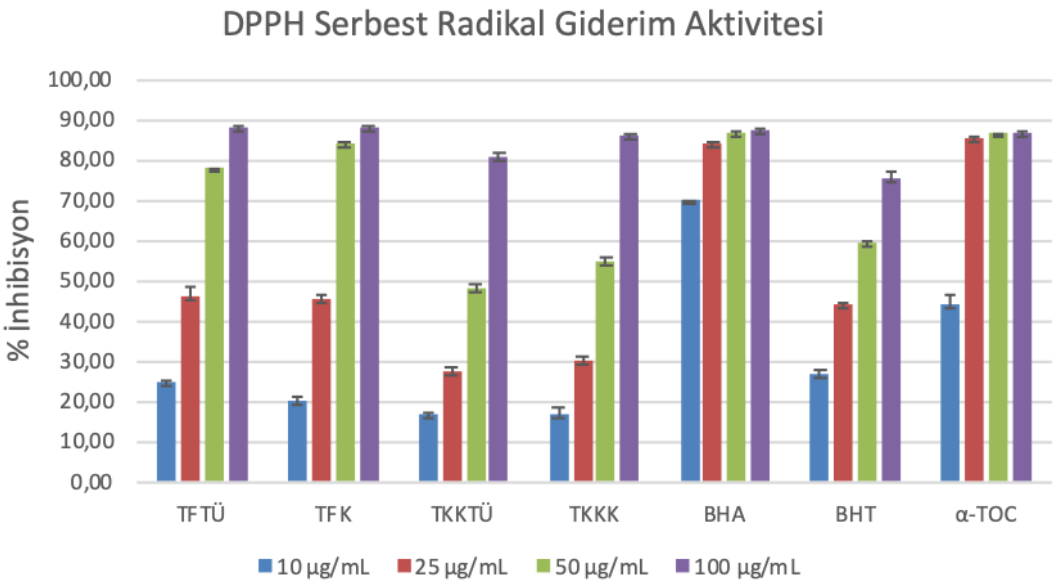
Ekstreler	Toplam Fenolik Miktarı (µg pirokatekole eşdeğer)/mg Ekstre[a]	Toplam Flavonoit Miktarı (µg kersetine eşdeğer)/mg Ekstre[b]
TFTÜ	64,59±0,71	31,87±1,12
TFK	69,89±1,87	2,33±0,08
TKETÜ	45,06±1,17	35,51±0,42
TKEK	40,56±0,10	5,66±0,22

a: Pirokatekole eşdeğer fenolik içerik. ($y=0,0448x + 0,0431$ $R^2=0,9956$)
b: Kersetine eşdeğer flavonoit içerik. ($y=0,0325x + 0,0601$ $R^2=0,9984$)

5.2. *Thymus fallax ve Thymus kotschyanus var. kotschyanus* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antioksidan Aktivite Sonuçları

5.2.1. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi sonuçları

Thymus fallax ve Thymus kotschyanus var. kotschyanus bitkilerinden hazırlanan 10, 25, 50, 100 µg/mL konsantrasyonlardaki ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayin edilirken standart olarak BHA, BHT, ve α-TOC kullanıldı. Şekil 6'da görüleceği üzere; tüm ekstrelerde konsantrasyonun artmasıyla aktivitenin arttığı ve *T. fallax* toprak üstü ekstresinin en yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* toprak üstü ekstresinin düşük aktivite gösterdiği belirlendi. Tüm ekstrelerin standart olarak kullanılan BHT' den daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi.



Şekil 6.*Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri

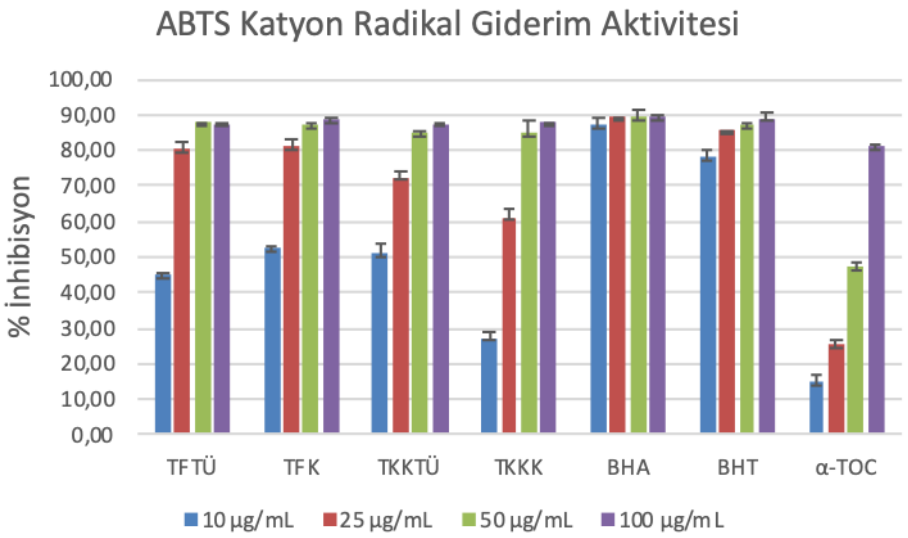
Tablo 3. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri*

	10 µg/mL	**25 µg/mL**	**50 µg/mL**	**100 µg/mL**
TFTÜ	24,51±0,37	46,36±2,11	77,99±0,09	88,29±0,08
TFK	19,96±1,10	45,41±0,79	84,35±0,09	87,92±0,18
TKKTÜ	16,76±0,11	27,72±0,92	48,02±0,92	80,73±0,92
TKKK	17,08±1,59	30,16±1,14	55,01±0,54	86,03±0,19
BHA	69,87±0,10	84,01±0,64	86,86±0,29	87,31±0,24
BHT	26,51±1,08	44,17±0,20	59,42±0,10	75,19±1,59
α-TOC	44,39±1,85	85,31±0,62	86,46±0,26	87,00±0,23

*Sonuçlar üç paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

5.2.2. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi sonuçları

Thymus fallax ve Thymus kotschyanus var. kotschyanus bitkilerinden hazırlanan 10, 25, 50, 100 µg/mL konsantrasyonlardaki ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktiviteleri tayin edilirken standart olarak BHA, BHT, ve α-TOC kullanıldı.. Şekil 7'de görüleceği üzere; tüm ekstrelerde konsantrasyonun artmasıyla aktivitenin arttığı ve *T. fallax* kök ekstresinin tüm konsantrasyonlarda en yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. En düşük aktiviteyi *T. Thymus kotschyanus var. kotschyanus* kök ekstresinin gösterdiği belirlendi. *T. fallax* kök ekstresinin standart olarak kullanılan BHT'ye yakın aktivite gösterdiği ve tüm ekstrelerin standart olarak kullanılan α-TOC' den daha iyi aktivite gösterdiği tespit edildi.



Şekil 7. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktiviteleri

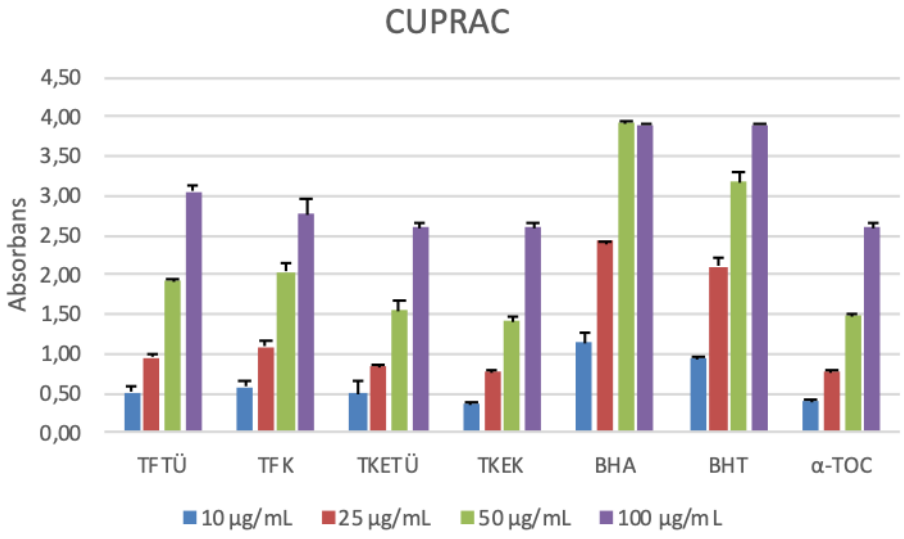
Tablo 4. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktiviteleri*

	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
TFTÜ	45,15±0,36	80,69±1,61	87,81±0,15	87,64±0,01
TFK	52,62±0,46	81,46±1,82	87,38±0,26	88,41±0,52
TKKTÜ	51,07±2,55	72,57±1,27	85,15±0,54	87,64±0,26
TKKK	27,30±1,81	61,24±2,00	85,06±3,13	87,81±0,15
BHA	87,36±2,09	89,29±0,15	89,47±1,74	89,55±0,15
BHT	78,22±1,55	85,45±0,16	87,37±0,27	89,11±1,35
α-TOC	15,08±1,61	25,53±0,96	47,19±1,38	80,96±0,71

*Sonuçlar üç paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

5.2.3. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite sonuçları

Thymus fallax ve Thymus kotschyanus var. kotschyanus bitkilerinden hazırlanan 10, 25, 50, 100 µg/mL konsantrasyonlardaki ekstrelerin CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktiviteleri tayin edilirken standart olarak BHA, BHT, ve α-TOC kullanıldı. Şekil 8'de görüleceği üzere; tüm ekstrelerde konsantrasyonun artmasıyla aktivitenin arttığı ve *T. fallax* toprak üstü ekstresinin en yüksek, *Thymus kotschyanus var. kotschyanus* kök ekstresinin de en düşük aktiviteyi gösterdiği belirlendi. Ancak tüm ekstrelerin BHA ve BHT standartlarından daha düşük aktivite gösterdiği tespit edildi.



