THYMUS PUBESCENS VAR. *PUBESCENS* BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞI ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ÇALIŞMALAR

Ulkar BEHBUDBAYLI
Farmakognozi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Leyla GÜVEN

Yüksek Lisans Tezi-2022

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

THYMUS PUBESCENS VAR. *PUBESCENS* BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞI ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ÇALIŞMALAR

Ulkar BEHBUDBAYLI

Farmakognozi Anabilim Dalı
Yüksek lisans Tezi

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Leyla GÜVEN

ERZURUM
2022

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER ..... **I**

TEŞEKKÜR ..... **IV**

ÖZET ..... **V**

ABSTRACT ..... **VI**

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **VII**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **IX**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **XII**

1. GİRİŞ **1**

2. GENEL BİLGİLER **7**

2.1. Antifungal 7

2.2. Antibakteriyel 12

2.3. Antiobez 27

2.4. Antioksidan 28

2.5. Antienflamatuar 35

2.6. Antikanser 37

2.7. Antiherbisit 38

2.8. Doğum kontrol 39

2.9. Hepatoprotektif 40

2.10. Antiparazit 40

2.11. Antiviral 41

2.12. Korozyona karşı 42

2.13. *Thymus* türlerinin uçucu yağlarında yer alan fitokimyasal bileşikler 42

3. MATERYAL VE METOT **45**

3.1. Antioksidan Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar 45

3.2. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar 45
3.3. *İn Vitro* Enzim İnhibitör Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar 46
3.3.1. Asetilkolinesteraz (AChE) Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar 46
3.3.2. Tirozinaz Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar 46
3.3.3. Karbonik anhidraz II Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar 46
3.3.4. α-Glikozidaz Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar 47
3.3.5. α-Amilaz enzim inhibitör etki çalışmasında kullanılan kimyasallar 47
3.4. Antimikrobiyal Aktivitede Kullanılan Kimyasallar 48
3.5. Yararlanılan Alet Ve Cihazlar 48
3.6. Bitki Materyali 49
3.7. Uçucu Yağ Eldesi 49
3.8. GC-MS/MS Analiz Çalışmaları 49
3.9. Antioksidan Aktivite Deneyi 50
3.9.1. Fe^{3+}-Fe^{2+} İndirgeme Kapasitesi 50
3.9.2. Cu^{2+}-Cu^{+} İndirgeme Kapasitesi (KUPRAK Metodu) 50
3.9.3. Ferrik İndirgeme Kuvveti (FRAP) İndirgeme Aktivitesi 51
3.9.4. 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi 52
3.9.5. N,N´-dimetil-p-fenilendiamin Dihidroklorür ($DMPD^{\bullet+}$) Radikali Giderme Aktivitesi 53
3.9.6. 2,2-Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) ($ABTS^{\cdot+}$) Radikali Giderme Aktivitesi 54
3.9.7. Bipiridin Metal Şeletlama Aktivitesi 54
3.9.8. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini 55

3.10. *İn Vitro* Enzim İnhibitör Çalışmaları 56
3.10.1. Antikolinesteraz Aktivite Deneyi 56
3.10.2. Antitirozinaz Aktivite Deneyi 57
3.10.3. α-Glikozidaz Enziminin Aktivite Tayini 58
3.10.4. α-Amilaz Enziminin Aktivite Tayini 59
3.10.5. Karbonik Anhidraz II Enziminin Aktivite Deneyi 60
3.11. Antimikrobiyal Aktivite Deneyi 60
4. BULGULAR 62
5. TARTIŞMA 84
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 91
KAYNAKLAR 92
EKLER 117
EK-1. ÖZGEÇMİŞ 117
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU 118
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU 119

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Leyla GÜVEN'e en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez kapsamında antioksidan aktivite çalışmaları ve enzim deneylerini laboratuvarında gerçekleştirmeme imkan sağlayan ve yardımcı olan Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN'e (Atatürk Üniversitesi, Erzurum), çalışmam sırasında yardımcı olan Öğr. Gör. Adem ERTÜRK'e, antimikrobiyal aktivite çalışmalarını yapmama yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Hayrunisa HANCI'ya (Atatürk Üniversitesi, Erzurum), GC-MS/MS analiz çalışmalarımı yapmama yardımcı olan Prof. Dr. Bilal YILMAZ'a (Atatürk Üniversitesi, Erzurum), (Atatürk Üniversitesi, Erzurum), çalışmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen değerli hocam, arkadaşlarım ve aileme teşekkür ederim.

Ulkar BEHBUDBAYLI

ÖZET

Thymus pubescens var. *pubescens* Bitkisinin Uçucu Yağı Üzerinde Farmakognozik Çalışmalar

Amaç: Erzurum'da yüksek rakımda yetişen *Thymus pubescens* var. *pubescens* bitkisinin uçucu yağının (TPU) ayrıntılı kimyasal karakterizasyonu GC-MS/MS ile belirlenerek, antidiyabetik, antikolinesteraz, antimikrobiyal, antioksidan, antikarbonik anhidraz II ve antitirozinaz aktivitelerine bakılmıştır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada 1 Temmuz 2020'de Erzurum Köşk Köyü içinde 1950 metre yükseklikten 40º 15' 21'' kuzey 41º 25' 36'' doğu konumundan toplanmış, *Thymus pubescens* var. *pubescens* toprak üstü kısmının uçucu yağı elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağda GC-MS/MS analizi yapılmıştır. Antioksidan aktivite çalışmaları, Fe^{3+}-Fe^{2+} indirgeme kapasitesi, Cu^{2+}-Cu^{+} indirgeme kapasitesi, Fe^{3+}-TPTZ indirgeme kuvveti, $DPPH^{\cdot}$ serbest radikalleri giderme aktivitesi, $DMPD^{\bullet+}$ radikali giderme aktivitesi, $ABTS^{\cdot+}$ radikali giderme aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi yöntemleriyle yapılmıştır. Total fenolik bileşik miktarı tayini Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiştir. Antimikrobiyal etkinliği disk-difüzyon metodu ile tespit edilmiştir. Antitirozinaz, antikolinesteraz, karbonik anhidraz II inhibisyonu, *α*-glikozidaz inhibisyonu, *α*-amilaz inhibisyonu çalışmaları yapılmıştır.

Bulgular: Fe^{3+}-Fe^{2+} indirgeme kapasitesi çalışmasında 30 µg/mL'de BHT (λ_{700}:2.018)> *α*-tokoferol (λ_{700}:1.895)> troloks (λ_{700}:1.545)> BHA (λ_{700}:1.257)> TPU (λ_{700}:0.179) şeklinde bir sıralamaya sahip olduğu görülmüştür. KUPRAK metodu ile yapılan çalışmada 30 µg/mL'de BHT (λ_{450}:2.912)> troloks (λ_{450}:2.323)> BHA (λ_{450}:1.800)> *α*-tokoferol (λ_{450}:1.139)> TPU (λ_{450}:0.098) şeklinde bir sıralamaya sahip olduğu görülmüştür. FRAP metodu ile yapılan çalışmada 30 µg/mL'de BHT (λ_{593}:2.089)> *α*-tokoferol (λ_{593}:1.995)> troloks (λ_{593}:1.755)> BHA (λ_{593}:0.884)> TPU (λ_{593}:0.279) şeklinde bir sıralamaya sahip olduğu görülmüştür. $DPPH^{\cdot}$ serbest radikalleri giderme aktivitesi çalışmasında troloks (IC_{50}: 5.92 µg/mL) < BHA (IC_{50}: 9.0 µg/mL) < *α*-tokoferol (IC_{50}: 9.63 µg/mL) < BHT (IC_{50}: 21.0 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 231.05 µg/mL) şeklinde olduğu bulunmuştur. $DMPD^{\bullet+}$ radikali giderme aktivitesinde troloks (IC_{50}: 14.38 µg/mL) < BHA (IC_{50}: 31.43 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 231.05 µg/mL) şeklinde olduğu bulunmuştur. $ABTS^{\cdot+}$ radikali giderme aktivitesinde troloks (IC_{50}: 7.71 µg/mL) = BHA (IC_{50}: 7.71 µg/mL) = BHT (IC_{50}: 7.71 µg/mL) < *α*-tokoferol (IC_{50}: 8.10 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 21.0 µg/mL) şeklinde olduğu bulunmuştur. Metal şeletlama aktivitesinde BHT (IC_{50}: 21.66 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 231.05 µg/mL) şeklinde olduğu bulunmuştur. Total fenolik bileşik miktarı tayininde 10.50 µg gallik asit eşdeğeri fenolik madde içerdiği tespit edilmiştir. AChE enzimi inhibisyon bulgularına göre TPU IC_{50} değeri 0.0044 µg/µL; tirozinaz enzimi inhibisyon IC_{50} değeri 0.36 µg/µL; karbonik anhidraz II enzimi inhibisyon IC_{50} değeri 0.0217 µg/µL; *α*-glikozidaz enzimi inhibisyon IC_{50} değeri 0.00283 µg/µL; *α*-amilaz enzimi inhibisyon IC_{50} değeri 2.015 µg/µL hesaplanmıştır. Ayrıca TPU *Staphylococcus aureus Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis, Acinetobacter baumannii* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Sonuç: TPU yapılan biyolojik aktivitelerin sonucuna göre orta düzeyde antioksidan, antidiyabetik, antikolinesteraz, antikarbonik anhidraz II, antitirozinaz, yüksek düzeyde antimikrobiyal aktivitelere sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Antidiyabetik, antikarbonikanhidraz II, antikolinesteraz, antimikrobiyal, antioksidan, antitirozinaz, GC-MS/MS, *Thymus pubescens* var. *pubescens*

ABSTRACT

Pharmacognostic Studies on the Essential Oil of *Thymus pubescens* var. *pubescens*

Aim: It was aimed to determine the essential oil of *Thymus pubescens* var. *pubescens* (TPU) grown at high altitude in Erzurum by detailed chemical characterization GC-MS/MS and to examine its antidiabetic, anticholinesterase, antimicrobial, antioxidant, anticarbonicanhydrase II, and antityrosinase activities.

Materials and Method: In this study, the above-ground parts of *Thymus pubescens* var. *pubescens* were collected on July 1, 2020, from an altitude of 1950 meters in Köşk Village, Erzurum, from 40º 15' 21" north 41º 25' 36" east position. The essential oil of the plant has been obtained. GC-MS/MS analysis was performed on the obtained essential oil. For antioxidant activities, Fe^{3+}-Fe^{2+} reducing capacity, Cu^{2+}-Cu^{+} reducing capacity, Ferric reducing force reducing activity, $DPPH^{\cdot}$ free radical scavenging activity, $DMPD^{\bullet+}$ radical scavenging activity, $ABTS^{\cdot+}$ radical scavenging activity, metal chelating activity methods were performed. The total amount of phenolic compounds was determined by the Folin-Ciocalteu method as gallic acid equivalents. Its antimicrobial activity was determined by the disk-diffusion method. Antityrosinase, anticholinesterase, carbonic anhydrase II inhibition, α-glucosidase inhibition, and α-amylase inhibition were performed.

Results: In the Fe^{3+}-Fe^{2+} reducing capacity study BHT (λ_{700}:2.018)> α-tocopherol (λ_{700}:1.895)> troloks (λ_{700}:1.545)> BHA (λ_{700}:1.257)> TPU (λ_{700}:0.179) at 30 µg/mL was found. In the Cu^{2+} reducing metod at 30 µg/mL, it was increased as follows: BHT (λ_{450}:2.912)> trolox (λ_{450}:2.323)> BHA (λ_{450}:1.800)> α-tocopherol (λ_{450}:1.139)> TPU (λ_{450}:0.098). In the study performed with the FRAP metod at 30 µg/mL, it was found in an order as BHT (λ_{593}:2.089)> α-tocopherol (λ_{593}:1.995)> trolox (λ_{593}:1.755)> BHA (λ_{593}:0.884)> TPU (λ_{593}:0.279). $DPPH^{\cdot}$ free radical scavenging activity study has a ranking of trolox (IC_{50}: 5.92 µg/mL) < BHA (IC_{50}: 9.0 µg/mL) < α-tocopherol (IC_{50}: 9.63 µg/mL) < BHT (IC_{50}: 21.0 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 231.05 µg/mL). $DMPD^{\bullet+}$ radical scavenging activity study has a ranking of trolox (IC_{50}: 14.38 µg/mL) < BHA (IC_{50}: 31.43 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 231.05 µg/mL). $ABTS^{\cdot+}$ radical scavenging activity has a ranking of trolox (IC_{50}: 7.71 µg/mL) = BHA (IC_{50}: 7.71 µg/mL) = BHT (IC_{50}: 7.71 µg/mL) < α-tocopherol (IC_{50}: 8.10 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 21.0 µg/mL). Metal chelating activity has a ranking of BHT (IC_{50}: 21.66 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 231.05 µg/mL). In the determination of total phenolic compound content, 10.50 µg gallic acid equivalent phenolics was determined. According to results, IC_{50} value of TPU was found as 0.0044 µg/µL for AChE; 0.36 µg/µL for tyrosinase, 0.0217 µg/µL for carbonic anhydrase II isoenzyme, 0.00283 µg/µL for α-glycosidase, 2.015 µg/µL for α-amylase enzymes. TPU showed antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis, Acinetobacter baumannii* bacterias.

Conclusion: According to the results of biological activities, TPU has moderate antioxidant, antidiabetic, anticholinesterase, antityrosinase, anticarbonicanhydrase II, and high level antimicrobial activities.

Key Words: Anticarbonicanhydrase II, anticholinesterase, antidiabetic, antimicrobial, antioxidant, antityrosinase, GC-MS/MS, *Thymus pubescens* var. *pubescens*

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

2-DR	**:**	2-deoksiriboz
ABTS	**:**	2,2-azinobis 3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit
AChE	**:**	Asetilkolinesteraz
AH	**:**	Alzheimer hastalığı
ALP	**:**	Alkalin fosfataz
ALT	**:**	Alanin aminotransferaz
AST	**:**	Aspartat aminotransferaz
BChE	**:**	Butirilkolinesteraz
BHA	**:**	Butillenmiş hidroksi anisol
BHT	**:**	Butillenmiş hidroksi toluen
BHV-1	**:**	Bovine herpes virüs tip 1
CAT	**:**	Katalaz
COX-2	**:**	Siklooksijenaz-2
DM	**:**	Diabetes mellitus
DMPD	**:**	N,N´-dimethil-p-fenilendiamin dihidroklorür
DPPH	**:**	1,1-Difenil 2-pikril hidrazil
EISe	**:**	Elektrokimyasal empedans spektroskopisi
FICI	**:**	Fraksiyonel inhibitor konstrasyon indeksi
FRAP	**:**	Fe^{+3} iyonu indirgeyici antioksidan gücü
GC-MS/MS	**:**	Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi
GPx	**:**	Glutatyon peroksidaz
GST	**:**	Glutatyon-s-transferaz
HSV-2	**:**	Herpes simpleks virüsü Tip 2
IL-1	**:**	İnterlökin 1

iNOS	**:**	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
KUPRAK	**:**	Cu^{+2} iyonu indirgeyici antioksidan kapasite
LC-MS/MS	**:**	Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi
MAHDM	**:**	Mikrodalga Destekli Hidrodistilasyon
MALDI-TOF MS	**:**	Matriks kütle spektrometrisinin matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon süresi
MBK	**:**	Minimum bakterisidal konsantrasyon
MFK	**:**	Minimum fungusit konsantrasyonu
MİK	**:**	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
MMP	**:**	Matris metalloproteinaz
MPO	**:**	Miyeloperoksidaz
MTT	**:**	3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür testi
NF	**:**	Nükleer faktör
NO	**:**	Nitrik oksit
NOR	**:**	Nesne tanıma testi
NTT	**:**	Tank dalış testinde
PGE2	**:**	Prostaglandin E2
SNAP	**:**	S-nitroso-N-asetil-D,L-penisilamin
SOD	**:**	Süperoksit dismutaz
TNF-*α*	**:**	Tümör nekroz faktörü-*α*
TPU	**:**	*Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağı
UY	**:**	Uçucu yağ
VAS	**:**	Görsel analog ölçeği
WOMAC	**:**	Batı Ontario ve McMaster Üniversiteleri Artrit İndeksi
YBSK	**:**	Yüksek basınç sıvı kromotografisi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No **Sayfa No**

Şekil 1.1. *Thymus pubescens* var. *pubescens*..... 2

Şekil 1.2. *Thymus pubescens* var. *pubescens* yakın görünümü 3

Şekil 4.1. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının Fe^{3+} indirgeme kuvvetinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması 64

Şekil 4.2. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının Cu^{2+} indirgeme kuvvetinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması 65

Şekil 4.3. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının $[Fe^{3+}\text{-}(TPTZ)_2]^{3+}$ kopleksinin, $[Fe^{2+}\text{-}(TPTZ)_2]^{2+}$indirgeme kuvvetinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması..... 66

Şekil 4.4. DPPH radikal giderme aktivitesi tayini için hazırlanan standart DPPH grafiği 68

Şekil 4.5. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının DPPH radikali giderme aktivitesinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması..... 68

Şekil 4.6. $DMPD^{\cdot+}$ süpürücü aktivite tahlili ile oluşturulan standart DMPD grafiği 71

Şekil 4.7. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının $DMPD^{\cdot+}$ radikali giderme aktivitesinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması..... 71

Şekil 4.8. $ABTS^{\cdot+}$ radikal giderme etkisinin belirlenmesi için hazırlanan standart ABTS grafiği..... 73

Şekil 4.9. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının $ABTS^{\cdot+}$ radikali giderme aktivitesinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması 73

Şekil 4.10. Metal şelatlama aktivitesi deneyi için hazırlanmış standart metal şelatlama grafiği 75

Şekil 4.11. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının metal şeletlama aktivitesinin standart antioksidan ile karşılaştırılması 75

Şekil 4.12. Gallik asit molekülünün kimyasal yapısı 76

Şekil 4.13. Fenolik bileşiklerin toplam miktarını belirlemek için gallik asit ile yapılan standart grafik 77

Şekil 4.14. AChE enzim aktivitesinde çalışılan *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının farklı konsantrasyonunda çizilen aktivite (%)-[TPU] grafiği 78

Şekil 4.15. AChE enzime karşı inhibitör etkili standart takrin etken maddesinin aktivite grafiği 78

Şekil 4.16. Tirozinaz enzim aktivitesinde çalışılan *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının farklı konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[TPU] grafiği 79

Şekil 4.17. Tirozinaz enzim aktivitesinde çalışılan farklı Kojik asit konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[kojik asit] grafiği 79

Şekil 4.18. Karbonik anhidraz II enzim aktivitesinde çalışılan *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının farklı konsantrasyonunda çizilen aktivite (%)-[TPU] grafiği 80

Şekil 4.19. Karbonik anhidraz II enzime karşı inhibitör etkili asetozolamid etken maddesinin aktivite grafiği 80

Şekil 4.20. *α*-Glikozidaz enzim aktivitesinde çalışılan *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının farklı konsantrasyonunda çizilen aktivite (%)-[TPU] grafiği 81

Şekil 4.21. *α*-Amilaz enzim aktivitesinde çalışılan *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının farklı konsantrasyonunda çizilen aktivite (%)-[TPU] grafiği 82

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No **Sayfa No**

Tablo 2.1. *Thymus* Türlerinin Uçucu Yağlarında Yer Alan Fitokimyasal Bileşikler 43

Tablo 3.1. Antioksidan Çalışmalarda Kullanılan Kimyasallar ve Çözücüler 45

Tablo 3.2. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar Ve Çözücüler 45

Tablo 3.3. AChE Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılmış Olan Kimyasal Maddeler 46

Tablo 3.4. Tirozinaz Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler 46

Tablo 3.5. İnsan Karbonik Anhidraz (hCA II) Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler 47

Tablo 3.6. *α*-Glikozidaz Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler 47

Tablo 3.7. *α*-Amilaz Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler 47

Tablo 3.8. Kullanılan Alet ve Cihazlar 48

Tablo 3.9. AChE Enziminin Aktivite Tayin Metodunda Kullanılan Maddelerin Miktarları ve Kullanım Sırası 56

Tablo 3.10. α-Glikozidaz Enzim Aktivitesi Tayin Yönteminde Kullanılmış Çözeltilerin Kullanım Sırası ve Miktarları 58

Tablo 3.11. *α*-Amilaz Enziminin Aktivite Tayin Yönteminde Kullanılmış Maddelerin Kullanım Sırası ve Miktarları 59

Tablo 4.1. *Thymus pubescens* var. *pubescens*'den Elde Edilen Uçucu Yağın GC-MS/MS ile Tespit Edilen Kimyasal Kompozisyonu..... 62

Tablo 4.2. 30 µg/mL Konsantrasyonda *Thymus pubescens* var. *pubescens* Uçucu Yağının $Fe^{3+,}$ Cu^{2+}, Fe^{3+}-TPTZ İyonlarının İndirgeme Kapasitesinin Pozitif Kontroller İle Karşılaştırılması 67

Tablo 4.3. *Thymus pubescens* var. *pubescens* Uçucu Yağının IC_{50} Değerlerinin $DPPH^{\cdot}$, $ABTS^{\cdot+}$, $DMPD^{\cdot+}$ ve Bipiridin Metal Şelatlama Aktivitelerinde Standart Antioksidanlarla Karşılaştırması..... 76

Tablo 4.4. *Thymus pubescens* var. *pubescens* Uçucu Yağının Bakteri Türlerine Karşı Antimikrobiyal Aktivitesi 83

1. GİRİŞ

Dünya sağlık örgütü tarafından yapılan açıklamaya göre gelişmekte olan ülkelerde nüfusun %80'i tedavi amaçlı bitkisel ürünlerden faydalanmaktadır. Dünya üzerinde tedavi amaçlı kullanılan 21.000'den fazla bitki bulunduğu bildirilmektedir. Geleneksel tedavilerde bitki ekstreleri veya aktif bileşenlerinin kullanımı yer almaktadır.[1, 2]

Bitkisel ürünlerle yapılan tedavide yan etkilerin görülmemesi, birden fazla etkiye sahip olmaları ve daha kolay ulaşılabilmeleri onlara olan ilgiyi günden güne artırmaktadır. Türkiye bünyesinde bulundurduğu 11.000 farklı bitki çeşidi ve zenginliği ile dikkat çeken bir ülkedir. Bunun temelinde çeşitli iklim koşulları, toprak özellikleri ve 3 farklı kıtanın birleştiği konumda bulunması önemli rol oynamaktadır.

Türkiye'de *Thymus* cinsi (Lamiaceae) 24 tanesi endemik 43 tür ile temsil edilmekte ve halk arasında "kekik, nemamulotu, sater" adıyla bilinmektedir.[3-5] *Thymus* türlerinin yapraklarının ve çiçekli kısımlarının su buharı distilasyonu ile uçucu yağı elde edilmektedir.

Geleneksel olarak yaprak ve çiçekli kısımlarının demlenerek veya kaynatılarak hazırlanan tıbbi çayı dahilen safra artırıcı, kurt düşürücü, gaz giderici, spazm giderici, iltihap önleyici, emenagojik ve tonik haricen ise antiseptik olarak kullanılmaktadır.[1, 5] Ayrıca kekik otunun mide ağrısına karşı, gastrik ülser, tonsillit, üriner sistem, iç hastalıkları, dispne, egzema ve hemoroitte kullanıldığı bildirilmiştir.[6]

Thymus uçucu yağları, çeşitli unlu mamüller, et ve süt ürünleri ve depolanan gıda ürünlerinin bozulmalarına sebep olan bakteri ve mantarlar başta olmak üzere mikrobiyal patojenlere ve böcek gibi zararlılara karşı korumada etkili olduğu bildirilmektedir.[7]

Ayrıca *Thymus* uçucu yağlarının antioksidan, antibakteriyel, analjezik, antienflamatuvar ve antidepresan biyoaktivite çalışmaları yapılmış ve değerlendirilmiştir.[8-10]

Uçucu yağlar, çok sayıda izopren moleküllerinin kondensasyonu ile oluşan terpenlerden meydana gelirler. Geleneksel olarak, terpen içeren bitki yağları, etken maddelerin biyoaktif bileşiklerin tam fonksiyonlarını veya etki mekanizmalarını bilmeden çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılmıştır.[11]

Thymus uçucu yağlarının çoğunun, γ-terpinen, p-simen, geraniol, borneol ve linalol gibi eser miktarlarda bulunan aktif bileşenlerle birlikte timol ve karvakrol gibi monoterpenleri daha fazla miktarda içerdiği, aromatik kokusunun muhtemelen timol ve karvakrolden kaynaklandığı bildirilmektedir.[12]

Yapılan uçucu yağ analizinde *T. pubescens* bileşiminde majör maddelerin karvakrol, timol, *α*-terpineol, limonen ve p-simen olduğu ve geleneksel olarak gastrointestinal bozukluk, uçuk, akciğer enfeksiyonu ve cilt probleminde kullanıldığı bildirilmiştir.[8, 13-18]

Erzurum'da 1900 m rakımda doğal olarak yetişen *Thymus pubescens* var. *pubescens* bitkisinin uçucu yağının çıkarılmış, kimyasal içeriği belirlenmiş ve antioksidan, antimikrobiyal, antikolinesteraz, antikarbonikanhidraz II, antidiyabetik ve antitirozinaz aktiviteleri araştırılmıştır. Böylece elde edilen kekik uçucu yağının çeşitli hastalıklarda ve kozmetikte kullanılıp kullanılamayacağı hakkında fikir sahibi olunmuştur. (Şekil 1.1 ve Şekil 1.2)



Şekil 1.1. *Thymus pubescens* var. *pubescens*



Şekil 1.2. *Thymus pubescens* var. *pubescens* yakın görünümü

Antioksidanlar, oksidasyon sürecini ve serbest radikallerin oluşumunu engelleyen, metabolizmayı reaktif oksidatif türlerinden ve oksidatif stresin zararlı etkilerinden koruyabilen kimyasallardır. Ayrıca kanser, Parkinson hastalığı, katarakt, diabetes mellitus, kardiyovasküler ve Alzheimer hastalıkları gibi kronik rahatsızlıkların önlenmesinde de faydalı etkileri vardır. Ek olarak, antioksidanlar radikal zincir reaksiyonlarını kolayca sonlandırabilir ve hücresel biyomoleküllere zarar veren serbest radikalleri etkili bir şekilde nötralize edebilir. Bu bağlamda sebze, meyve ve bitki gibi doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanların reaktif oksidatiflerden veya serbest radikallerden kolaylıkla uzaklaştırdığı bilinmektedir. Bu nedenle zararlı etkileri olan sentetik antioksidanlara alternatif olarak, güvenilir bitki kaynaklı doğal antioksidanlar tercih edilmektedir.[19]

Yaşam süresinin artması ile günümüzde Alzheimer hastalığının (AH) görülme sıklığı da artmaktadır. AH, hafıza kaybı ve diğer bilişsel bozukluklarla karakterize

nörodejeneratif bir rahatsızlıktır, oksidatif stres, enflamasyon ve beynin belirli bölümlerinde asetilkolin (ACh) seviyelerinde eksiklik ile ilişkilidir. Bu nedenle, antioksidanların kullanımı, AH ilerlemesini ve nörodejenerasyonu potansiyel olarak yavaşlatabilir. ACh oluşumunu hidrolize edebilen, ACh'de azalmaya ve sinir sinyal iletiminin bozulmasına yol açan bir serin proteaz enzimi olan asetilkolinesteraz (AChE), AH oluşumuna katkıda bulunur. AChE inhibitörü bileşikleri, AChE'nin aktivitesini önleyebilir ve ACh'nin bozulmasını azaltabilir. Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından bildirilen rivastigmin, takrin ve donepezil gibi bazı ilaçlar AH'da kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu ilaçlar düşük aktivite, düşük seçicilik ve toksisite gibi birçok olumsuz özelliklere de sahip olabilmektedir. Bu nedenle, düşük toksisiteye, yüksek seçiciliğe ve yüksek aktiviteye sahip yeni ilaçlar, AH'yi tedavi etmek için gereklidir.[20]

İnsanlarda, hayvanlarda ve bitkilerde yaygın olarak bulunan doğal bir pigment olan melanin, taze meyve ve sebzelerin enzimatik esmerleşmesinde rol oynar ve insan ten rengini belirler. Tirozinaz, melanin biyosentezini düzenleyen bir metallo enzimdir. Sonuç olarak, tirozinaz inhibitörleri, gıda ve kozmetik endüstrileri için esmerleşmeyi önleyici ajanlar ve cilt beyazlatıcı bileşikler olarak yararlanılmaktadır. Gıda endüstrisinde esmerleşmeyi önlemek için antioksidan ajanlar ve enzim inhibitörleri gibi gıda katkı maddeleri kullanılmaktadır. Bu nedenle, gıda endüstrisinde kullanım için daha etkili ve zararlı yan etkileri olmayan doğal esmerleşme önleyici maddeler araştırılmalı ve tanımlanmalıdır.[21]

Tirozinaz enzimi ayrıca dopamin nörotoksisitesine neden olabildiği ve Parkinson'a sebep olabildiği bildirilmiştir.[22] Antitirozinaz aktivitesinin belirlenmesiyle kozmetik preparatlarda ve gıda endüstrisinde çok tercih edilen beyazlatma etkisi ve Parkinson hastalığında fayda sağlayıp sağlayamayacağı hakkında fikir elde edilmiştir.

Karbonik anhidraz enzimleri tüm canlı sistemlerde hemen hemen her yerde bulunur. pH regülasyonu, karboksilasyon reaksiyonları, sıvı dengesi, kemik rezorpsiyonu, tümörijenite, kalsifikasyon, bikarbonat sentezi ve diğer birçok patolojik ve fizyolojik süreçte önemli rollere sahiptir. Karbonik anhidraz inhibitörleri, klinik olarak glokomu tedavi etmek için, antikonvülsan ajanlar, diüretik ve antiobezite ilaçları olarak kullanılır. Ayrıca son zamanlarda hipoksik tümörlerin tedavisinde kullanılmıştır.[23]

Diabetes mellitus (DM), kandaki anormal glikoz seviyelerinin yanı sıra nöropati, retinopati, kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz ve nöral hasar gibi bazı bozukluklarla karakterize edilen metabolik bir hastalıktır. Oksidatif stres'in DM'nin ana sebebi olduğu bildirilmektedir. Hiperglisemi durumunda, aşırı glikoz yüklemesi mitokondride reaktif oksidatif stres oluşumunu tetiklemekte ve mitokondriyal fonksiyonlar bozulmaktadır. Sindirim enzimleri, polisakkaritleri monosakkaritlere hidrolize eder. Bu nedenle, sindirim enzimi inhibisyonu, DM tedavisi için önemli bir seçenektir. α-Amilaz ve α-glikozidaz enzimleri ince bağırsak hücrelerinden salınmaktadır. Her iki enzim de oligosakkaritleri ve polisakkaritleri glikoz gibi monosakkarit birimlerine hidrolize eder. İnsanlarda, yeni α-amilaz ve α-glikozidaz gibi sindirim enzimi inhibitör bitki veya bileşiklerini bulmak DM ve hiperglisemiyi kontrol etmek için önemlidir.[24, 25]

Thymus uçucu yağı, antimikrobiyal, böcek öldürücü, larvisit ve antiparaziter aktiviteler gibi çeşitli biyoaktif özellikler göstermektedir. Uçucu yağlar, bitkileri çevresel tehditlerden ve patojenik mikroorganizmalardan içerdikleri fenol, monoterpen, seskiterpenler sayesinde korumaktadır.[26] Son zamanlarda, alerjik reaksiyonlar ciddi bir sağlık sorunu haline gelmektedir. Mikroorganizmalarla mücadele edebilecek, antibiyotik ilaçlarına nazaran daha az yan etki ve daha fazla terapötik potansiyel özelliğe sahip alternatif doğal kaynaklı ürünlerin keşfedilmesi önemlidir.[27]

Yaptığımız literatür araştırmasında *Thymus pubescens* var. *pubescens* bitkisinin uçucu yağının antioksidan, antimikrobiyal, antitirozinaz, antikolinesteraz, antidiyabetik ve antikarbonik anhidraz II ve antimikrobiyal aktivitelerinin daha evvel araştırılmadığı görülmüştür. Bundan dolayı konumuz güncel ve özgündür. Erzurum'da doğal olarak yetişen *Thymus pubescens* var. *pubescens* bitkisinin araştırılmasıyla literatürdeki boşluk giderilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Yaptığımız literatür taramasında *Thymus* türünden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi ve farmakolojik, biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Araştırmamız kapsamında *Thymus* uçucu yağlarının antifungal[28], antibakteriyel[29], antiviral[30], antiobez[31], antioksidan[32], antienflamatuar[33], antikanser[34], antiparazit[35], antiherbisit[36] ve diğer aktivitelere (doğum kontrolü[37], hepatoprotektif[38]) sahip olduğu görülmüştür.

