



***Thymus ekimii* Yıld. BİTKİSİNİN
FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK
AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Kenan AL KHATIB

Eskişehir 2025

Thymus ekimii Yıld. BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK
AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Kenan AL KHATIB

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Temmuz 2025

Eskişehir

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Kenan Al Khatib'in “*Thymus ekimii* Yıld. Bitkisinin Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Özelliklerinin Araştırılması.” başlıklı tezi 04/072025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognozi Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı):	Prof. Dr. Gülmira ÖZEK	
Üye :	Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK	
Üye :	Prof. Dr. Nuraniye ERUYGUR	

Prof. Dr. Nafiz Öncü CAN

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

THYMUS EKİMİİ YILD. BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Kenan AL KHATIB

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Temmuz 2025

Danışman: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK

Çalışmada, *Thymus ekimii* Yild. (Lamiaceae) bitkisi üzerinde kapsamlı fitokimyasal ve biyolojik aktivite değerlendirmeleri gerçekleştirilmiştir. Bitkinin toprak üstü kısmından hidrodistilasyonla uçucu yağı (THY), sıvı-sıvı mikroekstraksiyonla sabit yağ asitleri (TFAME) ve vitaminleri (T-VİT), herba (THL, THP) ve kök (TRL, TRP) kısımlarından total ekstreleri *n*-hekzan ve metanol-su-asetonla maserasyon tekniği ile elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağ, sabit yağ asitleri, vitaminler, hidrofilik ve lipofilik ekstrelerin kimyasal kompozisyonları gaz, sıvı ve birleşim kromatografik teknikler ile incelenmiştir. Ayrıca, ekstreler üzerinde toplam fenolik ve toplam flavonoit miktar tayinleri spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Uçucu yağın oksijenli monoterpenlerce zengin olduğu ve major uçucu bileşikler olarak timol (%75,0) ve karvakrol (%3,9) içerdiği saptanmıştır. Toprak üstü kısmının lipofilik ekstresinde timol (%26,8), nonakosan (%16,8), β -sitosterol (%11,6) ve oleanolik asit (%13,5) tespit edilmiştir. Polar ekstrenin yarısından fazlasını karbonhidratlar (%56,3) oluşturmuş olup, triterpenoitler ve fenolik asitler sırasıyla %10,4 ve %5,8 olarak saptanmıştır. Kök apolar ekstresinde başta β -sitosterol (%27,7), lanosterol (%6,5), sikloartenol (%6,5) olmak üzere ağırlıklı olarak fitosteroller (%53,8) bulunmuştur. Triterpenoitler (%22,3) ursolik asit (%7,7), betulonik asit (%7,2) ve ursadienoik asit (%5,9) ile temsil edilmiştir. Fenolik bileşiklerden rozmarinik asit, vanilik asit, sinarozit, luteolin, kosmosiin ve naringenin saptanmıştır. Sabit yağ asitlerinden linolenik (%23,2), linoleik (%13,8), oleik (%13,3), nonadekanoik (%29,6) ve palmitik (%11,9) asitleri saptanmıştır. Lipofilik vitaminler grubundan vitamin E ve β -karoten tespit edilmiştir. Uçucu yağ ve ekstrelerin antioksidan aktiviteleri fosfomolibden, DPPH, TEAC, SNAP testleri ile değerlendirilmiştir. Mikrotitre plaka tekniği kullanarak numunelerin α -glukozidaz inhibisyonu saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Thymus ekimii*, Lamiaceae, Timol, Karvakrol, Kimyasal kompozisyon, Aktivite, Kromatografi, Türevlendirme

ABSTRACT

INVESTIGATION OF PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITY PROPERTIES OF *THYMUS EKIMII* YILD.

Kenan AL KHATIB

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School, July 2025

Supervisor: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK

In this study, a comprehensive phytochemical and biological activity evaluation was conducted on *Thymus ekimii* Yild. (Lamiaceae). The essential oil (THY) from the aerial parts was obtained by hydrodistillation, while the fixed fatty acids (T-FAME) and vitamins (T-VIT) were extracted using liquid-liquid microextraction. Additionally, *n*-hexane and methanol-water-aceton bulk extracts from the herb (THL, THP) and root (TRL, TRP) parts were prepared by maceration. The chemical compositions of the obtained essential oil, fixed fatty acids, vitamins, and hydrophilic and lipophilic extracts were analyzed using gas, liquid and convergence chromatographic techniques. Furthermore, the total phenolic and total flavonoid contents of the extracts were determined spectrophotometrically. The essential oil was found to be rich in oxygenated monoterpenes, with thymol (75.0%) and carvacrol (3.9%) identified as the major volatile components. The lipophilic extract of the aerial parts contained thymol (26.8%), nonacosane (16.8%), β -sitosterol (11.6%), and oleanolic acid (13.5%). Carbohydrates constituted more than half (56.3%) of the polar extract, while triterpenoids and phenolic acids were determined to be 10.4% and 5.8%, respectively. The root apolar extract was mostly composed of phytosterols (53.8%), including β -sitosterol (27.7%), lanosterol (6.5%), and cycloartenol (6.5%). The triterpenoids (22.3%) were represented by ursolic acid (7.7%), betulonic acid (7.2%), and ursadienoic acid (5.9%). Phenolic compounds were represented by rosmarinic acid, vanillic acid, cynaroside, luteolin, cosmosiin, and naringenin. Among the fatty acids, linolenic (23.2%), linoleic (13.8%), oleic (13.3%), nonadecanoic (29.6%), and palmitic (11.9%) acids were identified. Vitamin E and β -carotene were detected among the lipophilic vitamins. The antioxidant activities of the essential oil and extracts were evaluated using the phosphomolybdenum, DPPH, TEAC, and SNAP assays. An α -glucosidase inhibition effect was observed using the microtiter plate technique.

Keywords: *Thymus ekimii*, Lamiaceae, Thymol, Carvacrol, Chemical composition, Activity, Chromatography, Derivatization

TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gülmira Özek'e, çalışmam boyunca göstermiş olduğu akademik rehberlik, sabır ve değerli katkılarından dolayı en içten teşekkürlerimi sunarım. Kendilerinin desteği bu çalışmanın şekillenmesinde belirleyici olmuştur.

Gaz kromatografik analizlerdeki yardımları için Prof. Dr. Temel Özek'e, bitki toplanması ve teşhisindeki katkıları için Dr. Ömer Koray Yaylacı'ya, bitki materyalinin toplanması ve UBBK analizlerindeki yardımları dolayısıyla Dr. Süleyman Yur'a, ve SK-KS analiz sürecinde destek veren Dr. Mustafa Abdullah Yılmaz'a teşekkür ederim.

Çalışmanın yürütülmesinde katkı sağlayan tüm kişi ve kurumlara saygı ve şükranlarımı sunarım.

04/07/2025

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Kenan AL KHATIB

ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken üretken yapay zekâ programlarından destek almadığımı beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Kenan AL KHATIB



İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
GÖRSELLER DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1 GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 KAYNAK BİLGİSİ	4
2.1 Lamiaceae Familyası Morfolojik Özellikleri	4
2.2 <i>Thymus</i> L. Cinsi Morfolojik Özellikleri	5
2.3. <i>Thymus ekimii</i> Yıld. Morfolojik Özellikleri	6
2.4 <i>Thymus</i> Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri	7
2.5 <i>Thymus</i> Türlerinin Tıbbi ve Ekonomik Önemi	15
2.6 Antioksidan Aktivite Çalışmaların Önemi	16
2.6.1 Oksidatif stres ve kronik hastalıklara karşı koruma	16
2.6.2 Antioksidanların Önemi	17
2.6.3 Antioksidan aktivite tayinleri	18

İÇİNDEKİLER

Sayfa

2.6.3.1 Fosfomolibden testi	19
2.6.3.2 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil radikal süpürme testi (DPPH)...	20
2.6.3.3 Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasitesi testi (TEAC)	21
2.6.3.4 Gümüş nanoparçacık antioksidan kapasite testi (SNPAC)...	21
2.6.3.5 Toplam fenol miktar tayini	23
2.6.3.6 Toplam flavonoit miktar tayini	24
2.6.4.1 α -Glukozidaz inhibisyon analizi	26
3 MATERYAL VE METOT	27
3.1 Kimasal Maddeler	27
3.2 Cihaz ve Ekipmanlar	28
3.3 Bitkisel Materyal	28
3.4 <i>Thymus ekimii</i> Bitkisinde Bazı Metabolitlere Yönelik Teşhis	
Reaksiyonları.....	29
3.4.1 Flavon glikozitlerin tanımlanması	30
3.4.2 Saponin glikozitlerin tanımlanması	30
3.4.3 Tanenlerin tanımlanmasına yönelik teşhis reaksiyonu	32
3.4.4 Karbonhidratların tanımlanmasına yönelik teşhis reaksiyonları	32
3.4.5 Alkaloitlerin tanımlanmasına yönelik teşhis reaksiyonları	34
3.5. Uçucu Yağ Eldesi	35
3.6 Sabit Yağ Asitlerinin Ekstraksiyonu	35
3.7 Ekstrelerin Elde Edilmesi	36
3.8 Lipofilik Vitaminlerin Ekstraksiyonu	37
3.9 Uçucu Bileşenlerin Gaz Kromatografik Analizi	38
3.9.1 Uçucu yağ ve sabit yağ asitlerinin analizi	39

İÇİNDEKİLER

Sayfa

[illegible]

İÇİNDEKİLER

Sayfa

4.8.1 Fosfomolibden antioksidan aktivite testi sonuçları	66
4.8.2 Gümüş nano parçacıklar antioksidan kapasite testi sonuçları	67
4.8.3 Serbest radikal süpürücü etki testi sonuçları (DPPH testi)	68
4.8.4 Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite testi sonuçları	70
4.8.5 Toplam fenol miktarı	72
4.8.6 Toplam flavonoit miktarı	73
4.8.7 α -Glikozidaz inhibisyon test sonuçları	74
5 TARTIŞMA	76
5.1 <i>T. ekimii</i> Uçucu Yağındaki Bileşiklerin Sınıf Dağılımı	76
5.3 <i>T. ekimii</i> Toprak Üstü Ekstreleri Sililleme	78
5.4 <i>T. ekimii</i> Kök Ekstresi Sililleme	81
5.5 <i>T. ekimii</i> Polar Ekstresinin Fenolik Bileşiklerinin Kimyasal Bileşimi	83
5.6 <i>T. ekimii</i> Yağda Çözünen Vitaminlerin Analiz Sonuçları	84
5.7 <i>T. ekimii</i> Polar Ekstresi SK-KS Sıvı Kromatografisi Analiz Sonuçları	85
5.8 Biyolojik Aktivite Araştırmaları	86
5.8.1 Antioksidan aktivite potansiyeli	86
5.8.1.1 Fosfomolibden antioksidan aktivite testi	86
5.8.1.2 Gümüş nano parçacıklar antioksidan kapasite testi	86
5.8.1.3 Serbest radikal süpürücü etki testi (DPPH testi)	86
5.8.1.4 Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite testi	87
5.8.2 Spektrofotometrik miktar tayinleri	87
5.8.2.1 Toplam fenol miktarı	87
5.8.2.2 Toplam flavonoit miktarı	88
5.8.3 Antidiyabetik aktivite potansiyeli	88

İÇİNDEKİLER

Sayfa

5.8.3.1 α -Glikozidaz inhibisyon testi	88
6. SONUÇ	89
KAYNAKÇA	90
ÖZGEÇMİŞ	



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1 Dünyadaki <i>Thymus</i> Türleri Üzerinde Etnobotanik Çalışmalar	8
Tablo 2.2 Türkiye’deki <i>Thymus</i> Türleri Üzerinde Etnobotanik Çalışmalar	10
Tablo 2.3 <i>Thymus</i> türleriyle yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları	11
Tablo 2.4 <i>Thymus</i> Türlerindeki Bulunan Fitokimyasallar	13
Tablo 2.5 <i>Thymus</i> Türlerindeki Bulunan Uçucu Bileşikler	15
Tablo 3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Çözücüler	27
Tablo 3.2 Araştırma Çalışmalarında Kullanılan Cihaz ve Gereçlerin Bilgiler	28
Tablo 3.3 Alkaloid Teşhisi için Kullanılan Reaktifler	34
Tablo 3.4 <i>T. ekimii</i> Bitkisinden Elde Edilen Ekstreler ve Verim Bilgileri	38
Tablo 3.5 SK-YRKS Analizlerinde Uygulanan Mobil Faz Gradyen Programı	41
Tablo 3.6 UBBK-FDD Sistemi ile Vitamin Analizi Gradyen Programı	43
Tablo 4.1 <i>T. ekimii</i> Bitkisine Uygulanan Teşhis Reaksiyonların Sonuçları	50
Tablo 4.2 <i>T. ekimii</i> Bitkisinden Elde Edilen Ekstreler ve Verim Bilgileri	51
Tablo 4.3 <i>T. ekimii</i> Uçucu Yağ Kimyasal Bileşimi	52
Tablo 4.4 <i>T. ekimii</i> Uçucu Yağdaki Bileşiklerin Sınıf Dağılımı	54
Tablo 4.5 <i>T. ekimii</i> Topraküsütü Apolar Ekstresi Sililleme Sonucu	55
Tablo 4.6 <i>T. ekimii</i> Topraküsütü Polar Ekstresi Sililleme Sonucu	55
Tablo 4.7 <i>T. ekimii</i> Kök Apolar Ekstresi Sililleme Sonucu	56
Tablo 4.8 <i>T. ekimii</i> Sabit Yağ Asitleri Kimyasal Kompozisyonu	57
Tablo 4.9 <i>T. ekimii</i> Polar Ekstresinin Fenolik Bileşiklerinin Kimyasal Bileşimi	59
Tablo 4.10 SK-KS/KS Yöntemine Ait Analitik Yöntem Doğrulama Parametreleri ..	61
Tablo 4.11 Standart Vitamin Bileşiklerin Alan Değerleri (UBBK-FDD) Analizi)	64
Tablo 4.12 <i>T. ekimii</i> Yağda Çözünen Vitaminlerin UBBK-FDD Analiz Sonuçları ...	66
Tablo 4.13 <i>T. ekimii</i> Fosfomolibden Antioksidan Aktivitesi	68
Tablo 4.14 <i>T. ekimii</i> Gümüş Nano Parçacıklar Antioksidan Aktivitesi	69
Tablo 4.15 <i>T. ekimii</i> Serbest DPPH Radikallerine Karşı Radikal Süpürücü Etkisi	70
Tablo 4.16 <i>T. ekimii</i> Troloksa Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi	72
Tablo 4.17 <i>T. ekimii</i> Toplam Fenol Miktarı	73
Tablo 4.18 <i>T. ekimii</i> Toplam Flavonoid Miktarı	75
Tablo 4.19 <i>T. ekimii</i> α -Glukozidaz İnhibisyon Test Sonuçları	76

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 <i>Thymus ekimii</i> Türkiye’deki Yayılışı	8
Şekil 2.2 Fosfomolimden Reaktif ve Antioksidan Bileşiğin Tepkimesi	19
Şekil 2.4 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) Reaksiyon Mekanizması	21
Şekil 2.5 2,2'-Azino-Bis (3-Etilbenzotiyazolin-6-Sülfonik Asit) (ABTS) Reaksiyon Mekanizması	22
Şekil 2.6 Trisodyum Sitratın Dikarboksiasetona Dönüşümü	22
Şekil 2.7 Gümüş İyonlarının Fenolik Bileşik Etkisi ile İndirgenmesi	23
Şekil 2.8 Folin–Ciocalteu (F–C) Testi	24
Şekil 2.9 Flavonoitlerin $AlCl_3$ Reaktif ile Tepkime Mekanizması	25
Şekil 2.10 <i>p</i> -Nitrofenil- α -D-Glukopiranosid (pNPG)’in Hidrolizi	26
Şekil 3.1 Shibata Tepkimesi Mekanizması	30
Şekil 3.2 Salkowski Tepkimesinin Mekanizması	30
Şekil 3.3 Liebermann-Burchard Tepkimesinin Mekanizması	31
Şekil 3.4 Molish Testi Mekanizması	33
Şekil 3.5 Fehling Testi Mekanizması	33
Şekil 4.1 <i>T. ekimii</i> Uçucu Yağ Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı	54
Şekil 4.2 <i>T. ekimii</i> Sabit Yağ Asitlerinin Kromatografik Ayırımı	58
Şekil 4.3 Standart Fenolik Bileşiklerin Kromatografik Ayırımı	58
Şekil 4.4 Yağda Çözünen Vitamin Bileşiklerin Kromatografik Ayırımı (UBBK-FDD Analizi)	64
Şekil 4.5 Yağda Çözünen Vitamin Standart Bileşiklerin Kalibrasyon Eğrileri (UBBK - FDD Analizi)	65
Şekil 4.6 Yağda Çözünen Standart Vitamin Bileşiklerin Spektrumları (UBBK-FDD Analizi)	66
Şekil 4.7 <i>T. ekimii</i> Toprak Üstü Kısımının UBBK-FDD Analiz Kromatogramı	67
Şekil 4.8 Askorbik Asidin Kalibrasyon Eğrisi (PMA Testi)	68
Şekil 4.9 Askorbik Asidin Kalibrasyon Eğrisi	68
Şekil 4.10 <i>T. ekimii</i> Ekstreler Ve Uçucu Yağ İçin Elde İnhibisyon Eğrileri (DPPH tetsi)	71

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.11 Troloks Kalibrasyon Eğrisi	72
Şekil 4.12 Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi	73
Şekil 4.13 Kersetin Kalibrasyon Eğrisi	74
Şekil 4.14 Akarboz Kalibrasyon Eğrisi	74
Şekil 5.1 <i>T. ekimii</i> Uçucu Yağındaki Bileşiklerin Sınıf Dağılımı	75
Şekil 5.2 <i>T. ekimii</i> Toprak Üstü Apolar Ekstresi Sililleme Sonucu	78
Şekil 5.3 <i>T. ekimii</i> Topraküstü Polar Ekstresi Sililleme Sonucu	79
Şekil 5.4 <i>T. ekimii</i> Kök Ekstresi Sililleme Sonucu	81
Şekil 5.5 <i>T. ekimii</i> Polar Ekstresi SK-KS Kromatografisi Analiz Sonuçları	84

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 3.1 Çiçeklenme Döneminde <i>Thymus ekimii</i> Bitkisi	29
Görsel 3.2 <i>Thymus ekimii</i> Topraküstü Kısımından Clevenger Apareyinde Hidrodistilasyon ile Uçucu Yağ Eldesi.....	35
Görsel 3.3. <i>Thymus ekimii</i> Bitkisinin Sabit Yağ Asitleri Ekstraksiyonu ve Transesterifikasyonu	36
Görsel 3.4. Ekstrelerdeki Çözücülerin Rotavaporla Uzaklaştırılması	37
Görsel 3.5 Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi Sistemi.....	39
Görsel 4.1 <i>T. ekimi</i> Bitkisine Uygulanan Teşhis Reaksiyonların Sonuçları	50
Görsel 4.2 Gümüş Nanoparçacıkların ve Test Numunelerin Renk Değişimi	69
Görsel 4.3 <i>T. ekimii</i> Uçucu Yağ Ve Ekstrelerinin DPPH Serbest Radikal Süpürme Etkisi	70
Görsel 4.4 <i>T. ekimii</i> Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin ABTS Katyon Radikal Süpürme Etkisi	70
Görsel 4.5 <i>T. ekimii</i> Ekstrelerinin Folin-Ciocalteu Reaktifi ile Gösterdiği Renk Değişimi.....	72
Görsel 4.6 <i>T. ekimii</i> Ekstrelerinin $AlCl_3$ Reaktifiyle Gösterdiği Renk Değişimi.....	73

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- AİD** : Alev iyonlaşma dedektörü
- Dek.**: Dekoksasyon
- DPPH** : 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil radikal süpürme Testi
- Ekstr.**: Ekstre
- FDD** : Foto Diyot Dizisi
- ET** : Elektron transferi
- FAME** : *T. ekimii* herba sabit yağ asitleri metil esterleri
- GA** : Gallik asit
- HAT** : Hidrojen atomu transferi
- İnf** : İnfüzyon
- MTBE** : Methyl tert-butyl ether
- PMA** : Fosfomolibden antioksidan aktivite
- SNPAC** : Gümüş nanoparçacık antioksidan kapasite testi
- SPR** : Yüzey Plazmon Rezonansı
- SPE** (Solid Phase Extraction): Katı faz ekstraksiyonu
- TAK** : Toplam antioksidan kapasitesini
- TEAC** : Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasitesi testi
- THL** : *T. ekimii* Herba Lipofilik
- THP** : *T. ekimii* Herba Polar
- THY** : *T. ekimii* herba uçucu yağı
- TRL** : *T. ekimii* Kök Lipofilik
- TRP** : *T. ekimii* Kök Polar
- UBBK** : Ultra Başarım Birleşim Kromatografisi
- UY**: Uçucu yağ
- UYBSK** : Ultra Yüksek Başarım Sıvı Kromatografisi
- VİT** : *T. ekimii* herba lipofilik vitaminler

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Binlerce yıldır insanlar bitkileri, özellikle de tıbbi bitkileri birçok farklı alanda kullanmaya alışkındır. Şifalı bitkiler, dünyanın birçok ülkesinde geleneksel tıpta binlerce yıldır kullanılan en eski tedavi biçimini temsil etmektedir. Faydalı etkilerine ilişkin deneysel bilgi, insan toplumları arasında yüzyıllardır aktarılmıştır.

Tıbbi bitkiler, tedavi edici maddeler içeren veya ilaç üretiminde hammadde olarak kullanılan bitkilerdir. Bu tanım, bilimsel olarak faydası kanıtlanmış bitkiler ile henüz yeterince araştırılmamış bitkiler arasındaki farkı açıklığa kavuşturmaktadır (Sofowora et al., 2013)

Doğal ürünler, farmasötik bileşiklerin kaynağı olarak önemli bir rol oynamaktadır ve günümüzde geleneksel bitkisel tıptan elde edilen çok sayıda modern ilaç, modern farmakolojik tedavide kullanılmaktadır (Marrelli, 2021). Bitkisel droglar birçok terapötik olarak etkili bileşik içerdiklerinden dolayı her zaman büyük önem taşımışlardır.

Tıbbi bitkiler, ilaç geliştirme ve sentezinde kullanılabilecek zengin bir bileşen kaynağı olarak kabul edilir. Bunun yanı sıra, bu bitkiler tüm dünyada insan kültürlerinin gelişiminde kritik bir rol oynar. Bir bitki tıbbi olarak tanımlandığında, söz konusu bitkinin bir ilaç veya terapötik ajan veya tıbbi bir preparatın aktif bileşeni olarak yararlı olduğu ima edilir. Bitkisel ilaçlar, geniş biyolojik ve tıbbi aktiviteleri, daha yüksek güvenlik marjları ve daha düşük maliyetleri nedeniyle gelişmiş ülkelerde ve gelişmekte olan ülkelerde birincil sağlık bakımı için büyük talep görmektedir (Mani, 2016).

Saf doğal bileşikler veya farklı bitki özleri uzun bir süre boyunca geniş bir yelpazede terapötik etkiler için incelenmiştir. Ayrıca, yaşam tarzı ve diyet alışkanlıkları kanser de dahil olmak üzere bir dizi patolojinin önlenmesinde ve tedavisinde hayati bir rol oynar.

Tıbbi ve aromatik bitkiler, insan tarafından yüzyıllar boyunca bilinen ve kullanılan en eski bitkilerden bir gruptur, çünkü orta ve modern çağlarda gıda ve ilaç olarak kullanılırlar. Bu bitkilerin önemi artmış ve kullanımları çeşitlenmiştir. Tıbbi bitkiler terimi, terapötik etkileri olan farklı bitki türlerini içerir. Bu tıbbi bitkiler, saf özüt veya taze, kurutulmuş veya kısmen çıkarılmış bitkisel otlar şeklinde kullanılırlarsa belirli bir hastalığın tedavisi veya azaltılması için kullanılabilen kimyasal bileşenler açısından zengin kaynaklar arasında kabul edilir.

Lamiaceae ailesindeki bitkilerde bulunan aktif bileşiklerin doğal antibakteriyel, antioksidan, antifungal ve antitümör etkileri olduğu gösterilmiştir ve bu da bunların çeşitli hastalıkların tedavisinde sentetik ürünlere uygulanabilir alternatifler olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, insan sağlığı üzerindeki kanıtlanmış faydalar, günümüzde Lamiaceae ailesine ait çeşitli tıbbi bitki türlerinin çeşitli formülasyonlarda giderek daha fazla kullanılmasının ana nedenini temsil etmektedir (Cocan et al., 2018). Lamiaceae ailesi sakinleştirici ve rahatlatıcı etkiye sahip bitkilerin en önemli kaynağını temsil eder (Uritu et al., 2018).

Önemli tıbbi bitkilerden olan Lamiaceae bitkileri, birçok sağlık sorununu tedavi eden birçok faydaya sahiptir. Lamiaceae familyası, dünyanın birçok ülkesinde yayılmış 350'den fazla tür içerir ve bunlara birkaç cins, *Satureja*, *Origanum*, *Corydanthymus* ve *Thymus* dahildir. *Thymus* L. cinsine sıradan kekik veya bahçe kekiği *T. vulgaris*, *T. citriodorus*, *T. capitellatus*, *T. herbabaron*, *T. scrpyllum*, *T. pseudolanuginosus* dahildir. *Thymus* cinsine ait türler, tıbbi, aromatik ve besleyici özellikleri nedeniyle dünyanın en önemli bitkilerindendir. İçerdiği birçok aktif bileşik nedeniyle geleneksel tıptan gıda endüstrisine kadar birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (S. Taher et al., 2021).

Türkiye'de yetişen damarlı bitkiler florasının "Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)" başlıklı son kontrol listesine göre, *Thymus* cinsi Türkiye'de 38 tür ve 64 taksonla temsil edilmektedir ve endemizm oranı %53'tür. Bitkiler çalı, kompakt veya yayılmış şeklinde gelişebilir; genellikle dip kısımlarında odunsu doku bulunur. Bu cins ayrıca sıklıkla taksonomik problemler de yaratır. *Thymus* birçok türlerinin toprak üstü kısmı tıbbi özelliklerinden dolayı çay olarak kullanılır ve birçok farmasötik preparatın bileşenidir. *Thymus*, türünün morfolojik ve kimyasal özelliklerine dayanarak iyi tanımlanmış bir cins olarak kabul edilir. Bu cinsteki yüksek morfolojik değişkenlik, birçok isimlendirme ve taksonomik eşanlamlıyla birlikte 1000'den fazla türün tanımlanmasına yol açmıştır (Ozturk et al., 2022)

Thymus ekimii Yıld. bitkisi Türkiye florasına yeni kayıt olan endemik bir türdür. Bu tür ile ilgili yapılan kaynak taraması sonucunda bitkinin üzerinde daha önce yapılmış fitokimyasal veya biyolojik aktivite araştırma sonuçlarına rastlanmamıştır.

Bu tez çalışması kapsamında yeni keşif edilen *T. ekimii* türünün fitokimyasal profilinin ve biyolojik aktivitesinin araştırılması ve incelenmesi amaçlanmıştır. *T. ekimii* türünden

edilen uçucu yağın, sabit yağ asitlerinin ve farklı polariteli çözücülerle elde edilen ekstralarının fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmaları planlanmıştır. Bu çalışma çerçevesinde *T. ekimii* bitkisinin üzerinde aşağıdaki araştırmaların yapılması hedeflenmiştir:

- Bitkiden uçucu yağ elde edilmesi,
- Elde edilen uçucu yağın GK-AİD ve GK/KS teknikleri ile kimyasal içeriğinin incelenmesi,
- Bitkide yağ asitleri içeriğinin belirlenmesi,
- Bitkide lipofilik vitaminlerin UBBK tekniği ile belirlenmesi,
- Bitkiden polar ve apolar ekstraların elde edilmesi,
- Elde edilen ekstraların UBSK-KS tekniği ile kimyasal içeriğinin belirlenmesi,
- Bitki üzerinde flavonoid teşhis testin gerçekleştirilmesi,
- Bitki üzerinde tanen teşhis testin gerçekleştirilmesi,
- Bitki üzerinde saponin teşhis testin gerçekleştirilmesi,
- Polar ve apolar ekstralarda toplam fenol miktarı tayini,
- Polar ve apolar ekstralarda toplam flavonoit miktarı tayini,
- Uçucu yağ ve ekstralar üzerinde antioksidan aktivite testlerinin gerçekleştirilmesi:
 - DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayini,
 - Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) tayini,
 - Fosfomolibden testi,
 - Gümüş Nanopartikül Bazlı Polifenollerin Antioksidan Kapasite (SNPAC) testi,
- Uçucu yağ ve ekstralar üzerinde α -glukozidaz enzim inhibisyonu testi.

Bu çalışmalar kapsamında gerçekleştirilecek fitokimyasal incelemeler ve biyolojik aktiviteleri değerlendirilmeler neticesinde *T. ekimii* türünün içeriği ve farmakolojik potansiyeli ilk kez açıklanmış olacaktır.

2 KAYNAK BİLGİSİ

2.1 Lamiaceae Familyası Morfolojik Özellikleri

Lamiaceae, 7000'den fazla türle temsil edilen ve neredeyse tüm dünyaya yayılmış büyük bir çiçekli bitki familyasıdır. Çoğunlukla ot, nadiren ağaç ve çalı formunda olup; vertisillat (halkasal) dizilimde olan ve uçucu yağ içeren yapraklara sahiptirler. Ekonomik ve tıbbi önemleri yüksektir. Aroma verici baharat, çay ve geleneksel ilaç olarak tüketilmelerinin yanında, gıda bitkisi ve süs bitkisi olarak da kullanımları mevcuttur (ÇAtak & Atalay, 2022). Lamiaceae, Türkiye'de takson sayısına göre üçüncü büyük aile ve tür sayısına göre dördüncü büyük ailedir. Ailede 48 cins ve 782 takson (603 tür, 179 alt tür ve çeşit), 346 takson (271 tür, 75 alt tür ve çeşit) ülkede endemiktir (yaklaşık %44). Ayrıca, 23 melez tür vardır, bunların 19'u endemiktir (%82). Sonuçlar, Türkiye'nin Eski Dünya'da Lamiaceae için çeşitlilik merkezlerinden biri olduğunu kanıtlamıştır. Ayrıca, Türkiye Dünya'daki tüm Lamiaceae üyelerinin yaklaşık %10'una sahiptir. Ülkedeki takson sayısına göre en büyük beş cins *Stachys* (118 takson), *Salvia* (107 takson), *Sideritis* (54 takson), *Phlomis* (53 takson) ve *Teucrium'dur* (49 takson). Takson sayısına göre, en yüksek endemizm oranına sahip beş cins *Dorystaechas* (1 takson, %100), *Lophanthus* (1 takson, %100), *Sideritis* (54 takson, %74), *Drymosiphon* (9 takson, %67) ve *Marrubium'dur* (27 takson, %63). Türkiye'de *Dorystoechas* ve *Pentapleura* olmak üzere iki monotipik cins vardır. Türkiye çok çeşitli iklim ve diğer ekolojik özelliklere sahip üç fitocoğrafik bölgenin birleştiği noktada yer almaktadır. Türkiye Lamiaceae taksonlarının fitocoğrafik dağılımları Akdeniz'de 293 takson (%37,4), İran-Turan'da 267 takson (%36,7), Avrupa-Sibirya (Çevresel) fitocoğrafik bölgesinde 90 takson ve Bilinmeyen veya Çok Bölgeli (%14,3) fitocoğrafik elemanlarda 112 taksondur. Akdeniz fitocoğrafik bölgesinde taksonların %61'i, İran-Turan fitocoğrafik bölgesinde taksonların %50'si ve Avrupa-Sibirya (Çevresel) fitocoğrafik bölgesinde taksonların %13'ü endemiktir. Bazı endemik taksonlar ülkede yaygın olarak dağılmıştır, bu nedenle fitocoğrafik elemanları açıkça tanımlanmamıştır, bu taksonların endemizm oranı %13'tür. Zamanla, Lamiaceae cinsinin türleri bir fitocoğrafik bölgeden diğerine göç eder ve ülkedeki belirli habitatlarda uzmanlaşır. *Salvia*, *Stachys*, *Sideritis*, *Phlomis*, *Teucrium*, *Thymus*, *Nepeta*, *Scutellaria*, *Origanum* ve *Marrubium* Türkiye'de tür açısından zengin cinslerdir. Özellikle, *Salvia*, *Stachys*, *Origanum*, *Marrubium*, *Ballota*, *Lamium* ve *Drymosiphon'un* Eski Dünya türlerinin çoğu Türkiye'de doğal

olarak yetişir. Başlıca Akdeniz havzasında yayılmış olan, uçucu yağ taşıyan, bir veya çok yıllık otsu bitkiler veya çalılardır. Gövde 4 köşeli, yapraklar basit veya parçalı, dekusat dizilişli. Çiçekler yaprakların (braktelerim) koltuğunda, sık kümeler halinde, her nodusta vertisillastrum durumunda. Çiçekler zigomort. Kaliks kalıcı, 5 loplu, bazen bilabiat. Korolla 5 loplu, bilabat, bazen üst dudak eksik. Stamen 4 ve çoğunlukla didinam, bazen 2. Ovaryumu üst durumlu, 2 karpelli, 4 gözlü, her göz bir ovüllü. Stilus ginobazik. Meyva 4 nuksa ayrılan bir şizokarptır (Baytop & Günergun, 2003).

2.2 *Thymus* L. Cinsi Morfolojik Özellikleri

Lamiaceae familyasına ait olan *Thymus* L. cinsi, kendine özgü morfolojik özellikleriyle karakterize edilen küçük, aromatik, çok yıllık otlar veya yarı çalılardan oluşur. Bu cinsteki bitkiler tipik olarak odunsu bir tabana, uzun, basit veya glandüler tüylerle yoğun bir şekilde kaplı yükselen veya yatay gövdelere sahiptir. Yapraklar genellikle küçük, bütün veya saplı ya da kısa saplıdır, kenarları sıklıkla döner ve yüzeyleri sıklıkla glandüler veya glandüler olmayan trikom tabakasıyla kaplıdır ve bu da aromatik kalitelerine katkıda bulunur. Çiçek salkımı tipik olarak bir vertisillasterdir ve çiçekler zigomorfik ve iki dudaklıdır, genellikle pembe, mor veya beyaz tonlarında, açıkça iki dudaklı bir kaliks ve taçyaprak vardır. Stamenler didinamiktir ve stil tepede iki parçalıdır. *Thymus* türlerinin çoğu ginodioiktir, yani popülasyonlar hem dişi hem de hermafrodit bireyler içerir, bu da üreme ekolojileri için çıkarımlar içeren bir özelliktir. Bu özellikler, cinsi taksonomik olarak karmaşık ama Akdeniz ve ılıman Avrasya habitatlarında ekolojik olarak önemli hale getirir (Güner, 1982).