Şekil 8. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktiviteleri

Tablo 5. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin CUPRAC aktiviteleri*

	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
TFTÜ	0,510±0,065	0,950±0,050	1,930±0,020	3,050±0,080
TFK	0,580±0,070	1,090±0,080	2,040±0,110	2,770±0,180
TKETÜ	0,490±0,170	0,840±0,030	1,550±0,120	2,600±0,040
TKEK	0,380±0,020	0,780±0,030	1,410±0,060	2,600±0,070
BHA	1,140±0,136	2,420±0,006	3,913±0,023	3,900±0,000
BHT	0,944±0,035	2,108±0,094	3,169±0,119	3,900±0,000
α-TOC	0,388±0,041	0,770±0,009	1,478±0,028	2,601±0,070

*Sonuçlar üç paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

5.2.4. β-Karoten renk giderim yöntemi ile antioksidan aktivite sonuçları

Hazırlanan tüm ekstrelerin antioksidan aktiviteleri belirlendi. Tüm antioksidan etki yöntemlerinde standart olarak α-Toc, BHAve BHT kullanıldı. T. fallax ve T. Kotschyanus var. kotschyanus türlerinin kök ve toprak üstü ekstreleri bu yöntemle aktif olarak belirlenemedi.

5.3. *Thymus fallax ve Thymus kotschyanus var. kotschyanus* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları

AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyonuna dayanarak *Thymus fallax ve Thymus kotschyanus var. kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin antikolinesteraz aktiviteleri tayin edildi. Tablo 6'da görüleceği üzere, dört ekstrenin de AChE enzim inhibisyonu aktivitesinin olmadığı, sadece *T. fallax* kök ve toprak üstü ekstrelerinin BChE enzimini orta seviyede inhibe ettiği tespit edildi.

Tablo 6. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin antikolinesteraz aktivite sonuçları[a]

Samples	AChE (Inhibition %)*	BChE (Inhibition %)
TKEK	AD	AD
TKETÜ	AD	24,49±0,77
TFK	AD	30,80±1,00
TFTÜ	AD	34,48±0,60
Galanthamine[b]	78,92±1,04	78,22±0,58

*Sonuçlar üç paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

a: 200µg/mL b: Standart madde AD: Aktif değil

5.4. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Thymus kotschyanus var. *kotschyanus* toprak üstü ve kök kısımlarının antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre *Candida tropikalis*' karşı iyi aktivite gösterdiği belirlendi. *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* kök kısmı sadece *Staphylococcus epidermidis* ve *C. tropikalis*' e karşı aktivite göstermiştir. Bitkinin toprak üstü kısmı ise *Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, S. aureus, S. epidermidis, Enterococcus faecalis, C. parapsilosis* ve *C. tropicalis*'e karşı aktiflik göstermiştir.

Tablo 7. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları[a]

	***Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* Toprak üstü**	***Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* Kök**
***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**	625	-
***Escherichia coli* ATCC 25922**	-	-
***Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352**	625	-
***Proteus mirabilis* ATCC 14153**	-	-
***Staphylococcus aureus* ATCC 29213**	625	-
***Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228**	625	312.5
***Enterococcus faecalis* ATCC 29212**	1250	-
***Candida albicans* ATCC 10231**	-	-
***Candida parapsilosis* ATCC 22019**	312.5	-
***Candida tropicalis* ATCC 750**	78.12	78.12

-: Aktif Değil

Standartlar; *S. aureus* ATCC 29213 için sefuroksim-Na: 1.2 µg/mL, *S. epidermidis* ATCC 12228 için sefuroksim 9.8 µg/mL, *E. faecalis* ATCC 29212 için amikasin 128 µg/mL, *P. aeruginosa* ATCC 27853 için seftazidim 2.4 µg/mL, *E. coli* ATCC 25922 ve *K. pneumoniae* 4352 için sefuroksim-Na: 4.9 µg/mL, *P. mirabilis* ATCC 14153 için sefuroksim-Na 2.4 µg/mL, *C. albicans* ATCC 10231 için

flukonazol 1 µg/mL, *C. parapsilosis* ATCC 22019 için flukonazol 2 µg/ml for, *C. tropicalis* ATCC 750 için flukonazol 4 µg/mL

5.5. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* Bitkilerinden Hazırlanan Ekstrelerin Kimyasal İçerikleri

5.5.1. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitki türlerinin GC/MS ile analizi

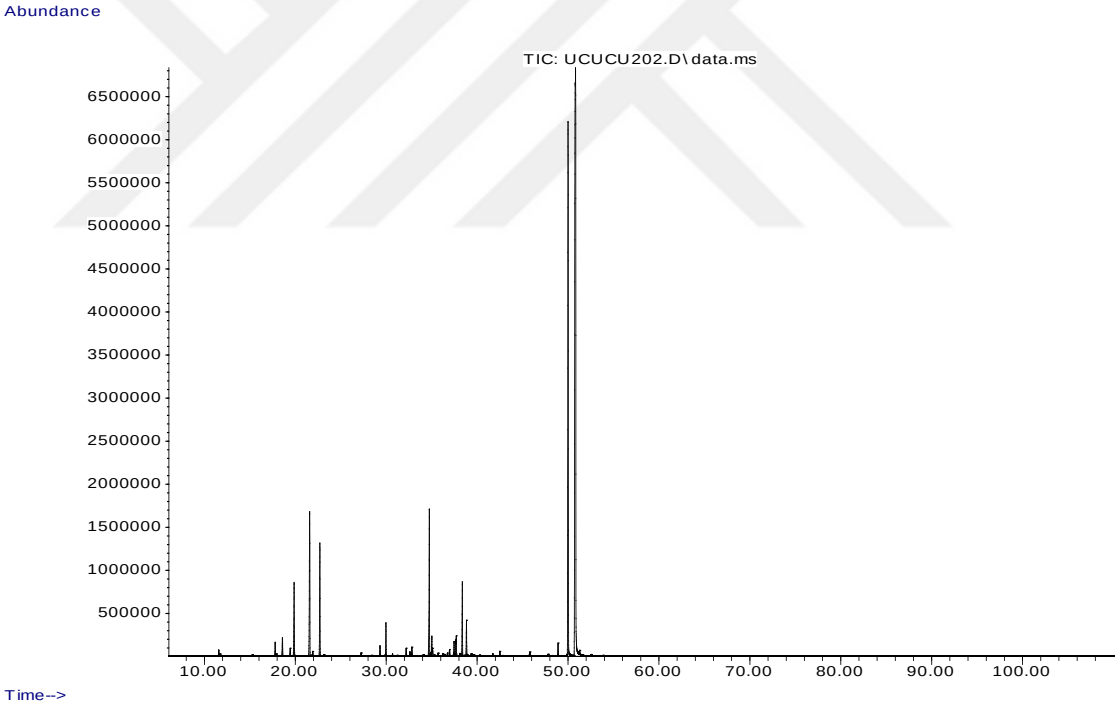
Thymus fallax ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin clavenger aparatı ile hazırlanan uçucu yağları GC/MS analizi ile içerikleri (Tablo 8, Şekil 9 ve Şekil 10) tespit edildi.

Tablo 8.*Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin GC/MS analiz sonucu

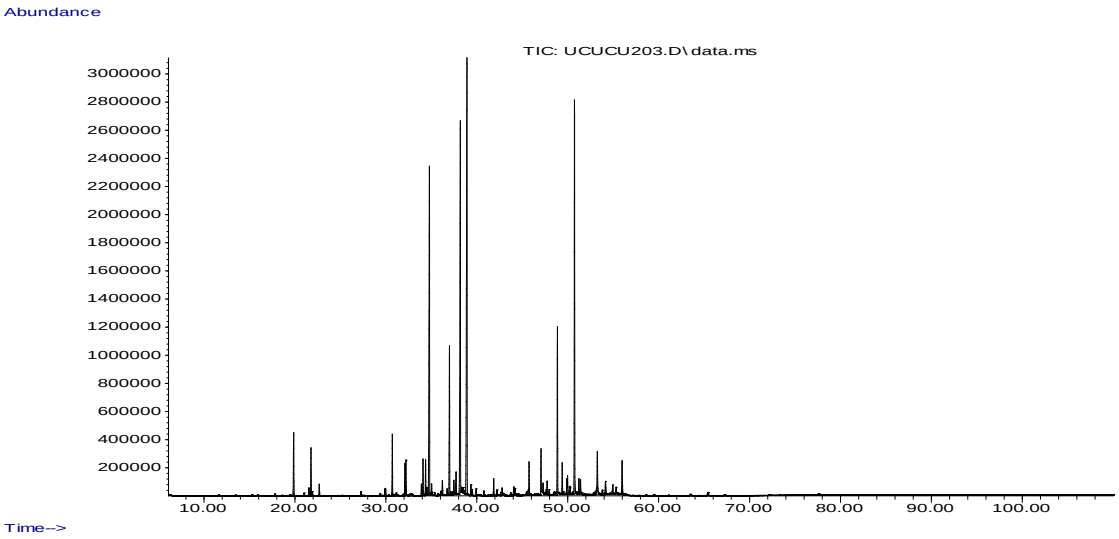
No	Bileşikler	RRI[a]	TKE (%)	TF(%)
1	α-Pinen	1023	0.2	-
2	β-Pinen	1111	0.1	-
3	Mirsen	1165	0.5	-
4	α-Fellandren	1168	0.1	-
5	Limonen	1201	0.3	-
6	1,8-Sineol	1211	3.0	2.3
7	*(Z)*-β-Osimen	1237	-	0.1
8	γ-Terpinen	1249	5.8	0.2
9	*(E)*-β-Osimen	1255	-	1.5
10	*p*-Simene	1276	4.0	0.4
11	3-Oktanol	1391	0.1	0.1
12	1-Okten-3-ol	1450	0.4	-
13	α-Kopaen	1501	-	0.1
14	β-Burbonen	1531	-	1.0
15	Kamfor	1535	0.3	1.2
16	Linalol	1548	0.1	-
17	β-Kubeben	1549	-	0.1
18	1-Non-3-ol	1550	tr	-
19	Bornil asetat	1593	-	1.2
20	β-Elemen	1601	-	1.1
21	β-Karyofillen	1614	5.2	**14.5**
22	Aromadendren	1624	0.5	0.3
23	*trans*-dihidrokarvon	1626	0.1	-
24	Alloaromodendren	1664	-	0.6
25	α-Humulen	1689	0.2	5.1
26	α-Terpineol	1706	0.5	0.6
27	Leden	1713	0.6	-
28	Borneol	1715	0.7	1.1
29	Germakren D	1729	0.1	**16.5**