2.1. Antifungal

Candida patojenlerine karşı tek başına veya kombine halde uçucu yag ve iki antifungal (flukanozal ve amfoterisin b) ile antifungal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada uçucu yağların minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) 0.162-4950 mg/mL arasında olduğu tespit edilmiştir. Amfoterisin B'nin, *Thymus leptobotrys, Origanum compactum* ve *Artemisia herba alba* uçucu yağları ile kombinasyonu, *C. krusei*'ye karşı sinerjistik bir etki oluşturmuştur. Çalışılan tüm uçucu yağların flukonazol ile birleştirilmesiyle, MİK'lerinin 16 ila 512 kat arasında azalma olduğu, bu sinerjik etkinin, *T. leptobotrys* uçucu yağlarının ve flukonazol kombinasyonu ile çok belirgin olduğu bildirilmistir.[28]

Hu ve ark.[39] tarafından 19 uçucu yağın *Aspergillus niger, Penicillium citrinum, Trichoderma viride, Botryodiplodia theobromae, Fusarium moniliforme* ve *Alternaria alternata* mayalarına karşı antifungal aktiviteleri *in vitro* olarak araştırıldığı bir çalışmada *Cinnamomum cassia*, *Syzygium aromaticum* ve *T. mongolicus* uçucu yağlarının en büyük antifungal aktiviteleri gösterdiği ve altı mantarın hepsinin büyümesini tamamen engellediği bildirilmiştir.[39]

T. albicans, endemik bir tür olup esansiyel yağının antifungal ve anti-inflamatuar etki mekanizması araştırıldığı çalışmada, yağın ve ana bileşiklerinin antifungal aktivitesi, standart ve klinik olarak izole edilmiş maya ve filamentli mantar suşlarına karşı etkisi

değerlendirilmiştir. Uçucu yağın *Candida albicans*'ın iki ana virülans faktörü (germ tüpü oluşumu ve biyofilm bozulması) üzerindeki etkisi incelenmiş ve 0.08 µL/mL'de *C. albicans* germ tüp oluşumunu %40'tan fazla inhibe ettiği ve MİK değerlerinde biyofilm biyokütlesini azalttığı, böylece antivirülan potansiyeline işaret ettiği bildirilmiştir. Ayrıca uçucu yağın anti-inflamatuar aktivitesi, LPS ile uyarılan fare makrofajları (RAW 264.7) üzerinde, nitrik oksit (NO), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve (COX-2) siklooksijenaz-2 gibi çeşitli proinflamatuar mediatörlerin seviyeleri değerlendirilerek araştırılmıştır. *T. albicans* yağı, sitotoksik olmayan 0.32 ve 0.64 µL/mL konsantrasyonlarında NO türevi bir alt ürün olan nitrit üretimini sırasıyla %27 ve %41 oranında azaltmıştır. Ek olarak, uçucu yağ ile ön işleme tabi tutulmuş hücrelerin iNOS protein seviyeleri %14 oranında azaldığı bildirilmiştir.[40]

Uçucu yağ bileşikleri timol, p-simen ve *γ*-terpinen olan *T. vulgaris'in* buhar fazındaki mantar önleyici aktivitesinin değerlendirildiği çalışmada, *Botrytis, Penicillium, Alternaria* ve *Monilinia* cinsinin hasat sonrası bozulma mantarlarına karşı, 72 saat boyunca 25 °C'de maruz kaldıktan sonra mantar biyokütlesindeki azalma ölçülerek belirlenmiştir. Timol en düşük MİK'i (7.0 µg/L), ardından *γ*-terpinen (28.4 µg/L) ve *p*-simen (40.0 µg/L) gösterdi. Ticari *T. vulgaris'*e dirençli *P. digitatum* ITEM 9569, dama tahtası testi ve Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon İndeksi (FICI) hesaplaması kullanılarak uçucu yağ bileşenleri arasındaki etkileşimlerin değerlendirmesi yapıldı. İnkübasyon sırasında, uçucu yağ bileşenleri konsantrasyonundaki değişiklikler GC-MS analizi ile ölçülmüştür. Timol (0.013 ± 0.003 L/L) ve *γ*-terpinen (0.990 ± 0.030 L/L) (FICI = 0.50) arasında ikili kombinasyonlarda ve p-simen (0.700 ± 0.010 L/L), *γ*-terpinen (0.290 ± 0.010 L/L) ve timol (0.008 ± 0.001 L/L) (FICI = 0.19) üçlü kombinasyon varlığında sinerjistik bir etki tespit edilmiştir. *P. digitatum* ITEM 9569 suşuna karşı

sinerjistik etki, gıda bozulmalarına neden olan mantar suşlarını kontrol etmek için uçucu yağ bileşenleri arasında farklı kombinasyonların yapılabileceğini bildirmektedir.[41]

Doğu Azerbaycan Eyaletinde (İran) toplanan *T. kotschyanus*'tan elde edilen uçucu yağın analiz edildiği çalışmada, 35 aktif bileşiğin tanımlandığı bunların timol (%60.48) karvakrol (%3.08), p-simen (%5.56) ve *γ*-terpinen (%6.67) gibi uçucu yağların tespit edildiği bildirilmiştir. *T. kotschyanus* uçucu yağı önemli fitopatojenik mantarlara (*Botrytis cinerea, Aspergillus niger* ve *Penicillium expansum*) karşı test edilmiş, mantar önleyici deneyde >= 500 ppm uçucu yağ kullanımının, test edilen tüm mantarlara karşı bir mantar öldürücü etkiye sahip olduğu, benzer şekilde, >= 500 ppm uçucu yağ kullanımının, tüm yabani ot tohumlarının (*Amaranthus retroflexus* L. ve *Panicum miliaceum* L.) çimlenmesini ve bunların herbisit etkisini gösteren sonraki büyümesini engellediği bildirilmiştir.[42]

Aromaterapide bir antifungal ajan olarak ve/veya topikal inflamatuar hastalıkların önlenmesinde veya yönetiminde aktif bir bileşen olarak *T. vulgaris* esansiyal yağının araştırıldığı çalışmada, ana bileşenin karvakrol olduğu (%56.8), antifungal etkisinin, *in vitro* olarak belirlendiği bildirilmiştir. Disk-difüzyon yöntemiyle uçucu yağ, *Candida strains*'e karşı pozitif kontrolden daha güçlü antifungal aktivite göstermiştir. *C. yeasts* için inhibisyon bölgesinin (DIZ) çapı 34 ila 60 mm arasında değişmiştir. *C. albicans* ve *C. parapsilosis*, 35 ila 90 mm arasında değişen DIZ ile yağ buharına en duyarlı suşlardı. Mayanın minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) bir agar seyreltme yöntemiyle belirlendi ve MİK'nin maya türleri için 0.3 ila 0.15 µL/mL arasında değişmiştir. Uçucu yağın topikal anti-enflamatuar potansiyeli, kroton yağının neden olduğu kulak ödemi tahlili ile *in vivo* olarak da araştırılmıştır. Uçucu yağın, pozitif kontrole istatistiksel olarak benzer (p> 0.05) tüm dozlarda (100, 10 ve 2 mg/kg) güçlü bir anti-inflamatuar etki sergilemiştir. Bu aktivite, histopatoloji analizi ile hücresel düzeyde de doğrulanmıştır.

Çalışmada karvakrolden zengin uçucu yağın mantar enfeksiyonlarının ve topikal inflamasyonun önlenmesi ve yönetiminde uygulamasını önerdiği bildirilmiştir.[43]

Cinnamomum verum ve *T. capitatus* uçucu yağlarının araştırıldığı çalışmada, uçucu yağların antifungal ilaçlarla kombinasyonlarının biyofilm ve olgun biyofilm gelişimi üzerindeki etkileri ve moleküler etki mekanizması bildirilmiştir. *C. verum* ve *T. capitatus* uçucu yağlarının, yarı MİK değerlerinin sırasıyla %85.57 ve %80.6 inhibisyon sergilediği, *C. albicans* biyofilm oluşumuna karşı geniş ölçüde etkili olduğu bildirilmiştir. 2xMİK değerlerinde *C. albicans* matür biyofilminde %92.79 ve %94.46 eradikasyon göstermiştir. Ayrıca, bu uçucu yağlar, 0.75xMİK'de salgılanan aspartik proteazların üretimini > %90 oranında azaltabilmiştir. Uçucu yağlar amfoterisin B ile birleştirildiğinde antibiyofilm gücünü iyileştirdiği ve santral venöz kateter üzerindeki *C. albicans* olgun biyofilmini etkin bir şekilde ortadan kaldırdığı bildirilmiştir. Transkriptomik analizde, uçucu yağların, özellikle amfoterisin B ile birleştirildiğinde, Ras-cAMP-Efg ve MAPK sinyal genlerini aşağı regüle ettiği, uçucu yağlar ve onların amfoterisin B ile kombinasyonlarının, yapışma ekspresyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği ve aspartil proteinaz virülans faktörü genlerini salgıladığı bildirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, *C. verum* ve *T. capitatus* uçucu yağların ve amfoterisin B ile kombinasyonlarının, tıbbi cihazlarda *C. albicans* biyofilmine karşı etkili bir tedavi sağlayabileceği ifade edilmiştir.[44]

Portekiz'de geleneksel tıpta kullanılan iki kekik türünün, *T. camphoratus* ve *T. carnosus*'un uçucu yağlarının ve bunların ana bileşiklerinin antifungal etkisinin değerlendirildiği çalışmada, özellikle *Candida albicans* virülans faktörleri üzerindeki etkilerine ve uçucu yağların keratinositler üzerinde güvenlik profilinin değerlendirildiği bildirilmiştir. Ayrıca, uçucu yağların ve ana bileşiklerinin minimum inhibitör ve minimum fungisit konsantrasyonları, referans ve klinik suşlar üzerinde değerlendirildiği

ve *C. albicans* germ tüpü oluşumuna, metabolizmasına ve biyofilm bozulmasına olan etkilerinin belirlendiği bildirilmiştir. *T. camphoratus* yağı 1,8-sineol ve α-pinen açısından zenginken, *T. carnosus* yağı yüksek miktarda borneol ve kamfen içermektedir. Her iki yağ da *Cryptococcus neoformans* ve dermatofitlere karşı daha aktif olduğu ve flukonazolden daha yüksek dozlarda ve MİK değerlerinin çok altında ve daha yüksek dozlarda *C. albicans* germ tüpü oluşumunu engellediği bildirilmiştir. Yağların önceden oluşturulmuş *C. albicans* biyofilmlerini bozduğu, keratinositlere karşı hiçbir toksisite gözlenmediği bildirilmiştir.[45]

T. capitatus, Cezayir'de "Zaatar" olarak bilinir ve baharat olarak kullanılır ve birçok biyolojik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Tabti ve ark. [46] tarafından yapılan çalışmada *T. capitatus*'un uçucu yağ, etanol ve hekzan ekstrelerinin antioksidan ve antifungal aktivitesi değerlendirilmiştir. Serbest radikal söndürme kapasitesini belirlemek için 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH); antifungal aktivitesini belirlemek için, radyal büyüme tekniği kullanıldığı bildirilmiştir. 80 µg/mL'lik konsantrasyonda etanol ekstresi yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Uçucu yağın, deneyde kullanılan tüm mantarlara karşı etkili olduğu, *Aspergillus niger, Aspergillus oryzae, Penicillium digitatum* ve *Fusarium solani*'nin büyümesi üzerindeki en yüksek inhibitör etki, 0.1 ile 0.5 µg/mL arasındaki konsantrasyonlarda olduğu bildirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre *T. capitatus*'tan elde edilen etanol ekstresinin potansiyel bir doğal antioksidan kaynağı olduğu, uçucu yağın ise birçok mantar fitopatojeninin tedavisinde, sentetik mantar öldürücülere göre alternatif olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.[46]

T. caespititius uçucu yağının ve α-terpineolün insan enfeksiyonları ve gıda kontaminasyonundan sorumlu maya, dermatofit ve *Aspergillus* suşlarına karşı bileşimi ve antifungal aktivitesinin incelendiği çalışmada, *Candida albicans*'ta sitotoksisite ve uçucu yağın maya-miselyum dönüşümü üzerindeki etkisinin de değerlendirildiği bildirilmiştir.

Uçucu yağın GC ve GC/MS ile yapılan analizlerinde, α-terpineol (%35.7) majör bileşen olarak tespit edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, *T. caespititius* uçucu yağının, α-terpineolün yanı sıra diğer bileşenlerin sinerjik etkisine bağlı olabilen geniş spektrumlu bir mantar önleyici aktiviteye sahiptir. Önemli bir virülans faktörü olan *C albicans*'taki dimorfik geçiş, uçucu yağ ve *α*-terpineolden etkilenmiştir. Filamentasyon, minimum inhibitör konsantrasyonundan on altı kat düşük konsantrasyonlarda neredeyse tamamen inhibe edilmiştir. Çalışmada, *T. caespititius* ve *α*-terpineol için gözlemlenen düşük sitotoksisite ve bunların antifungal aktiviteleri, mikoz tedavisi için yeni fitofarmasötiklerin geliştirilmesi ve gıda koruyucu olarak kullanılması ile uyumlu olabileceği bildirilmiştir.[47]

2.2. Antibakteriyel

T. pallidus, Rosmarinus officinalis, Linaria maroccana'nın uçucu yağ analizi ve MİK ve MBK'lerine bakıldığı bir çalışmada, uçucu yağların 1.3 mg/mL ila 72 mg/mL arasında orta düzeyde antibakteriyel aktivite gösterdiği, ikili kombinasyonlarının FICI'sının (fraksiyonel inhibitör konsantrasyon indeksi) farklı etkileşimlerinin olduğu bildirilmiştir. *T. pallidus* ve *L. maroccanas* uçucu yağ kombinasyonunun, *Pseudomonas aeruginosa,* ve *Klebsiella pneumoniae'*ye karşı sinerjistik etki, *Escherichia coli'*ye karşı ek bir etki; *L. maroccana* ve *R. officinalis* uçucu yağların karışımının, *E. coli* ve *P. aeruginosa'*ya karşı sinerjik etki ve *K. pneumoniae*'ye karşı ek bir etki; *R. officinalis* ve *T. pallidus* uçucu yağların kombinasyonu ise sadece *K. pneumoniae*'ye karşı sinerjik bir etki gösterdiği bildirilmiştir.[29]

Shanaida ve ark.[48] yaptığı çalışmada *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Enterococcus faecalis, Streptococcus pyogenes*'e karşı antimikrobiyal aktivitesine bakıldığı Lamiaceae familyasına ait bazı *Thymus* ve *Salvia* türlerinden *T. pulegioides* ile *Salvia sclarea*'nın en yüksek aktiviteye sahip olduğu inhibisyon zonunun 24.0-31.0 mm

aralığında olduğu ve *Staphylococcus aureus*'un suşları üzerinde en güçlü antimikrobiyal etkileri gösterdiği bildirilmiştir.[48]

Bir *in vitro* çalışmada, *T. vulgaris* L. ve *Origanum vulgare* L. uçucu yağlarının *Saccharomyces cerevisiae* mayasında hücre canlılığı ve enzimatik antioksidatif sistem üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda *T. vulgaris* L. (0.05 - 1.00 µl/mL) ve *Origanum vulgare* L. (0.05 – 0.70 µl/mL) uçucu yağları ile mayaların 24 saat boyunca büyümesi kontrol edildi. Bu çalışmada uçucu yağların kimyasal bileşimini ölçmek için gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) analizi kullanılmış ve *T. vulgaris* uçucu yağının ana bileşenleri karyofillen (%7.94), p-simen (%18.55) ve timol (%46.55); *Origanum vulgare* esansiyel yağında başlıca p-simen (%8.43) ve karvakrol (%69.99) bulunmuştur. Seçilen uçucu yağların *Saccharomyces cerevisiae*'nin büyümesini engelleyebilen en güçlü uçucu yağ, $MİK_{50}$ 0.468845 µl/mL ve $MİK_{90}$ 0.501845 µl/mL değerlerine sahip *O. vulgare* uçucu yağı idi. Ayrıca süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi değerlendirilen çalışmada *T. vulgaris* L. SOD seviyelerini 0.2, 0.4, 0.5 ila 0.9 µl/mL'de ve GPx üretimini 0.05 ila 0.7 µl/mL'de önemli ölçüde artırdığı ($P<0.001$); *O. vulgare* L. ise 0.05 ila 0.2 µl/mL'de ($P<0.001$) SOD üretimini önemli derecede artırdığı, ayrıca tüm deney gruplarında GPx konsantrasyonunu önemli ölçüde yükselttiği ($P<0.001$) bildirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen verilere göre seçilen uçucu yağların oksidatif strese karşı birinci sıra hücre savunma sistemini etkileyebilecek enzimatik antioksidanlar üzerinde önemli etkilere sahip olabileceği bildirilmektedir.[49]

Kovacevic ve ark.[50] *T. serpyllum* ve *T. vulgaris* ticari uçucu yağlarının antioksidan potansiyelinin beş *in vitro* deneyle değerlendirildiği çalışmada antibakteriyel aktivite mikrodilüsyon tekniği kullanılarak, antibiyotik duyarlılık testi ise Kirby-Bauer disk-difüzyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. *T. serpyllum*'da baskın bileşiklerin timol

(%45.22), p-simen (%23.83) ve *γ*-terpinen (%3.12) iken; *T. Vulgaris*'te timol (%54.17), *γ*-terpinen (%22.18) ve p-simen (%16.66) olduğu tespit edildiği bildirilmiştir. Uçucu yağlar, mastitis ile ilişkili ondört bakteriden IX *Streptococcus spp*. (*β*-hemolitik) 'ye en duyarlı olup, *T. serpyllum* ve *T. vulgaris* için sırasıyla 0.78/1.56 ve 0.39/0.78 mg/mL (MİK)/(MBK) değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir. *Streptococcus spp*. beta hemoliticus, *T. serpyllum* için MİK'ler 0.78 ila 1.56 mg/mL arasında değişirken, aynı yağ için MBK'ler 1.56 ila 12.5 mg/mL arasında olduğu bildirilmiştir. *T. vulgaris*'te ise, MİK'ler 0.39 ila 3.125 mg/mL arasında değişirken, MBC'ler 3.125 ila 6.25 mg/mL aralığındaydı. *T. vulgaris, E. coli, E. sakazakii* ve *Streptococcus spp.*'ye karşı daha aktifken, *Staphylococcus spp*.'ye karşı daha az etkili olduğu bildirilmiştir. Yapılmış çalışmada, test edilen uçucu yağların dikkate değer antioksidatif ve antibakteriyel aktivitelere sahip olduğu ve geleneksel mastitis tedavisine alternatif olarak farmasötik formülasyonun geliştirilmesinde kullanılabileceği bildirilmektedir.[50]

T. serpyllum'un uçucu yağının kimyasal bileşimininin tespit edildiği, biyolojik ve antibiyofilm aktivitesini bir MALDI-TOF MS Biotyper kullanarak analiz edildiği bir çalışmada, uçucu yağın ana bileşiklerinin timol, %18.8; karvakrol, %17.4; o-simen, %15.4; ve geraniol, %10.7 olduğu, serbest radikal temizleme aktivitesinin yüksek olduğu, en yüksek antimikrobiyal aktivitenin *Pseudomonas aeruginosa, Salmonella enteritidis* ve biyofilm oluşturan bakterilere karşı gözlendiği, *T. serpyllum* uçucu yağı uygulamasından sonra biyofilm yapısındaki değişiklikler inhibitör etkiyi doğruladığı ve en belirgin etkinin *Bacillus subtilis* biyofilminde gözlendiği ve buhar fazının mantar önleyici etkinliğinin, *Penicillium krustozum'*a karşı en etkili olduğu bildirilmiştir. *T. serpyllum'*un uçucu yağı, kök sebzelerin depolanmasında buhar fazında ve ayrıca ekmek üzerinde bir *Penicillium* büyüme inhibitörü olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir.[51]

T. vulgaris esansiyel yağının biyolojik aktivitesine bakıldığı çalışmada, *T. vulgaris* uçucu yağının ana bileşenleri timol (%48.1), *p*-simen (%11.7), 1,8-sineol (6.7), γ-terpinen (%6.1) ve karvakrol (%5.5) idi. Antioksidan aktivitesi %85.2 idi, bu da 479.34 TEAC'a karşılık geldiği; antimikrobiyal aktivite, 9.89 ila 22.44 mm arasındaki inhibisyon bölgeleri ile orta veya çok güçlü olduğu; En düşük MİK değerleri *B. subtilis, E. faecalis ve S. aureus'*a karşı olduğu; ekmek üzerinde yapılan antifungal analizde *T. vulgaris* uçucu yağının buhar fazının *Penicillium* cinsinin mikroskobik filamentli mantarlarının büyümesini engelleyebildiği, *S. marcescens'*e karşı antimikrobiyal aktivite, 62.5-500 µL/mL konsantrasyonlarda %46.78-87.80 inhibisyona sahip olduğu; MALDI TOF MS analizinde, sırasıyla beşinci ve dokuzuncu günden sonra biyofilm oluşturan bakterilerin *Pseudomonas fluorescens* ve *S. enteritidis*'in protein profilinde değişikliklere neden olduğunu bildirilmektedir. *T. vulgaris* uçucu yağının özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde gıdaların raf ömrünü uzatmak için doğal bir takviye olarak kullanılabileceği ifade edilmektedir.[52]

T. daenensis İran'da endemik bir *Thymus* türüdür ve halk hekimliğinde sindirim, gaz giderici, öksürük kesici, spazm önleyici ve balgam söktürücü özellikleri nedeniyle geleneksel olarak kullanılır. Antimikrobiyal, antioksidan ve antijenotoksik aktiviteler açısından biyolojik özellikleri, minimum inhibitör konsantrasyon, minimum bakterisidal konsantrasyon ve DPPH, *β*-karoten ve kuyruklu yıldız testleri kullanılarak değerlendirildiği çalışmada, *T. daenensis* en yoğun bulunan bileşenlerinin timol (%73.86) ve karvakrol (%51.89) olduğu; bakterisit aktivite değerlerinin 0.14 ila 5.00 mg/mL aralığında ve mantar öldürücü aktivite 0.17 ila 0.58 mg/mL aralığında olduğu; radikal giderme kapasitesinin (0.41-1.79 mg/mL), ağartma önleyici aktivitesinin (0.01-1.06 mg/mL) ve genoprotektif potansiyelinin (1.04-7.78 mg/mL) olduğu bildirilmiştir. *T. daenensis*'in antioksidan ve radikal temizleme kapasitesinin, bu türün oksidatif

hastalıklarda ve gıda bozulmalarının önlenmesinde doğal bir koruyucu olarak kullanılabileceği ifade edilmektedir.[53]

T. linearis'ten elde edilen sabit yağın analiz edildiği ve antibakteriyel aktivitesinin değerlendirildiği çalışmada, sabit yağın antibakteriyel aktivitesi, iki Gram pozitif ve altı Gram negatif bakteri suşuna karşı agar kuyu difüzyon yöntemiyle belirlenmiş ve standart olarak kullanılan siprofloksasine kıyasla *K. pneumoniae, P. aeruginosa, Y. enterokolit, S. paratyphi, S. typhi* ve *C. freundii*'ye karşı önemli aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Doymuş yağ asitlerinin toplam yüzdesinin %64.7 olduğu, bunların miristik asit (%3.0), pentadekanoik asit (%0.7), palmitik asit (%49.0), margarik asit (%1.0), stearik asit (%8.3), behenik asit (%0.3), trikozanoik asit (%0.3) ve tetrakozanoik asit (%2.1); Doymamış yağ asitlerinin ise heptadekenoik asit (%5.4), oleik asit (%9.2), eikozanoik asit (%2.6), erusik asit (%0.1), linoleik asit (%11.7), oktadekenoik asit (%0.2) ve linolenik asit (%6.0) olduğu bildirilmiştir.[54]

T. musilii Velen adlı kekikten elde edilen uçucu yağın ilk kez fitokimyasal bileşiminin tespit edildiği çalışmada, çeşitli gıda kaynaklı ve klinik patojenik mikroorganizmalara karşı antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerin test edildiği bildirilmiştir. Kekik yağı özellikle timol (%67.697) ve timil asetat (%12.993) açısından zengindir. ABTS ve β-karoten/linoleik asit antioksidan aktivite testlerinin sırasıyla IC_{50} değerlerinin ($5,6 \times 10^{-4}$ mg/mL) ve ($3,2 \times 10^{-3}$ mg/mL) olduğu bildirilmiştir. Timol-kemotip yağı, *Proteus mirabilis* için 21.33±1.52 mm'den *Candida vaginalis* suşu için 37.33±1.15 mm arasında değişen bir inhibisyon büyüme bölgesi ile test edilen tüm mikroorganizmalara karşı aktiftir. Genel olarak, test edilen yağın bakterisit ve mantar öldürücü aktiviteler sergilediği ve test edilen uçucu yağın sadece küçük bir miktarının test edilen mikroorganizmaların büyümesini engellemek için yeterli olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, moleküler yerleştirme sonuçlarında, biyoaktif bileşikler arasında, β-karyofillen'in

TyrRS, GLMS ve Gyrase enzimlerinin aktif bölge kalıntıları ile güçlü bir şekilde etkileşime girdiğini ve sonuç olarak bu uçucu yağın test edilen patojenlere karşı (özellikle *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* en yüksek inhibisyon potansiyeli ile *in vitro* sonuçları desteklediği bildirilmektedir.[55]

Üç farklı bölgeden toplanan *T. capitatus*'un uçucu yağlarının kimyasal bileşimininin analiz edildiği ve *H. pylori*'ye karşı antimikrobiyal aktivitelerinin belirlendiği çalışmada uçucu yağ bileşimi analizlerinde timol yüzdesi *T. capitatus*-Yedidalga (%51.9) ve *T. capitatus*-Yildirim (%57.1), *T. capitatus*-Bogaz/Girne (%47.2) olup, diğer uçucu yağ bileşenlerinin %15.1 (p-simen), %10.0 (γ-terpinen) ve %5.7 (karvakrol) izledi. Uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi, et suyu seyreltme yöntemiyle test edildiği ve *T. capitatus*-Boğaz/Girne'den elde edilen uçucu yağın, test edilen diğer uçucu yağlara kıyasla en düşük MİK ve MBK değerlerine sahip olduğu ve *H. pylori*'ye karşı en güçlü bakterisidal aktiviteyi gösterdiği bildirilmiştir.[56]

Transilvanya'nın üç farklı bölgesinden toplanan yabani *T. serpyllum* bitkilerinden elde edilen uçucu yağına coğrafi konumun etkisi ve enzim destekli ekstraksiyonun etkisinin karşılaştırılarak gerçekleştrildiği bir çalışmada, tüm bitkilerin karvakrol kemotip sınıfına ait olduğu bildiirlmiştir. Ana bileşenler karvakrol (%26.58-%47.62), p-simen (%8.61-18.97), metilkarvakrol (%8.81-13.35), timol (%1.6-%-11.07), γ-terpinen (%2.09-%7.55), β-bisabolen (%3.42-5.18), karyofillen (%3.17-%4.83)'dir. Çalışmada, enzimatik işlem kullanılarak, bazı bileşenlerin yüzdesinin değiştirildiği ve antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerde bir gelişme olduğu bildirilmiştir.[57]

T. vulgaris (kekik), *Cinnamomum zeylanicum* (tarçın) ve *Zingiber officinale*'den (zencefil) elde edilen uçucu yağların kontamine kanatlı eti ve yumurta tüketimine bağlı insan gıda kaynaklı hastalıkların neden olduğu *Salmonella enterica serovar enteritidis* enfeksiyonları üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı çalışmada,

siprofloksasin kontrolünde minimum inhibitör konsantroyonun ölçüldüğü bildirilmiştir. Bu *in vitro* hücre kültürü çalışmasında, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür hücre canlılığı testi kullanılarak tüm uçucu yağların sağlıklı fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkileri araştırıldı. Tarçın yağı tüm konsantrasyonlarda antibakteriyel etkiler gösterirken, zencefil yağı sadece kekik yağı ile %50 konsantrasyonda kombinasyon halinde etkili olmuştur. Ayrıca kekik yağının %50 konsantrasyonda bakterisidal ve %25 konsantrasyonda bakteriyostatik olduğu tespit edilmiştir. Yağların hiçbirinin fibroblastlar için sitotoksik değildir.[58]

T. vulgaris L.'nin antimikrobiyal, spazmolitik, antioksidan, antiinflamatuar, antinosiseptif, antitümör gibi tıbbi amaçlarla kullanılan ve Alzheimer hastalığının tedavisinde faydalı etkileri olabilen aromatik bir bitki olduğu bildirilmektedir.[32]

T. transcapicus türünün Mikrodalga Destekli Hidrodistilasyon (MAHD) ve Clevenger tipi bir aparatta hidrodistilasyon yöntemleriyle elde edilen uçucu yağların antioksidan özelliklerini DPPH ve FRAP olmak üzere iki yöntemle ölçüldüğü bildirilmiştir. Karşılaştırma için pozitif kontrol olarak BHT kullanılmıştır. Ayrıca antibakteriyel aktiviteler, iki Gram pozitif bakteriye (*Staphylococus aureus* ve *Listeria Monositogenes*) ve iki Gram negatif bakteriye (*Salmonella enterica, Escherichia coli*) karşı minimum inhibitör ve bakterisidal konsantrasyon (MİK ve MBK) ve disk ve kuyu difüzyon yöntemi ile taranmıştır. İki ekstraksiyon yönteminin karşılaştırılması sonucunda, MAHD yönteminde antioksidan ve antimikrobiyal aktivitenin, hidrodistilasyon yönteminden daha fazla olduğu bildirilmiştir.[59]

Kekik bitkinin araştırıldığı bir çalışmada, *T. vulgaris* L. bitkisnin distilasyonla elde edilen uçucu yağının analizinde ana bileşen olarak timol (%67.7) ve γ-terpinen (%8.2) içerdiği, esansiyel yağın, antibiyotiğe dirençli mikroorganizma suşlarına karşı yüksek bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. En yüksek antimikrobiyal aktivitenin, *S.*

aureus'un tipik ve klinik suşlarına ve mikroskobik *Cancida* cinsi mantarlara karşı olduğu, *S. aureus*'a karşı yüksek antibiyofilm oluşturucu aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Kekik esansiyel yağının hem fırsatçı enfeksiyonların bakteriyel patojenlerine hem de mikroskobik mantarlara karşı antimikrobiyal ve antibiyofilm oluşturma aktiviteleri, geniş spektrumlu bir ajan olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.[60]

Tunus'ta farklı iklim bölgelerinde yabani olarak büyüyen, on iki *T. algeriensis* popülasyonunun araştırıldığı çalışmada, fenolik bileşimleri, antioksidan, anti-asetilkolinesteraz ve antibakteriyel aktiviteleri karşılaştırıldığı bildirilmiştir. Bir diyot dizi dedektörü ve bir elektrosprey kütle spektrometresi (UYBSK-DAD-ESI/MSn) tekniği ile birleştirilmiş ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile fenolik içerik belirlenmiştir. Rosmarinik asit, çoğu popülasyonda ana fenolik bileşik (383.8-1157.8 µg/mL ekstre) olduğu, ancak kurak bölgede olanların, karvakrol (1374.7 ve 2221.6 µg/mL ekstre) olduğu diğer bölgelerde olmadığı bildirilmiştir. *T. algeriensis* metanolik ekstrelerinin önemli bir antioksidan ve anti-asetilkolinesteraz aktivitelerine sahip olduğu ve popülasyonlar arasında fenolik içerikleri ile paralel olan önemli farklılıklar gözlendiği ifade edilmiştir. Yedi bakteriye karşı test edilen ekstrelerin antibakteriyel aktivitesi, yalnızca kurak iklimden toplanan popülasyonlarda mevcut olduğu ve esas olarak karvakrol varlığı ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir. Ekstrelerin, tüm bakterilere karşı bakteriyostatik bir etki ortaya çıkardığı (MİK = 1.4 mg/mL), bakterisidal aktivitenin (MBK = 1.4mg/mL), gram-negatif bakteri *Escherchia coli* ile sınırlandığı bildirilmiştir.[61]

T. daenensis'in, geleneksel tıpta kemik ve eklem deformitelerinin ve ağrıların tedavisinde eski zamanlardan beri kullanıldığı bildirilmektedir. *T. daenensis*'in geleneksel kullanımlarını ve farmakolojik özelliklerini osteoartritli hastalarda bitkinin etkisini incelemek amacıyla yapıldığı bu çalışmada, osteoartritli 120 hasta 3 gruba ayrılmıştır. Her gruptaki hastaların, oral selekoksib kapsülleriyle birlikte 6 hafta boyunca %5 *T.*

daenensis jel, %1 diklofenak jel veya plasebo ile tedavi edildiği, eklemdeki ağrının değerlendirilmesi için VAS skoru (Visual analogue scale) ve WOMAC (Western ontario and mcMaster) anketinin farklı boyutlarına göre farklı aralıklarla değerlendirildiği bildirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre ağrı düzeyi ($P < 0.005$), gün içindeki tutukluk ($P < 0.05$), sabah tutukluğu ($P < 0.05$) ve fiziksel performans ($P < 0.05$) gruplar arasında anlamlı olarak farklı olduğu, *T. daenensis* jeli, diklofenak grubuna göre eşit ve anlamlı bir fark olmaksızın hastalarda semptomları iyileştirdiği bildirilmiştir.[62]

Tarihi sanat eserleri malzemesini etkileyen ana faktörlerden biri, arşivlerde, müzelerde veya özel koleksiyonlarda bakteri ve mantarlar tarafından gerçekleştirilen biyolojik bozulmadır. Çeşitli mikroorganizmalar, lifler, ahşaplar ve boyalar gibi doğal organik malzemelerin yanı sıra taş nesnelerde fiziksel, kimyasal, mekanik ve estetik özelliklerin bozulmasına sebep olur. Tarihi sanat eserlerini etkileyen mikroorganizmalarla mücadelede alternatif bir doğal araç olarak kullanılmasının araştırıldığı bu çalışmada, yabani kekik esansiyel yağının antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin belirlendiği bildirilmiştir. Kuzey Sicilya'da yabani olarak yetişen *T. capitatus*'un uçucu yağı, farklı büyüme zamanlarında toplanan toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon ile elde edilmiştir. Uçucu yağda elli beş bileşik tanımlanmış, toplam yağ içeriğinin yüksek oranda karvakrol (%81.2-14.2), c-terpinen (%34.4-2.6) ve p-simen (%22.8-5.0) içerdiği bildirilmiştir. Uçucu yağ verimi ve bileşimi bitkinin vejetasyon süresi boyunca değiştiği, fenol içeriği açısından bu kekik türünü hasat etmek için en iyi zamanın, tam çiçeklenme sırasında veya hemen öncesi olduğu bildirilmiştir. Yağlardan Tc2 ve Tc3 kodlu olanların, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus epidermidis*'e karşı iyi bir antibakteriyel aktivite ve *Fusarium oxysporum* ve *Aspergillus niger*'e karşı mükemmel antifungal özellikler gösterdiği bildirilmiştir.[63]

Çoklu ilaç direncinde bla(ESBL) üreten *Enterobacteriaceae*'nin izolatlarının tek başına ve sefotaksim ile kombinasyon halinde Slovak *T. vulgaris* uçucu yağına duyarlılığının değerlendirildiği çalışmada, uçucu yağın 21 antibiyotiğe duyarlılığı disk-difüzyon testi ile belirlendiği bildirilmiştir. *ß*-laktamlara direnç için gen karakterizasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu ile gerçekleştirildiği, sinerjik etkileşimin dama tahtası testi ile belirlendiği bildirilmiştir. Timol (%34.5), p-simen (%22.27) ve linalool (%5.35), uçucu yağda bulunan ana bileşenlerdir. Tanımlanan suşların çoklu ilaca dirençli olduğu, uçucu yağın sırasıyla 24-40 mm/10 µL ve 2.87-11.5 µg/mL aralığında inhibisyon bölgeleri ve MİK değerleri ile bla(ESBL) üreten izolatlar da dahil olmak üzere tüm çoklu ilaca dirençli suşlarına karşı yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmada, uçucu yağın, sefotaksim ile kombinasyon halinde, bla(SHV-12) üreten *Escherichia coli*'ye (FICI 0.28) karşı sinerjistik bir etki ve ESBL üreten *Enterobacter cloacae*'ye karşı ilave bir etki gösterdiği bildirilmiştir.[64]

Kuzeybatı Cezayir'in iki bölgesinde yetişen *T. vulgaris* L.'nin uçucu yağlarının kimyasal bileşiminin analiz edildiği, antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitelerini değerlendirdiği çalışmada kekik yağlarının kimyasal bileşiminin %99.99'u aydınlatılmış ve elli bir bileşik tespit edilmiştir. Karvakrol, her iki yağda da baskın bir bileşik (%89.15 ve %82.42) olduğu bildirilmiştir. Antimikrobiyal aktivite testi, disk difüzyonu ve broth makrodilüsyon yöntemleri ile incelenmiş ve yedi referans suş üzerinde ve özellikle *Bacillus cereus* ATCC 10876 ve *Candida albicans* ATCC 10231 üzerinde güçlü bir inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir. Uçucu yağların iki normal ve iki kanser hücre hattı üzerindeki sitotoksik aktiviteleri, köpek B-hücresi lenfoma hücre hattı (CLBL-1) hücrelerinde IC_{50} değerleri 35.39±9.0 (UY.TT) ve 84.51±3.2 (UY.TM), murin fibroslat hücre hattında IC_{50} 116.97±2.7 (UY.TT) ve 146.29±0.5 (UY.TM) tespit edildiği bildirilmiştir.[65]

T. eigii'nin (Lamiaceae) uçucu yağı hidrodistile edildiği ve GC/MS kullanılarak karakterize edildiği çalışmada uçucu yağın %100'ünü oluşturan kırk üç bileşen belirlendiği bildirilmiştir. Baskın bileşenler timol (%24.77), karvakrol (%14.00), p-simen (%10.91), γ-terpinen (%6.53) ve borneol (%6.48) idi. Uçucu yağ, test mikroorganizmaları üzerinde farklı seviyelerde antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *C. albicans, C. parapsilosis* ve *S. aureus* ATCC 29213, sırasıyla 0.07/0.18 mg/mL, 0.18/0.36 mg/mL ve 0.36/1.22 mg/mL ile MİK/MFK/MBK değerlerine sahipti. *T. eigii'*nin uçucu yağı, tüm bitki türlerinin fidelerinin çimlenmesini ve büyümesini engelleyerek belirgin herbisidal aktiviteler sergilediği bildirilmiştir.[66]

T. capitatus, Tunus'ta çeşitli gıda ürünlerini tatlandırmak ve korumak için kullanılan bir kekik türüdür. *T. capitatus* ekstresinden elde edilen saf bileşiklerin *in vitro* herpes simpleks virüsü Tip 2 (HSV-2) enfeksiyonuna karşı antiviral aktivitesinin incelendiği ve etki mekanizmalarının belirlendiği çalışmada, en düşük EC_{50} değerini (2.3g/mL) gösteren etanol ekstreleri ile uçucu yağ HSV-2 enfeksiyonuna karşı inhibitör aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca etanol ekstresinden üç saf bileşik izole edildiği ve antiviral aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmada *β*-sitosterol, sinnamaldehit ve karvakrolün orta düzeyde antiviral etki gösterdiği bildirilmiştir. Etki mekanizmasının araştırıldığında ise üç bileşiğin de virüs parçacıklarının enfektivitesini doğrudan etkisiz hale getirdiği bildirilmiştir. Araştırmaya göre, anti-HSV-2 olarak *T. capitatus* etanol ekstresinin kullanılmasının uygun olacağı bildirilmiştir.[67]