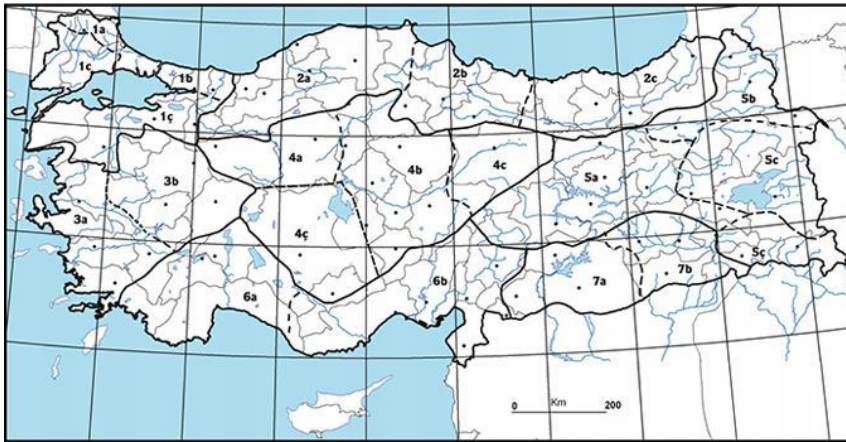
Orta damar abaksiyal yüzeyde çöküktür ve abaksiyal yüzeyde çok belirgindir. Çanak yaprak yeşil, genellikle mor lekeli ve boru şeklindedir; uçta üstteki geriye doğru kıvrılmış ve uçta 3 loblu 2 dudak vardır, alt daha uzundur ve 2 tüylü dişe sahiptir. Çiçeklenmeden sonra, çanak yaprak tüpü uzun, sert tüylerden oluşan bir taçla kapatılır. Çanak yaprağın yaklaşık iki katı uzunluğunda olan taç yaprak kuru halde genellikle kahverengimsi ve hafifçe iki dudaklıdır. *Thymus zygis*'in yaprağı genellikle 1,7-6,5 mm uzunluğunda ve 0,4-1,2 mm genişliğindedir; sivri veya doğrusal-mızrak şeklindedir ve kenarları abaksiyal yüzeye doğru belirgin şekilde kıvrılmıştır. Laminanın her iki yüzeyi de yeşil veya yeşilimsi gridir ve orta damar bazen mordur; kenarlar, özellikle tabanda, uzun, beyaz tüylere sahiptir. Kurutulmuş çiçekler *T. vulgaris* türünü çiçeklerine çok benzer (EDQM, 2016)

2.3. *Thymus ekimii* Yıld. Morfolojik Özellikleri

T. ekimii, küçük çalı formunda bir bitkidir. Bu tür, kalın odunsu bir kazık kök ile küçük, yoğun yastıklar oluşturur. Çiçek açan gövdeler dikdörtgen, kırmızı ve kısa beyaz tüylerle yoğun bir şekilde kaplıdır. Yaprakları tam kenarlı olup, genellikle düz veya içe kıvrık kenarlıdır. Yapraklar, beyaz papilloz yüzeyler ve yakut renkli yağ noktaları ile doğrusaldan dar spatulaya kadar değişir. Yaprak, çanak yaprak ve taç yapraklarında kırmızımsı-saydam salgı bezleri bulunur. Çiçekleri mor, pembe, krem veya beyaz renkte olabilir. Çanak yaprakları belirgin şekilde iki dudaklıdır ve taç yaprakları da benzer şekilde iki dudaklıdır. Kaliks yaklaşık 3 mm, yarı silindirik (çan şeklinde değil), üstteki üç diş alttaki ikisinden daha kısa (eşit değil). Çiçek salkımı, yaprak benzeri braktelerle kaplıdır. Kaliks, düzensiz pektinat-siliat dişlere sahip yarı silindirikdir. Taç beyaz, yaklaşık 4 mm'dir, mızrak şeklinde ve noktalı kırmızıdır. Brakteoller pedicellerden daha uzundur. Stamenleri dört adet olup, erselik çiçeklerde çiçek tüpünden dışa çıkar. Meyveleri tüysüz fındıkçıklardır (nutlet). Genellikle gynodioecious (dişi ve erselik bireylerin birlikte bulunduğu popülasyonlar) cinsiyet sistemine sahiptir. Türkiye, Eskişehir, Sivrihisar'da 950-1030 m yükseklikteki bozkır habitatlarının alçı yamaçlarında bulunur. Türün yayılış bilgileri Şekil 2.1 sunulmuştur. Tür adı, Prof. Dr. Tuna Ekim'in (İstanbul Üniversitesi) onuruna adlandırılmıştır (Yıldırım, 2012).

Şekil 2.1

Thymus Ekimii Bitkisinin Türkiye'Deki Yayılışı



<https://www.bizimbitkiler.org.tr/list.html>

2.4 *Thymus* Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri

Thymus türleri birçok ülkede bulunur ve geleneksel olarak yaygın bir cins olarak kabul edilir. Ön araştırmalar *Thymus* türlerinin özellikle Orta Doğu ve Balkan ülkelerinde yerel topluluklar tarafından yaygın olarak kullanıldığını göstermektedir. Tablo 2.1 bu kaynaklardan elde edilen temel bulguları özetlemektedir.

Tabloda, dünyadaki *Thymus* türlerinin çeşitli kullanım alanları ortaya konmakta; bu türlerin tıbbi, mutfak ve endüstriyel açıdan taşıdığı önem vurgulanmaktadır. Yapraklar, çiçekler, saplar ve tüm bitki kısımları, söz konusu alanlarda farklı formlarda değerlendirilmektedir.

Tablo 2.1

Dünyadaki Thymus Türleri Üzerinde Etnobotanik Çalışmalar

<i>Thymus</i> türü	Kullanılan kısım	Kullanım şekli	Kullanım amacı	Kaynak
<i>T. citriodorus</i> (Pers). Schreb.	Bütün bitki, Yapraklar	Eks., UY	Antioksidan ve antibakteriyel aktiviteye sahip, özellikle keçi ve koyunlar için hayvan yemi, böcek öldürücü ve antimikrobiyal	(Anwar et al., 2024)
<i>T. capitatus</i> Hoffmanns. & Link	yapraklar	İnf., Dek.	Kalp ağrısı ve sindirim sistemi, gastrointestinal hastalıklar ve antiseptik, kalp rahatsızlıkları, şişlikler, düşmeler ve hazımsızlık, sindirim, arındırıcı, balzamik, nevroz ve antiseptik	(Bouyahya et al., 2020)
<i>T. daenensis</i> Celak	yapraklar, çiçekler	İnf., Dek.	Tonik, karminatif, sindirimi kolaylaştırıcı, spazm giderici, iltihap giderici, balgam söktürücü ve soğuk algınlığı tedavisinde kullanılır	(Emami Bistgani & Sefidkon, 2019)
<i>T. linearis</i> Benth.	Bütün bitki	Eks.	Antiinflamatuvar, antihipertansif ve koroner arter hastalıklarına karşı kardiyoprotektif	(Anwar et al., 2024)
<i>T. pulegioides</i> L.	yapraklar	Sulu eks., UY	Antibakteriyel aktiviteler ve antiseptik potansiyel	(Anwar et al., 2024)
<i>T. schimperi</i> Ronniger	Bütün bitki ve Yapraklar	Sulu eks.	Boğmacanın balgamın viskozitesini ve yüzey gerilimini azaltarak etkisi, lenf akışını azaltarak yılan sokmalarının sistemik toksisitesini en aza indirir veya ortadan kaldırır	(Anwar et al., 2024)

[**Tablo 2.1** (Devam) *Dünyadaki Thymus Türleri Üzerinde Etnobotanik Çalışmalar*]

<i>T. vulgaris</i> L.	Tohumlar, yapraklar	Dek.	Kepek önleyici, baharat, göğüs ağrısı, kolon sorunları, astım, ishal, kan kolesterolü, idrar sistemi sorunları, menopoz	(Ahmed, 2016)
<i>T. vulgaris</i> L.	Toprak üstü kısımlar, gövde, yapraklar, çiçekler	Sulu eks., UY	Astım, bronşit, boğmaca, farenjit, romatizmal ağrılar, vücut ağrısı ve siyatik, öksürük, soğuk algınlığı ve boğaz ağrısı	(Patil et al., 2021)
<i>T. zygis</i> Pall.	Yapraklar	Sulu eks., UY	Antioksidan, antikoagülan, antiinflamatuvar aktiviteler, öksürük şurupları gibi çeşitli diyet ilaç endüstrilerinde antioksidan ajanlar	(Anwar et al., 2024)
Eks.: ekstre; Dek.: dekoksasyon; İnf.: infüzyon; UY: uçucu yağ.				

Dekoksasyon, infüzyon ve uçucu yağ ekstraktları gibi farklı ekstraksiyon yöntemlerinde kullanılır. Bu preparatlar, solunum rahatsızlıkları, sindirim sorunları, kardiyovasküler rahatsızlıklar ve iltihaplanma için geleneksel tedavilerden kozmetik, hayvan yemi ve antimikrobiyal tedavilerdeki uygulamalara kadar geniş bir yelpazede amaca hizmet eder. Bulgular, bitkinin çok işlevli doğasını, özellikle antioksidan, antibakteriyel ve antiseptik özelliklerini vurgulayarak onu hem geleneksel tıpta hem de modern ilaç endüstrilerinde değerli bir kaynak haline getirir.

Bitkisel ürünlerin kullanımı Türkiye'de halk arasında yaygındır. Sentetik ilaçlar genellikle pahalıdır, yan etkilere sahiptir ve hatta bazıları toksik olabilir, bu da insanların geleneksel tıbbi bitkileri kullanmaya devam etmesine neden olur. Ek olarak, bu ilaçları elde etmek için doktor reçetesi gerekir.

Literatür taraması sırasında *Thymus* türleriyle ilgili çok sayıda rapor belirlendi. Etnobotanik çalışmalarda, *Origanum*, *Thymus*, *Coriodithymus* ve *Satureja* genellikle (kekik) olarak adlandırılır ve halk tarafından yaygın olarak kullanılır. Bu nedenle, bu çalışma özellikle *Thymus* türleriyle ilgili kayıtlara odaklanmıştır. *Thymus* türleri hakkında elde edilen etnobotanik veriler aşağıdaki Tablo 2.2'de özetlenmiştir.

Tabloda, halk arasında yaygın olarak "kekik" olarak bilinen Türkiye'deki *Thymus* türlerinin çeşitli geleneksel kullanımlarını vurgulamaktadır. Bu bitkileri tıbbi amaçlar için hazırlamak için çeşitli infüzyon ve dekoksasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Kaydedilen kullanımlar, *Thymus* türlerinin solunum rahatsızlıkları (örneğin öksürük, bronşit, astım, soğuk algınlığı ve grip), gastrointestinal bozukluklar (örneğin hazımsızlık,

mide ağrısı, mide bulantısı), kardiyovasküler sorunlar (örneğin hipertansiyon) ve inflamatuvar durumlar (örneğin sırt ağrısı, artrit) dahil olmak üzere çok çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Ek olarak, bazı türler potansiyel kanser önleyici, solucan ilacı ve bağışıklık güçlendirici özellikleri nedeniyle değerlidir. Bu bulgular, *Thymus'un* geleneksel tıptaki önemini ve daha fazla farmakolojik araştırma için potansiyelini vurgulamaktadır.

Tablo 2.2

Türkiye'deki Thymus Türleri Üzerinde Etnobotanik Çalışmalar

Bitki türü	Halk arasındaki adı	Kullanım şekli	Kullanım amacı	Kaynak
<i>T. cilicicus</i> Boiss. & Bal.	Limon kekiği, Kılıç kekiği, Peynir kekiği	İnf.	Mide ağrısı, sakinleştirici, diş ağrısı	(Gurdal & Kultur, 2013)
<i>T. fallax</i> Fisch. & Mey	Kekik	İnf., Dek.	Sırt ağrısı, hipertansiyon, anti inflamatuvar, kanser, enteralji, vermifüj, diyabet, soğuk algınlığı, karın rahatsızlıkları	(Altundag & Ozturk, 2011)
<i>T. haussknechtii</i> Velen.	Kekik	Dek.	Öksürük	(Altundag & Ozturk, 2011)
<i>T. kotschyanus</i> Boiss. & Hohen. subsp. <i>glabrescens</i> Boiss.	Kekik, Catri	İnf., Dek.	Sırt ağrısı, hipertansiyon, anti-enflamatuvar, kanser, enteralji, vermifuge, diyabet, soğuk algınlığı, karın rahatsızlıkları	(Altundag & Ozturk, 2011)
<i>T. migricus</i> Klokov & Des.Shost.	Kekik	İnf.	Sırt ağrısı, hipertansiyon, enteralji, anti-enflamatuvar, kanser, vermifuge, soğuk, böbrek taşları	(Altundag & Ozturk, 2011)
<i>T. nummulariifolius</i> Loisel.	Kekik	İnf., Dek.	Grip, soğuk algınlığı, bronşit, bağışıklık sistemi güçlendirici, kolesterol, mide rahatsızlığı, uykusuzluk	(Karakose, 2022)
<i>T. praecox</i> Opiz. subsp. <i>grossheimii</i> (Ronniger) J alas var. <i>grossheimii</i>	Kekik	İnf.	Hipertansiyon, enteralji, anti-inflamatuvar, kanser, vermifüj, soğuk algınlığı	(Altundag & Ozturk, 2011)
<i>T. praecox</i> Opiz subsp. <i>grossheimii</i> (Ronniger) J alas	Yayla kekiği	İnf., Dek.	Grip, soğuk algınlığı, öksürük, hazımsızlık, astım, uykusuzluk, diş ağrısı, mide bulantısı, bronşit, mide rahatsızlığı, tonik	(Karakose, 2022)

[Tablo 2.2 (Devam) Türkiye'deki *Thymus* Türleri Üzerinde Etnobotanik Çalışmalar]

<i>T. sipyleus</i> Boiss. subsp. <i>rosulans</i> (Barbar) J alas	Catri	İnf., Dek.	Diyabet, soğuk algınlığı, karın rahatsızlıkları	(Altundag & Ozturk, 2011)
<i>T. sipyleus</i> Boiss.	Kekik	Dek.	İştah uyarıcı, karaciğer güçlendirici	(Ulcay, 2024)
<i>T. transcaucasicus</i> Ronniger	Kekik	İnf.	Sırt ağrısı, hipertansiyon, enteralji, anti-inflamatuar, kanser, vermifuge	(Altundag & Ozturk, 2011)
<i>T. zygoides</i> Griseb	Yabani kekik	İnf.	Gastrointestinal hastalıklar, solunum yolu hastalıkları, grip	(Sargin et al., 2013)
İnf: infüzyon; Dek.: dekoksasyon				

Thymus türleri yaygın olarak kullanılır ve çok sayıda bilimsel çalışma biyolojik aktivitelerini göstermiştir. Literatürde *Thymus* türleri öncelikle antimikrobiyal, antioksidan, antiviral, anti-inflamatuar ve antikanser aktivitelerle ilişkilendirilmiştir. Tablo 2.3'te bu bulguların bir özeti verilmiştir.

Tablo 2.3.

Thymus türleriyle yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları

<i>Thymus</i> türü	Çalışılan kısım	Kullanım şekli	Kaynak
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE			
<i>T. longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> var. <i>subisophyllus</i>	Toprak üstü kısımlar	UY	(Ayse Dilek Azaza et al., 2004)
<i>T. mastichina</i> Sm. (L.) L.	Toprak üstü kısımlar, çiçekleri ve yaprakları	UY, Eks.	(Rodrigues et al., 2020)
<i>T. pulvinatus</i> Çelak	Toprak üstü kısımlar	UY	(Ayse Dilek Azaza et al., 2004)
<i>T. zygoides</i> var. <i>lycaonicus</i> (Çelak) Ronniger	Toprak üstü kısımlar	UY	(Ayse Dilek Azaza et al., 2004)
ANTIÖKSİDAN AKTİVİTE			
<i>T. algeriensis</i> Boiss. & Reut.	Toprak üstü kısımlar	İnf., Dek., UY	(Miloš Nikolić & Calhelha, 2013)
<i>T. caespititius</i> Brot.	Toprak üstü kısımlar	UY	(Miguel et al., 2004)
<i>T. camphoratus</i> Hoffmanns.	Toprak üstü kısımlar	UY	(Miguel et al., 2004)
<i>T. mastichina</i> Sm.	Toprak üstü kısımlar	UY	(Miguel et al., 2004)
<i>T. serpyllum</i> L.	Toprak üstü kısımlar	İnf., Dek., UY	(Miloš Nikolić & Calhelha, 2013)
<i>T. vulgaris</i> L.	Yapraklar	Etanol eks.	(Rachid, 2013)
	Toprak üstü kısımlar	İnf., Dek., UY	(Miloš Nikolić & Calhelha, 2013)

[Tablo 2.3. (Devam) *Thymus* türleriyle yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları]

ANTİVİRAL AKTİVİTE			
<i>T. nummulariifolius</i> Loisel.	Toprak üstü kısımlar	Kloroform eks.	(Ersan Bektaş1, 2016,)
ANTİKANSER AKTİVİTE			
<i>T. daenensis</i> Celak.	Bütün bitki	Methanol eks.	(Barmoudeh et al., 2022)
<i>T. vulgaris</i> L.	Yapraklar	UY	(Doghish et al., 2023)
	Bütün bitki	UY	(Kubatka et al., 2019)
ANTİDİYABETİK AKTİVİTE			
<i>T. schimperi</i> Ronniger	Yapraklar	Methanol eks.	(Rupasinghe, 2019)
<i>T. serpyllum</i> L.	Yapraklar ve çiçekler	Sulu eks.	(Azhar et al., 2022)
<i>T. vulgaris</i> L.	Yapraklar	Methanol eks.	(Rupasinghe, 2019)
ANTİ-İNFLAMATUAR AKTİVİTE			
<i>T. algeriensis</i> Boiss. & Reut.	Bütün bitki	Methanol eks.	(Afonso et al., 2020)
<i>T. camphoratus</i> Hoffmanns.	Bütün bitki	Dietil eter, etil asetat ve <i>n</i> -bütanol eks.	(Afonso et al., 2020)
<i>T. carnosus</i> Boiss.	Bütün bitki	Dietil eter, etil asetat ve <i>n</i> -bütanol eks.	(Afonso et al., 2020)
<i>T. fontanesii</i> Boiss. & Reut.	Bütün bitki	Methanol eks.	(Afonso et al., 2020)
<i>T. mastichina</i> Sm.	Bütün bitki	Dietil eter, etil asetat ve <i>n</i> -bütanol eks.	(Afonso et al., 2020)
Eks.: ekstre; Dek.: dekoksion; İnf.: infuzyon; UY: uçucu yağ.			

Çoğu çalışma *Thymus* türlerinin toprak üstü kısımlarına ve yapraklarına odaklanmıştır ve en yaygın kullanılan formlar uçucu yağlar ve alkol ekstraları . *Thymus*, antimikrobiyal, antioksidan, antiviral, antikanser, antidiyabetik ve anti-inflamatuar özellikler de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktiviteleri nedeniyle oldukça değerlidir.

Fitokimyasal çalışmalar *Thymus* türlerinde geniş bir biyolojik aktivite yelpazesi ortaya koymuştur. Bu aktivitelerden sorumlu bileşikler ilgi konusu olmuştur ve literatür çeşitli biyoaktif bileşiklerin varlığını göstermektedir. Bu bilgiler Tablo 2.4’te madde bazında özetlenmiştir.

Tablo 2.4.*Thymus Türlerinde Bulunan Fitokimyasallar*

Bileşik	<i>Thymus</i> türü	Kaynak
FLAVONOİTLER		
Apigenin	<i>T. vulgaris</i>	(Blanka Szilvássya, 2013)
Luteolin	<i>T. vulgaris</i>	(Blanka Szilvássya, 2013)
Diosmetin	<i>T. macedonicus</i>	(Svetlana Kulevanova1, 2002)
Kriseriol	<i>T. macedonicus</i>	(Svetlana Kulevanova1, 2002)
Timonin	<i>T. vulgaris</i>	(Van den Broucke, 1982)
Kirsilineol	<i>T. vulgaris</i>	(Van den Broucke, 1982)
Hispidulin-7-O-glukosit	<i>T. mastichina</i>	(Perez-Magarino et al., 2024)
Nepetin-7-O-glukosit (Nepitrin)	<i>T. mastichina</i>	(Perez-Magarino et al., 2024)
Sukutellarein	<i>T. mastichina</i>	(Perez-Magarino et al., 2024)
Bileşik	<i>Thymus</i> türü	Kaynak
FENOLİK ASİTLER		
Gallik asit	<i>T. daenensis</i> , <i>T. vulgaris</i>	(Danial Sarfaraz1, 2021)
Klorojenik asit	<i>T. carmanicus</i> , <i>T. transcaspicus</i>	(Danial Sarfaraz1, 2021)
Ferulik asit	<i>T. kotschyanus</i> , <i>T. vulgaris</i>	(Danial Sarfaraz1, 2021)
Sinnamik asit	<i>T. daenensis</i> , <i>T. vulgaris</i>	(Danial Sarfaraz1, 2021)
Klorojenik asit	<i>T. mastichina</i>	(Perez-Magarino et al., 2024)
Kriptoklorojenik asit	<i>T. mastichina</i>	(Perez-Magarino et al., 2024)
Rozmarinik asit-3-O-glukozit	<i>T. mastichina</i>	(Perez-Magarino et al., 2024)
Kumarik asit-O-glukozit	<i>T. mastichina</i>	(Perez-Magarino et al., 2024)
Kafeik asit	<i>T. mastichina</i>	(Perez-Magarino et al., 2024ujhb9)
TERPENİK TÜREVLER (MONO-, SESKİ-, Dİ VE TRİTERPENLER)		
β-Pinen	<i>T. vulgaris</i>	(Mahdavi et al., 2020)
γ-Terpinen	<i>T. vulgaris</i>	(Mahdavi et al., 2020)
Germakren D	<i>T. vulgaris</i>	(Mahdavi et al., 2020)
β-Karyofillen	<i>T. vulgaris</i>	(Mahdavi et al., 2020)
1,8-Sineol	<i>T. albicans</i>	(Trindade et al., 2018)
Limonen	<i>T. albicans</i>	(Trindade et al., 2018)
Linalol	<i>T. albicans</i>	(Trindade et al., 2018)
Karvakrol	<i>T. caespititius</i>	(Trindade et al., 2018)
Sabinen	<i>T. caespititius</i>	(Trindade et al., 2018)
α-Terpineol	<i>T. caespititius</i>	(Trindade et al., 2018)
Timol	<i>T. caespititius</i>	(Trindade et al., 2018)
p-Simen	<i>T. daenensis</i>	(Tohidi, Rahimmalek, Arzani, & Trindade, 2020)

Yukarıdaki tabloda (2.4) farklı *Thymus* türleri arasında flavonoidlerin, fenolik asitlerin ve terpenik türevlerin dağılımını gösterilmektedir. Veriler, *Thymus vulgaris*'in özellikle apigenin, luteolin, timonin, sirsilineol gibi flavonoidler ve gallik asit ve ferulik asit gibi fenolik asitler olmak üzere çok çeşitli fitokimyasallar içerdiğini göstermektedir. Benzer şekilde, *T. mastichina*, flavonoid glikozitlerin (hispidulin-7-O-glukozit, nepetin-7-O-glukozit, skutellarein) ve klorojenik asit, kriptoklorojenik asit ve kafeik asit gibi çeşitli fenolik asitlerin zengin bir bileşimini sergilemektedir.

Terpenik türevler arasında *T. vulgaris*, β -pinen, γ -terpinen, germakren D ve β -karyofillen gibi önemli bileşikler içerirken, *T. albicans* 1,8-sineol, limonen ve linalol varlığıyla ayırt edilir. Ek olarak, *T. caespititius* karvakrol, sabinen, α -terpineol ve timol ile öne çıkarken, *T. daenensis* *p*-simen içerir.

Bu bileşiklerin farklı *Thymus* türlerinde bulunması, her türün farklı kimyasal özelliklere sahip olduğunu ve çeşitli endüstrilerde farklı alanlarda kullanılabileceğini göstermektedir.

Flavonoidlerin ve fenolik asitlerin Yüksek düzeyde bulunması, bu bitkilerin antioksidan potansiyelini vurgularken, terpenik türevlerin çeşitliliği uçucu yağlarda ve doğal ürün formülasyonlarında olası kullanımları göstermektedir. Bu bulgular, *Thymus* türlerinin biyoaktif bileşiklerin bir kaynağı olarak önemini vurgulamakta ve belirli işlevsel ve farmakolojik özelliklerinin daha fazla araştırılmasını gerektirmektedir.

Thymus türleri üzerinde yürütülen uçucu yağ analizleri, söz konusu bitkilerin çeşitli biyolojik etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu aktivitelerden sorumlu bileşikler bilimsel açıdan ilgi çekmiş olup, literatürde çeşitli biyoaktif uçucu bileşiklerin varlığı bildirilmiştir. Tablo 2.5'te uçucu yağ bileşikleri ve yüzdelik oranları özetlenmiştir.

Tablo 2.5

Thymus Türlerinde Bulunan Uçucu Bileşikleri

TÜR	Uçucu bileşik (%)	Kaynak
<i>T. algeriensis</i> Boiss. & Reut.	Karvakrol (49.33–80.40), <i>p</i> -Simen (2.61–4.98), Timol (0.83–3.39)	(El Yaagoubi et al., 2021)
<i>T. bleicherianus</i> Pomel.	α -Terpinen (42.23), Timol (23.95), β -Osimen (8.29)	(El Yaagoubi et al., 2021)

[Tablo 2.5 (Devam) *Thymus* Türlerinde Bulunan Uçucu Bileşikleri]

TÜR	Uçucu bileşik (%)	Kaynak
<i>T. carmanicus</i> Jasas.	Karvakrol (93.4), Timol (40.8)	(Tohidi, Rahimmalek, Arzani, & Sabzalian, 2020)
<i>T. daenensis</i> Celak.	Timol (80.4), Geraniol (66.8), Karvakrol (76.8), α -Terpineol (13.18)	(Tohidi, Rahimmalek, Arzani, & Sabzalian, 2020)
	Timol (51.3), <i>p</i> -Simen (2.7–7.6)	(Amiri, 2012)
<i>T. daenensis</i> subsp. <i>lancifolius</i>	Timol (73.9), Karvakrol (6.7)	(Amiri, 2012)
<i>T. eriocalyx</i> (Ronniger) Jasas	Geraniol (2.3-50.5), Linalol (7.3-60.4), Timol (66.34)	(Tohidi, Rahimmalek, Arzani, & Sabzalian, 2020)
	Timol (66.3), 1-Borneol (10.5)	(Amiri, 2012)
<i>T. fallax</i> Fisch. & C.A. Mey	Timol (61.14), Karvakrol (41.84)	(Tohidi, Rahimmalek, Arzani, & Sabzalian, 2020)
<i>T. fedtschenkoi</i> Ronniger	Linalol (83.1), Karvakrol (69.04), Timol (31.8)	(Tohidi, Rahimmalek, Arzani, & Sabzalian, 2020)
<i>T. kotschyanus</i> Boiss. & Hohen.	Karvakrol (35.1), Timol (26.6),	(Amiri, 2012)
	Karvakrol (40.7–61.2), Timol (7.5–26.9)	(Amiri, 2012)
<i>T. riatarum</i> Humbert & Maire	Borneol (41.67), Terpinen-4-ol (8.65), <i>trans</i> -Karyofillen (7.59)	(El Yaagoubi et al., 2021)
<i>T. vulgaris</i> L.	Kafur (38.54), Kamfen (17.19), α -Pinen (9.35), 1,8-Sineol (5.44), Borneol (4.91)	(El Yaagoubi et al., 2021)

Tablo 2.5 ana bileşikleri ve konsantrasyonlarında önemli farklılıklar gösteren farklı *Thymus* türlerinin uçucu yağ bileşimlerini göstermektedir. Timol ve karvakrol, *T. daenensis*, *T. carmanicus* ve *T. fallax* gibi türlerde yüksek yüzdelerle en sık bulunan bileşenlerdir. Bu bileşikler güçlü antimikrobiyal ve antioksidan özellikleriyle bilinir.

T. fedtschenkoi ve *T. eriocalyx*'teki linalol ile *T. daenensis* ve *T. eriocalyx*'teki geraniol gibi diğer önemli bileşikler, potansiyel aromatik ve terapötik kullanımları önermektedir. Ek olarak, *T. vulgaris*, genellikle solunum faydalarıyla ilişkilendirilen kafur, kamfen ve α -pinen içeren benzersiz bir profille öne çıkmaktadır.

Thymus türleri arasındaki uçucu yağların değişen bileşimi, tıp, kozmetik ve gıda endüstrileri dahil olmak üzere çeşitli potansiyel uygulamalarını vurgulamaktadır. Bu bulgular *Thymus* türlerinin biyoaktif uçucu yağların değerli kaynakları olarak önemini

pekiştirmekte ve bu türlerin özel faydaları ve kullanımları konusunda daha fazla araştırma yapılmasını haklı çıkarmaktadır.

2.5 *Thymus* Türlerinin Tıbbi ve Ekonomik Önemi

Thymus cinsi, benzersiz tıbbi ve ekonomik değerleri için dünya çapında yetiştirilen çeşitli tıbbi ve aromatik türleri içerir. Geleneksel olarak mutfakta baharat olarak kullanılmasının yanı sıra, *Thymus* türleri antioksidan, antifungal, antibakteriyel, antiviral, antitümör, antiinflamatuvar, antikanser ve antihipertansif özellikler gibi çeşitli biyolojik etkileriyle iyi bilinir. Bu nedenle, ateş, soğuk algınlığı ve sindirim ve kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılırlar. *Thymus* bitkilerinin farmasötik önemi, doğal terpenoid fenol türevleri (*p*-simen, karvakrol, timol, geraniol), flavonoidler, alkaloidler ve fenolik asitler gibi yüksek biyoaktif bileşen seviyelerine bağlıdır. Bu inceleme, bazı önemli *Thymus* türlerinin fitokimyasallarını, biyolojik özelliklerini, fonksiyonel gıdalarını ve nutrasötik niteliklerini inceler ve özellikle nutrasötik ilaç endüstrilerindeki potansiyel kullanımlarına odaklanır. Ayrıca, inceleme, *Thymus* türlerinin temel fitokimyasallarının biyolojik etki mekanizmalarına dair kapsamlı bir değerlendirme sunması, bu bitkilerin doğal ilaç geliştirme sürecindeki potansiyellerini ortaya koymaktadır. (Anwar et al., 2024).

Thymus cinsi, zengin uçucu yağ içeriği ve yaygın uygulamaları nedeniyle önemli tıbbi, ticari ve ekonomik değere sahiptir. Avrupa Farmakopesinde “Thymi herba” adlı monograf *T. vulgaris* L. ve *T. zygis* L. kurutulmuş tam yaprak ve çiçek kısımlarının karışımı için geliştirilmiştir (HealthCare (EDQM), 2023). Ayrıca, aynı türlerin çiçekli toprak üstünden elde edilen timol tipi uçucu yağ için “Thymi typo thymolo aetheroleum” adlı monografi da mevcuttur (HealthCare (EDQM), 2023). Özellikle timol ve karvakrol içeren kekik uçucu yağları, antimikrobiyal, antifungal ve antioksidan özellikleri nedeniyle ilaçlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Brian M. Lawrence, 2002). Tıbbi kullanımının ötesinde kekik, aromatik ve koruyucu niteliklerinin onu son derece değerli kıldığı gıda ve kozmetik endüstrilerinde önemli bir bileşendir. Türkiye’de kekik, hem iç kullanıma hem de ihracat pazarlarına önemli ölçüde katkıda bulunan ekonomik açıdan en önemli tıbbi ve aromatik bitkilerden biridir. Ülkemiz, Denizli, Isparta ve Afyon gibi bölgelerde kapsamlı ekimi ile yerel ekonomileri ve kırsal kalkınmayı destekleyen önde gelen küresel üreticiler arasındadır (Pakdemirli, 2020).

Doğal ve organik ürünlere yönelik artan küresel talep, *Thymus* türlerinin ticari potansiyelini daha da artırarak onları sürdürülebilir tarım ve bitkisel tıpta önemli bir kaynak haline getirmiştir. Ülke, çeşitli yerel bitki türleri ve büyük ölçekli ekim ve ihracatı destekleyen elverişli ekolojik koşullar ile bu sektörde büyük bir potansiyele sahiptir (Ersin Yücel a, 2019). Doğal ve organik ürünlere olan artan ilgi, *Thymus* türlerinin ticari potansiyelini daha da artırarak onları sürdürülebilir tarım ve bitkisel tıpta önemli bir kaynak haline getirmektedir.

2.6 Antioksidan Aktivite Çalışmaların Önemi

2.6.1 Oksidatif stres ve kronik hastalıklara karşı koruma

Serbest radikaller antioksidanlar tarafından söndürülür, böylece kanser, kardiyovasküler hastalık ve nörodejeneratif bozukluklar gibi kronik hastalıklara yol açan oksidatif stres önlenir. Antioksidan aktivitenin incelenmesi, bu tür riskleri önleyebilen bileşiklerin tespitinde faydalıdır.

Vücudumuz sürekli olarak serbest radikaller adı verilen zararlı moleküllere maruz kalmaktadır. Serbest radikaller, normal metabolik fonksiyonların bir yan ürünü olan, ancak aynı zamanda kirlilik, UV radyasyonu ve sağlıklı beslenme gibi dış etkenlerden de kaynaklanan dengesiz moleküllerdir. Serbest radikallerin fazlalığı, hücreleri, proteinleri ve hatta DNA'yı yok eden oksidatif strese neden olur. Yavaş yavaş, hasar kanser, kalp hastalığı, diyabet ve Alzheimer gibi nörodejeneratif bozukluklar gibi çok zararlı hastalıklara yol açar.

Antioksidanlar burada devreye girer. Antioksidanlar, serbest radikalleri söndürür ve bu da neden oldukları hasarı durdurur veya yavaşlatır. Antioksidan aktivite çalışmaları önemlidir çünkü hangi sentetik veya doğal bileşiklerin bize oksidatif strese karşı maksimum koruma sağlayabileceğini belirlememizi sağlar. Bilim insanları meyveler, yeşil çay ve bitter çikolata gibi yiyeceklerdeki antioksidanlara ve ayrıca tıbbi bitkilere ve ilaçlara odaklanıyor. Bu bileşiklerin nasıl çalıştığını anlayarak hastalık önlemeyi ve genel sağlığı geliştirebiliriz.

Kısa cevap: Antioksidan aktivite araştırması kimya değildir; sağlığımızı nasıl koruyacağımızı ve yaşam kalitemizi nasıl uzatacağımızı öğrenmektir (Lobo et al., 2010).

2.6.2 Antioksidanların Önemi

Antioksidanlar, vücudumuzu çeşitli hastalıklarla bağlantılı oksidatif stresten korumada kritik bir rol oynar. Serbest radikaller (normal metabolizma ve kirlilik ve radyasyon gibi çevresel kaynaklar tarafından oluşturulan dengesiz moleküller) hücrelere, proteinlere ve DNA'ya zarar verebilir. Bu tür hasarlar kanser, kardiyovasküler hastalık, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklar gibi hastalıklara katkıda bulunur.

Antioksidanlar, serbest radikalleri etkisizleştirerek bu tür zararlı etkileri ortadan kaldırır ve böylece hücresel hasarı önler veya azaltır. Makale, enzimatik antioksidanlar (süperoksit dismutaz ve katalaz) ve enzimatik olmayan antioksidanlar (C vitamini, E vitamini ve bitki kökenli flavonoidler) dahil olmak üzere farklı antioksidan sınıflarına odaklanmaktadır. Bu tür moleküller, serbest radikaller ile vücudun savunma sistemi arasındaki dengeyi koruyarak yaşa bağlı bozuklukların ve kronik hastalıkların olasılığını azaltır.

Hastalıkların önlenmesi ve sağlığın teşviki için yeni terapötik ajanların, fonksiyonel gıdaların ve ilaçların tasarımına yönelik antioksidan aktivitenin farkına varılması önemlidir. Makalede, insan sağlığı açısından en yararlı antioksidan kaynaklarının belirlenmesi ve iyileştirilmesine yönelik devam eden araştırma çabalarına davet edilmektedir (Lobo et al., 2010).