30	β-Bisabolon	1738	2.4	0.1
31	Bisiklogermakren	1754	1.3	**21.5**
32	δ-Kadinen	1773	0.1	0.4
33	γ-Kadinen	1779	tr	0.2
34	β-Seskifellandren	1783	tr	-
35	*p*-Simen-8-ol	1861	0.1	-
36	Karyofilen oksit	2017	0.2	1.2
37	Globulol	2099	-	0.5
38	Spatulenol	2147	0.5	5.3
39	Timol	2196	**22.5**	0.6
40	T-Murolol	2208	-	0.1
41	Karvakrol	2227	**48.5**	**13.4**
42	α-Kadinol	2254	-	0.6
			98.4	**91.9**

[a] n-alkenlere karşı hesplanan bağıl alıkonma değerleri.
[b] Eser miktar (<0.1%).



Şekil 9. ***T. kotschyanus*** **var.** ***kotschyanus*** **bitkisinden hazırlanan ekstrenin GC/MS spektrumu**



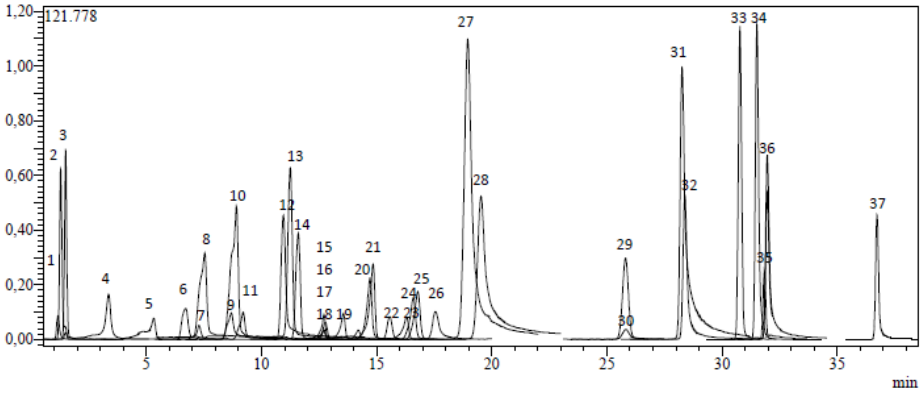
Şekil 10. *T. fallax* bitkisinden hazırlanan ekstrenin GC/MS spektrumu

Yüzde bileşenleri açısından bileşik sınıfları Tablo 8'de verilmiştir. Her iki bitki için toplamda 42 adet doğal bileşik tespit edildi. *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* ve *Thymus fallax* bitkilerinin uçucu yağ bileşimleri sırasıyla %98,4 ve %91,4 oranında aydınlatıldı. *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkisinin major bileşenleri karvakrol (%48,5) ve timol (%22,5) iken *T. fallax* bitkisinin major bileşenleri bisiklogermakren (%21,5), germakren D (%16,5), β-karyofilen (%14,5) ve karvakrol (%13,4) olduğu tespit edildi.

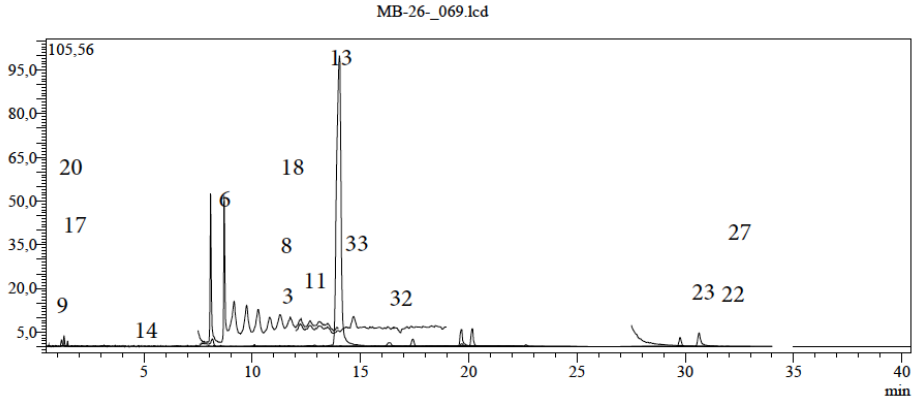
5.5.2. *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitki türlerinin LC-MS/MS ile analizi

Thymus fallax ve *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin fenolik bileşen içerikleri LC-MS/MS ile tespit edilerek Tablo 9' da listelenmiştir.

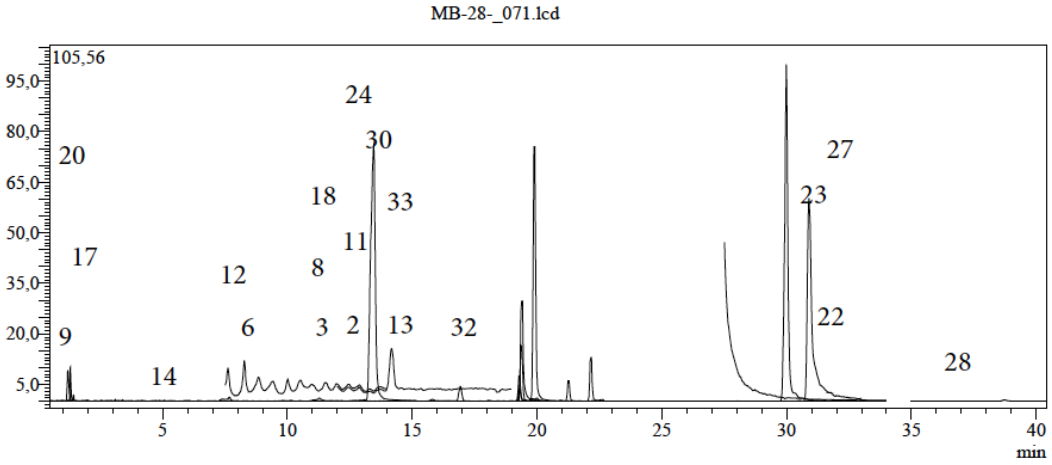
T. fallax ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin LC-MS/MS analiz sonucu incelendiğinde; *T. fallax* toprak üstü ve kök ekstrelerinde, *T. kotschyanus var. kotschyanus* toprak üstü ekstresinde kinik asit, rozmarinik asit ve nikotiflorin, major bileşenler olarak tespit edilirken *T. kotschyanus var. kotschyanus* kök ekstresindeki major bileşenler de fumarik asit, kinik asit ve kaffeik asit olarak tespit edildi. Kinik asidin tüm ekstrelerde major bileşenler içinde yer aldığı tespit edildi (Tablo 9, Şekil 12-15).



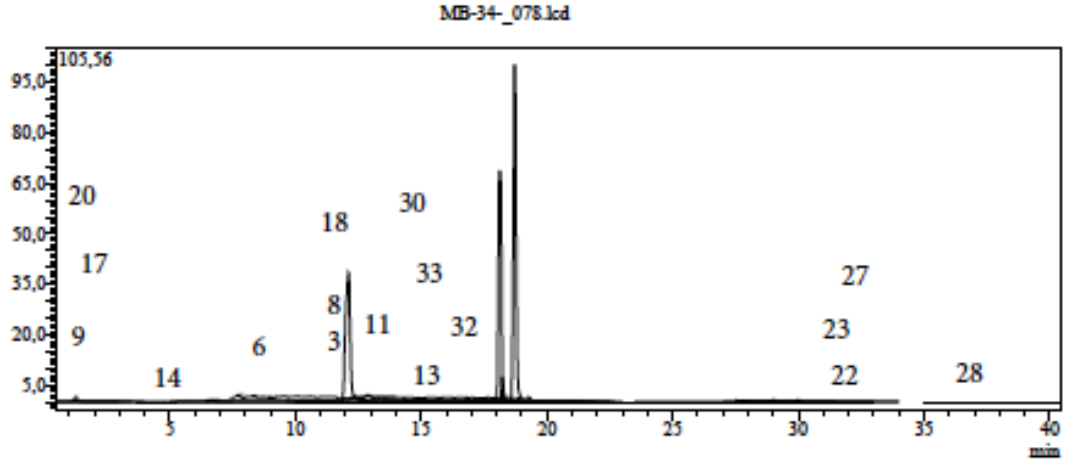
Şekil 11. LC-MS/MS analizinde kullanılan standartların kromatogramı