YBSK ile *T. vulgaris* uçucu yağının saflaştırıldığı çalışmada, *n*-heptan, etil asetat, metanol ve su (5:2:5:2 ve 4:1:4:1 h/h) karışımlarından öjenol, 1-okten-3-ol, borneol, terpinen-4-ol, kafur ve timol; *n*-hekzan asetonitril ve tert-butil metil eter (1:1:0.1 v/v) karışımından, karvakrol, borneol, linalil asetat, karyofillen oksit, p-simen ve okaliptol elde edildiği bildirilmiştir. Fare modelinde antikonvülzan aktivitelerin belirlenmesi

amacıyla, fareler maksimum elektroşok kaynaklı nöbet testinde değerlendirilmiş ve yağların testlerden 15 ve 30 dakika önce uygulandığında (sırasıyla %50 ve %62.5) MES kaynaklı nöbetlere karşı koruma sağladığı bildirilmiştir. İzolatlar arasında borneol, timol ve öjenol nöbetlere karşı en güçlü korumayı sergilediği, ayrıca, linalool, pKM101 plazmitinin transferini %84 oranında azaltma yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir. Baca ve kavrama gücü testlerinde, ne uçucu yağ ne de tek bileşikler için CNS'ye yönelik akut toksik etkilerin olmadığı ve *T. vulgaris* uçucu yağının ve izole terpenoidlerin klinik öncesi taramasında, uçucu yağın nöbetlere karşı kısmi koruyucu aktiviteye sahip olduğu ve YBSK ile uçucu yağın izolasyonu için uygun olduğu bildirilmiştir.[68]

T. capitatus ve *T. algeriensis*'ten ekstre edilen uçucu yağların antibakteriyel aktivitesi *Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı incelendiği çalışmada, disk yöntemi ile, *T. capitatus* uçucu yağının güçlü bir antibakteriyel etkiye sahip olduğu, *T. algeriensis* uçucu yağının ise orta düzeyde bir aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Uçucu yağın, yalnızca *E. coli* ve *S. typhimurium*'a karşı bakteriyostatik bir etki ($p<.001$) gösterdiği, bununla birlikte, daha yüksek konsantrasyonlarda (%1 ve %3 [v/m]), *T. capitatus* uçucu yağının *P. aeruginosa* hariç tüm suşlara karşı bakterisidal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, her iki kekik uçucu yağının gıda endüstrilerinde mikrobiyal bozulmadan gıdalar için çok umut verici bir doğal koruyucu olarak kabul edilebileceğini ve ayrıca gıda kaynaklı patojenlerin büyümesini engellemeye veya önlemeye hizmet edebileceğini bildirilmiştir.[69]

Allorhizobium (Agrobacterium) vitis, dünya çapında asma büyümesini ve üretimini etkileyen asma taç safra hastalığına neden olan konakçıya özgü patojenik bir bakteridir. Farklı aromatik bitki esansiyel yağlarının antibakteriyel aktiviteleri *in vitro* ve in planta *A. vitis*'e karşı test edilen çalışmada, uçucu yağlar arasında *O. compactum* ve *T.*

vulgaris, sırasıyla 0.156 ve 0.312 mg/mL MİK ile en önemli *in vitro* antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bu iki uçucu yağın (1:1) sinerjik bir etkisi gözlemlendiği ve dama tahtası testiyle doğrulandığı, *O. compactum* ve *T. vulgaris*'in uçucu yağlarında ana bileşiklerin sırasıyla karvakrol (%61.8) ve timol (%47.8) olduğu ve bunların karşılık gelen uçucu yağların antibakteriyel aktivitelerinden büyük ölçüde sorumlu oldukları bildirilmiştir.[70]

T. sipyleus Boiss. subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* Sivas'ta yetişen endemik bir takson olan ve yerel olarak kekik kokulu limon olarak bilinen Lamiaceae familyasına ait, rinosinüzite karşı halk hekimliğinde kullanılmaktadır. Çalışmada, sinüzite karşı halk ilaçları kullanımını doğrulamak için, uçucu yağın *in vitro* antimikrobiyal aktiviteleri, *Staphylococcus aureus,* metisiline dirençli *S. aureus, S. epidermidis, Streptococcus pyogenes, S. pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Haemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhal* gibi seçilmiş rinosinüzit ile ilişkili suşlara karşı agar difüzyon, mikrodilüsyon ve buhar difüzyon yöntemleri ve *in vitro* anti-inflamatuar aktivite, uçucu yağın 5-lipoksijenaz inhibitör etkisi ile spektrofotometrik olarak değerlendirildiği bildirilmiştir. Ayrıca, yağın buhar fazındaki uçucuların bileşimi, antimikrobiyal buhar difüzyon yöntemi koşullarına uygun olarak 15. dakika ve 24 saat sonra üst boşluk-katı faz mikro ekstraksiyonu (HS-SPME-GC/MS) ile belirlendiği ana bileşenin timol (%66.2) olduğu bildirilmiştir. HS-SPME yönteminde uçucu yağın bileşiminde 15. dakikada P-simen (%26.1) ve γ-terpinen (%26), 24 saat sonra ise timol (%75.3) olduğu bildirilmiştir. *S. aureus, S. pyogenes* ve *M. catarrhalis* rinosinüzit patojenlerine karşı antibakteriyel aktivite, 160 ila 1250 µg/mL minimum inhibitör konsantrasyonları arasında değiştiği ve yağın antienflamatuar aktivitesi 100 µg/mL'de %12.1±1.8 olarak belirlendiği bildirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre uçucu yağın buhar fazında sinüzite karşı

geleneksel kullanımını destekleyen *in vitro* antimikrobiyal ve antienflamatuar potansiyele sahip olabileceği bildirilmiştir.[71]

Acanthamoeba türleri, çevrede yaygın olarak bulunan ve ciddi insan enfeksiyonlarına neden olan serbest yaşayan amiplerdir. *Acanthamoeba* enfeksiyonlarının tedavisi her zaman çok zordur ve sürekli etkili değildir. *Acanthamoeba*'ya karşı daha etkili ilaçlar geliştirilmek amacıyla *T. capitatus* L'den elde edilen etanolik-sulu ekstresinin ve uçucu yağın anti-Acanthamoeba aktivitesinin incelemek amacıyla yapılan çalışmada, Uçucu yağın, 2.73 µg/ml'lik bir IC_{50} ile en iyi aktiviteyi gösterdiği, kekik ekstresinin biyoaktivite güdümlü izolasyon çalışmasıyla *Acanthamoeba*'nın trofozoit aşamasına karşı timol ve 2,3-dihidroksi-p-simen iki aktif bileşiğin olduğu bildirilmiştir.[72]

T. dacicus Borbas (Lamiaceae) çiçekli toprak üstü kısımlarının metanol kstresi ve uçucu yağının fonksiyonel gıda bileşenleri, kimyasal bileşimi ve antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin ilk kez araştırıldığı çalışmada, ekstrenin YBSK analizinde, en yüksek miktarda rosmarinik asit (71.33 ±1.11 mg/g) bulunduğu, GC ve GC-MS ile analiz edilen yağda monoterpen geranial (%34.4) ve neral (%23.9) olduğu bildirilmiştir. Ekstre, 5.16 ± 0.19 mmol Fe^{2+} FRAP değeri, SC_{50} 18.85 µg/mL'lik $^{\bullet}OH$ radikali ve SC_{50} 28.04 µg/mL DPPH radikali ile belirgin antioksidan aktivite gösterdiği; test edilen on mikrobiyal suşun sekizi, mikrodilüsyon testinde yağa duyarlı olduğu; dama tahtası testinde yağ ve vankomisin/gentamisin kombinasyonu için metisiline dirençli *Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli*'ye karşı sinerjizm gösterdiği bildirilmiştir.[73]

T. munbyanus subsp. *coloratus* fitokimyasal açıdan ilk kez karakterize edildiği çalışmada, çiçek salkımları ve vejetatif kısımlarından elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimlerinin GC/MS ile analiz edildiği, yeni bir kemotip, borneolün ilk kez tespit

edildiği bildirilmiştir. Ayrıca çalışmada, DPPH, ABTS ve FRAP, disk difüzyonu ve MTT yöntemleri ile değerlendirildiği; uçucu yağların tümör hücreleri üzerindeki antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksisite gibi biyolojik aktivitelerinin değerlendirildiği bildirilmiştir. Biyolojik çalışmaların sonuçlarına göre, uçucu yağın *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* ve *Candida albicans* (9 - 10 mm aralığında inhibisyon zonu çapı) üzerinde orta derecede bir inhibitör etki ve A375 insan melanom hücreleri üzerinde kayda değer sitotoksisiteye (46.95 µg/mL IC_{50}) sahip olduğu bildirilmiştr.[74]

Benchabane ve ark.[75] tarafından yapılan çalışmada, *T. pallescens'*den farklı hidrodistilasyon (0.5, 1, 2 ve 3 saat) süreleri ile izole edilen uçucu yağların, uçucu yağ bileşimleri ve bunların antioksidan, antimikrobiyal ve böcek öldürücü aktiviteleri incelendiği bildirilmiştir. Yağların kimyasal bileşimleri GC ve GC-MS ile belirlendiği, yağlardaki baskın bileşenlerin karvakrol (%63.3-68.2), *γ*-terpinen (%6.9-9.1), p-simen (%6.2-10.3) ve timol (%6.5-7.5) olduğu bildirilmiştir. Antioksidan kapasitenin dört yöntemle test edildiği, antimikrobiyal aktivite, iki gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis*) ve bir gram negatif (*Escherichia coli*) ve bir maya (*Candida albicans*) olmak üzere üç bakteriye karşı test edildiği bildirilmiştir. Un böceği *Tribolium confusum Jacquelin du Val*'e karşı insektisidal aktivite, doğrudan temas uygulaması ve fumigant yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. 30. dakika ve 1 saat boyunca ekstrakte edilen uçucu yağlar, kullanılan tüm bakterilere karşı en etkilidir. *T. confusum*'a karşı toksisite testleri, sırasıyla 3 saat ve 30 dakika boyunca izole edilen yağların, temas yöntemi ve fumigant testi ile en yüksek ölüm oranlarına neden olduğu bildirilmiştir.[75]

T. serpyllum, T. algeriensis ve *T.vulgaris*'ten elde edilen uçucu yağların araştırıldığı bir çalışmada; GC/MS analizinde, timolün *T. algeriensis, T. vulgaris* ve *T. serpyllum*'un ana bileşeni olduğunu ve uçucu yağlarda sırasıyla %56.0, %48.9 ve %38.5 oranda yer aldığı bildirilmiştir. Üç uçucu yağın tümünün, test edilen tüm suşlara karşı

önemli bir antimikrobiyal aktivite sergilediği, *T. serpyllum* uçucu yağının en güçlü olduğu (MİK 2.5-5 µg/mL, MBK 5-10 µg/mL; MİK 1-2 µg/mL, MFK 2-4 µg/mL). Ek olarak, *T. serpyllum* yağı, yürütülen tüm deneylerde en yüksek antioksidan aktiviteyi gösterdiği ve test edilen tüm hücre hatlarına karşı (GI_{50}7.02-52.69 µg/mL) en etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, uçucu yağların hiçbiri domuz karaciğeri hücre kültürü için testinde konsantrasyonlarda (>400 µg/mL) toksisite göstermediği bildirilmiştir.[76]

T. riatarum uçucu yağının *in vitro* antibakteriyel aktivitesinin değerlendirildiği çalışmada, uçucu yağın MİK'leri 3.57 mL/L ila 7.5 mL/L arasında değiştiği bildirilmektedir. Bununla birlikte, *Pseudomonas aeruginosa* en düşük duyarlılığı gösterdi ve yalnızca yüksek konsantrasyonlarda (MİK > 7.5 mL/L) inhibe edildi. *T. riatarum* uçucu yağının fitokimyasal analizinde, başlıca borneol (%41.67), terpinen-4-ol (%8.65) ve trans-karyofillen (%7.59) dahil olmak üzere 20 bileşenin tespit edildiği bildirilmiştir. *T. riatarum* uçucu yağın varlığında ölçülen 260 nm'de soğuran sitoplazmik materyalin salınımı, yağ konsantrasyonuna bağlı olarak artmıştır. Uçucu yağa dirençli Gram negatif bakterilerin akış pompa sistemlerini bloke etme yeteneği de incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre fenilalanin arginil ß-naftilamid gibi bir dışa akış pompası inhibitörünün varlığında uçucu yağ aktivitesinin önemli ölçüde arttığı, MİK/4'te kullanılan test edilen uçucu yağ, birkaç dirençli izolatın kloramfenikol duyarlılığını artırabildiği bildirilmiştir. Bu sonuçlarta göre, uçucu yağın bakteriyel membranı bozan dışa akış pompası aktivitesini geçirgen hale getirebildiğini ve çoklu ilaca dirençli bakterilere karşı geleneksel antibiyotiklerle kombinasyon halinde kullanılabileceği bildirilmiştir.[77]

2.3. Antiobez

*T. vulgaris'*in. obez sıçanların beslenme parametreleri üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada, her grupta 6 sıçan içeren 5 grupta yaklaşık 200 gram ağırlığında 30 erkek sıçanı olduğu, Grup (G1) sıçanları negatif kontrol grubu (N-kontrol) olarak bazal diyetle

beslenirken, grup (G2) sıçanları yüksek yağlı diyetle (yağ yüzdesi %15) (P-kontrol) beslendiği, (G2)'de kullanılan diyetin aynısı (G3) grubuna da mide tüpü kullanılarak orlistat takviyesi (2mg/Kg BW sıçan/gün) ile birlikte verildiği, G4 ve G5 grup sıçanlarına yüksek yağlı diyet verildiği ve sırasıyla kekik tozu (3 g/100 g diyet) ve kekik esansiyel yağı (0.6 g/100 g yağ) ile desteklendiği bildirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda, kuru kekik tozu bileşiminin yüksek konsantrasyonda ellagik asit ve salisilik asit gibi fenolik bileşikler içerdiğinin yanı sıra yüksek konsantrasyonda flavonoidlerin hesperidin ve Kekik esansiyel yağının ana bileşeni timol olduğu gösterilmiştir. 8 hafta sonra, yüksek yağlı diyet ile beslenen ve farklı tedaviler (G3, G4 ve G5) ile desteklenen sıçanların, glikoz seviyelerinde önemli bir düşüş gösterdiği, ek olarak, lipid profilleri, karaciğer fonksiyonları ve toplam antioksidan kapasitesinde iyileşme gösterdiği; bununla birlikte, kekik tozu ve uçucu yağ ile tedavi edilen grupların kanında katalaz ve glutatyonun azaltılmış aktivitelerin önemli ölçüde yükseldiği, ayrıca, tedavi edilen gruplarda malondialdehitin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Redoks enzimlerinin indüksiyonu, bitkilerin antiperoksidatif etkisini değerlendirmek için güvenilir bir belirteç olarak hizmet ettiği, dolayısıyla bu çalışmada, kekik tozu ve uçucu yağ tedavisinin obezite ile ilişkili histopatolojik ve karaciğer anormalliklerinin azaltılmasında önemli bir rolü olabileceği ifade edilmiştir.[31]

2.4. Antioksidan

T. vulgaris L. uçucu yağının, muskarinik bir reseptör antagonisti olan ve hafıza bozukluğuna neden olan skopolamin (100 μM) ile indüklenmiş zebra balığı (Danio rerio) bellek bozuklukları modeli kullanılarak kolinerjik nöronlar üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada, uçucu yağ (25, 150 ve 300 μL/L), 13 gün boyunca günde bir kez zebra balığına daldırıldığı bildirilmiştir. Uzamsal bellek, Y-labirent testi ve yeni nesne tanıma testi (NOR) kullanılarak değerlendirilmiş, Yeni tank dalış testinde (NTT) kaygı

ve depresyon ölçülmüştür. Zebra balığı beynindeki asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi ve oksidatif stres yanıtı belirlenmiştir. Çalışmada uçucu yağın, amnezili zebra balıklarında bellek açıklarının ve beyin oksidatif stresinin yönetiminde önleyici ve/veya terapötik potansiyele sahip olabileceği bildirilmiştir.[32]

T. sipyleus Boiss. subsp. *rosulans* (Borbas) *Jalas* (TS), Türk halk hekimliğinde cilt yaraları da dahil olmak üzere çeşitli şikayetlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir bitkidir. *T. sipyleus* 'un yaygın geleneksel kullanımına rağmen, bu bitkinin iyileşme süreci üzerindeki etkinliğini doğrulayan herhangi bir bilimsel rapor bulunmamaktadır. Bu çalışmada, *T. sipyleus*'den elde edilen farklı ekstraktların yara iyileşmesi sırasında biyolojik olaylar üzerindeki etkilerini hücresel bazda incelendiği bildirilmiştir. Bu kapsamda ekstrelerin proliferatif aktivitelerinin yanı sıra yara kapanması ve hidroksiprolin sentezi üzerine etkileri belirlenmiştir. Ayrıca antioksidan, antibakteriyel ve antiinflamatuar aktiviteleri değerlendirilmiştir. Kaynatma ve infüzyon ekstrelerinin en yüksek miktarda fenolik madde içerdiği ve DPPH radikaline karşı en güçlü aktiviteyi gösterdiği bildirilmiştir. Tüm ekstreler, hem birlikte tedavi hem de ön tedavi protokollerinde yalnızca H_2O_2 ile tedavi edilen gruplara kıyasla hücre canlılığını artırarak hidrojen peroksitin (H_2O_2) neden olduğu hasara karşı tam koruma sergilemiştir. Ekstrelerin hiçbirinin sitotoksik aktivite göstermediği ve *T. sipyleus* 'den elde edilen ekstrelerin çoğunun fibroblast proliferasyonunu ve göçünü uyardığı bildirilmiştir. Tüm *T. sipyleus* ekstreleri, tümör nekroz faktörü-α (TNF-α) ve nitrik oksitin (NO) aşırı üretimini baskılayarak antiinflamatuar aktivite göstermiştir. Hidroksiprolin sentezi üzerinde en belirgin aktivite kaynatılarak elde edilen ekstrede gözlenmiştir. Özetle, *T. sipyleus* ekstrelerinin fibroblast göçünü, proliferasyonunu ve kollajen sentezini artırarak ve ayrıca proinflamatuar sitokinleri baskılayarak iyileşme sürecini destekleyebildiği gözlemlendiği bildirilmiştir.[78]

T. willdenowii bitkisinin tüm gövde, yaprak, çiçekler ve gövdesinden ayrı ayrı elde edilen uçucu yağlarının analizinin yapıldığı çalışmada, tanımlanan tüm bileşenlerin (%96.3-97.7) 33 bileşen içerdiği, ana bileşenlerin timol (%35.5-47.3), p-simen (%13.9-23.8), γ-terpinen (%8.9-20.3) olduğu bildirilmiştir. Antioksidan deneylerinde, test edilen tüm *T. willdenowii* uçucu yağları güçlü aktiviteler göstermiştir. *T. willdenowii* uçucu yağlarının antimikrobiyal etkisi, *Proteus mirabilis* (ATCC 35659), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Candida albicans* (ATCC 10231), *Bacillus cereus*'un (ATCC 10876) ve *Aspergillus brasilliensis* (ATCC 16404) izole klinik suşlarına karşı test edilmiş ve *T. willdenowii* uçucu yağları test edilen tüm bakterilere karşı 6.9 ila 27.6 μg/mL($^{-1}$) MIK ile bir inhibisyon etkisi gösterdiği bildirilmiştir.[79]

T. vulgaris ekstresinin (TE) oksitetrasiklin (OTC) ile stres oluşturulmuş gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada, bağışıklık parametreleri, oksidatif stres ve enzimatik değişiklikleri belirlendiği bildirilmiştir. Balıklar, 2 hafta boyunca OTC (0 ve 2.5 g/kg) ve TE (0, 5, 10 ve 20 g/kg) diyetleri alan sekiz işleme ayrıldı. OTC, serum alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) aktivitelerini ve kortizol ve glikoz seviyelerini önemli ölçüde arttırdığı; ancak, TE bu değişiklikleri önemli ölçüde bastırdığı; OTC bağırsak katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitelerini önemli ölçüde azalttığı, ancak TE, bağırsak katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitelerini önemli ölçüde artırdığı; OTC, bağırsak süperoksit dismutazını (SOD) önemli ölçüde azalttığı ve bağırsak glutatyon-s-transferaz (GST) aktivitelerini, malondialdehit içeriğini ve kan monosit yüzdesini artırdığı; TE bu değişiklikleri önemli ölçüde azalttığı; TE, serum toplam proteinini, toplam Ig'yi, lizozim ve ACH50'yi ve beyaz kan hücrelerini önemli ölçüde artırdığı; OTC, serum lizozim ve ACH50 aktivitelerini ve beyaz kan hücrelerini ve nötrofil yüzdesini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir. Sonuç olarak, OTC

uygulaması balık sağlığının bozulması ile ilişkili olabilecek immünosupresyona neden olduğu, TE, alabalığın doğuştan gelen bağışıklık ve antioksidan durumunu arttırdığı ve OTC'nin neden olduğu sağlık ve bağışıklık bozulmasına karşı koyma yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir.[80]

Murcia'nın (GD İspanya) çeşitli bölgelerinde yetişen İspanyol mercanköşkünden (*T. mastichina*) elde edilen uçucu yağların bileşimleri, antimikrobiyal ve antienflamatuar aktivitelerinin incelendiği çalışmada, 1,8-sineol ve linaloolün ana bileşen olduğu bunu α-pinen, *β*-pinen ve α-terpineol izlediği, (-)-Linalool, (+)-*α*-terpineol ve (+)-*α*-pinen en bol bulunan enantiyomerler olduğu bildirilmiştir. *T. mastichina* uçucu yağlarının ve bileşiklerinin antioksidan kapasiteleri beş yöntemle ölçüldüğünde, linalool, linalil asetat, α-terpinen ve *γ*-terpinen antioksidan aktiviteler gösterdiği, Dört *T. mastichina* uçucu yağının tümünün hem lipoksijenaz hem de asetilkolinesteraz enzimlerini inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca bornil asetat ve limonenin en yüksek lipoksijenaz inhibisyonunu gösterdiği ve 1,8-sineolün en iyi asetilkolinesteraz inhibitörü olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, bu uçucu yağların, *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans*'ın büyümesini engellediği bildirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre bu uçucu yağların gıda, kozmetik ve ilaç gibi üretilmiş ürünlerde potansiyel kullanılabileceği bildirilmiştir.[81]

Fas'ta endemik yetişen *T. riatarum*'un su, metanol, etanol ve etil asetat ekstrelerinin total fenolik, flavonoid içeriği ve antioksidan özelliğini belirlendiği çalışmada, antioksidan aktivite, serbest radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) inhibisyonu, ferrik indirgeme/antioksidan güç (FRAP) testleri ve toplam antioksidan kapasite ölçümü olmak üzere üç ayrı yöntem kullanılarak değerlendirildiği, total polifenol içeriği, Folin-Ciocalteu tahlili kullanılarak ölçüldüğü, total flavonoid içeriği ise alüminyum klorür kolorimetrik testi ile ölçüldüğü bildirilmiştir. Etanol ekstresinin DPPH

serbest radikal giderme aktivitesi ve toplam antioksidan kapasitesi, sırasıyla 0.091±0.02 mg/ml ve 425.23±2.05 mg Askorbik asit eşdeğeri /g olduğu, su ekstresinin, 0.17±0.025 mg/mL IC_{50} değeri ile diğer ekstrelerden daha yüksek indirgeme gücüne sahip olduğu bildirilmiştir.[82]

T. lanceolatus, Cezayir ve Tunus'ta yabani olarak yetişen bir tür olup, geleneksel olarak bir içecek olarak veya eti tatlandırmak ve korumak için kullanılmaktadır. Çalışmada, uçucu yağın bileşiminin, GLC/FID ve GLC/MS ile belirlendiği, oksijenli monoterpenlerin (%74.85) yağdaki uçucu sekonder metabolitlerin ana sınıfını oluşturduğu ve timol (%69.61), *γ*-terpinen (%8.38) bileşenlerinin majör olduğu bildirilmiştir. Antioksidan aktivite, hem DPPH indirgeme hem de 2-deoksiriboz (2-DR) bozunma önleme yöntemleri kullanılarak değerlendirildiği, uçucu yağın sırasıyla DPPH ve 2-DR yöntemleri için 0.20±0.07 ve 4.96±0.39 µg/mL IC_{50} değerleri ile çok güçlü bir antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmada, yağın antimikrobiyal aktivitesi, agar difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirildiği ve beş farklı kanser hücresi üzerindeki *in vitro* sitotoksisite, MTT testi kullanılarak incelendiği bildirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre yağ, 62.5 µg/mL MİK değerine sahip Gram pozitif bakterilere, özellikle *Bacillus subtilis* ve *Streptococcus pyogenes*'e karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğu, HL-60 hücrelerine karşı IC_{50}'si 113.5 µg/mL olan en yüksek sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir.[83]

Depolama sırasında sızma zeytinyağının oksidasyonuna *T. vulgaris* ve *Bunium persicum* uçucu yağlarının koruyucu etkilerininin araştırıldığı çalışmada, uçucu yağların antioksidan aktivitelerinin α-tokoferol ve BHT ile karşılaştırıldığı ve kimyasal karakterizasyonu yapıldığı bildirilmiştir. Uçucu yağların GC/MS analiz sonucunda *T. vulgaris*'in ana bileşenlerinin timol (%28.50), p-simen (%27.14), karvakrol (%18.36) ve *γ*-terpinenin (%4.97) olduğu; *B. persicum* uçucu yağının ana bileşenlerinin

kuminaldehitin (%32.81), γ-terpinen (%16.02) ve p-simen (%14.07) ana bileşenleri olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, *T. vulgaris* uçucu yağı, oksidasyon sürecine karşı *B. persicum* uçucu yağından daha fazla koruma gösterse de, her iki uçucu yağ da birincil ve ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunu engelleyerek sızma zeytinyağı için koruma sağladığı bildirilmiştir. *T. vulgaris* uçucu yağının sızma zeytinyağının oksidasyon inhibisyonu üzerindeki etkisi BHT'ninkine benzer olduğu, alfa-tokoferol, sızma zeytinyağının oksidatif stabilitesini iyileştirme üzerinde ölçülebilir bir etki göstermediği bildirilmiştir.[84]

Hırvatistan'da yetişen altı *Thymus* türünün (*T. longicaulis, T. praecox* subsp. *polytrichus, T. pulegioides, T. serpyllum* subsp. *serpyllum, T. striatus* ve *T. vulgaris*) biyoaktivitelerinin araştırıldığı çalışmada, etanol ekstrelerinin antioksidan ve asetilkolinesteraz (AChE) inhibe edici aktivitelerinin değerlendirildiği bildirilmiştir. Antioksidan etkinliği, rosmarinik asit, luteolin ve referans antioksidanlarla karşılaştırmalı olarak altı farklı tahlil kullanılarak değerlendirilmiştir. Test edilen tüm *Thymus* ekstreleri DPPH (IC_{50} = 3-6 μg/mL), nitrik oksit (IC_{50} = 70-177 μg/mL) serbest radikal temizleme aktivitelerine; demirli iyon şelatlama aktivitesi (IC_{50} = 126-389 μg/mL); güçlü indirgeme (IC_{50} = 11-15 μg/mL); lipid peroksidasyonunu inhibe etme kabiliyeti (IC_{50} = 34-80 μg/mL); toplam antioksidan kapasiteleri (238-294 mg askorbik asit eşdeğeri/g) olduğu bildirilmiştir. AChE inhibe edici aktivitesi, Ellman'ın kolorimetrik yöntemi kullanılarak incelendiği ve test edilen tüm ekstrelerin, doza bağlı bir şekilde anti-AChE aktivitesi gösterdiği. Sırasıyla 0.25, 0.5 ve 1 mg/mL'lik test edilen konsantrasyonlar için %10-28, %23-39 ve %64-86 değerleri elde edildiği bildirilmiştir. Ayrıca kurutulmuş bitki örneklerinde hidroksisinnamik türevler, flavonoidler ve tanenlerin içerikleri spektrofotometrik olarak belirlendi. Çalışmanın sonuçlarına göre, *Thymus* türlerinin zengin bir doğal antioksidan kaynağı ve Alzheimer hastalığı ve diğer nörodejeneratif

bozuklukların önlenmesi ve tedavisinde faydalı olabilecek AChE inhibitörleri olduğu bildirilmiştir.[85]

Romanya'da yetişen Satureja montana, *T. vulgaris* ve *T. pannonicus*'tan uçucu yağların elde edildiği çalışmada, uçucu yağların antioksidan özellikleri ve fitokimyasal profilinin araştırıldığı bildirilmiştir. Uçucu yağların fitokimyasal profi GC-MS analizi ile aydınlatılmış, *T vulgaris* ve *S. montana* uçucu yağlarının karvakrol kemotipine ait olduğu, *T. pannonicus* uçucu yağının ise timol/p-simen kemotipine ait olduğu bildirilmiştir. Antioksidan aktiviteyi test etmek için DPPH radikal giderme yöntemi kullanıldığı; *T. pannonicus* uçucu yağının en düşük antioksidan kapasiteyi (1009.83 µg mL^{-1} DPPH inhibisyonu), ardından *S. montana* uçucu yağının (861.09 µg mL^{-1})ve *T. vulgaris* uçucu yağının (783.87 µg $mL^{-1)}$ olduğu bildirilmiştir.[86]

*T. nummularius'*un uçucu yağının ve metanol ekstresinin kimyasal profilinin ve GC/MS ile belirlendiği çalışmada, ekstrenin ve uçucu yağın antioksidan, antikolinesteraz ve antimikrobiyal aktiviteler için test edildiği bildirilmiştir. Ayrıca bitki materyalindeki toplam aflatoksin tayini için YBSK-FLD kullanılmıştır. LC-MS/MS ile çalışılan yirmi yedi bileşik arasında, rosmarinik asitin (131.898.9±6463.0 µg/g kuru ekstre) metanol ekstresinde en fazla miktarda bulunduğu ve uçucu yağın ana bileşiklerinin timol (%60.38) ve terpinil-asetat (%10.5) olduğu bildirilmiştir. *T. nummularius*'un hem uçucu yağının hem de metanol ekstresinin güçlü antioksidan aktivite sergilediği, asetil-, butiril-kolinesteraz enzimlerine karşı yüksek inhibitör aktivite ve test edilen tüm mikroorganizmalara karşı çok güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca *T. nummularius*, aflatoksin içermeyen içeriği ve yüksek antioksidan, antikolinesteraz ve antimikrobiyal aktiviteleri nedeniyle hem rosmarinik asit kaynağı olarak hem de gıda takviyesi olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.[87]

Petrovic ve ark.[88] tarafından yapılan bir çalışmada, *T. serpyllum* bitkisinden %0.08 verimle elde edilen uçucu yağda 65 bileşen tespit edilmiştir. Bu bileşenlerden %35.1 ile seskiterpen hidrokarbon ve %34.8 ile oksijenli seskiterpenlerdir. *T. serpyllum* uçucu yağının ana bileşenlerinin trans-nerolidol (%24.2), germacrene D (%16.0), timol (%7.3), 5-cadinene (%3.7) ve *β*-bisabolen (%3.3) olduğu bildirilmiştir. Uçucu yağ, sentetik antioksidanlar BHA ve BHT ile karşılaştırıldığında, DPPH serbest radikallerini (IC_{50} = 0.503 μL/mL) önemli ölçüde daha iyi nötralize etmiştir. BHA ve BHT gibi sentetik kimyasal bileşikler, gıda maddelerinin raf ömrünü uzatma yetenekleri nedeniyle gıda endüstrisinde antioksidanlar olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda, birçok sentetik bileşik üzerindeki olumsuz toksikolojik raporlar nedeniyle, sentetik antioksidanların yerini alabilecek doğal bileşiklerin bulunmasına büyük bir ilgi vardır. Bu çalışmada *T. serpyllum* uçucu yağının besin takviyeleri, fonksiyonel gıda bileşenleri veya doğal gıda antioksidanları olarak gıda endüstrisinde üretim ve uygulama için önemli bir kaynak olabileceği bildirilmiştir.[88]

2.5. Antienflamatuar

Portekiz'de solunum yolu iltihabı ve öksürükte kullanılanan iki kekik türü *T. camphoratus* ve *T. carnosus*'un geleneksel kullanımının incelendiği çalışmada, anti-enflamatuar aktivitesinin ve moleküler mekanizmasının incelendiği, güvenlik profilinin belirlendiği ve uçucu yağların ana bileşiklerinin aydınlatıldığı bildirilmiştir. Çalışmada, uçucu yağların nitrik oksit (NO) süpürme potansiyeli, NO donörü olarak S-nitroso-N-acetyl-D,L-penisilamin (SNAP) kullanılarak test edildiği; uçucu yağların ve ana bileşiklerinin anti-inflamatuar potansiyeli, lipopolisakkarit ile uyarılan makrofajlarda nitrik oksit üretiminin yanı sıra pro-inflamatuar enzimlerin siklooksijenaz-2 (COX-2) ve indüklenebilir nitrik oksit sentazın (iNOS) ekspresyonu ölçülerek tespit edildiği bildirilmiştir. Yağların ve ilgili ana bileşiklerin makrofajlar ve hepatositlerin canlılığı

üzerindeki etkileri 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi kullanılarak belirlendiği bildirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre *T. carnosus* uçucu yağında yüksek miktarda borneol ve kamfen *T. camphoratus* yağında 1,8-sineol ve borneol açısından zengindir. Uçucu yağlar, 0.16 µL/mL'de NO üretimine karşı inhibitör etkiler gösterirken, 0.32 µL/mL'de iki önemli pro-inflamatuar protein olan iNOS ve COX-2'nin ekspresyonunu inhibe etmiştir. Çalışmada, uçucu yağların anti-inflamatuar aktivitesinin, muhtemelen ilgili pro-inflamatuar sinyal transdüksiyon yollarının inhibisyonu yoluyla, iNOS ekspresyonunun yukarısında meydana geldiği bildirilmiştir. Biyoaktif konsantrasyonlarda, uçucu yağlar makrofajlara ve hepatositlere karşı toksisite göstermediği, izole edilen bileşiklerin aktivitesinin, uçucu yağlar için gözlemlenenden düşük olduğu, bu nedenle, anti-inflamatuar aktivitenin, karışımdaki birkaç bileşik arasındaki sinerjik bir etkiden kaynaklandığı bildirilmiştir. Çalışmanın sonucuna göre uçucu yağların geleneksel kullanımıyla anti-inflamatuar etkinin desteklendiği bildirilmiştir.[33]

Origanum vulgare ve *Thymus vulgaris*'te bulunan monoterpenik bir fenol olan karvakrol, anti-inflamatuar etkilere sahiptir. Karvakrolün osteoartritte kondrositler üzerindeki etkileri ve altında yatan mekanizması aydınlatma amacıyla interlökin 1 (IL-1) ile uyarılan insan kondrositlerinde iltihaplanmaya karşı koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmada; karvakrolün nitrik oksit (NO) ve prostaglandin E2 (PGE2) üretimini inhibe ettiğini ve indüklenebilir NO sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca karvakrolün IL-1 ile uyarılan insan osteoartrit kondrositlerinde matris metalloproteinaz (MMP)-3 ve MMP-13'ün protein ekspresyon seviyelerini; IL-1 ile indüklenen insan kondrositlerinde nükleer faktör (NF)-B sinyal yolunun aktivasyonunu bastırdığı bildirilmiştir. Sonuç olarak, karvakrolün, NF-B sinyal

yolunun aktivasyonunu baskılayarak insan kondrositlerinde IL-1 ile indüklenen NO ve PGE2 üretimini, iNOS, COX-2 ve MMP ekspresyonunu inhibe edebildiği bildirilmiştir.[89]