2.6.3 Antioksidan aktivite tayinleri

Antioksidan aktivite ölçümü, bir bileşiğin serbest radikalleri etkisiz hale getirme ve oksidatif hasarı önleme yeteneğini ölçme sürecidir. DPPH, ABTS ve FRAP gibi çeşitli analizler, gıda, bitki ve ilaçlardaki antioksidan potansiyeli ölçmek için kullanılır.

Kullanılan testler :

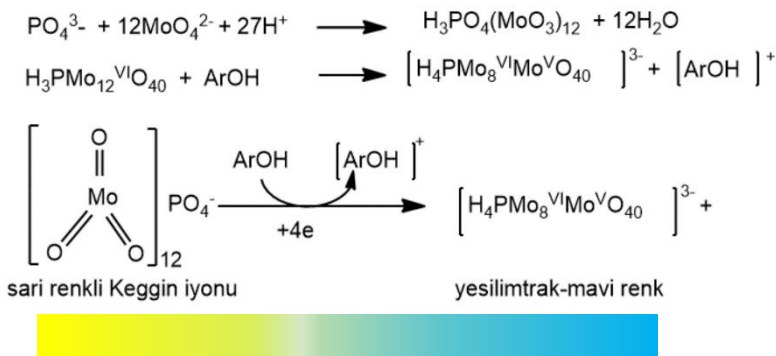
- Fosfomolibden Testi
- 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil Radikal Temizleme Kapasite Tayini (DPPH)
- Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi Tayini (TEAC)
- Gümüş Nanopartiküller Antioksidan Tayini

2.6.3.1 Fosfomolibden testi

Fosfomolibden testi, bitki ekstralarının ve biyolojik örneklerin toplam antioksidan kapasitesini (TAK) değerlendirmek için kullanılan bir spektrofotometrik yöntemdir. Prieto ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu yöntem, asidik koşullar altında $Mo(VI)$ 'nın $Mo(V)$ 'e indirgenmesine dayanır ve 695 nm'de maksimum absorbansla yeşilimsi-mavi bir fosfomolibden kompleksi oluşturur. Bu metod başlangıçta bitki tohumlarındaki E- vitamini miktarını belirlemek için geliştirilmiştir. Basit ve hassas bir teknik olarak tanımlanmıştır (Pilar Prieto, 1999). Fosfomolibden yöntemi, yeşil fosfat $Mo(V)$ kompleksinin oluşumunun özelliğinden yararlanarak antioksidan aktiviteyi değerlendirme yöntemidir. Burada $Mo(VI)$ asidik ortamda numunedeki bileşikler tarafından $Mo(V)$ 'e indirgenir: yeşilimsi mavi renk, amonyum molibdat'ın asidik ortamda Keggin iyonu olarak bilinen bir okside indirgenmesinden kaynaklanır. Oluşan Keggin iyonu daha sonra bir antioksidan varlığında indirgenir (Choi et al., 2023). $Mo(VI)$ 'nın $Mo(V)$ 'e indirgenmesine neden olan bir elektron transferi (ET) veya hidrojen atomu transferi (HAT) mekanizmasını takip eder. Yeşil-mavi kompleksin absorbansı 695 nm'de okunabilir. Kimyasal tepkimenin şeması Şekil 2.3'te gösterilmiştir. Fosfomolibden reaktifi, sülfürik asidin, sodyum fosfatın ve amonyum molibdatın karıştırılmasıyla hazırlanır. Sonuçlar % inhibisyonu veya standart bir bileşiğin eşdeğeri olarak hesaplanır.

Şekil 2.3

Fosfomolibden Reaktifi ve Antioksidan Bileşiğin Tepkimesi (Bibi Sadeer et al., 2020)



Kaynaklarda, DPPH ve ABTS (yada TEAC) metodlarının flavonoidler ve fenoller gibi antioksidanların tespiti için çok uygun olduğu, fosfomolibden'in ise genellikle askorbik

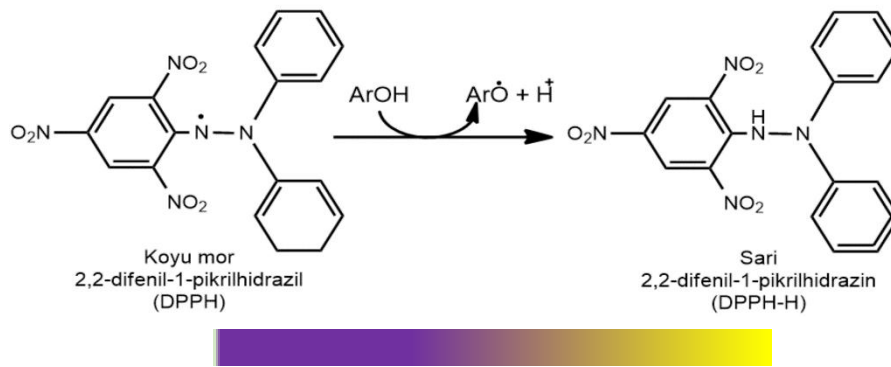
asit, α -tokoferol, karotenoidler ve bazı fenolikler gibi antioksidanları değerlendirebildiği rapor edilmiştir (Pilar Prieto, 1999). Bu, fosfomolibden analizinde anlamlı bir toplam antioksidan kapasitenin yüksek polifenolik içeriğin yansıtmamasının nedenini açıklayabilir.

2.6.3.2 2,2- DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivite

DPPH testi, kararlı DPPH[•] radikalinin indirgenmesine dayalı antioksidan kapasitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu reaksiyon, 515 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülebilen bir renk değişimine yol açar (Şekil 2.4). Renk değişiminin derecesi, genellikle IC₅₀ değeri olarak ifade edilen bir numunenin antioksidan potansiyelini gösterir. Basitliği, hızlı yürütülmesi ve tekrarlanabilirliği nedeniyle DPPH testi, çeşitli bileşiklerin serbest radikal süpürme yeteneğini değerlendirmek için değerli bir araçtır.

Şekil 2.4

2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) Reaksiyon Mekanizması (Bibi Sadeer et al., 2020)



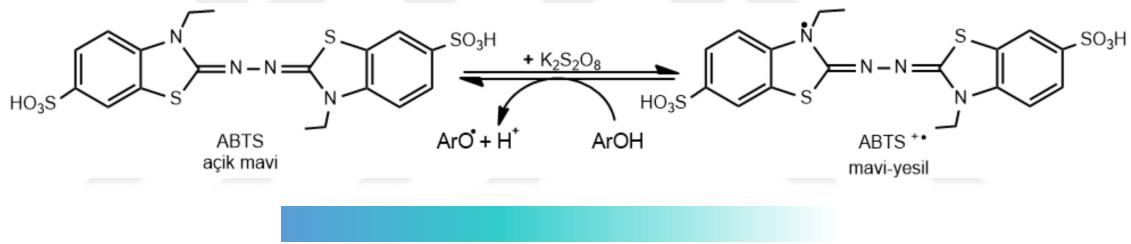
Bu test, potansiyel sağlık yararlarını belirlemek için bitki ekstraktlarının, gıda ürünlerinin ve ilaçların analizinde yaygın olarak uygulanır. DPPH testi, antioksidan aktivitenin hızlı ve güvenilir bir tahminini sağlayarak, doğal antioksidanlar ve bunların tıp, beslenme ve kozmetikteki uygulamaları üzerine yapılan araştırmalarda önemli bir rol oynar (Huang, 2005).

2.6.3.3 Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasitesi tayini (TEAC)

Trolox'a Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (TEAC) testi, bileşiklerin antioksidan kapasitesini ölçmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. İlk olarak 1993 yılında Miller ve Rice-Evans tarafından tanıtılmış ve daha sonra geliştirilmiştir. Test, azobistiyosulfonik asidin (ABTS)'nin potasyum persülfatla reaksiyona girmesiyle oluşan $ABTS^{++}$ radikalinin indirgenmesine dayanır ve koyu mavi bir çözelti üretir (Şekil 2.5). Bu çözelti seyreltilir ve test numuneyle karıştırılarak 734 nm'deki absorbans değişimi ölçülür. Antioksidan kapasite, bir E vitamini analogu olan 1 mM Troloks ile aynı absorbans değişimini üretmek için gereken konsantrasyon olarak ifade edilir. TEAC testi, çeşitli bileşiklerin ve gıda numunelerinin antioksidan potansiyelini değerlendirmek için araştırmalarda yaygın olarak kullanılır (Huang, 2005).

Şekil 2.5

2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) Reaksiyon Mekanizması (Bibi Sadeer et al., 2020)



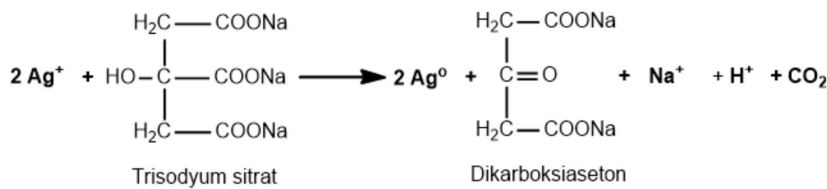
2.6.3.4 Gümüş nanoparçacık antioksidan kapasite tayini (SNPAC)

R. Apak ve ekibi tarafından geliştirilen SNPAC testi (Ozyurek et al., 2012), sodyum sitratla stabilize edilmiş gümüş çekirdeklerin varlığında polifenoller (flavonoidler, basit fenolik ve hidrokisinnamik asitler) tarafından Ag^+ iyonlarının indirgenmesine dayanan hassas bir kolorimetrik yöntemdir. Bu test'te kararlı süspansiyonun rengi, trisodyum sitrat, gümüş nitrat ve gümüş çekirdeklerinin konsantrasyonu değiştirilerek kontrol edilmektedir. Trisodyum sitrat ve gümüş çekirdeklerinin varlığında polifenoller tarafından Ag^+ 'nın küresel gümüş nanopartiküllere (SNP'ler) indirgenmesi, 423 nm'de SNP'lerin çok yoğun bir yüzey plazmon rezonansı (SPR) emilim bandı üretmektedir. SNP'ler sentezlendiğinde, SPR fenomeni belirgindir. Bu nedenle, metalik nanopartiküller (NP'ler), spektrumun görünür bölgesinde tespit edilebilen yoğun renk gibi ilginç özelliklere sahiptir. SNP'lerin plazmon absorbansı, polifenollerin kantitatif spektrofotometrik tespitine olanak tanır. Bu yöntem, standard polifenolik bileşiklerin

geniş bir konsantrasyon aralığında doğrusal bir yanıt vermektedir (Bedlovicova et al., 2020). SNPAC yönteminde, nispeten monodispers çekirdek parçacıkları, Ag^+ iyonlarının trisodium sitratla indirgenmesiyle hazırlanır, çünkü sitrat kaplamasıyla elde edilen küçük boyutlu SNP dağılımını içeren iyileştirilmiş monodispersite, çekirdekleşmeye göre büyümenin baskın olmasını sağlayabilir ve bu da sonraki toplam antioksidan aktivite belirlemelerinin hassasiyetini etkileyebilir. SNPAC yönteminin ilk basamağı, $AgNO_3$ 'ün trisodyum sitrat ile kimyasal indirgenmesiyle küçük boyutlu küresel SNP'lerin (ortalama çap ≈ 66 nm) oluşumunu içerir ve muhtemelen dikarboksiaseton üretilir (Şekil 2.6). Trisodyum sitratın zayıf bir indirgeyici ve Ag^+ stabilizasyon ajanı olarak etki ederek Ag çekirdekleri üretmektedir.

Şekil 2.6

Trisodyum Sitratın Dikarboksiasetona Dönüşümü (Bedlovicova et al., 2020)



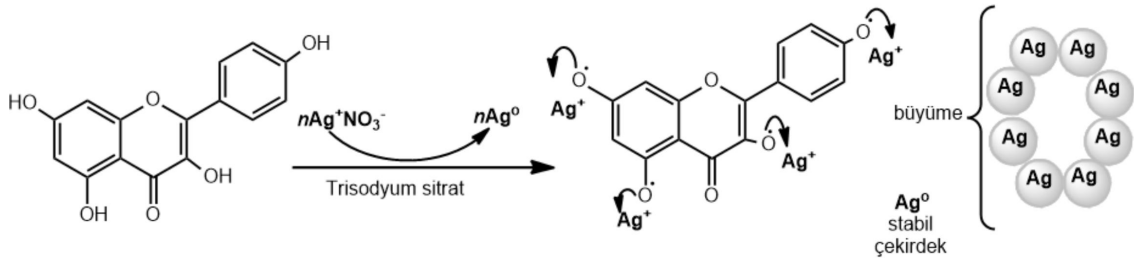
Bu işlemin ikinci aşamasında, çekirdek-kabuk SNP'leri oluşturmak için gümüş çekirdeklerdeki Ag^+ iyonlarının indirgenmesi için ikincil indirgeyici olarak polifenoller eklenir. Polifenoller ve/veya antioksidan vitaminler ve Ag^+ iyonları, çekirdek parçacıklarının yüzeyine yayılarak elektron transferini mümkün kılar ve çekirdeklerde daha fazla Ag atomunun birikmesine neden olur ve son çekirdek-kabuk SNP yapıları karakteristik SPR emilimini sergiler. Ag -çekirdek çözeltisine polifenol bileşikler eklendiğinde, 423 nm'de keskin bir plazmon emilim bandı ortaya çıkar ve bu AgNP'lerin oluşumunu gösterir.

Polifenollerin reaktif Ar-OH grupları karşılık gelen kinonlara kadar oksitlenirken, Ag^+ iyonları koyu renkli AgNP'lere indirgenir (çekirdek-kabuk oluşumu) (Şekil 2.7). Fizyolojik olarak önemli antioksidanlar için standart potansiyel, $E^0 = 0,2-0,6$ V, $E^0_{Ag(I),Ag} = 0,8$ V. SNPAC yönteminde tüm fenolik -OH süstitüentlerin karşılık gelen kinonlara indirgenmediği ve bu indirgemenin verimliliğinin fenolik -OH gruplarının

sayısına ve pozisyonuna ve polifenolik molekülün genel konjugasyon seviyesine bağlı olduğu belirtilmelidir (Bedlovicova et al., 2020).

Şekil 2.7

Gümüş İyonlarının Fenolik Bileşik Etkisi ile İndirgenmesi

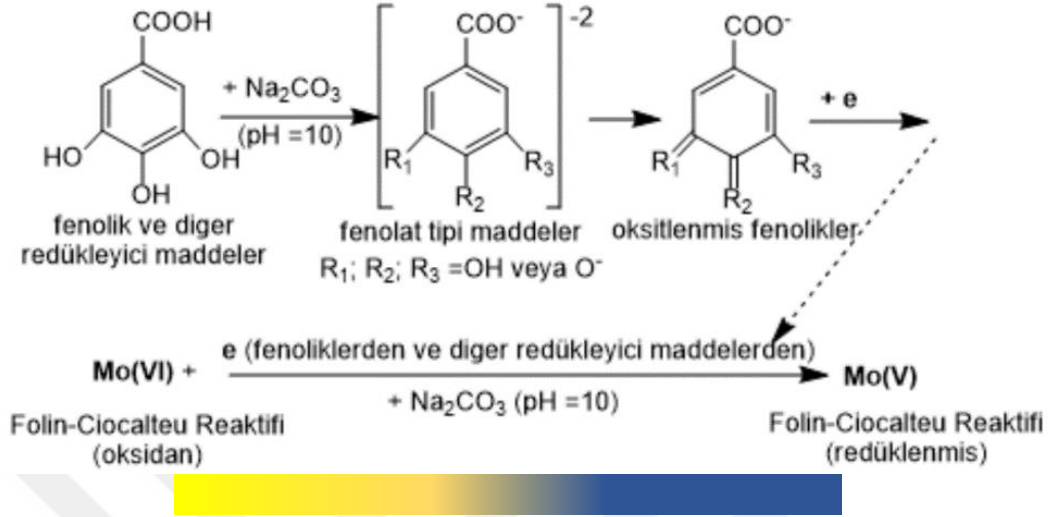


Askorbik asidin (standart antioksidan bileşik) kalibrasyon eğrisi absorbansa karşı molar konsantrasyon olarak oluşturulur. Bununla birlikte, standart madde olarak troloks, klorojenik asit de kullanılabilir. Her antioksidan için SNPAC yönteminin molar absorptivitesi (ϵ), ilgili kalibrasyon çizgisinin eğiminden bulunur. Test edilen numunelerin total antioksidan kapasite değerleri, SNPAC testinin aynı koşulları altında ölçülen ϵ antioksidanının askorbik aside oranını temsil eder.

2.6.3.5 Toplam fenol miktar tayini

Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) ile toplam fenol testi, çeşitli numunelerdeki fenolik bileşiklerin miktarın ölçmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Başlangıçta protein analizi için geliştirilen yöntem, daha sonra Singleton ve arkadaşları tarafından şaraptaki toplam fenollerini ölçmek için uyarlandı ve o zamandan beri antioksidan araştırmalarında geniş uygulamalar buldu (Singleton & Rossi, 1965). FCR, sodyum tungstat, sodyum molibdat, hidroklorik asit, fosforik asit ve lityum sülfat birleştirilerek yoğun sarı bir çözelti oluşturularak hazırlanır. Bazı koşullar altında (pH ~10), fenolik bileşikler reaktife elektron bağışlayarak molibdeni (Mo^{6+}) Mo^{5+} 'ye indirger ve mavi renkli komplekslerin oluşumuyla sonuçlanır (Şekil 2.8).

Şekil 2.8



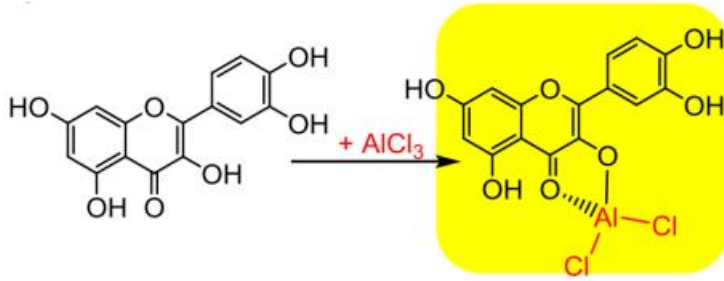
Folin-Ciocalteu (F-C) Testi

Mavi rengin yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülür ve numunedeki toplam fenolik içerikle ilişkilendirilir. Basitliği, tekrarlanabilirliği ve etkinliği nedeniyle FCR testi, fenolik antioksidanları değerlendirmek için gıda, içecek ve biyolojik araştırmalarda yaygın olarak kullanılır (Huang, 2005), (Bibi Sadeer et al., 2020).

2.6.3.6 Toplam flavonoid miktar tayini

Toplam Flavonoid miktar tayini (TFC) testi, bitki ekstraktlarında bulunan flavonoid bileşiklerin miktarını ölçmek için kullanılan bir spektrofotometrik yöntemdir (Shraim et al., 2021). Flavonoidler, güçlü antioksidan özelliklere sahip önemli bitki sekonder metabolitler grubudur. Bu testte, flavonoidlerin alüminyum klorür (AlCl_3) reaktifi ile oluşturduğu kompleksin miktarı kolorimetrik yöntem ile ölçülür. Flavonoidler, asidik koşullar altında alüminyum iyonlarıyla kararlı kompleksler oluşturarak, yoğunluğu bir spektrofotometre kullanılarak 415 nm'de ölçülen sarı bir renk üretir (Şekil 2.9). Flavonoid içeriği, genellikle kersetin veya rutin eşdeğerleri (mg QE/g veya mg RE/g) olan standart bir referans bileşiği cinsinden ifade edilir.

Şekil 2.9.



Flavonoidlerin AlCl₃ Reaktifi ile Tepkime Mekanizması

2.6.4 Antidiyabetik araştırmaların önemi

Diyabet, milyonlarca insanı etkileyen ve kardiyovasküler hastalıklar, böbrek yetmezliği ve nöropati gibi ciddi komplikasyon riskini artıran yaygın bir küresel sağlık sorunu haline gelmiştir (Federation, 2024). Diyabetin artan yaygınlığıyla birlikte, etkili tedaviler üzerine yapılan araştırmalar her zamankinden daha önemli hale gelmiştir. Sentetik ilaçlar genellikle kan şekeri seviyelerini yönetmek için kullanılsa da, genellikle yan etkilere ve uzun vadeli sağlık risklerine sahiptirler. Bu, daha güvenli ve potansiyel olarak daha etkili alternatifler sunan doğal ve bitkisel ilaçlara olan ilginin artmasına yol açmıştır. Tıbbi bitkiler ve biyoaktif bileşikler, daha az yan etkiyle glikoz metabolizmasını düzenlemeye yardımcı olabildikleri için antidiyabetik özellikleri açısından yaygın olarak incelenmiştir. Bitki özlerinin antidiyabetik potansiyelini değerlendirmek için genellikle α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyon analizleri de dahil olmak üzere çeşitli biyokimyasal analizler kullanılır. Bu enzimler karbonhidrat sindiriminde önemli roller oynar ve inhibisyonları glikoz emilimini yavaşlatmaya yardımcı olarak daha iyi kan şekeri kontrolüne yol açabilir. Araştırmalarda, bu analizler aracılığıyla doğal bileşikler inceleyerek diyabet yönetimi için daha güvenli ve daha sürdürülebilir çözümler sağlayabilecek yeni bitki bazlı tedavileri belirlenebilir (Kazeem et al., 2013).

2.6.4.1 α -Glukozidaz inhibisyon analizi

α -Glukozidaz inhibisyon testi, doğal bileşiklerin yemek sonrası kan şekeri seviyelerini düzenleme yeteneğini değerlendirmek için kullanılan bir biyokimyasal yöntemdir

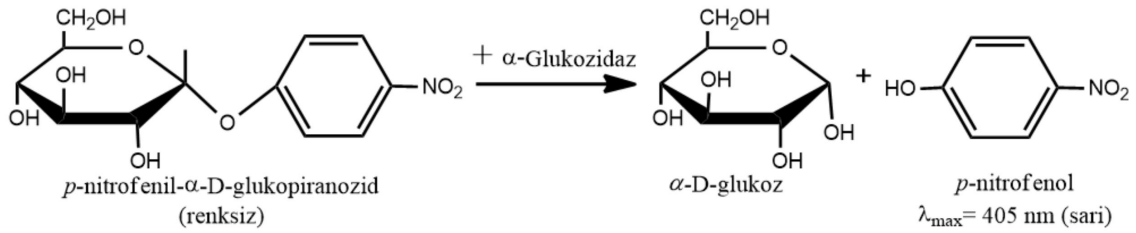
(Palanisamy et al., 2011). α -Glukozidaz, karmaşık karbonhidratları glikoza parçalamaktan sorumlu olan ve kan dolaşımına emilimini kolaylaştıran ince bağırsaktaki bir enzimdir. Bu enzimi inhibe etmek, glikoz salınımını yavaşlatır ve diyabetin yönetilmesine yardımcı olur.

Bu testte, enzim bitki özleriyle inkübe edilir ve aktivitesi, *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosid (pNPG) gibi sentetik bir substrat kullanılarak ölçülür. α -Glukozidaz pNPG'yi hidrolize ettiğinde, 405 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülebilen sarı bir renk üreten *p*-nitrofenol meydana gelir (Şekil 2.10). Renk yoğunluğundaki azalma, akarboz gibi standart bir inhibitörle karşılaştırılan enzim inhibisyon yüzdesini gösterir.

Kaynak taraması, belirli bitki ekstraktlarının önemli α -glukozidaz inhibitör aktivitesi gösterdiğini ve bunların sentetik antidiyabetik ilaçlara doğal alternatifler olarak potansiyellerini gösterdiğini göstermiştir. Bu analiz, tıbbi bitkileri glikoz düşürücü özellikler açısından taramak için diyabet araştırmalarında yaygın olarak kullanılır (Kazeem et al., 2013).

Şekil 2.10

p-Nitrofenil- α -D-Glukopiranosid (pNPG)'in Hidrolizi



3 MATERYAL VE METOT

3.1 Kimyasal Maddeler

Tez kapsamında yapılan deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar ve çözücülere ilişkin bilgiler Tablo 3.1’de özetlenmiştir.

Tablo 3.1

Kullanılan Kimyasallar ve Çözücüler

Kimyasal Madde	Kimyasal Formül	Menşei
α -Glukozidaz (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	Tip 1 liyofilize toz ≥ 10 ünite/mg protein	Sigma
ABTS 2,2'-Azino-bis (3 etil benzotiyazolin-6 sülfonik asit	$C_{15}H_{18}N_4O_6S_4$	Sigma-Ald, Almanya
Akarboz	$C_{25}H_{43}NO_{13}$	Sigma-ald, Fransa
Alüminyum klorür	$AlCl_3$	Merck, Almanya
Amonyum molibdat tetrahidrat	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	Merck, Darmstadt
Asetik asit	CH_3COOH	Sigma-Ald, Almanya
Askorbik asit	$C_6H_8O_6$	Sigma-Ald, Almanya
Bakır(II) klorür	$(CuCl_2)$	Sigma-Ald, Almanya
Çözünür nişasta	$(C_6H_{10}O_5)_n$	Sigma-Ald, ingiltere
Dimetil sülfoksit (DMSO)	C_2H_6OS	Sigma-Ald, Almanya
1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)	$C_{15}H_{12}N_2O_6$	Sigma-Ald, ABD
5,5-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)] (DTNB)	$C_{14}H_{14}N_2O_8S_2$	Sigma-Ald, ABD
Etanol	C_2H_5OH	Sigma-Ald, Almanya
Etil asetat	$C_4H_8O_2$	(Sigma-Ald., Fransa)
Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR)	$(H_3PMO_{12}O_{40}) \cdot (H_3PW_{12}O_{40})$	Sigma-Ald, İsviçre
Formik asit	$HCOOH$	Sigma-Ald, Fransa
Gallik asit	$C_7H_6O_5$	Sigma-Ald, çin
Hidroklorik asit	HCl	Sigma-Ald, Almanya
İyot	I_2	Sigma-Ald, Fransa
Kersetin	$C_{15}H_{10}O_7$	Sigma-Ald, Fransa
Kloroform	$CHCl_3$	Sigma-Ald, Polonya
Magnezyum, metalik	Mg	Merck, Almanya
Metanol	CH_3OH	Sigma-Ald, Almanya
n-Hekzan	C_6H_{14}	Sigma-Ald, Almanya
phosphate buffered Saline (PBS)	$NaCl, KCl, Na_2HPO_4, KH_2PO_4$	Sigma-Ald, Fransa
Potasyum iyodür	KI	Merck, Almanya
Potasyum persülfat	$K_2S_2O_8$	Merck, Almanya

[Tablo 3.1 (Devam) Kullanılan Kimyasallar ve Çözücüler]

Kimyasal Madde	Kimyasal Formül	Menşei
Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Merck, Almanya
Sodyum fosfat tribazik	Na ₃ PO ₄	Sigma-Ald, Fransa
Sodyum citrate tribazik dihidrat	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ ·2H ₂ O	System, Almanya
Sodyum karbonat	Na ₂ CO ₃	Sigma-Ald, Fransa
Sülfürik asit	H ₂ SO ₄	Sigma-Ald, Almanya
Tip 1 ultra saf su	H ₂ O	Direct-Q Water Purification
Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	(Sigma-Ald, Almanya)
Toluen	C ₆ H ₅ CH ₃	(Sigma-Ald, Fransa)
Tween-20	C ₂₆ H ₅₀ O ₁₀	(Merck, Almanya)

3.2 Cihaz ve Apareyler

Deneysel çalışmalarda kullanılan cihaz ve gereçler aşağıdaki Tablo 3.2’de özetlenmiştir.

Tablo 3.2

Araştırma Çalışmalarında Kullanılan Cihaz ve Gereçlerin Bilgileri

Cihaz	Cihaz bilgileri
Clevenger apareyi	İldamCam, EP’ye uygun
Çalkalayıcı	GFL (Burgwedel, Almanya)
GK/AİD Agilent 6890N	(SEM Ltd, İstanbul, Türkiye)
GK/MSD sistemi, Agilent 5975	USA; SEM Ltd., İstanbul, Türkiye
UBBK	USA-Waters; LiKrom A.Ş., İstanbul, Türkiye
SK-ESI-KS/KS	Shimadzu, Nexera
Hassas Terazı	Metler Toledo, NewClassic MS
Liyofilizatör (Freeze Dryer)	Labconco Freezone 6 Plus
Manyetik karıştırıcı	IKO KS260 pH Metre, WTW series, InoLab, pH720
pH Metre	WTW series, InoLab, pH720
Rotavapor sistemi	Heidolph Instrument, Laborota 4010-Digital
Santrifüj	Eppendorf, 5804
Ultrasonik su banyosu	Elma, S100H

3.3 Bitkisel Mateyal

Thymus ekimii, Bitki örneği çiçeklenme döneminde 2023 yılı Haziran ayında Çaykoz, 26600 Sivrihisar/Eskişehir bölgesinde (39°18'40.0"N 31°39'55.9"E) toplanmıştır. Bitkinin toplanması ve teşhisi Dr. Ö. Koray Yaylacı (Anadolu Üniversitesi, Farmasötik

Botanik ABD) tarafından gerçekleştirilmiştir. Taze bitki örnekleri gölgeli ve havadar bir ortamda kurutulmuştur (Görsel 3.1).

Görsel 3.1

Çiçeklenme Döneminde Thymus ekimii Bitkisi



3.4 *Thymus ekimii* Bitkisinde Bazı Metabolitlere Yönelik Teşhis Reaksiyonlar

3.4.1 Flavon glikozitlerin teşhisi

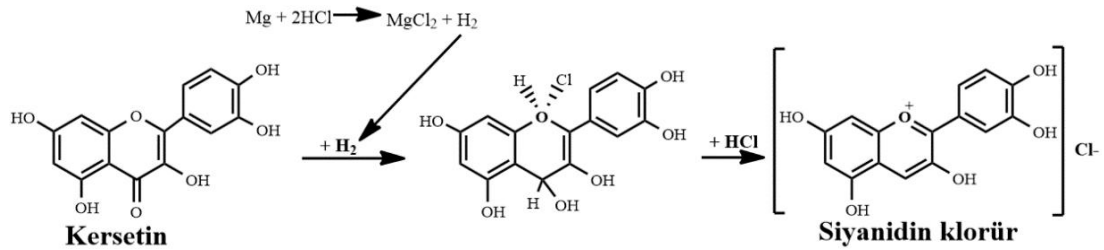
Bitkilerde yaygın olarak bulunan flavonoidler, fenolik bileşikler sınıfına ait doğal ürünlerdir. Bu bileşiklerin varlığının belirlenmesi amacıyla çeşitli kalitatif tanımlama testleri kullanılmaktadır. Flavonoidlerin teşhisinde kullanılan klasik yöntemler, yapılarındaki fenolik hidroksil grupları, konjuge çift bağ sistemleri ve karbonil gruplarının belirli reaktiflerle verdikleri karakteristik renk değişimlerine veya floresans özelliklerine dayanmaktadır.

Shibata Reaksiyonu: Flavonoidler hidrojen etkisi (metalik Mg ve HCl tepkimesi sonucu oluşan) ile redüklenir ve pembe-kırmızı veya turuncu renkli antosiyanidin verirler (Şekil 3.1). Flavon varlığında turuncu kırmızı, flavonol varlığında kiraz kırmızısı, flavanon varlığında menekşe kırmızısı renk meydana gelir. Kalkon ve izoflavonlar bu reaksiyonu vermezler.

Deneyde, öğütülmüş *T. ekimii* herbası üzerine 10 mL CH₃OH eklenerek 5 dk. su banyosunda (65°C) bekletilmiştir. Süzütünün 2 mL'si üzerine 1 mL derişik HCl ve 4-5 tane metalik Mg eklenmiştir. Drogda bulunan flavon türevlerine bağlı olarak pembe renk meydana gelmiştir.

Şekil. 3.1

Shibata Tepkimesi Mekanizması



3.4.2 Saponin glikozitlerin teşhisi

Deneyde, öğütülmüş *T. ekimii* herbası üzerine 5 mL seyreltik H₂SO₄ (%3) eklenerek 3 dk. su banyosunda hidroliz edilmiştir. Süzütünün üzerine 5 mL kloroform eklenerek

dikkatlice çalkalanarak sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Kloroformlu kısım pastör pipetle iki deney tüpüne dağıtılmıştır.

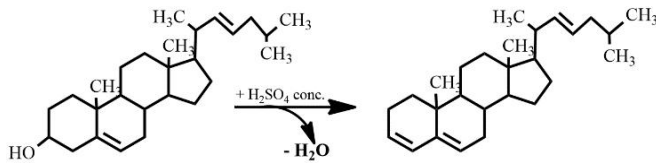
Salkowski reaksiyonu: Kloroformlu ekstre üzerine tüpün cidarından 2-3 damla derişik H_2SO_4 eklenerek tabakalandırma yapılmıştır. Sarı renkli bir halka oluşumu gözlemlenmiştir. Daha sonra çalkalamakla kloroform tabakası kan kırmızısı renk almıştır.

Liebermann-Burchard testi: Kloroformlu ekstre porselen kapsül içine alınarak su banyosu üzerinde kurutulmuştur. Kuru bakiye üzerine 1 mL glasiyel asetik asit eklenerek çözülmüştür. Çözelti deney tüpüne aktarıldı, tüpün cidarından 2-3 damla derişik H_2SO_4 eklenerek tabakalandırma yapılmıştır. İki tabakanın temas yüzeyinde renk değişimi gözlemlenmiştir.

Salkowski reaksiyonunda, derişik H_2SO_4 etkisi ile steroidal çekirdek bir H_2O molekülünü kaybeder. Dehidratasyon sonucunda molekül yapısında ikinci çift bağ yer alır. Sonuç olarak kırmızı renkli markır madde kolesterilen oluşur (Şekil 3.2).

Şekil 3.2.

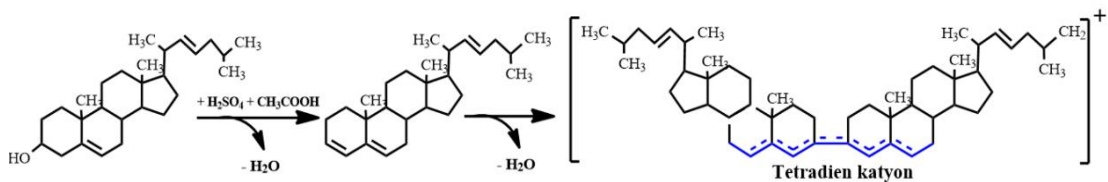
Salkowski Tepkimesinin Mekanizması



Liebermann-Burchard testinde, hidroksi grupları ve steroidler içeren doymamış triterpenler pozitif sonuç verirler. Derişik H_2SO_4 ve glasiyel asetik asit etkisiyle iki H_2O molekülünün kaybının ardından, iki triterpen molekülü birleşerek bir dimer molekülünü oluştururlar. Dimerin yapısında konjuge polien sistemi yer alır (Şekil 3.3).

Şekil 3.3

Liebermann-Burchard Tepkimesinin Mekanizması



3.4.3 Tanenlerin tanımlanmasına yönelik teşhis reaksiyonu

Fenolik bileşenler yapısında aromatik halkanın karbon atomları ile birleşmiş bir veya birkaç adet –OH grubu bulunduran doğal maddelerdir. Fenolik –OH grubu sayısı bir ise bu madde fenol, iki ve daha fazla ise polifenol olarak adlandırılır.

