



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



THYMUS CILICICUS BOISS. & BALANSA ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Hatice Yaren UĞURLU

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Alper GÖKBULUT

ANKARA
2025

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

THYMUS CILICICUS BOISS. & BALANSA ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Hatice Yaren UĞURLU

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Alper GÖKBULUT

ANKARA
2025

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Thymus cilicicus* Boiss. & Balansa Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Hatice Yaren UĞURLU

Tarih: .../.../2025

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalında

Hatice Yaren UĞURLU tarafından hazırlanan

“THYMUS CILICICUS BOISS. & BALANSA ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: .../.../2025

İmza
Prof. Dr. Alev ÖNDER
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza
Doç. Dr. Alper GÖKBULUT
Ankara Üniversitesi
Raportör

İmza
Dr. Öğr. Üyesi Tuğba GÜNBATAN
Gazi Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

***Thymus cilicicus* Boiss. & Balansa Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar**

Bu çalışma kapsamında, Lamiaceae familyasına ait bir bitki taksonu olan *Thymus* L. cinsinin *Thymus cilicicus* türü üzerinde bazı farmakognozik çalışmaların yapılması hedeflenmiştir. Çalışmada Türkiye’de yetişen *T. cilicicus* bitkisi kullanılmıştır. Bitkinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarından Soxhlet ekstraksiyonu ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemi kullanılarak etanol, metanol, etil asetatlı ekstreler hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstreler, bitkinin kimotripsin ve tripsin enzimlerini inhibe edici aktivitesini değerlendirmek için kullanılmıştır. Yapılan inhibisyon testinden elde edilen veriler *T. cilicicus* türünün tripsin ve kimotripsin enzimleri üzerinde önemli inhibitör aktivite sergilediğini göstermiştir. İnhibisyon yüzde oranı yüksek bulunan ekstreler bitkinin fitokimyasal yapısını aydınlatmak için İTK ve YPSK analizlerinde kullanılmıştır. Yapılan İTK analizinden elde edilen kromatogramlara bakıldığında bitkide rosmarinik asit başta olmak üzere klorojenik asit, luteolin ve kafeik asit varlığı saptanmıştır. Bitkide bulunan fenolik bileşikler ve flavonoidlerin kalitatif ve kantitatif analizleri YPSK yöntemi ile yapılmıştır. YPSK sonuçları da bitkide bulunan ana bileşiklerin rosmarinik asit, kafeik asit, klorojenik asit ve luteolin olduğunu göstermiştir. Tespit edilen bileşikler için miktar tayini yapılmıştır. İTK ve YPSK analizlerinden elde edilen verilerin paralellik gösterdiği gözlemlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Kimotripsin, Rosmarinik Asit, *Thymus cilicicus*, Tripsin, YPSK.

SUMMARY

Pharmacognostic Investigation on *Thymus cilicicus* Boiss. & Balansa

This study aims to conduct certain pharmacognostic analyses on *Thymus cilicicus*, a species belonging to the genus *Thymus* L., a plant taxa belonging to the family Lamiaceae. In this research, *T. cilicicus* samples growing in Türkiye were used. Extracts from both the aerial and subterranean parts of the herb were prepared using the Soxhlet extraction and ultrasonic extraction methods with ethanol, methanol, ethyl acetate solvents. Subsequently, these extracts were tested to assess the inhibitory activities against the enzymes chymotrypsin and trypsin. According to the results of inhibition assay, *T. cilicicus* showed significant inhibitory activity on trypsin and chymotrypsin enzymes. Extracts exhibiting high inhibition percentages were selected for use in TLC and HPLC analyses to shed a light upon phytochemical composition of the plant. When the chromatograms obtained from the TLC analysis were scrutinized, the existence of rosmarinic acid, chlorogenic acid, luteolin and caffeic acid was discovered in the plant. Qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds and flavonoids in the plant was performed by HPLC method. HPLC results demonstrated that the major compounds found in the plant were rosmarinic acid, caffeic acid, chlorogenic acid and luteolin. Quantitation was performed for the identified compounds. It was observed that the data obtained from the HPLC and TLC analyses were in parallel.

Anahtar Sözcükler: Chymotrypsin, Rosmarinic Acid, *Thymus cilicicus*, Trypsin, HPLC.

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	x
Şekiller	xii
Çizelgeler	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Lamiaceae Familyasının Botanik Özellikleri	1
1.2. <i>Thymus</i> L. Cinsinin Botanik Özellikleri	2
1.2.1. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Balansa'nın Botanik Özellikleri	3
1.2.2. Türkiye Florasında Yetişen <i>Thymus</i> Türleri	3
1.2.3. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Balansa'nın Sistematikteki Yeri	5
1.3. <i>Thymus</i> L. Türleri Üzerindeki Fitokimyasal Çalışmalar	5
1.3.1. Uçucu Yağlar	5
1.3.2. Flavonoidler	9
1.3.3. Fenolik Bileşikler	12
1.3.4. Steroidler	17
1.4. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Balansa Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	17
1.5. <i>Thymus</i> L. Türlerinin Geleneksel Kullanımı	19
1.6. <i>Thymus</i> L. Türleri Üzerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları	20
1.6.1. <i>In vivo</i> ve <i>In vitro</i> Çalışmalar	20
1.6.1.1. Antibakteriyel Etki	20
1.6.1.2. Sitotoksik Aktivite	22
1.6.1.3. Böcek Öldürücü Aktivite	23
1.6.1.4. Antioksidan Aktivite	24
1.6.1.5. Enzim İnhibitör Aktivite	25
1.6.1.6. Antiinflamatuvar ve Analjezik Etki	26
1.6.2. Klinik Çalışmalar	27
1.7. <i>Thymus cilicicus</i> Türü Üzerindeki Biyolojik Aktivite Çalışmaları	27
1.7.1. Böcek Öldürücü Aktivite	27

1.7.2. Antioksidan Aktivite	28
1.7.3. Sitotoksik Aktivite	28
1.7.4. Enzim İnhibitör Aktivite	28
1.8. Tripsin ve Kimotripsin Enzimlerinin İnhibisyonu	28
2. GEREÇ ve YÖNTEM	31
2.1. Bitki Materyali	31
2.2. <i>Thymus cilicicus</i> Üzerinde Fitokimyasal İçerik Çalışmaları	31
2.2.1. Ekstraksiyon Yöntemleri	31
2.2.2. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Balansa'nın İnce Tabaka Kromatografisi ile Fitokimyasal Analizi	31
2.2.3. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Balansa'daki Bazı Fenolik Bileşiklerin ve Flavonoitlerin YPSK ile Miktar Tayini	32
2.2.3.1. YPSK Analiz Koşulları	33
2.2.3.2. Fenolik Bileşiklerin ve Flavonoitlerin Miktar Tayinleri	34
2.2.3.3. Standart Bileşikler İçin Doğru Denklemlerinin Hesaplanması	34
2.2.3.4. Teşhis Sınırı ve Miktar Tayini Sınır Değerinin Hesaplanması	35
2.3. Aktivite Testleri	35
2.3.1. Kimotripsin İnhibe Edici Aktivite	35
2.3.2. Tripsin İnhibe Edici Aktivite	35
3. BULGULAR	37
3.1. <i>Thymus cilicicus</i> Ekstreleri	37
3.1.1. Soxhlet Ekstraksiyonu	37
3.1.2. Ultrasonik Ekstraksiyon	37
3.2. <i>T. cilicicus</i> 'un İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi	38
3.3. <i>T. cilicicus</i> 'un Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Analizleri	39
3.3.1. Standart Bileşiklerin Doğru Denklemleri	40
3.3.2. Standartların LOQ Derişimlerindeki Alan Ortalamaları, SD ve % RSD Verileri	40
3.3.3. <i>T. cilicicus</i> Boiss. & Balansa'nın YPSK Analizinden Elde Edilen Kromatogramlar	41
3.4. Enzim İnhibe Edici Testleri	47
3.4.1. Kimotripsin İnhibe Edici Aktivite Testi	47
3.4.2. Tripsin İnhibe Edici Aktivite Testi	48
4. TARTIŞMA	49
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	62

ÖNSÖZ

Dünya çapında geniş dağılımı olan *Thymus* L. türleri antibakteriyel, antispazmodik, antiseptik ve antiromatizmal etkilerinden dolayı özellikle sindirim ve solunum rahatsızlıklarında halk arasında yaygın kullanılmaktadır. *Thymus* L. türlerinden fitokimyasal analizlerle elde edilen bileşiklerin pek çok biyolojik aktiviteden sorumlu olduğu görülmüştür. Ülkemizde de yetişen *Thymus cilicicus* Boiss. & Balansa türü ile ilgili fitokimyasal analizler ve aktivite çalışmalarının azlığı bizi bitki üzerinde çalışmaya yönlendirmiştir. *T. cilicicus*'un tripsin ve kimotripsin enzimlerini inhibe edici özelliğinin test edilmesi ilk kez bu tez çalışmasında gerçekleştirilmiştir. Ulaşılan bulgular ile bilim dünyasına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

Bu çalışmanın her aşamasında yolumu aydınlatan, özgür düşüncenin ve bilimin önünü açan, miras olarak bıraktığı çağdaş ve akılcı düşünce anlayışıyla rehber olan Ulu Önder Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK'ü minnet, saygı ve özlemle anıyorum.

Çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, yaşadığım zorlukları desteğiyle aşmamı sağlayan, akademik ve insani duruşuyla bana örnek teşkil eden, rehberliği için minnettar olduğum değerli hocam Doç. Dr. Alper GÖKBULUT'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Farmakognozi Anabilim Dalı'nın kıymetli akademisyenlerine katkı ve destekleri için teşekkür ederim.

Enzim inhibe edici aktivite çalışmalarındaki desteğinden ötürü sevgili hocam Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Tuğba GÜNBATAN'a teşekkür ederim.

Bu süreci beraber yürüdüğüm, her çalışmada büyük desteğini gördüğüm, lisansüstü eğitim sürecimin bana en değerli katkılarından sevgili arkadaşım Arş. Gör. Ozan BIYIKLI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca beni yüreklendiren ve pes etmeme izin vermeyen; tez çalışmam sırasında koşulsuz sevgi, sabır ve anlayış gösteren, tüm başarılarımın en büyük destekçisi olan sevgili aileme derin bir minnet duygusuyla teşekkürlerimi sunuyorum.