Cezayir ve Tunus'ta endemik bir bitki olan *T. fontanesii,* geleneksel olarak iltihap ve ateş tedavisinde kullanılmaktadır. *T. fontanesii*'nin kemotip karvakrol ile antienflamatuar etkisini ve etanol kaynaklı mide ülseri modeline karşı gastroprotektif etkisi değerlendirilen çalışmada, ImageJ((R)) yazılımı ile görüntü analiz yöntemi kullanıldığı bildirilmiştir. Çalışmada antienflamatuar aktivite, farede 500 mg/kg dozunda Karrageenan ile indüklenen pençe ödemi ve 03 ve 10 mg/kulak dozunda 12-O-tetradekanoilforbol-13-asetat ile indüklenen topikal inflamasyon gibi iki yöntemle değerlendirildirildiği bildirilmiştir. *Thymus* uçucu yağının antiülser aktivitesi, sıçanlarda etanol ile indüklenen mide ülseri modeli ile 250 ve 500 mg/kg dozlarında test edildiği, mide lezyon alanlarında önemli bir azalma gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, *T. fontanesii*'nin ana bileşiği olan karvakrol'e geleneksel kullanımlarını destekleyen antienflamatuar ve mide koruyucu aktiviteyi doğruladığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmanın sonuçlarına göre, *T. fontanesii* uçucu yağının kemotip karvakrol ile, etanol ile indüklenen gastrik ülser modelinde, gastrik lezyon alanlarında önemli bir azalma gösterdiği, antiülser aktivite ile önemli antienflamatuar aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir.[90]

2.6. Antikanser

T. pannonicus'un kokusu giderilmiş su ekstresinin fitokimyasal bileşimi, antioksidan ve *in vivo* antiproliferatif aktivitesininin araştırıldığı çalışmada YBSK analizinde ekstrede en fazla rosmarinik asit (RA) (71.11±1.54 mg/g), ardından salvianolik asit H (14.83±0.79 mg/g RA cinsinden hesaplanmış) içerdiği bildirilmiştir. Ektre, FRAP ve DPPH testlerinde *in vitro* olarak belirgin antioksidan aktivite sergilediği, sırasıyla, FRAP değeri: 7.41 mmol Fe/g ve SC_{50}: 3.80 µg/g olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, tümör

hücrelerinin implantasyonu öncesinde, sırasında ve sonrasında kekik ekstresi ile tedavi edilen farelerde Ehrlich karsinom hücrelerinin modeli kullanılarak, malign hücrelerin tümör büyümesinin baskılanması ve redoks durumu yani, antioksidan enzimlerin aktiviteleri, glutatyon seviyesi ve yoğunluğu lipid peroksidasyonu değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucuna göre, bitki ekstresi, antioksidan dengenin bozulmasına ve ayrıca %90'a varan Ehrlich karsinom hücrelerinin apoptoz/nekrozuna neden olduğu bildirilmiştir.[34]

2.7. Antiherbisit

Salvia officinalis ve *T. vulgaris*'ten elde edilen iki uçucu yağın kimyasal bileşimini ve sinerjik potansiyelinin araştırıldığı çalışmada, *Fusarium graminearum*'a karşı antifungal etki gösterirken *Amaranthus retroflexus, Chenopodium album, Echinochloa crus-galli* gibi istilacı bitkilerin tohumlarına karşı herbisidal etki gösterdiği bildirilmiştir. GC-MS analizinde adaçayında majör uçucu yağ bileşenlerinin, karyofilen (%25.364), kamfen (%14.139), okaliptol (%13.902) ve β-pinen (%11.230); kekikte majör uçucu yağ bileşenlerinin γ-terpinen (%68.415) ve p-timol (%24.721) olduğu bildirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre uçucu yağların tek başına ve kombinasyon halinde incelenen tohumlara karşı allelopatik etkiye sahip olduğunu gösterirken, kekik ve adaçayının mantar büyümesi açısından sinerjistik etkisi %0.06 düzeyinde olduğu bildirilmiştir. Kekik ve adaçayı uçucu yağlarının, A375 insan melanomu ve B164A5 fare melanomu olmak üzere iki melanom hücre hattı üzerinde *in vitro* antiproliferatif aktivite sergilediği, adaçayı uçucu yağının kekik uçucu yağına göre murin ve insan melanom hücre dizilerinin hücre canlılığını azaltma açısından etkili olduğu bildirilmiştir.[36]

Ali ve ark.[91] tarafından yapılan çalışmada, bir Kuzey Afrika endemik türü olan *T. algeriensis* uçucu yağının kimyasal bileşimi, antioksidan, antibakteriyel, alelopatik ve böcek öldürücü özelliklerini tanımlanmıştır. *T. algeriensis*'in tüm organlarından elde

edilen uçucu yağ, hidrodistilasyon ile ekstre edilmiş ve GC-MS ile analiz edilmiştir. Bileşiklerin çoğu için organlar arasında yüksek bir varyasyon gösterilmiştir. Köklerdeki ana bileşenler karyofilen oksit (%21.1) ve veridiflorol (%17.2) iken, gövdeler için ana bileşenler olarak elemol (%10.2) ve karyofilen oksit (%17.8) olduğu bildirilmiştir. Yapraklar yüksek seviyelerde pinen (%19.5), 1,8-sineol (%11.6) ve kafur (%10.4) ile karakterize edilmiştir. İnhibisyon çapının belirlenmesine ve MİK'nin belirlenmesine bağlı olarak, beş bakteri suşuna karşı yağlara göre orta ila yüksek antibakteriyel aktivite ortaya çıktığı bildirilmiştir. DPPH (IC_{50}=4.31-9.23 mg/ml) ve ABTS (11.69-28.23 μgTE/mg DW) testi ile tahmin edilen antioksidan aktivite seviyesi orta düzeyde olduğu bildirilmiştir. Elde edilen sonuçlar ayrıca yaprak yağlarının *Medicago sativa* ve *Triticum aestivum* fidelerinin sürgün ve kök gelişimini engellediğini göstermiştir. Böylece, *T. algeriensis* yağları, doğal bir herbisit olarak kullanılabileceği, ayrıca, bu yağların, pamuk yaprak kurdu larvalarına karşı güçlü insektisidal aktiviteye (LC_{50} =44.25-112.75 μl/l hava) sahip olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, bu bitkinin uçucu yağı, farmasötik ve gıda endüstrilerinde potansiyel bir doğal antioksidan ve biyoaktif molekül kaynağı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.[91]

2.8. Doğum kontrol

T. munbyanus uçucu yağının insan spermatozoaları üzerindeki etkisi *in vitro* olarak analiz edildiği çalışmada, GC-MS analizinde yağ bileşiminin %98,9'unu oluşturan 64 bileşen tanımladığı, ana bileşenlerin timol (%52.0), *γ*-terpinen (%11.0), rho-simen (%8.5) ve karvakrol (%5.2) olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, taze boşalmış spermatozoa, kontrol bireylerinden farklı zaman periyotları boyunca çeşitli uçucu yağ dozlarına maruz bırakıldığı, canlılık, ortalama hareketlilik, hareket özellikleri (bilgisayar destekli sperm analizi), morfoloji ve protein hiperfosforilasyonuna maruz kalma yeteneğinin ve sperm kapasitesi ve dölleme yeteneğinin iki belirtecini oluşturan akrozomal reaksiyon

kaydedildiği bildirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, hem uçucu yağın hem de bu yağda bulunan ana bileşik olan timolün, *in vitro*, insan sperm hareketliliğini ve hiperfosforilasyon ve akrozom reaksiyonuna girme kapasitesini bozduğu bildirilmiştir. Bu nedenle bu bileşiklerin, potansiyel anti-spermatik ajanlar olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.[37]

2.9. Hepatoprotektif

Grespan ve ark.[38] tarafından yapılan çalışmada, antiseptik, gaz giderici ve antimikrobiyal etkileri gibi çeşitli yararlı etkileri için yaygın olarak kullanılan *T. vulgaris* uçucu yağının hepatoprotektif etkisi araştırılmıştır. Asetaminofen doz aşımının neden olduğu akut karaciğer hasarı önemli bir klinik problemdir. Çalışmada, *T. vulgaris* uçucu yağının hepatoprotektif aktivitesi, farelerde serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve alkalin fosfataz (ALP) değerlendirilerek belirlendiği bildirilmiştir. Fare karaciğerleri daha sonra miyeloperoksidaz (MPO) enzim aktivitesinin belirlenmesi için kullanıldığı ve histolojik analize tabi tutulduğu bildirilmiştir. *In vitro* antioksidan aktivite, *T. vulgaris* uçucu yağı ve *T. vulgaris* uçucu yağı kaynaklı lipid peroksidasyonunun DPPH serbest radikal giderme etkileri değerlendirilmiştir. *T. vulgaris* uçucu yağı, serum belirteç enzimleri olan AST, ALT ve ALP seviyelerini ve MPO aktivitesini azalttığı, histopatolojik analizde, *T. vulgaris* uçucu yağının asetaminofen kaynaklı nekrozu önlediği bildirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, *T. vulgaris* uçucu yağının farelerde asetaminofen kaynaklı karaciğer hasarı üzerinde hepatoprotektif etkilere sahip olduğu bildirilmiştir.[38]

2.10. Antiparazit

Giarratana ve ark.[35] tarafından yapılan çalışmada, çeşitli uçucu yağlar için gösterilen farklı patojenlere karşı biyosidal etkinlik ışığında, *T. vulgaris* uçucu yağının anisakidae larvalarına karşı etkisini değerlendirildiği bildirilmiştir. Anisakiasis, özellikle

balık tüketiminin yüksek olduğu ülkelerde gıda kaynaklı önemli bir hastalıktır. İnsanlarda görülen hastalık vakalarının artması ve etkili tedavilerin fiilen yokluğu, Anisakis larvalarına karşı yeni aktif bileşiklerin araştırılmasına yol açmıştır. Hastalık, çiğ veya neredeyse çiğ deniz ürünleri tüketimi ile ilgili olmakla birlikte, marine edilmiş ve/veya tuzlanmış su ürünlerinin de işlenmesiyle nematod larvalarını yok etmede yetersiz kalmaktadır. Çalışmanın sonuçlarına göre yağlı ayçiçeği tohumlarında %10 ve %5 konsantrasyondaki *T. vulgaris* uçucu yağı, *in vitro* olarak tüm larvaların 14 saat içinde kütikül ve bağırsak duvarı hasarları ile ölümüne neden olduğu bildirilmiştir. Anisakis larvalarına karşı önemli bir aktivite gösteren elde edilen sonuçlara göre, *T. vulgaris* uçucu yağının bir larvisidal ajan olarak ve endüstriyel marinasyon prosesinde potansiyel kullanılabileceğini bildirilmektedir.[35]

2.11. Antiviral

T. capitata ekstrelerinin sitotoksisite ve antiviral aktivitelerinin, toksik olmayan ve spesifik bir anti-herpesvirüs ilacının geliştirilmesi için değerlendirildiği çalışmada, *T. capitata*'nın toprak üstü kısmının su ekstresi (SE), etanol ekstresi (EE) ve uçucu yağı (UY), kimyasal bileşimlerini belirlemek için GC-MS ile birleştirilmiş YBSK ile analiz edildiği bildirilmiştir. Bovine herpes virüs tip 1 (BHV-1), buna karşı tam olarak etkili olduğu kanıtlanmış herhangi bir ilaç bulunmadığından, hayvancılık endüstrisi ve ticaretinde hala büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Yapılan çalışmada, BHV-1 karşı sitotoksisiteleri ve antiviral aktiviteleri, kolorimetrik tahlil ile Madin-Darby Bovine Böbrek hücre dizisi kullanılarak viral sitopatik etkinin azalmasının ölçülmesiyle değerlendirilmiştir. Polifenoller ve flavonoidler, *T. capitata* analiz edilen tüm ekstrelerde ana bileşendir. %50'deki sitotoksik konsantrasyonlar, UY, EE ve SE için sırasıyla 48.70, 189 ve 289 µg mL^{-1} ; %50'deki inhibitör konsantrasyonları sırasıyla 3.36, 47.80 ve 164 µg mL^{-1} ; seçicilik indeksi anti-BHV-1 değerleri sırasıyla 14.49, 3.95 ve 1.81 olduğu

bildirilmiştir. Uçucu yağ en etkili antiviral ekstredir. *T. capitata* özleri, esas olarak BHV-1 virüsünün konak hücrelere adsorpsiyonunu etkilediği, viral adsorpsiyon ve replikasyonun erken aşamalarına müdahale ederek viral replikasyonu inhibe ettiği, bu nedenle *T. capitata*, anti-herpes virüs tedavisi için potansiyel bir aday olabileceği bildirilmiştir.[30]

2.12. Korozyona karşı

T. satureioides uçucu yağının etkisinin araştırıldığı çalışmada, uçucu yağın etkinliği, polarizasyon eğrileri, elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ve ağırlık kaybı ölçümleri kullanılarak incelendiği bildirilmiştir. Uçucu yağının ana bileşenlerinin karvakrol (%29.65), borneol (%19.04), linalool (%11.79), p-simen (%8.53), kamfen (%7.01), γ-terpinen (%6.10), α-pinen (%4.55) ve karyofilen (%2.39) olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, 1.5 g/L'lik optimum konsantrasyonda maksimum inhibisyon verimliliği (%90) gözlendiği, elektrokimyasal empedans spektroskopisi verileri, koruyucu bir film oluşumunun çift katmanlı kapasitansı azalttığı ve yumuşak çeliğin yük transfer direncini artırdığı bildirilmiştir. Artan sıcaklık, inhibitör tarafından kaplanan yüzeyi azaltmış, bu da yüzde inhibisyon veriminin %89'dan %76'ya düşmesine neden olmuştur. Polarizasyon eğrileri, uçucu yağın asidik ortamda baskın bir anodik inhibisyon ile karışık bir inhibitör olarak sınıflandırılabileceğini göstermiştir. Ağırlık kaybıyla hesaplanan engelleme verimleri, polarizasyon ve elektrokimyasal empedans spektrum ölçümlerine paralel bir eğilim göstermiştir. Çalışmada, *T. satureioides*'ten elde edilen uçucu yağın asidik ortamda korozyona karşı yeşil bir inhibitör olarak önerilebileceği bildirilmiştir.[92]

2.13. *Thymus* türlerinin uçucu yağlarında yer alan fitokimyasal bileşikler

Thymus türlerinin uçucu yağlarında yer alan fitokimyasal bileşikler Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. *Thymus* Türlerinin Uçucu Yağlarında Yer Alan Fitokimyasal Bileşikler

Tür	Uçucu bileşenler
T. pubescens	Timol (%38.67), *γ*-terpinen (%7.46), ve *p*-simen (%5.54)[93]
	karvakrol (%32.2), timol (%29.3), α-terpineol (%18.5), *β*-karyofilen (%2.9), linalool (%2.3) ve geraniol (%2.2)[16]
	Timol (%38.7), *γ*-terpinen (%7.5), p-simen (%5.5), *α*-terpenil asetat (%3.8) ve *β*-bisabolen[94]
	α-pinen (%0.9), borneol (%10.36), timol (%28.01), trans-karyofilen (%27.14), δ- kadinen (%4.30)
	α-pinen (%10.71), trans- karyofilen (%73.4), fenol (%7.3)
	α-pinen (%18.17), sineol (%11.23), *γ*-terpinen (%7.26), borneol (%6.1), timol (%9.41), karvakrol (%0.56) ve trans-karyofilen[17]
T. perinicus	Borneol (%17.9) ve timol (%20.9)[95]
T. proximus	Karvakrol, p-simen ve *γ*-terpinen[96]
T. willdenowii	1,8-sineol (%34.62), kafur (%18.55), *α*-pinen (%9.46) ve kampen (%5.38)[97]
T. convolutus	Kafur %16.6[98]
T. pallidus	*γ*-terpinen (%20.23-21.49), borneol (%12.33-12.39) ve *α*-fellandren (%11.63-12.58)[99]
T. pulegioides	Geraniol (%34.52)[100]
	Timol (%%27.4)[101]
T. Serpyllum	Timol, %18.8, karvakrol, %17.4; *o*-simen, %15.4; ve geraniol, %10.7.
	Timol (%5.11-58.25), karvakrol (%1.22-55.85), *p*-simen (%1.28-25.46), *γ*-terpinen (%1.37-16.52) ve *α*-terpinen (%0.84-1.94)[102]
	Karvakrol (%37.49), *γ*-terpinen (%10.79), *β*-karyofillen (%6.51), *p*-simen (%6.06), (e)-*β*-osimen (%4.63) ve *β*-bisabolen (%4.51)[103]
	Karvakrol (%44.93), *γ*-terpinen (%10.08), *p*-simen (%7.39) ve *β*-kalyofilen (%6.77)[103]
	Karvakrol (%25.8)[101]
T. daenensis	Timol (9.1 ±0.83, %52.2), karvakrol (20.25 ±2.38, %37.4) ve *β*-karyofillen (17.98 ±2.19, %5.6)[104]
	Timol (%71.9-73.9)[105]
	Karvakrol (%76.8), linalool (%6.9) ve trans-karyofillen (%6.3)[106]
	Timol (%51.2), *o*-simen (%12.9), *γ*-terpinen (%4.5), linalool (%1.7) ve borneol (%3.1)[107]
T. fedtschenkoi	Linalool (%45.5-83.1)[105]
	Timol (%38.6), geraniol (%15.8) ve *γ*-terpinen (%7.3)[108]
	Timol (%51,6), geraniol (%8,3) ve *p*-simen (%7.3)[108]
	Linalool (%63.77), *α*-terpineol (%10.17), 1.8-sineol (%4.01), timol (%3.3) ve sabinen (%2.66)[109]
T. kotschyanus var. kotschyanus	Karvakrol (%48.5) ve timol (%22.5)[110]
T. kotschyanus	*α*-terpineol (%16.9), 1,8-sineol (%14.4), linalool (%9.6), timol (%7.2) ve geranil asetat (%5.4)[94]
T. kotschyanus	Timol (% 6.8-66.15), karvakrol (% 2.38-20.06), linalool (% 1.39-22.23), terpineol (%0.16-11.64) ve geraniol (%0.36-11.37)[111]
T. fontanesii	Karvakrol (54.7±1.2 - 63.9 ± %1.9), *p*-simen (9.2±1.2 - 17.5±%1.2) ve *γ*-terpinen (8.8±0.9 - 14.9±%0.8)[112]
T. satureioides	Karvakrol (%26.07-26.18) ve borneol (%17.25-20.67)[99]
	Borneol (%20,07-%48,23), *α*-terpineol (%5,12-18,16), kamfen (%5.10-14.44), *α* -pinen (%2,43-7,63), timol (%0.14-8.64) , karvakrol (%0.88-15.23)[113]
T. munbyanus subsp. abylaeus	*α*-terpinil asetat (%51,7), *α*-terpineol (%9,7), borneol (%6,8) ve bornil asetat (%5,2)
T. munbyanus subsp. *ciliatus*	Karvakrol (%65.7), *γ*-terpinen (%13.6) ve p-simen (%7.9)
T. munbyanus subsp. *coloratus*	Kafur (%25.9), mirsen (%16.9), 1,8-sineole (%6.5) ve kamfen (%6.2)[114]

Tablo 2.1. (Devamı)

Tür	Uçucu bileşenler
T. munbyanus	Karvakrol (%31.7), kare- terpinen (%21.9), p-simen (%14.7), timol (%7.6), linalool (%4.3), borneol (%3.9) ve *α*-terpinen[115]
T. zygioides	Timol (% 21.2), p-simen (% 18. 5) ve y- terpinen (% 16.2)[116]
T. zygis	Timol (%30-54), p-simen (%14-27) ve *γ*-terpinen (%8-28)[117]
T. hyemalis	1,8-sineol (%3-37) , p-simen (%1-29), linalool (%8-13) ve timol (%0-19)[117]
T. algeriensis Boiss	Karvakrol (%43.2), p-simen (%18.7) ve terpinen (%14.8)[118]
T. caramanicus	Karvakrol (%19.8-96.2), timol (%0.6-61.8) ve p-simen (%0.2-8.2)[119]
T. linearis	Timol (%34.3-67.3), p-simen (%4.0-27.4), *γ*-terpinen (%4.9-24.4), timil asetat (%0.6-5.2), *β*-bisabolen (0.8-5.1), timol metil eter (%2.4-3.7), *α*-terpinen (%0.7-3.6), (e)-karyofillen (%0.7-2.9), 3-oktanon (%0.6-2.3), *α*-thujene (%0.3) -%2.3), borneol (%0.5-1.8), karvakrol (%0.9-1.5) ve cis-sabinene hidrat (%0.4-1.3)[120]
T. fallax Fisch	Timol (%43.43-61.14), borneol (%3.89-7.01), karvakrol (%3.88-6.5) ve p-simen (%4.58-6)[121]
T. glabrescens	Terpinil asetat (%47.6)[101]
T. migricus	*α*-terpineol (%30.6), timol (%20.7) ve *α*-terpinil asetat (%14.9)[14]
T. jankae	*B*-karyofillen %33.25 , karyofillen %21.83[100]
T. transcaucasicus	Yaprak: timol (%35.83), *α*-terpineol (%12.38), geraniol (%10.79) ve *p*-simen (%5.98)
	Çiçek: timol (%62.92), *p*-simen (%5.78), geraniol (%5.58) ve karvakrol (%4.14)
	Kök: timol (%60.61), *p*-simen (%9.32), karvakrol (%4.61), pentakozan (%3.17) ve 1.8-sineol (%3.08)[122]
T. ciliatus	Karvakrol (%0.2-80.3), *p*-simen (%0.8-19.6), *γ*-terpinen (%0.2-14.6), timol (%0.2-79.1), kafur (%7.5), *α*-pinen (%8.7), *α*-terpinen (%12.3), trans-*β*-okimen (%25.8) ve nerolidol (%6.9)[123]
T. numidicus	Timol (%41.2), *β*-simen (%12.9), klorokresol (%11.2), *β*-linalool (%10.7) ve metil timol (%3.3)[124]
T. vulgaris	Timol (%21.53), *α*-pinen (%17.43) ve *o*-simen (%15.37), neral (%34.48), geranial (%34.37) ve *β*-mirsen (%12.84)[125]
	Timol (%51.26-49.87) *γ*-terpinen, linalool (%75), linalil asetat (%8.15) ve *β*-karyofillen (%3.2)[126]
	Timol (%22.10), *p*-simen (%21.31), karvakrol (%13.02), karvakrol asetat (%6.72) ve linalol (%5.58)[127]
	Timol (%8,05-9,35), terpinen (%3.49-4.04), *p*-simen (%2.80-3.60) ve karyofillen oksit (%1,54-2,15)[128]
	Karvakrol (%45.53), *o*-simen (%11.29), linalol (%9.60), dietil ftalat (%8.48) ve timol (%6.12)[129]
	timol %44.97 ve %38.06), p-simen (%7.61 ve %10.34), *γ*-terpinen (%7.08 ve %6.66) ve karvakrol (%5.11 ve %8.27)[130]
	Timol (%31.5), *p*-simen (%23.4), *γ*-terpinen (%13.9), linalool (%38.3), karvakrol (%2.7)[107]
	Timol (%55.35), *p*-simen (%11.2), karvakrol (%68.20), *γ*-terpinen (%13.25)[131]
	Timol (%33.37-34.05), *γ*-terpinen (%11.62-11.91), *p*-simen (%9.81-10.07), karvakrol (%5.63-5.96), karvakrol metil eter (3.86-%)[132]
	Timol %28.92, karvakrol %26.18, *p*-simen %13.25, *γ*-terpinen %5.09[133]
	Timol (%38.99-52.92), *p*-simen (%14.38-26.58), *γ*-terpinen (%10.43-19.09), linalool (%2.39-3.56) ve karvakrol (%1.87-3.3)[134]
	Timol (%41.34-52.23), karvakrol (%10.12-16.73), *p*-simen (9.10- %12.12) ve *γ*-terpinen (%6.12-10.20)[135]
	Timol (%32.2)[101]
	1,8-sineol (%6.23), kafur (%15.14), *α*-pinen (%8.0), kamfen (%10.54), karvakrol (%18.51) ve timol (%20.35)[136]
	Karvakrol (%57.3), linalol (%11.8) ve timol (%10.67)[137]

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Antioksidan Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar

Yüksek lisans tez çalışması olarak yapılan antioksidan çalışmalarda kullanılmış olan kimyasal maddeler Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Antioksidan Çalışmalarda Kullanılan Kimyasallar ve Çözücüler

Kimyasal Madde Adı	Menşei
Neokuprin	Sigma-Aldrich GmbH (Sternheim, Germany)
Bakır klorür	
Trikloroasetik asit	
Demir (III) klorür	
Potasyum ferrisiyanür	
2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazin	
N,N-dimetil-p-fenilendiamin	
2,2'-Azino-bis(3-etilbenztiyoazolin-6-sulfonikasit)	
1,1-Difenil-2-pikril-hidrazil	
α-Tokoferol	
Bütillenmişhidroksianisol	
Bütillenmişhidroksitoluen	
Troloks	

3.2. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar

Yüksek lisans tez kapsamında toplam fenolik bileşik miktar tayini çalışmasında Tablo 3.2'de kullanılan kimyasal maddeler listelenmiştir.

Tablo 3.2. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar Ve Çözücüler

Kimyasal Madde Adı	Menşei
Gallik asit monohidrat	Sigma-Aldrich
Sodyum karbonat	
Folin-Ciocalteu fenol reaktifi (FCR)	

3.3. *İn Vitro* Enzim İnhibitör Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar

3.3.1. Asetilkolinesteraz (AChE) Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar

Yüksek lisans tez kapsamında AChE enzim inhibitör etki çalışmasında Tablo 3.3'te kullanılan kimyasal maddeler listelenmiştir.

Tablo 3.3. AChE Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılmış Olan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Madde Adı	Menşei
Asetilkolinesteraz (AChE, E.C. 3.1.1.7, electric eel)	Sigma-Aldrich
Asetiltiyokolin iyodür (ATCI)	
5,5-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB)	
Donepezil	
Tris hidroklorür	
Etanol (≥%99.5)	

3.3.2. Tirozinaz Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar

Yüksek lisans tez kapsamında tirozinaz enzim inhibitör etki çalışmasında Tablo 3.4'te kullanılan kimyasal maddeler listelenmiştir.

Tablo 3.4. Tirozinaz Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Madde Adı	Menşei
Tirozinaz (E.C. 1.14.18.1, mushroom)	Sigma-Aldrich
L-DOPA	
L-tirozin	
α-Kojik asit	
Sodyum fosfat monobazik	
Metanol (≥%99.5)	

3.3.3. Karbonik anhidraz II Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar

Yüksek lisans tez kapsamında Tablo 3.5'te insan karbonik anhidraz II (hCA II) enzim inhibitör etki çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler listelenmiştir.

Tablo 3.5. İnsan Karbonik Anhidraz (hCA II) Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Madde Adı	**Menşei**
İnsan karbonik anhidraz (hCA II)	İzolasyon
Tris-SO_4	Sigma-Aldrich
p-nitrofenil asetat (P-NA)	
Asetozolamit	

3.3.4. *α*-Glikozidaz Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar

Yüksek lisans tez kapsamında Tablo 3.6'da *α*-glikozidaz enzim inhibitör etki çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler listelenmiştir.

Tablo 3.6. *α*-Glikozidaz Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Madde Adı	**Menşei**
α-Glikozidaz enzimi	Sigma-Aldrich
4-Nitrofenil *β*-D-glukopiranozit (*p*-NPG)	
Sodyum fosfat, (Na_3PO4)	
Akarboz	

3.3.5. *α*-Amilaz enzim inhibitör etki çalışmasında kullanılan kimyasallar

Yüksek lisans tez kapsamında Tablo 3.7' de *α*-amilaz enzim inhibitör etki çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler listelenmiştir.

Tablo 3.7. *α*-Amilaz Enzim İnhibitör Etki Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Madde Adı	**Menşei**
α-Amilaz enzimi	Sigma-Aldrich
Nişasta	
Sodyum fosfat, (Na_3PO4)	
Sodyum hidroksit (NaOH)	
Akarboz	

3.4. Antimikrobiyal Aktivitede Kullanılan Kimyasallar

Staphylococcus aureus ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Proteus mirabilis* ATCC 25933 standart bakteri suşları kullanılarak belirlenmiştir. Siprofloksasin bu çalışmada kontrol antibiyotiği olarak kullanılmıştır. Mueller-Hinton agarı ekim için kullanılmıştır.

3.5. Yararlanılan Alet Ve Cihazlar

Yüksek lisans tez çalışması kapsamında kullanılan alet ve cihazlar tablo 3.8'de verilmiştir.

Tablo 3.8. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Kullanılan alet ve cihazlar	**Marka**
UV-VIS Spektrofotometre	Şimatzu UV-1208
Hassas terazi	Skaltek SBA 41
pH metre	Hanna HI 9321,SN 396202
Derin dondurucu	Sanyo, Japan
Otomatik pipet	Oxford Pipettors
Vorteks	Fisons, Whirlimizer
İnkübatör	Elektro-Mag
Çalkalayıcı	Nüve SL 350
Saf su cihazı	Firstreem Calypso
Karıştırıcı	Stuart
UV-Spektrofotometre küveti	1 cm^3'lük Kuartz küvet, 3 cm^3'lük cam küvet
Öğütücü	Protek
Rotavapor	Heidolph WB Laborota 4000
Ultrasonik banyo	Soltec Sonica ® 2200ETH N A99-00634
Etüv	Memmert Typ: UM 500
Gaz Kromatografisi	Agilent 6890N Network GC sistem, 5977 kütle spektrometre dedektörü, Agilent 7693 serisi otosampler
Gaz Kromatografisi Kolonu	HP-5 MS kolon (30 m x 0.250 mm ID, film kalınlığı 0.25 μm)
Mantolu ısıtıcı	Barnstead Electrothermal EM5000/C
Otomatik pipet	Thermo Scientific Finnpipette
Vakum Pompası	Büchi Vac V-500
Mikropleyt okuyucu	VERSA max Molecular Devices

3.6. Bitki Materyali

Thymus pubescens var. *pubescens* toprak üstü kısmı 1 Temmuz 2020'de Erzurum Köşk Köyü içinde 1950 metre yükseklikten 40º 15’ 21’’ kuzey 41º 25’ 36’’ doğu konumundan toplanmış ve Dr. Öğr. Üyesi Leyla Güven tarafından teşhis edilmiştir.

3.7. Uçucu Yağ Eldesi

Thymus pubescens var. *pubescens* toprak üstü kısmı dallarından ve odunsu kısımlarından ayırdıktan sonra, toz edildikten sonra Clevenger apareyinde 3 saat süreyle su distilasyonu yöntemi ile uçucu yağları elde edilmiştir. Volumetrik olarak yağ hacimleri okunup, kuru drog üzerinden uçucu yağın yüzde verimi hesaplanmıştır. Elde edilen uçucu yağların analizi GC-MS/MS (Gazkromatografisi-kütle spektrometrisi) ile gerçekleştirilmiştir. Analizler yapılana dek türlerden elde edilen uçucu yağlar +4ºC’ta, viyallerde saklanılmıştır.

3.8. GC-MS/MS Analiz Çalışmaları

GC-MS/MS çalışmasında; Agilent 6890N Network GC sistem, 5977 kütle spektrometre dedektörü, Agilent 7693 serisi otosampler ve HP-5 MS kolon (30 m x 0.250 mm ID, film kalınlığı 0.25 μm) kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz (0.8 mL/dk) olarak helyum kullanılmıştır. Kromatografik analiz 0.8 ml/dak akış hızı, 1 μL split mod (40:1) enjeksiyon hacmi ile gerçekleştirilmiştir. GC fırın sıcaklığı 10 dakika 60ºC’de tutularak ve 4 ºC yükseltilerek 220ºC’de 10 dk sabitlenmiştir. Dakikada 1.0 ºC yükselterek 240ºC’de 1.0 dakika bekletilmiştir. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları sırasıyla 250 ve 300ºC olarak seçilmiştir. Kütle spektrumları 70 eV tarama modunda (35-450 m/z) kaydedilerek ve pik alanına göre analiz gerçekleştirilmiştir.

3.9. Antioksidan Aktivite Deneyi

3.9.1. Fe^{3+}-Fe^{2+} İndirgeme Kapasitesi

Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağının indirgeme kuvveti tayini Oyaizu metodunun[138] hafif modifiye edilmiş şekline göre yapılmıştır.[139] Stok çözeltisi için uçucu yağ numunesi etanolde çözerek 1000 µg/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden 15, 30, 45 µg/mL konsantrasyonlarda olacak şekilde falkon tüplere aktarılmış, hacim distile suyla 750 µL'ye tamamlanmıştır. Ardından her bir tüpe 0.2 M fosfat tamponu 1 mL (pH:6.6) ve %1'lik $K_3Fe(CN)_6$ 1 mL ilave edilmiştir. Elde edilen karışım 30 dk boyunca 50 °C'de bekletilmiştir. Daha sonra karışıma %10'luk triklorasetik asit 1 mL, %0.1 $FeCl_3$ 250 µL ilave edilmiştir. Ardından 700 nm'de absorbans köre karşı okunmuştur. Kör olarak distile su kullanılmıştır. Kontrol için numune yerine distile su kullanılmıştır.

Fe^{3+}-Fe^{2+} indirgeme kapasitesi tayininde aşağıdaki çözeltiler hazırlanmıştır:

1. 0.2 M fosfat tampon çözelti (pH: 6.6): 80 mL distile suda 3.12 g Na_2HPO_4, çözülmüştür. pH metre yardımıyla pH'nın 6.6 olması sağlanmıştır. Distile suyla hacimhacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.
2. %1'lik $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisi: Distile suda 1.5 g $K_3Fe(CN)_6$ çözünmüş ve 150 mL'ye tamamlanmıştır.
3. %10'luk TCA çözeltisi: Distile suda 20 g TCA çözünmüş ve 200 mL'ye tamamlanmıştır.
4. %0.1'lik $FeCl_3$ çözeltisi: Distile suda 170 mg $FeCl_3.6H_2O$ çözünmüş ve 10 mL'ye tamamlanmıştır.

3.9.2. Cu^{2+}-Cu^{+} İndirgeme Kapasitesi (KUPRAK Metodu)

Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağının Cu^{2+} indirgeme aktiviteleri Cu^{2+} iyonları indirgeme metodu[140] modifiye edilerek yapılmıştır.[141] 15, 30, 45 µg/mL

konsantrasyonlarda hazırlanacak uçucu yağ tüplerine 0.125 mL 0.01 M $CuCl_2$ çözeltisi, 0.125 mL $7.5x10^{-3}$ M etanolik neokuprin çözeltisi ve 0.125 mL 1 M CH_3COONH_4 tampon çözeltisi (pH: 6.5) sırasıyla eklenmiştir. 25-30 dk sonra karanlıkta absorbans değerleri 450 nm'de köre karşı ölçülmüştür ve kör olarak distile su kullanılmıştır. Kontrol için ise numune yerine distile su kullanılmıştır.

KUPRAK Metoduna Göre İndirgeme Kapasitesi ile ilgili aşağıdaki çözeltiler hazırlanmıştır:

1. $CuCl_2$ çözeltisi (0.01 M): 50 mL distile suda 47 mg $CuCl_2$ alınmış ve çözülmüştür.
2. Neokuprin çözeltisi ($7.5x10^{-3}$ M): 100 mL etanolde 156 mg neokuprin çözülmüştür.

3. 1 M CH_3COONH_4 tampon çözeltisi (pH: 6.5): 180 mL distile suda 15.4 g CH_3COONH_4 alınmış ve çözülmüş ve pH metre yardımıyla pH:6.5'e ayarlanmış, hacim distile su vasıtasıyla 200 mL'ye tamamlanmıştır.

3.9.3. Ferrik İndirgeme Kuvveti (FRAP) İndirgeme Aktivitesi

İlk önce deney tüplerine 15, 30 ve 45 µg/mL konsantrasyonlarına uygun gelecek şekilde uçucu yağ çözeltisi ve standart çözeltiler aktarılmıştır. Tampon çözeltisi ile hacimleri 0.5 mL'ye tamamlanmıştır. Ve daha sonra toplam hacim 5 mL'ye tamamlanılacak şekilde sırasıyla deney tüplerine 2250 µL 20 mM'lık $FeCl_3$ çözeltisi ve 2250 µL FRAP reaktifi eklenmiştir. Daha sonra deney tüpleri karıştırıcıda karıştırılmıştır. 8-10 dakika sonra absorbanslar 593 nm'de kaydedilmiştir. Asetat tamponu kör olarak kullanılmıştır. Kontrol olarak da uçucu yağ hariç geriye kalan çözelti kullanılmıştır.[142]

FRAP indirgeme metodu ile ilgili aşağıdaki çözeltiler hazırlanmıştır:

1. Asetat tampon çözeltisi (0.3 M): 180 mL distile suda 4.92 g $NaCH_3COO$ alınmış ve çözülmüştür. Hacim saf su ile 200 mL'ye tamamlanmış ve pH metre vasıtasıyla pH'sı 3.6'ya ayarlanmıştır.