Tanenler, bitkilerden elde edilen, C, H, O taşıyan, polifenolik maddelerdir. Deriyi tabakalama özeliğine sahiptirler. Bitkilerde çoğu glikozitler halinde bulunurlar. Gerçek tanenlerin çoğu yüksek molekül ağırlıklı maddelerdir, ve Goldbeater membran testinde proteini çöktürerek pozitif sonuç verirler. Psödotalanenin molekül ağırlıkları düşük ve Goldbeater membran testinde proteini çöktürmezler. Gerçek tanenlerin iki grubu bilinir, hidroliz olabilenler ve kondanse/kateşik tanenler. Hidroliz olabilen tanenler asit etkisi ile hidrolize olur, FeCl_3 ile mavi-mor renk verirler. Yapısal olarak, birkaç fenolik asidin bir glikoz molekülüne ester bağı ile bağlanması ile oluşurlar. İki alt grubu bilinir, gallik tanen ve ellagitanenler. Gallik tanenlerde fenolik asit olarak gallik ve digallik asitler bulunur. Ellagitanenlerde ise, fenolik asit olarak elajik asit bulunur. Kondanse tanenler, kateşinin kondensasyon ürünleridir, asit veya enzim etkisi ile hidroliz olmazlar ve flobafene dönüşürler, kuru distilasyon ile pirokateşol verirler.

Deneyde, öğütülmüş *T. ekimii* herbasi üzerine 20 mL kaynar su eklenerek 5 dk su banyosu üzerinde bekletilmiştir. Hazırlanan infüzyon üç tüpe paylaştırılmıştır:

İnfüzyon üzerine 1 mL tuzlu jelatin çözeltisi eklenmiştir.

İnfüzyon üzerine seyreltik FeCl_3 (%5) çözeltisinden 1-2 damla eklenmiştir.

İnfüzyon üzerine Stiasny reaktifi 1-2 damla eklenmiştir.

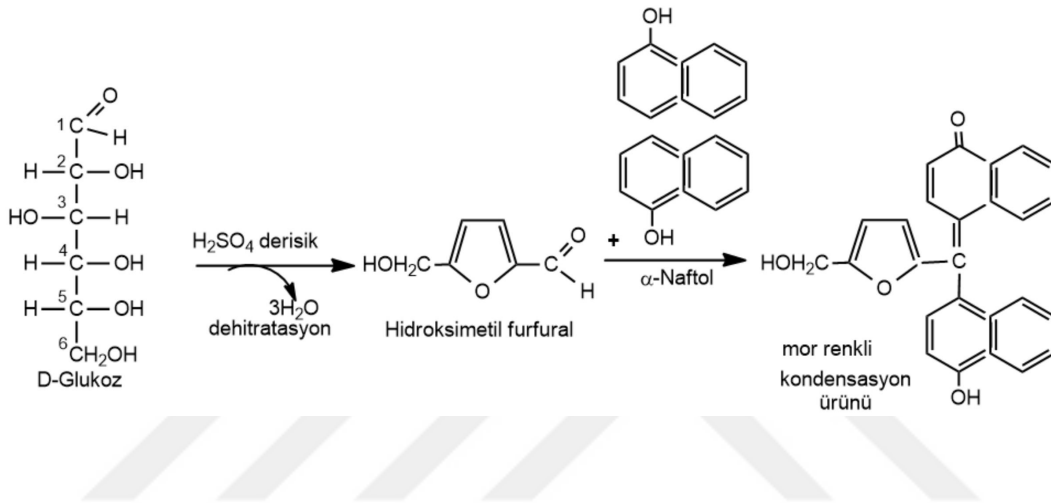
3.4.4 Karbonhidratların tanımlanmasına yönelik teşhis reaksiyonları

Karbonhidratlar, canlı organizmada en çok bulunan primer metabolitler grubuna ait kompleks biyomoleküllerdir. Genel formulu $\text{C}_x(\text{H}_2\text{O})_y$ şeklinde yazılır. Karbonhidrat kimyası alkoller ve karbonillere (aldehit ve keton) benzemektedir. Bazı karbonhidratların yapısında heteroatomlar da bulunur: N, S ve F. Karbonhidratlar, polihidroksi aldehitler veya ketonlar ve onların türevleri olarak tanımlanır. Karbonhidratların kimyasal özelliklerini açıklayan teşhis reaksiyonların çoğu bileşiklerin redükleyici (indirgeyici) özelliklerine dayalıdır.

Molisch Testi: derişik H_2SO_4 etkisi ile karbonhidrat molekülü dehidratasyona uğrar ve hidroksimetil furfural oluşur. α -Naftol, hidroksimetil furfural ile mor renkli kondensasyon ürünü verir (Şekil 3.4). Mono- ve polisakkaritler ve glikoproteinler bu testte pozitif sonuç verirler.

Şekil 3.4

Molish Testi Mekanizması

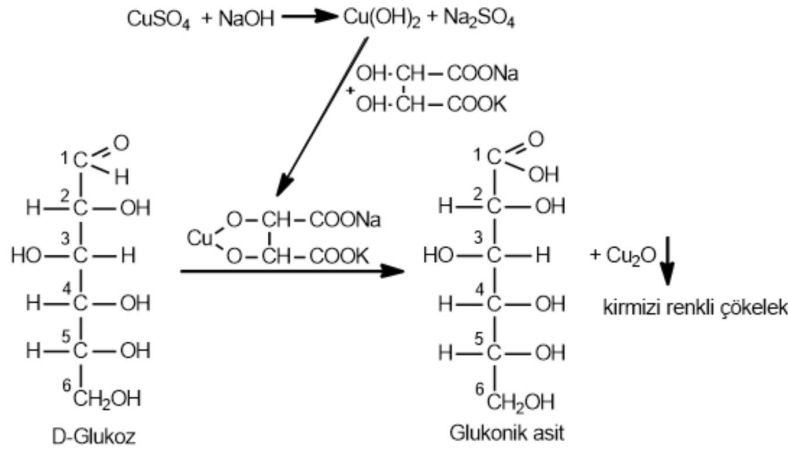


T. ekimii herbası ufaltılarak tüpün içine konmuştur, üzerine % 3'lük HCl (25 mL) ilave edilerek bek alevi üzerinde kaynatılmıştır. Süzüntüye 5 mL % 10'luk $Pb(Ac)_2$ çözeltisi ilave edilmiştir. Çözelti süzölmüştür. Süzüntüye doymuş Na_2HPO_4 çözeltisinden damla damla ilave edilerek kurşunun fazlası çöktürölmüştür, süzölmüştür. Hazırlanmış test çözeltisine α -naftolün alkollü % 15'lik çözeltisinden 2 damla ilave edilmiştir. Üzerine derişik H_2SO_4 tabaka oluşturacak şekilde ilave edilmiştir.

Fehling Testi: redükleyici (indirgeyici) şekerlerin tespiti için spesifik ve çok hassas bir testtir. Fehling reaktifinde bulunan Cu^{2+} şekerin etkisi ile Cu^+ kadar redüklenir. Tepkime sonucunda tuğla kırmızısı renğinde Cu_2O çökeleği oluşur (Şekil 3.5). *T. ekimii* test çözeltisi üzerine Fehling A ve Fehling B reaktifleri ilave edilip su banyosunda ısıtılmıştır. Kırmızı renkli Cu_2O 'in çökmesi numunede indirgen şeker bulunduğunu gösterir.

Şekil 3.5

Fehling Testi Mekanizması



3.4.5 Alkaloidlerin tanımlanmasına yönelik teşhis reaksiyonları

Alkaloidler, bitkilerden, bazı deniz canlılarından, fungus ve mikroorganizmalardan elde edilen, yapılarında C, H, O ve N taşıyan, kuvvetli fizyolojik etkiye sahip, bazik karakterli maddelerdir. Alkaloidlerin kimyasal özellikleri yapılarındaki azotun baz karakterli olması ile bağlantılıdır. Bileşiklerin teşhisi için kullanılan reaksiyonlar çoğunlukla azot üzerinden gerçekleşir. Test reaktiflerin çoğunda ağır metallerin tuzları mevcuttur. Tepkimenin mekanizması reaktifte bulunan ağır metalin ve alkaloidin azotu arasında bağın oluşup suda çözünmeyen komplekslerin meydana gelmesine dayalıdır (Tablo 3.3). Ayrıca, alkaloidler proteinlerle çökelti verebilirler.

Tablo 3.3

Alkaloid Teşhisi için Kullanılan Reaktifler

Genel alkaloid reaktifi	Reaktif bileşimi
Bouchardat reaktifi	I ₂ +KI+ HCl seyreltik
Dragendorff reaktifi	Bi(NO ₃) ₃ +KI + tartarik asit
Hager reaktifi	Doymuş pikrik asit
Mayer Reaktifi	HgI ₂ +KI
Wagner Reaktifi	I ₂ +KI

T. ekimii herbası ufaltılarak tüpün içine konmuştur, üzerine 5 mL H₂SO₄ (% 3'lük) eklenmiştir ve su banyosunda 10 dk ısıtılmıştır. Süzüntü dört deney tüplerine paylaştırılmıştır. Her bir tüpe farklı alkaloit reaktifi çökelti gözleninceye kadar damla damla eklenmiştir.

3.5. Uçucu Yağ Eldesi

Kurutulmuş bitkinin toprak üstü kısımları (30 g, odunlaşmış sapları hariç) uygun boyuta getirildikten sonra Avrupa Farmakopesine uygun Clevenger apareyinde 3 saat boyunca hidrodistilasyon işlemine tabi tutularak uçucu yağı (TUY) elde edilmiştir (Görsel 3.2). Distilasyon sonunda elde edilen TUY verimi kuru bitki baz üzerinden hesaplanmıştır (a/a). TUY numunesi diğer çalışmalarda kullanılıncaya kadar amber vial içinde +4°C'de buz dolabında muhafaza edilmiştir.

Görsel 3.2

T. ekimii Topraküstü Kısımından Clevenger Apareyinde Hidrodistilasyon ile Uçucu Yağ Eldesi



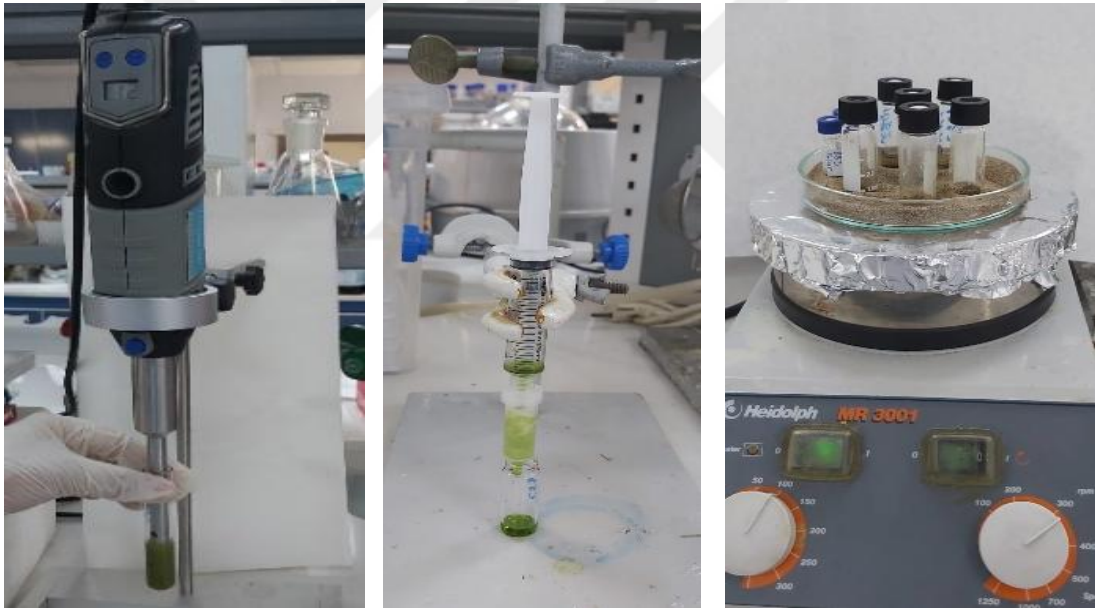
3.6 Sabit Yağ Asitlerinin Ekstraksiyonu

Sabit yağ asitlerinin ekstraksiyonu için Fatty Acid Extraction Kit kullanılmış ve ekstraksiyon işlemi, kit üreticisinin önerdiği protokol doğrultusunda gerçekleştirilmiştir (Möller et al., 2019), Bitkinin topraküstü kısmından elde edilen toplam lipidleri içeren

ekstre, katı faz ekstraksiyonu (KFE) kartuşundan geçirilmiş olup, bu işleme ait Görsel 3.3'te sunulmuştur. Elde edilen sabit yağ asitleri analiz etmek üzere transesterifikasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla elde edilen lipid ekstresinden 200 µL alınarak azot gazı altında kurutulduktan sonra üzerine 1 mL boron triflorür (BF₃) reaktifi ve 0.3 mL *n*-hekzan ilave edilmiştir. Karışım, kum banyosunda 95°C'de 1 saat ısıtılmıştır (Görsel 3.3). İşlem sonrası karışıma 1 mL saf su ve 1 mL *n*-hekzan eklenerek vorteks cihazında karıştırılmış, faz ayrımının ardından organik faz (üst faz) pastör pipetle toplanmıştır. Bu faz, azot gazı altında yoğunlaştırılmış ve elde edilen sabit yağ asitleri metil esterleri (FAME) gaz kromatografik analizi öncesi amber vialde +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Görsel 3.3.

T. ekimii Bitkisinin Sabit Yağ Asitleri Ekstraksiyonu ve Transesterifikasyonu



3.7 Ekstrelerin Elde Edilmesi

Bitkisel materyalden biyoaktif bileşikler elde etmek için farklı polaritedeki çözücüler ile dört ekstre (Herba Lipofilik: THL, Herba Polar: THP, Kök Lipofilik: TRL ve Kök Polar: TRP) elde edilmiştir. Bu amaçla, kurutulmuş bitki toprak üstü (Herba) ve kök (Root) kısımları (THP/TRP için 25.0 g ve THL/TRL için 46.0 g, odunlaşmış sapları hariç) uygun boyuta getirildikten sonra önce *n*-hekzan ile oda sıcaklığında (20°C) maserasyona tabi tutulmuştur (24 saat ×3). Ekstraksiyonun daha verimli olması amaçla

çalkalama (110 rpm) işlemi de uygulanmıştır. Süre sonunda *n*-hekzanlı ekstreler (1 L) filtre edilmiştir (Whatman kağıdı filtresi) (Wirtu, 2024). Benzer şekilde bitkisel materyal örnekleri daha sonra saf su, metanol ve aseton (30:30:30 v/v) karışımından oluşan polar çözücü sistemi kullanılarak maserasyona tabi tutulmuştur. Maserasyon işleminden sonra polar ekstreler filtre edilmiştir (Cerde, 2013). Elde edilen ekstrelerden THL/TRL ve THP/TRP'nin çözücülerini döner buharlaştırıcıda düşük basınç altında uzaklaştırılmıştır (Görsel 3.4).

Görsel 3.4.

Ekstrelerdeki Çözücülerin Rotavaporla Uzaklaştırılması



Organik çözücü uzaklaştırıldıktan sonra ekstreler donduruldu ve içinde kalan sulu kısım liyofilizatörde kurutulmuştur. Elde edilen ekstrelerin verim değerleri kuru bitki baz üzerinden hesaplanmış olup Tablo 3.3.'de sunulmuştur. Kurutulmuş ekstreler amber vial içinde +4°C'de buz dolabında muhafaza edilmiştir.

3.8 Lipofilik Vitaminler Ekstraksiyonu

Thymus ekimii bitkisinden lipofilik vitaminlerin ekstraksiyonu sıvı-sıvı ekstraksiyonu yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Qi et al., 2016). Deneyde, 2.0 g topraküstü kısmı tartılarak santrifüj tüpüne alınarak üzerine 5.0 mL etanol, 1.0 mL %50 potasyum

hidroksit çözeltisi ve 1.0 mL %10 askorbik asit çözeltisi eklenmiştir. Karışım 1 dk boyunca homojenize (10000 rpm) edildikten sonra sıcak su banyosunda 30 dk süreyle inkübe edilmiştir. Daha sonra karışım buzlu suda soğutulmuş ve üzerine 10 mL dietil eter ilave edilerek 60 saniye boyunca vorteks ile karıştırılmıştır. Karışım bir ayırma hunisine aktararak faz ayrımı gerçekleştirildikten sonra eterli faz başka ayırma hunisine alınmıştır. Sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemi 3 kez tekrarlanmıştır. Eterli fazlar birleştirilmiş ve alkali kalıntısı kalmayacak şekilde deiyonize su ile yıkanmıştır (pH kontrolü yapılarak). Elde edilen eterli ekstreden çözücü düşük basınç altında döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılmıştır. Kuru kalıntı uygun miktar izopropanol içinde çözülmüş ve 0,22 µm gözenek çapına sahip naylon enjektör filtresi ile süzülerek UBBK tekniği ile analiz için hazırlanmıştır.

Genel olarak *T. ekimii* bitkisinden çeşitli ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstrelerin tipleri ve kullanılan yöntem bilgileri Tablo 3.4’de özetlenmiştir. Bu örneklerin üzerinde daha sonra fitokimyasal profil incelemesi, antioksidan aktivite ve enzim inhibisyonu testleri gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.4

T. ekimii Bitkisinden Elde Edilen Ekstreler ve Verim Bilgileri

Kod	Ekstre tipi	Yöntem
THL	<i>T. ekimii</i> herba lipofilik ekstre	Maserasyon
THP	<i>T. ekimii</i> herba polar ekstre	Maserasyon
TRL	<i>T. ekimii</i> radix lipofilik ekstre	Maserasyon
TRP	<i>T. ekimii</i> radix polar ekstre	Maserasyon
THY	<i>T. ekimii</i> herba uçucu yağı	Hidrodistilasyon
T-FAME	<i>T. ekimii</i> herba sabit yağ asitleri metil esterleri	Sıvı-sıvı ekstraksiyonu
T-VİT	<i>T. ekimii</i> herba lipofilik vitaminler	Sıvı-sıvı ekstraksiyonu

3.9 Uçucu Bileşenlerin Gaz Kromatografik Analizi

3.9.1 Uçucu yağ ve sabit yağ asitleri analizi

Uçucu bileşenlerin analizi için GK-AİD ve GK-KS sistemlerinden faydalanılmıştır (Görsel 3.5). Uçucu yağ örneği gaz kromatografik analizi için *n*-hekzan içinde (%10, v/v) çözülerek hazırlanmıştır. Uçucu bileşiklerin ayırımı için HP-Innowax FSC kolonu (60 m × 0.25 mm, 0.25 µm film kalınlığı, Agilent, Walt & Jennings Scientific, Wilmington, DE, USA) kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum gazı (0,8 mL/dk) kullanılmıştır. Sıcaklık programı şu şekilde oluşturulmuştur: fırın 60°C’de 10 dakika kaldıktan sonra 220°C’ye dakikada 4°C ile çıkıp, 220°C’de 10 dakika kalıp, daha sonra 240°C’ye dakikada 1°C ile çıkmak üzere programlanmıştır. Split oranı 40:1 olarak seçilmiştir. Alev iyonlaşma dedektörü ve enjeksiyon bölümü 250°C’de tutulmuştur. Kütle spektrumu 70 eV, kütle aralığı 35-450 *m/z* seçilmiştir (Schepetkin et al., 2022). Maddelerin kantitatif analizi için alev iyonlaşma dedektörü ile oluşturulan kromatogramlardaki pik alanlarına göre hesaplanmıştır.

Maddelerin tanımlanması için kütle spektrumları, alıkonma zamanı (Retention time) ve RRI (relatif tutunma indisi) değerleri standart bileşiklere ve literatür bilgilerine paralel olarak değerlendirilmiştir. Bileşiklerin spektrum taramasında çeşitli kütüphanelere başvurulmuştur: Wiley GC/MS Library (Wiley, New York, NY, USA), MassFinder software 4.0 (Dr. Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg) (Joulain et al., 2001), Adams Library (Adams, 2005) ve Başer Library of Essential Oil Constituents (Hüsni & Temel, 2012). Madde miktarların belirlenmesinde alev iyonlaşma dedektöründen (AİD) elde edilen piklerin yüzde alanları normalizasyon işlemi uygulanmadan kullanılmıştır.

3.9.2 Silil türevlerinin analizi

Thymus ekimii bitkisinden elde edilen ekstraların sililleme işlemi sonucunda elde edilen silil-türevleri gaz kromatografik analizine doğrudan tabi tutulmuştur. Polar ve apolar ekstralardan elde edilen silil türevi bileşenlerin analizi için Agilent 7890A GK sistemi ile 5975C Inert MSD with Triple-Axis dedektör’den oluşan kromatografik sistem kullanılmıştır. Kromatografik ayırım için HP-5 FSC kolonu (30 m × 0,25 mm, 0,25 µm film kalınlığı, Agilent, Walt & Jennings Scientific, Wilmington, DE, USA) kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır. Gaz akış hızı 0,8 mL/dk olarak ayarlanmıştır. Fırın sıcaklığı gradient sıcaklık programı şu şekilde oluşturulmuştur: dakikada 3°C

artışla 100°C'den 320°C'ye yükselmiş ve 16,67 dk boyunca bu sıcaklıkta tutulmuştur. Örnek enjeksiyonunda split uygulanmamıştır. Enjeksiyon portu sıcaklığı 250°C'de, AİD dedektör sıcaklığı 300°C'de tutulmuştur. Kolonda ayrılan her bir bileşiğin kütle spektrumları 70 eV ve 35-1050 m/z kütle aralığında alınmıştır.

Maddelerin tanımlanması için kütle spektrumları, alıkonma zamanı (Retention time) ve RRI (relatif tutunma indisi) değerleri standart bileşiklere ve literatür bilgilerine paralel olarak değerlendirilmiştir. Bileşiklerin spektrum taramasında çeşitli kütüphanelere başvurulmuştur: Wiley GC/MS Library (Wiley, New York, NY, USA), ve standart maddelerin silil türevleri için oluşturulan “Özek Silil Türev Kütüphanesi”. Madde miktarlarının belirlenmesinde alev iyonlaşma dedektöründen (AİD) elde edilen piklerin yüzde alanları normalizasyon işlemi uygulanmadan kullanılmıştır.

Görsel 3.5

Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi Sistemi



3.10 Sıvı Kromatografisi Analizi (UYBSK)

Thymus ekimii polar ekstresinin fenolik bileşikler açısından kimyasal bileşimi UYBSK tekniği ile incelenmiştir. Bu amaçla kurutulmuş polar ekstresinin 10 mg/mL olarak metanol içinde çözeltisi hazırlanmış ve sıvı kromatografisi analizine tabi tutulmuştur.

Ekstre bileşeninin kantitatif değerlendirmesini gerçekleştirmek için bir ultra yüksek başarılı sıvı kromatografisi (UYBSK) ve kütle spektrometresi ile birleştirilmiş bir tandem sistem (Shimadzu-Nexera) kullanılmıştır. Ters fazlı UYBSK, bir otomatik örnekleyici (SIL-30AC modeli), bir kolon fırını (CTO-10ASvp modeli), ikili pompalar (LC-30AD modeli) ve bir gaz giderici (DGU-20A3R modeli) ile donatılmıştır.

Kromatografik koşullar, numunedeki bileşikler için optimum ayırmayı elde etmek ve baskılama etkilerinin üstesinden gelmek için optimize edilmiştir. Kromatografik ayırım, ters fazlı bir EC-C₁₈ model (150 × 2,1 mm, 2,7 µm) analitik kolonda (Agilent Poroshell 120) gerçekleştirilmiştir. Kolon sıcaklığı 40 °C'ye ayarlanmıştır. Elüsyon gradyanı, hareketli faz A (su + 5 mM amonyum format + %0,1 formik asit) ve hareketli faz B'den (metanol + 5 mM amonyum format + % 0,1 formik asit) oluşturulmuştur. Gradyen elüsyon programı şu şekilde oluşturulmuştur: % 20-100 B (0-25 dk), %100 B (25-35 dk), %20 B (35-45 dk). Ayrıca, çözücü akış hızı ve enjeksiyon hacmi sırasıyla 0,5 mL/dk ve 5 µL olarak uygulanmıştır.

Kütle spektrometrik inceleme, hem negatif hem de pozitif iyonizasyon modlarında çalışan bir elektrosprey iyonizasyon (ESI) kaynağı ile donatılmış bir SKKS-8040 tandem kütle spektrometresi (Shimadzu model) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. SK-ESI-KS/KS verileri LabSolutions yazılımı (Shimadzu) tarafından elde edilmiştir ve işlenmiştir. Fitokimyasalların kantitatif tespiti için çoklu reaksiyon izleme (multiple reaction monitoring, MRM) modu kullanılmıştır. MRM metodu, belirtilen öncül fitokimyasal-parça iyon geçişlerinin taranmasına dayalı olarak fitokimyasal bileşikleri seçici bir şekilde tespit etmek ve niceliksek olarak ölçmek üzere optimize edilmiştir.

Çarpışma enerjileri (collision energies, CE), istenen ürün iyonlarının optimum parçalanmasını ve maksimum iletimini sağlamak için optimize edilmiştir. MS çalışma koşulları şu şekilde uygulanmıştır: kurutma gazı (N₂) akışı, 15 L/dak; nebulizasyon gazı (N₂) akışı, 3 L/dak; DL sıcaklığı, 250°C; ısı bloğu sıcaklığı 400°C ve arayüz sıcaklığı 350°C.

Polar ekstrelerin analizi için yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrisi sıvı kromatografisi (SK-YRKS) tekniği kullanılmıştır. Sıvı kromatografisi analiz şartları şu şekilde uygulanmıştır (Tablo 3.5):

Hareketli Faz A : %1 Formik asit - H₂O

Hareketli Faz B : %1 Formik asit - MeOH

Akış Hızı : 0,35 mL/dk

Hareketsiz faz /Kolon : Troyasil C₁₈ HS- 150 × 3 mm 3.5 µm

Tablo 3.5*SK-YRKS Analizlerinde Uygulanan Mobil Faz Gradyen Programı*

Zaman, dk	Akış hızı, mL/dk	% B
0,00	0,35	50
1,00	0,35	50
3,00	0,35	100
6,00	0,35	100
7,00	0,35	50
15,00	0,35	50

Kütle Spektrometrenin şartları :

Sistem : Thermo ORBITRAP Q-EXACTIVE

İyon Kaynağı : ESI

Kütle Tarama Aralığı : 100-900 *m/z*

Koruyucu gaz oranı : 45

Yardımcı gaz oranı : 10

Sprey voltajı (kV) : 3.80

Kapiler sıcaklığı (°C) : 320

Yardımcı gaz ısıtıcı sıcaklığı (°C): 320

S-lens RF level : 50.0

Tanımlamalar : İLMER Kütüphanesi

3.11 Ultra Başarım Birleşim Kromatografisi (UBBK) Analizi

Bitkinin herba kısımlarında yağda çözünen vitaminlerin (Vit K2, Vit E, Vit E-asetat, Vit A-palmitat ve β -karoten) profili Ultra Başarım Birleşim Kromatografisi (UBBK) ile Foto Diyot Dizisi (FDD) dedektör sistemi kullanılarak araştırılmıştır. Vitamin analizi için Bölüm 3.7’de açıklanmış yöntem ile elde edilen ekstre vitamin profili açısından araştırılmıştır.

Bu amaçla, hazırlanan numune ve standartlar MTBE içerisinde uygun derişimlerde çözüldürülmüştür. Standart vitaminlerin dilüsyonları ayrıca kalibrasyon eğrisini oluşturmak üzere MTBE ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Çözeltiler numune yöneticisinde 10° C’de tutulmuş ve analiz için 1 μ L sisteme enjekte edilmiştir. InertSustainSwift C₁₈ (100 mm $\times$ 3 mm $\times$ 1.9 μ m) kolon sıcaklığı 30°C’de tutulmuştur. Geri basınç 2500 psi’a ayarlanmıştır. Mobil faz olarak süperkritik akışkan CO₂ (A) -

Asetonitril (B) 1 mL/dk akış hızında kullanılmıştır. Analiz çalışmasında uygulanan gradyen program Tablo 3.6’da açıklanmıştır.

Tablo 3.6

UBBK-FDD Sistemi ile Vitamin Analizi Gradyen Programı

Süre, dk	CO ₂ (A), %	Asetonitril (B), %
0,00	98	2
2,00	98	2
2,50	80	20
3,50	80	20
3,75	98	2

3.12 Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.12.1 Antioksidan aktivite testleri

3.12.1.1 Fosfomolibden antioksidan aktivite testi

Fosfomolibden antioksidan aktivite (PMA) testi Prieto ve ark. (1999) tarafından uygulanmış prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Deneyde, 96-kuyucuklu mikrolak kuyucuğuna 25 µL numune ve 250 µL fosfomolibden reaktifi çözeltileri karıştırılmıştır. Karışım 30 dak inkübasyona tabi tutulmuştur (70°C). Süre sonunda absorbans değerleri 695 nm’de kaydedilmiştir. Standart madde olarak askorbik asit kullanılmıştır.

Reaktifler:

- a) Sülfürik asit çözeltisi: 50 mL 0,6 M,
 - b) Sodyum fosfat çözeltisi: 50 mL 28 mM,
 - c) Amonyum molibdat çözeltisi: 50 mL 4 mM
 - d) Askorbik asit çözeltileri: 0,5- 0,01 mg/mL aralığında hazırlanmıştır.
- Çözeltiler saf saf su (Arium pro VF, Sartorius Stedim Biotech) içinde hazırlanmıştır.

3.12.1.2. Gümüş NanoParçacık Antioksidan Kapasite testi (SNPAC)

Başlangıç gümüş nanopartiküller (SNP'ler), SNP yüzeyine kaplanmış trisodyum sitratın bir stabilizatör olarak kullanılan kimyasal indirgeme yöntemi ile hazırlanmıştır. Bu yöntemde, 50,0 mL 1,0 mM AgNO₃ çözeltisi 10 dk boyunca kaynama noktasına kadar ısıtılmıştır. Çözeltiye 5,0 mL % 1,0'lik trisodyum sitrat damla damla ilave edilmiştir.

İşlem sırasında çözelti kuvvetlice karıştırılmıştır. Çözelti, renk değişimi soluk sarı olarak belirginleşene kadar ısıtılmıştır. Bu şekilde hazırlanmış “başlangıç SNP çözeltisi” daha sonra karıştırılarak oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur.

Deneyde, SNPAC test reaksiyon karışımı, 200 ml başlangıç SNP çözeltisi, 40 ml numune (test örnek /standart antioksidan) çözeltisi ve 40 mL saf su içermiştir. Reaksiyon karışımları 25°C'de 30 dk inkübe edilmiştir. Reaksiyon sırasında kolloidal çözeltinin rengi kademeli olarak değişti ve bu da Ag^+ 'nın azaldığını ve çekirdek-kabuk yapısının oluştuğunu göstermiştir.

Reaktif körünün (A_0) absorbansı antioksidanların varlığında artmıştır, absorbans artışı (ΔA) antioksidan konsantrasyonuyla orantılıdır. Antioksidanların neden olduğu absorbans artışı (ΔA), 30 dakikanın sonunda reaktif blankına karşı 423 nm'de kaydedilmiştir. Absorbans artışı test maddelerin SNPAC reaktivitesini yansıtmaktadır. Grafikte absorbans değerleri antioksidan konsantrasyonuna karşı çizilmiştir. Askorbik asit bir standart antioksidan olarak kullanılmıştır. Üç deney sonuçların üzerinden hesaplama sonucunda numunelerin Askorbik Asite Eşdeğer Antioksidan Kapasite değerleri (AEAC, mM) hesaplanmıştır.

Reaktiflerin Hazırlanması:

- a) Gümüş nitrat çözeltisi: 50 mL 1,0 mM,
- b) Trisodyum sitrat çözeltisi: 5,0 mL 1,0 % (w/v),
- c) Askorbik asit çözeltileri: 0,560 - 0,005 mM aralığında hazırlanmıştır

3.12.1.3 Serbest radikal süpürücü etki (DPPH testi)

Thymus ekimii'ye ait uçucu yağ ve ekstrelerin serbest radikal süpürücü etkileri, *in-vitro* koşullarda spektrofotometrik DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. Bu amaçla, taze hazırlanmış 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) çözeltisi kullanılmıştır (Krishnaiah et al., 2011).

Deney sırasında, her bir numuneden (uçucu yağ, ekstre veya standart antioksidan) 100 μ L, 8 kanallı pipet (Eppendorf Plus) yardımıyla 96 kuyucuklu mikropalak kuyucuklarına aktarılmıştır. Ardından her kuyucuğa 100 μ L DPPH çözeltisi ilave edilmiştir. Deneyde, konsantrasyon bağımlı etkinin değerlendirilmesi amacıyla dilüsyon tekniği uygulanmıştır. Standart antioksidan olarak gallik asit (GA) çözeltisi kullanılmıştır.

Hazırlanan karışımlar oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda, 517 nm dalga boyunda mikropalak okuyucu ile absorbans değerleri ölçülmüştür. Numunelerin DPPH radikali süpürücü etkileri yüzde inhibisyon olarak hesaplanmıştır. %50'nin üzerinde inhibisyon gösteren numuneler için IC₅₀ değerleri SigmaPlot yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır.

Reaktiflerin Hazırlanması:

- a) DPPH çözeltisi: 2 mg DPPH tartılarak 25 mL metanol içinde çözölmüş ve karanlık ortamda muhafaza edilmiştir.
- b) Gallik asit çözeltisi: Metanol içinde 0.1 mg/mL derişiminde hazırlanmıştır.

3.12.1.4 Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değerdendirmesi

Elde edilen *T. ekimii* ekstrelerinin Troloks eşdeğer antioksidan kapasiteleri (TEAC), literatürde daha önce rapor edilen yöntem esas alınarak belirlenmiştir (Re et al., 1999). Deney öncesinde ABTS⁺ radikali taze olarak hazırlanmıştır. Bu amaçla, ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazol-6-sülfonik asit)) ve potasyum persülfat, sulu ortamda karıştırılarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 16 saat bekletilmiştir. Süre sonunda oluşan ABTS⁺ çözeltisi, absölü etanol ile seyreltilerek ölçümde kullanılacak aktif çözelti elde edilmiştir.

Deney sırasında, 96 derin kuyucuklu plak üzerindeki her bir kuyucuğa 10 µL numune (uçucu yağ, ekstre veya standart Troloks çözeltisi) ve ardından 990 µL ABTS çözeltisi eklenmiştir. Karışımlar, oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 30 dk inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresi sonunda, 12 kanallı otomatik pipetör (Eppendorf) kullanılarak her kuyucuktan 300 µL alınarak 96 kuyucuklu mikropalakaya aktarılmış ve 734 nm dalga boyunda absorbans değerdleri ölçölmüştür.

Troloks için kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve elde edilen doğrusal denklem (3.1) yardımıyla, numunelerin gösterdiği Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değerdleri hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnh} = [Abs_{kontrol} - Abs_{numune} / Abs_{kontrol}] \times 100 \quad (3.1)$$

Burada, Abs_{kontrol} ve Abs_{numune} kontrol ve numunelerin 734 nm'de ölçölen absorbans değerdleridir.

Reaktiflerin Hazırlanması:

- a) ABTS Reaktifi: 36 mg (7 mM) ABTS ve 6,6 mg (2,5 mM) potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) ayrı ayrı tartılarak 10 mL saf suda çözülmüştür. Elde edilen bu karışımın aktif hale gelebilmesi için oda sıcaklığında, karanlıkta 16 saat bekletilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda, oluşan $ABTS^{+\bullet}$ stok çözeltisinden 1 mL alınarak, spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda absorbans değeri 0.700–0.800 aralığına ulaşana kadar absolü etanol ile seyreltilmiştir.
- b) Troloks çözeltisi: Standart eğri oluşturmak amacıyla Troloks çözeltileri absolü etanol içinde sırasıyla 3,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,25; 0,125 mM derişimlerde hazırlanmıştır.