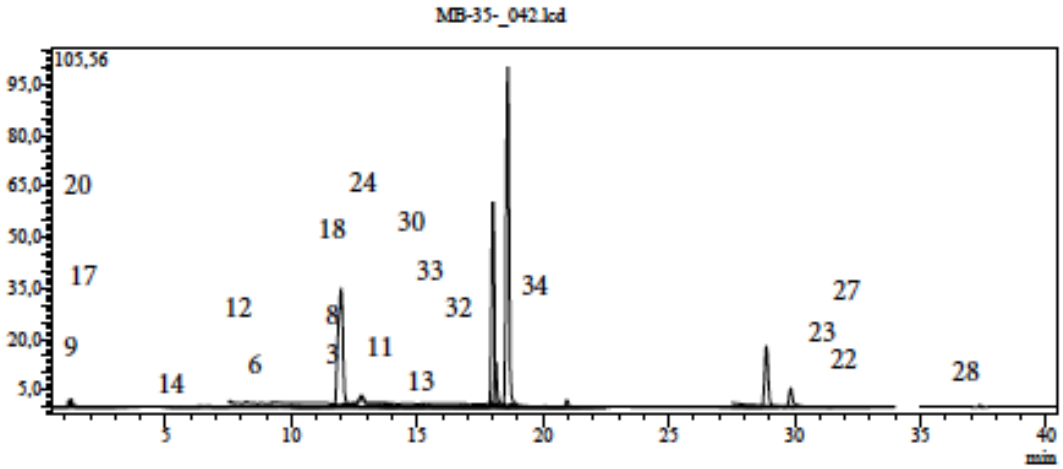
Şekil 12. *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* kök ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



Şekil 13. *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* torak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



Şekil 14. *T. fallax* kök ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı



Şekil 15. *T. fallax* toprak üstü ekstresinin LC-MS/MS kromatogramı

Tablo 9. *T. fallax* ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin LC-MS/MS analiz sonuçları (µg/g ekstre)

		TKKK	TKKTÜ	TFK	TFTÜ
1	**Kumarin**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2	**Hesperidin**	N.D.	478,23±12,53	N.D.	N.D.
3	**p-Kumarik asit**	26,55±1,37	79,98±4,13	35,15±1,81	55,16±2,85
4	**o-Kumarik asit**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
5	**Gallik asit**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
6	**Kafeik Asit**	**332,69±11,78**	443,03±15,68	631,83±22,37	718,08±25,42
7	**Vanillik asit**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
8	**Salisilik asit**	19,98±0,66	141±4,64	19,26±0,63	72,03±2,37
9	**Kinik asit**	**344,37±2,82**	**3983,00±32,66**	**842,40±6,91**	**3046,44±24,98**
10	**4-OH-Benzoik**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

	asit				
11	**tr-Ferulik asit**	143,61±7,09	61,83±3,05	269,82±13,33	131,35±6,49
12	**Klorojenik asit**	N.D.	27,5±0,19	N.D.	64,74±0,45
13	**Rozmarinik asit**	93,94±6,70	**1800,18±128,35**	**7430,91±529,82**	**9631,71±686,74**
14	**Protokateşik asit**	255,12±10,49	199,24±8,19	327,36±13,45	241,07±9,91
15	**Sinnamik asit**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
16	**Sinapinik asit**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
17	**Fumarik asit**	**395,52±4,90**	578,75±7,18	444,99±5,52	682,10±8,46
18	**Vanillin**	76,68±2,15	45,31±1,27	154,54±4,33	91,02±2,55
19	**Pirokateşol**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
20	**Malik asit**	196,12±2,22	458,88±5,19	248,31±2,81	396,59±4,48
21	**Sirinjik asit**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
22	**Hesperetin**	2,78±0,16	10,51±0,59	8,6±0,48	25,11±1,41
23	**Naringenin**	12,04±0,63	791,21±41,22	17,98±0,94	537,41±28,00
24	**Rutin**	N.D.	202,97±3,23	N.D.	138,25±2,20
25	**Kersetin**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
26	**Kersitrin**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
27	**Apigenin**	13,82±0,90	428,59±27,86	10,06±0,65	94,06±6,11
28	**Krisin**	N.D.	9,71±0,20	3,43±0,07	24,2±0,49
29	**Likiritigenin**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
30	**Izokersetin**	N.D.	17,08±0,23	3,44±0,05	42,55±0,57
31	**Kozmosin**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
32	**Roifolin**	13,03±1,23	650,24±61,19	13,7±1,29	149,05±14,03
33	**Nikotiflorin**	293,28±8,09	**2191,25±60,48**	**1164,75±32,15**	**3216,15±88,77**
34	**Fisetin**	N.D.	N.D.	N.D.	14,75±0,22
35	**Luteolin**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
36	**Mirsetin**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
37	**Kamferol**	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

6. TARTIŞMA

Ülkemizin Tunceli ilinde yetişen *T. fallax ve T. kotschyanus var. kotschyanus* bitkileri kurutulup toz haline getirildikten sonra, bitkilerin toprak üstü ve kök kısımlarından hazırlanan etanol ekstrelerin minimal inhibisyon konsantrasyon yöntemiyle antimikrobiyal aktivitesi, toplam fenolik ve flavonoit içerik miktarları, β-karoten renk giderimı, DPPH serbest radikal giderimi, ABTS katyon radikali giderimi ve CUPRAC yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri ve asetil- ve bütiril-kolineteraz inhibisyon yöntemleri ile antikolinesteraz aktiviteleri belirlendi. Clavenger aparatı ile elde edilen uçucu yağların içeriği GC-MS ile çalışıldı. Bitkilerin etanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile fenolik bileşik içerikleri ve miktarları belirlendi.

T. fallax ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* toprak üstü ve kök kısımlarından hazırlanan etanol ekstrelerin toplam fenolik miktarlarının pirokatekole eşdeğer, toplam flavonoit miktarlarının da kersetine eşdeğer olarak belirlendiği çalışmada; *T. fallax* bitkisinin köklerinin etanol ekstresi toplam fenolik bakımından en yüksek değerde (69,89±1,87 µg pirokatekole eşdeğer/mg ekstre) iken yine *T. fallax* bitkisinin toplam toprak üstü fenolik miktarı da bu değere yakın bir değer olarak (64,59±0,71 µg pirokatekole eşdeğer/mg ekstre) tespit edildi. *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkisinin toprak üstü kısımları toplam flavonoit içerik bakımından en yüksek değere (35,51±0,42 µg kersetine eşdeğer/mg ekstre) sahip olduğu bulundu.

Özgen ve ark. tarafından *T. fallax* bitkisinin DPPH serbest radikali temizleme etkisi araştırlmış olup bizim sonuçlarımızla paralel olarak tespit edilmiştir (40). Hamelian ve ark. tarafından *T. kotschyanus* bitkisinin DPPH serbest radikali temizleme antioksidan aktivitesine çalışılmış ve sonuçlar bizim bitkimizle paralel olarak antioksidan aktivite göstermiştir (46). Malekitabar ve ark. tarafından DPPH serbest radikali ve ABTS katyon radikali temizleme aktivitesine çalışılmış ve yine bu iki yöntemde de antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (56). Baharfar ve ark. tarafından *T. kotschyanus* bitkisinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi çalışılmış ve sonuçlar bizim çalışmamızla paralel olarak antioksidan aktivite gösterdiği tespit edildi (57).

Ekstrelerden hiçbiri β-karoten renk giderimı aktivitesi ve asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi göstermedi. *T. fallax'* un kök ve toprak üstü ekstrelerinin aktiviteleri tüm yöntemlerde *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* ekstresinden daha iyi antioksidan potansiyelinin olduğu belirlendi. *T. fallax* toprak üstü ekstresinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesinde standart olarak kullanılan BHT' den ve kök ekstresi ABTS katyon radikal giderim aktivitesinde standart olarak kullanılan BHT ve α-TOC bileşiklerinden daha iyi aktivite gösterdiği belirlendi.

Bitkilerdeki fenolik bileşikler önemli ölçüde serbest radikal temizleme aktivite özelliğine sahip olduğundan, bu onları antioksidan aktivite açısından değerli kılmaktadır. *T. fallax* bitkisinin kök ve toprak üstü kısımlarının *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkisine kıyasla daha yüksek miktarlarda toplam fenolik içeriğe sahip olduğundan antioksidan aktivite yöntemlerinde daha aktif sonuçlar elde edildi. Aynı şekilde *T. fallax* kök ekstresinin toplam fenolik içeriği *T. fallax* toprak üstü kısmının ekstresinden fazla olması da kök ekstresinin antioksidan aktivite yöntemlerinde daha aktif sonuçlar vermesiyle ilgili olabilir.

AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyonu ile *Thymus fallax ve Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin antikolinesteraz aktiviteleri tayin edildi. Sadece *T. fallax* kök ve toprak üstü ekstrelerinin BChE enzimini orta seviyede inhibe ettiği tespit edildi.

Minumum Inhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterleri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemiyle saptanmıştır. *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* toprak üstü ve kök kısımlarının antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre *Candida tropikalis*' karşı iyi aktivite gösterdiği belirlendi. *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* kök kısmı sadece *Staphylococcus epidermidis* ve *C. tropikalis*' e karşı aktivite göstermiştir. Bitkinin toprak üstü kısmı ise *Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, S. aureus, S. epidermidis, Enterococcus faecalis, C. parapsilosis* ve *C. tropicalis*'e karşı aktiflik gösterdiği belirlendi.