SİMGELER ve KISALTMALAR

A549	Akciğer Karsinomu Hücre Hattı
α	Alfa
AChE	Asetilkolinesteraz
AEF	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
β	Beta
BChE	Bütirilkolinesteraz
C-NMR	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
cm	Santimetre
δ	Delta
DAD	Diode Array Dedector
DMSO	Dimetil sülfoksit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
γ	Gama
GC	Gas Chromatography
GC-MS	Gas Chromatography/Mass Spectroscopy
GST	Glutasyon S- transferaz
H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
HCT116	Kolon Hücre Hattı
HeLa	Servikal Kanser Hücre Hattı
HePG2	İnsan Hepatoselüler Karsinoma Hücre Hattı
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HPTLC	High Performance Thin Layer Chromatography
HS-SPME	Headspace Solid Phase Microextraction
IC ₅₀	Inhibitory Concentration 50%
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
KB	Oral Karsinoma
LC ₅₀	Lethal Concentration 50%
LC ₉₀	Lethal Concentration 90%
LC-APCI-MS	Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemical Ionization- Mass Spectrometry
LC-MS	Liquid Chromatography- Mass Spectrometry
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantification
m	Metre

μ	Mikro
MCF-7	İnsan Meme Karsinomu Hücre Hattı
MDA-MB-231	Meme Kanseri Hücre Hattı
mg	Miligram
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
mL	Mililitre
μ M	Mikromolar
mm	Milimetre
MS	Mass Spectrometry
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromit
nm	Nanometre
<i>p</i>	Para
PC3	Prostat Kanseri Hücre Hattı
PDA	Photo Diode Array
PMSF	Phenylmethylsulfonyl fluoride
ppm	Parts Per Million
RSD	Relative Standard Deviation
SD	Standard Deviation
TÜBİVES	Türkiye Bitkileri Veri Servisi
UV	Ultraviyole
UV-VIS	Ultraviyole-Visible
YPSK	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. <i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Balansa	3
Şekil 1.2. Metil(1-metiletil)-benzen (1), karyofillen (2), timol (3), 1,4-sikloheksadin (4), karvakrol (5)	6
Şekil 1.3. α -Terpinen	6
Şekil 1.4. Kafur (1), kamfen (2), α -pinen (3), 1,8-sineol (4), borneol (5), β -pinen (6)	7
Şekil 1.5. γ -Terpinen (1), <i>p</i> -simen (2), linalol (3), mirsen (4)	7
Şekil 1.6. α - Terpinil asetat (1), α - terpineol (2), bornil asetat (3)	8
Şekil 1.7. δ -Thujone	8
Şekil 1.8. Luteolin-7- <i>O</i> - β -glukopiranozit (1), eriodiktiyol-7-rutinozit (2), apigenin-7-rutinozit (3), apigenin- 6,8-di- <i>C</i> - β -glukopiranozit (4)	10
Şekil 1.9. Apigenin-7- <i>O</i> -glukozit (1), luteolin (2)	11
Şekil 1.10. Apigenin	11
Şekil 1.11. Rosmarinik asit	12
Şekil 1.12. Sinnamik asit (1), luteolin-7- <i>O</i> -rutinozit (2)	12
Şekil 1.13. Kateşin (1), kafeik asit (2), klorojenik asit (3), <i>p</i> -kumarik asit (4), rutin (5)	13
Şekil 1.14. Ferulik asit (1), gallik asit (2)	14
Şekil 1.15. Kinik asit	14
Şekil 1.16. <i>p</i> -Hidroksi fenilasetik asit (1), vanilik asit (2)	15
Şekil 1.17. Protokateşik asit (1), benzoik asit (2), salisilik asit (3)	15
Şekil 1.18. Hiperozit	16
Şekil 1.19. β -Sitosterol	17
Şekil 1.20. Verbenol	18
Şekil 1.21. Sinapik asit	18
Şekil 3.1. <i>T. cilicicus</i> 'un farklı kısımlarının etanol, metanol ve etil asetatlı ekstreleri ile standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde gün ışığında İTK kromatogramı (N ₁ -N ₆ : Ekstreler; RA: rosmarinik asit, AP: apigenin, CHL: klorojenik asit, KAF: kafeik asit, KEM: kemferol, LUT: luteolin, Q: kersetin, RUT: rutin)	38
Şekil 3.2. <i>T. cilicicus</i> 'un farklı kısımlarının etanol, metanol ve etil asetatlı ekstreleri ile standart bileşiklerin Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde UV ışık 254 nm'deki İTK kromatogramı (N ₁ -N ₆ : Ekstreler; RA: rosmarinik asit, AP: apigenin, CHL: klorojenik asit, KAF: kafeik asit, KEM: kemferol, LUT: luteolin, Q: kersetin, RUT: rutin)	38
Şekil 3.3. <i>T. cilicicus</i> 'un farklı kısımlarının etanol, metanol ve etil asetatlı ekstreleri ile standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde gün ışığında İTK kromatogramı (N ₁ -N ₆ : Ekstreler; RA: rosmarinik asit, AP: apigenin, CHL: klorojenik asit, KAF: kafeik asit, KEM: kemferol, LUT: luteolin, Q: kersetin, RUT: rutin)	39

Şekil 3.4. <i>T. cilicicus</i> 'un farklı kısımlarının etanol, metanol ve etil asetatlı ekstreleri ile standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde UV ışık 254 nm'deki İTK kromatogramı (N ₁ -N ₆ : Ekstreler; RA: rosmarinik asit, AP: apigenin, CHL: klorojenik asit, KAF: kafeik asit, KEM: kemferol, LUT: luteolin, Q: kersetin, RUT: rutin)	39
Şekil 3.5. Standartlara ait 330 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve <i>T. cilicicus</i> 'un toprak altı kısımlarından ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen metanollü ekstrenin 330 nm'deki YPSK kromatogramı (B)	41
Şekil 3.6. Standartlara ait 360 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve <i>T. cilicicus</i> 'un toprak altı kısımlarından ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen metanollü ekstrenin 360 nm'deki YPSK kromatogramı (B)	41
Şekil 3.7. Standartlara ait 360 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve <i>T. cilicicus</i> 'un toprak üstü kısımlarından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen metanollü ekstrenin 360 nm'deki YPSK kromatogramı (B)	42
Şekil 3.8. Standartlara ait 360 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve <i>T. cilicicus</i> 'un toprak altı kısımlarından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen etanollü ekstrenin 360 nm'deki YPSK kromatogramı (B)	42
Şekil 3.9. Standartlara ait 360 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve <i>T. cilicicus</i> 'un toprak altı kısımlarından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen etanollü ekstrenin 360 nm'deki YPSK kromatogramı (B)	43
Şekil 3.10. Standartlara ait 330 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve <i>T. cilicicus</i> 'un toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen etanollü ekstrenin 330 nm'deki YPSK kromatogramı (B)	43
Şekil 3.11. Standartlara ait 360 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve <i>T. cilicicus</i> 'un toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen etanollü ekstrenin 360 nm'deki YPSK kromatogramı (B)	44
Şekil 3.12. Standartlara ait 330 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve <i>T. cilicicus</i> 'un toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen metanollü ekstrenin 330 nm'deki YPSK kromatogramı (B)	44
Şekil 3.13. Standartlara ait 360 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve <i>T. cilicicus</i> 'un toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen metanollü ekstrenin 360 nm'deki YPSK kromatogramı (B)	45
Şekil 3.14. Standart klorojenik asit ve ekstredeki klorojenik asitin karşılaştırılmış UV spektrumu	45
Şekil 3.15. Standart kafeik asit ve ekstredeki kafeik asitin karşılaştırılmış UV spektrumu	45
Şekil 3.16. Standart rosmarinik asit ve ekstredeki rosmarinik asitin karşılaştırılmış UV spektrumu	46
Şekil 3.17. Standart luteolin ve ekstredeki luteolinin karşılaştırılmış UV spektrumu	46

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. YPSK analizinde uygulanan gradyan sistem	34
Çizelge 3.1. Soxhlet ekstraksiyonundan elde edilen ekstre verimleri	37
Çizelge 3.2. Ultrasonik ekstraksiyondan elde edilen ekstre verimleri	37
Çizelge 3.3. Standartların doğru denklemi, R^2 , LOD ve LOQ değerleri	40
Çizelge 3.4. Standartların alan ortalaması, SD ve %RSD değerleri	40
Çizelge 3.5. Ekstrelerdeki fenolik bileşikler ile flavonoidlerin miktarları (%)	46
Çizelge 3.6. Enzim inhibisyon testinde kullanılan numuneler	47
Çizelge 3.7. <i>T. cilicicus</i> 'un kimotripsin enzim inhibisyonu sonuçları	47
Çizelge 3.8. <i>T. cilicicus</i> 'un tripsin enzim inhibisyonu sonuçları	48
Çizelge 3.9. IC_{50} değerleri	48

1. GİRİŞ

1.1. Lamiaceae (Ballıbabagiller) Familyasının Botanik Özellikleri

Lamiaceae, Lamiales takımında yer alan Akdeniz ve Güneybatı Asya başta olmak üzere dünya çapında yayılım gösteren çift çenekli bitkilerden oluşan bir ailedir. Yaklaşık 236 cins ve 6900 ila 7200 tane tür içerdiği bildirilmiştir. Lamiaceae familyasının en çok tür içeren cinsleri arasında; *Salvia* L. (900 tür), *Scutellaria* L. (360 tür), *Stachys* L. (300 tür) ve *Plectranthus* L. Her. (300 tür), *Hyptis* Jack. (280 tür), *Teucrium* L. (250 tür) ve *Vitex* L. (250 tür), *Thymus* L. (220 tür) ve *Nepeta* L. (200 tür) bulunur (Xu ve Chang, 2017). Türkiye’de, takson sayısı bakımından üçüncü; tür sayısı bakımından dördüncü büyük familya olup 346 taksonu endemiktir. Ülkedeki endemizm oranı 1 Şubat 2017 tarihinde güncellenen verilere göre %44’tür. Dünyadaki Lamiaceae familyasına ait türlerin yaklaşık %10’u Türkiye’de bulunmaktadır (Selvi vd., 2022).

Genellikle tek yıllık veya çok yıllık bitkilerden oluşan Lamiaceae familyasının morfolojik özellikleri incelendiğinde dört köşeli ve tüylü gövde dikkat çeker. Yapraklar gövde üzerinde karşılıklı veya çapraz dizilmiştir. *Mentha piperita* L. (nane), *Lavandula officinalis* Chaix (lavanta), *Thymus vulgaris* L. (kekik) ve *Salvia officinalis* L. (adaçayı) gibi birçok türün yaprakları belirgin bir tat ve kokuya sahiptir. Çiçekler genellikle iki dudaklı (bilabiate), kaliks (çanak yaprak) ve korolla (taç yaprak) beş lobdan oluşur. Meyveler dört kuru ve etli çekirdekten oluşur (Frezza vd., 2019; Uıkey, 2024).