3.12.2 Antidiabetik aktivite testi

3.12.2.1 α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Analizi

α -Glukozidaz enziminin inhibisyonuna yönelik değerlendirme, Sancheti ve ark. (2010) tarafından bildirilen yöntemle dayanarak, bazı minör modifikasyonlarla beraber uygulanmıştır. Deneysel reaksiyon karışımı aşağıdaki bileşenleri içermiştir: 60 μ L hacminde 0.1 M fosfat tamponu (pH 7.0), 25 μ L miktarında 0.5 mM 4-nitrofenil- α -D-glukopiranozit (substrat), 60 μ L test numunesi (farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış), 25 μ L α -glukozidaz enzim çözeltisi (0.2 U/mL). Hazırlanan bu karışım, 37°C’de 30 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Reaksiyonun durdurulması amacıyla karışıma 100 μ L’lik 0.2 M sodyum karbonat çözeltisi ilave edilmiştir. Enzimatik hidroliz sonucunda açığa çıkan p-nitrofenol miktarı, 410 nm dalga boyunda bir mikropilok okuyucu aracılığıyla ölçülmüştür. Her bir örnek için, numunenin renginden kaynaklanan arka plan absorbansını düzeltmek amacıyla, enzim yerine tampon çözelti içeren bireysel kör (blank) deneyler hazırlanmıştır. Ayrıca kontrol grubu için, numune yerine metanol (% 10 DMSO) kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak ise α -glukozidaz standart inhibitörü olan akarboz kullanılmıştır. Akarbozun farklı konsantrasyonlarına karşılık gene yüzde inhibisyon değerleri kullanılarak kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Kalibrasyon denklemi kullanılarak numunelerin inhibisyon değerleri mg/mL akarboza eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Deneyler üçlü tekrarlarla gerçekleştirilmiş olup, elde edilen veriler aşağıdaki denklem kullanılarak (3.2) enzim inhibisyon yüzdesi hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left[1 - \left(\frac{Abs_{numune}}{Abs_{kontrol}} \right) \right] \times 100 \quad (3.2)$$

Reaktiflerin Hazırlanması:

- a) 4-Nitrofenil- α -D-glukopiranozit: 0.5 mM
- b) α -glukozidaz enzim çözeltisi: 0.2 U/mL
- c) Sodyum karbonat çözeltisi 0.2 M
- d) Akarboz çözeltisi: 1 mg/mL

3.13 Spektrofotometrik Miktar Tayinleri

3.13.1 Toplam fenol miktar tayini

Thymus ekimii ekstrelerindeki toplam fenolik bileşik miktarı, Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak yapılan spektrofotometrik yöntem ile tayin edilmiştir (Singleton et al., 1999). Elde edilen sonuçlar, mg gallik asit eşdeğeri (mg GAE) cinsinden hesaplanmıştır. Deneyde, her bir kuyucuğa sırasıyla: 20 μ L numune (ekstre veya gallik asit standardı), 1560 μ L saf su, 100 μ L Folin-Ciocalteu reaktifi, 300 μ L %7 sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi. 12 kanallı otomatik pipetör (Eppendorf) kullanılarak 96 derin kuyucuklu plak kuyucuklarına aktarılmıştır. Karışım, karanlık ortamda oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda, her kuyucuktan 300 μ L alınarak 96 kuyucuklu mikroparka aktarılmış ve 760 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen absorbans değerlerine göre, gallik asit standard eğrisi üzerinden numunelerin toplam fenol miktarları hesaplanmıştır.

Reaktiflerin Hazırlanması:

- a) Gallik asit çözeltisi: 1 mg/mL derişiminde gallik asit çözeltisi, metanol içerisinde hazırlanmış ve bu stok çözeltiden sırasıyla 0.8, 0.6, 0.4, 0.2 ve 0.1 mg/mL derişimlerinde dilüsyonlar yapılarak standart eğri oluşturulmuştur.
- b) Sodyum karbonat çözeltisi: 20 mg sodyum karbonat, tartılarak 100 mL saf suda çözölmüş ve homojen hale getirilerek analizlerde kullanılmıştır.

3.13.2 Toplam flavonoid miktar tayini

Thymus ekimii ekstrelerindeki toplam flavonoid miktarı, alüminyum klorür (AlCl_3) reaktifi kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile tayin edilmiştir. Sonuçlar, mg kersetin eşdeğeri (mg KE) cinsinden ifade edilmiştir (Koşar et al., 2008).

Analiz sürecinde, her bir kuyucuğa sırasıyla: 80 μL numune (ekstre veya kersetin standartı), 80 μL AlCl_3 çözeltisi, 1840 μL absolü etanol. 12 kanallı otomatik pipetör (Eppendorf) yardımıyla 96 derin kuyucuklu plaka eklenmiştir. Kontrol (blank) numuneleri için AlCl_3 yerine 10 μL %99,8 asetik asit eklenmiştir. Karışımlar iyice homojenize edildikten sonra, karanlık ortamda oda sıcaklığında 40 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda, her karışımdan 300 μL alınarak 96 kuyucuklu mikropłaka aktarılmış ve 415 nm dalga boyunda absorbands ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen absorbands verileri kullanılarak oluşturulan kersetin kalibrasyon eğrisi üzerinden, *T. ekimii* ekstrelerinin toplam flavonoid miktarları hesaplanmıştır.

Reaktiflerin Hazırlanması:

- a) Alüminyum klorür çözeltisi: 2 g AlCl_3 , tartılarak 100 mL distile suda çözülmüştür.
- b) Asetik asit çözeltisi: 15 mL %99,8'lik asetik asit, üzerine distile su eklenerek 100 mL'ye tamamlanmıştır.
- c) Kersetin çözeltisi: 1 mg/mL derişiminde kersetin çözeltisi metanol içinde hazırlanmış, ardından 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 mg/mL konsantrasyonlarına seyreltilerek standart eğri için kullanılmıştır.

4 BULGULAR

4.1 *Thymus ekimii* Bitkisinde Bazı Metabolitlere Yönelik Teşhis Reaksiyonların Sonuçları

T. ekimii bitkisinde bazı metabolitlere yönelik gerçekleştirilen test reaksiyonların sonuçları Tablo 4.1’de açıklanmıştır.

Tablo 4.1

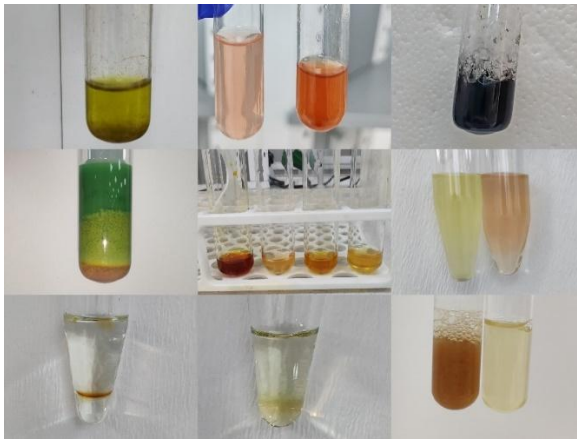
T. ekimi Bitkisine Uygulanan Teşhis Reaksiyonların Sonuçları

Teşhis reaksiyon	Tepkime Sonucu
Shibata reaksiyonu	Pembe renk
FeCl ₃ testi	Mor-esmer yeşil çökelek
Stasny reaktifi ile test	Bej renkli çökelti
Liebermann-Burchard testi	Yeşilimsi renk
Salkowski reaksiyonu	Sarı-kırmızı renk
Molish testi	Mor halka
Fehling tetsi	tuğla kırmızısı renginde çökelek
Bouchardat reaktifi	-
Dragendorf reaktifi	-
Hager reaktifi	-
Mayer Reaktifi	-
Wagner Reaktifi	-

Uygulanan test reaksiyonlarının sonuçları, daha anlaşılır olması amacıyla görsel olarak sunulmuştur

Görsel 4.1

T. ekimi Bitkisine Uygulanan Fitokimyasal Teşhis Reaksiyonların Sonuçları



4.2 Uçucu Yağ Verimi

Distilasyon işlemi sonucunda, sarı renkte ve keskin aromaya sahip uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağ veriminin hesaplanmasında, bitki materyalinin nem oranı daha önceden belirlenmiş olup (Volümetrik yöntemle), bu değer dikkate alınarak verim hesaplamaları gerçekleştirilmiştir.

4.3 Ekstrelerin Verimi

T. ekimi bitkisine ait ekstreler kurutularak sabit ağırlığa ulaştırılmış ve elde edilen ekstre verimleri tablo 4.2 'de ayrıntılı şekilde sunulmuştur.

Tablo 4.2

T. ekimii Bitkisinden Elde Edilen Ekstreler ve Verim Bilgileri

Kod	Ekstre tipi	Verim, %
THL	<i>T. ekimii</i> herba lipofilik ekstre	3,50
THP	<i>T. ekimii</i> herba polar ekstre	22,40
TRL	<i>T. ekimii</i> radix lipofilik ekstre	1,80
TRP	<i>T. ekimii</i> radix polar ekstre	4,20
THY	<i>T. ekimii</i> herba uçucu yağı	0,32
T-FAME	<i>T. ekimii</i> herba sabit yağ asitleri metil esterleri	-
T-VİT	<i>T. ekimii</i> herba lipofilik vitamin ekstresi	-

4.4 *Thymus ekimii* Uçucu Yağ Gaz Kromatografisi Analiz Sonuçları

Elde edilen uçucu yağın analizi, gaz kromatografisi (GK) yöntemi kullanılarak, Innovax Polar kolon ile gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen bileşiklerin sıralaması, RRI (Relative Retention Index) değerlerine göre yapılmış ve her bir bileşiğin yüzdesi, AİD dedektörü ile elde edilen sinyallere dayanarak hesaplanmıştır (Tablo 4.3). Uçucu yağ içerisindeki bileşiklerin kromatografik ayrımı Şekil 4.1'de görsel olarak sunulmuştur. Ayrıca, tespit edilen bileşikler kimyasal gruplarına göre sınıflandırılmış ve bu sınıflandırmanın detayları Tablo 4.4'de bileşik gruplarının dağılımı şeklinde gösterilmiştir.

Tablo 4.3*T. ekimi Uçucu Yağ Kimyasal Bileşimi*

No	RRI	Bileşik	%	Bileşik Sınıfı
1	1014	Trisiklen	e	Monoterpen hidrokarbon
2	1032	α -Pinen	0,6	Monoterpen hidrokarbon
3	1035	α -Tujon	0,7	Monoterpen hidrokarbon
4	1076	Kamfen	0,9	Monoterpen hidrokarbon
5	1118	β -Pinen	0,1	Monoterpen hidrokarbon
6	1132	Sabinen	e	Monoterpen hidrokarbon
7	1159	δ -3-Karen	0,1	Monoterpen hidrokarbon
8	1174	Mirsen	1,0	Monoterpen hidrokarbon
9	1176	α -Fellandren	0,1	Monoterpen hidrokarbon
10	1188	α -Terpinen	0,6	Monoterpen hidrokarbon
11	1203	Limonen	0,2	Monoterpen hidrokarbon
12	1213	1,8-Sineol	0,2	Monoterpen hidrokarbon
13	1218	β -Fellandren	0,2	Monoterpen hidrokarbon
14	1221	<i>o</i> -Metiletil benzen	e	Monoterpen hidrokarbon
15	1255	γ -Terpinen	2,2	Monoterpen hidrokarbon
16	1266	(<i>E</i>)- β -Osimen	e	Monoterpen hidrokarbon
17	1266	3-Oktanon	e	Alifatik keton
18	1280	<i>p</i> -Simen	3,3	Monoterpen hidrokarbon
19	1290	Terpinolen	0,1	Monoterpen hidrokarbon
20	1295	<i>p</i> -Metiletil benzen	e	Benzen türevi
21	1367	3-Nonanon	e	Alifatik keton
22	1391	(<i>Z</i>)-3-Hekzenol	e	Yağ alkolü
23	1393	3-Oktanol	e	Yağ alkolü
24	1452	α - <i>p</i> -Dimetilstiren	e	Monoterpen hidrokarbon
25	1452	1-Okten-3-ol	0,1	Yağ alkolü
26	1474	<i>trans</i> -Sabinen hidrat	0,8	Oksijenli monoterpen
27	1496	3-Nonanol	e	Yağ alkolü
28	1497	α -Kopaen	e	Seskiterpen hidrokarbon
29	1528	α -Burbonen	e	Seskiterpen hidrokarbon
30	1532	Kafur	0,1	Oksijenli monoterpen
31	1553	Linalol	0,1	Oksijenli monoterpen
32	1554	1-Nonen-3-ol	0,1	Yağ alkolü
33	1556	<i>cis</i> -Sabinen hidrat	0,3	Oksijenli monoterpen
34	1571	<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	e	Oksijenli monoterpen
35	1589	β -Ylangen	e	Seskiterpen hidrokarbon
36	1590	Bornil asetat	0,1	Oksijenli monoterpen
37	1611	Terpinen-4-ol	1,1	Oksijenli monoterpen
38	1612	β -Karyofillen	1,2	Seskiterpen hidrokarbon

[Tablo 4.3 (Devam) *T. ekimi Uçucu Yağ Kimyasal Bileşimi*]

No	RRI	Bileşik	%	Bileşik Sınıfı
39	1624	<i>trans</i> -Dihidrokarvon	0,1	Oksijenli monoterpen
40	1638	<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	e	Oksijenli monoterpen
41	1645	<i>cis</i> -İzodihidrokarvon	e	Oksijenli monoterpen
42	1664	Nonanol	e	Yağ alkolü
43	1670	<i>trans</i> -Pinokarveol	e	Oksijenli monoterpen
44	1679	İpsdienol	e	Oksijenli monoterpen
45	1683	<i>trans</i> -Verbenol	0,1	Oksijenli monoterpen
46	1687	α -Humulen	0,1	Seskiterpen hidrokarbon
47	1704	γ -Muurolen	0,1	Seskiterpen hidrokarbon
48	1719	Borneol	3,3	Oksijenli monoterpen
49	1726	Germakren D	e	Seskiterpen hidrokarbon
50	1737	Karvenon	e	Oksijenli monoterpen
51	1741	β -Bisabolen	0,9	Seskiterpen hidrokarbon
52	1751	Karvon	e	Oksijenli monoterpen
53	1773	δ -Kadinen	0,1	Seskiterpen hidrokarbon
54	1776	γ -Kadinen	0,1	Oksijenli monoterpen
55	1783	β -Seskifellandren	e	Seskiterpen hidrokarbon
56	1798	Metil salisilat	e	Seskiterpen hidrokarbon
57	1853	<i>cis</i> -Kalamenen	e	Seskiterpen hidrokarbon
58	1867	Timol asetat	0,8	Monoterpen ester
59	1890	Karvakril asetat	0,1	Seskiterpen hidrokarbon
60	1900	<i>epi</i> -Kubebol	e	Oksijenli seskiterpen
61	1925	Mirsen-8-ol	e	Oksijenli monoterpen
62	1957	Kubebol	e	Oksijenli seskiterpen
63	2001	İzokaryofillen oksit	e	Oksijenli seskiterpen
64	2008	Karyofillen oksit	0,1	Oksijenli seskiterpen
65	2008	8,9-Dehidrotimol	0,1	Oksijenli seskiterpen
66	2081	1,10-di- <i>epi</i> -Kubenol	e	Oksijenli seskiterpen
67	2096	Elemol	e	Oksijenli seskiterpen
68	2113	Kumin alkol	e	Oksijenli monoterpen
69	2187	T-kadinol	e	Oksijenli seskiterpen
70	2198	Timol	75	Oksijenli seskiterpen
71	2221	İzokarvakrol	0,1	Oksijenli monoterpen
72	2239	Karvakrol	3,9	Oksijenli monoterpen
73	2250	α -Ödesmol	0,1	Oksijenli seskiterpen
74	2257	β -Ödesmol	e	Oksijenli seskiterpen
75	2324	Karyofilladienol II	e	Oksijenli seskiterpen
76	2622	Fitol	e	Diterpen

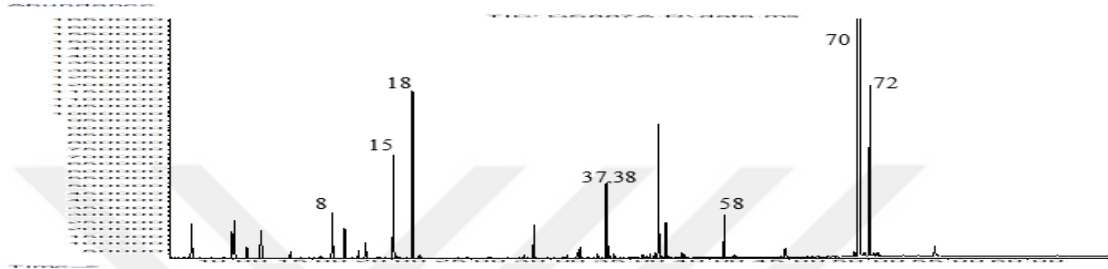
[Tablo 4.3 (Devam) *T. ekimi* Uçucu Yağ Kimyasal Bileşimi]

No	RRI	Bileşik	%	Bileşik Sınıfı
77	2900	Nonakosan	e	Alkan
78	2931	Hekzadekanoik asit	0,1	Yağ asidi
Toplam			99,3	

e: eser miktar

Şekil 4.1

T. ekimii Uçucu Yağ Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı



Tablo 4.4

T. ekimii Uçucu Yağındaki Bileşiklerin Sınıf Dağılımı

Bileşik Sayısı	Bileşik Sınıfı	%
18	Monoterpen hidrokarbonlar	10,3
24	Oksijenli monoterpenler	86,0
12	Seskiterpen hidrokarbonlar	2,5
10	Oksijenli seskiterpenler	0,2
1	Yağ asitleri	0,1
1	Diterpenler	eser
6	Yağ alkolleri	0,2
1	Esterler	0,1
5	Diğerleri	0,1

Elde edilen *T. ekimii* polar ve apolar ekstrelerin kimyasal kompozisyonları gaz kromatografik teknikle incelemek üzere sililleme işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen silil türevleri uygun derişimde GK-AİD/MS sistemine enjekte edilmiştir. Ekstrelerdeki bileşiklerin kromatografik ayırımı apolar HP-5 kolonda gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.5, Tablo 4.6 ve Tablo 4.7’de ekstrelerde tespit edilen bileşikler kolondan çıkış sırasına göre listelenmiştir. Tabloda bileşiklerin RRI değerleri ve yüzde değerleri belirtilmiştir. Yüzde değerleri AİD dedektörü ile elde edilen sinyallere dayanarak saptanmıştır.

Tablo 4.5*T. ekimii Topraküsütü Apolar Ekstresi Sililleme Sonucu*

No	RRI	Bileşik	%	Bileşik Sınıfı
1	1316	Timol - TMS	26,8	Oksijenli monoterpen
2	1843	Neofitadien	0,4	Seskiterpen
3	2700	Heptakosan	0,7	Alkan
4	2800	Oktakosan	0,5	Alkan
5	2828	10-Demetilskualen*	2,0	Triterpenoit
6	2900	Nonakosan	16,8	Alkan
7	3000	Triakontan	1,3	Alkan
8	3100	Hentriakontan	9,7	Alkan
9	3159	α -Tokoferol - TMS	4,7	Vitamin
10	3200	Dotriakontan	0,9	Alkan
11	3275	Kampesterol - TMS	1,0	Fitosterol
12	3300	Tritriakontan	6,0	Alkan
13	3368	β -Sitosterol - TMS	11,6	Fitosterol
14	3602	Oleanolik asit - 2TMS	13,5	Triterpenoit
Toplam			95,9	
Bileşik Sayısı	Bileşik Sınıfı		%	
1	Monoterpenler		26,8	
1	Seskiterpenler		0,4	
2	Fitosteroller		35,9	
7	Alkanlar		27,2	
1	Yağda çözünen vitaminler		4,7	
2	Triterpenoitler		15,5	

* Wiley-NIST spektrum benzerliği

Tablo 4.6*T. ekimii Topraküsütü Polar Ekstresi Sililleme Sonucu*

No	RRI	Bileşik	%	Bileşik Sınıfı
1	1316	Timol-TMS	0,5	Monoterpenoit
2	1506	Malik asit-3TMS	1,6	β -Hidroksi asitleri
3	1843	α -Fruktofuranoz - 5TMS (izomer 1)	2,8	Karbohidrat
4	1852	β -D-Fruktofuranoz - 5TMS (izomer 2)	0,5	Karbohidrat
5	1898	Kuinik asit - 5TMS	5,9	Sikloheksankarboksilik asit

[**Tablo 4.6** (Devam) *T. ekimii* Topraküsütü Polar Ekstresi Sililleme Sonucu]

No	RRI	Bileşik	%	Bileşik Sınıfı
6	1929	α -Glukopiranoz - 5TMS	4,3	Karbohidrat
7	1939	β -Galaktopiranoz - 5TMS	0,3	Karbohidrat
8	1971	Mannitol - 6 TMS	0,4	Karbohidrat
9	2023	β -Glukopiranoz - 5TMS	6,8	Karbohidrat
10	2113	Metoksisikloheksan pentol - 5TMS (<i>izomer 3</i>)	0,3	Karbohidrat
11	2127	<i>myo</i> -İnositol - 6TMS	5,9	Karbohidrat
12	2151	(<i>E</i>)-Kafeik asit - 3TMS	0,8	Fenolik asit
13	2714	Sukroz - 8TMS	26,3	Karbohidrat
14	2817	Trehaloz - 8TMS	0,6	Karbohidrat
15	2948	İzomaltoz - 8TMS (<i>izomer 1</i>)	0,8	Karbohidrat
16	3383	Rafinoz – 11TMS	7,3	Karbohidrat
17	3469	Rozmarinik asit - 5TMS	5,0	Fenolik asit
18	3602	Oleanolik asit - 2TMS	6,3	Triterpenoit
19	3643	Triterpenik asit - TMS türevi	4,1	Triterpenoit
Toplam			69,6	
Bileşik Sayısı	Bileşik Sınıfı		%	
1	Monoterpenoitler		0,5	
2	Karbokslik asitler		7,5	
12	Karbohidratlar		56,3	
2	Fenolik asitler		5,8	
2	Triterpenoitler		10,4	

Tablo 4.7

T. ekimii Kök Apolar Ekstresi Sililleme Sonucu

No	RRI	Bileşik	%	Bileşik Sınıfı
1	1316	Timol - TMS	1,2	Monoterpen
2	2646	Dokosanoik (=Behenik) asit-TMS	1,5	Yağ asitleri
3	2900	Nonakosan	2,0	Alkan
4	2953	1-Hekzakosanol (=Seril alkol) - TMS	0,4	Yağlı alkol
5	3100	Hentriakontan	1,4	Alkan
6	3275	Kampesterol - TMS	2,1	Fitosterol
7	3305	Stigmasterol - TMS	2,8	Fitosterol
8	3368	β -Sitosterol - TMS	27,7	Fitosterol
9	3378	Stigmastanol - TMS	5,0	Fitosterol

[Tablo 4.7 (Devam) *T. ekimii* Kök Apolar Ekstresi Sililleme Sonucu]

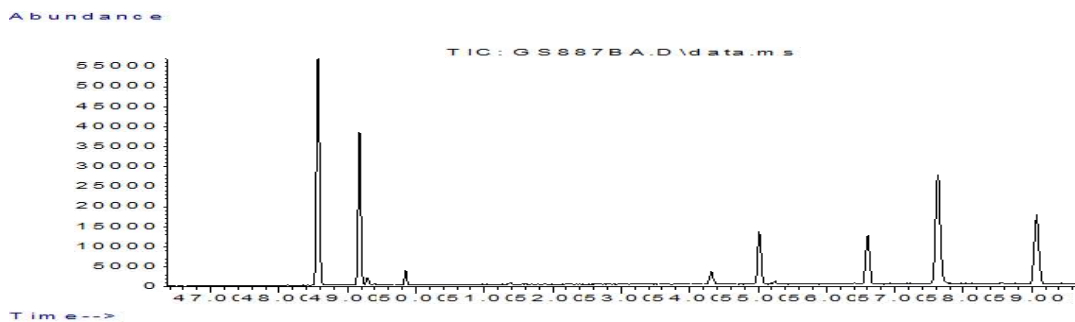
No	RRI	Bileşik	%	Bileşik Sınıfı
10	3378	Lanosterol - TMS	6,5	Fitosterol
11	3431	Sikloartenol - TMS	6,5	Fitosterol
12	3469	Sitostenon	3,2	Fitosterol
13	3602	Oleanolik asit - 2TMS	1,5	Triterpenoit
14	3624	Ursadienoik asit TMS türevi	5,9	Triterpenoit
15	3647	Ursolik asit - 2TMS	7,7	Triterpenoit
16	3680	Betulonik asit - 2TMS	7,2	Triterpenoit
Toplam			82,6	
Bileşik Sayısı	Bileşik Sınıfı		%	
1	Monoterpenler		1,2	
1	Yağ asitleri		1,5	
2	Alkanlar		3,4	
1	Yağ alkoller		0,4	
7	Fitosteroller		53,8	
4	Triterpenoitler		22,3	

4.5 Sabit Yağ Analiz Sonuçları

T. ekimii herbasında elde edilen sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu gaz kromatografik teknikle incelenmek üzere metilleme işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen metil esterleri uygun derişimde GK-AİD/MS sistemine enjekte edilmiştir. Ekstrelerdeki bileşiklerin kromatografik ayırımı polar Innowax kolonda gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.8’de tespit edilen sabit yağ asitleri metil esterleri kolondan çıkış sırasına göre listelenmiştir. Tabloda bileşiklerin RRI değerleri ve yüzde değerleri belirtilmiştir. Yüzde değerleri AİD dedektörü ile elde edilen sinyallere dayanarak saptanmıştır. Şekil 4.2’de sabit yağ asit esterlerin kromatografik ayırımı gösterilmiştir.

Şekil 4.2

T. ekimii Sabit Yağ Asitlerinin Kromatografik Ayırımı



Tablo 4.8*T. ekimii* Sabit Yağ Asitleri Kimyasal Kompozisyonu

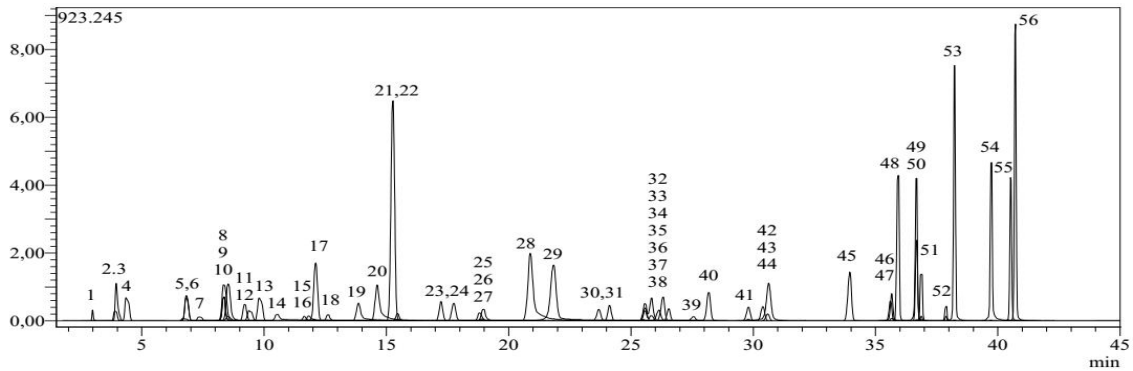
No	RRI	Bileşik	%
1	2223	Hekzadekanoik asit metil ester [=Metil palmitat]; (16:0)	11,9
2	2247	Metil pentadesenoat	2,1
3	2436	Metil stearat [= Metil oktadekanoat]; (18:0)	3,9
4	2468	Metil oleat [= Metil-(Z)-9-Oktadesenoat]; (18:1); ω-9	13,3
5	2469	Metil elaidat [= Metil-(E)-9-Oktadesenoat]; (18:1); ω-9	2,2
6	2509	Metil linoleat [= (Z,Z)-9,12-Metil oktadekadienoat]; (18:2); ω-6	13,8
7	2542	Metil nonadekanoat; (19:0)	29,6
8	2572	Metil linolenat [= Metil-(Z,Z,Z)-9,12,15-Oktadekatrienoat, α-Linolenik asit metil ester]; (18:3); ω-3	23,2
Toplam			100,0

4.6 *T. ekimii* Polar Ekstrenin Sıvı Kromatografisi Analiz Sonuçları

T. ekimii herbası polar ekstresi sıvı kromatografisi teknik ile fenolik bileşiklerin taraması gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, kuru ekstre metanolde uygun derişimde çözülerek HR-UBSK-KS sistemine enjekte edilmiştir. Bileşikler kütle spektrumları ve geliş yerleri standart fenolik bileşikler ile karşılaştırılarak teşhis edilmiştir. Standart fenoliklerin kalibrasyon eğrileri kullanılarak numunedeki bileşiklerin miktar tayini gerçekleştirilmiştir. Elli altı adet fenolik asit ve flavonoit standart bileşiklerin kromatografik ayırımı Şekil 4.3’de sunulmuştur. Tablo 4.9’de tespit edilen fenolik bileşikler kolondan çıkış sırasına göre listelenmiştir. Bileşik miktar değerleri mg/g_{extr} olarak saptanmıştır. SK-KS/KS yöntemine ait analitik yöntem doğrulama parametreleri Tablo 4.10’da verilmiştir.

Şekil 4.3

Standart Fenolik Bileşiklerin Kromatografik Ayırımı



Tablo 4.9*T. ekimii Polar Ekstresinin Fenolik Bileşiklerinin Kimyasal Bileşimi*

No	Bileşik	mg/g _{extr}
1	Kuinitik asit	33,876
2	Fumarik asit	0,831
3	Akonitik asit	T.E.
4	Gallik asit	T.E.
5	Epigallokateşin	T.E.
6	Protokateşik asit	1,316
7	Kateşin	T.E.
8	Gentisik asit	0,243
9	Klorojenik asit	1,765
10	Protokateşik aldehit	1,460
11	Tannik asit	0,043
12	Epigallokateşin gallat	T.E.
13	Sinarin	T.E.
14	4-OH Benzoik asit	T.E.
15	Epikateşin	T.E.
16	Vanilik asit	8,344
17	Kafeik asit	2,712
18	Sirinjik asit	T.E.
19	Vanilin	0,096
20	Sirinjik aldehit	T.E.
21	Daidzin	T.E.
22	Epikateşin gallat	T.E.
23	Piseid	T.E.
24	<i>p</i> -Kumarik asit	0,119
25	Ferulik asit-D3-IS ^h	N.A.
26	Ferulik asit	0,430
27	Sinapik asit	1,171
28	Kumarin	T.E.
29	Salisilik asit	0,273
30	Sinarozit	18,293
31	Mikelianin	T.E.
32	Rutin-D3-IS	İ.S.