2. HCl çözeltisi (40 mM): 0.334 mL %37'3lik HCl çözeltisi alınmış ve toplam hacim 100 mL'ye distile su yardımı ile tamamlanmıştır.

3. TPTZ çözeltisi (10 mM): 100 mL 40 mM'lık HCl içerisinde 0.312 g TPTZ alınmış ve çözülmüüştür.

4. $FeCl_3$ çözeltisi (20 mM): 100 mL distile suda 0.54 g $FeCl_3.6H_2O$ çözülmüştür.

5. FRAP reaktifi: 100 mL 0.3 M asetat tamponu, 10 mL 10 mM TPTZ ve 10 mL 20 mM $FeCl_3.6H_2O$ çözeltisi erlende karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.9.4. 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi

Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağının $DPPH^{\cdot}$ radikal süpürücü aktivitesi Blois metoduyla yapılmıştır.[143] Serbest radikal olan $DPPH^{\bullet}$ 10^{-3} M konsantrasyonda çözeltisi hazırlanmıştır. 1 mg/mL konsantrasyonunda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağını etanolde çözerek stok çözeltisi kullanılmıştır. 15, 30 ve 45 µL numuneler deney tüplerine aktarılmış ve 2 mL toplam hacimleri olacak şekilde çözücü ile tamamlanmıştır. Ardından 400 µL stok $DPPH^{\bullet}$ çözeltisi her bir numune tüpüne aktarılmıştır. Yirmi beş dakika 25 °C'de ve karanlık bir ortamda reaksiyonun gerçekleşmesi için bekletilmiştir. Ardından etanolden oluşan kör ile 517 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Kontrol çözeltisi olarak, 1600 µL etanol ve 400 µL $DPPH^{\bullet}$ çözeltisi kullanılmıştır. Serbest radikal giderme aktivitesi, azalmış olan $DPPH^{\bullet}$ çözeltisinin geriye kalan miktarını vermiştir.

$DPPH^{\cdot}$ serbest radikal giderme aktivitesi ile ilgili aşağıdaki çözeltiler hazırlanmıştır:

1. 10^{-3} M'lık $DPPH^{\cdot}$ çözeltisi: 50 mL etanol ile 20 mg $DPPH^{\cdot}$ çözünmüş, bir gece boyunca karıştırılmıştır.

3.9.5. N,N´-dimetil-p-fenilendiamin Dihidroklorür ($DMPD^{\bullet+}$) Radikali Giderme Aktivitesi

DMPD radikali giderme aktivitesi tayini, Fogliona ve ark.'nın[144] metoduna göre belirlenmiştir.[144] Bu niyetle, renkli katyon ($DMPD^{\bullet+}$) elde etmek için, 400 mL pH'sı 5.25 olan 100 mM DMPD çözeltisi, final konsantrasyonu 0.05 M olacak şekilde 0.8 mL $FeCl_3$ eklenmiştir. 505 nm'de çözeltinin absorbansı ölçülmüştür. $DMPD^{\bullet+}$ radikal solüsyonu kullanmadan önce kontrol solüsyonunu 505 nm'de konsantrasyonu 0.1 M ve pH 5.25 olan asetat tamponu ile 0.400±0.500 nm'ye ayarlanmıştır. $DMPD^{\bullet+}$ solüsyonu deney yapılacağı gün hazırlanmalı ve absorbansı 12 saat sabit olmalıdır.

Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağının etanol içindeki çözeltisi ve standart antioksidanların çözeltileri 15–45 μL miktarında deney tüplerine eklenmiş ve hacim 0.5 mL'ye saf suyla tamamlanmıştır. Ardından üzerine 1 mL $DMPD^{\bullet+}$ solüsyonu eklenmiştir. Elli ila elli beş dakika arasında karanlık bir ortamda absorbans değerleri 505 nm'de ölçülmek üzere bekletilmiştir. Tampon çözeltisi ise kör olarak kullanılmıştır.

$DMPD^{\bullet+}$ giderme aktivitesi tayini ile ilgili aşağıdaki çözeltiler hazırlanmıştır:

1. 0.1 M asetat tampon çözelti (pH 5.3): 450 mL saf suda 4.1 g CH_3COONa çözülmüştür. Saf su ile hacim 500 mL'ye tamamlanmış ve pH'sı 5.3'e ayarlanmıştır.
2. 0.1 M DMPD çözeltisi: 10 mL distile suda 209 mg DMPD çözülmüştür.
3. 0.001 M $DMPD^{\bullet+}$ çözeltisi: 0.1 M DMPD çözeltisi 1 mL alınmış, pH'sı 5.25 olan 100 mL 0.1 M asetat tamponuna eklenmiştir. Ardından 0.2 mL 0.05 M $FeCl_3$ eklenmiştir.
4. 0.05 M'lık $FeCl_3$ çözeltisi: 100 mL saf suda 0.81 g $FeCl_3$ çözülmüştür.

3.9.6. 2,2-Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) ($ABTS^{\cdot+}$) Radikali Giderme Aktivitesi

Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağının ABTS radikali giderme aktivitesi Re ve ark.[145] yaptığı çalışma metoduna göre belirlenmiştir.[145] 7 mM ABTS solüsyonu hazırlanmıştır. 2.45 nM persülfat çözeltisi bu çözeltiye eklenmiş ve ABTS radikalleri üretilmiştir. ABTS radikal solüsyonu kullanılmadan önce kontrol çözeltisinin 734 nm'de absorbansı 0.1 M ve pH'sı 7.4 olan fosfat tamponu vasıtasıyla 1.000±0.055 nm'ye ayarlanmıştır. ABTS radikal giderme aktivitesini incelemek için çeşitli konsantrasyonlarda (15-45 µg/mL) uçucu yağa 250 µL ABTS radikal solüsyonu eklenmiş ve 25-30 dakika bekletilmiştir. Absorbanslar 734 nm'de etanolden oluşan köre karşı kaydedilmiştir.

$ABTS^{\cdot+}$ Giderme Aktivitesi Tayini ile ilgili aşağıdaki çözeltiler hazırlanmıştır:

1. 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH: 7.4): Distile suda 5.68 g Na_2HPO_4 350 mL çözünmüştür. Hacim saf suyla 400 mL'ye tamamlanılmıştır ve pH metre yardımıyla pH'sı 6.6'ya ayarlanılmıştır.
2. 2 mM ABTS çözeltisi: Bir gece boyunca tamamen çözününceye kadar 0.1 M pH'sı 7.4 olan fosfat tamponu içine 11 mg ABTS karıştırılmıştır. Distile su ile toplam hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.
3. 2.5 mM potasyum persülfat çözeltisi: 0.1 M pH'sı 7.4 olan fosfat tamponunda, 66.25 mg $K_2O_8S_2$ bileşiği karıştırılarak çözdürülmüştür. Hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.9.7. Bipiridin Metal Şeletlama Aktivitesi

Re ve ark.[145] tarafından belirlenen metoda göre *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının bipiridil reaktifi ile Fe^{2+} şelatlama aktivitesi yapılmıştır.[145] Bunun için,

deney tüplerine 0.125 mL $FeSO_4$ çözeltisi (2 mM) aktarılmıştır. Ardından bu çözeltinin üzerine çeşitli konsantrasyonlarda uçucu yağ içeren etanol çözeltesi ilave edilmiştir. Ardından sırasıyla 0.5 mL Tris-HCl tamponu (pH: 7.4) ve HCl (0.2 M) içerisinde çözünmüş 0.5 mL'lik ve %0.2'lik bipiridin solüsyonu ilave edilmiştir. 1.25 mL etanol ve 0.595 mL distile su içeren numunenin absorbansı 522 nm'de ölçülmüştür. Etanol ise kör olarak kullanılmıştır. Kontrol olarak da numune yerine etanol eklenerek elde edilen çözelti kullanılmıştır.

Bipiridin ile metal şelatlama metodu ile ilgili çözeltiler

1. 0,1 M Tris-HCl çözeltisi: 90 mL distile suda 1.21 g Tris çözülmüştür. Toplam hacim 100 mL'ye distile su ile tamamlanmıştır. pH'sı ise HCl yardımıyla 7.4'e ayarlanılmıştır.
2. 0.2 M HCl çözeltisi: 1.6 mL %37'lik HCl solüsyonundan alınmış ve üzerine 98.4 mL distile su eklenmiştir.
3. %0.2 2,2'-Bipiridin çözeltisi: 0.2 g miktarında 2,2'-Bipiridin alınmış ve ardından 100 mL 0.2 M HCl çözeltisinde çözünmüştür.
4. 2 mM'lık $FeSO_4$ çözeltisi: 50 mL distile suda, 27.8 mg miktarında $FeSO_4$ alınarak çözülmüştür.

3.9.8. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) yardımıyla elde ettiğimiz uçucu yağda bulunan toplam fenolik bileşik miktarı tayin edilmiştir.[146] Gallik asit standart bir fenolik bileşik olarak bu çalışmada kullanılmıştır. İlk önce standart grafik çizilmesi amaçlanmıştır. 1 mg/mL konsantrasyonunda stok çözelti hazırlamak için 25 mg gallik asit 25 mL distile suda çözülmüştür. Hazırladığımız stok çözeltiden 100-500 µg/mL konsantrasyonlarında olacak şekilde gallik asit içeren erlenlere ilave edilmiş ve toplam hacim distile su yardımıyla 23 mL'ye tamamlanmıştır. Ardından sırasıyla 0.5 mL FCR ve 3 dakika sonra

ise 1.5 mL %2'lik Na_2CO_3 solüsyonu eklenilmiştir ve karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Ardından ise 760 nm'de distile sudan oluşan köre karşı numunelerin absorbansı ölçülmüştür. Örnek absorbans değerlerine karşılık gelen gallik asit eşdeğerleri, standart grafikten elde edilen denklemler kullanılarak belirlenmiştir ve gallik asit eşdeğerleri (GAE) ve mikrogram olarak ifade edilmiştir.

3.10. *İn Vitro* Enzim İnhibitör Çalışmaları

3.10.1. Antikolinesteraz Aktivite Deneyi

Çalışmada kullanılan *T. pubescens* var. *pubescens* bitkisinin uçucu yağının AChE enzimi üzerindeki etkisi Ellman metoduna[147] göre araştırılmıştır. Bunun için kullanılan AChE enzimi ticari olarak temin edilmiştir. AChE enzim inhibitörü deneyinde DTNB ve asetilkoliniyodat olmak üzere iki substrat kullanılmıştır. 412 nm'de yapılan ölçümde, 1 mL'lik kuartz küvete, Tablo 3.9'da verilen reaksiyon karışımını oluşturan maddeler sırasıyla eklenmiştir. Oda sıcaklığında 412 nm'de spektrofotometrede absorbans değeri bir dakikada bir okunmuş ve üç dakika sonunda, birinci dakikadaki değer ile üçüncü dakikada okunmuş olan değerler kıyaslanmış ve değerler arasındaki fark alınmıştır. Yapılmış olan bu deney 5 farklı inhibitör konsantrasyonunda tekrarlanmıştır. Ayrıca bütün maddelerin IC_{50} değeri hesaplanmıştır.

Tablo 3.9. AChE Enziminin Aktivite Tayin Metodunda Kullanılan Maddelerin Miktarları ve Kullanım Sırası

Kullanılan Maddeler	Numune Tüpü (µL)	Kontrol tüpü (µL)
Tris-HCl	100	100
Saf su	780	790
Örnek	10	-
DTNB	50	50
Enzim çözeltisi	10	10
Asetilkolintiyoiyodat	50	50
Toplam	1000	1000

Asetilkolinesteraz enziminin aktivite ölçümlerinde kullanılan çözeltiler

1. 1 M Tris-HCl tamponu: Bunun için 30.27 g Tris alınmış ve 5 mM 0.370 g EDTA 200 mL saf suda çözülmüştür. pH metre yardımıyla pH'sı 8'e ayarlanmıştır. Toplam hacim saf su yardımı ile 250 mL'ye tamamlanılmıştır.
2. 10 mM'lık asetilkoliniyodat çözeltisi: Bunun için 0.145 g asetilkoliniyodat alınmış ve 50 mL saf suda çözülmüştür.
3. 10 mM'lık DTNB (5,5'-ditiyo-bis (2-nitrobenzoik asit) çözeltisi: 50 mL distile suda 0.01 g DTNB, 0.5 g sodyum sitrat çözülmüştür.

3.10.2. Antitirozinaz Aktivite Deneyi

Uçucu yağların tirozinaz inhibisyon kapasitesi, Likhitwitayawuid ve Sritularak tarafından[148] modifiye edilen yöntem vasıtasıyla, spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Bu deneyde 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin'in (L-DOPA) substrat olarak kullanılmıştır.[148]

Bitki uçucu yağının %5'lik DMSO içinde pH'sı 6.8 olan potasyum fosfat tamponu ile 25-500 µg/mL konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanılmıştır. α-Kojik asit pozitif kontrol olarak 25-500 µg/mL'de yine fosfat tamponunda çözülmüştür. Örnekler ELISA okuyucuda 96-kuyucuklu mikroplak kullanılarak absorbansları ölçülmüştür. Deney prosedüründe A, B, C ve D karışımları oluşturulmuştur. A, fosfat tamponu (120 µL, pH 6.8), tirozinaz solüsyonu (40 µL, 46 ünit/ mL); B, fosfat tamponu (160 µL pH 6.8); C, fosfat tamponu (80 µL pH 6.8), tirozinaz solüsyonu (40 µL, 46 ünit/ mL), 40 µL numune çözeltisi; D, fosfat tamponu (120 µL, pH 6.8), 40 µL numune çözeltisi ilave edilmiştir. Karışımlar 25 °C'de 8-10 dk bekletildikten sonra her bir kuyucuğa L-DOPA çözeltisi 40 µL konulmuştur. Ardından tekrar 25 °C'de 8-10 dk daha bekletilmiştir. Bekletme sonrasında ELISA cihazına mikroplaklar yerleştirilmiştir. Numuneler ve kontrol numunesinin absorbansları 490 nm'de okutulmuştur. Aşağıda verilen formüle

göre, tirozinaz inhibisyonları hesaplanmıştır. Her örnek 4 tekrar yapılmıştır. Sonuçlar 4 deneyden elde edilen sonuçlara göre grafiği çizilmiştir. Grafikten elde edilen verilere göre IC_{50} hesaplanmıştır.

% İnhibisyon = [[(A-B)- (C-D)] / (A-B)] ×10

3.10.3. *α*-Glikozidaz Enziminin Aktivite Tayini

α-Glikozidaz enzim aktivitesi, Ozaslan ve ark.[149] metoduna göre belirlenmiştir. Substrat olarak p-NPG kullanılmıştır. Numunelerin 1 mg'ı 1 mL DMSO'da çözülerek hazırlanmıştır. 1 mL kuartz küvet içerisine Tablo 3.10'da belirtilen çözeltiler sırasına göre ve miktarlarına göre eklenmiştir. Ardından 35 °C'de 8-10 dakika bekletilmiştir. Farklı konsantrasyonlardan elde edilen veriler ile grafik çizilmiştir. Grafik yardımıyla IC_{50} değeri hesaplanmıştır. Pozitif kontrol olarak akarboz etken maddesi kullanılmıştır. 405 nm'de spektrofotometrede absorbans değerleri ölçülmüştür.

Tablo 3.10. α-Glikozidaz Enzim Aktivitesi Tayin Yönteminde Kullanılmış Çözeltilerin Kullanım Sırası ve Miktarları

Kullanılan Maddeler	Numune Tüpü (µL)	Kontrol tüpü (µL)
Sodyum fosfat tamponu	100	100
Saf su	790	840
Enzim	10	10
4-nitrofenil β-D-glukopiranozit (p-NPG)	50	50
Numune	50	-
Toplam	1000	1000

***α*-Glikozidaz enziminin aktivite ölçümleri ile ilgili aşağıdaki çözeltiler hazırlanmıştır:**

1. 0.1 mM sodyum fosfat tamponu: 450 mL saf suya 6 mg sodyum fosfat ilave edilmiştir. Hacim 500 mL olacak şekilde saf suyla tamamlanmıştır. pH'sı 6.9'e ayarlanmıştır.

2. 0.1 M sodyum fosfat tamponu: 450 mL distile suda 5.99 g sodyum fosfat tamponu çözünmüştür. Daha sonra ise hacim 500 mL'ye tamamlanmıştır. Ve pH'sı 6.9 olarak ayarlanılmıştır.
3. 5 mM 4-Nitrofenil *β*-D-glukopiranozit substrat çözeltisinin hazırlanması: substrattan 0.0376 g tartılarak 25 mL'de 0.1 M'lık fosfat tampon içerisinde çözünmüştür.

3.10.4. *α*-Amilaz Enziminin Aktivite Tayini

Taslimi ve ark.[150] tarafından yapılmış metoda göre *α*-amilaz enziminin aktivitesi belirlenmiştir. Çalışmada, substrat solüsyonu hazırlamak için, 2 g nişasta 80 mL NaOH çözeltisi (0.4 M) içerisinde çözündürülmüş ve 25-30 dakika boyunca 80 °C'de ısıtılmıştır. Ayrıca, buzlu suda soğutulduktan sonra 2.0 M HC1 ile çözeltinin pH'sı 6.9'a ayarlanmış ve 100 mL'e tamamlanılmıştır, bunun için H_20 kullanılmıştır. Numunenin solüsyonları 1 mg'ı 1 mL DMSO'da çözülmüştür. Hazırlanan çözelti 25-30 dakika inkübe edilmiştir. 50 µL 0.1 M HC1 ilave edilerek reaksiyon bitirilmiştir. 580 nm'de spektrofotometrik olarak emilim değerleri ölçülmüştür. *α*-Amilaz enziminin bir birimi 20 °C'de, pH 6.9'da üç dakika içerisinde nişastadan 1.0 mg maltoz salan enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır. Tablo 3.11'de 1 mL'lik kuartz küvetler kullanılarak yapılan ölçümde, reaksiyon karışımını oluşturan maddelerin miktarları ve katılım sırası belirtilmiştir.

Tablo 3.11. *α*-Amilaz Enziminin Aktivite Tayin Yönteminde Kullanılmış Maddelerin Kullanım Sırası ve Miktarları

Kullanılan Maddeler	Numune Tüpü (µL)	Kontrol tüpü (µL)
Numune	50	-
Nişasta	500	500
Sodyum fosfat tamponu	200	250
Enzim	250	250
Toplam	1000	1000

***α*-Amilaz enziminin aktivite ölçümleri ile ilgili aşağıdaki çözeltiler hazırlanmıştır:**

1. 0.1 M sodyum fosfat tamponu: 450 mL distile suda 5.99 g sodyum fosfat tamponu çözülmüş ve pH'sı 6.9'a ayarlanmıştır. Son olarak hacim 500 mL'ye tamamlanmıştır.
2. Nişasta substrat olarak hazırlanması: 20 mL distile su içerisinde 20 mg nişasta çözülmüştür.

3.10.5. Karbonik Anhidraz II Enziminin Aktivite Deneyi

Karbonik anhidraz II izozimi, Sepharose-4B-Tirozin-sülfanamit afinite kolon kromatografisi kullanılarak insan eritrositlerinden saflaştırılmıştır. Eritrositler santrifüj ile çökeltilmiş, serumu ayrılmış ve katı Tris ile pH 8.7'ye ayarlanmıştır. Daha sonra bu numune afinite kromatografisi kolonuna yüklenmiş ve Tris-Na_2SO_4/HCl (pH 8.7, 22 mM/25 mM) ile dengelenmiştir. Karbonik anhidraz II, sodyum asetat/$NaClO_4$ (0.5 M, pH 5.6, 25°C) ile yıkanmıştır. Saflaştırma çalışması sırasında protein miktarı Bradford yöntemiyle belirlenmiştir. Standart protein olarak sığır serum albümini kullanılmıştır. Karbonik anhidraz II saflığı, SDS-PAGE tarafından kontrol edilmiştir. Karbonik anhidraz II'nin saflaştırma ve inhibisyon işlemi sırasında, 348 nm'de absorbans değişimi takip edilerek esteraz aktiviteleri gerçekleştirilmiştir.[151]

3.11. Antimikrobiyal Aktivite Deneyi

Kekik uçuçu yağının antibakteriyel etkinliği disk-difüzyon yöntemi vasıtasıyla *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Proteus mirabilis* ATCC 25933 standart bakteri suşları kullanılarak belirlenmiştir. Siprofloksasin bu çalışmada kontrol antibiyotiği olarak kullanılmıştır.

Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) direktifleri dikkate alınarak disk-difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir.[152]

Çalışma prosedürü zamanına kadar -80 °C'de saklanan standart bakteri suşları kanlı ve eosin methylen-blue agar (EMB) kullanılarak canlandırılmıştır. Çalışma için uçucu yağlar boş antibiyotik disklerine emdirilerek 30 dakika süre ile kurumaya bırakılmıştır. Disk-difüzyon yöntemi için bakteri suşlarından steril serum fizyolojik ile 0,5 Mc Farland (1x108 colony forming unit (CFU) / mL) bulanıklığa denk süspansiyon hazırlandı Ardından her bir bakteri süspansiyonundan steril eküvyon yardımı ile Mueller-Hinton agar yüzeyine yayma ekim yapıldı. Ekim işleminin ardından besiyeri yüzeyine kontrol antibiyotiği olan siprofloksasin diski (5 µg) ve uçucu yağların emdirilmiş olduğu diskler yerleştirildi. Besiyerlerinin 37 °C'de 18-24 saat inkübasyonunun ardından disklerin etrafında oluşan zon çaplarının ölçümleri yapıldı.

4. BULGULAR

Uçucu Yağ Eldesi Verimi

Thymus pubescens var. *pubescens* toprak üstü kısmının yaprak ve çiçeksi kısımlarının 100 g'ı 4000 mL balon içine konulmuş üzerine 10 katı su ilave edilmiştir. Clavenger cihazı ve soğutucu balona takılmıştır. Balon içindeki su ve bitki materyali 3 saat boyunca mantolu ısıtıcı ile kaynatılmıştır. Süre sonunda cihaz kapatılmış ve 1 saat soğuması beklenmiştir. 3 saat sonrası Clevenger cihazında biriken uçuyağ miktarı 200 µL olduğu tespit edilmiştir. Volumetrik olarak %0.2 verim elde edilmiştir.

GC-MS/MS Analiz Çalışması Bulguları

Thymus pubescens var. *pubescens*'den elde edilen uçucu yağında majör olarak pulegon %29.013, piperitenon %17.166, izomenton %15.048, ökaliptol (1,8 sineol) %7.209, karvakrol %5.767, levomentol %5.515 maddeleri tespit edilmiştir.

Tablo 4.1. *Thymus pubescens* var. *pubescens*'den Elde Edilen Uçucu Yağın GC-MS/MS ile Tespit Edilen Kimyasal Kompozisyonu

Pik	Retansiyon süresi	Bileşiğin ismi	Miktar (%)	RRI
1.	6.96	*β*-Tujen	0.086	966
2.	7.32	*α*-pinen	0.942	929
3.	7.99	Kamfen	0.201	952
4.	8.13	3-metilsiklohekzanon	0.056	958
5.	9.78	*β*-pinen	2.663	-
6.	10.31	Amilvinilkarbinol	0.313	980
7.	10.77	*β*-mirsen	0.546	991
8.	11.38	amiletilkarbinol	0.322	994
9.	12.28	*α*-terpinen	0.230	1017
10.	13.49	Ökaliptol (1,8 sineol)	7.209	1032
11.	13.78	t-*β*-osimen	0.235	1049
12.	14.31	*β*-osimen	0.160	1037
13.	14.85	*γ*-terpinen	0.695	1060
14.	15.40	*p*-mentha-3,8-dien	0.185	1075
15.	16.33	*p*-mentha-1,4(8)-dien	0.103	1088
16.	17.73	1-oktenil asetat	0.091	1192
17.	20.24	izomenton	15.048	1164
18.	20.66	izomentol	2.768	1183
19.	22.54	levomentol	5.515	1175
20.	24.36	pulegon	29.013	-
21.	24.87	piperiton	4.156	1253

Tablo 4.1. (Devamı)

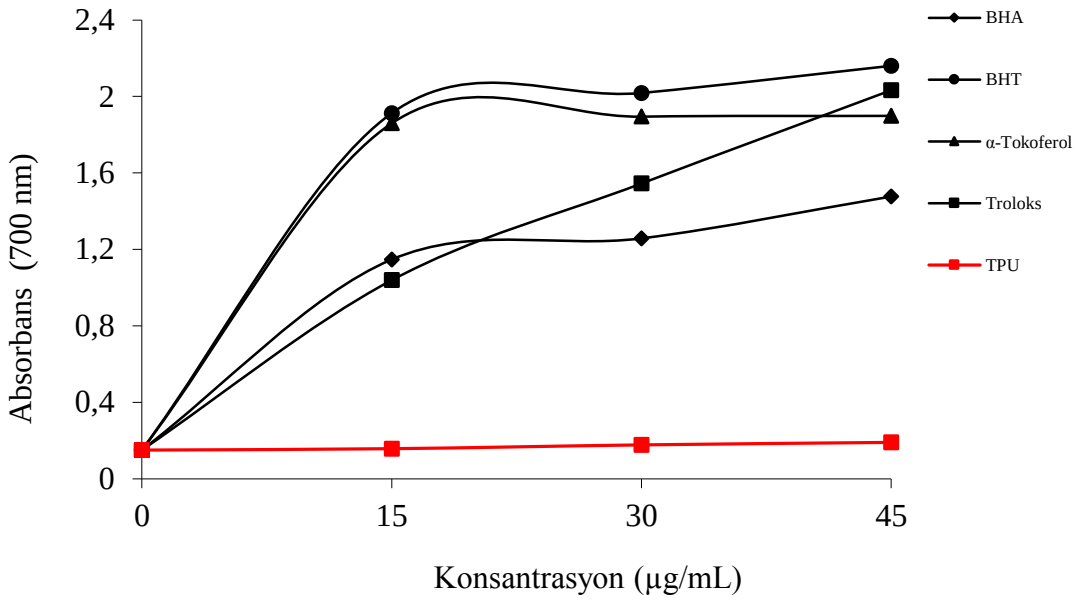
Pik	Retansiyon süresi	Bileşiğin ismi	Miktar (%)	RRI
22.	25.11	*p*-mentha-1,8-dien-3-one	0.288	-
23.	25.46	İzomentol asetat	0.545	1305
24.	26.73	Timol	0.334	1291
25.	27.10	Karvakrol	5.767	1299
26.	27.92	Piperitenon	17.166	1340
27.	28.34	Öjenol	0.404	1537
28.	28.53	Longifolen	0.158	1405
29.	28.83	*β*-borbonen	0.197	1384
30.	29.07	*β*-elemen	0.058	1391
31.	29.15	*α*-ylangege	0.075	-
32.	29.47	*θ*-kamfenemetanol	0.063	1628
33.	29.94	karyofilen	0.317	1419
34.	30.22	*β*-kopaen	0.037	-
35.	31.10	*β*-farnesen	0.306	1457
36.	31.98	Germakren	1.1881	1481
37.	32.09	İzogermakren D	0.056	1448
38.	32.71	*β*-bizabolen	0.143	1495
39.	32.92	*γ*-kadinen	0.104	1509
40.	33.18	*δ*-kadinen	0.268	1513
41.	34.84	Spatulenol	0.159	1576
42.	35.04	Karyofilen epoksit	0.054	1581
43.	35.68	İzotujil asetat	0.058	1298
44.	35.98	epikubenol	0.102	1627
45.	36.81	Kadinol T	0.707	1640
46.	37.04	*α*-kadinol	0.291	1653
47.	38.13	Ent-germakra-4(15),5,10(14)-trien-1- *β*-ol	0.226	1695
48.	42.11	Hekzahidrofornesilaseton	0.062	1844
49.	48.62	Fitol	0.142	2114

Antioksidan Çalışmalarından Elde Edilen Bulgular

Fe^{3+}-Fe^{2+} İndirgeme Kapasitesi İle İlgili Bulgular

Fe^{3+}-Fe^{2+} indirgeme kapasitesi deneyinde, reaksiyon karışımının absorbansındaki artış, kompleks oluşumunu göstermektedir. Oluşan bu kompleks de indirgeme kapasitesindeki artışa işaret etmektedir.[153] Antioksidan olarak kullanılan etanol içinde çözünmüş *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağ (TPU) numunesinin indirgeme gücünden dolayı numune içeren çözeltinin sarı rengi yeşil ve mavi tonuna dönüşmüştür.[154] Kekik uçucu yağının indirgeme kapasitesi konstrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Uçucu yağın ve standart antioksidanların (BHT (Bütil hidroksi toluen),

BHA (Bütil hidroksi anisol), troloks ve α-tokoferol) indirgeme potansiyeli 15, 30, 45 µg/mL konsatrasyonlarında 700 nm'de olan absorbans değerleri ölçülerek belirlenmiştir. (Şekil 4.1. Tablo 4.2.) 30 µg/mL'de BHT (λ_{700}:2.018)> α-tokoferol (λ_{700}:1.895)> troloks (λ_{700}:1.545)> BHA (λ_{700}:1.257)> TPU (λ_{700}:0.179) şeklinde bir sıralamaya sahip olduğu görülmüştür. Tablo 4.2'de 30 µg/mL konsantrasyonda absorbansların karşılaştırılması gösterilmiştir.



Şekil 4.1. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının Fe^{3+} indirgeme kuvvetinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması

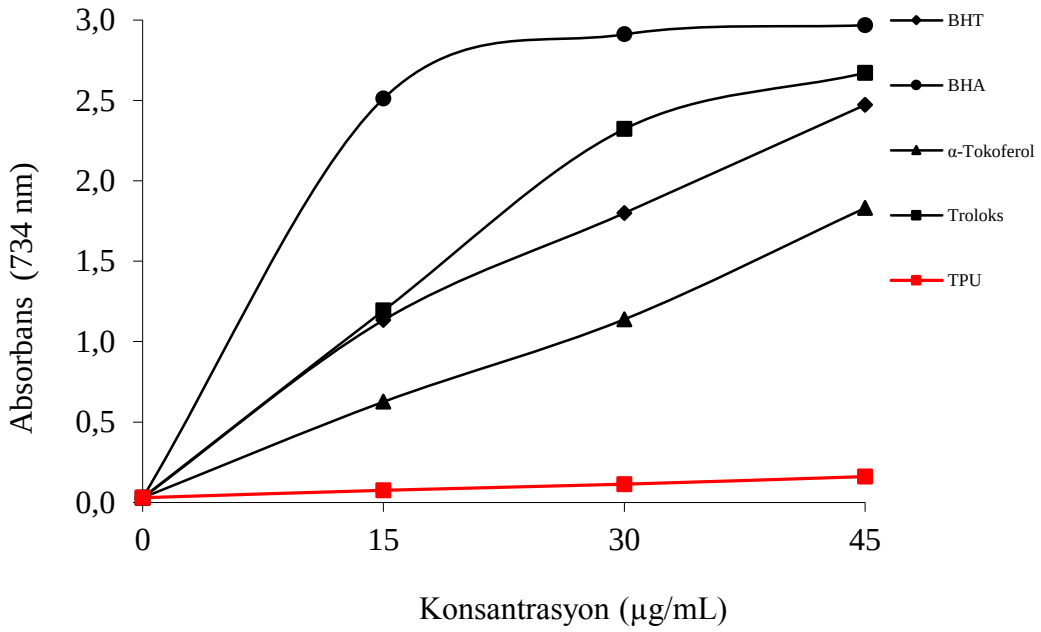
KUPRAK Metodu İle İlgili Bulgular

Kuprak metodu, antioksidan bileşik etkisi ile Cu^{2+}'nın Cu^{+}'a indirgenmesine veya polifenoller tarafından neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) varlığında sulu etanolik ortamda (pH 7.0) indirgemeye dayanır. 450 nm'de olan maksimum absorpsiyon pikine sahip olan bir Cu^{+} kompleksi verir.[155]

Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağı Cu^{2+} iyonları indirgeme kapasitesi, artan konsantrasyon ile orantılı olarak absorbans vermiştir. Çalışmış olduğumuz uçucu yağın kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme kapasitesi farklı konsantrasyonda (15-45

µg/mL) çözeltilerinin 450 nm'de absorbansları ölçülmüştür. 30 µg/mL'de absorbanslar kıyaslandığında BHT (λ_{450}:2.912)> troloks (λ_{450}:2.323)> BHA (λ_{450}:1.800)> tokoferol (λ_{450}:1.139)> TPU (λ_{450}:0.098) şeklinde bir sıralamaya sahip olduğu görülmüştür.

Tez kapsamında uçucu yağın, standart antioksidanların kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme grafiği (Şekil 4.2) çizilmiştir. Ayrıca Tablo 4.2'de uçucu yağın ve standart antioksidanların 30 µg/mL konsantrasyonda verdiği absorbans değeri verilerek karşılaştırma yapılmıştır.



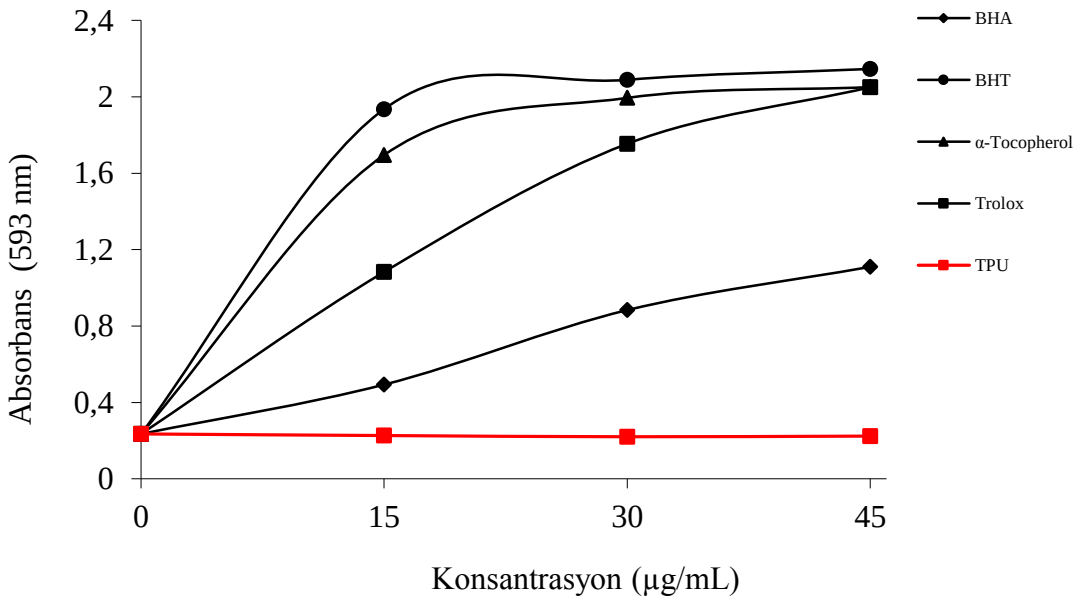
Şekil 4.2. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının Cu^{2+} indirgeme kuvvetinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması

FRAP İle İlgili Bulgular

FRAP testi, asidik ortamda antioksidanlar tarafından ferrik iyonlarının (Fe^{3+}) ligand kompleksinin, yoğun mavi renkli ferröz iyonları (Fe^{2+}) kompleksine indirgenmesini ölçen tipik bir elektron transfer bazlı yöntemdir. Başka bir deyişle, bu yöntem, antioksidan bileşiklerin asidik ortamda ferrik 2,4,6-tripiridil-*s*-triazin kompleksini $[Fe^{3+}\text{-}(TPTZ)_2]^{3+}$, yoğun mavi renkli ferröz komplekse $[Fe^{2+}\text{-}(TPTZ)_2]^{2+}$

indirgemesine dayanmaktadır. Spektrofotometre aracılığıyla 593 nm'de artan absorpsiyon ile bu indirgeme ölçülmektedir. Sonuçlar mikromolar Fe $^{2+}$ eşdeğeri veya bir antioksidan standardı olarak bildirilmektedir.[139]

Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağının ferrik iyonlarının (Fe^{3+}) ligand kompleksinin ferröz iyonları (Fe^{2+}) kompleksine indirgenme kapasitesi artan konsantrasyon ile doğru orantılı şekilde artmıştır. (Şekil 4.3) Ayrıca çalışılan uçucu yağ ve standart antioksidanların indirgeme kapasitesi 30 µg/mL'de absorbanslarla karşılaştırıldığında BHT (λ_{593}:2.089)> *α*-tokoferol (λ_{593}:1.995)> troloks (λ_{593}:1.755)> BHA (λ_{593}:0.884)> TPU (λ_{593}:0.279) şeklinde bir sıralamaya sahip olduğu görülmüştür. Tablo 4.2'de 30 µg/mL konsantrasyonda absorbansların karşılaştırılması gösterilmiştir.