Lamiaceae familyasının türleri uçucu ve uçucu olmayan bileşenlerce zengindir. Uçucu yağı monoterpen (α -pinen, β -pinen, mentol vb.), diterpen ve seskiterpen (germakren, karyofillen) içeriği ile öne çıkar. Uçucu olmayan bileşenler arasında ise flavanoitler, lignanlar, iridoitler, glikozitler ve fenolik asitler yer alır. Zengin fitokimyasal içeriği Lamiaceae familyasına ait türlerin farmakolojik olarak da pek çok kullanımını öne çıkarmıştır. Örneğin; *Salvia* (adaçayı) türleri halk arasında antiinflamatuvar, karminatif, spazm giderici, balgam söktürücü olarak kullanılmaktadır. *Thymus* (kekik) türlerinin halk arasında antibakteriyel, antifungal, antioksidan ve antispazmodik kullanımı vardır. *Rosmarinus* (biberiye) türleri ise halk arasında antispazmodik, analjezik ve antiromatizmal olarak kullanılır (Frezza vd., 2019).

1.2. *Thymus* L. Cinsinin Botanik Özellikleri

Thymus, yaklaşık 220 türden oluşan Lamiaceae familyasına ait en büyük cinslerden biridir (Waheed vd., 2024). *Thymus* cinsine ait türlerin kökeni M.Ö. 3500 kadar eski tarihlere dayanmaktadır. Bazı kaynaklarda bu türe ait bitkilerin Sümerler ve eski Mısırlılar tarafından “tham” olarak adlandırıldığı belirtilmektedir. Yunanlılar ise bitkiyi aromatik kokusundan dolayı tütsü olarak kullanmış ve Yunanca “tütsülemek veya dezenfekte etmek” anlamına gelen “thyme” adıyla adlandırmıştır (Dauqan ve Abdullah, 2017).

Thymus cinsine ait türlerin tamamı Asya ve Avrupa’ya özgüdür. Güneydoğu İtalya’ya kadar uzanan Batı Akdeniz bölgesinde doğal olarak yetişir (Rashid vd., 2016). Bu cinse ait türler ılıman, sıcak, kuru ve güneşli iklimlerde yetişir (Hosseinzadeh vd., 2015). *Thymus* türleri genel olarak Mayıs ayından Eylül ayına kadar çiçek açan çok yıllık çalı olup çiçekleri genellikle pembe veya mor renklidir. Türler, yapılarında bulunan timol uçucu bileşeninden dolayı belirgin kokuya sahiptir. Ekimi ilkbahar aylarında yapılır. Engibeli topraklarda bile iyi yetişen türlerin boyu 30 cm’ye kadar uzayabilir. Yaprakları yeşilimsi-gri renkte, 2,5 ila 5 mm uzunluğunda, dikdörtgen veya oval şekilli, çok kısa saplı veya sapsızdır. Gövde kısmı yaşla birlikte odunsu hale gelir. Yaprakların şekli ve tüy özellikleri türlere göre farklılık gösterir (Prasanth vd., 2014).

Dünyada yaklaşık 220 türü bulunan *Thymus* cinsinin, Türkiye’de 38 tür ve 58 taksonu bulunmaktadır. Türkiye’de yetişen *Thymus* türlerinin %52,6’sı endemiktir (Bozdemir, 2019; Türkiye Bitkileri, 2025). Ülkemizde *Thymus* cinsine ait türlerin yetiştiriciliği Akdeniz ve Ege bölgesinde yaygındır. Özellikle; Denizli, Manisa, Uşak, Kütahya, Aydın, Antalya ve Hatay illerimizde yoğun bir şekilde tarımı yapılmaktadır (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2022).

1.2.1. *Thymus cilicicus* Boiss. & Balansa'nın Botanik Özellikleri



Şekil 1.1. *Thymus cilicicus* Boiss. & Balansa

T. cilicicus 70-2000 m yükseklikte açık kayalık ve çakıllı alanlarda yetişir. Türkiye, Suriye, Lübnan ve Doğu Ege Adaları'nda yayılım gösterir. Endemik bir tür olup Türkiye'de genel dağılımı Doğu Akdeniz ve Güney Anadolu bölgeleridir. Çok yıllık küçük çalı olan türün gövdesi 3-15 cm uzunlukta; dik, kısa ve tüylüdür. Yapraklar sapsız, mızrak şeklinde; 7-10 mm uzunluğundadır. Çiçekler mor-leylak renkli olup Nisan ayından Ağustos ayına kadar çiçeklenme dönemidir (Gürdal ve Kültür, 2013; Türkiye Bitkileri, 2025).

1.2.2. Türkiye Florasında Yetişen *Thymus* Türleri

Ülkemizde yetişen *Thymus* türleri aşağıdaki gibidir (Türkiye Bitkileri, 2025):

T. argaeus Boiss. & Balansa (Endemik)

T. atticus Celak.

T. aznavourii Velen. (Endemik)

T. bornmuelleri Velen. (Endemik)

T. brachychilus Jalas (Endemik)

T. canoviridis Jalas (Endemik)
T. cappadocicus Boiss. (Endemik)
T. cariensis Hub. – Mor. & Jalas (Endemik)
T. cherlerioides Vis. (Endemik)
T. cilicicus Boiss. & Balansa
T. comptus Friv.
T. convolutus Klokov (Endemik)
T. eigii M. Zohary & P.H. Davis
T. eriocalix (Ronniger) Jalas
T. fallax Fisch. & Mey.
T. fedtschenkoi Ronniger (Endemik)
T. haussknechtii Velen. (Endemik)
T. kotschyanus Boiss. & Hohen.
T. leucostomus Hausskn. & Velen. (Endemik)
T. leucotrichus Hal.
T. longicaulis C. Presl
T. migricus Klokov & Des. – Shost.
T. parnassicus Halacsy
T. pectinatus Fisch. & Mey. (Endemik)
T. praecox Opiz (Endemik)
T. pseudopulegioides Klokov & Des.- Shost.
T. pubescens Boiss. & Kotschy & Celak.
T. pulvinatus Celak. (Endemik)
T. revolutus Celak. (Endemik)
T. roegneri C. Koch.
T. sibthorpii Bentham
T. sipyleus Boiss.
T. spathulifolius Haussk. & Velen. (Endemik)
T. striatus Vahl.
T. syriacus Boiss.
T. thracicus Velen
T. transcaucasicus Ronniger
T. zygioides Griseb.

1.2.3. *Thymus cilicicus* Boiss. & Balansa'nın Sistematikteki Yeri

T. cilicicus Boiss. & Balansa'nın TÜBİTES (Türkiye Bitkileri Veri Servisi)'deki taksonomik olarak sınıflandırması aşağıdaki gibidir:

Alem: Plantae

Alt Alem: Tracheobionta

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Alt Sınıf: Asteridae

Takım: Lamiales

Familiya: Lamiaceae

Cins: *Thymus* L.

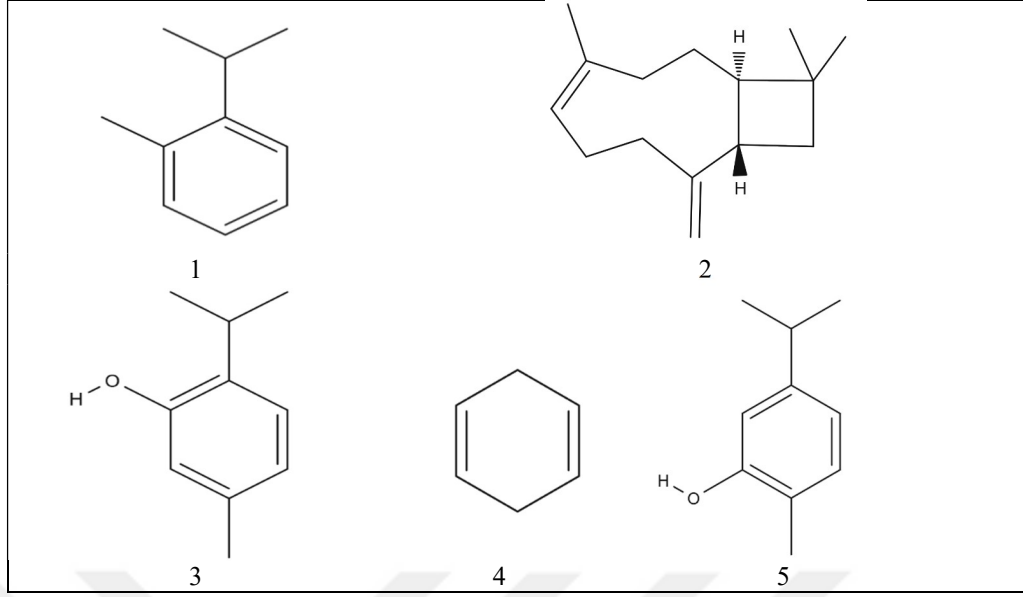
Tür: *Thymus cilicicus* Boiss. & Balansa

1.3. *Thymus* L. Türleri Üzerindeki Fitokimyasal Çalışmalar

Thymus cinsine ait bitkiler üzerinde yürütülen fitokimyasal çalışmalarda bu bitkilerin uçucu yağlar, fenolik bileşenler ve flavonoidler bakımından zengin olduğu gösterilmiştir. *Thymus* türlerinin sekonder metabolitleri kromatografik yöntemlerle (İTK, YPSK, GC vb.) analiz edilmiştir. Türkiye'de yetişen *Thymus* cinsinin 51 taksonuna ait 181 bitki örneğiyle yapılan çalışmada tüm türlerin uçucu yağ bileşimine bakıldığında en yüksek oranda timol ve karvakrol içerdikleri belirlenmiştir (Yıldız vd., 2004).