[**Tablo 4.9** (Devam) *T. ekimii Polar Ekstresinin Fenolik Bileşiklerinin Kimyasal Bileşimi*]

No	Bileşik	mg/g _{extr}
33	Rutin	1,062
34	İzokersitrin	0,978
35	Hesperidin	0,489
36	<i>o</i> -Kumarik asit	T.E.
37	Genistin	T.E.
38	Rozmarinik asit	19,299
39	Elajik asit	T.E.
40	Kosmosiin	4,083
41	Kersitrin	1,205
42	Astragalin	0,096
43	Nikotiflorin	0,102
44	Fisetin	T.E.
45	Daidzein	T.E.
46	Kersetin-D3-IS	İ.S.
47	Kersetin	0,021
48	Naringenin	3,645
49	Hesperetin	T.E.
50	Luteolin	4,672
51	Genistein	T.E.
52	Kemferol	0,007
53	Apigenin	0,568
54	Amentoflavon	T.E.
55	Krisin	0,003
56	Akasetin	T.E.
T.E.: Tespit edilemedi; İ.S.: İç standart		

Tablo 4.10

SK-KS/KS Yöntemine Ait Analitik Yöntem Doğrulama Parametreleri

No	Analitler	RT ^a	M _i L _i (m/z) ^b	F _i L _i (m/z) ^c	Ion, mode	Eşitlik	r ^{2d}	RSD% ^e		Lineerlik aralığı (mg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^f	Geri kazanım (%)		U ^g	Gr. No ⁱ
								Interday	Intraday			Interday	Intraday		
1	Kuininik asit	3,0	190,8	93,0	Neg	y=-0,0129989+2,97989 x	0,996	0,69	0,51	0,1-5	25,7/33,3	1,0011	1.0083	0.0372	1
2	Fumarik asit	3,9	115,2	40,9	Neg	y=-0,0817862+1,03467 x	0,995	1,05	1,02	1-50	135,7/167,9	0,9963	1.0016	0.0091	1
3	Asonitik asit	4,0	172,8	129,0	Neg	y=-0,7014530+32,9994 x	0,971	2,07	0,93	0,1-5	16,4/31,4	0,9968	1.0068	0.0247	1
4	Gallik asit	4,4	168,8	79,0	Neg	y=0,0547697+20,8152 x	0,999	1,60	0,81	0,1-5	13,2/17,0	1,0010	0.9947	0.0112	1
5	Epigallokateşin	6,7	304,8	219,0	Neg	y=-0,00494986+0,0483704 x	0,998	1,22	0,73	1-50	237,5/265,9	0,9969	1.0040	0.0184	3
6	Protokateşik asit	6,8	152,8	108,0	Neg	y=0,211373+12,8622 x	0,957	1,43	0,76	0,1-5	21,9/38,6	0,9972	1.0055	0.0350	1
7	Kateşin	7,4	288,8	203,1	Neg	y=-0,00370053+0,431369 x	0,999	2,14	1,08	0,2-10	55,0/78,0	1,0024	1.0045	0.0221	3
8	Gentisik asit	8,3	152,8	109,0	Neg	y=-0,0238983+12,1494 x	0,997	1,81	1,22	0,1-5	18,5/28,2	0,9963	1.0077	0.0167	1
9	Klorojenik asit	8,4	353,0	85,0	Neg	y=0,289983+36,3926 x	0,995	2,15	1,52	0,1-5	13,1/17,6	1,0000	1.0023	0.0213	1
10	Protokateşik aldehit	8,5	137,2	92,0	Neg	y=0,257085+25,4657 x	0,996	2,08	0,57	0,1-5	15,4/22,2	1,0002	0.9988	0.0396	1
11	Tannik asit	9,2	182,8	78,0	Neg	y=0,0126307+26,9263 x	0,999	2,40	1,16	0,05-2,5	15,3/22,7	0,9970	0.9950	0.0190	1
12	Epigallokateşin gallat	9,4	457,0	305,1	Neg	y=-0,0380744+1,61233 x	0,999	1,30	0,63	0,2-10	61,0/86,0	0,9981	1.0079	0.0147	3
13	1,5-Dikafeilkuininik asit	9,8	515,0	191,0	Neg	y=-0,0164044+16,6535 x	0,999	2,42	1,48	0,1-5	5,8/9,4	0,9983	0.9997	0.0306	1
14	4-OH Benzoik asit	10,5	137,2	65,0	Neg	y=-0,0240747+5,06492 x	0,999	1,24	0,97	0,2-10	68,4/88,1	1,0032	1.0068	0.0237	1
15	Epikateşin	11,6	289,0	203,0	Neg	y=-0,0172078+0,0833424 x	0,996	1,47	0,62	1-50	139,6/161,6	1,0013	1.0012	0.0221	3
16	Vanilik asit	11,8	166,8	108,0	Neg	y=-0,0480183+0,779564 x	0,999	1,92	0,76	1-50	141,9/164,9	1,0022	0.9998	0.0145	1
17	Kafeik asit	12,1	179,0	134,0	Neg	y=0,120319+95,4610 x	0,999	1,11	1,25	0,05-2,5	7,7/9,5	1,0015	1.0042	0.0152	1
18	Sirinjik asit	12,6	196,8	166,9	Neg	y=-0,0458599+0,663948 x	0,998	1,18	1,09	1-50	82,3/104,5	1,0006	1.0072	0.0129	1
19	Vanilin	13,9	153,1	125,0	Poz	y=0,00185898+20,7382 x	0,996	1,10	0,85	0,1-5	24,5/30,4	1,0009	0.9967	0.0122	1

[Tablo 4.10 (Devam) SK-KS/KS Yöntemine Ait Analitik Yöntem Doğrulama Parametreleri]

No	Analitler	RT ^a	ML ₁ (m/z) ^b	F.I. (m/z) ^c	Ion, mode	Eşitlik	r ^{2d}	RSD% ^e		Lineerlik aralığı (mg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^f	Geri kazanım (%)		U ^g	Gr. No ⁱ
								Interday	Intraday			Interday	Intraday		
20	Sirinjik aldehit	14,6	181,0	151,1	Neg	y=-0,0128684+7,90153 x	0,999	2,51	0,77	0,4-20	19,7/28,0	1,0001	0,9964	0,0215	1
21	Daidzin	15,2	417,1	199,0	Poz	y=9,45747+152,338 x	0,996	2,25	1,32	0,05-2,5	7,0/9,5	0,9955	1,0017	0,0202	2
22	Epikateşin gallat	15,5	441,0	289,0	Neg	y=-0,0142216+1,06768 x	0,997	1,63	1,28	0,1-5	19,5/28,5	0,9984	0,9946	0,0229	3
23	Piseit	17,2	391,0	135/106,9	Poz	y=0,00772525+25,4181 x	0,999	1,94	1,16	0,05-2,5	13,8/17,8	1,0042	0,9979	0,0199	1
24	p-Kumarik asit	17,8	163,0	93,0	Neg	y=0,0249034+18,5180 x	0,999	1,92	1,43	0,1-5	25,9/34,9	1,0049	1,0001	0,0194	1
25	Ferulik asit-D3-IS ^h	18,8	196,2	152,1	Neg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	0,0170	1
26	Ferulik asit	18,8	192,8	149,0	Neg	y=-0,0735254+1,34476 x	0,999	1,44	0,53	1-50	11,8/15,6	0,9951	0,9976	0,0181	1
27	Sinapik asit	18,9	222,8	193,0	Neg	y=-0,0929932+0,836324 x	0,999	1,45	0,52	0,2-10	65,2/82,3	1,0031	1,0037	0,0317	1
28	Kumarin	20,9	146,9	103,1	Poz	y=0,0633397+136,508 x	0,999	2,11	1,54	0,05-2,5	214,2/247,3	0,9950	0,9958	0,0383	1
29	Salisilik asit	21,8	137,2	65,0	Neg	y=0,239287+153,659 x	0,999	1,48	1,18	0,05-2,5	6,0/8,3	0,9950	0,9998	0,0158	1
30	Sinarozit	23,7	447,0	284,0	Neg	y=0,280246+6,13360 x	0,997	1,56	1,12	0,05-2,5	12,1/16,0	1,0072	1,0002	0,0366	2
31	Mikelianin	24,1	477,0	150,9	Neg	y=-0,00991585+5,50334 x	0,999	1,31	0,95	0,1-5	10,6/14,7	0,9934	0,9965	0,0220	2
32	Rutin-D3-IS ^h	25,5	612,2	304,1	Neg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	2
33	Rutin	25,6	608,9	301,0	Neg	y=-0,0771907+2,89868 x	0,999	1,38	1,09	0,1-5	15,7/22,7	0,9977	1,0033	0,0247	2
34	İzokersitrin	25,6	463,0	271,0	Neg	y=-0,111120+4,10546 x	0,998	2,13	0,78	0,1-5	8,7/13,5	1,0057	0,9963	0,0220	2
35	Hesperidin	25,8	611,2	449,0	Poz	y=0,139055+13,2785 x	0,999	1,84	1,35	0,1-5	19,0/26,0	0,9967	1,0043	0,0335	2
36	o-Kumarik asit	26,1	162,8	93,0	Neg	y=0,00837193+11,2147 x	0,999	2,11	1,46	0,1-5	31,8/40,4	1,0044	0,9986	0,0147	1
37	Genistin	26,3	431,0	239,0	Neg	y=1,65808+7,57459 x	0,991	2,01	1,28	0,1-5	14,9/21,7	1,0062	1,0047	0,0083	2
38	Rozmarinik asit	26,6	359,0	197,0	Neg	y=-0,0117238+8,04377 x	0,999	1,24	0,86	0,1-5	16,2/21,2	1,0056	1,0002	0,0130	1
39	Elajik asit	27,6	301,0	284,0	Neg	y=0,00877034+0,663741 x	0,999	1,57	1,23	0,4-20	56,9/71,0	1,0005	1,0048	0,0364	1
40	Kosmosiin	28,2	431,0	269,0	Neg	y=-0,708662+8,62498 x	0,998	1,65	1,30	0,1-5	6,3/9,2	0,9940	0,9973	0,0083	2

[Tablo 4.10 (Devam) SK-KS/KS Yöntemine Ait Analitik Yöntem Doğrulama Parametreleri]

No	Analitler	RT ^a	MI, (m/z) ^b	FI, (m/z) ^c	Ion, mode	Eşitlik	r ^{2d}	RSD% ^e		Lineerlik aralığı (mg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^f	Geri kazanım (%)		U ^g	Gr. No ⁱ
								Interday	Intraday			Interday	Intraday		
41	Kersitrin	29,8	447,0	301,0	Neg	y=-0,00153274+3,20368x	0,999	2,24	1,16	0,1-5	4,8/6,4	0,9960	0,9978	0.0268	2
42	Astragalin	30,4	447,0	255,0	Neg	y=0,00825333+3,51189x	0,999	2,08	1,72	0,1-5	6,6/8,2	0,9968	0,9957	0.0114	2
43	Nikotiflorin	30,6	592,9	255,0/284,0	Neg	y=0,00499333+2,62351x	0,999	1,48	1,23	0,05-2,5	11,9/16,7	0,9954	1.0044	0.0108	2
44	Fisetin	30,6	285,0	163,0	Neg	y=0,0365705+8,09472x	0,999	1,75	1,19	0,1-5	10,1/12,7	0,9980	1.0042	0.0231	3
45	Daidzein	34,0	253,0	223,0	Neg	y=-0,0329252+6,23004x	0,999	2,18	1,73	0,1-5	9,8/11,6	0,9926	0,9963	0.0370	3
46	Kersetin-D3-IS ^h	35,6	304,0	275,9	Neg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	3
47	Kersetin	35,7	301,0	272,9	Neg	y=+0,00597342+3,39417x	0,999	1,89	1,38	0,1-5	15,5/19,0	0,9967	0,9971	0.0175	3
48	Naringenin	35,9	270,9	119,0	Neg	y=-0,00393403+14,6424x	0,999	2,34	1,69	0,1-5	2,6/3,9	1,0062	1.0020	0.0392	3
49	Hesperetin	36,7	301,0	136,0/286,0	Neg	y=+0,0442350+6,07160x	0,999	2,47	2,13	0,1-5	7,1/9,1	0,9998	0,9963	0.0321	3
50	Luteolin	36,7	284,8	151,0/175,0	Neg	y=-0,0541723+30,7422x	0,999	1,67	1,28	0,05-2,5	2,6/4,1	0,9952	1.0029	0.0313	3
51	Genistein	36,9	269,0	135,0	Neg	y=-0,00507501+12,1933x	0,999	1,48	1,19	0,05-2,5	3,7/5,3	1,0069	1.0012	0.0337	3
52	Kemferol	37,9	285,0	239,0	Neg	y=-0,00459557+3,13754x	0,999	1,49	1,26	0,05-2,5	10,2/15,4	0,9992	0,9990	0.0212	3
53	Apigenin	38,2	268,8	151,0/149,0	Neg	y=0,119018+34,8730x	0,998	1,17	0,96	0,05-2,5	1,3/2,0	0,9985	1.0003	0.0178	3
54	Amentoflavon	39,7	537,0	417,0	Neg	y=0,727280+33,3658x	0,992	1,35	1,12	0,05-2,5	2,8/5,1	0,9991	1.0044	0.0340	3
55	Krisin	40,5	252,8	145,0/119,0	Neg	y=-0,0777300+18,8873x	0,999	1,46	1,21	0,05-2,5	1,5/2,8	0,9922	1.0050	0.0323	3
56	Akasetin	40,7	283,0	239,0	Neg	y=-0,559818+163,062x	0,997	1,67	1,28	0,02-1	1,5/2,5	0,9949	1.0011	0.0363	3

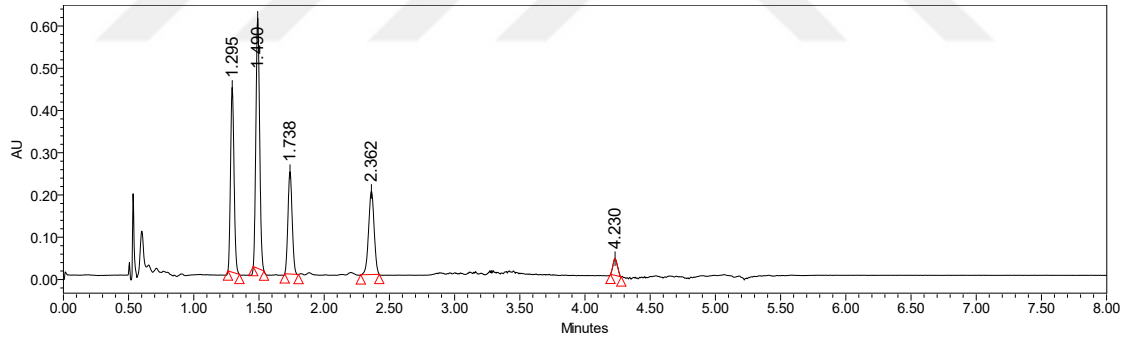
^aR.T.: Alıkonma zamanı, ^bMI (m/z): Analiz edilen standart bileşiklere ait moleküler iyonlar (m/z), ^cFI (m/z): İlgili bileşiklerin parçalanma iyonları, ^dr²: Kalibrasyon eğrisi doğruluğunu ifade eden belirleme katsayısı, ^eRSD: Relatif standart sapma oranı, ^fLOD/LOQ (µg/L): Tespit sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ); analitin güvenilir şekilde algılanabildiği ve kantitatif olarak ölçülebildiği en düşük konsantrasyon düzeyleri, ^gU (%): %95 güven düzeyinde hesaplanan relatif belirsizlik değeri (k = 2), ^hIS: İç standart, ⁱGr. No: İç standartların gruplanmasını ifade eder; her numara, belirli bir fenolik bileşikle eşleşen iç standardı temsil etmektedir, N.A.: İşleme alınmamıştır.

4.7 *T. ekimii* Yağda Çözünen Vitaminlerin Analiz Sonuçları

T. ekimii toprak üstü kısmından yağda çözünen vitamin bileşikleri sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle elde edilerek daha sonra UBBK tekniği ile kimyasal kompozisyonu incelenmiştir. Ekstredeki bileşiklerin UV spektrumları ve geliş yerleri standart vitamin bileşikler ile karşılaştırılarak teşhis edilmiştir. Standart vitamin bileşiklerin kalibrasyon eğrileri kullanılarak numunedeki bileşiklerin miktar tayini gerçekleştirilmiştir. Dört adet vitamin ve bir provitamin (β -karoten) standart bileşiklerin kromatografik ayrımı Şekil 4.4'de sunulmuştur. Standart bileşiklerin farklı konsantrasyonları karşılığında UBBK-FDD dedektör ile elde edilen alan değerleri Tablo 4.11'de verilmiştir. Şekil 4.5'de standart vitaminler için elde edilen kalibrasyon eğrileri, denklemleri ve r^2 değerleri gösterilmiştir. Bileşiklere ait UV spektrumları Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Tablo 4.11'de tespit edilen vitaminler ve miktarları verilmiştir. Bileşik miktar değerleri mg vit/100 mg ekstre olarak saptanmıştır.

Şekil 4.4

Yağda Çözünen Vitamin Bileşiklerin Kromatografik Ayrımı (UBBK-FDD Analizi)



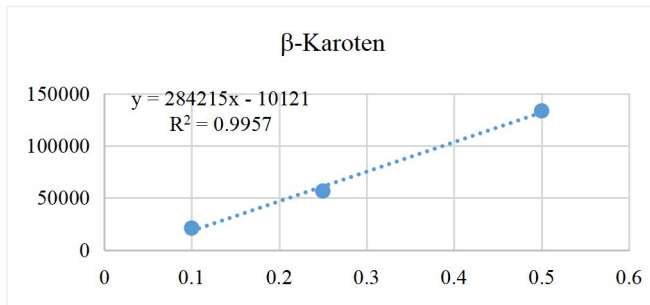
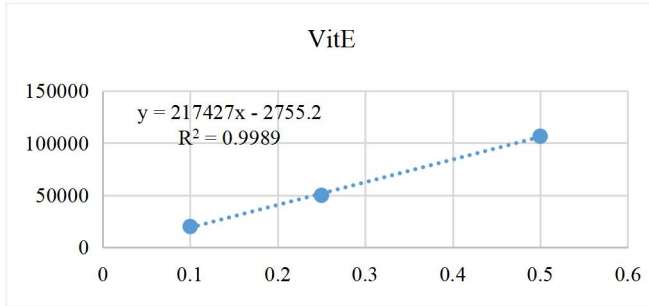
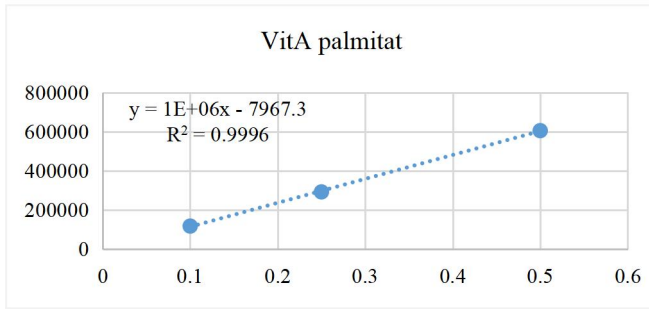
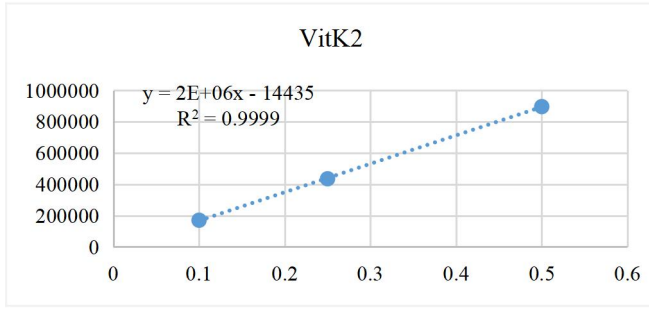
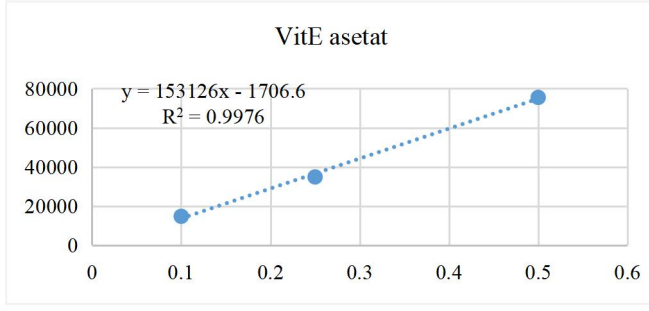
Tablo 4.11

Standart Vitamin Bileşiklerin Alan Değerleri (UBBK-FDD Analizi)

Konsantrasyon, mg/mL	Vit E asetat	Vit K2	E vitamin	Vit A palmitat	β -Karoten
	282 nm	246 nm	294 nm	319 nm	440 nm
	RT 1,30 dk	RT 1,49 dk	RT 1,75 dk	RT 2,37 dk	RT 4,26 dk
	Alan değerleri				
0,10	14694	170424	20034	117706	21000
0,25	34834	435261	49927	292546	56613
0,50	75509	896498	106586	605729	133606

Şekil 4.5

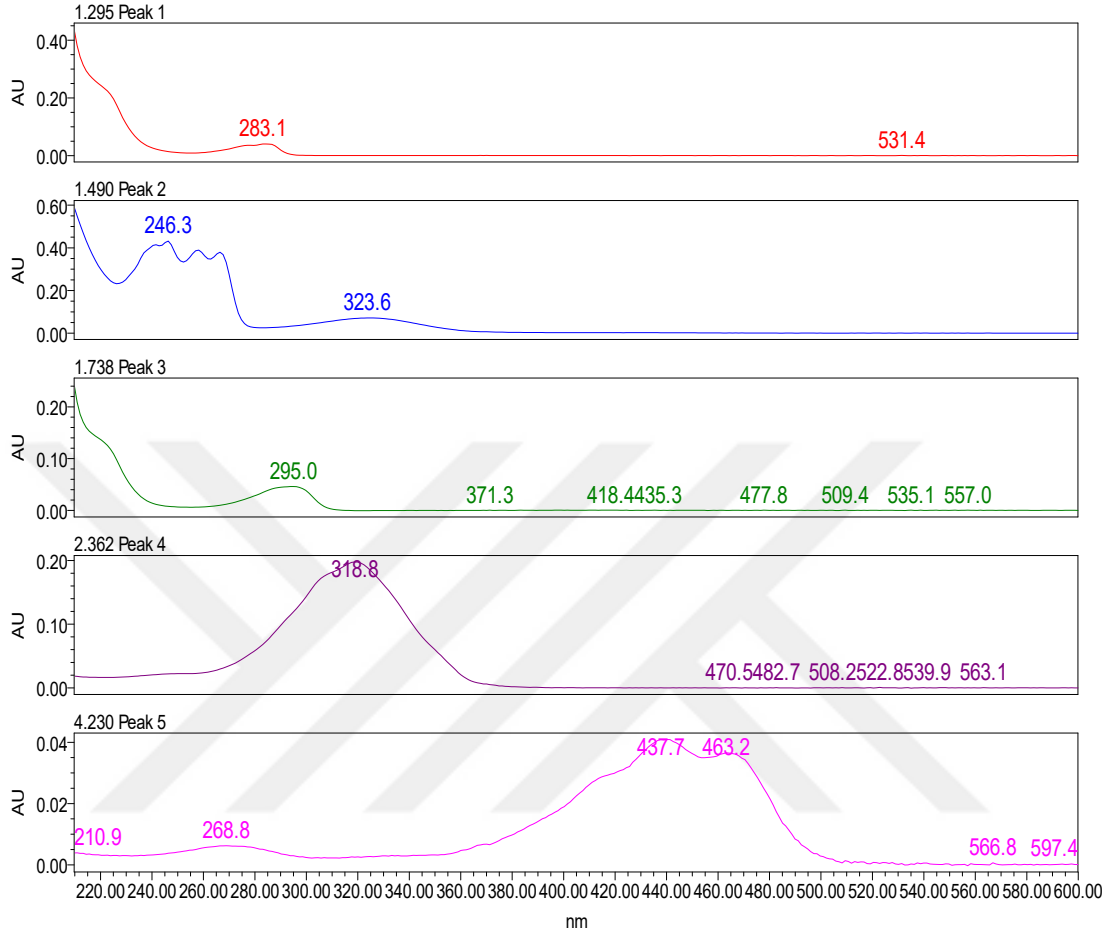




Yağda Çözünen Vitamin Standart Bileşiklerin Kalibrasyon Eğrileri (UBBK -FDD Analizi)

Şekil 4.6

Yağda Çözünen Standart Vitamin Bileşiklerin Spektrumları (UBBK-FDD Analizi)



T. ekimii ekstresindeki vitamin bileşiklerin C18 kolondaki kromatografik ayırımı ve FDD dedektörü ile alınan UV spektrumları Şekil 4.7’de gösterilmiştir. Ekstrede teşhis edilen vitamin bileşiklerin miktarları Tablo 4.12’de açıklanmıştır.

Tablo 4.12

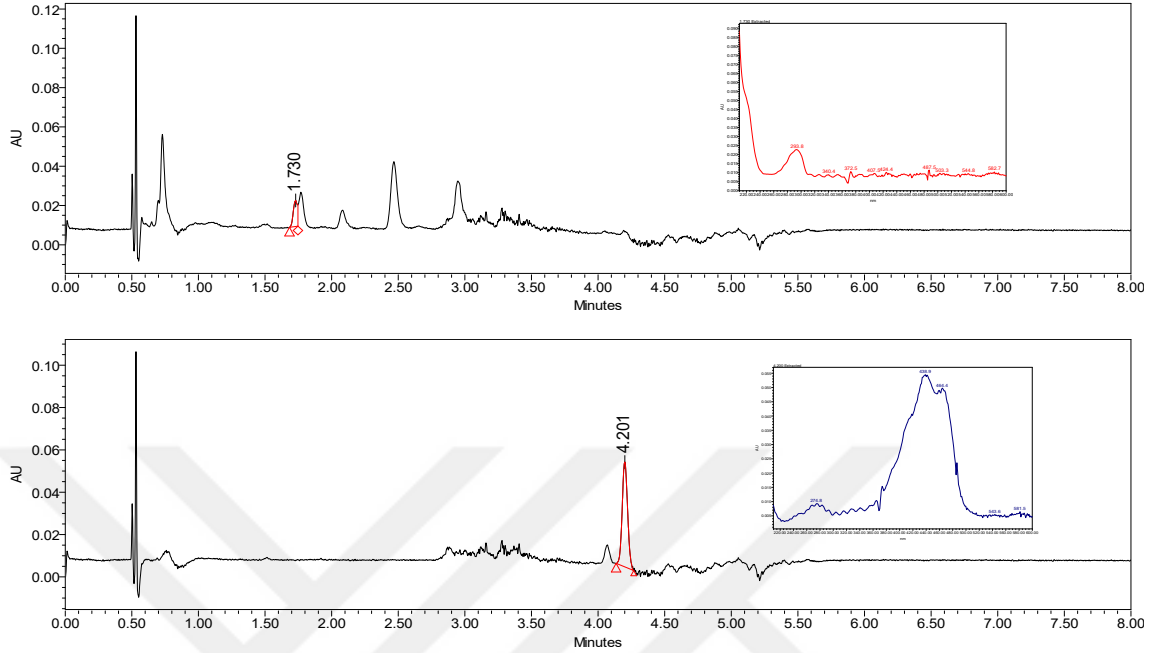
T. ekimii Yağda Çözünen Vitaminlerin UBBK-FDD Analiz Sonuçları

Miktar, mg _{vit} /100 mg _{ekstre}	Vit E asetat	Vit K2	Vitamin E	Vit A palmitat	β-Karoten
<i>T. ekimii</i> ekstresi	T.E.	T.E.	0.97	T.E.	4.64

T.E.: Tespit edilemedi

Şekil 4.7

T. ekimii Toprak Üstü Kısımının UBBK-FDD Analiz Kromatogramı



4.8 Biyolojik aktivite sonuçları

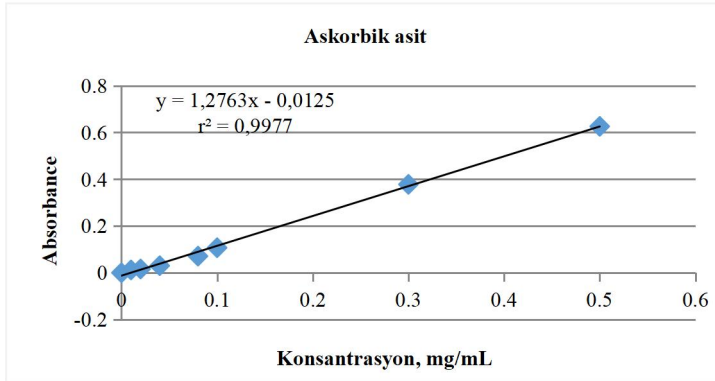
Bu bölümde *T. ekimi* bitkisinden elde edilen uçucu yağ, polar ve apolar ekstratlara uygulanan antioksidan ve antidiabetik aktivite testlerinin sonuçları açıklanmıştır. Numunelerin antioksidan potansiyeli dört farklı model sistemleri şartları altında değerlendirilmiştir: asitli ortamda fosfomolibden reaktifine karşı, zayıf bazik ortamda gümüş nanoparçacıklara karşı, serbest DPPH ve ABTS katyon radikallerine karşı test edilmiştir.

4.8.1 Fosfomolibden Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları

Bu deneyde *T. ekimii* numuneleri asitli ortamda fosfomolibden reaktifi ile tepkimeye girerek antioksidan etki göstermektedir. Değerlendirme sonuçları spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Aktivite değerleri askorbik aside eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon eğrisi 0,01-0,5 mg/mL aralığındaki derişimler üzerinden çizilmiştir (Şekil 4.8). Numunelerin fosfomolibden antioksidan aktivite değerleri denklem ($y = 1,2763 \times X - 0,0125$, $r^2 = 0,9977$) kullanılarak hesaplandı ve milligram ekstre başına askorbik asit eşdeğeri (AAE) olarak ifade edilmiştir (Tablo 4.13).

Şekil 4.8

Askorbik Asidin Kalibrasyon Eğrisi (PMA Testi)



Tablo 4.13

T. ekimii Fosfomolibden Antioksidan Aktivitesi

Kod	Fosfomolibden Antioksidan Aktivite, mg AAE/mL $\pm$ std spm
THL	0,110 $\pm$ 0,016
THP	0,109 $\pm$ 0,010
TRL	0,088 $\pm$ 0,010
TRP	0,122 $\pm$ 0,010
THY	0,054 $\pm$ 0,000

AAE: askorbik aside eşdeğer

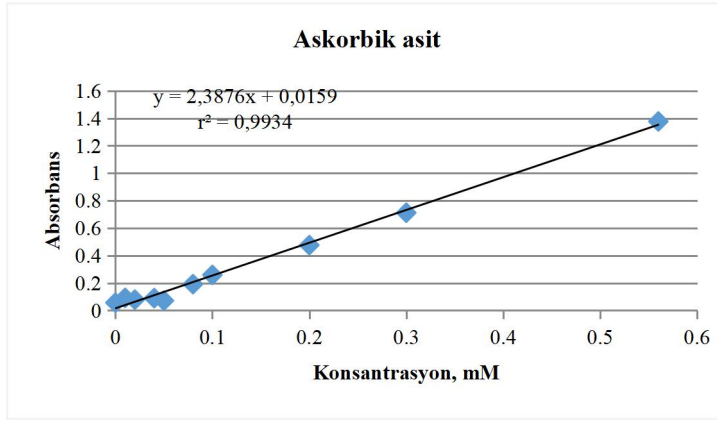
4.8.2 Gümüş NanoParçacıklar Antioksidan Kapasite Tayini Sonuçları

Bu deneyde *T. ekimii* numuneleri hafif alkali ortamda Ag nanopartiküllerle tepkimeye girerek Ag⁺ iyonlarını redükler ve karşılığında antioksidan bileşikler oksitlenmektedir.

Değerlendirme sonuçları spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Aktivite değerleri askorbik aside eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon eğrisi askorbik asidin 0,0-0,6 mM aralığındaki derişimler üzerinden çizilmiştir (Şekil 4.9). Numunelerin antioksidan aktivite değerleri denklem ($y=2,3876 \times X - 0,0159$, $r^2 = 0,9934$) kullanılarak hesaplanmış ve mM askorbik asit eşdeğeri (AAE) olarak ifade edilmiştir (Tablo 4.14).

Şekil 4.9

Askorbik Asidin Kalibrasyon Eğrisi



Tablo 4.14

Thymus ekimii Gümüş NanoParçacıklar Antioksidan Aktivitesi

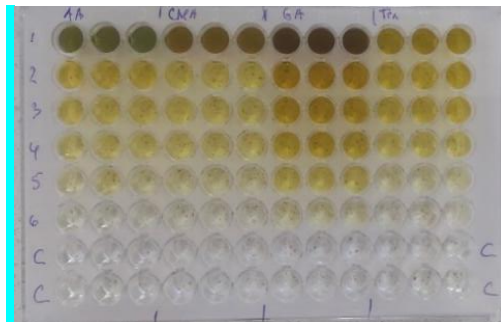
Kod	SNAP, mg AAE/mL ±std spm
THL	0,069±0,006
THP	0,665±0,018
TRL	NA
TRP	0,561±0,010
THY	0,018±0,000

AAE: askorbik aside eşdeğer

Mikroplaka kuyucuklarındaki renk değişimi test edilen numunelerin redükleyici etkisini göstermektedir (Görsel 4.2).

Görsel 4.2

Gümüş Nanoparçacıkların ve Test Numunelerin Renk Değişimi



4.8.3 Serbest Radikal Süpürücü Etki Sonuçları (DPPH testi)

T. ekimii numunelerinin serbest DPPH radikallerine karşı radikal süpürücü etkileri spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Deney sonuçları gallik asitin aktivitesi ile karşılaştırılmıştır. Aktivite sonuçları IC₅₀ mg/mL olarak saptanmıştır (Tablo 4.15)

Tablo 4.15

T. ekimii Serbest DPPH Radikallerine Karşı Radikal Süpürücü Etkisi

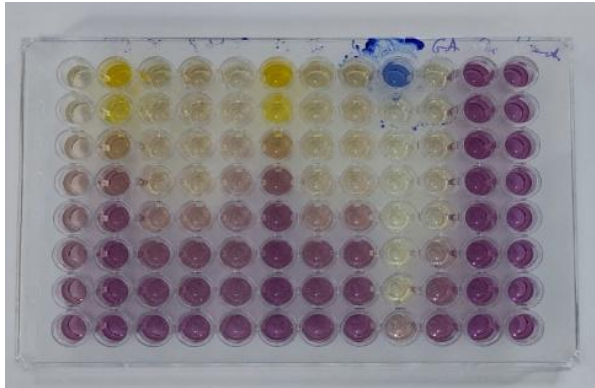
Kod	DPPH, IC ₅₀ , mg/mL $\pm$ std spm
THL	1,53 $\pm$ 0,04
THP	0,047 $\pm$ 0,000
TRL	NA
TRP	0,054 $\pm$ 0,000
THY	0,695 $\pm$ 0,000
GA	0,002 $\pm$ 0,000

GA: Gallik asit

Mikroplaka kuyucuklarındaki renk değişimi test edilen numunelerin radikal süpürücü etkisini göstermektedir (Görsel 4.3).

Görsel 4.3

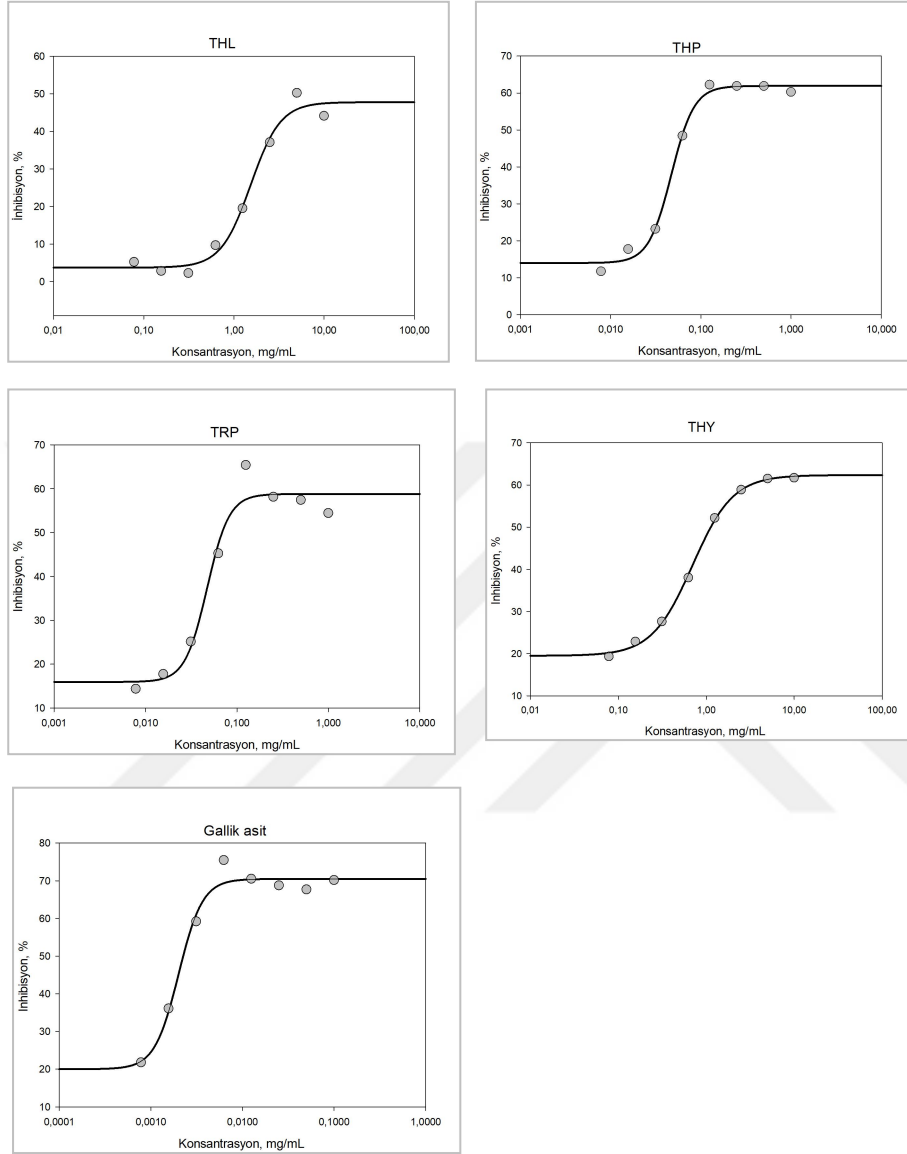
T. ekimii Uçucu Yağ ve Ekstrelerinin DPPH Serbest Radikal Süpürücü Etkisi



Numunelerin IC₅₀ değerleri yüzde inhibisyon verileri kullanılarak Sigma Plot programı ile hesaplanmıştır (Şekil 4.10).

Şekil 4.10

T. ekimii Ekstreler Ve Uçucu Yağ İçin Elde İnhibisyon Eğrileri (DPPH tetisi)

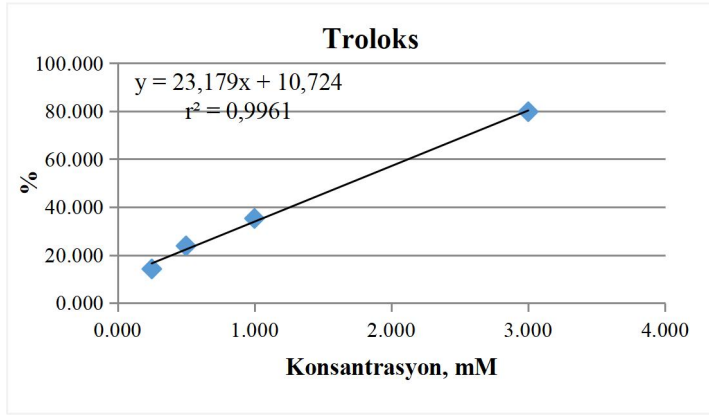


4.8.4 Troloksa Eşdeğer Antioksidan Kapasite Testi Sonuçları

Bu deneyde *T. ekimii* numuneleri absolü etanol ortamında ABTS katyon iyonlarla tepkimeye girerek ABTS'yi redükler. Değerlendirme sonuçları spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Aktivite değerleri Troloksa eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon eğrisi Troloks'un 0,0-3,0 mM aralığındaki derişimler üzerinden çizilmiştir (Şekil 4.11). Numunelerin antioksidan aktivite değerleri denklem ($y = 23,179 \times X - 10,724$, $r^2 = 0,9961$) kullanılarak hesaplanmıştır ve mM troloks eşdeğeri olarak ifade edilmiştir (Tablo 4.16).