Şekil 4.3. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının $[Fe^{3+}\text{-}(TPTZ)_2]^{3+}$ kopleksinin, $[Fe^{2+}\text{-}(TPTZ)_2]^{2+}$indirgeme kuvvetinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması

Tablo 4.2. 30 µg/mL Konsantrasyonda *Thymus pubescens* var. *pubescens* Uçucu Yağının $Fe^{3+,}$ Cu^{2+}, Fe^{3+}-TPTZ İyonlarının İndirgeme Kapasitesinin Pozitif Kontroller İle Karşılaştırılması

Antioksidan	Fe^{3+} indirgeme		Cu^{2+} indirgeme		Fe^{3+}-TPTZ indirgeme	
	λ (700 nm)	r^2	λ (450 nm)	r^2	λ (593 nm)	r^2
BHA	1.257	0.9523	1.800	0.9742	0.884	0.9899
BHT	2.018	0.9466	2.912	0.9969	2.089	0.9581
α-Tocopherol	1.895	0.9402	1.139	0.9967	1.995	0.9807
Trolox	1.545	0.9966	2.323	0.9980	1.755	0.9990
TPU*	0.179	0.9826	0.098	0.9966	0.279	0.9953

$DPPH^{\cdot}$ Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi Bulguları

$DPPH^{\cdot}$ radikal giderme yöntemi, antioksidan aktiviteyi ölçmek ve enzimatik olmayan antioksidanların radikal giderme aktivitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan basit, kolay, ekonomik ve hızlı ve verimli bir deneydir. Ve 517 nm'de maksimum absorbans göstermektedir. DPPH radikali, koyu mor renk taşıyan kararlı organik nitrojen radikallerinden biridir. Ticari olarak mevcuttur ve $ABTS^{\cdot+}$ gibi testten önce üretilmesi gerekmemektedir. Yaygın olarak kullanılan renk giderme tahlili ilk olarak Blois tarafından rapor edilmiştir.[143]

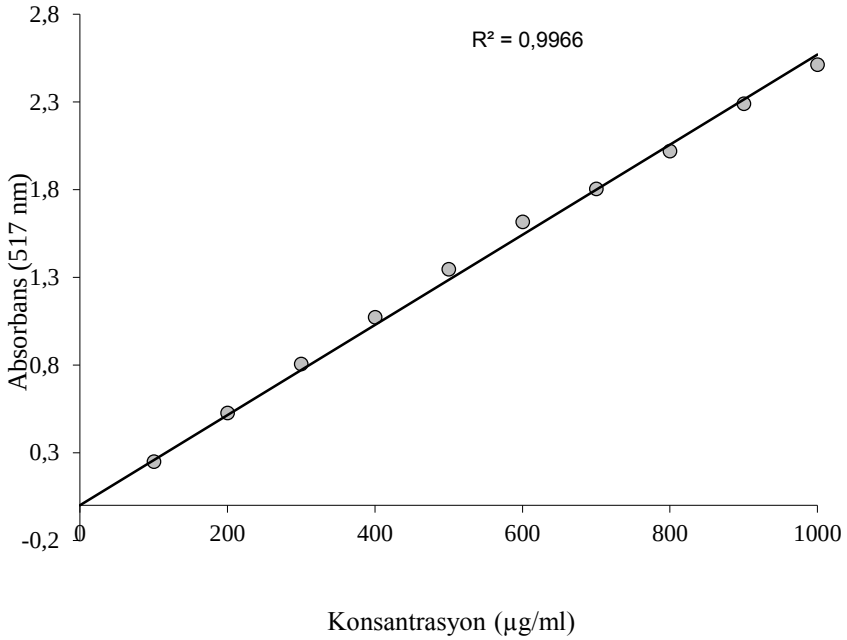
DPPH radikal çözeltisi, hidrojen atomu verebilen bir antioksidan molekül ile karıştırıldığında, menekşe rengi kaybolarak indirgenmektedir.[156]

Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağının ve çeşitli standart antioksidanların (BHT, BHA, troloks ve *α*-tokoferol) DPPH radikali giderme aktivite tayini çalışmasında standart grafiği oluşturulmuştur. (r^2: 0.9966) (Şekil 4.4)

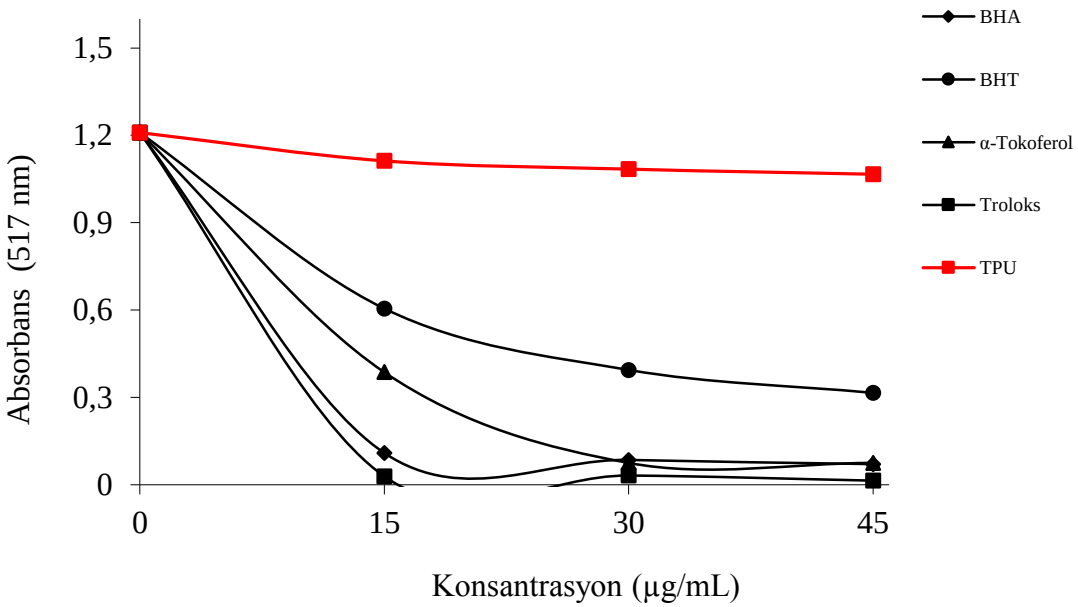
Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağının DPPH radikali giderme aktivitesi konsantrasyon ile doğru orantılı bir şekilde artmaktadır. (Şekil 4.5)

Grafik çiziminin sonuçlarına göre, uçucu yağ ve sentetik antioksidanlar için IC_{50} değerleri hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma sonucu $DPPH^{\cdot}$ serbest radikal giderme aktivitesinin troloks (IC_{50}: 5.92 µg/mL) < BHA (IC_{50}: 9.0 µg/mL) < *α*-tokoferol

(IC_{50}: 9.63 µg/mL) < BHT (IC_{50}: 21.0 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 231.05 µg/mL) şeklinde olduğu bulunmuştur. (Tablo 4.3).



Şekil 4.4. DPPH radikal giderme aktivitesi tayini için hazırlanan standart DPPH grafiği



Şekil 4.5. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının DPPH radikali giderme aktivitesinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması

DPPH radikali giderme aktivitesi tayininden arda kalan DPPH radikal miktarı standart grafikten elde edilmiş ve aşağıda verilmiş olan denklemden hesaplanmıştır. (Absorbans λ_{517}) =0.0026 x [DPPH]

DPPH radikali ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak BHA, BHT, α-Tokoferol ve Troloks kullanılmıştır.

$$\text{DPPH} \cdot \text{giderme aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{\lambda\,517 - \text{N}}{\lambda\,517 - \text{K}}\right) \text{x}100$$

$\lambda_{517\text{-N}}$ = DPPH radikal çözeltisine numune ilavesinden sonra bulunan absorbans değeri

$\lambda_{517\text{-K}}$ = Sadece DPPH radikal çözeltisi içeren kontrol değerinin absorbans değeri

$DMPD^{\bullet+}$ Radikali Giderme Aktivitesi Bulguları

DMPD radikal katyonu, potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) ve demir klorür ($FeCl_3$) ile oksidasyon yoluyla oluşturulabilen kararsız bir türdür. Ferrik iyonların (Fe^{3+}) varlığında, *N,N*- dimetil -*p*-fenilendiamin dihidroklorür (DMPD), renkli DMPD radikal katyonuna ($DMPD^{\cdot+}$) dönüştürülür. Test numunelerinde bulunan antioksidan moleküller, DMPD radikallerini kolayca temizleyerek $DMPD^{\cdot+}$ testinin prensibini oluşturur. ABTS testi ile karşılaştırıldığında bu yöntemin daha basit, daha hızlı ve daha ucuz olduğu bildirilmiştir. Bir oksidan veya asidik pH varlığında, DMPD, stabil ve renkli bir DMPD radikal katyonuna ($DMPD^{\cdot+}$) dönüştürülür. Bir hidrojen atomunu (veya bir elektronu) $DMPD^{\cdot+}$'ye aktarabilen antioksidan moleküller çözeltinin hızlı renk bozulmasına neden olmaktadır ve 505 nm'de bir absorbans düşüşü ile ölçülmektedir. Bununla birlikte, DMPD'nin sadece suda çözünür olması ve hidrofobik antioksidanlarla kullanılamaması bir dezavantajıdır.[139]

$DMPD^{\cdot+}$ giderme aktiviteleri tayini için, çalışmalarda kullanılan uçucu yağ içeren etanol çözeltisi, BHA ve troloks gibi standart antioksidanların grafikleri hazırlanmıştır

(Şekil 4.6). Arta kalan $DMPD^{\cdot+}$ miktarı standart grafikten elde edilen denklem ile hesaplanmıştır. (r^2=0.9797)

(Absorbans λ_{505}) =0,0011 x [$DMPD^{\cdot+}$]

Grafik çiziminden sonra, uçucu yağ ve sentetik antioksidanlar için IC_{50} değerleri hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır. *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının ve çeşitli standart antioksidanların (BHA, troloks) 505 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Uçucu yağın DMPD radikal giderme aktivitesi derişimin artması ile doğru orantılı olarak artmış bu durum Şekil 4.7'de gösterilmiştir.

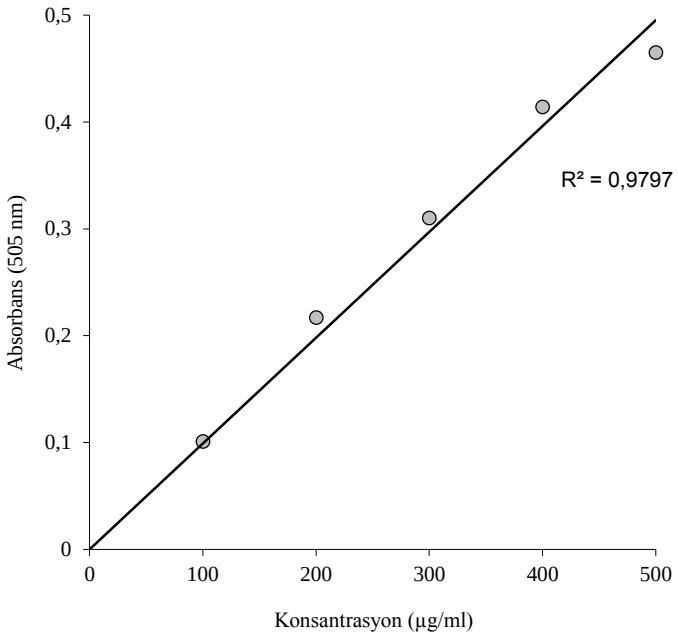
$DMPD^{\cdot+}$ miktarındaki azalma aşağıda verilen eşitlikten yüzde olarak bulunmuştur.

$$\text{DMPD giderme aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{\lambda\ 505 - \text{N}}{\lambda\ 505 - \text{K}}\right) \text{x}100$$

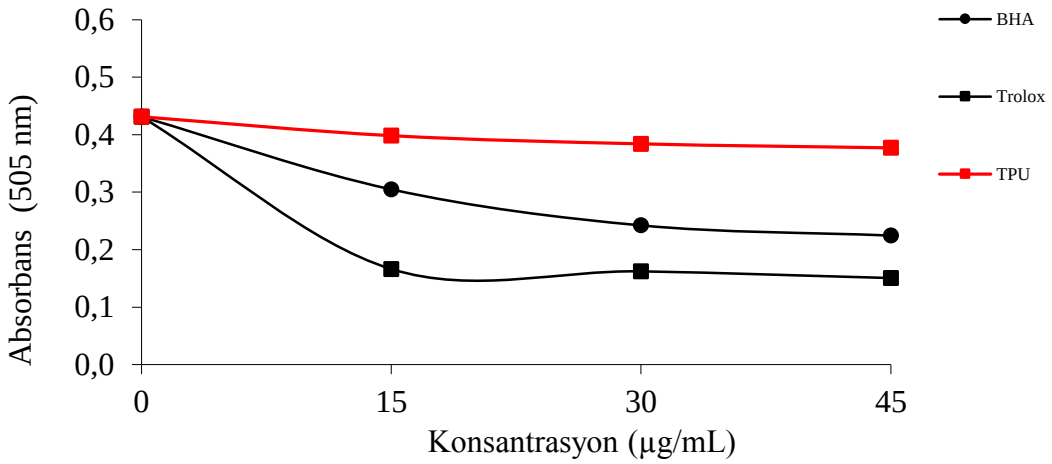
$\lambda_{505\text{-N}}$ = $DMPD^{\cdot+}$ radikal çözeltisine numune ilave ettikten sonra tespit edilen absorbans değeri

$\lambda_{505\text{-K}}$ = Yalnızca $DMPD^{\cdot+}$ radikal çözeltisi kontrolün absorbans değeri

Bu karşılaştırma sonucu [$DMPD^{\cdot+}$] serbest radikal giderme aktivitesinin troloks (IC_{50}: 14.38 µg/mL) < BHA (IC_{50}: 31.43 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 231.05 µg/mL) şeklinde olduğu bulunmuştur. (Tablo 4.3).



Şekil 4.6. DMPD$^{\cdot+}$ süpürücü aktivite tahlili ile oluşturulan standart DMPD grafiği



Şekil 4.7. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının DMPD$^{\cdot+}$ radikali giderme aktivitesinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması

ABTS$^{\cdot+}$ Radikali Giderme Aktivitesi Bulguları

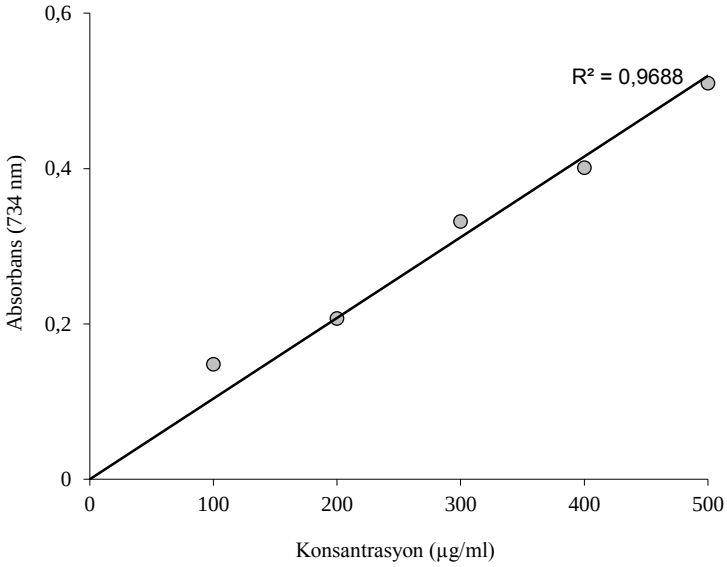
ABTS, oksidanlar tarafından koyu renkli ABTS$^{\cdot+}$ radikal katyonuna oksitlenir. Antioksidan kapasite, numunenin ABTS radikali ile doğrudan reaksiyona girerek,

renginin açılmasını sağlamaktadır. $ABTS^{\cdot+}$ hem yağda çözünen hem de suda çözünen bileşikler için uygundur.[153]

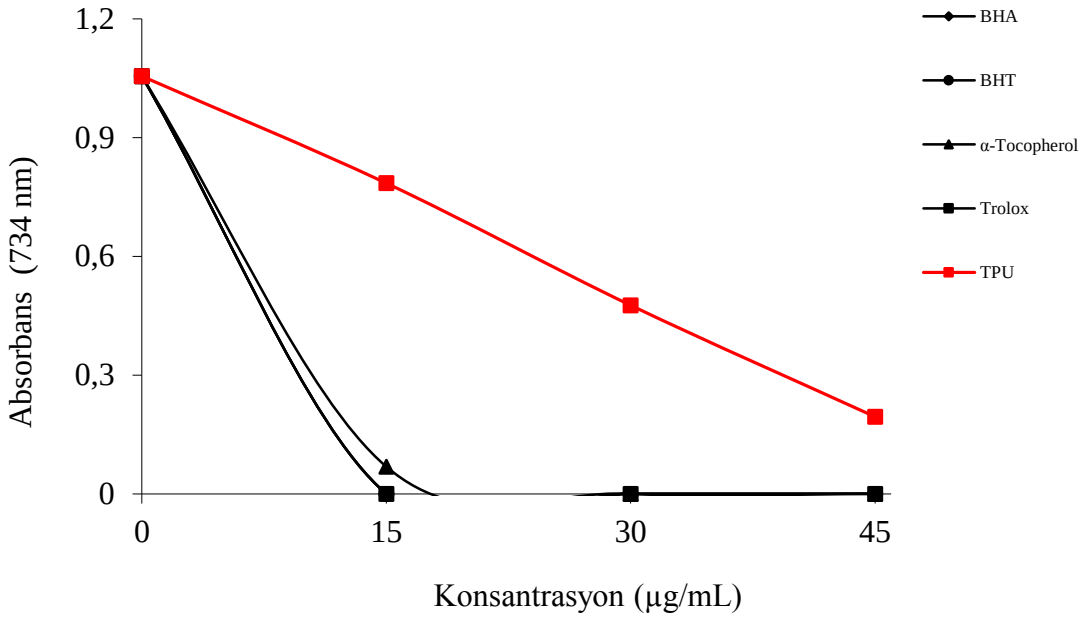
$ABTS^{\cdot+}$ ile reaksiyon oldukça hızlıdır ve 0.25-0.5 dakikada tamamlanmaktadır. Mavi-yeşil renkli $ABTS^{\cdot+}$ radikal katyonu çözeltisine numune içeren antioksidan ajanların konmasıyla rengi daha açık hale gelmektedir. Önceden oluşturulmuş radikalin serbest radikal süpürücülerle reaksiyonu, 734 nm'de numune absorbansının takip edilmesiyle kolayca görselleştirilmektedir.[157]

$ABTS^{\cdot+}$ radikali giderme aktivite tayini çalışmasında *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının ve çeşitli standart antioksidanların standart grafiği oluşturulmuştur. (r^2: 0.9688) (Şekil 4.8)

Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağının 734 nm'de absorbansları ölçülmüştür, $ABTS^{\cdot+}$ radikali giderme aktivitesi sonuçlarına göre TPU'nun $ABTS^{\cdot+}$ radikali giderme aktivitesi konstrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Uçucu yağ ve standart antioksidanlar için IC_{50} değerleri hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma sonucu $ABTS^{\cdot+}$ serbest radikal giderme aktivitesinin troloks (IC_{50}: 7.71 µg/mL) = BHA (IC_{50}: 7.71 µg/mL) = BHT (IC_{50}: 7.71 µg/mL) < α-tokoferol (IC_{50}: 8.10 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 21.0 µg/mL) şeklinde olduğu bulunmuştur. (Şekil 4.9, Tablo 4.3).



Şekil 4.8. $ABTS^{\cdot+}$ radikal giderme etkisinin belirlenmesi için hazırlanan standart ABTS grafiği



Şekil 4.9. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının $ABTS^{\cdot+}$ radikali giderme aktivitesinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması

Bipiridin Metal Şeletlama Aktivitesi Bulguları

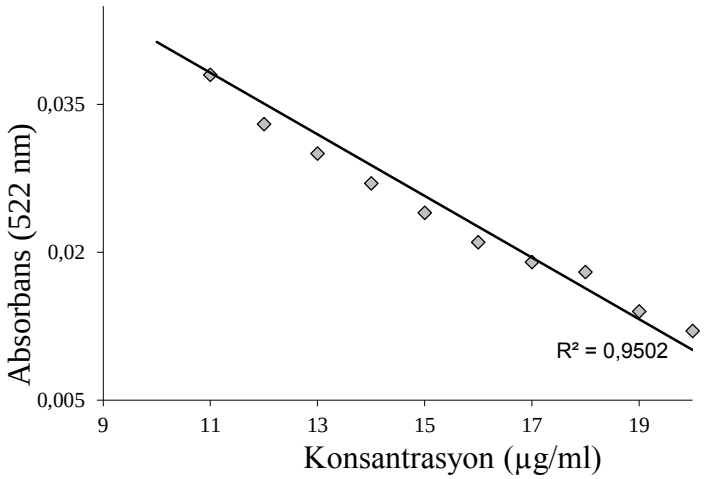
Metal şelatlama kapasitesi, demir (Fe^{2+}) dahil olmak üzere metal iyonları için antioksidanların şelatlama etkisinin ölçülmesiyle belirlenmektedir. Fe^{2+} gibi elemental bileşikler, hayvan ve insan sistemlerinde ROS üretimini kolaylaştırabilmekte ve maddelerin demiri şelatlama yeteneği, antioksidan özellik için değerli olabilmektedir. Yüksek reaktivitesinden dolayı lipitleri okside eden pro-oksidan olarak geçiş metalleri en önemli olarak yer almaktadır.[153]

Demir sülfat ($FeSO_4$) ve demir klorür ($FeCl_2$) en yaygın olarak kullanılan demir iyon kaynaklarıdır. [158] Antioksidanların eklenmesinden sonra 485 nm (2,2′-bipiridin) veya 562 nm'de (ferrozin için) absorbans kaybı, metal-antioksidan kompleksinin oluşumunu ifade etmektedir ve eklenen antioksidanın metal şelasyon kapasitesi spektrofotometrik olarak ölçülebilmektedir. [159] Bir antioksidanın metal şelatlama aktivitesinin ölçülmesi, test materyali ve demir iyonu içeren çözeltinin reaksiyona girmesine ve sonrasında Fe^{2+}–ferrozin kompleksinin absorbans ölçümüne dayanmaktadır. Ferrozin, serbest Fe^{2+} ile bir kompleks oluşturmaktadır, ferrozin-Fe^{2+} kompleksi miktarındaki azalma antioksidan şelatörlerin varlığını göstermektedir. Ferrozin–Fe^{2+} kompleksi, λ_{562} nm'de ölçülebilen absorbansa sahip kırmızı bir kromofor üretmektedir. Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) genellikle gıda ve farmasötik uygulamalarda standart bir metal şelatör olarak kullanılmaktadır.[160]

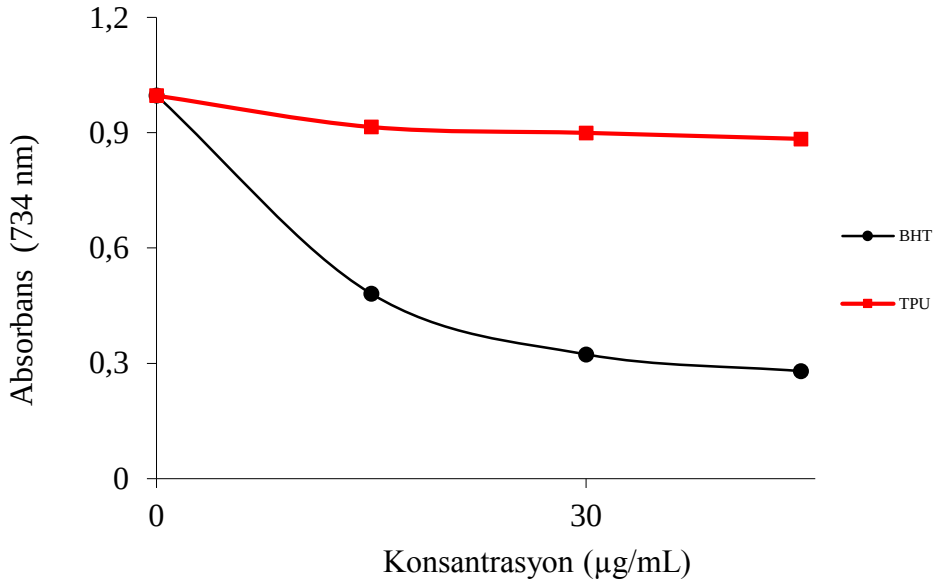
Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağının ve BHT metal şeletlama aktivite tayini çalışmasında standart grafiği oluşturulmuştur. (r^2: 0.9502) (Şekil 4.10)

Kekik uçucu yağının metal şelatlama aktivitesi konstrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Uçucu yağın ve standart antioksidan BHT'nin metal şelatlama aktivitesi 15, 30, 45 μg/mL konsatrasyonlarında 522 nm'deki absorbans değerleri ölçülerek belirlenmiştir. (Şekil 4.11.) Grafik çiziminden sonra, uçucu yağ ve sentetik antioksidanlar için IC_{50}

değerleri hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma sonucu metal şelatlama aktivitesinin BHT (IC_{50}: 21.66 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 231.05 µg/mL) şeklinde olduğu bulunmuştur. (Tablo 4.3). BHA, α-tokoferol ve troloks standartlarının IC_{50} değerleri inhibisyon gözlenmediği için hesaplanamamıştır.



Şekil 4.10. Metal şelatlama aktivitesi deneyi için hazırlanmış standart metal şelatlama grafiği



Şekil 4.11. 15-45 µg/mL konsantrasyonlarda *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının metal şeletlama aktivitesinin standart antioksidan ile karşılaştırılması

Aşağıda verilen denklemde, şelatlanan metal iyonunun miktarı yüzde olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Ferröz iyonları şelatlama aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{\lambda\ 522 - \text{K} - \lambda\ 522 - \text{N}}{\lambda\ 522 - \text{K}}\right) \text{x} 100$$

$\lambda_{522\text{-N}}$ = Numunenin ya da çalışmada kullanılan standart antioksidanın absorbansı

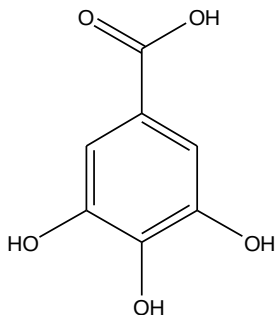
$\lambda_{522\text{-K}}$ = Sadece ferrozin ve Fe^{2+} iyonlarının varlığındaki kontrol numunesinin absorbansı

Tablo 4.3. *Thymus pubescens* var. *pubescens* Uçucu Yağının IC_{50} Değerlerinin $DPPH^{\cdot}$, $ABTS^{\cdot+}$, $DMPD^{\cdot+}$ ve Bipiridin Metal Şelatlama Aktivitelerinde Standart Antioksidanlarla Karşılaştırması

Antioksidanlar	$DPPH^{\cdot}$ giderme		$ABTS^{\cdot+}$ giderme		$DMPD^{\cdot+}$ giderme		Demir şelatlama	
	IC_{50}	r^2	IC_{50}	r^2	IC_{50}	r^2	IC_{50}	r^2
BHA	9.00	0.9399	7.71	0.9330	31.43	0.9993	-	-
BHT	21.00	0.9668	7.71	0.9330	-	-	21.66	0.9908
Trolox	5.92	0.9770	7.71	0.9330	14.38	0.9349	-	-
α-Tocopherol	9.63	0.9947	8.10	0.9550	-	-	-	-
TPU	231.05	0.9861	21.0	0.9994	231.05	0.9963	231.05	0.9704

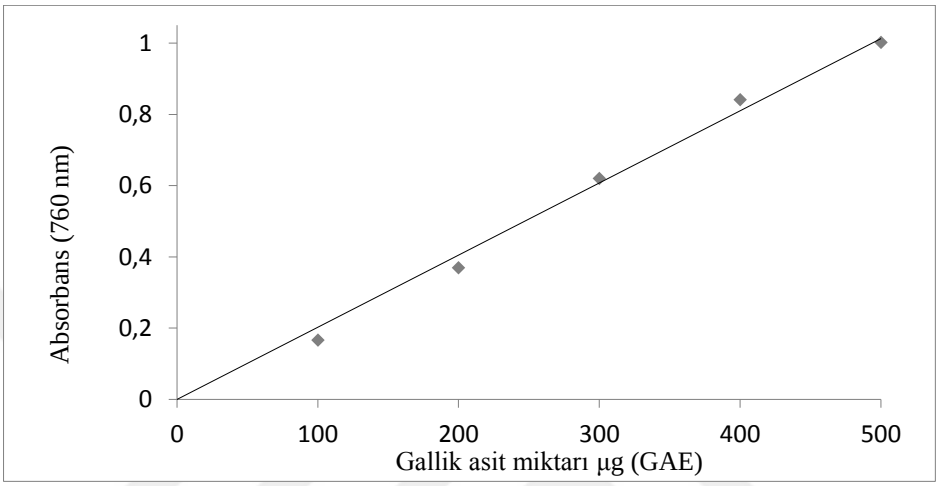
Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini Bulguları

Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağında yer alan toplam fenolik bileşik madde miktarını tespit etmek için standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanılmıştır. (Şekil 4.12)



Şekil 4.12. Gallik asit molekülünün kimyasal yapısı

Fenolik madde miktarını belirlemek için standart grafik gallik asit kullanılarak hazırlanmıştır. Elde edilen standart grafik yardımıyla denklem elde edilmiştir (y = 0,002x, r^2: 0,9917). Elde edilen denklem ile uçucu yağın toplam fenolik bileşik miktarı, gallik asit eşdeğeri (GAE) alınarak hesaplanmıştır. Hazırlanan standart grafik Şekil 4.13'te verilmiştir.



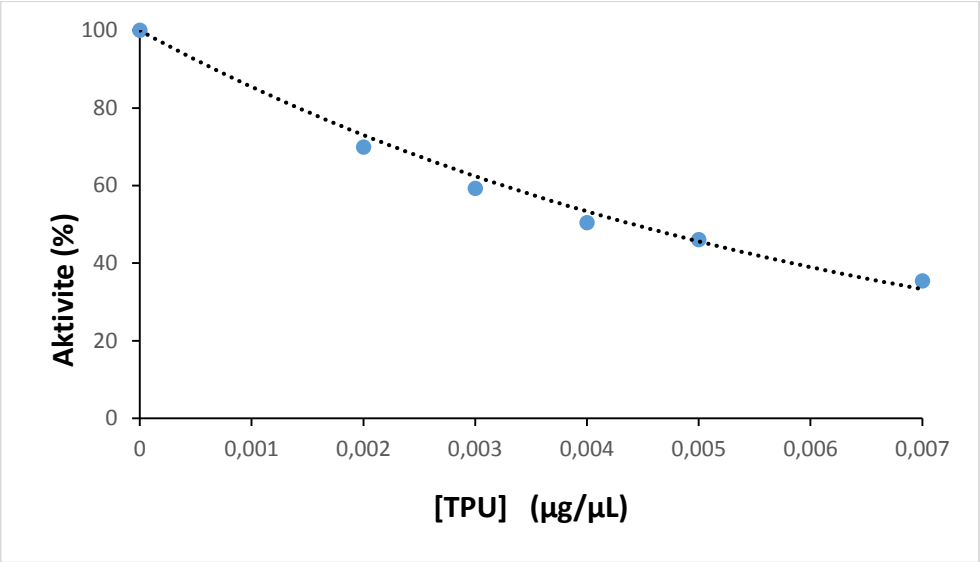
Şekil 4.13. Fenolik bileşiklerin toplam miktarını belirlemek için gallik asit ile yapılan standart grafik

Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağı 760 nm'de 0.021 değerinde absorbans vermiştir. Bu da 10.50 µg gallik asit eşdeğeri fenolik madde içerdiğini göstermektedir.

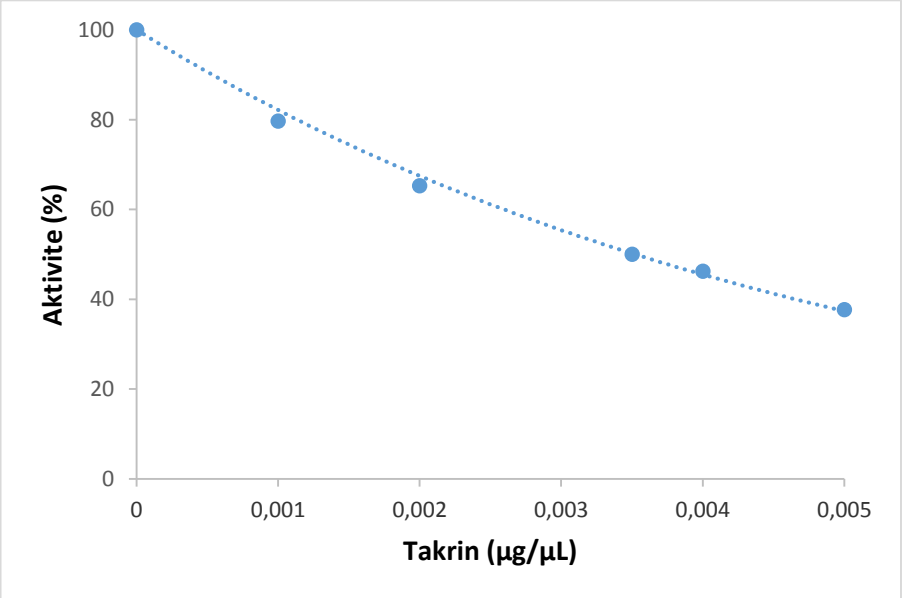
İn Vitro Enzim İnhibitör Çalışmaları Bulguları

AChE enzimi inhibisyon bulguları

Doygun substrat konsantrasyonunda AChE enzimi için standart inhibitörü olan takrin ve *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağın inhibisyon etkisine bakılmıştır ve grafikleri çizilmiştir. (Şekil 4.14 ve Şekil 4.15) Grafikten yararlanılarak uçucu yağın IC_{50} değeri 0.0044 µg/µL (r^2=0.9822), takrinin IC_{50} değeri ise 0.0035 µg/µL (r^2=0.9965) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.14. AChE enzim aktivitesinde çalışılan *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının farklı konsantrasyonunda çizilen aktivite (%)-[TPU] grafiği

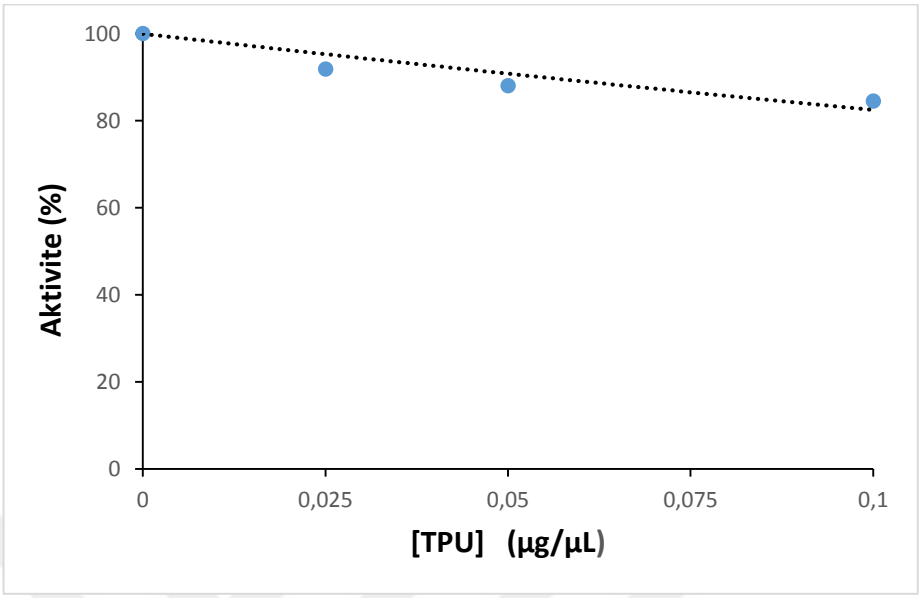


Şekil 4.15. AChE enzime karşı inhibitör etkili standart takrin etken maddesinin aktivite grafiği

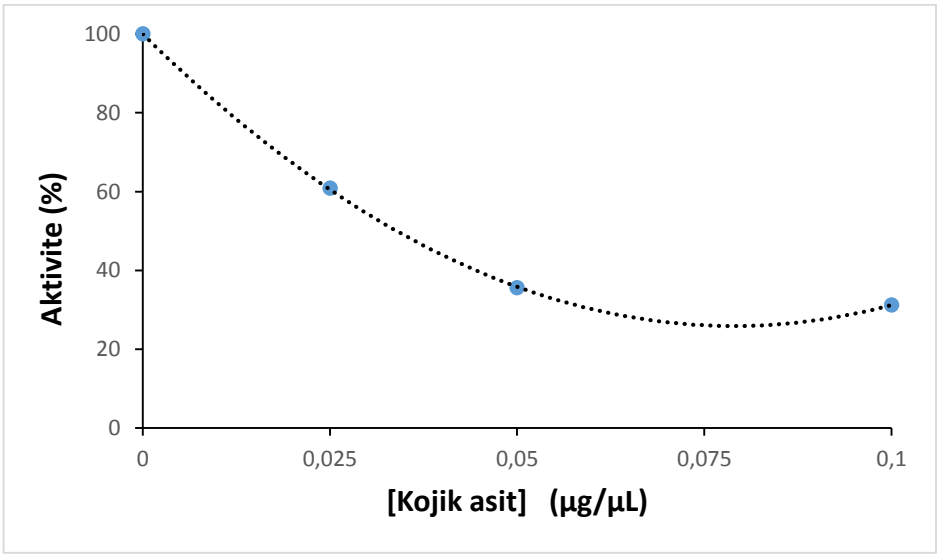
Tirozinaz enzimi inhibisyon bulguları

Doygun substrat konsantrasyonunda tirozinaz enzimi için standart inhibitörü olan kojik asit ve *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağın inhibisyon etkisine bakılmıştır ve grafikleri çizilmiştir. (Şekil 4.16 ve Şekil 4.17)

Grafikten yararlanılarak uçucu yağın IC_{50} değeri 0.36 µg/µL (r^2=0.9940), kojik asitin IC_{50} değeri ise 0.034 µg/µL (r^2=0.9999) olarak hesaplanmıştır.