GC/MS analizi sonucunda *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* ve *Thymus fallax* bitkilerinin uçucu yağ bileşimleri sırasıyla %98,4 ve %91,4 oranında aydınlatıldı. *T. fallax* için GC-MS analizi sonucunda major bileşenlerin

bisiklogermakren (%21,5), germakren D (%16,5), β-karyofilen (%14,5) ve karvakrol (%13,4) olduğu tespit edildi. Yılar ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *T. fallax*, uçucu yağın ana bileşenleri timol (%41,48), o-simen (%26,75), ζ-terpinen (%15,84), terpinolin (%2,11) olarak tespit edilmişitir (33). Onaran ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *T. fallax* uçucu yağındaki majör bileşenler timol (%41,48), o-simen (%26,75), ζ-terpinen (%15,84), 2-isoproil-1-metoksi-4-metilbenzen (%5,10), terpineolen (%2,11) ve karvakrol (%1,28) ana bileşenler olarak belirlenmiştir (31). Küçükbay ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, *T. fallax* uçucu yağ ana bileşenleri cis-karveol (%29,6) ve α-terpineol (%10,8) olarak belirlenmiştir (32). Tezimizde çalışılan *T. fallax* uçucu yağ sonuçları literatür sonuçlarıyla karşılaştırıldığında çok farklı olduğu görülmektedir. Bu farklılıklar bitkinin değişik lokalitelerden toplanması, farklı zamanlarda toplanması, toprak ve iklim özelliklerinden kaynaklanıyor olabilir.

T. kotschyanus var. *kotschyanus* bitkisinin GC-MS analizi sonucunda major bileşenleri karvakrol (%48,5), timol (%22,5) olarak belirlendi. Kiliç ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* ve *T. kotschyanus* var. *glabrescens* türlerinde uçucu yağ analizi yapılmış olup. *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* için timol (%31,2), karvakrol (%19,5), p-simen (%11,2) ve γ-terpinen (%8,4); *T. kotschyanus* var. *glabrescens* için ise timol (%2,3), karvakrol (%24,3) ve p-simen (%17,6) ana bileşenler olarak tespit edilmiştir (50). Azar ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *T. kotschyanus* var. *pseudkotschyanus*'un yaprak, kök saplarının GC-MS ile analizinde ana bileşen olarak timol (%31,8), karvakrol (%24,3), p-simen (%12,3) ve 1,8-sineol (%5,8) olarak belirlenmiştir (69). Sonuçlarımız literatür verileriyle parallelik göstermiştir.

LC-MS/MS analizi sonucunda da; *T. fallax* toprak üstü ve kök ekstrelerinde, *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* toprak üstü ekstresinde kinik asit, rozmarinik asit ve nikotiflorin major bileşenler olarak tespit edilirken; *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* kök ekstresindeki major bileşenler de fumarik asit, kinik asit ve kafeik asit olarak tespit edildi. Ziani ve ark. tarafından yapılan çalışmada *T. pallescens* bitkisinin sulu ekstresi ile yapılan çalışmada rozmarinik asit (72); Jovanovic ve ark. tarafından *T. serpyllum* bitkisi ile yapılan çalışmada 6,8-di-C-glukozilapigenin, klorojenik asit, 6-hidroksiluteolin 7-O-glukozit, kafeik asit, luteolin 7-O-glukuronid, apigenin

glukuronid, salvianolik asit K izomeri, rozmarinik asit ve salvianolik asit (73); Milevskaya ve ark. tarafından *T. serpyllum* bitkisi ile yapılan çalışmada kinik asit, 3,4-dihidroksifenillaktik asit, kafeik asit ve rozmarinik asit (75); Köksal ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Thymus vulgaris* bitkisinin LC-MS/MS analizi sonucu kaffeik asit, ferulik asit, ellajik asit, kersetin, pirogallol, p-hidroksi benzoik asit, vanillin, p-kumarik asit, gallik asit ve askorbik asit gibi polifenolik bileşikler tespit edilmiştir (76). Sönmezdağ ve ark. tarafından *T. serpyllum* bitkisi ile yapılan çalışmada 7-O-glukozit, luteolin ve rosmarinik asit (77); Ertas ve ark. tarafından *T. nummularius* bitkisinin metanol ekstresi ile yapılan çalışmada kuinik asit, malik asit, tr-akonitik asit, gallik asit, klorojenik asit, protokateşik asit, tannik asit, tr-kaffeik asit, p-kumaric asit, rosmarinik asit, rutin, hesperidin, hiperozid, 4-OH benzoik asit, salisilik asit, kumarin, kersetin, naringenin, luteolin, kaempferol, ve apigenin tespit edilmiş olup, majör bileşenler kinik asit ve rozmarinik asit olarak belirlenmiştir (78); Varga ve ark. tarafından *T. vulgaris, T. serpyllum, T. pulegioides* ve *T. glabrecens* bitkilerinin hidrofilik ekstreleri ile yapılan çalışmada kateşin, kaffeik asit, klorojenik asit, epikateşin, p-kumarik asit, dihidrokersetin, ferulik asit, rutin, eriodiktiyol, rozmarinik asit, apigenin-7-glukozit, naringenin, kersetin, hesperetin, apigenin fenolik bileşikleri tespit edilmiştir (79); Kivilompolo ve ark. tarafından *T. vulgaris* bitkisi ile yapılan çalışmada gallik asit, klorojenik asit, kafeik asit, vanilik asit, sirinjik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve rozmarinik asit tespit edilmiştir (80). Literatür sonuçlarıyla karşılaştırıldığında tezimizde çalışılan *T. fallax* ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinin toprak üstü ve kök ekstrelerinin içeri paralellik göstermiş olup literatürle uyumludur.

7. SONUÇ

Bu tez çalışmamızda, *Thymus fallax* ve *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkileri kurutulup toz haline getirildikten sonra, kök ve toprak üstü kısımları etanol ile ekstre edildi ve bu ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoit miktarları belirlendi. Daha sonra DPPH serbest radikal giderimi, ABTS katyon radikali giderimi ve CUPRAC yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri ve asetil- ve bütiril-kolinesteraz inhibisyon yöntemleri ile antikolinesteraz aktiviteleri belirlendi. Antimikrobiyal aktiviteleri ise minumum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterleri doğrultusunda microdilüsyon yöntemiyle belirlendi. Clavenger aparatı ile elde edilen uçucu yağların GC-MS ile analizi yapıldı. Ayrıca bitkilerin etanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile fenolik bileşik içerikleri belirlendi.

T. fallax köklerinin etanol ekstresinin toplam fenolik bakımından, *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* toprak üstü kısımları toplam flavonoit içerik bakımından en yüksek değere sahip olduğu bulundu. Ekstrelerden hiçbiri β-karoten renk giderimi ve asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi göstermedi. *T. fallax'* un kök ve toprak üstü ekstrelerinin aktiviteleri tüm yöntemlerde *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* ekstresinden daha iyi antioksidan potansiyelinin olduğu belirlendi. *T. fallax* toprak üstü ekstresinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesinde standart olarak kullanılan BHT' den ve kök ekstresi ABTS katyon radikal giderim aktivitesinde standart olarak kullanılan BHT ve α-TOC bileşiklerinden daha iyi aktivite gösterdiği belirlendi. AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyonu ile *Thymus fallax ve Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin antikolinesteraz aktiviteleri tayin edildi. Sadece *T. fallax* kök ve toprak üstü ekstrelerinin BChE enzimini orta seviyede inhibe ettiği tespit edildi. *Thymus kotschyanus* var. *kotschyanus* toprak üstü ve kök kısımlarının antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre *Candida tropikalis*' karşı iyi aktivite gösterdiği belirlendi. GC/MS analizi sonucunda *Thymus kotschyanus var. kotschyanus* ve *Thymus fallax* bitkilerinin uçucu yağ bileşimleri sırasıyla %98,4 ve %91,4 oranında aydınlatıldı. *T. kotschyanus var. kotschyanus* bitkisinin major bileşenleri karvakrol (%48,5), timol (%22,5) iken *T. fallax* bitkisinin major bileşenleri bisiklogermakren (%21,5),

germakren D (%16,5), β-karyofilen (%14,5) ve karvakrol (%13,4) olduğu tespit edildi. LC-MS/MS sonucunda da *T. fallax* ve *T. kotschyanus var. kotschyanus* bitkilerinin LC-MS/MS analiz sonucu incelendiğinde; *T. fallax* toprak üstü ve kök ekstrelerinde, *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* toprak üstü ekstresinde kinik asit, rozmarinik asit ve nikotiflorin major bileşenler olarak tespit edilirken; *T. kotschyanus* var. *kotschyanus* kök ekstresindeki major bileşenler de fumarik asit, kinik asit ve kafeik asit olarak tespit edildi. Bu tez çalışmasında, Lamiaceae familyasının üyesi olan bu bitkilerin kimyasal içeriği ve biyolojik aktiviteleri ilk kez belirlendi. Sonuç olarak yapılan bu tez çalışmasının, yaygın olarak kullanılan *Thymus* türlerinin kimyasal içeriğinin ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesinin doğal aktif maddelerin bulunması açısından bilimsel anlamda önem kazanmaktadır.