Şekil 4.11

Troloks Kalibrasyon Eğrisi



Tablo 4.16

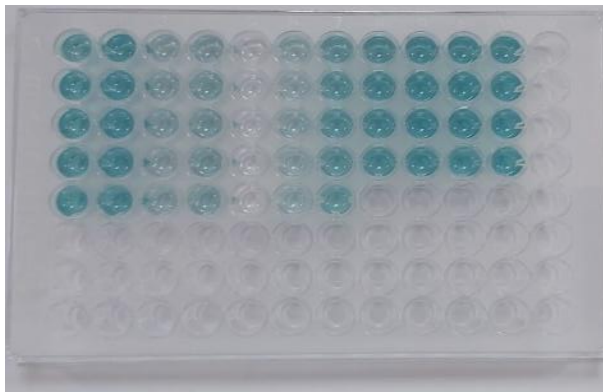
T. ekimii Troloksa Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi

Kod	TEAC, mM $\pm$ std spm
THL	0,626 $\pm$ 0,004
THP	2,906 $\pm$ 0,063
TRL	0,485 $\pm$ 0,046
TRP	2,955 $\pm$ 0,068
THY	2,754 $\pm$ 0,217

Mikroplaka kuyucuklarındaki renk değişimi test edilen numunelerin serbest radikal süpürücü etkisini göstermektedir (Görsel 4.4).

Görsel 4.4

T. ekimii Uçucu Yağ Ve Ekstrelerinin ABTS Katyon Radikal Süpürücü Etkisi

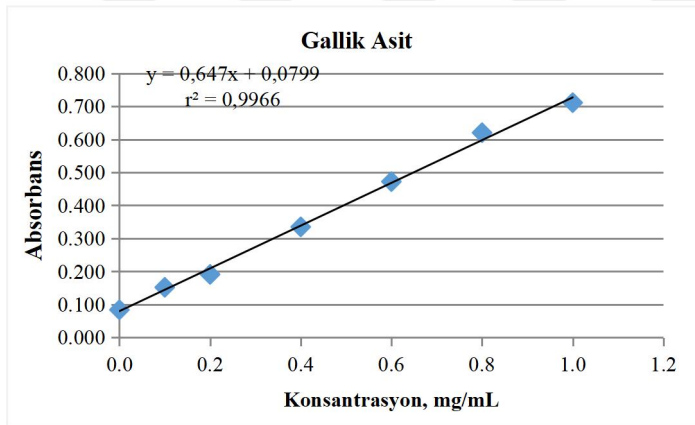


4.8.5 Toplam Fenol Miktarı

Tez kapsamında *T. ekimi* polar ve apolar ekstralarının toplam fenolik madde içerikleri Folin-Ciocalteu reaktifi ile kolorimetrik yöntemle tayin edilmiştir. Miktar tayini için gallik asit 0-1,0 mg/mL derişimler arasında test edilerek kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 4.12). Kalibrasyon eğrisi kullanılarak test edilen numunelerin toplam fenolik içeriği hesaplanmıştır. Sonuçlar gallik aside eşdeğer olarak ifade edilmiştir (Tablo 4.17). *T. ekimii* ekstralarının Folin-Ciocalteu reaktifiyle gösterdiği renk değişimi Görsel 4.5’de gösterilmiştir.

Şekil 4.12

Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi



Tablo 4.17

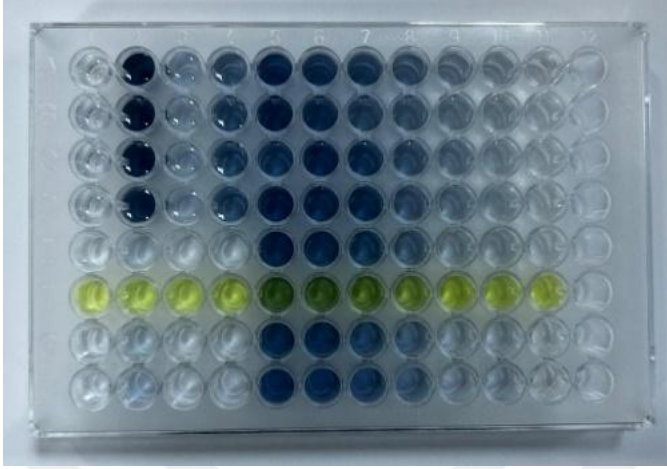
T. ekimii Toplam Fenol Miktarı

Kod	Toplam Fenol Miktarı, mgGAE/mL $\pm$ std spm
THL	0,297 $\pm$ 0,032
THP	1,193 $\pm$ 0,108
TRL	0,150 $\pm$ 0,015
TRP	1,208 $\pm$ 0,046
THY	ND

ND: xxxxxx

Görsel 4.5

T. ekimi Ekstrelerinin Folin-Ciocalteu Reaktifiyle Gösterdiği Renk Değişimi

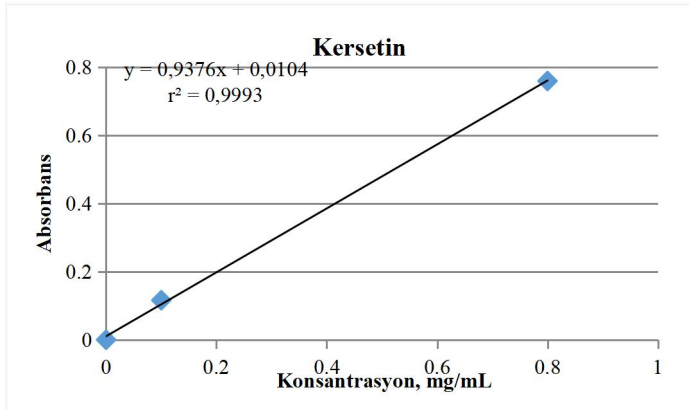


4.8.6 Toplam Flavonoit Miktarı

Bu çalışmada, *T. ekimi* ait farklı ekstreler toplam flavonoit içerikleri alüminyum klorür kompleksi oluşturmaya dayalı kolorimetrik yöntem kullanılarak kantitatif olarak belirlenmiştir (Görsel 4.6). Miktar tayini için kersetin 0-1,0 mg/mL derişimler arasında test edilerek kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 4.14). Kalibrasyon eğrisi kullanılarak test edilen numunelerin toplam flavonoit içeriği hesaplanmıştır. Sonuçlar kersetine eşdeğer olarak ifade edilmiştir (Tablo 4.18).

Şekil 4.14

Kersetin Kalibrasyon Eğrisi

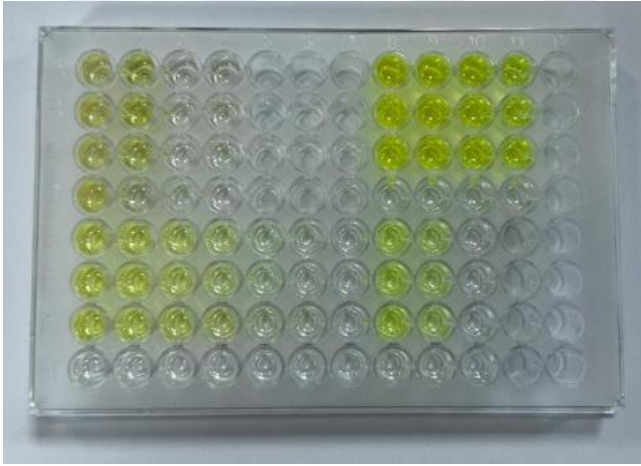


Tablo 4.18*T. ekimii* Toplam Flavonoit Miktarı

Kod	Toplam Flavonoit Miktarı, mgKE/mL $\pm$ std spm
THL	0,088 $\pm$ 0,002
THP	0,395 $\pm$ 0,008
TRL	eser
TRP	0,099 $\pm$ 0,006
THY	ND

KE: kersetine eşdeğer

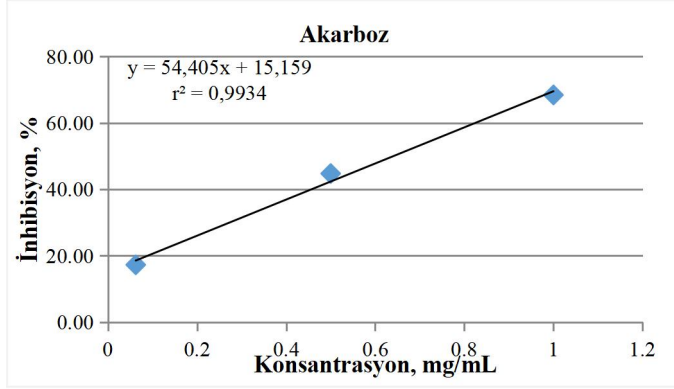
ND: xxxxx

Görsel 4.6*T. ekimii* Ekstrelerinin $AlCl_3$ Reaktifi ile Gösterdiği Renk Değişimi**4.8.7 α -Glikozidaz İnhibisyon Test Sonuçları**

T. ekimii den elde edilen ekstre ve uçucu yağın antidiabetik potansiyelin değerlendirilmesi için numuneler *Saccharomyces cerevisiae* type I kaynaklı α -glukozidaz enzimine karşı test edilmiştir. Deney *in vitro* şartlarda mikrotiter yöntemle yapılmıştır. İnhibisyon etkisi spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Şekil 4.16'de akarboz kalibrasyon eğrisi, denklemi ve r^2 değeri gösterilmiştir. Numunelerin α -glukozidaz inhibisyon değerleri akarboza eşdeğer mg /mL olarak saptanarak Tablo 4.19'de sunulmuştur.

Şekil 4.16

Akarboz Kalibrasyon Eğrisi



Tablo 4.19

T. ekimii α -Glukozidaz İnhibisyon Test Sonuçları

Kod	Toplam Flavonoit Miktarı, mgAcrE/mL±std spm
THL	0,451±0,075
THP	0,593±0,089
TRL	0,575±0,025
TRP	0,623±0,033
THY	0,771±0,031

AcrE: akarboza eşdeğer

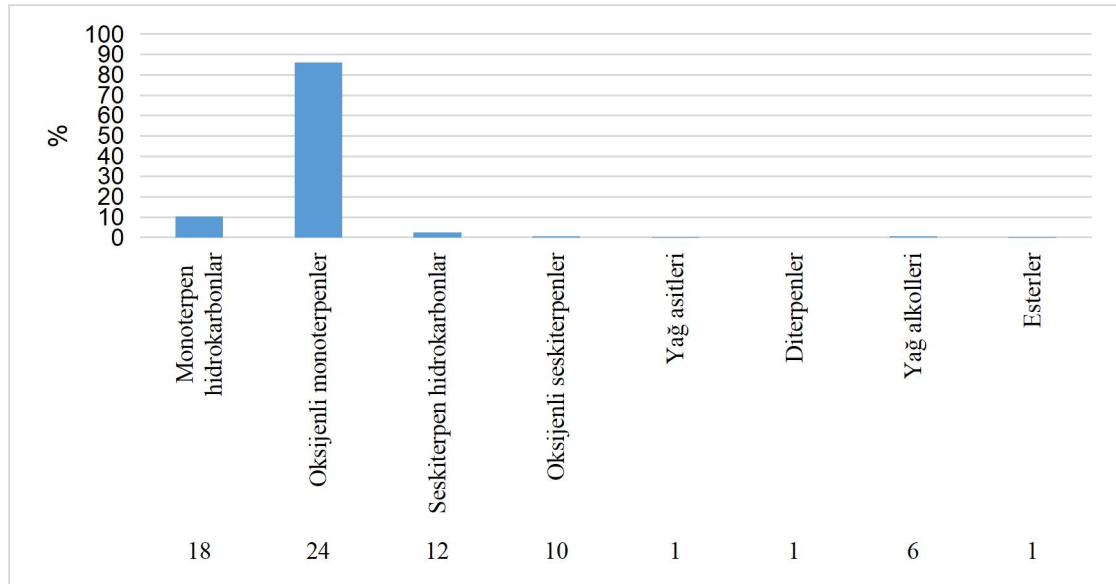
5 TARTIŞMA

5.1 *T. ekimii* Uçucu Yağındaki Bileşiklerin Sınıf Dağılımı

T. ekimii uçucu yağında en yüksek bolluk oranı yaklaşık %80 ile oksijenli monoterpenler grubuna aittir. Bu bileşik grubu, bitkinin biyolojik aktivitesine önemli katkılar sağlamasıyla dikkat çekmektedir. Monoterpen hidrokarbonlar yaklaşık %10'luk bir oranda bulunurken, seskiterpen hidrokarbonlar (%5) ve oksijenli seskiterpenler (%3) daha düşük oranlarda tespit edilmiştir. Yağ asitleri, diterpenler, yağ alkolleri, esterler ve diğer bileşikler ise daha sınırlı sayıda ve düşük bolluk oranlarıyla temsil edilmektedir. Bu veriler, *T. ekimii* uçucu yağının kimyasal yapısında oksijenli monoterpenlerin baskın sınıf olduğunu açıkça ortaya koymaktadır (Şekil 5.1).

Şekil 5.1

T. ekimii Uçucu Yağındaki Bileşiklerin Sınıf Dağılımı



Gaz kromatografi analizi sonucunda *T. ekimii* uçucu yağında en baskın bileşiğin %75 oranında timol olduğu belirlenmiştir. Bu bileşiği, önemli bir fenolik monoterpen olan karvakrol %3,9 oranıyla takip etmektedir. Ayrıca, yapıda anlamlı miktarda bulunan *p*-simen (%3,3) ve borneol (%3,3) gibi bileşikler de dikkat çekmektedir. Diğer taraftan, uçucu yağda daha düşük oranlarda yer alan linalol, kafur, 1,8-sineol, terpinen-4-ol gibi oksijenli monoterpenler ve β -karyofillen (%1,2) gibi seskiterpen hidrokarbon da kompozisyonun tamamlayıcı bileşikleri arasında yer almaktadır. İz miktarda tespit

edilen α -humulen, δ -kadinen, izokaryofillen oksit, karvakril asetat ve fitol gibi bileşikler ise kimyasal çeşitliliğin göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Genel olarak, *T. ekimii* uçucu yağı, yüksek oranda fenolik yapı içeren oksijenli monoterpenlerle karakterize olmuş, bu durum bitkinin potansiyel biyolojik aktiviteleri açısından dikkat çekici bulunmuştur.

Bu çalışmada elde edilen *T. ekimii* uçucu yağ kompozisyonu, timol (%75) ve karvakrol (%3,9) açısından dikkat çeken bir profil sunmuştur. Bu bileşiklerin düzeyi, daha önce farklı *Thymus* türleri üzerinde yürütülen çalışmalarla karşılaştırıldığında hem benzerlikler hem de belirgin farklılıklar göstermektedir.

Örneğin, *T. carmanicus* türünde karvakrol oranı %70,4 ile oldukça yüksekken, timol içeriği %13,1 olarak rapor edilmiştir (Javidnia & Shafaghat, 2003). *T. daenensis* örneklerinde ise timol (%33,9–70,3) ve karvakrol (%4,0–24,8) birlikte yüksek oranlarda tespit edilmiştir (Rustaiyan & Masoudi, 2000). Bu tür, *T. ekimii*'deki dağılımdan daha dengeli ve zengin bir fenolik yapı sergilemektedir.

Bununla birlikte, *T. eriocalyx* ve *T. fedtschenkoi* gibi türlerde geraniol ve linalol gibi oksijenli monoterpenlerin baskınlığı, *T. ekimii*'deki fenolik yapı ağırlığına göre farklılık göstermektedir. Ayrıca *T. vulgaris* gibi türlerde kamfen (%17,19) ve kafur (%38,54) gibi monoterpen hidrokarbonlar ve oksijenli monoterpenler daha ön plandayken, *T. ekimii*'de bu bileşikler yalnızca eser düzeyde bulunmuştur (Kucukbay & Kuyumcu, 2010).

Tüm bu karşılaştırmalar neticesinde, *T. ekimii*'nin uçucu yağ profili, özellikle timol açısından bazı türlerle örtüşmekle birlikte, karvakrol düzeyindeki relatif düşüklük ve borneol, *p*-simen gibi minör bileşiklerin varlığıyla kendine özgü bir kimyasal bileşim ortaya koymaktadır. Bu durum, türün fitokimyasal açıdan farklılaşan bir yapı sergilediğini ve biyolojik aktivite potansiyelinin özgün olabileceğini düşündürmektedir.

5.2 *T. ekimii* Sabit Yağ Asitleri

Yapılan analizler sonucunda *T. ekimii* türüne ait sabit yağ fraksiyonunda toplam sekiz yağ asidi tanımlanmıştır. Bu bileşikler arasında en yüksek oranda tespit edilen yağ asidi, %29,6 ile nonadekanoik asit (C19:0) olmuştur. Bu asit, örneklerdeki baskın doymuş yağ asidi olarak öne çıkmaktadır. Nonadekanoik asidi takiben, çoklu doymamış yağ asitlerinden α -linolenik asit (C18:3, ω -3) %23,2 ve linoleik asit (C18:2, ω -6) %13,8

oranlarında saptanmıştır. Bunun yanı sıra, tekli doymamış yağ asitlerinden oleik asit (C18:1, ω -9) %13,3 oranında belirlenmiştir.

Doymuş yağ asitlerinden palmitik asit (C16:0) %11,9 ve stearik asit (C18:0) ise %3,9 oranlarında bulunmuştur. Daha düşük oranlarda tespit edilen bileşikler arasında elaidik asit (C18:1 trans, ω -9) %2,2 ve pentadesenoik asit (C15:1) %2,1 ile yer almaktadır.

Bu bulgular, *T. ekimii* bitkisinin sabit yağ bileşiminin hem doymuş hem de doymamış uzun zincirli yağ asitleri açısından zengin bir profile sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle nonadekanoik, linoleik ve α -linolenik asitlerin yüksek oranlarda bulunması, bu türün biyolojik ve fonksiyonel özellikler bakımından dikkate değer bir potansiyel taşıdığını ortaya koymaktadır.

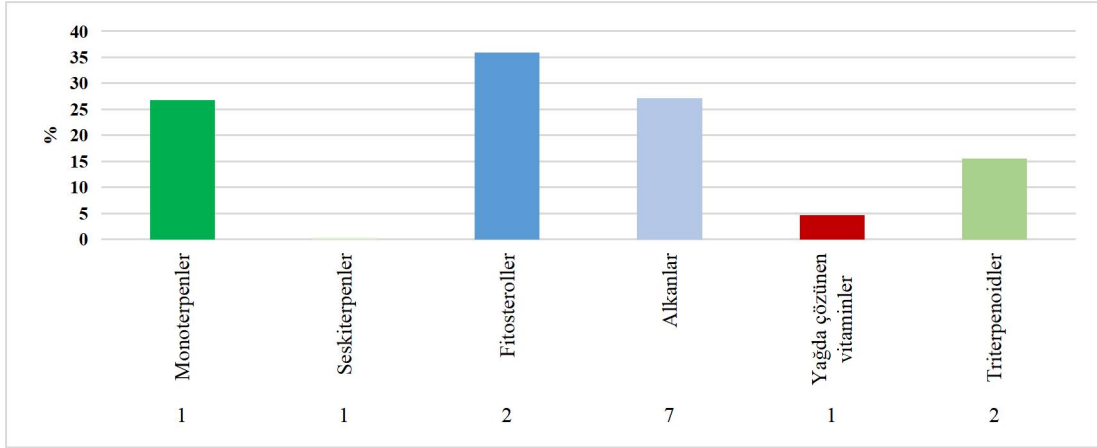
Literatürde *Thymus* türlerine ait sabit yağ asitleri profiline ilişkin çalışmaların son derece sınırlı olduğu dikkate alındığında, bu çalışmada elde edilen veriler önemli bir bilgi boşluğunu doldurmakta ve türün kimyasal karakterizasyonuna yönelik ilk sistematik bulgulardan biri olma özelliğini taşımaktadır. Bu çalışmada *T. ekimii* sabit yağ asitleri profili ilk kez sunulmuştur.

5.3 *T. ekimii* Toprak Üstü Ekstreleri Sililleme

T. ekimii toprak üstü apolar ekstresinde sililleme sonrası elde edilen bileşiklerin bolluk dağılımı incelendiğinde, en yüksek bolluk oranına %30 ile fitosteroller sahiptir (Şekil 5.2). Bunu %20 oranıyla alkanlar ve %20'ye yakın oranla monoterpenler takip etmektedir. Yağda çözünebilen bileşikler yaklaşık %10'luk bir bolluk gösterirken, triterpenoidler %5, seskiterpenler ise yaklaşık %2 oranında tespit edilmiştir. Bu dağılım, apolar ekstrenin özellikle fitosteroller ve alkanlar bakımından zengin bir bileşik profiline sahip olduğunu ortaya koymakta; bu grupların farmakolojik ve endüstriyel açıdan taşıdığı potansiyeli vurgulamaktadır.

Şekil 5.2

T. ekimii Toprak Üstü Apolar Ekstresi Sililleme Sonucu



Apolar karakterdeki ekstrenin sililleme işlemi sonrası gerçekleştirilen GK-AİD/KS analizleri sonucunda *T. ekimii* bitkisinin toprak üstü kısımlarında toplamda 14 farklı bileşik tanımlanmıştır. Bu bileşikler kimyasal sınıflarına göre incelendiğinde, alkanlar grubuna ait 7 farklı bileşiğin (örneğin: nonakosan, hentriakontan, tritriakontan vb.) bulunduğu ve bu grubun toplam bileşik yüzdesinin yaklaşık %27,2'lik bir orana sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durum, *T. ekimii*'nin apolar ekstraktında alkanlar grubunun önemli bir yer tuttuğunu göstermektedir.

Çalışmada fitosteroller sınıfına ait iki temel bileşik, yani β -sitosterol (%11,6) ve kampesterol (%1,0) saptanmış olup, bu grubun toplam oranı %35,9 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç, *T. ekimii* apolar ekstresinin özellikle fitosteroller bakımından zengin bir profil sergilediğini ortaya koymaktadır.

Triterpenoitler grubunda ise oleanolik asit (%13,5) ve 10-demetilskualen (%2,0) olmak üzere iki önemli bileşik tanımlanmış ve bu grup toplamda %15,5 oranla temsil edilmiştir. Bu bulgu, *T. ekimii*'nin triterpenoit türevlerini de anlamlı düzeyde içerdiğini göstermektedir.

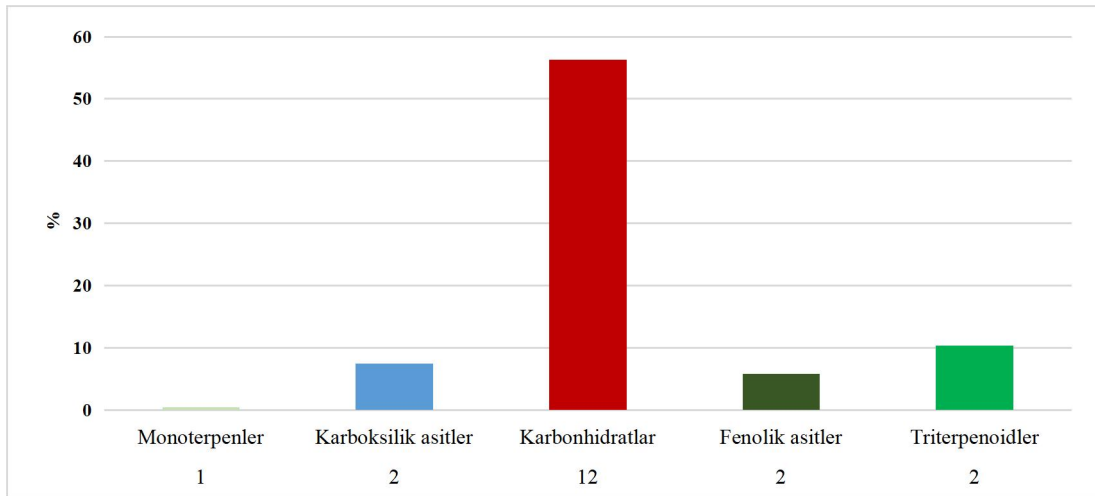
Ek olarak, ekstrede monoterpen sınıfında yer alan timol bileşiği %26,8 gibi yüksek bir oranla tanımlanmış olup, bu durum uçucu bileşiklerinde apolar fazda da varlığını koruduğunu göstermektedir. Ayrıca, yağda çözünebilen vitaminler grubunda α -tokoferol (%4,7) bileşiği de saptanarak ekstrenin antioksidan potansiyeline katkıda bulunabilecek nitelikte olduğu düşünülmektedir.

Bu sonuçlar, literatürde *Thymus* türlerine ait apolar ekstrelerin sililleme sonrası kimyasal içeriğine yönelik yapılan çalışmalardaki verilerin son derece sınırlı olması nedeniyle önem arz etmektedir. Sunulan veriler, *T. ekimi* türü üzerine yapılan ilk kapsamlı karakterizasyon çalışmaları arasında yer almakta olup, gelecekte yapılacak biyolojik aktivite araştırmaları için değerli bir temel oluşturma potansiyeline sahiptir.

T. ekimii toprak üstü polar ekstresine ait sililleme analizinde, en yüksek bolluk oranına yaklaşık %50 ile karbonhidratlar sahiptir. Bu grubu sırasıyla %8 oranıyla triterpenoidler, %5 ile karboksilik asitler ve %3 ile fenolik asitler takip etmektedir. Monoterpenler ise yalnızca %1 oranında tespit edilmiştir. Bu dağılım, polar ekstrenin özellikle karbonhidratlar ve triterpenoidler açısından zengin olduğunu, fenolik bileşikler yönünden ise daha sınırlı ancak dikkat çekici bir bileşik profiline sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Şekil 5.3).

Şekil 5.3

T. ekimii Topraküstü Polar Ekstresi Sililleme Sonucu



Bu çalışmada, *T. ekimii* bitkisinin toprak üstü kısımlarına ait polar ekstrenin üzerinde yapılan sililleme işlemi sonrasında gerçekleştirilen GK-KS/AİD analizleri sonucunda toplamda 19 farklı bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşikler, kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmış ve oranları hesaplanmıştır.

Analiz sonuçlarına göre, ekstre içeriğinde 12 adet karbohidrat en yüksek oranı (%56,3) oluşturmaktadır. Bu sınıf içinde major olarak sukroz (%26,3), β -glukopiranoz (%6,8), rafinoz (%7,3), myo-inositol (%5,9) ve minor olarak α -glukopiranoz (%4,3) gibi

bileşiklerin ön plana çıktığı görülmektedir. Bu durum, *T. ekimii* polar ekstresinin çözünür şekerler açısından oldukça zengin olduğunu göstermektedir.

Triterpenoitler grubunda ise oleanolik asit (%6,3) ve triterpenik asit (%4,1) olmak üzere toplam %10,4 oranında iki bileşik saptanmıştır. Bu bileşikler farmakolojik olarak çeşitli biyolojik aktivitelerle ilişkilendirilen önemli sekonder metabolitlerdir.

Diğer önemli husus olarak, ekstre içerisinde rozmarinik asit (%5,0) ve kafeik asit (%0,8) olmak üzere toplam %5,8 oranında fenolik asitler tespit edilmiştir. Bu sınıf, bitkisel antioksidan aktiviteyle ilişkilendirilen bileşikleri içermesi bakımından önem taşımaktadır.

Karboksilik asitler sınıfı da dikkate değer bir oranda (%7,5) bulunmuştur ve bu gruba ait olarak malik asit (%1,6) ile kuinik asit (%5,9) tanımlanmıştır. Ayrıca, düşük oranda da olsa timol (%0,5) gibi bir monoterpenoit bileşiğin varlığı da kaydedilmiştir.

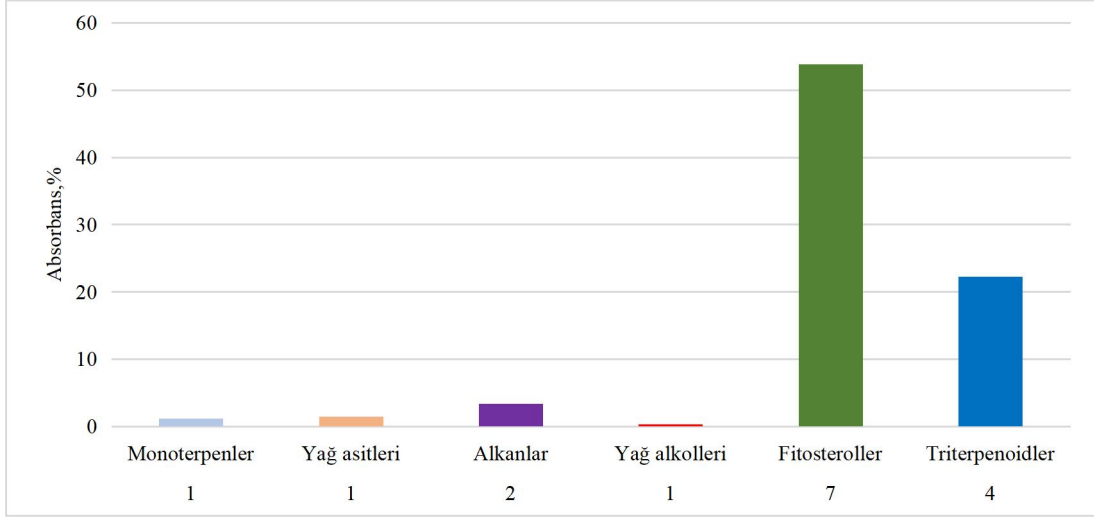
Sonuç olarak, *T. ekimii* polar ekstresi başta karbohidratlar olmak üzere triterpenoitler, fenolik asitler ve karboksilik asitler gibi birçok farklı bileşik sınıfını içermekte olup, kimyasal çeşitliliği yüksek bir profil ortaya koymaktadır. Literatürde *T. ekimii*'nin polar ekstraktına yönelik detaylı çalışmalara rastlanmaması nedeniyle, bu bulgular türün kimyasal bileşim açısından değerlendirilmesinde özgün ve önemli katkılar sunmaktadır.

5.4 *T. ekimii* Kök Ekstresi Sililleme

T. ekimii kök ekstresinin sililleme analizine ait bolluk yüzdelerine göre oluşturulan grafik incelendiğinde, en yüksek bolluk oranı yaklaşık %50 ile fitosterollere aittir. Fitosteroller, yaklaşık %18 oranla triterpenoidler takip etmektedir. Bu iki grup, ekstrenin kimyasal yapısında baskın bileşenler olarak öne çıkmaktadır. Alkanlar (%3), yağ asitleri (%2), yağ alkoller (%1) ve monoterpenler (%1) ise daha düşük bolluk yüzdeleriyle temsil edilmiştir. Bu sonuçlar, *T. ekimii* kök ekstresinin özellikle fitosterol ve triterpenoidler açısından zengin olduğunu ve bu bileşiklerin potansiyel biyolojik etkiler açısından önemli rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır (Şekil 5.4).

Şekil 5.4

T. ekimii Kök Ekstresi Sililleme Sonucu



Çalışma kapsamında, *T. ekimii* bitkisinin kök kısmından elde edilen apolar özellikteki ekstre, sililleme işlemi sonrası GK-KS/AİD yöntemiyle incelenmiş ve toplamda 16 farklı bileşik tanımlanmıştır. Tanımlanan bileşikler, yapısal ve fonksiyonel özelliklerine göre sınıflandırılmış olup, her bir grubun örnek içindeki dağılım yüzdesi hesaplanmıştır. Bileşik profiline bakıldığında, ekstre içerisinde en baskın grubun fitosteroller (%53,8) olduğu görülmüştür. Bu grubun en yüksek oranda bulunan bileşiği β -sitosterol (%27,7) olup, bunu lanosterol ve sikloartenol gibi diğer sterol türevleri (%6,5'er oranında) takip etmektedir. Bunun yanı sıra, stigmastanol (%5,0), sitostenon (%3,2), stigmasterol (%2,8) ve kampesterol (%2,1) gibi diğer fitosteroller de dikkate değer oranlarda saptanmıştır. Bu durum, *T. ekimii* kök ekstresinin fitosteroller bakımından oldukça zengin bir kaynak olabileceğini ortaya koymaktadır.

Ekstrenin önemli bir diğer bileşik grubunu ise triterpenoitler (%22,3) oluşturmaktadır. Bu sınıfta özellikle ursolik asit (%7,7) ve betulonik asit (%7,2) gibi farmakolojik olarak ilgi gören bileşiklerin yüksek oranlarda bulunduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, ursadienoik asit (%5,9) ve oleanolik asit (%1,5) de bu grupta yer almaktadır. Bu sonuçlar, bitkinin kök yapısında seskiterpen ve triterpen türevlerinin biyoaktif potansiyel taşıdığını düşündürmektedir.

Ayrıca analizde; alkanlar (%3,4) grubundan nonakosan (%2,0) ve hentriakontan (%1,4); yağ asitleri (%1,5) grubundan dokosanoik asit; yağ alkoller (%0,4) sınıfından ise 1-

heksakosanol belirlenmiştir. Ek olarak, düşük düzeyde timol (%1,2) varlığı da tespit edilerek monoterpen yapılu bileşiklerin de ekstrede izlenebilir düzeyde bulunduğu gösterilmiştir.

Elde edilen bu sonuçlar, literatürde *Thymus* türlerine yönelik kök kaynaklı apolar ekstrenin analizlerinin oldukça sınırlı olması nedeniyle oldukça önemlidir. Tanımlanan bileşiklerin hem kimyasal çeşitlilik hem de potansiyel biyolojik aktivite açısından dikkate değer olduğu değerlendirilmektedir. Bu yönüyle çalışma, *T. ekimii* türüne dair özgün veriler sağlayarak bilimsel bilgi birikimine katkı sunmaktadır.

5.5 *T. ekimii* Polar Ekstresinin Fenolik Bileşiklerinin Kimyasal Bileşimi

Bu çalışmada, *T. ekimii* türünün toprak üstü kısımlarından elde edilen polar karakterli ekstraktının fenolik bileşimi, hassas sıvı kromatografisi (SK) yöntemi kullanılarak detaylı biçimde incelenmiştir. Analiz sonucunda toplam 48 farklı fenolik ve flavonoid karakterli bileşik tanımlanmış olup, bunların çoğunluğu izlenebilir düzeyde saptanmış, bazıları ise eser (T.E.) miktarda tespit edilmiştir.

Elde edilen verilere göre, ekstre içerisinde en yüksek oranda bulunan fenolik bileşik rosmarinik asit (19,299 mg/g_{extr}) olup, bu bileşiği sırasıyla vanilik asit (8,344 mg/g_{extr}) ve kafeik asit (2,712 mg/g_{extr}) takip etmektedir. Bu üç bileşik, örnek içinde en baskın fenolik yapıdaki maddeler olarak öne çıkmaktadır. Diğer taraftan, klorojenik asit (1,765 mg/g_{extr}), protokateşik asit (1,316 mg/g_{extr}) ve sinapik asit (1,171 mg/g_{extr}) gibi diğer önemli fenolik asitler de anlamlı oranlarda saptanmıştır. Bununla birlikte, fenolik bileşiklerin yanında sıkça yer alan kuinik asit (33,876 mg/g_{extr}) de yüksek miktarda saptanmıştır.