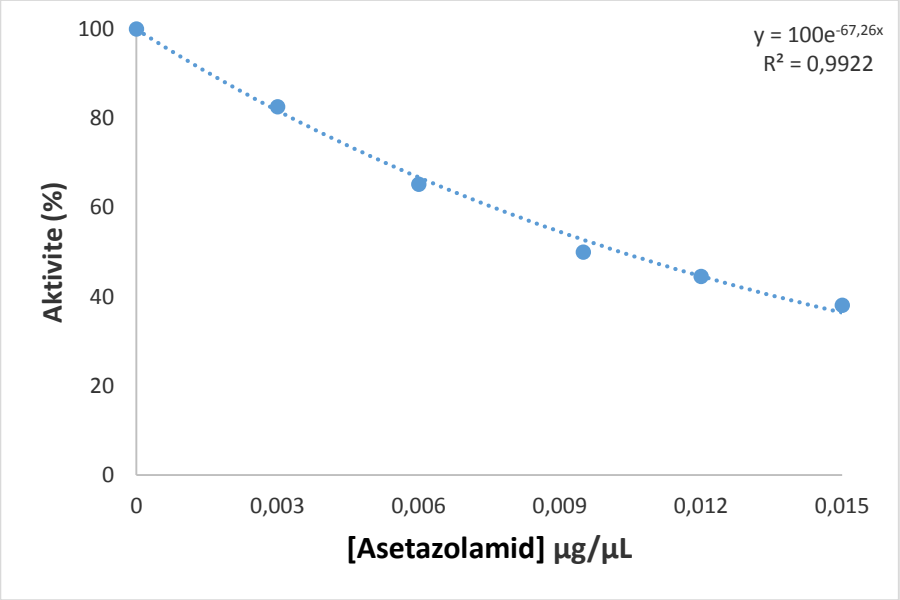
Şekil 4.16. Tirozinaz enzim aktivitesinde çalışılan *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının farklı konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[TPU] grafiği



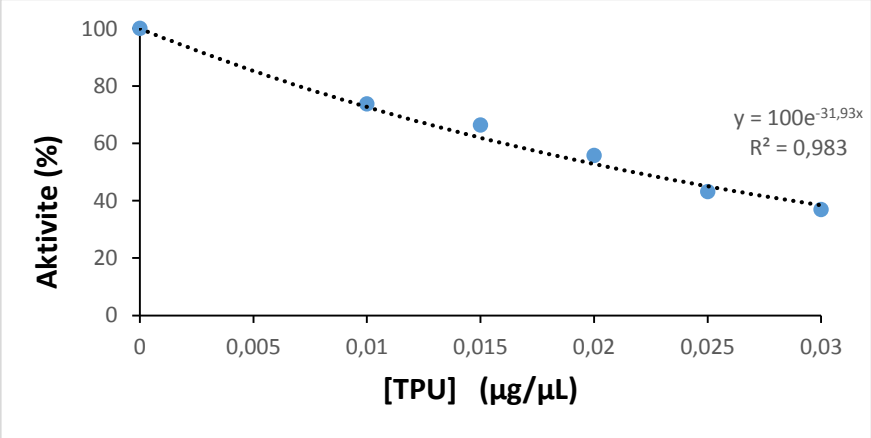
Şekil 4.17. Tirozinaz enzim aktivitesinde çalışılan farklı Kojik asit konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[kojik asit] grafiği

Karbonik anhidraz II enzimi inhibisyon bulguları

Doygun substrat konsantrasyonunda karbonik anhidraz II için standart inhibitörü olan takrin ve *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağın inhibisyon etkisine bakılmıştır ve grafikleri çizilmiştir. (Şekil 4.18 ve Şekil 4.19) Grafikten yararlanılarak uçucu yağın IC_{50} değeri 0.0217 µg/µL (r^2=0.9830), takrinin IC_{50} değeri ise 0.01 µg/µL (r^2=0.9922) olarak hesaplanmıştır.



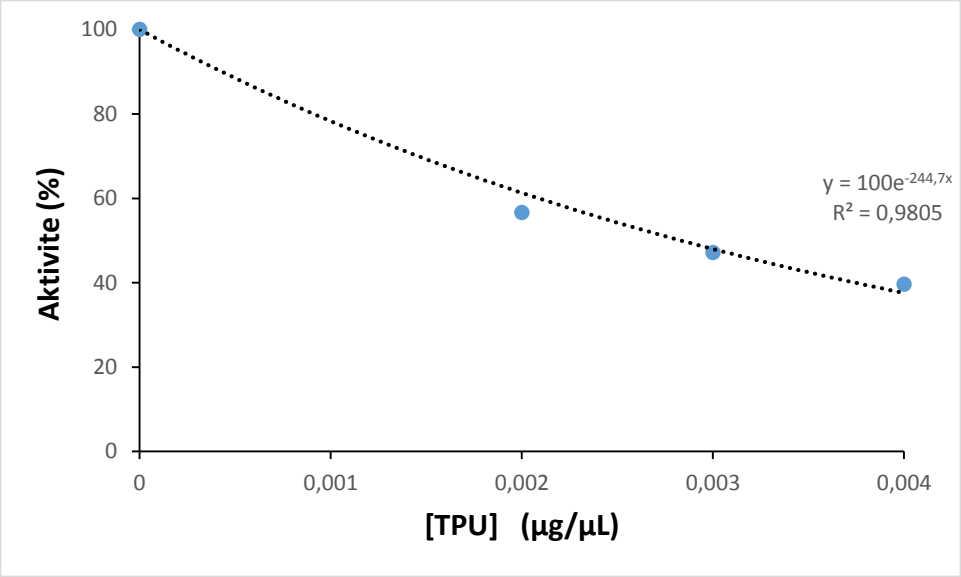
Şekil 4.18. Karbonik anhidraz II enzim aktivitesinde çalışılan *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının farklı konsantrasyonunda çizilen aktivite (%)-[TPU] grafiği



Şekil 4.19. Karbonik anhidraz II enzime karşı inhibitör etkili asetozolamid etken maddesinin aktivite grafiği

α-Glikozidaz enzimi inhibisyon bulguları

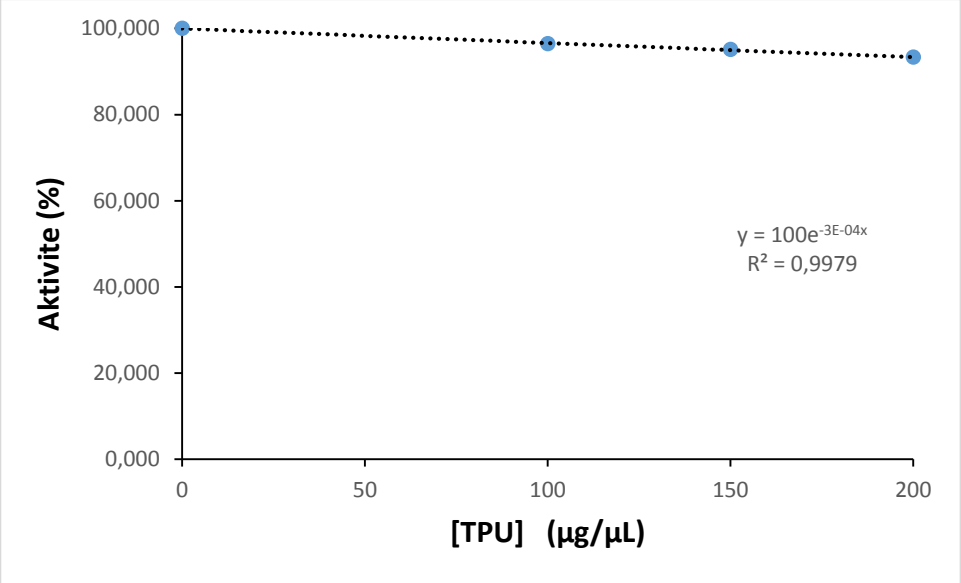
Doygun substrat konsantrasyonunda α-glikozidaz için *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağın inhibisyon etkisine bakılmıştır ve grafiği çizilmiştir. (Şekil 4.20) Grafikten yararlanılarak uçucu yağın IC_{50} değeri 0.00283 µg/µL (r^2=0.9805) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.20. α-Glikozidaz enzim aktivitesinde çalışılan *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının farklı konsantrasyonunda çizilen aktivite (%)-[TPU] grafiği

α-Amilaz enzimi inhibisyon bulguları

Doygun substrat konsantrasyonunda α-amilaz için *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağın inhibisyon etkisine bakılmıştır ve grafiği çizilmiştir. (Şekil 4.21) Grafikten yararlanılarak uçucu yağın IC_{50} değeri 2.015 µg/µL (r^2=0.9979) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.21. *α*-Amilaz enzim aktivitesinde çalışılan *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının farklı konsantrasyonunda çizilen aktivite (%)-[TPU] grafiği

Antimikrobiyal aktivite bulguları

Thymus pubescens var. *pubescens* uçucu yağının ve siprofloksasin standardının antibakteriyel etkinliği "*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve ATCC 43300, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Proteus mirabilis* ATCC 25933, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606" standart bakteri suşları siprofloksasin standardı kullanılarak disk-difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre TPU, "*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis"* bakterilerine karşı etkili; *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* bakteri suşlarına karşı etkisiz olduğu görülmüştür. Uçucu yağın disk-difüzyon yönteminde oluşturduğu zonlar mm cinsinden ölçülmüş ve Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4. *Thymus pubescens* var. *pubescens* Uçucu Yağının Bakteri Türlerine Karşı Antimikrobiyal Aktivitesi (İnhibisyon Zonları)

Bakteri	**Suş**	**TPU zon inhibisyon (mm)**	**Siprofloksasin zon inhibisyon (mm)**
Staphylococcus aureus	ATCC 29213	14	28
Staphylococcus aureus	ATCC 43300	14	26
Enterococcus faecalis	ATCC 29212	-	24
Escherichia coli	ATCC 25922	10	40
Klebsiella pneumoniae	ATCC 700603	11	22
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 9027	-	33
Proteus mirabilis	ATCC 25933	10	39
Acinetobacter baumannii	ATCC 19606	30	26

5. TARTIŞMA

Erzurum Köşk köyünden Temmuz 2020'de 1950 rakımdan çiçeklenmeden sonra toplanmış *Thymus pubescens* var. *pubescens* toprak üstü kısmının yaprak ve çiçek kısımlarının Clavenger cihazıyla su distilasyonu yapmış %0.2 (v/m) verimle açık sarı renkte uçucu yağı elde edilmiştir. *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağın (TPU) GC-MS/MS ile analizinde majör olarak pulegon %29.013, piperitenon %17.166, izomenton %15.048, ökaliptol (1,8 sineol) %7.209, karvakrol %5.767, levomentol %5.515 kimyasal komposizyonu olarak belirlenmiştir. (Tablo 4.1) *Thymus pubescens* bitkisinin önceden uçucu yağ analizi çalışmaları yapıldığı görülmüştür. Ancak *Thymus pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının kimyasal analizinin olmadığı bilgimiz dahilinde görülmemiştir. Ayrıca uçucu yağların kimyasal kompozisyonu ve miktarları üzerinde bitkilerin, genotip, kemotip, cografik orijin, çevre ve toprak sartları ile toplanma zamanının etkili olduğu da bilinmektedir. Bundan dolayı her çalışmada kimyasal kompozisyon yeniden değerlendirilmelidir.

Sefidkon ve ark.[15] tarafından yapılan bir çalışmada İran bölgesinden toplanmış *T. pubescens* türünün uçucu yağ veriminin çiçeklenmeden önce %0.55 (m/m) çiçeklenmeden sonra ise %1.45 (m/m) olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada uçucu yağ analizi de yapılmış ve çiçeklenmeden sonra elde edilen uçucu yağda karvakrol %48.8, timol %13.9, p-simen%12.7 ve borneol %3.8 maddelerinin majör olduğu tespit edilmiştir.

Başka bir çalışmada ise *T. pubescens* uçucu yağının %63.4 timol, %19.2 alfa-terpineol, %1.2 limonen, %4.0 p-simen, %3.7 karvakrol içerdiği bildirilmiştir. [13] Yapılan birçok uçucu yağ analizinde *T. pubescens* bileşiminde majör maddenin karvakrol ve timol, α-terpineol olduğu[8, 14-18] bildirilmiştir.

Nazemiyeh ve ark. tarafından[161] yapılan bir çalışmada İran'da yetişen iki kemotip *T. pubescens* bitkisinin uçucu yağlarının 1.51 ve 1.73 % (v/w) verime sahip olduğu,

sitronelol (%42 ve %42,6), geranil asetat (%14.0 ve %14.0), geraniol (13.0 ve %13.1), sitronellil asetat (3.9 ve %3,8), linalool (%7.8 ve %7.9) ve cis-nerodiol (%5.9 ve %5.5) majör maddelerine sahip olduğu bildirilmiştir.

Bahsedilen tüm çalışmalarda *T. pubescens* bitkisinin varyetesi ayrıntılandırılmamıştır. Çalıştığımız bitkinin varyetesi belirlenmiş ve "var. *pubescens*" olarak Prof. Dr. Yusuf Kaya tarafından doğrulanmıştır.

Aynı bitki türünün farklı popülasyonlarda yetişmesiyle bile kimyasal içeriği ve aktivitesi değişmektedir. Hem yaptığımız çalışma hem de bahsedilen çalışmalar bu farklılığı göstermektedir.[8, 13-18, 161]

Çalışmamızda TPU'nun ve çeşitli standartların (BHA, BHT, troloks, α-tokoferol) 15, 30, 45 µg/mL konsatrasyonlarda Fe^{3+}-Fe^{2+} indirgeme kapasitesi, Cu^{2+}-Cu^{+} indirgeme kapasitesi (KUPRAK), Fe^{3+}-TPTZ indirgeme kuvveti (FRAP), 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikalleri giderme, *N,N*- dimetil -*p*-fenilendiamin dihidroklorür (DMPD) radikali giderme aktivitesi, 2,2-azinobis(3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit) ($ABTS^{\cdot+}$) radikali giderme aktivitesi ve bipiridin metal şeletlama aktivitesi gibi yedi farklı metot ile antioksidan aktivitesi belirlenmiştir.

Yaptığımız literatür araştırmasında bilgimiz dahilinde *Thymus* türlerinin uçucu yağ ve ekstrelerinin antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu bildirilmektedir. [162, 163] Ancak *T. pubsescens* hakkında yapılan çalışmalar sınırlı olup[93, 161], *T. pubescens* var. *pubescens* hakkında yapılan antioksidan ve enzim inhibisyon ve antimikrobiyal aktivitesi hakkında bilgimiz dahilinde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ayrıca yapılan çalışmalarda en fazla 2 farklı antioksidan yöntemle çalışılmış bunların da DPPH ve ABTS ve β-karaoten ağartma deneyi olduğu görülmüştür.[93, 161]

Nazemiyeh ve ark.[161] tarafından yapılan çalışmada, *T. pubescens*'in her iki popülasyonu, DPPH testi ile belirlenmiş önemli bir serbest radikal süpürücü özelliği olmadığı bildirilmiştir.

Nickavar ve ark.[93] tarafından yapılan çalışmada *T. pubescens* uçucu yağının $ABTS^{\bullet+}$ radikali giderme deneyinde IC_{50} değerinin 1.15 µg/mL ve *β*-karoten ağartma inhibisyon testinde ise IC_{50} değerinin 0.45 µg/mL olduğu bildirilmiştir.

Yaptığımız literatür araştırmasında kendi türümüzle kıyaslayamadığımız için ticari olarak ve tıbbi olarak en çok tercih edilen, kültürü yapılan *T. vulgaris* bitkisinin uçucu yağı hakkında yaptığımız 7 antioksidan ve 5 enzim inhibisyon ve antimikrobiyal yöntemle olan çalışmaları araştırılmıştır.

Fe^{3+}-Fe^{2+} indirgeme kapasitesi sonuçlarına göre, TPU'nun indirgeme kapasitesi konstrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. 15, 30, 45 µg/mL konsatrasyonlarında 700 nm'deki absorbans değerleri ölçülerek belirlenmiştir. 30 µg/mL'de absorbanslar kıyaslandığında BHT (λ_{700}:2.018)> *α*-Tokoferol (λ_{700}:1.895)> Troloks (λ_{700}:1.545)> BHA (λ_{700}:1.257)> TPU (λ_{700}:0.179) şeklinde bir sıralamaya sahip olduğu görülmüştür. (Şekil 4.1, Tablo 4.2.)

Cu^{2+} iyonları indirgeme kapasitesi sonuçlarına göre, TPU'nun indirgeme kapasitesi konstrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. TPU'nun kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme kapasitesi farklı konsantrasyonda (15-45 µg/mL) çözeltilerinin 450 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlenmiştir. 30 µg/mL'de absorbanslar kıyaslandığında BHT (λ_{450}:2.912)> Troloks (λ_{450}:2.323)> BHA (λ_{450}:1.800)> Tokoferol (λ_{450}:1.139)> TPU (λ_{450}:0.098) şeklinde bir sıralamaya sahip olduğu görülmüştür. (Şekil 4.2, Tablo 4.2.)

Ferrik iyonlarının indirgenme kapasitesi sonuçlarına göre, TPU'nun indirgenme kapasitesi konstrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Ayrıca çalışılan uçucu yağ ve standart antioksidanların indirgeme kapasitesi 30 µg/mL'de absorbanslarla

karşılaştırıldığında BHT (λ_{593}:2.089)> α-Tokoferol (λ_{593}:1.995)> Troloks (λ_{593}:1.755)> BHA (λ_{593}:0.884)> TPU (λ_{593}:0.279) şeklinde bir sıralamaya sahip olduğu görülmüştür. (Şekil 4.3, Tablo 4.2.)

DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçlarına göre TPU'nun DPPH radikali giderme aktivitesi konstrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Uçucu yağ ve standart antioksidanlar için IC_{50} değerleri hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma sonucu $DPPH^{\cdot}$ serbest radikal giderme aktivitesinin Troloks (IC_{50}: 5.92 µg/mL) < BHA (IC_{50}: 9.0 µg/mL) < α-Tokoferol (IC_{50}: 9.63 µg/mL) < BHT (IC_{50}: 21.0 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 231.05 µg/mL) şeklinde olduğu bulunmuştur. (Şekil 4.5, Tablo 4.3).

Dash ve ark.[129] tarafından yapılan çalışmada *T. vulgaris* uçucu yağının DPPH ve FRAP tahlili yoluyla antioksidan çalışması yapılmış, sırasıyla 1.71±0.02 ve 1.032±0.01 µg/mL olarak IC_{50} ve EC_{50} sergiledikleri bildirilmiştir.

Mancini ve ark.[164] tarafından yapılan çalışmada üç *T. vulgaris* uçucu yağının DPPH radikal gidermesi deneyinde IC_{50} değerlerinin 64.93, 28.95, 58.25 µg/mL olduğu bildirilmiştir.

Ichrak ve ark.[165] tarafından yapılan çalışmada *T. satureioides* ve *T. pallidus* uçucu yağının DPPH radikal gidermesi deneyinde IC_{50} değerlerinin sırasıyla 0.32 ve11.6 mg/mL olduğu bildirilmiştir.

Souadia ve ark.[166] tarafından yapılan çalışmada *T. ciliatus* uçucu yağının DPPH radikali giderme deneyinde IC_{50} değerinin 3.12 mg/mL, FRAP radikali gidermesi deneyinde ise IC_{50} değerinin 3.88 mg/mL olduğu bildirilmiştir.

Vitali ve ark.[167] tarafından yapılan çalışmada *T. alternans* uçucu yağının ABTS deneyinde IC_{50} değerinin 465.8 ± 9.1 IC_{50} (µg/mL), FRAP deneyinin sonucunun ise 12.7 ± 0.6 TEAC (µmol TE/g) olduğu bildirilmiştir.

Benguedouar ve ark.[168] tarafından yapılan çalışmada *T. willdenowii* uçucu yağının DPPH ve Ferrik iyonu indirgeme deneylerinde IC_{50} değerlerinin sırasıyla, 1600 µg/mL, 800 µg/mL olduğu; ABTS ve KUPRAK deneylerinde ise sırasıyla, 38.06 +/- 0.30, 56.15 +/- 1.07 µg/mL sonuçlarının gözlemlendiği bildirilmiştir.

Ceylan ve ark.[169] tarafından yapılan çalışmada *T. spathulifolius* uçucu yağının DPPH ve ABTS deneylerinde IC_{50} değerlerinin sırasıyla, 3.82 ve 0.22 mg/mL olduğu; FRAP ve KUPRAK deneylerinde EC_{50} değerlerinin sırasıyla 0.12 ve 0.34 mg/mL olduğu bildirilmiştir. Bunun yanı sıra, AChE deneyinde 0.95 ± 0.01, tirozinaz deneyinde 11.03 ± 2.82, α-Amilaz deneyinde 7.19 ± 0.14, α-Glukozidaz deneyinde ise 1.08 ± 0.05 sonuçlarının görüldüğü bildirilmiştir.

$DMPD^{\cdot+}$ giderme aktivitesi sonuçlarına göre TPU'nun DMPD radikali giderme aktivitesi konstrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Uçucu yağ ve standart antioksidanlar için IC_{50} değerleri hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma sonucu DMPD serbest radikal giderme aktivitesinin Troloks (IC_{50}: 14.38 µg/mL) < BHA (IC_{50}: 31.43 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 231.05 µg/mL) şeklinde olduğu bulunmuştur. (Şekil 4.7, Tablo 4.3)

$ABTS^{\cdot+}$ radikali giderme aktivitesi sonuçlarına göre TPU'nun $ABTS^{\cdot+}$ radikali giderme aktivitesi konstrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Uçucu yağ ve standart antioksidanlar için IC_{50} değerleri hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma sonucu $ABTS^{\cdot+}$ serbest radikal giderme aktivitesinin Troloks (IC_{50}: 7.71 µg/mL) = BHA (IC_{50}: 7.71 µg/mL) = BHT (IC_{50}: 7.71 µg/mL) < α-Tokoferol (IC_{50}: 8.10 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 21.0 µg/mL) şeklinde olduğu bulunmuştur. (Şekil 4.9, Tablo 4.3).

Bipiridin metal şeletlama aktivitesi sonuçlarına göre metal şelatlama kapasitesi konstrasyon artışına bağlı olarak artmıştır. Uçucu yağ ve standart antioksidanlar için IC_{50} değerleri hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma sonucu metal şelatlama

aktivitesinin BHT (IC_{50}: 21.66 µg/mL) < TPU (IC_{50}: 231.05 µg/mL) şeklinde olduğu bulunmuştur. (Tablo 4.3). BHA, α-Tokoferol ve troloks için lineer bir inhibisyon gözlenmediği için IC_{50} değerleri hesaplanamamıştır.

TPU'da gallik asit eşdeğeri olarak fenolik madde miktarının 10.50 µg gallik asit eşdeğeri fenolik madde içerdiği tespit edilmiştir.

Aliakbarlu ve Shameli[170] tarafından yapılan çalışmada *T. vulgaris* uçucu yağının fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu reaktif tahlili yöntemiyle belirlenmiş ve 116.5 mg GAE/g olduğu bildirilmiştir.

Mancini ve ark.[164] tarafından yapılan çalışmada beş *T. vulgaris* uçucu yağının toplam fenol içeriğinin, 77.6-165.1 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g arasında değiştiği bildirilmiştir.

İn vitro enzim inhibisyonu çalışmaları kapsamında AChE, tirozinaz, karbonik anhidraz II, α-glikozidaz ve amilaz enzimi inhibisyonu çalışmaları yapılmıştır.

AChE enzim inhibisyonu sonuçlarına göre uçucu yağın IC_{50} değeri 0.0044 µg/µL (r^2=0.9822), takrinin IC_{50} değeri ise 0.0035 (r^2=0.9965) olarak hesaplanmıştır. (Şekil 4.14 ve Şekil 4.15)

Tirozinaz enzimi inhibisyonu sonuçlarına göre uçucu yağın IC_{50} değeri 0.36 µg/µL (r^2=0.9940), kojik asitin IC_{50} değeri ise 0.034 µg/µL (r^2=0.9999) olarak hesaplanmıştır. (Şekil 4.16 ve Şekil 4.17)

Karbonik anhidraz II enzimi inhibisyonu sonuçlarına göre uçucu yağın IC_{50} değeri 0.0217 µg/µL (r^2=0.9830), takrinin IC_{50} değeri ise 0.01 µg/µL (r^2=0.9922) olarak hesaplanmıştır. (Şekil 4.18 ve Şekil 4.19)

α-Glikozidaz enzimi inhibisyonu sonuçlarına göre uçucu yağın IC_{50} değeri 0.00283 µg/µL (r^2=0.9805) olarak hesaplanmıştır. (Şekil 4.20)

α-Amilaz enzimi inhibisyonu sonuçlarına göre uçucu yağın IC_{50} değeri 2.015 µg/µL (r^2=0.9979) olarak hesaplanmıştır. (Şekil 4.21)

Antimikrobiyal aktivite çalışmasının sonuçlarına göre *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis* bakterilerine karşı etkili olduğu sırasıyla 14, 10, 11, 10 mm zon çapları ölçüldüğü tespit edilmiştir. Bunun yanında *Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa* bakteri suşlarına karşı ise etkisiz olduğu görülmüştür. Çalışmada siprofloksasin standart antibiyotik olarak kullanılmış ve antibiyotiğin bakterilere karşı gösterdiği zon çapları ölçülmüştür. (Tablo 4.4)

Nazemiyeh ve ark.[161] tarafından yapılan çalışmaya göre *T. pubescens* uçucu yağının *Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus* bakterilerine karşı etkili olduğu bildirilmiştir.

Rasooli ve ark.[171] tarafından yapılan başka bir çalışmada *T. pubescens* uçucu yağının *E. coli, S. aureus, B. subtilis, K. pneumonia ve P. aeroginosa* bakterilerine karşı etkili olduğu bildirilmiştir.

.

.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada halk arasında tıbbi ve gıda olarak da kullanımı olan bir kekik türü olan *T. pubescens* var. *pubescens* bitkisinin uçucu yağı (TPU) çıkarılmıştır.

- TPU'nun tıbbi kullanımının var olup olamadığı 7 farklı yöntemle antioksidan ve 5 farklı enzim ile inhibisyon testleriyle belirlenmiştir. Yaptığımız araştırmada bilgimiz dahilinde ticari olarak satılan *T. vulgaris* dahil kapsamlı bir antioksidan ve enzim inhibisyon çalışmasının olmadığı görülmüştür.
- TPU'nun orta düzeyde bir antioksidan aktivitesi mevcuttur. Ticari olarak satışı olan *T. vulgaris* uçucu yağından daha düşük bir antioksidan aktivitesi tespit edilmiştir.
- TPU'nun orta düzeyde bir enzim inhibitör aktivitesi mevcuttur.
- Ayrıca çeşitli bakteri suşlarında iyi düzeyde antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir. Buna göre koruyucu olarak antimikrobiyal aktivitesinden faydalanılabilir.
- Yaptığımız bu çalışma ile literatürde *T. pubescens* var. *pubescens* uçucu yağının farmakolojik ve biyokimyasal etkinlikleri hakkındaki eksiklik giderilmiştir.

İlerleyen çalışmalarda hücre kültürü, ve *in vivo* çalışmalarla bu etkinlikler desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

1. Tohidi B, Rahimmalek M, Trindade H. Review on essential oil, extracts composition, molecular and phytochemical properties of Thymus species in Iran. *Industrial Crops and Products*, 2019, 134: 89-99.
2. İlçim A, Dığrak M, Bağcı E. Bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. *Turkish Journal of Biology*, 1998, 22: 119-125.
3. Jalas J. *Flora of Turkey and East Aegean Islands*. Baskı. Edinburgh, University Press, 1982.
4. Duman H. *Flora of Turkey and East Aegean Islands*. Baskı. Edinburgh, University Press, 2000: 209.
5. Baytop T. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün 2. baskı. 1999: 253-254.
6. Özgen U, Kaya Y, Houghton P. Folk medicines in the villages of Ilıca District (Erzurum, Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 2012, 36: 93-106.
7. Pandey AK, Chávez-González ML, Silva AS, Singh P. Essential oils from the genus Thymus as antimicrobial food preservatives: Progress in their use as nanoemulsions-a new paradigm. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 111: 426-441.
8. Behzad S, Pirani A, Mosaddegh M. Cytotoxic activity of some medicinal plants from Hamedan district of Iran. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 2014, 13: 199.
9. Mahmoudi M, Morteza-Semnani K, Mojra E. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of Thymus pubescens extract. *Fitoterapia*, 2008, 79: 361-365.

10. Morteza-Semnani K, Mahmoudi M, Riahi G. Effects of essential oils and extracts from certain Thymus species on swimming performance in mice. *Pharmaceutical Biology*, 2007, 45: 464-467.
11. Cho KS, Lim Y-r, Lee K, Lee J, Lee JH, Lee I-S. Terpenes from forests and human health. *Toxicological Research*, 2017, 33: 97-106.
12. El Bouzidi L, Jamali CA, Bekkouche K, Hassani L, Wohlmuth H, Leach D, Abbad A. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan Thymus species. *Industrial Crops and Products*, 2013, 43: 450-456.
13. Abousaber M, Hadjakhoondi A, Shafiee A. Composition of the essential oil of Thymus pubescens boiss. et Kotschy ex Celak and Thymus fedtschenkoi Ronniger from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 2002, 14: 154-155.
14. Kucukbay FZ, Kuyumcu E, Celen S, Azaz AD, Arabaci T. Chemical Composition of the Essential Oils of Three Thymus Taxa from Turkey with Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Records of Natural Products*, 2014, 8: 110-120.
15. Sefidkon F, Askari F, Ghorbanli M. Essential oil composition of Thymus pubescens Boiss. et Kotschy ex Celak from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 2002, 14: 116-117.
16. Hashemi-Moghaddam H, Mohammadhosseini M, Basiri M. Optimization of Microwave Assisted Hydrodistillationon Chemical Compositions of the Essential Oils from the Aerial Parts of Thymus pubescens and Comparison with Conventional Hydrodistllation. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2015, 18: 884-893.

17. Mohseni S, Rad AS. Determination of Compositions of Thymus Pubescens; the Comparison of Different Solvents towards Extraction. *Iranian Journal of Science and Technology Transaction a-Science*, 2018, 42: 1923-1928.

18. Morteza-Semnani K, Rostami B, Akbarzadeh M. Essential oil composition of Thymus kotschyanus and Thymus pubescens from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 2006, 18: 272-274.

19. Topal M, Gulcin İ. Evaluation of the in vitro antioxidant, antidiabetic and anticholinergic properties of rosmarinic acid from rosemary (Rosmarinus officinalis L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2022: 102417.

20. Eruygur N, Koçyiğit U, Taslimi P, Ataş M, Tekin M, Gülçin İ. Screening the in vitro antioxidant, antimicrobial, anticholinesterase, antidiabetic activities of endemic Achillea cucullata (Asteraceae) ethanol extract. *South African Journal of Botany*, 2019, 120: 141-145.

21. Xu H, Li X, Mo L, Zou Y, Zhao GJFC. Tyrosinase inhibitory mechanism and the anti-browning properties of piceid and its ester. 2022, 390: 133207.

22. Guven L. Helichrysum plicatum subsp. pseudoplicatum Kapitulumlarının Biyoaktivite Yönlendirmeli Antitirozinaz Aktivitesinin Belirlenmesi. İçinde: Evereklioğlu C, Erten M (editörler), Sağlık Bilimlerinde Güncel Araştırmalar Cilt 1. Ankara, Gece kitapevi, 2022:59-84.

23. Arabaci B, Gulcin I, Alwasel S. Capsaicin: A Potent Inhibitor of Carbonic Anhydrase Isoenzymes. *Molecules*, 2014, 19: 10103-10114.

24. Gulcin I, Goren AC, Taslimi P, Alwasel SH, Kilic O, Bursal E. Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of Anatolian pennyroyal (Mentha pulegium)-analysis of its polyphenol contents by LC-MS/MS. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2020, 23.

25. Gulcin I, Taslimi P, Aygun A, Sadeghian N, Bastem E, Kufrevioglu OH, Turkan F, Sen F. Antidiabetic and antiparasitic potentials: Inhibition effects of some natural antioxidant compounds on alpha-glycosidase, alpha-amylase and human glutathione S-transferase enzymes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 119: 741-746.

26. Coimbra A, Ferreira S, Duarte AP. Biological properties of Thymus zygis essential oil with emphasis on antimicrobial activity and food application. *Food Chemistry*, 2022: 133370.

27. Rani R, Sharma S. Recent advances in medicinal applications of essential oil. *Materials Today: Proceedings*, 2022.

28. Soulaimani B, Varoni E, Iriti M, Mezrioui NE, Hassani L, Abbad A. Synergistic Anticandidal Effects of Six Essential Oils in Combination with Fluconazole or Amphotericin B against Four Clinically Isolated Candida Strains. *Antibiotics-Basel*, 2021, 10.

29. Soulaimani B, El Hidar N, Fakir SB, Mezrioui N, Hassani L, Abbad A. Combined antibacterial activity of essential oils extracted from Lavandula maroccana (Murb.), Thymus pallidus Batt. and Rosmarinus officinalis L. against antibiotic-resistant Gram-negative bacteria. *European Journal of Integrative Medicine*, 2021, 43.