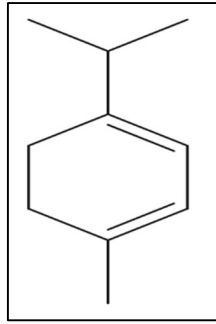
1.3.1. Uçucu Yağlar

Konya-Beyşehir ve Isparta-Kartepe Mevkii'nden toplanan *Thymus longicaulis* C. Presl'in yaprak ve çiçeklerinden elde edilen numuneler HS-SPME yöntemi ve GC-MS tekniği kullanılarak incelenmiştir. Konya-Beyşehir'den toplanan örneklerde 92 adet uçucu bileşen tespit edilmiş olup ana bileşik olarak metil(1-metiletil)-benzen (%20,77) bulunmuştur. Uçucu yağın diğer yüksek oranlı bileşenleri ise karyofillen (%15,76), timol (%11,56) ve 1,4-sikloheksadin (%10,44) ile karvakrol (%7,00) olarak tespit edilmiştir. Konya-Beyşehir Mevkii'nden toplanan örneklerin uçucu yağının yüksek oranda aromatik hidrokarbonlar içerdiği bulunmuştur (Sarıkaya vd., 2022).



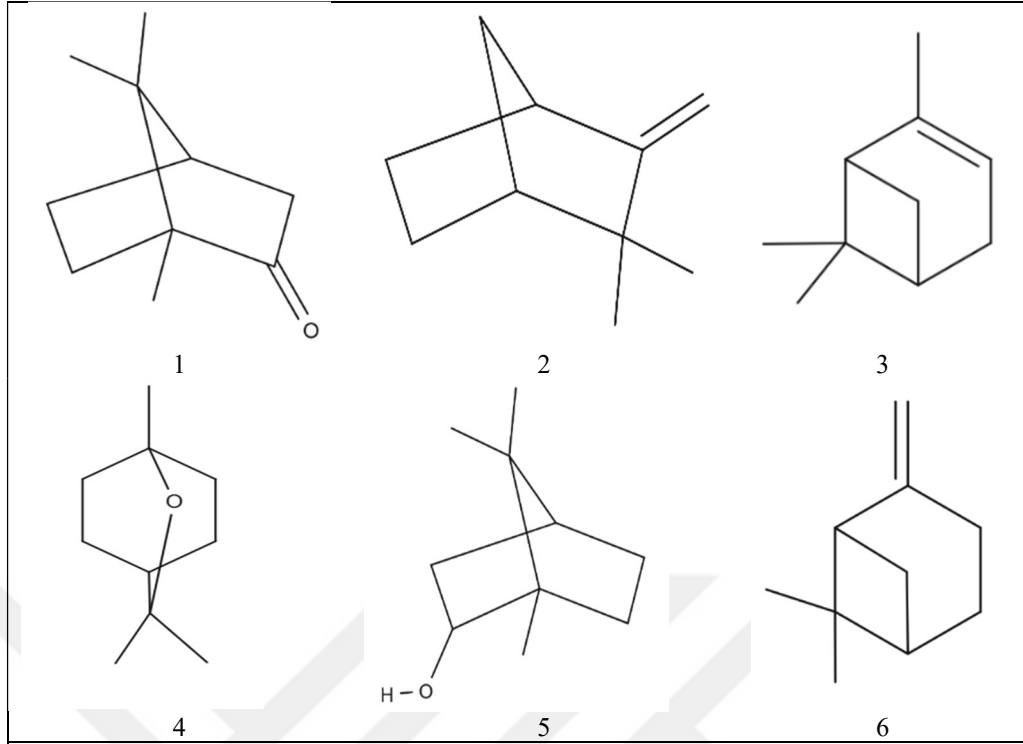
Şekil 1.2. Metil(1-metiletil)-benzen (1), karyofillen (2), timol (3), 1,4-sikloheksadin (4), karvakrol (5)

Isparta-Kartepe’den toplanıp analiz edilen bitki materyallerinde ise 51 çeşit uçucu bileşenin varlığı saptanmıştır. Majör olarak 1,4-sikloheksadin (%36,33) tespit edilmiş olup yüksek miktarda bulunan diğer bileşenler ise metil(1-metiletil)-benzen (%19,86), karyofillen (%7,08), α -terpinen (%6,37) olmuştur. Bu yöreden toplanan numunelerin uçucu yağ bileşiminde monoterpen hidrokarbonların yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir (Sarıkaya vd., 2022).



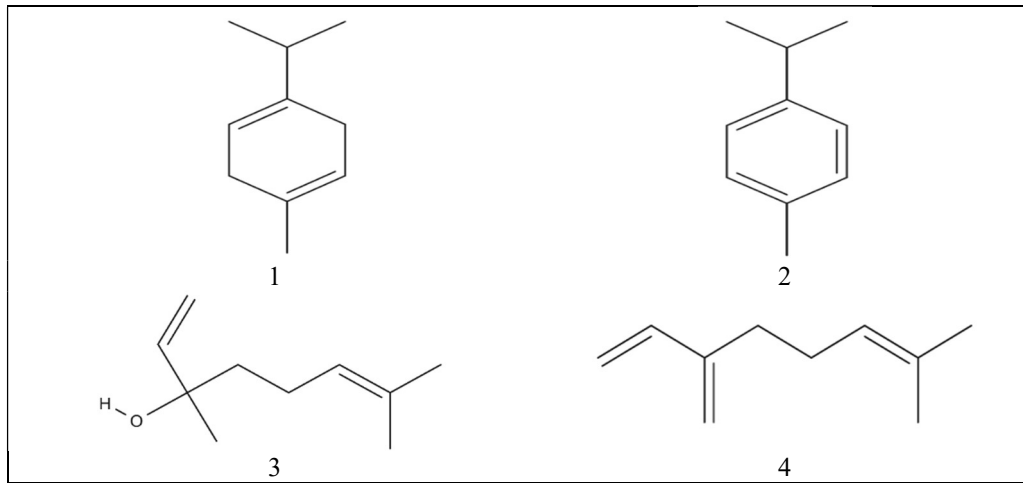
Şekil 1.3. α -Terpinen

Çiçeklenme döneminde (Mayıs 2007) Fas’tan toplanan *Thymus vulgaris* örneklerinin kurutulmuş toprak üstü bölümlerinden hidrodistilasyon yöntemi uygulanarak elde edilen uçucu yağlar, GC ile GC-MS teknikleri kullanılarak incelenmiştir. Bu çalışmada *T. vulgaris* uçucu yağının başlıca bileşenleri arasında kafur %39,39 oranıyla en baskın bileşik olarak belirlenmiş, ardından kamfen (%17,57), α -pinen (%9,55), 1,8-sineol (%5,57), borneol (%5,03), β -pinen (%4,32) sıralanmıştır. (Imelouane vd., 2009).



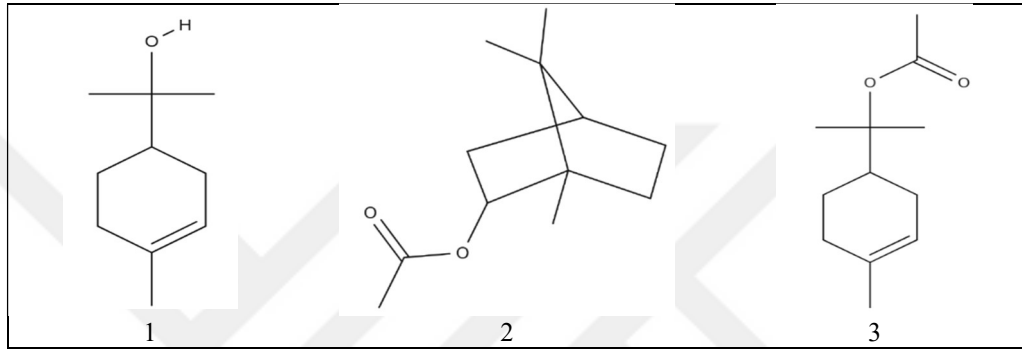
Şekil 1.4. Kafur (1), kamfen (2), α -pinen (3), 1,8-sineol (4), borneol (5), β -pinen (6)

Mersin-Mut yöresinden Ağustos 2003 tarihinde toplanan *Thymus vulgaris* bitki örneğinden hidrodistilasyon tekniğiyle elde edilen uçucu yağın içerik analizi GC ve GC-MS yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Yağda timol (%46,2) en baskın bileşik olarak tespit edilmiştir. Diğer baskın bileşikler; γ -terpinen (%14,1), *p*-simen (%9,9), linalol (%4,0), mirsen (%3,5), α -pinen (%3,0) olarak sıralanmıştır. (Ozcan ve Chalchat, 2004).



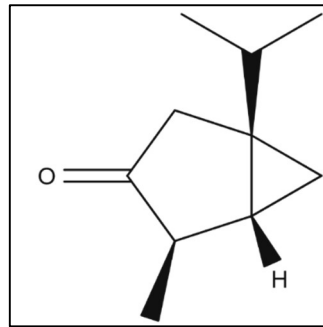
Şekil 1.5. γ -Terpinen (1), *p*-simen (2), linalol (3), mirsen (4)

Cezayir’den toplanan *Thymus munbyanus* Boiss. & Reut. türünün toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın içeriğinin belirlenmesinde GC ve GC-MS teknikleri kullanılmıştır. Bu çalışmada *T. munbyanus* türüne ait alt türlerin uçucu yağ bileşimi incelenmiştir. *T. munbyanus* subsp. *abylaeus*’da α -terpinil asetat (%51,7), α -terpineol (%9,7), borneol (%6,8) ve bornil asetat (%5,2) tespit edilmiştir. *T. munbyanus* subsp. *ciliatus* için karvakrol (%65,7), γ -terpinen (%13,6) ve *p*-simen (%7,9); *T. munbyanus* subsp. *coloratus* için kafur (%25,9), mirsen (%16,9), 1,8-sineol (%6,5) ve kamfen (%6,2) bileşikler en yüksek oranlarda tespit edilmiştir (Benomari vd., 2020).



Şekil 1.6. α - Terpinil asetat (1), α - terpeneol (2), bornil asetat (3)

Kastamonu yöresinden Temmuz 2017’de toplanan *Thymus praecox* Opiz’in uçucu yağının eldesi hidrodistilasyon yoluyla yapılmıştır. Yağın yapısının GC-MS tekniği ile analizi gerçekleştirilmiştir. Uçucu yağın yapısında 50 bileşen tespit edilmiştir. En yüksek oranda bulunan bileşikler α -terpinil asetat (%15, 89), δ -thujone (%12,71), α -pinen (%10,46), 1,8-sineol (%7,49) ve kafur (%6,89) olarak belirlenmiştir (Şener vd., 2021).