Flavonoid bileşikler açısından değerlendirildiğinde, örnekte özellikle sinarozit (18,293 mg/g_{extr}), luteolin (4,672 mg/g_{extr}), kosmosiin (4,083 mg/g_{extr}) ve naringenin (3,645 mg/g_{extr}) maddeleri dikkat çekmektedir. Bu bileşikler, bitkinin flavonoid bakımından zengin olduğunu göstermektedir. Ayrıca, kersitrin (1,205 mg/g_{extr}), rutin (1,062 mg/g_{extr}) ve izokersitrin (0,978 mg/g_{extr}) gibi glikozit türevi flavonoidler de belirgin düzeylerde tespit edilmiştir.

Bunun yanında, örnek içinde eser miktarda bulunan ya da sadece iz olarak saptanabilen bileşikler de dikkate değerdir. Örneğin, genistein, apigenin, kaempferol, kafeik aldehit, epikateşin gallat, epigallokateşin gallat, fisetin, amentoflavon, kumarin ve benzeri

bileşikler çok düşük seviyelerde veya iz miktarda saptanmıştır. Bu maddeler, biyolojik aktivite açısından anlamlı potansiyele sahip olmalarına karşın, bu türün polar ekstraktında daha az yoğunlukta bulunmuştur.

Yapılan analizler ışığında, *T. ekimii* polar ekstraktının hem fenolik bileşikler (özellikle kuinik asit, rozmarinik asit, vanilik asit) hem de flavonoid türevleri (özellikle sinarozit, luteolin, kosmosiin, naringenin) açısından zengin bir kimyasal profile sahip olduğu anlaşılmaktadır. Bu kimyasal çeşitlilik, bitkinin olası antioksidan, antienflamatuvar, antikanserojenik ve nöroprotektif etkiler açısından potansiyel taşıdığını göstermektedir. Özellikle fenolik bileşiklerin serbest radikallerle savaşıma kapasitesi ve flavonoidlerin hücresel düzeyde koruyucu aktiviteleri göz önünde bulundurulduğunda, *T. ekimii* türünün bu içerikleri bakımından değerli bir doğal kaynak olabileceği düşünülmektedir. Bu bağlamda, elde edilen bulgular, literatürde bu tür üzerine yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olması nedeniyle özgünlük arz etmektedir. Bu çalışma, *T. ekimii*'nin fitokimyasal bileşimi hakkında bilimsel literatüre katkı sağlayan yeni ve önemli veriler sunmaktadır.

5.6 *T. ekimii* Yağda Çözünen Vitaminlerin Analiz Sonuçları

Bu çalışmada, *T. ekimii* bitkisinin örneklerinde yağda çözünebilen vitaminlerin kimyasal bileşimi belirlenmiştir. Literatür tarandığında, *Thymus* cinsine ait bazı türlerde uçucu yağ ve fenolik içerikler üzerine çalışmalar yapılmış olsa da, yağda çözünebilen vitaminlerin analiziyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu durum, çalışmanın literatürdeki önemli bir boşluğu doldurduğunu ve özgünlük taşıdığını göstermektedir.

Analizlerde Ultra Performanslı Süperkritik Akışkan Kromatografisi (UPC²) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem, geleneksel tekniklerden olan YBSK ve GK-KS'e kıyasla birçok avantaja sahiptir. Öncelikle, analiz süresi oldukça kısadır ve düşük miktarlardaki örneklerle güvenilir sonuçlar elde edilebilmektedir. Ayrıca bu teknik, bileşenlerin ayırma gücü açısından oldukça yüksek hassasiyet sunmakta, bu da karmaşık bitki ekstraktlarında bile düşük konsantrasyondaki vitaminlerin dahi tespit edilebilmesini sağlamaktadır.

Bu bağlamda, *T. ekimii* türünün bitki materyalinde yağda çözünebilen çeşitli vitamin bileşikleri başarılı bir şekilde tanımlanmıştır. Bu sonuçlar, yalnızca bu türün değil, *Thymus* cinsine ait diğer türlerin de potansiyel farmakolojik değerlerini ortaya koymak açısından önemli bir veri seti sunmaktadır.

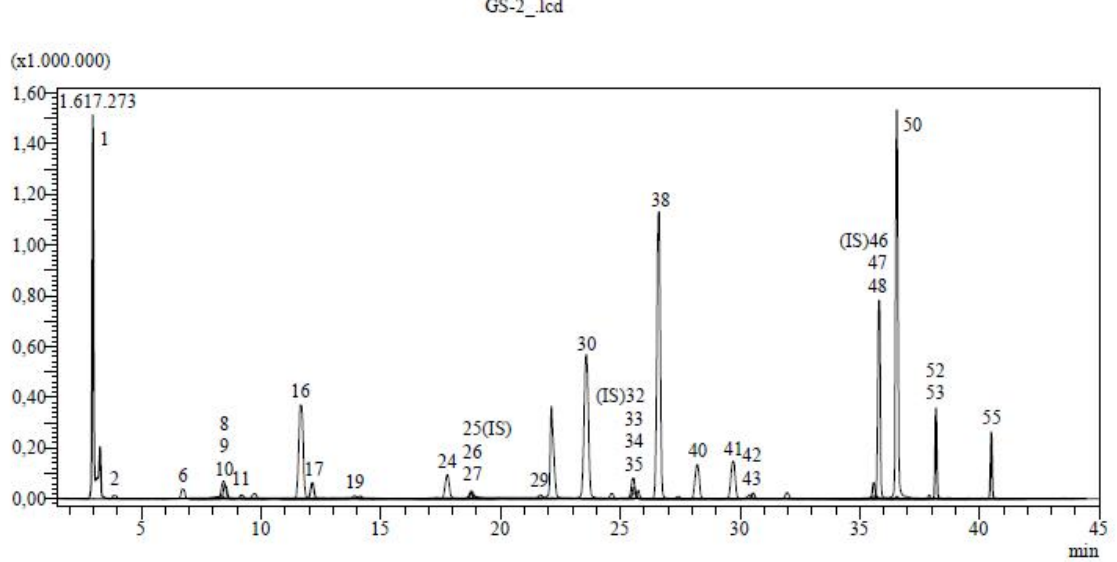
Sonuç olarak, bu tez çalışmasında kullanılan ileri düzey ayırma teknolojisi olan UBBK yöntemi sayesinde *T. ekimii* bitkisinin daha önce araştırılmamış kimyasal bileşikleri tanımlanmış, bu da tezin bilimsel özgünlüğünü ve katkı değerini önemli ölçüde artırmıştır.

5.7 *T. ekimii* Polar Ekstresi SK-KS Sıvı Kromatografisi Analiz Sonuçları

T. ekimii'nin polar ekstraktı üzerinde gerçekleştirilen SK-KS sıvı kromatografi analizleri sonucunda hem fenolik asitler hem de flavonoidler açısından oldukça zengin bir profil ortaya konmuştur. Elde edilen kromatogram verilerine göre, kuinik asit (RT: 3,0), vanilik asit (RT: 11,8) ve rosmarinik asit (RT: 26,6) gibi fenolik bileşiklerin belirgin şekilde bulunduğu görülmektedir (Şekil 5.5). Bu bileşiklerin her biri bilinen antioksidan, antiinflamatuar ve potansiyel antikanser etkileri ile farmakolojik açıdan değerli oldukları kabul edilmektedir.

Şekil 5.5

T. ekimii Polar Ekstresi Bileşiklerin SK-KS tekniği ile Kromatografik Ayırımı



Ayrıca flavonoid bileşenleri arasında sinarozit (RT: 23,7), luteolin (RT: 36,7) ve kosmosiin (RT: 28,2) majör maddeler olarak dikkat çekmiştir. Bu flavonoidlerin hücre koruyucu etkilerinin yanı sıra, serbest radikallere karşı savunmada ve enzimatik yollardaki düzenleyici rollerinde önemli oldukları bilinmektedir.

Özellikle RT değerleri 20,0 ile 40,0 arasında yer alan maddelerin yoğunluğu, ekstraktın kompleks yapısını yansıtmakta ve bitkinin biyolojik potansiyelini desteklemektedir.

Naringenin, apigenin, kersetin, rutin, genistein, daidzein gibi çok sayıda flavonoid bileşimin saptanmış olması, *T. ekimii*'nin bu bileşikler açısından kayda değer bir kaynak olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, bu analiz çalışması *T. ekimii* bitkisinin fitokimyasal yapısının hem nicel hem de nitel açıdan zenginliğini ortaya koymakta, özellikle fenolik ve flavonoid içerikleri bakımından dikkat çekici bir çeşitlilik sunduğunu kanıtlamaktadır. Bu durum, bitkinin potansiyel terapötik kullanımları açısından önemli bir temel oluşturmaktadır.

5.8 Biyolojik Aktivite Araştırmaları

5.8.1 Antioksidan aktivite potansiyeli

5.8.1.1 Fosfomolibden antioksidan aktivite testi

Sonuçlara göre en yüksek antioksidan aktivite, kök polar ekstresinde (TRP) ölçülmüştür. Bu, kök kısmında suda çözünebilen antioksidan maddelerin yüksek oranda bulunduğunu göstermektedir. En düşük aktivite ise uçucu yağda (THY) tespit edilmiştir. Toprak üstü kısmından elde edilen hem polar (THP) hem de lipofilik (THL) ekstraktlar ise benzer değerlere sahiptir. Kök lipofilik ekstresi (TRL) orta seviyede bir aktivite göstermiştir.

Bu veriler, *T. ekimii* bitkisinin özellikle kök polar fraksiyonunun antioksidan bileşikler açısından zengin olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bulgu, bitkinin bu kısmının sağlıklı ilgili biyolojik etkileri bakımından önemli olabileceğini düşündürmektedir.

5.8.1.2 Gümüş NanoParçacıklar Antioksidan Kapasite Testi

T. ekimii'nin gümüş nanoparçacık (SNAP) formundaki antioksidan aktivite analizleri sonucunda, en yüksek etki herba polar (THP) fraksiyonunda gözlenmiştir. Bu fraksiyonu kök polar (TRP) fraksiyonu takip etmiştir. Buna karşın, herba lipofilik (THL) ve uçucu yağ (THY) fraksiyonları oldukça düşük seviyede antioksidan aktivite göstermiştir. Kök lipofilik (TRL) fraksiyonuna ait ölçüm ise gerçekleştirilememiştir.

Bu sonuçlar, SNAP formundaki *T. ekimii*'nin özellikle polar fraksiyonlarında güçlü antioksidan potansiyel taşıdığını ortaya koymaktadır. Bu özellik, bitkinin biyolojik olarak aktif formlarının geliştirilmesinde değerlendirilebilecek önemli bir avantaj sunmaktadır.

5.8.1.3 Serbest Radikal Süpürücü Etki Testi (DPPH testi)

Serbest radikal süpürücü etkiyi değerlendirmek amacıyla yapılan DPPH testi sonuçlarına göre, en güçlü antioksidan etki *T. ekimii* herba polar (THP) fraksiyonunda gözlemlenmiştir. Bunu kök polar (TRP) fraksiyonu takip etmiştir. Uçucu yağ (THY) ve herba lipofilik (THL) fraksiyonları ise daha zayıf düzeyde etki göstermiştir. Kök lipofilik (TRL) fraksiyonuna ilişkin sonuç elde edilememiştir.

Kontrol madde olarak kullanılan gallik asit (GA), beklendiği üzere çok güçlü antioksidan aktivite göstermiştir. Elde edilen bulgular, *T. ekimii* bitkisinin özellikle polar fraksiyonlarında dikkat çekici antioksidan potansiyel taşıdığını ortaya koymaktadır. Bu durum, bitkinin farmakolojik açıdan değerlendirilmesi açısından önemli bir katkıdır.

5.8.1.4 Troloksa Eşdeğer Antioksidan Kapasite Testi

Troloksa eşdeğer antioksidan kapasitesini değerlendirmek amacıyla yapılan analizlerde, *T. ekimii* herba polar (THP) ve kök polar (TRP) fraksiyonlarının belirgin şekilde yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmüştür. Uçucu yağ (THY) fraksiyonu da bu iki fraksiyonu takiben güçlü bir etki sergilemiştir. Buna karşın herba lipofilik (THL) ve kök lipofilik (TRL) fraksiyonlarının antioksidan kapasiteleri daha düşük düzeyde kalmıştır.

Elde edilen veriler, *T. ekimii* bitkisinin özellikle polar fraksiyonlarının antioksidan potansiyel açısından zengin olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, bitkinin biyolojik aktiviteleri bakımından değerlendirilmesinde önemli bir dayanak oluşturmaktadır.

5.8.2 Spektrofotometrik Miktar Tayinleri

5.8.2.1 Toplam Fenol Miktarı

Tez kapsamında *T. ekimii* polar ve apolar ekstraktlarının toplam fenol madde içerikleri Folin-Ciocalteu reaktifi ile kolorimetrik yöntemle tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlar her ekstrenin fenolik madde zenginliğine ilişkin karşılaştırmalı bir değerlendirme yapılmasına olanak sağlamıştır.

Toplam fenol içeriği açısından yapılan değerlendirmede, *T. ekimii* bitkisinin polar fraksiyonları olan herba polar (THP) ve kök polar (TRP) en yüksek fenolik bileşik seviyelerine sahip fraksiyonlar olarak öne çıkmıştır. Bu fraksiyonları, daha düşük

düzeyde fenol içeren herba lipofilik (THL) ve kök lipofilik (TRL) fraksiyonları takip etmiştir. Uçucu yağ fraksiyonunda (THY) ise fenolik bileşik tespiti yapılamamıştır.

Bu sonuçlar, *T. ekimii* bitkisinin özellikle polar fraksiyonlarının fenolik bileşikler yönünden zengin olduğunu ve bu yönüyle antioksidan potansiyel taşıdığını göstermektedir.

5.8.2.2 Toplam Flavonoit Miktarı

Elde edilen veriler türün flavonoit yönünden zenginliğini ortaya koymakta olup biyolojik etkinliği ile ilişkili potansiyel bileşen dağılımının yorumlanmasına bir ön değerlendirme niteliğindedir.

Toplam flavonoit içeriği bakımından yapılan analizde, *T. ekimii* bitkisinin herba polar (THP) fraksiyonu en yüksek flavonoit düzeyine sahip olarak belirlenmiştir. Kök polar (TRP) ve herba lipofilik (THL) fraksiyonlarında ise daha düşük düzeylerde flavonoit tespiti yapılmıştır. Kök lipofilik fraksiyonda (TRL) eser miktarda flavonoit bulunurken, uçucu yağ fraksiyonunda (THY) flavonoit içeriği tespit edilememiştir.

Bu bulgular, *T. ekimii* bitkisinin özellikle herba polar fraksiyonunun flavonoit bileşikler açısından zengin olduğunu göstermekte ve bu fraksiyonun potansiyel biyolojik aktiviteler bakımından önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

5.8.3 Antidiyabetik aktivite potansiyeli

5.8.3.1 α -Glikozidaz İnhibisyon Testi

T. ekimii bitkisine ait farklı fraksiyonlar üzerinde yapılan α -glukozidaz inhibisyon testi sonuçlarına göre, uçucu yağ (THY) en yüksek inhibisyon etkisini göstermiştir. Polar kök ekstresi (TRP), herba polar (THP) ve kök lipofilik (TRL) ekstreleri de benzer şekilde belirli düzeyde inhibitör etkisini sergilemiştir. Herba lipofilik ekstresinin (THL) etkisi ise diğerlerine kıyasla daha düşüktür.

Bu sonuçlar, *T. ekimii* bitkisinin özellikle uçucu yağ ve kök polar ekstresi aracılığıyla α -glukozidaz enzimi üzerinde anlamlı bir inhibisyon etkisi oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, bu çalışma *T. ekimii*'nin antidiyabetik potansiyel taşıdığını ve bu etkinin orta düzeyde olduğunu göstermektedir. Bu yönüyle bitki, doğal antidiyabetik ajanlara yönelik çalışmalarda dikkate değer bir kaynak olarak değerlendirilebilir.

6 SONUÇ

1. *T. ekimii*'nin uçucu yağı araştırılmış, başlıca bileşenlerin timol ve karvakrol olduğu tespit edilmiştir.
2. Sabit yağ bileşenleri incelenmiş, en yüksek oranlarda bulunan yağ asitleri arasında nonadekanoik asit (%29,6), α -linolenik asit (%23,2), linoleik asit (%13,8) ve oleik asit (%13,3) yer almıştır.
3. Yağda çözünen vitamin analizleri gerçekleştirilmiş, numunede α -tokoferol (E vitamini) ve β -karoten tespit edilmiştir. Literatürde bu vitaminler daha önce herhangi bir *Thymus* türünde bu yöntemle çalışılmamıştır.
4. Apolar ekstrenin sililleme sonrası bileşen analizinde, başlıca bileşikler olarak β -sitosterol, ursolik asit ve oleanolik asit belirlenmiştir.
5. Polar ekstrenin sililleme sonrası bileşenlerinde ise kuinik asit, sukroz ve oleanolik asit dikkat çeken maddeler olmuştur.
6. SK-KS analizleri sonucu fenolik bileşiklerden vanilik asit ve rozmarinik asit; flavonoidlerden ise sinarozit, luteolin ve kosmosiin, , majör bileşikler olarak tanımlanmıştır. Kuinik asit de yüksek miktarda saptanmıştır.
7. Antioksidan aktivite testleri sonucunda, özellikle kök polar (TRP) ekstresi yüksek düzeyde aktivite göstermiştir. En düşük aktivite ise uçucu yağ (THY) örneğinde gözlenmiştir.
8. Antidiyabetik aktivite ölçümlerinde, orta düzeyde bir inhibisyon etkisi tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada *T. ekimii* bitkisi üzerine ilk defa kapsamlı fitokimyasal analizler gerçekleştirilmiş; uçucu yağ, sabit yağ, vitamin içeriği, polar ve apolar fraksiyonlardaki bileşenler detaylı şekilde incelenmiştir. Aynı zamanda bitkinin antioksidan ve antidiyabetik aktiviteleri de ilk kez değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, *T. ekimii*'nin insan sağlığı açısından biyolojik olarak değerli bileşikler içerdiğini ve tıbbi bitki potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

KAYNAKÇA

- Adams, R. (2005). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. *Carol Stream*, 16, 65-120.
- Afonso, A. F., Pereira, O. R., & Cardoso, S. M. (2020). Health-Promoting Effects of Thymus Phenolic-Rich Extracts: Antioxidant, Anti-Inflammatory and Antitumoral Properties. *Antioxidants (Basel)*, 9(9), 814. <https://doi.org/10.3390/antiox9090814>
- Ahmed, H. M. (2016). Ethnopharmacobotanical study on the medicinal plants used by herbalists in Sulaymaniyah Province, Kurdistan, Iraq. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 12 (1), 8. <https://doi.org/10.1186/s13002-016-0081-3>
- Altundag, E., & Ozturk, M. (2011). Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 19, 756-777. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2011.05.195>
- Amiri, H. (2012). Essential oils composition and antioxidant properties of three thymus species. Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine, 728065. <https://doi.org/10.1155/2012/728065>
- Anwar, F., Mahrye, Khan, R., Qadir, R., Saadi, S., Gruczynska-Sekowska, E., Saari, N., & Hossain Brishti, F. (2024). Exploring the Biochemical and Nutra-Pharmaceutical Prospects of Some *Thymus* Species - A Review. *Chemistry & Biodiversity*, 21(7), e202400500. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202400500>
- Azaz, A.D, Irtem, H.A., Kurkcuoğlu, M., Baser, K.H.C. (2004). Composition and the in vitro Antimicrobial Activities of the essential oils of some *Thymus* species. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung C*, 59(1-2) 75-80.
- Azhar, J., John, P., & Bhatti, A. (2022). Thymus serpyllum Exhibits Anti-Diabetic Potential in Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus Type 2 Mice: A Combined Biochemical and In Vivo Study. *Nutrients*, 14(17). <https://doi.org/10.3390/nu14173561>
- Barmoudeh, Z., Ardakani, M. T., Doustimotlagh, A. H., & Bardania, H. (2022). Evaluation of the Antioxidant and Anticancer Activities of Hydroalcoholic Extracts of *Thymus daenensis* Celak and *Stachys pilifera* Benth. *Journal of Toxicology*, 2022(1), 1924265. <https://doi.org/10.1155/2022/1924265>
- Başer, K. H. C., & Özek, T. (2012). Chapter 26 – Gas chromatographic analysis of essential oils. In C. F. Poole (Ed.), *Gas chromatography* (2nd ed., pp. 675–682). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820675-1.00040-X>
- Baytop, A., & Günergun, F. (2003). *Türkiye’de botanik tarihi araştırmaları*. Çetin Matbaacılık. <https://books.google.com.tr/books?id=W-PaAAAAMAAJ>
- Bedlovicova, Z., Strapac, I., Balaz, M., & Salayova, A. (2020). A Brief Overview on Antioxidant Activity Determination of Silver Nanoparticles. *Molecules*, 25(14), 3191. <https://doi.org/10.3390/molecules25143191>
- Bitkiler, B. (2025). *Bizim Bitkiler*. Retrieved Nisan 11, 2025 from <https://www.bizimbitkiler.org.tr/list.html>
- Blanka Szilvássya, G. R., Szilvia Sárosib, Ildikó Novákb, Zsuzsanna Pluhárb and László Abrankó*, (2013). Polyphenols in the Aqueous Extracts of Garden Thyme (*Thymus vulgaris*) Chemotypes Cultivated in Hungary. *Natural Product Communications*, 8, 605 - 608.
- Bouyahya, A., Chamkhi, I., Guaouguaou, F.-E., Benali, T., Balahbib, A., El Omari, N., Taha, D., El-Shazly, M., & El Menyiy, N. (2020). Ethnomedicinal use,

- phytochemistry, pharmacology, and food benefits of *Thymus capitatus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 259, 112925. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112925>
- Brian M. Lawrence, A. O. T. (2002). The genus *Thymus* as a source of commercial products. In *Thyme*, 266-276.
- Çatak, E., & Atalay, A. (2022). Economic and Medical Values of the Lamiaceae (Labiatae) (Ballıbabagİller) Family. *Euroasia Journal of Mathematics, Engineering, Natural & Medical Sciences*, 9(20), 150-157. <https://doi.org/10.38065/euroasiaorg.941>
- Cerda, A., Martinez, M. E., Soto, C., Poirrier, P., Perez-Correa, J. R., Vergara-Salinas, J. R., & Zuniga, M. E. (2013). The enhancement of antioxidant compounds extracted from *Thymus vulgaris* using enzymes and the effect of extracting solvent. *Food Chemistry*, 139(1-4), 138-143. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.12.044>
- Choi, Y.-M., Jeon, S.-H., Her, M.-r., & Yim, S.-H. (2023). Correlation of antioxidant and radical scavenging activity in *Hydrangea macrophylla* L. extract from various cultivars. *Food Science and Technology*, 43, e00019. <https://doi.org/10.5327/fst.00019>
- Cocan, I., Alexa, E., Danciu, C., Radulov, I., Galuscan, A., Obistioiu, D., Morvay, A. A., Sumalan, R. M., Poiana, M. A., Pop, G., & Dehelean, C. A. (2018). Phytochemical screening and biological activity of Lamiaceae family plant extracts. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 15(2), 1863-1870. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.5640>
- Danial Sarfaraz, Rahimmalek, M., Saeidi, G. (2021). Polyphenolic and molecular variation in *Thymus* species using HPLC and SRAP analyses. *scientific reports*, 11(1), 5019. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84449-6>
- Doghish, A. S., Shehabeldine, A. M., El-Mahdy, H. A., Hassanin, M. M. H., Al-Askar, A. A., Marey, S. A., AbdElgawad, H., & Hashem, A. H. (2023). *Thymus Vulgaris* Oil Nanoemulsion: Synthesis, Characterization, Antimicrobial and Anticancer Activities. *Molecules*, 28(19), 6910. <https://doi.org/10.3390/molecules28196910>
- EDQM. (2016). 2.8.12. Essential Oils in Herbal Drugs. In *European Pharmacopoeia, European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM)* (Vol. 1). Council of Europe.
- El Yaagoubi, M., Mechqoq, H., El Hamdaoui, A., Jrv Mukku, V., El Mousadik, A., Msanda, F., & El Aouad, N. (2021). A review on Moroccan *Thymus* species: Traditional uses, essential oils chemical composition and biological effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 278, 114205. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114205>
- Emami Bistgani, Z., & Sefidkon, F. (2019). Review on ethnobotany, phytochemical, molecular and pharmacological activity of *Thymus daenensis* Celak. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22, 101400. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101400>
- Ersan Bektaş, Dimitra Daferera, Münevver Sökmen, Gönül Serdar, Murat Ertürk, Moschos G Polissiou & Atalay Sökmen. (2016,). In vitro antimicrobial, antioxidant, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from *Thymus nummularis* M. Bieb. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 15(3), 403-410.

- Ersin Yücel, Önen, F., Yücel, D. (2019). Investigation of Medicinal Plant Production and Trade Potential in Turkey. *International Journal of Environmental Research and Technology*, 2(3) 199-203.
- Federation, I. D. (2024). *IDF Diabetes Atlas – Global Data*. Retrieved 11 nisan 2025 from <https://diabetesatlas.org/data-by-location/global/>
- Güner, A., Özhatay, N., & Ekim, T. (1982). *Thymus* L. In P. H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Vol. 7, pp. 339–390). Edinburgh University Press.
- Gurdal, B., & Kultur, S. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Mugla, Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1), 113-126. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.012>
- HealthCare (EDQM), E. D. f. t. Q. o. M. (2023). Thyme oil, thymol type. In *European Pharmacopeia* (11th ed. ed., Vol. 1, pp. 1754-1756). Council of Europe.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Javidnia, K., & Shafaghat, A. (2003). Composition of the essential oil of *Thymus carmanicus*. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(5), 442–444. <https://doi.org/10.1002/ffj.1225>
- Joulain, D., König, W. A., & Hochmuth, D. H. (2001). Terpenoids and related constituents of essential oils. *Acta Pharmaceutica*, 57, 90-123.
- Karakose, M. (2022). An ethnobotanical study of medicinal plants in Guce district, north-eastern Turkey. *Plant Divers*, 44(6), 577-597. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2022.03.005>
- Kazeem, M. I., Adamson, J. O., & Ogunwande, I. A. (2013). Modes of inhibition of α - amylase and α -glucosidase by aqueous extract of *Morinda lucida* Benth leaf. *Biomed Res Int*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/527570>
- Koşar, M., Göger, F., & Can Başer, K. H. (2008). In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia virgata* Jacq. from Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7), 2369-2374. <https://doi.org/10.1021/jf073516b>
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*, 89(3), 217-233. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.04.008>
- Kubatka, P., Uramova, S., Kello, M., Kajo, K., Samec, M., Jasek, K., Vybohova, D., Liskova, A., Mojzis, J., Adamkov, M., Zubor, P., Smejkal, K., Svajdlenska, E., Solar, P., Samuel, S. M., Zulli, A., Kassayova, M., Lasabova, Z., Kwon, T. K.,...Busselberg, D. (2019). Anticancer Activities of *Thymus vulgaris* L. in Experimental Breast Carcinoma in Vivo and in Vitro. *Int J Mol Sci*, 20(7). <https://doi.org/10.3390/ijms20071749>
- Kucukbay, F. Z., & Kuyumcu, E. (2010). Essential oil composition of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jals from Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 22(5), 3615–3621.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118-126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- Mahdavi, A., Moradi, P., & Mastinu, A. (2020). Variation in Terpene Profiles of *Thymus vulgaris* in Water Deficit Stress Response. *Molecules*, 25(5). <https://doi.org/10.3390/molecules25051091>

- Mani, S. (2016). Importance And Uses Of Medicinal Plants – An Overview. *International Journal of Preclinical & Pharmaceutical Research*, 7, 67.
- Marrelli, M. (2021). Medicinal Plants. *Plants (Basel)*, 10(7), 1355. <https://doi.org/10.3390/plants10071355>
- Miguel, G., Simões, M., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Carvalho, L. (2004). Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespititius*, *Thymus camphoratus* and *Thymus mastichina*. *Food Chemistry*, 86(2), 183-188. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.031>
- Miloš Nikolić, M., Jasmina Glamočlija, PhD, Isabel C.F.R. Ferreira, PhD, Ricardo C., & Calhelha, P., Ângela Fernandes, MSc, Tatjana Marković, PhD, Dejan Marković, PhD, Abdulhamed Giweli, PhD, Marina Soković, PhD. (2013). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*. 52, 183–190. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.09.030>.
- Möller, R., Nürnberg, G., Albrecht, E., Ruth, W., Brockmann, G. A., & Dannenberger, D. (2019). A Method for Analyzing Fatty Acids in Cattle Hair, with Special Emphasis on Lauric Acid and Myristic Acid. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(11). <https://doi.org/10.1002/ejlt.201900143>
- Ozturk, D., Yaylaci, O. K., Koyuncu, O., Sezer, O., Ozgisi, K., & Ocak, A. (2022). A new species of *Thymus* (Lamiaceae) from central Anatolia (Turkey). *Pakistan Journal of Botany*, 54(2), 253–259. [https://doi.org/10.30848/pjb2022-2\(7\)](https://doi.org/10.30848/pjb2022-2(7))
- Ozyurek, M., Gungor, N., Baki, S., Guclu, K., & Apak, R. (2012). Development of a silver nanoparticle-based method for the antioxidant capacity measurement of polyphenols. *Analytical Chemistry*, 84(18), 8052-8059. <https://doi.org/10.1021/ac301925b>
- Pakdemirli, B. (2020). Economic Importance Of Medicinal And Aromatic Plants In Turkey : The Examples Of Thyme And Lavender. *Bahçe*, 49(1), 51-58.
- Palanisamy, U. D., Ling, L. T., Manaharan, T., & Appleton, D. (2011). Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. *Food Chemistry*, 127(1), 21-27. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.070>
- Patil, S. M., Ramu, R., Shirahatti, P. S., Shivamallu, C., & Amachawadi, R. G. (2021). A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological aspects of *Thymus vulgaris* Linn. *Heliyon*, 7(5). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07054>
- Perez-Magarino, S., Bueno-Herrera, M., & Asensio, S. M. M. C. (2024). Characterization of Bioactive Phenolic Compounds Extracted from Hydro-Distillation By-Products of Spanish Lamiaceae Plants. *Molecules*, 29(22), 5285. <https://doi.org/10.3390/molecules29225285>
- Pilar Prieto, M. P., 2 and Miguel Aguilar. (1999). Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E1. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337-341.
- Qi, N., Gong, X., Feng, C., Wang, X., Xu, Y., & Lin, L. (2016). Simultaneous analysis of eight vitamin E isomers in *Moringa oleifera* Lam. leaves by ultra performance convergence chromatography. *Food Chemistry*, 207, 157-161. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.089>

- Rachid, Z. N. M. (2013). <Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus*.pdf>. *Medicinal and Aromatic Plant Research Journal*, 1(1).
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- Rodrigues, M., Lopes, A. C., Vaz, F., Filipe, M., Alves, G., Ribeiro, M. P., Coutinho, P., & Araujo, A. (2020). *Thymus mastichina*: Composition and Biological Properties with a Focus on Antimicrobial Activity. *Pharmaceuticals (Basel)*, 13(12), 479. <https://doi.org/10.3390/ph13120479>
- Rupasinghe, E. D. G. B. G. D. H. H. P. V. (2019). Evaluation of In vitro Antidiabetic Potential of *Thymus schimperi* R. and *Thymus vulgaris* L. *Journal of Health, Medicine and Nursing*. <https://doi.org/10.7176/jhmn/69-02>
- Rustaiyan, A., & Masoudi, S. (2000). Volatile constituents of *Thymus daenensis* subsp. *daenensis*. *Journal of Essential Oil Research*, 12(6), 728–730. <https://doi.org/10.1080/10412905.2000.9699687>
- S. Taher, M., Salloom, Y. F., Hussein Al-Asadi, R. A. U., Al-Mousswi, Z. J., & Alamrani, H. A. (2021). The medicinal importance of Thyme plant (*Thymus vulgaris*). *Biomedicine*, 41(3), 531-534. <https://doi.org/10.51248/v41i3.708>
- Sargin, S. A., Akcicek, E., & Selvi, S. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants used by the local people of Alasehir (Manisa) in Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(3), 860-874. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.09.040>
- Schepetkin, I. A., Özek, G., Özek, T., Kirpotina, L. N., Kokorina, P. I., Khlebnikov, A. I., & Quinn, M. T. (2022). Neutrophil Immunomodulatory Activity of Nerolidol, a Major Component of Essential Oils from *Populus balsamifera* Buds and Propolis. *Plants*, 11(23), 3399. <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/23/3399>
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *Food Science and Technology*, 150. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Sofowora, A., Ogunbodede, E., & Onayade, A. (2013). The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 10(5), 210-229. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v10i5.2>
- Svetlana Kulevanova^{1*}, M. S., Tatjana Kadifkova Panovska¹, Jasmina Tonic¹, Trajce Stafilov². (2002). Determination of flavones in species of *Thymus* L. (Lamiaceae) from Macedonian flora. *Macedonian pharmaceutical bulletin*, 47 (1,2), 43–48..
- Tohidi, B., Rahimmalek, M., Arzani, A., & Sabzalian, M. R. (2020). Thymol, carvacrol, and antioxidant accumulation in *Thymus* species in response to different light spectra emitted by light-emitting diodes. *Food Chemistry*, 307. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125521>

- Tohidi, B., Rahimmalek, M., Arzani, A., & Trindade, H. (2020). Sequencing and variation of terpene synthase gene (TPS2) as the major gene in biosynthesis of thymol in different *Thymus* species. *Phytochemistry*, 169. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.112126>
- Trindade, H., Pedro, L. G., Figueiredo, A. C., & Barroso, J. G. (2018). Chemotypes and terpene synthase genes in *Thymus* genus: State of the art. *Industrial Crops and Products*, 124, 530-547. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.021>
- Ulcay, S. (2024). An ethnobotanical study of medicinal and wild food plants in Kırşehir (Türkiye). *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 81(1). <https://doi.org/10.3989/ajbm.614>
- Uritu, C. M., Mihai, C. T., Stanciu, G. D., Dodi, G., Alexa-Stratulat, T., Luca, A., Leon-Constantin, M. M., Stefanescu, R., Bild, V., Melnic, S., & Tamba, B. I. (2018). Medicinal Plants of the Family Lamiaceae in Pain Therapy: A Review. *Pain Research and Management*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7801543>
- Wirtu, S. F., Ramaswamy, K., Maitra, R., Chopra, S., Mishra, A. K., & Jule, L. T. (2024). Isolation, characterization and antimicrobial activity study of *Thymus vulgaris*. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-71012-2>
- Van den Broucke, C. O., Dommissie, R. A., Esmans, E. L., & Lemli, J. A. (1982). Three methylated flavones from *Thymus vulgaris*. *Phytochemistry*, 21(10), 2581–2583. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(82\)85261-8](https://doi.org/10.1016/0031-9422(82)85261-8)
- Yıldırım, Ş. (2012). The Herb Journal Of Systematic Botany. *Ot SistematiK Botanik Dergisi*, 19, 1-51.

ÖZ GEÇMİŞ

Adı Soyadı : kenan AL KHATİB

Yabancı Dil : Arapça, ingilizce, İspanyolca

Eğitim Bilgileri:

Lisans eğitimini 2016–2020 yılları arasında Şam'da Syrian Private Üniversitesinde eczacılık fakültesinde tamamladı.

Mesleki Deneyimi:

2020-2021 yılları arasında mezun olduğu üniversitede laboratuvar asistanı olarak çalıştı.