8. KAYNAKLAR

1. Winston JC. Health-promoting properties of common herbs. Am. J. Clin. Nutr. 1999;70(l): 491-499.
2. Amaral S, Mira L, Nogueıra JM, Da Silva AP, Helena Florêncio M. Plant extracts with anti-inflammatory properties-a new approach for characterization of their bioactive compounds and establishment of structure-antioxidant activity relationships. Bioorgan Med Chem. 2009;17:1876-1883.
3. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem. 1995;41:1819-1828.
4. Halliwell B. Free Radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? Lancet. 1994;344:721-724.
5. Hochstein P, Atallah AS. The nature of oxidant and antioxidant systems in the inhibition of mutation and cancer. Mutat Res. 1988;75:202-363.
6. MacDonald-Wick LK, Wood LG, Garg ML. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review, J. Sci. Food Agric. 2006;8:2046–2056.
7. Kopáni M, Celec P, Danišovič L, Michalka P, Biró C. Oxidative stress and electron spin resonance. Clin chim acta. 2006;364(1):61-6.
8. Ito N, Fukushima S, Hasegawa A, Shibata M, Ogiso T. Carcinogenecity of butylatedhydroxyanisole in 344 rats. Journal of National Cancer Institute. 1983;70:343-347.
9. Leonti M, Verpoorte R. Traditional Mediterranean and European herbal medicines. J Ethnopharmacol. 2017;199:161–167.
10. World Alzheimer Report (2016). Improving Healthcare for People Living with Dementia: Coverage, Quality and Costs Now and in the Future. Available at: https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport 2016.pdf (Erişim: 02/03/2019).
11. Akkaya Ç. Alzheimer Hastalarında Oksidatif DNA Hasarı ve Redoks Statüsünün Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri

Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 2015, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Yıldız DİNÇER).

12. Lopez OL, Becker JT, Wahed AS, Saxton J, Sweet RA, Wolk DA, Klunk W, Dekosky ST. Long-term effects of the concomitant use of memantine with cholinesterase inhibition in Alzheimer disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2009;80(6):600-607.
13. Kılıçkaya N. Edinburgh (İngiltere) Herbaryumu'nda Bulunan *Marrubium L.* (Lamiaceae) Cinsine Ait Bazı Türlerin Polen Morfolojisi. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2017, Nevşehir (Danışman: Doç. Dr. Gençay AKGÜL).
14. Tzima K, Brunton NP, Rai DK. Qualitative and Quantitative Analysis of Polyphenols in Lamiaceae Plants-A Review. Plants (Basel). 2018;7(25):1-30.
15. Hossain MB, Rai DK, Brunton NP, Martin-Diana AB, Barry-Ryan C. Characterization of phenolic composition in Lamiaceae spices by LC-ESI-MS/MS. J Agr Food Chem, 2010;58(19):10576-10581.
16. Davis, P.H. Flora of Turkey and the East Aegean Island, 7, Univ. Press, Edinburg. 1982;349.
17. Ceylan A. Tıbbi Bitkiler II (Uçucu Yag Mçerenler), 481, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. Ege Üniversitesi Ofset Basımevi. Bornava-İzmir. 1987;1.
18. Seçmen Ö, Gemici Y, Görk G, Bekat L, Leblebici E. Tohumlu Bitkiler Sistematigi. 116 Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları. Ege Üniversitesi Ofset Basımevi. Bornova-İzmir. 2000;276.
19. Zeybek U, Zeybek N. Farmasötik Botanik Kapalı Tohumlu Bitkiler (Angiospermae) Sistematigi ve Önemli Maddeleri. 3 (Degistirilmis 3. baskı) Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları. Ege Üniversitesi Ofset Basımevi. Bornova-İzmir. 2002;378.
20. İrtem HS. Balıkesir Yöresinde Yetisen *Thymus* Türlerinin Uçucu Yag Mçerikleri ve Antimikrobiyal Aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı Balıkesir. 2003.
21. Baser KHC. Essential Oils of Anatolian Labiateae: A Profile. Acta Horticulturae. 1993;333:217-237.

22. Kocabaş YZ, Karaman S. Essential oils of Lamiaceae family from South East Mediterranean Region (Turkey). Pak J Biol Sci. 2001;4:1221-1222.
23. Özcan T, Dirmenci T, Martin E, Altınordu F. Cytotaxonomical study in five taxa of the genus *Teucrium L*. (Lamiaceae). Caryologia. 2015;68(1):1-8.
24. Stahl-Biskup E. Thyme as a herbal drug-pharmacopoeias and other product characteristics, in Stahl-Biskup and Saez (eds) The genus *Thymus*. Taylor & Francis. London. 2002;293.
25. Who monographs on selected medicinal plants. World Health Organization. Cenevre 1999;259-266.
26. Simeon de Bouchberg M, Allegrini J, Bessiere C, Attisso M, Passet J. Granger R. Propriétés microbiologiques des huiles essentielles de chimiotype de *Thymus vulgaris L*. Riv. ital. Eppos. 1976;58:527–536.
27. Van den Broucke CO, Lemli JA, Lamy J. Spasmolytic action of the flavones of different species of *Thymus*. Plants and Medicine: Phytotherapy.1983;16: 310–317.
28. Baytop T. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul. 1999;3.
29. Çaçan E, Kokten K, Kilic O. Leaf fatty acid composition of some Lamiaceae taxa fromTurkey. Progr Nutr. 2018;20:231-236.
30. Dizajeyekan YI, Hahighi AR, Gajoti TE. Quantitative and Qualitative study of *Thymus fallax* essential oil in two habitats of East Azarbaijan province of Iran. Gazi University J Sci. 2016;29:959-962.
31. Onaran A, Yılar M, Belguzar S, Bayan Y, Aksit H. Antifungal and Bioherbicidal Properties of Essential Oils of *Thymus fallax* Fish & Mey., *Origanum vulgare* L. and *Mentha dumetorum* Schult. Asian J Chem. 2014;26:5159-5164.
32. Küçükbay FZ, Kuyumcu E, Çelen S, Azaz AD, Arabacı T. Chemical Composition of the Essential Oils of Three *Thymus* Taxa from Turkey with Antimicrobial and Antioxidant Activities. Rec Nat Prod. 2014;8:110-120.
33. Yılar M, Bayan Y, Aksit H, Onaran A, Kadıoglu I, Yanar Y. Bioherbicidal Effects of Essential Oils Isolated from *Thymus fallax F*., *Mentha dumetorum* Schult. and *Origanum vulgare L*. Asian J Chem. 2013;25:4807-4811.

34. Rustaiee AR, Yavari A, Nazeri V, Shokrpour M, Sefidkon F, Rasouli M. Genetic Diversity and Chemical Polymorphism of Some *Thymus* Species. Chem Biodivers. 2013;10.
35. Yıldırım E, Kordalı S, Yazıcı G. Insecticidal effects of essential oils of eleven plant species from Lamiaceae on *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Rom Biotech Let. 2011;16:6702-670.
36. Rustaiee AR, Sefidkon F, Saeedi I, Rasouli M. Aromatic Profile of *Thymus fallax* Fisch. & C.A. Mey. Essential Oil Growing Wild in Iran. J Essentl Oil Bear Pl. 2011,14:782-785.
37. Kotan R, Cakir A, Dadasoglu F, Aydın T, Cakmakci R, Ozer H, Kordali S, Mete E, Dikbas N. Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* species against plant pathogenic bacteria. J Sci Food Agric. 2010;90:145-160.
38. Unal EL, Mavi A, Kara AA, Cakir A, Şengül M, Yildirim A. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Some Plants Used as Remedies in Turkish Traditional Medicine. Pharm Biol. 2008;46:207-274.
39. Semnani KM, Mahmoudi M, Riahi G. Effects of Essential Oils and Extracts from Certain *Thymus* Species on Swimming Performance in Mice. Pharm Biol. 2007;45:464-467.
40. Özgen U, Mavi A, Terzi Z, Yıldırım A, Coşkun M, Houghton PJ. Antioxidant Properties of Some Medicinal Lamiaceae (Labiatae) Species. Pharm Biol. 2006;44:107-112.
41. Ozturk S, Ercisli S. Broad-Spectrum Antibacterial Properties of *Thymus fallax*. Pharm Biol. 2005;43:609-613.
42. Barazandeh MM. Essential Oil Composition of *Thymus fallax* Fisch. et C.A. Mey. from Iran. J Essent Oil Res. 2004;16:101-102.
43. Piryaei M, Abolghasemi MM, Karimi B. Determination and analysis of volatile components from *Thymus kotschyanus* Boiss with a new solid-phase microextraction fibre and microwave-assisted hydrodistillation by periodic mesoporous organosilica based on alkylimidazolium ionic liquid. Wiley Phytochemical Analysis. 2018;1-5.

44. Mohammadi H, Amirika F, Ghorbanpour M, Fatehi F, Hashempour H. Salicylic acid induced changes in physiological traits and essential oil constituents in different ecotypes of *Thymus kotschyanus* and *Thymus vulgaris* under well-watered and water stress conditions. Ind Crop Prod. 2019;561-574.
45. Gholami M, Shahzamani K, Marzban A, Lashgarian HE. Evaluation of antimicrobial activity of synthesised silver nanoparticles using *Thymus kotschyanus* aqueous extract. IET Nanobiotechnol. 2018.
46. Hamelian M, Zangeneh MM, Amisama A, Varmira K, Veisi H. Green synthesis of silver nanoparticles using *Thymus kotschyanus* extract and evaluation of their antioxidant, antibacterial and cytotoxic effects. Appl Organomet Chem. 2018;32.
47. Cacan E, Kotken K, Kilic O. Leaf fatty acid composition of some Lamiaceae taxa from Turkey.Progr Nutr. 2018;20:231-236.
48. Tohidi B, Rahimmalek M, Arzani A. Variations in Chemical Composition and Bioactive Compounds of *Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen Populations Originated from Different Collection Sites. J Essent Oil Bear Pl. 2018;21:1272-1283.
49. Boroomand N, Hosseini MS, Moghbeli M, Farajpour M. Phytochemical components, total phenol and mineral contents and antioxidant activity of six major medicinal plants from Rayen, Iran. Nat Prod Res. 2018;32:564-567.
50. Kiliç Ö, Özdemir FA. Essential oil composition of two *Thymus kotschyanus* Boiss. varietes from Elazığ (Turkey). Progr Nutr. 2017;19:85-90.
51. Maharramov S, Hüseynova A. Investigation of Anthelmintic Effects of Some Thyme Species (*Thymus kotschyanus* and *Thymus collinus*) Against Gastrointestinal Parasites. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2017;23:961-965.
52. Mobaiyen H, Dehghan G, Elmi F, Talebpour AH. The Comparison of Composition and Biological Activities in Wild and Cultivated of *Thymus kotschyanus* Essential Oils and Methanolic Extracts From East Azarbayjan, Iran. Crescent Journal of Medical and Biological Sciences. 2017;4:17-22.