30. Boubaker-Elandalousi R, Mekni-Toujani M, Kaabi B, Larbi I, Diouani MF, Gharbi M, Akkari H, B'Chir F, Ghram A. Non-cytotoxic Thymus capitata extracts prevent Bovine herpesvirus-1 infection in cell cultures. *Bmc Veterinary Research*, 2014, 10.

31. Sobhy HM, Hassanen NHM, Ahmed MAI. Hepatoprotective activities of thyme (Thymus vulgaris L.) in rats suffering from obesity. *Egyptian Journal of Chemistry*, 2020, 63: 5087-5101.

32. Capatina L, Todirascu-Ciornea E, Napoli EM, Ruberto G, Hritcu L, Dumitru G. Thymus vulgaris Essential Oil Protects Zebrafish against Cognitive Dysfunction by Regulating Cholinergic and Antioxidants Systems. *Antioxidants*, 2020, 9.

33. Zuzarte M, Alves-Silva JM, Alves M, Cavaleiro C, Salgueiro L, Cruz MT. New insights on the anti-inflammatory potential and safety profile of Thymus carnosus and Thymus camphoratus essential oils and their main compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, 225: 10-17.

34. Cebovic T, Arsenijevic J, Drobac M, Zivkovic J, Sostaric I, Maksimovic Z. Potential use of deodorised water extracts: polyphenol-rich extract of Thymus pannonicus All. as a chemopreventive agent. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 2018, 55: 560-567.

35. Giarratana F, Muscolino D, Beninati C, Giuffrida A, Panebianco A. Activity of Thymus vulgaris essential oil against Anisakis larvae. *Experimental Parasitology*, 2014, 142: 7-10.

36. Alexa E, Sumalan RM, Danciu C, Obistioiu D, Negrea M, Poiana MA, Rus C, Radulov I, Pop G, Dehelean C. Synergistic Antifungal, Allelopatic and Anti-Proliferative Potential of Salvia officinalis L., and Thymus vulgaris L. Essential Oils. *Molecules*, 2018, 23.

37. Chikhoune A, Stouvenel L, Iguer-Ouada M, Hazzit M, Schmitt A, Lores P, Wolf JP, Aissat K, Auger J, Vaiman D, Toure A. In-vitro effects of Thymus munbyanus essential oil and thymol on human sperm motility and function. *Reproductive Biomedicine Online*, 2015, 31: 411-420.

38. Grespan R, Aguiar RP, Giubilei FN, Fuso RR, Damiao MJ, Silva EL, Mikcha JG, Hernandes L, Amado CB, Cuman RKN. Hepatoprotective Effect of Pretreatment with Thymus vulgaris Essential Oil in Experimental Model of Acetaminophen-

Induced Injury. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 2014.

39. Hu L, Qin LZ, Xie JK, Xu HL, Yang ZQ. Application of Plant Essential Oils in Controlling Wood Mold and Stain Fungi. *Bioresources*, 2021, 16: 1325-1334.
40. Roxo M, Zuzarte M, Goncalves MJ, Alves-Silva JM, Cavaleiro C, Cruz MT, Salgueiro L. Antifungal and anti-inflammatory potential of the endangered aromatic plant Thymus albicans. *Scientific Reports*, 2020, 10.
41. Pinto L, Bonifacio MA, De Giglio E, Cometa S, Logrieco AF, Baruzzi F. Unravelling the Antifungal Effect of Red Thyme Oil (Thymus vulgaris L.) Compounds in Vapor Phase. *Molecules*, 2020, 25.
42. Ghasemi G, Alirezalu A, Ghosta Y, Jarrahi A, Safavi SA, Abbas-Mohammadi M, Barba FJ, Munekata PES, Dominguez R, Lorenzo JM. Composition, Antifungal, Phytotoxic, and Insecticidal Activities of Thymus kotschyanus Essential Oil. *Molecules*, 2020, 25.
43. Boukhatem MN, Darwish NHE, Sudha T, Bahlouli S, Kellou D, Benelmouffok AB, Chader H, Rajabi M, Benali Y, Mousa SA. In Vitro Antifungal and Topical Anti-Inflammatory Properties of Essential Oil from Wild-Growing Thymus vulgaris (Lamiaceae) Used for Medicinal Purposes in Algeria: A New Source of Carvacrol. *Scientia Pharmaceutica*, 2020, 88.
44. Essid R, Gharbi D, Abid G, Karkouch I, Ben Hamouda T, Fares N, Trabelsi D, Mhadhbi H, Elkahoui S, Limam F, Tabbene O. Combined effect of Thymus capitatus and Cinnamomum verum essential oils with conventional drugs against Candida albicans biofilm formation and elucidation of the molecular mechanism of action. *Industrial Crops and Products*, 2019, 140.

45. Alves M, Goncalves MJ, Zuzarte M, Alves-Silva JM, Cavaleiro C, Cruz MT, Salgueiro L. Unveiling the Antifungal Potential of Two Iberian Thyme Essential Oils: Effect on C. albicans Germ Tube and Preformed Biofilms. *Frontiers in Pharmacology*, 2019, 10.

46. Tabti L, Dib ME, Gaouar N, Samira B, Tabti B. Antioxidant and Antifungal Activity of Extracts of the Aerial Parts of Thymus capitatus (L.) Hoffmanns Against Four Phytopathogenic Fungi of Citrus sinensis. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 2014, 9: 49-54.

47. Pinto E, Goncalves MJ, Oliveira P, Coelho J, Cavaleiro C, Salgueiro L. Activity of Thymus caespititius essential oil and alpha-terpineol against yeasts and filamentous fungi. *Industrial Crops and Products*, 2014, 62: 107-112.

48. Shanaida M, Hudz N, Bialon M, Kryvtsowa M, Svydenko L, Filipska A, Wieczorek PP. Chromatographic profiles and antimicrobial activity of the essential oils obtained from some species and cultivars of the Mentheae tribe (Lamiaceae). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2021, 28: 6145-6152.

49. Kovacik A, Hlebova M, Hleba L, Jambor T, Kovacikova E. Potential effect of thyme and oregano essential oils to antimicrobial activity and yeast enzymatic antioxidative system. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences*, 2021, 11.

50. Kovacevic Z, Radinovic M, Cabarkapa I, Kladar N, Bozin B. Natural Agents against Bovine Mastitis Pathogens. *Antibiotics-Basel*, 2021, 10.

51. Galovicova L, Borotova P, Valkova V, Vukovic NL, Vukic M, Terentjeva M, Stefanikova J, Duranova H, Kowalczewski PL, Kacaniova M. Thymus serpyllum Essential Oil and Its Biological Activity as a Modern Food Preserver. *Plants-Basel*, 2021, 10.

52. Galovicova L, Borotova P, Valkova V, Vukovic NL, Vukic M, Stefanikova J, Duranova H, Kowalczewski PL, Cmikova N, Kacaniova M. Thymus vulgaris Essential Oil and Its Biological Activity. *Plants-Basel*, 2021, 10.

53. Elahian F, Garshasbi M, Asiabar ZM, Dehkordi NG, Yazdinezhad A, Mirzaei SA. Ecotypic Variations Affected the Biological Effectiveness of Thymus daenensis Celak Essential Oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 2021.

54. Naz A, Quradha MM, Ghaffar R, Khan A, Alyami HS, Sherazi M, Khan J. GC-MS Analysis of Fatty Acid Esters in Fixed Oil, Isolated from Thymus linearis and Evaluation of their Antibacterial Activity. *Latin American Journal of Pharmacy*, 2020, 39: 951-955.

55. Mseddi K, Alimi F, Noumi E, Veettil VN, Deshpande S, Adnan M, Hamdi A, Elkahoui S, AhmedAlghamdi, Kadri A, Patel M, Snoussi M. Thymus musilii Velen. as a promising source of potent bioactive compounds with its pharmacological properties: In vitro and in silico analysis. *Arabian Journal of Chemistry*, 2020, 13: 6782-6801.

56. Guvenir M, Hanoglu D, Hanodlu A, Suer K, Baser HC, Yavuz DO, Salidag T. Antimicrobial activity of the essential oil of thymus capitatus against helicobacter pylori. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2020, 77: 155-160.

57. Goja I, Ulici A, Culea M, Munteanu V, Podea P. The influence of geographic location and enzyme-assisted extraction on essential oils composition of thymus serpyllum growing wild in transylvania. *Studia Universitatis Babes-Bolyai Chemia*, 2020, 65: 135-147.

58. Dulger D, Albuz O. Antimicrobial Effects of Thymus vulgaris, Cinnamomum zeylanicum and Zingiber officinale Essential Oils on Salmonella enterica serovar

Enteritidis Infections. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 2020, 26: 413-417.

59. Sardarodiyan M, Qandashtani RA, Mahian RA, Shahri MN, Arianfar A. Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds and antibacterial activities of thymus transcapicus essential oil from north khorasan province of iran. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 2019, 11: 19-31.
60. Kryvtsova MV, Salmon I, Koscova J, Bucko D, Spivak M. Antimicrobial, antibiofilm and biochemichal properties of Thymus vulgaris essential oil against clinical isolates of opportunistic infections. *Biosystems Diversity*, 2019, 27: 270-275.
61. Jaouadi R, Silva AMS, Boussaid M, Yahia IBH, Cardoso SM, Zaouali Y. Differentiation of Phenolic Composition Among Tunisian Thymus algeriensis Boiss. et Reut. (Lamiaceae) Populations: Correlation to Bioactive Activities. *Antioxidants*, 2019, 8.
62. Dehghan M, Asgharian S, Khalesi E, Ahmadi A, Lorigooini Z. Comparative study of the effect of Thymus daenensis gel 5% and diclofenac in patients with knee osteoarthritis. *Biomedicine-Taiwan*, 2019, 9: 13-23.
63. Casiglia S, Bruno M, Scandolera E, Senatore F, Senatore F. Influence of harvesting time on composition of the essential oil of Thymus capitatus (L.) Hoffmanns. & Link. growing wild in northern Sicily and its activity on microorganisms affecting historical art crafts. *Arabian Journal of Chemistry*, 2019, 12: 2704-2712.
64. Benameur Q, Gervasi T, Pellizzeri V, Pluchtova M, Tali-Maama H, Assaous F, Guettou B, Rahal K, Grulova D, Dugo G, Marino A, Ben-Mahdi MH. Antibacterial activity of Thymus vulgaris essential oil alone and in combination with cefotaxime

against bla(ESBL) producing multidrug resistant Enterobacteriaceae isolates. *Natural Product Research*, 2019, 33: 2647-2654.

65. Abdelli W, Sysak A, Bahri F, Szumny A, Pawlak A, Obminska-Mrukowicz B. Chemical composition, antimicrobial and cytotoxic activity of essential oils of algerian thymus vulgaris L. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2019, 76: 1051-1059.
66. Ulukanli Z, Cenet M, Ince H, Yilmaztekin M. Antimicrobial and Herbicidal Activities of the Essential Oil from the Mediterranean Thymus eigii. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2018, 21: 214-222.
67. Toujani MM, Ritta M, Civra A, Genovese S, Epifano F, Ghram A, Lembo D, Donalisio M. Inhibition of HSV-2 infection by pure compounds from Thymus capitatus extract in vitro. *Phytotherapy Research*, 2018, 32: 1555-1563.
68. Skalicka-Wozniak K, Walasek M, Aljarba TM, Stapleton P, Gibbons S, Xiao JB, Luszczki JJ. The anticonvulsant and anti-plasmid conjugation potential of Thymus vulgaris chemistry: An in vivo murine and in vitro study. *Food and Chemical Toxicology*, 2018, 120: 472-478.
69. Jayari A, El Abed N, Jouini A, Abdul-Wahab OMS, Maaroufi A, Ahmed SB. Antibacterial activity of Thymus capitatus and Thymus algeriensis essential oils against four food-borne pathogens inoculated in minced beef meat. *Journal of Food Safety*, 2018, 38.
70. Habbadi K, Meyer T, Vial L, Gaillard V, Benkirane R, Benbouazza A, Kerzaon I, Achbani E, Lavire C. Essential oils of Origanum compactum and Thymus vulgaris exert a protective effect against the phytopathogen Allorhizobium vitis. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25: 29943-29952.

71. Demirci F, Karaca N, Tekin M, Demirci B. Anti-inflammatory and antibacterial evaluation of Thymus sipyleus Boiss. subsp sipyleus var. sipyleus essential oil against rhinosinusitis pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 2018, 122: 117-121.

72. Saoudi S, Sifaoui I, Chammem N, Reyes-Batlle M, Lopez-Arencibia A, Pacheco-Fernandez I, Pino V, Hamdi M, Jimenez IA, Bazzocchi IL, Pinero JE, Lorenzo-Morales J. Anti-Acanthamoeba activity of Tunisian Thymus capitatus essential oil and organic extracts. *Experimental Parasitology*, 2017, 183: 231-235.

73. Petrovic S, Usjak L, Milenkovic M, Arsenijevic J, Drobac M, Drndarevic A, Niketic M. Thymus dacicus as a new source of antioxidant and antimicrobial metabolites. *Journal of Functional Foods*, 2017, 28: 114-121.

74. Bendif H, Boudjeniba M, Miara MD, Biqiku L, Bramucci M, Lupidi G, Quassinti L, Vitali LA, Maggi F. Essential Oil of Thymus munbyanus subsp coloratus from Algeria: Chemotypification and in vitro Biological Activities. *Chemistry & Biodiversity*, 2017, 14.

75. Benchabane O, Hazzit M, Mouhouche F, Baaliouamer A. Influence of Extraction Duration on the Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil of Thymus pallescens de Noe. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 2015, 40: 1855-1865.

76. Nikolic M, Glamoclija J, Ferreira I, Calhelha RC, Fernandes A, Markovic T, Markovic D, Giweli A, Sokovic M. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of Thymus serpyllum L., Thymus algeriensis Boiss. and Reut and Thymus vulgaris L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 2014, 52: 183-190.

77. Fadli M, Bolla JM, Mezrioui NE, Pages JM, Hassani L. First evidence of antibacterial and synergistic effects of Thymus riatarum essential oil with conventional antibiotics. *Industrial Crops and Products*, 2014, 61: 370-376.

78. Ustuner O, Anlas C, Bakirel T, Ustun-Alkan F, Sigirci BD, Ak S, Akpulat HA, Donmez C, Koca-Caliskan U. In Vitro Evaluation of Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antimicrobial and Wound Healing Potential of Thymus Sipyleus Boiss. Subsp. Rosulans (Borbas) Jalas. *Molecules*, 2019, 24.

79. Ouknin M, Romane A, Costa J, Majidi L. Comparative study of the chemical profiling, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of different parts of Thymus willdenowii Boiss & Reut. *Natural Product Research*, 2019, 33: 2398-2401.

80. Hoseini SM, Yousefi M. Beneficial effects of thyme (Thymus vulgaris) extract on oxytetracycline-induced stress response, immunosuppression, oxidative stress and enzymatic changes in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *Aquaculture Nutrition*, 2019, 25: 298-309.

81. Cutillas AB, Carrasco A, Martinez-Gutierrez R, Tomas V, Tudela J. Thymus mastichina L. essential oils from Murcia (Spain): Composition and antioxidant, antienzymatic and antimicrobial bioactivities. *PLoS ONE*, 2018, 13.

82. Aouam I, El Atki Y, Taleb M, Taroq A, El Kamari F, Lyoussi B, Abdellaoui A In *Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of Thymus riatarum*, International Conference on Materials and Environmental Science (ICMES), Mohammed Premier Univ, Oujda, MOROCCO, Apr 26-28; (editör).^(editörler). Mohammed Premier Univ, Oujda, MOROCCO, 2018; 579-586.

83. Khadir A, Sobeh M, Gad HA, Benbelaid F, Bendahou M, Peixoto H, Sporer F, Ashour ML, Wink M. Chemical composition and biological activity of the essential

oil from Thymus lanceolatus. *Zeitschrift Fur Naturforschung Section C-a Journal of Biosciences*, 2016, 71: 155-163.

84. Keramat M, Golmakani MT. Effect of Thymus vulgaris and Bunium persicum essential oils on the oxidative stability of virgin olive oil. *Grasas Y Aceites*, 2016, 67.

85. Kindl M, Blazekovic B, Bucar F, Vladimir-Knezevic S. Antioxidant and Anticholinesterase Potential of Six Thymus Species. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 2015.

86. Jianu C, Mihail R, Muntean SG, Pop G, Daliborca CV, Horhat FG, Nitu R. Composition and Antioxidant Capacity of Essential Oils Obtained from Thymus vulgaris, Thymus pannonicus and Satureja montana Grown in Western Romania. *Revista De Chimie*, 2015, 66: 2157-2160.

87. 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. *Industrial Crops and Products*, 2015, 67: 336-345.

88. Petrovic SS, Ristic MS, Petrovic NV, Lazic ML, Franciskovic M, Petrovic SD. Chemical composition and antioxidative activity of essential oil of Thymus serpyllum L. *Hemijska Industrija*, 2014, 68: 389-397.

89. Xiao Y, Li B, Liu J, Ma XL. Carvacrol ameliorates inflammatory response in interleukin 1-stimulated human chondrocytes. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 17: 3987-3992.

90. Mouhi L, Moghrani H, Nasrallah N, Amrane A, Maachi R. Anti-inflammatory activity of essential oil of an endemic Thymus fontanesii Boiss. & Reut. with

chemotype carvacrol, and its healing capacity on gastric lesions. *Journal of Food Biochemistry*, 2017, 41.

91. Ali IB, Chaouachi M, Bahri R, Chaieb I, Boussaid M, Harzallah-Skhiri F. Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of Thymus algeriensis Boiss. et Reut. *Industrial Crops and Products*, 2015, 77: 631-639.
92. Boukhraz A, Chaouik A, Salghi R, Elhartiti H, el Ayne NS, Zaher A, Ouhssine M. Inhibitive effect of Thymus satureioides essential oil as a green corrosion inhibitor for mild steel in an acidic medium. *International Journal of Corrosion and Scale Inhibition*, 2019, 8: 291-305.
93. Nickavar B, Malekitabar E. Compositional analysis and antioxidant activities of Thymus pubescens essential oil from Iran. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 2022, 25: 252-258.
94. Malekitabar E, Nickavar B In *P 9: Identification of volatile components in two Thymus species from Iran and their antioxidant properties*, 6th International Symposium Breeding Research on Medicinal and Aromatic Plants (Breedmap 6), Quedlinburg, Germany, Jun 19-23 Quedlinburg, Germany, 2016; 117-120.
95. Trendafilova A, Todorova M, Ivanova V, Zhelev P, Aneva I. Essential Oil Composition of Five Thymus Species from Bulgaria. *Chemistry & Biodiversity*, 2021, 18.
96. Zhou SX, Han CX, Zhang CP, Kuchkarova N, Wei CX, Zhang C, Shao H. Allelopathic, Phytotoxic, and Insecticidal Effects of Thymus proximus Serg. Essential Oil and Its Major Constituents. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12.
97. Zeghib A, Calliste CA, Simon A, Charfeddine R, Aouni M, Duroux JL, Kabouche A, Kabouche Z. Chemical composition and biological potential of Thymus

Willdenowii Boiss. & Reut. essential oil. *Natural Product Research*, 2021, 35: 845-848.

98. Yuceturk SC, Turkoglu SA, Kockar F, Kucukbay FZ, Azaz AD. Essential oil chemical composition, antimicrobial, anticancer, and antioxidant effects of Thymus convolutus Klokov in Turkey. *Zeitschrift Fur Naturforschung Section C-a Journal of Biosciences*, 2021, 76: 193-203.
99. El-Bakkal SE, Zeroual S, Elouazkiti M, Mansori M, Bouamama H, Zehhar N, El-Kaoua M. Comparison of Yield Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils Obtained from Thymus pallidus and Thymus satureioides Coss. Grown in Wild and Cultivated Conditions in Morocco. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2020, 23: 1-14.
100. Ibrahimi MH, Papajani V, Zeljkovic SC, Matevski V. Essential Oil Analysis of Two Thymus spp. Growing Wild in Kosovo. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2014, 17: 832-837.
101. Varga E, Bardocz A, Belak A, Maraz A, Boros B, Felinger A, Boszormenyi A, Horvath G. Antimicrobial activity and chemical composition of thyme essential oils and the polyphenolic content of different thymus extracts. *Farmacia*, 2015, 63: 357-361.
102. Kirillov V, Stikhareva T, Mukanov B, Chebotko N, Ryazantsev O, Atazhanova G, Adekenov S. Composition of the Essential Oil of Thymus serpyllum L. from Northern Kazakhstan. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2016, 19: 212-222.
103. Wesolowska A, Grzeszczuk M, Jadczak D, Nawrotek P, Struk M. Comparison of the Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Thymus serpyllum Essential Oils. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2015, 43: 432-438.

104. Karami-Osboo R, Miri R, Asadollahi M, Jassbi AR. Comparison Between Head-Space SPME and Hydrodistillation-GC-MS of the Volatiles of Thymus daenensis. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2015, 18: 925-930.

105. Mumivand H, Shayganfar A, Hasanvand F, Maggi F, Alizadeh A, Darvishnia M. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Essential Oil from Thymus daenensis and Thymus fedtschenkoi During Phenological Stages. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2021, 24: 469-479.

106. Saidi M. Antioxidant Activities and Chemical Composition of Essential Oils from Satureja khuzestanica, Oliveria decumbens and Thymus daenensis. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2014, 17: 513-521.

107. Pouramini P, Fotokian MH, Dehghan H, Hensel G. Effect of Thiobacillus and Superabsorbent on Essential Oil Components in Thyme Species. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2019, 22: 799-810.

108. Nematollahi F. Thymus fedtschenkoi essential oils composition and their antioxidant activity; A comparative study on hydrodistillation and solvent free microwave extraction. *Journal of the Indian Chemical Society*, 2018, 95: 1359-1363.

109. Khorshidi J, Rasouli M, Rustaiee AR, Mohamadparast B. Chemical Composition of the Essential Oil of Thymus fedtschenkoi Growing Wild in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2014, 17: 173-175.

110. Boga M, Ozkan EE, Ersoy E, Tuncay E, Canturk YY, Cinar E, Kara EM, Zengin G. Identification and quantification of phenolic and volatile constituents in five different Anatolian thyme species using LC-MS/MS and GC-MS, with biological activities. *Food Bioscience*, 2021, 43.

111. Tohidi B, Rahimmalek M, Arzani A. Variations in Chemical Composition and Bioactive Compounds of Thymus kotschyanus Boiss. & Hohen Populations Originated from Different Collection Sites. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2018, 21: 1272-1283.

112. Lamia SA, Moussa B, Marie-Laure F, Georges L. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Thymus fontanesii Essential Oil from Algeria. *Natural Products Journal*, 2020, 10: 193-199.

113. Ramzi H, Ismaili MR, Aberchane M, Zaanoun S. Chemical characterization and acaricidal activity of Thymus satureioides C. & B. and Origanum elongatum E. & M. (Lamiaceae) essential oils against Varroa destructor Anderson & Trueman (Acari: Varroidae). *Industrial Crops and Products*, 2017, 108: 201-207.

114. Benomari FZ, Djabou N, Moumani M, Hassani F, Muselli A, Costa J. Chemical variability of essential oils of three subspecies ofThymus munbyanusBoiss. & Reut. from Western Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 2020, 32: 474-484.

115. Ouknin M, Romane A, Costa J, Ponthiaux P, Majidi L. Anticorrosion properties of Thymus munbyanus Boiss & Reut essential oil for mild steel in 1M HCl. *Moroccan Journal of Chemistry*, 2018, 6: 557-568.

116. Pasa C. Diurnal Variation of Essential Oil and Contents of Thymus zygioides Griseb. (Lamiaceae) Growing Naturally in Turkey. *Ksu Tarim Ve Doga Dergisi-Ksu Journal of Agriculture and Nature*, 2019, 22: 6-9.

117. Cutillas AB, Carrasco A, Martinez-Gutierrez R, Tomas V, Tudela J. Thyme essential oils from Spain: Aromatic profile ascertained by GC-MS, and their antioxidant, anti-lipoxygenase and antimicrobial activities. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2018, 26: 529-544.

118. Bendjabeur S, Benchabane O, Bensouici C, Hazzit M, Baaliouamer A, Bitam A. Antioxidant and anticholinesterase activity of essential oils and ethanol extracts of Thymus algeriensis and Teucrium polium from Algeria. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2018, 12: 2278-2288.

119. Bigdeloo M, Hadian J, Nazeri V. Composition of essential oil compounds from different populations of Thymus caramanicus Jalas. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2017, 7: 95-98.

120. Verma RS, Padalia RC, Goswami P, Upadhyay RK, Singh VR, Chauhan A, Tiwari AK. Assessing productivity and essential oil quality of Himalayan thyme (Thymus linearis Benth.) in the subtropical region of north India. *Industrial Crops and Products*, 2016, 94: 557-561.

121. Dizajeyekan YI, Razban Haghighi A, Ebrahimi Gajoti T. Quantitative and Qualitative study of Thymus fallax essential oil in two habitats of East Azarbaijan province of Iran. *Gazi University Journal of Science*, 2016, 29: 959-962.

122. Ezzatzadeh E, Pourghasem E, Sofla SFI. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Volatile Oils from Leaf, Flower, Stem and Root of Thymus transcaucasicus from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2014, 17: 577-583.

123. Cherchar H, Berrehal D, Khalfallah A, Kabouche A, Kabouche Z. Chemotypes of Algerian and Moroccan Thymus ciliatus. *Moroccan Journal of Chemistry*, 2014, 2: 85-89.

124. Amar Z, Saber B, Yasmine A, Noureddine G. GC/MS Analysis and Antioxidant Activity of the Essential Oil leaves Thymus numidicus Poiret. growing in Mila. *Journal of New Technology and Materials*, 2014, 4: 155-160.

125. Ngongang MDT, Eke P, Sameza ML, Mback M, Lordon CD, Boyom FF. Chemical constituents of essential oils from Thymus vulgaris and Cymbopogon citratus and their insecticidal potential against the tomato borer, Tuta absoluta (Lepidoptera: Gelechiidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 2022, 42: 31-43.

126. Najar B, Pistelli L, Ferri B, Angelini LG, Tavarini S. Crop Yield and Essential Oil Composition of Two Thymus vulgaris Chemotypes along Three Years of Organic Cultivation in a Hilly Area of Central Italy. *Molecules*, 2021, 26.

127. Moazeni M, Davari A, Shabanzadeh S, Akhtari J, Saeedi M, Mortyeza-Semnani K, Abastabar M, Nabili M, Moghadam FH, Roohi B, Kelidari H, Nokhodchi A. In vitro antifungal activity of Thymus vulgaris essential oil nanoemulsion. *Journal of Herbal Medicine*, 2021, 28.

128. Milenkovic L, Ilic ZS, Sunic L, Tmusic N, Stanojevic L, Stanojevic J, Cvetkovic D. Modification of light intensity influence essential oils content, composition and antioxidant activity of thyme, marjoram and oregano. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2021, 28: 6532-6543.

129. Dash KT, Jena S, Ray A, Sahoo A, Kar SK, Sahoo RK, Subudhi E, Panda PC, Nayak S. Chemical Composition of Carvacrol Rich Leaf Essential Oil of Thymus vulgaris from India: Assessment of Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Potential. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2021, 24: 1134-1145.

130. Wesolowska A, Jadczak D. Comparison of the Chemical Composition of Essential Oils Isolated from Two Thyme (Thymus vulgaris L.) Cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2019, 47: 829-835.

131. Gedikoglu A, Sokmen M, Civit A. Evaluation of Thymus vulgaris and Thymbra spicata essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food Science & Nutrition*, 2019, 7: 1704-1714.

132. Kulpa D, Wesolowska A, Jadczak P. Micropropagation and Composition of Essentials Oils in Garden Thyme (Thymus vulgaris L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2018, 46: 525-532.
133. Khalili G, Mazloomifar A, Larijani K, Tehrani MS, Azar PA. Solvent-free microwave extraction of essential oils from Thymus vulgaris L. and Melissa officinalis L. *Industrial Crops and Products*, 2018, 119: 214-217.
134. Lemos MF, Lemos MF, Pacheco HP, Guimaraes AC, Fronza M, Endringer DC, Scherer R. Seasonal variation affects the composition and antibacterial and antioxidant activities of Thymus vulgaris. *Industrial Crops and Products*, 2017, 95: 543-548.
135. Wesolowska A, Grzeszczuk M, Jadczak D. Comparison of the Chemical Composition of Essential Oils Isolated by Water-steam Distillation and Hydrodistillation from Garden Thyme (Thymus vulgaris L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2016, 19: 832-842.
136. Kazemi M. Phytochemical Composition of Thymus vulgaris L. Essential Oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2015, 18: 751-753.
137. Abedini S, Sahebkar A, Hassanzadeh-Khayyat M. Chemical Composition of the Essential Oil of Thymus vulgaris L. Grown in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2014, 17: 538-543.
138. Oyaizu M. Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 1986, 44: 307-315.
139. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 2020, 94: 651-715.

140. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Esin Karademir S, Erçağ E. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International journal of food sciences and nutrition*, 2006, 57: 292-304.

141. Ak T, Gülçin İ. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-biological interactions*, 2008, 174: 27-37.

142. Göçer H, Gülçin İ. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): correlation of structure and antioxidant properties. *International journal of food sciences and nutrition*, 2011, 62: 821-825.

143. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 1958, 181: 1199-1200.

144. Fogliano V, Verde V, Randazzo G, Ritieni A. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *Journal of agricultural and food chemistry*, 1999, 47: 1035-1040.

145. 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 biology and medicine*, 1999, 26: 1231-1237.

146. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. İçinde:*Methods in enzymology*, Elsevier, 1999: 152-178.

147. Ellman GL, Courtney, K. D. , Andres, V. ve Featherston, R. M., 1961. Biochem. Pharmacology., 7, 88–95.

148. Likhitwitayawuid K, Sritularak B. A new dimeric stilbene with tyrosinase inhibitiory activity from Artocarpus gomezianus. *Journal of natural products*, 2001, 64: 1457-1459.

149. Ozaslan MS, Saglamtas R, Demir Y, Genc Y, Saracoglu I, Gulcin I. Isolation of Some Phenolic Compounds from Plantago subulata L. and Determination of Their Antidiabetic, Anticholinesterase, Antiepileptic and Antioxidant Activity. *Chemistry & Biodiversity*.

150. Taslimi P, Koksal E, Goren AC, Bursal E, Aras A, Kilic O, Alwasel S, Gulcin I. Anti-Alzheimer, antidiabetic and antioxidant potential of Satureja cuneifolia and analysis of its phenolic contents by LC-MS/MS. *Arabian Journal of Chemistry*, 2020, 13: 4528-4537.

151. Topal M, Gulcin I. Rosmarinic acid: a potent carbonic anhydrase isoenzymes inhibitor. *Turkish Journal of Chemistry*, 2014, 38: 894-902.

152. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-seventh informational supplement. M100-S27 C, Wayne, Pennsylvania.

153. Gulcin I. Antioxidant activity of L-adrenaline: a structure-activity insight. *Chemicobiological Interactions*, 2009, 179: 71-80.

154. Gülçin İ, Huyut Z, Elmastaş M, Aboul-Enein HY. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian journal of chemistry*, 2010, 3: 43-53.

155. Gülçin I. Measurement of antioxidant ability of melatonin and serotonin by the DMPD and CUPRAC methods as trolox equivalent. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 2008, 23: 871-876.

156. Alam MN, Bristi NJ, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi pharmaceutical journal*, 2013, 21: 143-152.

157. Gülçin İ, Elias R, Gepdiremen A, Taoubi K, Köksal E. Antioxidant secoiridoids from fringe tree (Chionanthus virginicus L.). *Wood science and technology*, 2009, 43: 195-212.

158. Gulcin İ, Sat İ, BEYDEMIR Ş, Kufrevioglu Ö. Evaluation of the in vitro antioxidant properties of broccoli extracts (Brassica oleracea L.). *Italian journal of food science*, 2004, 16.

159. Turan B, Şendil K, Şengül E, Gültekin MS, Taslimi P, Gulcin I, Supuran CT. The synthesis of some β-lactams and investigation of their metal-chelating activity, carbonic anhydrase and acetylcholinesterase inhibition profiles. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 2016, 31: 79-88.

160. Ozbey F, Taslimi P, Gulcin I, Maras A, Goksu S, Supuran CT. Synthesis of diaryl ethers with acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitory actions. 2016.

161. Nazemiyeh H, Lotfipoor F, Delazar A, Razavi SM, Asnaashari S, Kasebi N, Talebpour A-H, Nahar L, Sarker SD. Chemical composition, and antibacterial and free-radical-scavenging activities of the essential oils of a citronellol producing new chemotype of Thymus pubescens Boiss. & Kotschy ex Celak. *Records of Natural Products*, 2011, 5: 184.

162. Bistgani ZE, Hashemi M, DaCosta M, Craker L, Maggi F, Morshedloo MR. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of Thymus vulgaris L. and Thymus daenensis Celak. *Industrial Crops and Products*, 2019, 135: 311-320.

163. Gedikoğlu A, Sökmen M, Çivit A. Evaluation of Thymus vulgaris and Thymbra spicata essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food science & nutrition*, 2019, 7: 1704-1714.

164. Mancini E, Senatore F, Del Monte D, De Martino L, Grulova D, Scognamiglio M, Snoussi M, De Feo V. Studies on Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Five Thymus vulgaris L. Essential Oils. *Molecules*, 2015, 20: 12016-12028.

165. Ichrak G, Rim B, Loubna AS, Khalid O, Abderrahmane R, Said el M. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oils from Thymus satureioides and Thymus pallidus. *Nat Prod Commun*, 2011, 6: 1507-10.

166. Souadia A. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Thymus ciliatus (Desf.) Benth. Essential Oils of Algeria. *Nat Prod Commun*, 2022, 17.

167. Vitali LA, Dall'Acqua S, Maggi F, Martonfi P, Papa F, Petrelli D, Sut S, Lupidi G. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil from the Carpathian Thymus alternans Klokov. *Nat Prod Res*, 2017, 31: 1121-1130.

168. Benguedouar K, Betina SB, Erenler R, Genc N, Gok M, Sebti M, Madi N, Mekdade L, Gali L, Barkat M. Evaluation of the antioxidant properties and total phenolic content of a dairy product (yogurt) supplemented with Thymus willdenowii essential oil from Algeria. *Journal of Food Measurement and Characterization*.

169. Ceylan R, Zengin G, Uysal S, Ilhan V, Aktumsek A, Kandemir A, Anwar F. GC-MS analysis and in vitro antioxidant and enzyme inhibitory activities of essential oil from aerial parts of endemic Thymus spathulifolius Hausskn. et Velen. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 2016, 31: 983-990.

170. 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. *Turkish Journal of Biochemistry-Turk Biyokimya Dergisi*, 2013, 38: 425-431.

171. Rasooli I, Mirmostafa SA. Antibacterial properties of Thymus pubescens and Thymus serpyllum essential oils. *Fitoterapia*, 2002, 73: 244-250.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Medeni Hali:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
Faks:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	
Lisans:	
Yüksek lisans:	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	
Rusça:	
İlgi Alanları ve Hobiler	

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU[1]

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Ulkar Behbudbaylı
Öğrencinin Numarası	
Ana Bilim Dalı	**Farmakognozi**
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	**Benzerlik Oranı**	**Maksimum Benzerlik Oranları**
I. Giriş	%2	% 15
II. Genel Bilgiler	%8	% 35
III. Materyal ve Metod	%30	% 35
IV. Bulgular	%15	% 15
V. Tartışma	%10	% 20

Not: *Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.*

Tez Yazarı (Öğrenci) **Tez Danışmanı**

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Eczacılık Fakültesi Dekanlığı
Birim Etik Kurulu

Sayı : 93722986.12/
Konu: Birim Etik Kurul Kararı

22/02/2022

Sayın: Dr. Öğr. Üyesi Leyla GÜVEN

İlgi: 11.02.2022 tarih ve 2200048947 sayılı dilekçeniz.

Fakültemiz Birim Etik Kurulunun 22.02.2022 tarihinde 4 numaralı kararı ile danışmanı olduğunuz yüksek lisans öğrencisi Ulkar BEHBUDBAYLI'nın "Thymus pubescens var. pubescens bitkisinin uçucu yağı üzerinde farmakognozik çalışmalar" (İn vitro) başlıklı çalışması etik kurulumuz tarafından kabul edilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.