Şekil 1.7. δ -Thujone

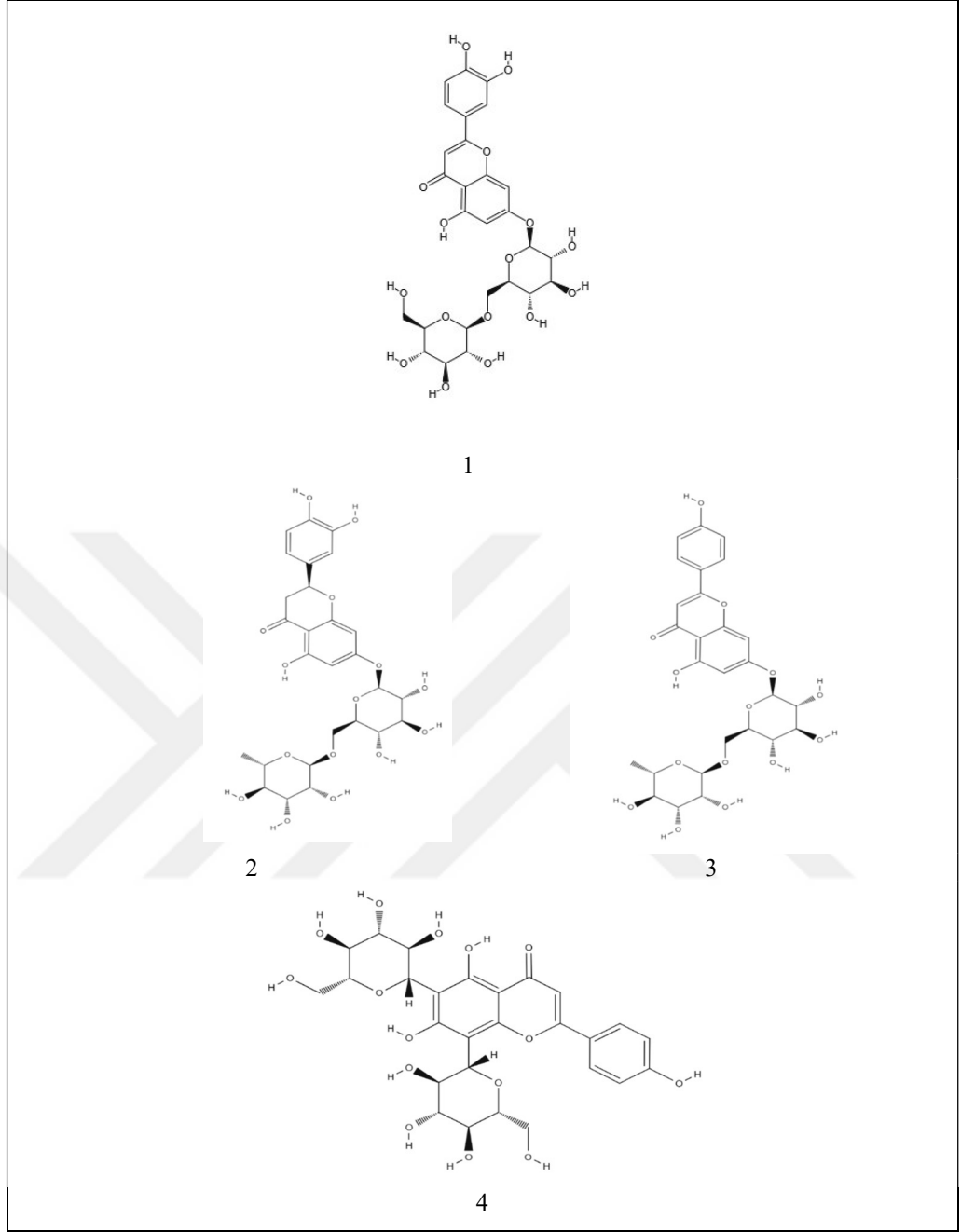
Ağustos ayında Erzurum yöresinden toplanan *Thymus canoviridis* Jalas türüne ait örneklerden hidrodistilasyon işlemi sonucunda elde edilen uçucu yağın GC-MS tekniği kullanılarak analizi

yapıldığında çok yüksek oranda karvakrol (%72,88) içerdği tespit edilmiştir. Haziran ayında Erzincan yöresinden toplanan *Thymus sipyleus* Boiss. türünden hidrodistilasyon işlemi uygulanarak elde edilen uçucu yağ GC-MS sistemi ile analiz edildiğinde en yüksek oranda 1,8-sineol (%18,16), kafur (%15,08) ve borneol (%11,63) içerdği belirlenmiştir (Yiğitkan ve Fırat, 2024).

İran-Servistan yöresinden toplanan *Thymus daenensis* Celak. bitkisinin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağın kimyasal içeriğinin analizi GC ve GC-MS teknikleri kullanılarak yapılmıştır. Yağın yapısındaki bileşik oranlarının farklı depolama sıcaklıklarında üç ay boyunca incelendiği bu çalışmada buzdolabında (4°C), dondurucuda (-20°C) ve oda sıcaklığında saklama sırasında değişiklikler tespit edilmiştir. Distilasyon sonrası uçucu yağdaki α -pinen oranı %4,3 iken üç aylık süre sonunda buzdolabında saklanan numunede %3,1'e; dondurucuda saklanan numunede %4,2'ye; oda sıcaklığında saklanan numunede ise %0,5'e düşmüştür. Benzer şekilde mirsen oranı %2,9 iken buzdolabında saklanan numunede %1,2'ye; dondurucuda saklanan numunede %1,3'e; oda sıcaklığında saklanan numunede ise %0,4'e düşmüştür. Timol oranı %27,4 iken üç ayın sonunda buzdolabında saklanan numunede %28,5'e yükselirken dondurucuda saklanan numunede %27,2'ye düşmüş olup oda sıcaklığında saklanan numunede ise %34,7 olarak tespit edilmiştir. Karvakrol oranı ise %28,8 iken dondurucuda depolanan numunede anlamlı bir farklılık göstermezken buzdolabı ve oda sıcaklığında depolanan numunelerde sırasıyla %29,9 ve %35,7'ye yükselmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre düşük kaynama noktasına sahip bileşikler oda sıcaklığında depolandığında uçucu yağ kaybı daha fazla olmaktadır. Yağ bileşiminin ve kalitesinin en fazla korunduğu sıcaklıkların ise -20 derece gibi düşük sıcaklıklar olduğu tespit edilmiştir. Oda sıcaklığında bekletilen uçucu yağ numunesindeki timol ve karvakrol oranındaki artışın ise öncülleri olan *p*-simen ve γ -terpinenden aromatisasyon ve hidroksilasyon ile oluşabileceği üzerinde durulmuştur (Rowshan vd., 2013).

1.3.2. Flavonoidler

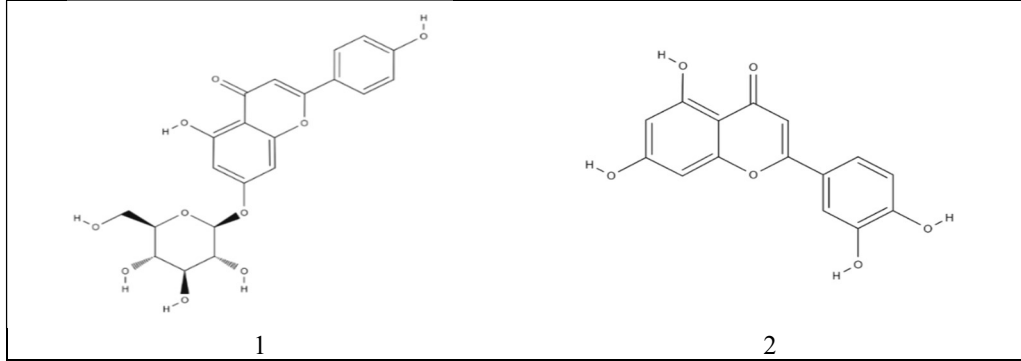
Thymus türleri zengin bir flavonoid kaynağıdır. *Thymus vulgaris*'in kurutulmuş yaprakları %95'lik etanol ile 2 hafta boyunca ekstre edilmiştir. Çözücünün uzaklaştırılmasından sonra kalan ekstreye su ilave edilerek sırasıyla etil asetat ve *n*-butanol ile yeniden ekstraksiyon yapılmıştır. Çözücü buharlaştırıldıktan sonra *n*-butanol fazından kolon kromatografisi yöntemiyle 5 farklı flavonoid izole edilmiştir. İzole edilen luteolin-7-*O*- β -glukopiranozit, hesperidin, eriodiktyol-7-rutinozit, apigenin-7-rutinozit ve apigenin-6,8-di-*C*- β -glukopiranozit bileşiklerinin yapısı H-NMR, C-NMR ve MS ile aydınlatılmıştır (Wang vd., 1998).



Şekil 1.8. Luteolin-7-O-β-glukopiranozit (1), eriodiktyol-7-rutinozit (2), apigenin-7-rutinozit (3), apigenin- 6,8-di-C-β-glukopiranozit (4)

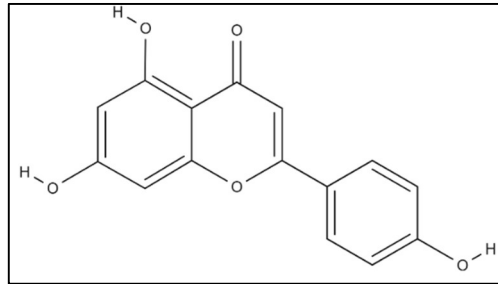
Thymus pectinatus Fisch. & C.A.Mey. ve *Thymus convolutus* Klokov'un toprak üstü kısımlarının metanol-su (7:3, v/v) karışımı ile yapılan ekstraksiyonundan metanolün uzaklaştırılmasıyla elde edilen sulu ekstrenin fitokimyasal içeriği LC-MS/MS yöntemi ile analiz edilmiştir. Her iki bitkinin de yüksek flavonoit içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. Toplam flavonoit miktarı karşılaştırıldığında *Thymus pectinatus*'a ait ekstrenin daha yüksek miktarda flavonoit içerdiği tespit edilmiştir. Her iki türde de luteolin, luteolin-7-O-glukozit ve

apigenin-7-*O*-glukozitin dikkate değer miktarlarda yer aldığı belirlenmiştir (Akman vd., 2024).