53. Afshari V, Elahian F, Ayari Y, Yazdinezhad A, Mirzaei SA. Diversity and ecotypic variation in the antioxidant and antigenotoxic effects of *Thymus kotschyanus*. Flavour Frag J. 2016;31:429-437.
54. Farsani MS, Behbahani M, Isfahani HZ. The Effect of Root, Shoot and Seed Extracts of The Iranian *Thymus L*. (Family: Lamiaceae) Species on HIV-1 Replication and CD4 Expression. Cell J. 2016;18:255-261.
55. Zhiani R, Dolatabadi S, Imani H, Moradi M, Emrani S. A Comparison of the Chemical Composition of Flowering Shoot *Thymus kotschyanus* and *Thymus vulgaris* by using GC-Mass and Antimicrobial Effects of the Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Essent Oil Bear Pl. 2016;19:1639-1647.
56. Malekitabar E, Nickavar B. Identification of volatile components in two *Thymus* species from Iran and their antioxidant properties. Shahid Beheshti University of Medical Sciences. 2016;117-120.
57. Baharfar R, Azimi R, Mohseni M. Antioxidant and antibacterial activity of flavonoit, polyphenoland anthocyanin-rich extracts from *Thymus kotschyanus* boiss & hohen aerial parts. J Food Sci Technol. 2015;52:6777-6783.
58. Gholivand MB, Piryaei M, Papzan A. Evaluation effect of microwave irradiation on the amount of volatile compounds, monoterpenes and sesquiterpenoids from *Thymus kotschyanus* Boiss with four methods. Nat Prod Res. 2013;27:1228-1231.
59. Aliakbarlu J, Shameli F. In vitro antioxidant and antibacterial properties and total phenolic contents of essential oils from *Thymus vulgaris, T. kotschyanus, Ziziphora tenuior* and *Z. clinopodioides*. Turk J Biochem. 2013;38:425-431.
60. Küçükbay FZ, Kuyumcu E, Çelen S, Azaz AD, Arabaci T, Yildiz B. Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activities of three Turkish Thyme Essential Oils. J Essent Oil Bear Pl. 2013;16:661-671.
61. Khanavi M, Hajimehdipoor H, Emadi F, Khandani NK. Essential Oil Compositions of *Thymus kotschyanus* Boiss. Obtained by Hydrodistillation and Microwave Oven Distillation. J Essent Oil Bear Pl. 2013;16:117-122.

62. Nickavar B, Esbati N. Evaluation of the Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Three *Thymus* Species, Journal of Acupuncture and Meridian Studies. 2012;5:119-125.
63. Amiri H. Essential Oils Composition and Antioxidant Properties of Three Thymus Species. Evid-Based Compl Alt. 2012;1-8.
64. Ghasemi V, Moharramipour S, Tahmasbi G. Biological activity of some plant essential oils against Varroa destructor (Acari: Varroidae), an ectoparasitic mite of Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae). Exp Appl Acarol. 2011;55:147-154.
65. Azar PA, Meibodi ZA, Tehrani MS, Larijani K. Composition of Essential Oil of Leaves Stems and Roots by Different Extraction Methods of *Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen var. *pseudkotschyanus* Rech. f.p.p. Grown Wild in Iran. Asian J Chem. 2011;23:4271-4275.
66. Bakhtiarian A, Khanavi M, Moghaddam FA. Anti-inflammatory effect of *Thymus kotschyanus* extract on rat's hind paw edema induced by carrageenan. Toxicology Letters. 2011;205:235-236.
67. Toroglu S. Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Thymus kotschyanus* subsp. *Glabrescens*. Asian J Chem. 2011;23:1072-1074.
68. Shafaghat A, Shafaghatlonba M. Comparison of Biological Activity and Chemical Constituents of the Essential Oils from Leaves of *Thymus caucasicus, T. kotschyanus* and *T. vulgaris.* J Essent Oil Bear Pl. 2011;14:786-791.
69. Azar PA, Tehrani MS, Meibodi ZA, Soleimani M. Composition Of Essential Oils of Leaves, Stems, And Roots of *Thymus kotschyanus* var. *pseudkotschyanus* Growing Wild in Iran. Chem Nat Compounds. 2010;46:310-312.
70. Taşkın T, Çam ME, Taşkın D, Rayaman E. In vitro and In vivo biological activities and phenolic characterization of *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii*. J Food Meas Charact. 2018.
71. Gomes CM, Taghouti M, Schafer J, Bunzel M, Silva AM, Nunes FM. Chemical characterization and bioactive properties of decoctions and

hydroethanolic extracts of *Thymus carnosus* Boiss. J Funct Foods. 2018;43:154-164.

72. Ziani BEC, Barros L, Boumehira AZ, Bachari K, Heleno S, Alves MJ, Ferreira ICFR. Profiling polyphenols composition by HPLC-DAD-ESI/MS and antibacterial activity of infusion preparations obtained from four medicinal plants. Food Funct. 2018;9:149-159.
73. Jovanovic AA, Dordevic VB, Zdunic GM, Pljevljakusic DS, Savikin KP, Godevac DM, Bugarski BM. Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. Sep Purif Technol. 2017;179:369-380.
74. Jesionek W, Dziedzic BM, Horvath G, Moricz AM, Choma IM. Screening of Antibacterial Compounds in *Thymus vulgaris* L. Tincture Using Thin-Layer Chromatography– Direct Bioautography and Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Techniques. Journal of Planar Chromatography. 2017;30:131-135.
75. Milevskaya VV, Temerdashev ZA, Butylskaya TS, Kiseleva NV. Determination of Phenolic Compounds in Medicinal Plants from the Lamiaceae Family. J Anal Chem. 2017;72:342-348.
76. Köksal E, Bursal E, Gülçin İ, Korkmaz M, Çağlayan C, Gören AC, Alwasel SH. Antioxidant activity and polyphenol content of Turkish thyme (*Thymus vulgaris*) monitored by liquid chromatography and tandem mass spectrometry Int J Food Prop. 2016;20:514-525.
77. Sonmezdag AS, Kelebek H, Selli S. Characterization of aroma-active and phenolic profiles of wild thyme (*Thymus serpyllum*) by GC-MS-Olfactometry and LC-ESI-MS/MS. J Food Sci Tech. 2015;53:1957-1965.
78. Ertas A, Boga M, Yilmaz MA, Yesil Y, Tel G, Temel H, Hasimi N, Gazioglu I, Ozturk M, Ugurlu P. A detailed study on the chemical and biological profiles of essential oil and methanol extract of *Thymus nummularius* (Anzer tea): Rosmarinic acid. Ind Crop and Prod. 2015;67:336-345.
79. Varga E, Bardocz A, Belak A, Maraz A, Boros B, Felinger A, Böszörmenyi A, Horvath G. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Thyme

Essential Oils and the Polyphenolic Content of Different *Thymus* Extracts, Farmacia. 2015;63:3.

80. Kivilompolo M, Hyötylainen T. Comprehensive two-dimensional liquid chromatography in analysis of Lamiaceae herbs: Characterisation and quantification of antioxidant phenolic acids. J Chromatogr. 2007;1145:155-164.
81. Simeoni MC, Pellegrini M, Sergi M, Pittia P, Ricci A, Compagnone D. Analysis of Polyphenols in the Lamiaceae Family by Matrix SolidPhase Dispersion Extraction Followed by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography−Tandem Mass Spectrometry Determination. ACS Omega, 2018;3:17610-17616.
82. Jaouadi R, Cardoso SM, Silva AMS, Yahia IBH, Boussaid M, Zaouali Y. Variation of phenolic constituents of Tunisian *Thymus capitatus* (L.) Hoff. et Link. Populations. Biochem Syst Ecol. 2018;77:10-15.
83. Boutaoui N, Zaiter L, Benayache F, Benayache S, Carradori S, Cesa S, Giusti AM, Campestre C, Menghini L, Innosa D, Locatelli M. Qualitative and Quantitative Phytochemical Analysis of Different Extracts from *Thymus algeriensis* Aerial Parts. Molecules. 2018;23:463.
84. Anonim, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler. [http://www.supermeydan.net/forum/forum373/thread2972.html] Erişim tarihi: 24/08/2007
85. Maksimoviç ZA, Dordeviç S, Mraoviç M. Antimicrobial Activity of Chenopodium botrys Essential Oils. Fitoterapia. 2005;76:112-114.
86. Çelik L. Kanatlı Hayvanların Beslenmesinde Verim Artıı Salayıcı ve Ürün Kalitesini yiletirici Doal-Organik Etkicil Maddeler. Yem Magazin. 2007;47:51-55.
87. Bozkurt M. Eterik Yağların Kanatlı Hayvan Yemlerine Katılmasının Etkileri. Infovet. 2005;18:40-44.
88. Kehrer JP. Klotz LO. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for Health. Crit Rev Toxicol. 2015;45(9):765-798.

89. Bazinet L, Doyen A. Antioxidants, mechanisms, and recovery by membrane processes. Crit Rev Food Sci. 2015;57(4):677-700.
90. Van den Ende W, Peshev D, De Gara L. Disease prevention by natural antioxidants and prebiotics acting as ROS scavengers in the gastrointestinal tract. Trends Food Sci. Technol. 2011;22:689-697.
91. Damašius J, Venskutonis P, Kaškoniene V, Maruška A. Fast screening of the main phenolic acids with antioxidant properties in common spices using on-line HPLC/UV/DPPH radical scavenging assay. Anal. Methods. 2014;6: 2774–2779.
92. Šulniute V, Pukalskas A, Venskutonis PR. Phytochemical composition of fractions isolated from ten Salvia species by supercritical carbon dioxide and pressurized liquid extraction methods. Food Chem. 2017;224: 37–47.
93. Baldioli M, Servili M, Perretti G, Montedoro G. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. J. Am. Oil Chem. Soc. 1996;73:1589-1593.
94. Calucci L, Pinzino C, Zandomeneghi M, Capocchi A, Ghiringhelli S, Saviozzi F, Tozzi S, Galleschi L. Effects of γ-irradiation on the free radical and antioxidant contents in nine aromatic herbs and spices. J. Agric. Food Chem. 2003;51:927–934.
95. Aghakhani F, Kharazian N, Gooini ZL. Flavonoit constituents of Phlomis (Lamiaceae) species using Liquid Chromatography Mass Spectrometry. Phytochem. Anal. 2017;29:180–195.
96. Hidalgo GI, Almajano MP. Red fruits: extraction of antioxidants, phenolic content, and radical scavenging determination: a review. Antioxidants (Basel). 2017;6(1):7.
97. Bessada SMF, Barreira JCM, Oliveira MBPP. Asteraceae species with most prominent bioactivity and their potential applications: A review. Ind. Crops Prod. 2015;76:604–615.
98. Stoica R, Senin RM, Ion R. Ethanol concentration effect on the extraction of phenolic compounds from Ribes nigrum assessed by spectrophotometric and HPLC-DAD methods. Rev. Chim. 2013;64:620–624.

99. Pantelidis GE, Vasilakakis M, Manganaris GA, Diamantidis G. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. Food Chem. 2007;102:777–783.
100. Estévez L, Otero N, Mosquera RA. A Computational Study on the Acidity Dependence of Radical-Scavenging Mechanisms of Anthocyanidins. The Journal of Physical Chemistry B. 2010;114(29):9706-9712.
101. Mitra S, Behbahani H, Eriksdotter M. Innovative Therapy for Alzheimer's Disease-With Focus on Biodelivery of NGF. Front Neurosci. 2019;13(38):1-21.
102. Puzzo D, Gulisano W, Arancio O, Palmeri A. (2015). The keystone of Alzheimer pathogenesis might be sought in Abeta physiology. Neuroscience. 2015;307:26–36.
103. Lista S, O'Bryant SE, Blennow K, Dubois B, Hugon J, Zetterberg H. Biomarkers in sporadic and familial Alzheimer's disease. J. Alzheimers Dis. 2015;47:291–317.
104. Topbaş E. Alzheimer Tipi Hafif Demans Tanılı Hastalarda Kognitif Yetilerle Ölüm Anksiyetesi İlişkisinin Değerlendirilmesi. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Uzmanlık Tezi, 2017, İstanbul (Danışman: Uz. Dr. Meliha Zengin EROĞLU)
105. Scarpini E, Scheltens P, Feldman H. Treatment of Alzheimer's disease: current status and new perspectives. Lancet Neurol. 2003;2(9):539-547.
106. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. Sciencee. 2002;297(5590):353-356.
107. Forloni G, Artuso V, La Vitola P, Balducci C. Oligomeropathies and pathogenesis of Alzheimer and Parkinson's diseases. Mov Disord 2016;31:771-781.
108. Jiang N, Ding J, Liu J, Sun X, Zhang Z, Mo Z, Xie SS. Novel chromanone-dithiocarbamate hybrids as multifunctional AChE inhibitors with β-amyloid anti-aggregation properties for the treatment of Alzheimer's disease. Bioorg Chem. 2019;103027.

109. Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease. Eur J Neurol. 2017;25:59-70.
110. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 7th ed.; Approved Standard M7-A7; CLSI: Wayne, PA, USA, 2006.
111. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard–Second Edition; M27-A2; CLSI:Wayne, PA, USA, 1997.
112. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 7th Informational Supplement; M100-S20; CLSI: Wayne, PA, USA, 2010.
113. Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. Am J Enol and Viticult. 1977;28:49-55.
114. Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattueno MA. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J Ethnopharmacol. 2000;71:109-114.
115. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 1958;181:1199-1200.
116. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Bio Med. 1999;26:1231-1237.
117. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE. 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. J Agr Food Chem. 2004;52:7970-7981.
118. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol. 1961;7:88-95.
119. Zengin G, Sarıkürkçü C, Aktümsek A, Ceylan R. Antioxidant Potential and Inhibition of Key Enzymes Linked to Alzheimer's Diseases and Diabetes Mellitus by Monoterpene-Rich Essential Oil from Sideritis galatica Bornm. Endemic to Turkey. Rec Nat Prod. 2016;75:42-50.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	EYYÜP	**Soyadı**	TUNCAY
Doğum Yeri	DİYARBAKIR	**Doğum Tarihi**	10.01.1985
Uyruğu	T.C.	**Tel**	05054545042
E-posta	etuncay21@hotmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Lisans	ANKARA ÜNİVERSİTESİ ECZACILIK FAKÜLTESİ	2009
Lise	DİYARBAKIR ANADOLU LİSESİ	2003

İŞ DENEYİMİ

Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
ECZACI	GAZİ YAŞARGİL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ	2010-

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı			

Posterler

Evin Aygün Tuncay, Leyla Balur, Mehmet Fırat, İsmail Yener, Eyyüp Tuncay, Hilal Saruhan Fidan, Esra Yarış, Mehmet Boğa, Abdulselam Ertaş, Cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC), DPPH Free and ABTS Cation Radical Scavenging Activities of Ethanol Extract Fractions of Endemic *Salvia cerino pruinosa* var. *elazigensis,* 1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants, 9-12 May 2017, Konya, Turkey
Leyla Balur, Hatice Cakirca, Abdulselam Ertas, Evin Aygun Tuncay, Eyyüp Tuncay, Mehmet Veysi Caglayan , Mehmet Firat , Gulacti Topcu, Ufuk Kolak, *Secondary Metabolites Isolation Of Salvia cerino pruinosa Rech* var. *elazıgensis*, 2nd International Gazi Pharma Symposium Series ,11-13 October 2017, Ankara, Turkey

10. ORJİNALLİK RAPORU

tez tarama

ORIJINALLIK RAPORU

%14	%7	%5	%12
BENZERLIK ENDEKSI	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCI ÖDEVLERI

BIRINCIL KAYNAKLAR

1	Submitted to Batman University Öğrenci Ödevi	%5
2	Submitted to Osmaniye Korkut Ata University (deneme) Öğrenci Ödevi	%1
3	polen.itu.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
4	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%1
5	Submitted to Mugla University Öğrenci Ödevi	%1
6	www.lalahanhmae.gov.tr İnternet Kaynağı	<%1
7	Submitted to Selçuk Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
8	Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University Öğrenci Ödevi	<%1

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ SAVUNABİLİRLİK VE ORİJİNALLİK BEYAN FORMU

I. ÖĞRENCİ BİLGİLERİ

Adı ve Soyadı: Eyyüp Tuncay **Numarası: 15878004**

Eğitim – Öğretim Yılı:2019 **Yarıyıl:** ☐ **GÜZ** ☒ **BAHAR**

Anabilim Dalı: Analitik Kimya Anabilim Dalı **Programı: TEZLİ YÜKSEK LİSANS**

Lisansüstü Eğitime Başlama Tarihi:

Tez Konusu: Kekik olarak kullanılan *Thymus fallax* ve *Thymus kotschyanus var. kotschyanus* Bitkilerinin kimyasal içerikleri, Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antialzheimer aktivitelerinin belirlenmesi

II. İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ

Rapor Türü: ☐ **TEZ SAVUNMA SINAVI ÖNCESİ** ☒ **TEZ SAVUNMA SINAVI SONRASI**

Sayfa Sayısı: 90

Benzerlik Oranı: 14

Raporlama Tarihi:

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, tartışma ve sonuç kısımlarından oluşan toplam 90 sayfalık kısmına ilişkin, 29.07.2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 14 'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

- ☐ **Kabul/Onay, Beyan, Teşekkür, İçindekiler, Kısaltma ve Simgeler, Şekil, Resim ve Tablolar sayfaları hariç,**
- ☒ **Kaynakça (Bibliyografya) hariç**
- ☐ **Alıntılar hariç**
- ☐ **Tez Danışmanı onayıyla kelime ve %'lik filtresi uygulaması (% 1)**

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Yukarıda bilgileri verilen tezi bilimsel, şekilsel ve etik kurallar çerçevesinde inceledim. Tezin Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği ve Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu kurallarına uygun olduğunu onaylarım. Jüri karşısında savunabilir olduğunu bilgilerinize arz ederim.

(İmza)	(İmza)
29/07/2019	**29/07/2019**
Eyyüp TUNCAY	Doç. Dr. Mehmet BOĞA
Öğrenci	**Danışman**