Şekil 1.9. Apigenin-7-*O*-glukozit (1), luteolin (2)

İspanya'nın güneydoğusundaki farklı iklim bölgelerinden toplanan *Thymus hyemalis* Lange ve *Thymus baeticus* Boiss. ex Lacaita'nın yaprakları dietil eter ile ekstre edildikten sonra çözücü buharlaştırılmıştır. Kuru ekstre metanol-su karışımı ile süspanse edilmiştir. Türlerin flavonoit içeriğini belirlemek ve iki tür arasındaki fitokimyasal farklılıkları analiz etmek için HPLC-DAD ve LC-APCI-MS yöntemleri kullanılmıştır. *Thymus hyemalis* türünde en yüksek oranda tespit edilen flavonoit luteolin iken *Thymus baeticus* türünde apigenin olmuştur (Horwath vd., 2008).

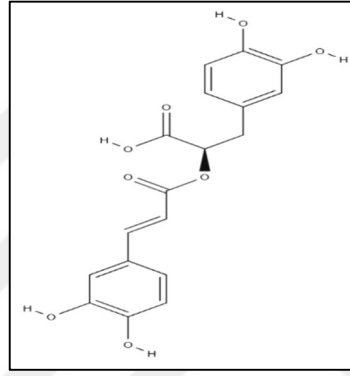


Şekil 1.10. Apigenin

Portekiz-Algavre bölgesinden çiçeklenme döneminde toplanan *Thymus lotocephalus* G. Lopez & R. Morales.'e ait toprak üstü kısımları su, etanol ve etanol-su (1:1, v/v) çözücülerıyla ekstre edilmiştir. Yapısındaki flavonoitler HPLC-DAD ile tanımlanmıştır. Analiz sonucunda bitkide apigenin ve luteolin varlığı tespit edilmiştir. En yüksek flavonoit verimi etanol-su karışımında tespit edilmiştir (Costa vd., 2012).

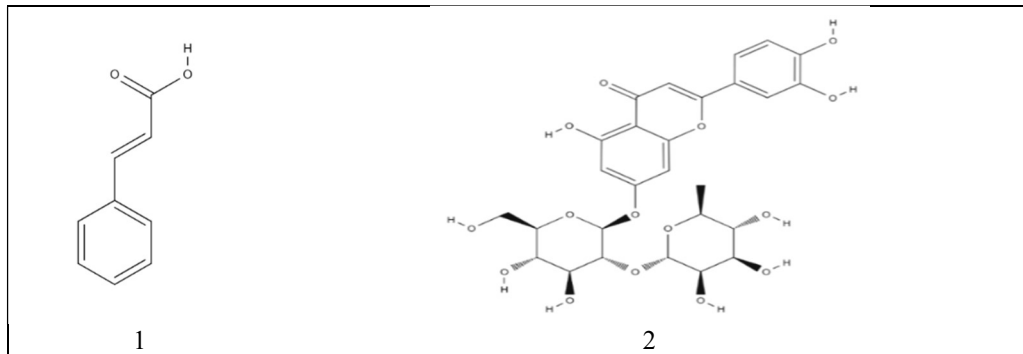
1.3.3. Fenolik Bileşikler

Lamiaceae familyasına ait bitkilerden özellikle *Thymus* türlerinde en yaygın bulunan fenolik bileşiklerin başında rosmarinik asit gelmektedir. Bu bitkilerde sekonder metabolit olarak bulunan rosmarinik asit bir kafeik asit esteridir. Soxhlet ekstraksiyonu ve ultrasonik ekstraksiyon bu bitkilerden rosmarinik asiti elde etmenin en iyi yöntemlerindendir. Rosmarinik asit eldesinde ekstraksiyon verimi kullanılan çözücüye göre farklılık gösterir. Rosmarinik asiti oksitlenmeden stabil bir şekilde elde etmek için etanol ve metanol gibi çözücüler kullanılabilir (Sik vd., 2019).



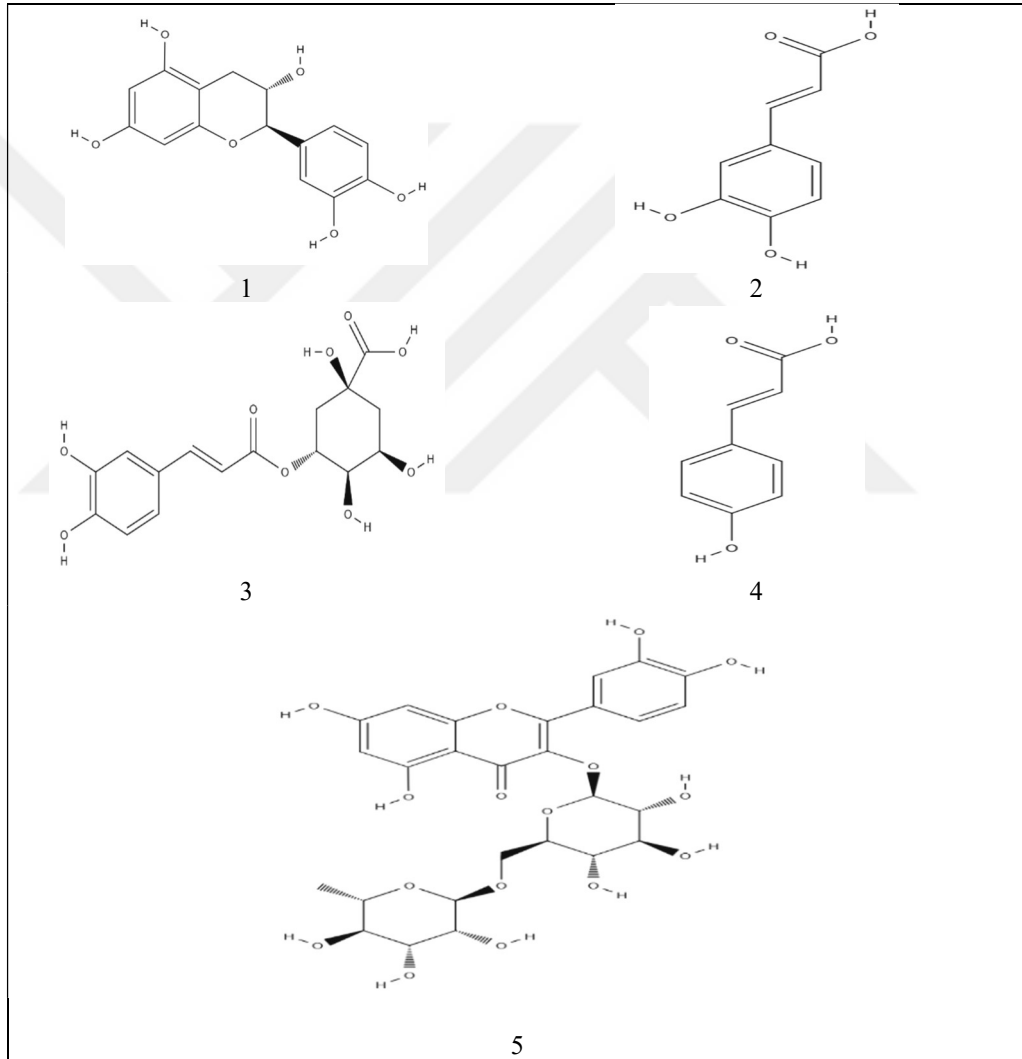
Şekil 1.11. Rosmarinik asit

Thymus vulgaris L.'den dört farklı çözücü (metanol, etanol, dietil eter ve hekzan) kullanılarak hazırlanan ekstrelerle yapılan bir çalışmada en yüksek verim metanollü ekstrede elde edilmiştir. Yapısındaki fenolik bileşikler YPSK ile analiz edilmiştir. Bulunan bileşiklerin yapısı UV-VIS spektrofotometresi ile aydınlatılmıştır. Bu analize göre *T. vulgaris* yapısında en yüksek oranda bulunan fenolik bileşikler; sinnamik asit (%28,54), apigenin (%8,88), luteolin-7-*O*-rutinozit (%7,65) ve rosmarinik asit (%7,32) olarak tespit edilmiştir (Roby vd., 2013).



Şekil 1.12. Sinnamik asit (1), luteolin-7-*O*-rutinozit (2)

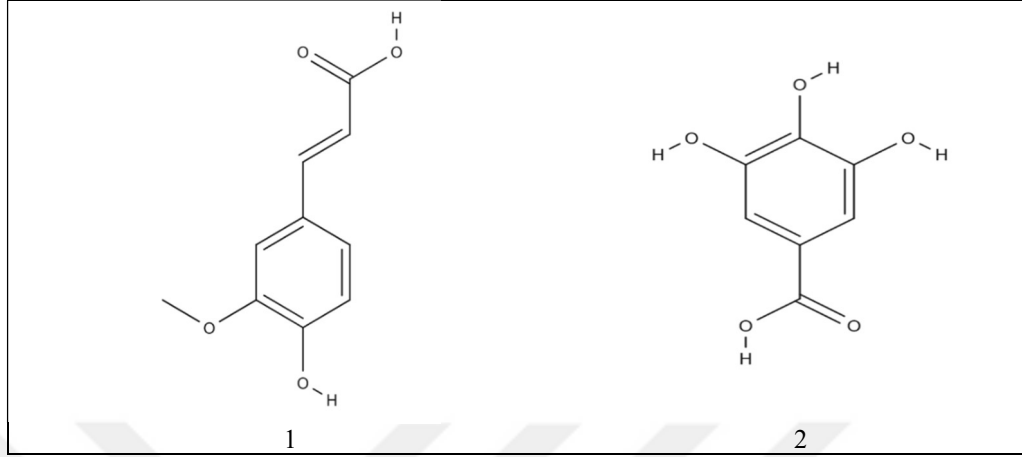
Farklı *Thymus* türleri ile yapılan bir çalışmada tüm numunelerin metanollü ekstreleri LC-MS ile analiz edilmiştir. En yüksek kateşin miktarı (7,76 µg/g) *Thymus pannonicus* All. türünde; en yüksek kafeik asit (109,59 µg/g) *Thymus serpyllum* L. türünde; en yüksek klorojenik asit (678,08 µg/g) *Thymus pulegioides* L. türünde; en yüksek *p*-kumarik asit (12,57 µg/g) *Thymus glabrescens* Willd. türünde ve en yüksek rutin (171,00 µg/g) *Thymus praecox* türünde tespit edilmiştir. İncelenen *Thymus* türlerinin hepsinde en yüksek oranda bulunan fenolik bileşiğin rosmarinik asit (83,49 µg/g ila 1436 µg/g) olduğu belirlenmiştir (Boros vd., 2010).



Şekil 1.13. Kateşin (1), kafeik asit (2), klorojenik asit (3), *p*-kumarik asit (4), rutin (5)

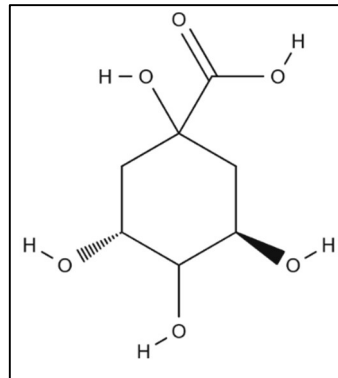
Tunus-Mornag Dağı'ndan toplanan *Thymus capitatus* L. türüne ait numuneler metanolle ekstre edilmiş ve fenolik bileşiklerin tayini ters faz YPSK ile analiz edilmiştir. Ana bileşiklerin

timol (%27,93), ferulik asit (%14,59), gallik asit (%14,25) ve rosmarinik asit (%9,90) olduğu tespit edilmiştir (Jabri-Karoui vd., 2012).



Şekil 1.14. Ferulik asit (1), gallik asit (2)

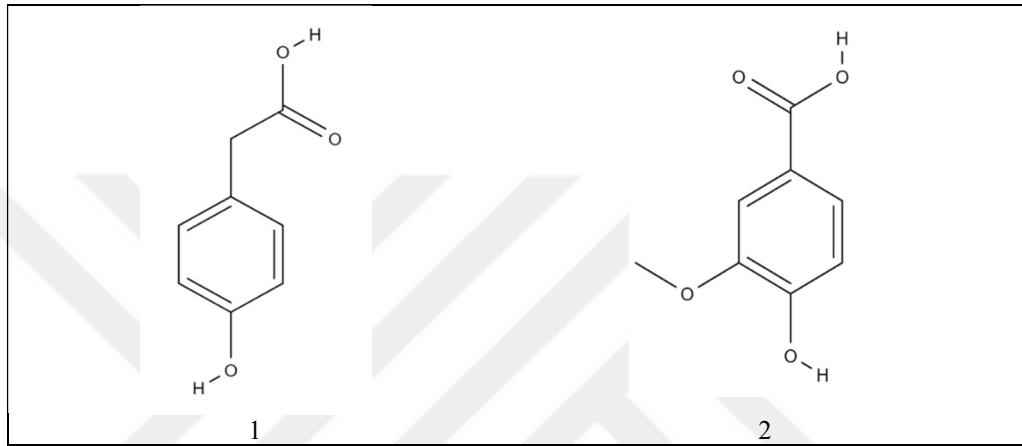
Erzincan'dan Temmuz 2018 tarihinde toplanan *Thymus pectinatus* ve *Thymus convolutus* 'un toprak üstü kısımları metanol-su (7:3, v/v) çözücü karışımı ile ekstre edildikten sonra metanol buharlaştırılmış ve kalan sulu çözelti amorf bir katı madde elde etmek amacıyla liyofilize edilmiştir. Fenolik bileşiklerin tayini için LC-MS/MS yöntemi kullanılmıştır. Her iki tür için de başlıca yüksek oranda bulunan fenolik bileşikler rosmarinik asit ve kinik asit olarak tanımlanmıştır (Akman vd., 2024).



Şekil 1.15. Kinik asit

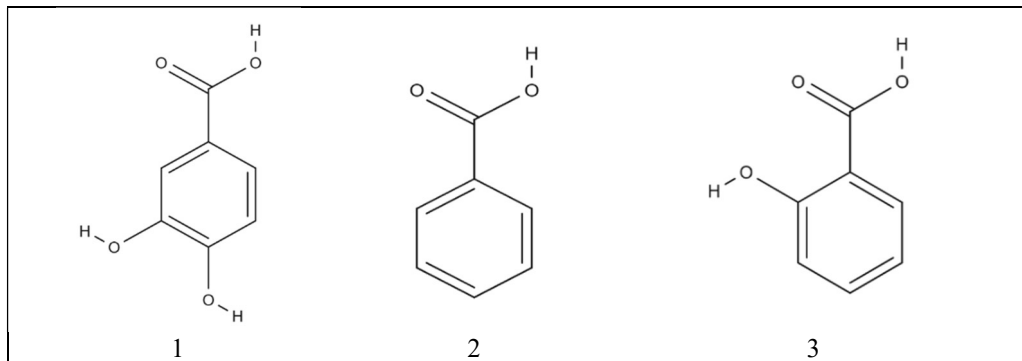
Türkiye'nin güneybatısından (Muğla-Köyceğiz) toplanan *Thymus cilicicus* ve *Thymus cariensis* Hub.-Mor. & Jalas türleri ile yapılan çalışmada, bitkilerin toprak üstü kısımları oda sıcaklığında hekzan ile ekstre edilmiştir. Hekzanın uçurulmasıyla elde edilen kuru ekstraktlar aseton ve metanol ile tekrar ekstre edilerek analize kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir. Türlerin

yapısındaki fenolik bileşiklerin analizi HPLC-DAD ile yapılmıştır. En yüksek fenolik bileşik oranı *T. cilicicus*'un metanollü ekstresinde saptanmıştır. Her iki türün de asetonlu ve metanollü ekstreleri analiz edildiğinde *T. cariensis*'te bulunan başlıca fenolik bileşikler rosmarinik asit ($26,51 \pm 1,87$ ve $30,13 \pm 2,63$ $\mu\text{g/g}$) ve *p*-hidroksi fenilasetik asit ($11,19 \pm 0,57$ ve $18,25 \pm 0,70$ $\mu\text{g/g}$) olarak tespit edilmiştir. *T. cilicicus*'ta ise rosmarinik asit ($21,57 \pm 2,24$ ve $50,93 \pm 3,10$ $\mu\text{g/g}$) ve vanilik asit ($19,65 \pm 0,35$ ve $16,37 \pm 0,58$ $\mu\text{g/g}$) olarak belirlenmiştir (Küçükaydın vd., 2021a).



Şekil 1.16. *p*-Hidroksi fenilasetik asit (1), vanilik asit (2)

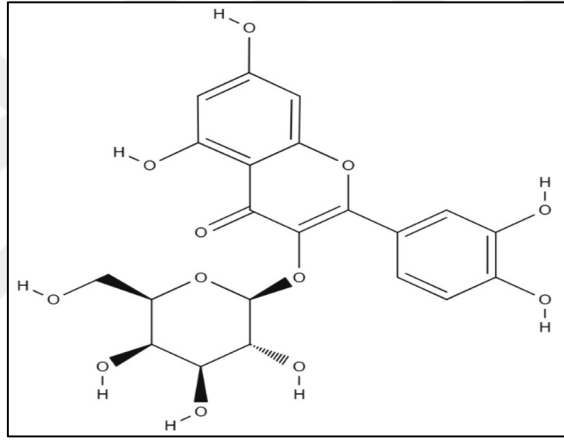
Trabzon'dan toplanan *T. nummularius* M. Bieb. 'e ait kurutulmuş bitki kısımları 24 saat boyunca metanolle üç kez ekstre edilmiştir. Fenolik bileşiklerin tespiti için LC-MS/MS yöntemi kullanılmıştır. Bitkinin ana fenolik bileşiği rosmarinik asit olmak üzere diğer yüksek oranda bulunan bileşikler protokateşik asit, kafeik asit, benzoik asit ve salisilik asit olarak tespit edilmiştir (Ertas vd., 2015).



Şekil 1.17. Protokateşik asit (1), benzoik asit (2), salisilik asit (3)

Güney Kore-Jeju Adası'ndan Ağustos 2012'de toplanan *Thymus quinquecostatus* Celak'ın toprak üstü kısımları metanolde ekstre edilmiştir. Metanol uzaklaştırıldıktan sonra etil asetat, hekzan ve *n*-butanol çözücülerıyla bir ekstraksiyon daha yapılmıştır. Fenolik bileşiklerin analizi HPLC-DAD yöntemi ile yapılmıştır. Analiz sonucunda etil asetatlı ekstrede klorojenik asit ve rosmarinik asit varlığı tespit edilmiştir (Hyun vd., 2014).

Fas'tan Nisan 2017'de toplanan *Thymus atlanticus* (Ball) Pau bitkisinin yapraklarından hem su hem de polifenollerin açığa çıkarılması için petrol eteri ile ekstreler hazırlanmıştır. Fenolik bileşiklerin tayini YPSK ile yapılmıştır. Her iki ekstrede de ana fenolik bileşik rosmarinik asit iken diğer bileşikler apigenin-7-glukozit, hiperozit ve kafeik asit olarak tespit edilmiştir (Khouya vd., 2020).

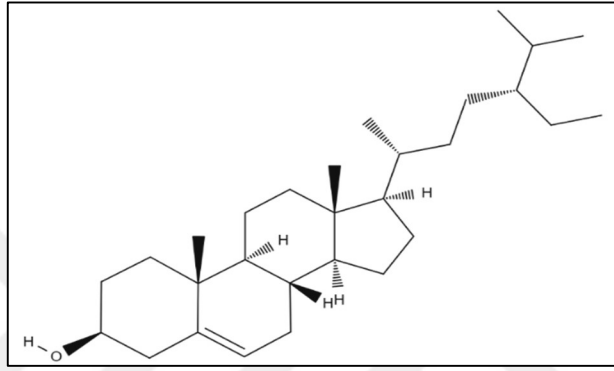


Şekil 1.18. Hiperozit

Ankara- Kırısköyü bölgesinden toplanan *Thymus sipyleus*'un toprak üstü ve toprak altı kısımlarıyla hazırlanan metanollü ekstrelerinin Folin Ciocalteu yöntemi ile fenolik içeriği incelenmiştir. Toplam fenolik bileşik miktarı toprak üstü kısımlarında $215,1 \pm 2,24$ mg GAE/g ekstre olarak hesaplanırken toprak altı kısımlarında $152,25 \pm 2,31$ mg GAE/g ekstre olarak hesaplanmıştır. Bitkinin yüksek oranda rosmarinik asit içerdiği tespit edilmiştir. Toprak üstü ve toprak altı kısımlarının rosmarinik asit miktarı sırasıyla $0,8887 \pm 0,0016$ g/100g kuru ağırlık ve $0,3454 \pm 0,0006$ g/100g kuru ağırlık olarak hesaplanmıştır. Klorojenik asit ve kafeik asit miktarı ise toprak altı kısımlarında daha yüksek bulunmuş olup klorojenik asit $0,0118 \pm 0,0002$ g/100g kuru ağırlık ve kafeik asit $0,0083 \pm 0,0001$ g/100g kuru ağırlık olarak hesaplanmıştır (Gökbulut, 2015).

1.3.4. Steroidler

Pakistan'dan Temmuz 2005 tarihinde toplanan ve kurutulup toz edilmiş *Thymus serpyllum* bitkisinin metanollü ekstresi hazırlanmıştır. Ekstre silika jel kolon kromatografisine tabi tutulmuştur. Kolondan petrol eteri, kloroform, metanol ve su geçirilerek fraksiyonlar toplanmıştır. Bileşiklerin kimyasal yapısı NMR, UV ve MS yöntemleri ile aydınlatılmış olup metanollü ekstrede β -sitosterol bileşiği tespit edilmiştir (Aziz, 2008).

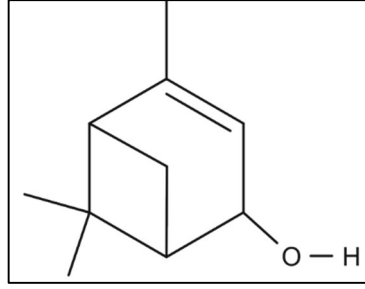


Şekil 1.19. β -Sitosterol

Tunus'un güneydoğusundan Mayıs 2014 tarihinde toplanan *Thymus capitatus*'un toprak üstü kısımları *n*-hekzan ile süspanse edilmiş ardından santrifüjlenip süzülerek ayrışma sağlanmıştır. Süzütüden çözücü uzaklaştırıldıktan sonra etanol-su karışımında çözülüp *n*-hekzan ile ekstre edilmiştir. Ekstre silika jel kolon kromatografisine tabi tutularak kolondan hekzan-diklorometan geçirilmiştir. Elde edilen bileşiğin yapısı İTK ve NMR ile aydınlatılmış olup β -sitosterol varlığı tespit edilmiştir (Toujani vd., 2018).

1.4. *Thymus cilicicus* Boiss. & Balansa Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Mersin-Silifke'den toplanan *T. cilicicus* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon işlemi sonucunda elde edilen uçucu yağ bileşimi GC ve GC-MS teknikleri ile aydınlatılmıştır. Yağda toplam 51 bileşik tespit edilmiş olup en yüksek oranda bulunan bileşikler; α -pinen (%16,74), 1,8-sineol (%10,39), borneol (%9,23), verbenol (%8,18) ve kafur (%6,44) olarak belirlenmiştir (Tümen vd., 1994).

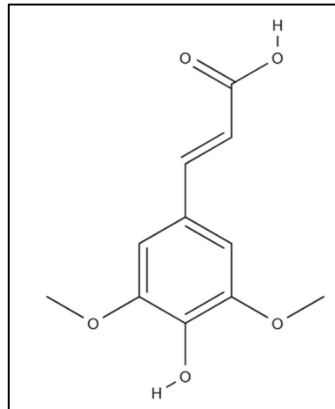


Şekil 1.20. Verbenol

Muğla-Köyceğiz arasındaki bölgeden Haziran 2005 tarihinde toplanan *Thymus cilicicus* bitkisinin toprak üstü kısımları Clevenger aparatı ile hidrodistilasyona tabi tutulmuştur. Yağın yapısındaki bileşenler GC ve GC-MS kullanılarak analiz edilmiştir. Yağın başlıca bileşeni timol (%34,03) olarak tespit edilmiştir. Sırasıyla diğer baskın bileşikler karvakrol (%12,11), terpinolen (%8,29) ve kafur (%7,57) olarak tespit edilmiştir (Azaz ve Çelen, 2012).

Muğla-Köyceğiz bölgesinden toplanan *Thymus cilicicus* ve *Thymus cariensis* bitkilerinin toprak üstü kısımları heksan ile ekstre edilmiştir. Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra kalan bitki numuneleri aseton ve metanolle ekstre edilmiştir. Yapılarındaki bileşiklerin analizi için HPLC-DAD yöntemi kullanılmıştır. Luteolin, her iki türde de baskın olan flavonoid iken *Thymus cariensis*'in asetonlu ekstresinde anlamlı derecede yüksek oranda tespit edilmiştir (Küçükaydın vd., 2021a).

Antalya-Finike bölgesinden toplanan *T. cilicicus* 'a ait kurutulmuş toprak üstü kısımları metanolle 24 saat boyunca ekstre edilmiştir. Yapısındaki fenolik bileşiklerin aydınlatılması için HPLC-DAD yöntemi kullanılmıştır. Başlıca bileşikler benzoik asit (86,27 mg/g) ve sinapik asit (68,27 mg/g) olarak tespit edilmiştir (Çelik vd., 2021).



Şekil 1.21. Sinapik asit

1.5. *Thymus* L. Türlerinin Geleneksel Kullanımı

Thymus türleri yüz yıllardır mide rahatsızlıkları, astım, diş ağrıları, boğaz enfeksiyonu, baş ağrıları, kalp hastalıkları ve düşük tansiyon gibi birçok hastalığın tedavisinde geleneksel kullanıma sahiptir. Yunanlılar örümcek ve akrep ısırıklarının tedavisinde *Thymus* türlerini kullanırken Romalılar saç uzamasını hızlandırmak ve cilde parlak bir görünüm vermek için kullanmıştır. Orta Çağ'da Avrupa'da görülen veba salgınında da *Thymus* türlerinden faydalanılmıştır (Batı Akdeniz Kalkınma Ajansı, 2021).

Yaygın olarak Akdeniz bölgesinde dağılım gösteren *T. algeriensis* Boiss. & Reut. bitkisinin taze veya kurutulmuş sap ve yaprakları ile hazırlanan infüzyonunun romatizmal hastalıklar, sindirim ve solunum rahatsızlıkları, diyabet, ağrı ve enfeksiyonlarda kullanıldığı bildirilmiştir (Mahdi vd., 2022).

Dünyanın her yerinde yaygın olarak yetiştirilen *T. vulgaris* geleneksel tıpta astım, bronşit gibi solunum yolu hastalıkları başta olmak üzere antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antifungal, antiseptik ve antispazmodik etkilerinden dolayı pek çok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Uçucu yağı fitoterapide soğuk algınlığı ve grip gibi bulaşıcı hastalıklarda bağışıklık güçlendirmek için ve üriner antiseptik olarak yaygın kullanıma sahiptir (Jain ve Choudhary, 2022).

Kuzey ve Orta Avrupa'ya özgü bir tür olan *T. serpyllum* bitkisinin toprak üstü kısımları sıklıkla gastrointestinal sistem ve solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılırken bunun yanı sıra uzun yıllardır pek çok Avrupa ülkesinde antihelmintik, antispazmodik, antiseptik, karminatif, ekspektoran ve sedatif etkilerinden dolayı kullanılmaktadır. Batı Balkanlar'da bağışıklık güçlendirici etkisi ve kan dolaşımı ile kolesterol üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı yaygın kullanımı vardır. İtalya'nın dağlık bölgelerinde ise çiçeklenme döneminde toplanan bitkinin toprak üstü kısımlarının infüzyonu veya kaynatılmasıyla elde edilen ekstre romatizma tedavisinde kullanılmaktadır. Hindistan'ın bazı bölgelerinde adet düzensizliklerinin tedavisinde *T. serpyllum* türünden faydalanılmaktadır. İngiliz Bitkisel Farmakopesi ise bu türü tıbbi bitki olarak nitelendirmiş olup bronşit, nezle, boğmaca ve boğaz ağrısında kullanımını endike göstermiştir (Jaric vd., 2015).

Akdeniz Bölgesi'nde geleneksel kullanımı yaygın olan *T. capitatus* bitkisinin yapraklarının kaynatılmasıyla hazırlanan ekstre kalp rahatsızlıklarında, sindirim sistemi ve

solunum sistemi hastalıklarında, kadınlarda görülen kısırlık probleminde ve cilt hastalıklarında kullanılmaktadır. Yaprak ve çiçekleri ile hazırlanan ekstre ise ağrı, diyabet, dermatit, solunum sistemi hastalıkları ve romatizmada kullanılmaktadır. İshal, adet ağrısı, diş ağrısı, astım, bronşit, zatürre, saç dökülmesi ve iştahsızlık durumlarında sıklıkla kullanılmaktadır (Bouyahya vd., 2020).

1.6. *Thymus* L. Türleri Üzerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Thymus türleri, yüksek fenolik bileşik ve flavonoit içeriği ile uçucu yağın yapısında bulunan karvakrol ve timol gibi bileşenlerden ötürü farmakolojik ve biyolojik aktivite göstermesi açısından önemli bir tıbbi bitki topluluğudur (Hosseinzadeh vd., 2015).

Thymus cinsine ait türlerle yapılan biyolojik aktivite çalışmaları incelendiğinde bu türlerin geleneksel kullanımlarını destekleyici verilere ulaşılmaktadır.

1.6.1. *In vivo* ve *In vitro* Çalışmalar

Thymus türlerinin sergilediği farmakolojik aktivitelerden çoğunlukla yapılarındaki rosmarinik asit, kafeik asit ve luteolin gibi bileşikler sorumludur. *Thymus* türlerinden elde edilen ve ana bileşik olarak rosmarinik asit içeren ekstratlarla farmakolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır. Ekstrelerin, yapısındaki rosmarinik asit, kafeik asit, luteolin ve apigenin gibi bileşiklerden ötürü kanser, diyabet ve inflamatuvar hastalıklarda rol oynayan çeşitli sitokinler ve enzimler üzerinde yüksek inhibitör aktivite sergilediği gözlemlenmiştir. Özellikle rosmarinik asit sitokin baskılayıcı ve lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkisi ile yüksek antiinflamatuvar ve antioksidan aktivite sergilemiştir (Afonso vd., 2020).

1.6.1.1. Antibakteriyel Etki

Fas'ta yetişen *T. algeriensis*'in toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ ile yapılan bir çalışmada 7 bakteri ve bir mantar türü üzerindeki etkisi araştırılmıştır. *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* ve *Candida glabrata* üzerinde çok yüksek inhibitör etki ($MİK \leq 0,5 \mu\text{L/mL}$) gösterirken *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* ve *Escherichia coli*'ye karşı orta düzeyde aktivite ($MİK=1,0 \mu\text{L/mL}$) göstermiştir (Mahdi vd., 2022).

Thymus daenensis bitkisinden elde edilen uçucu yağ kullanılarak farklı bakteri ve mantar türlerine karşı antimikrobiyal aktivite test edilmiştir. Konsantre uçucu yağ, tüm bakteri ve mantar türlerine karşı orta-yüksek aktivite gösterirken uçucu yağın 1/8 oranında seyreltilmesiyle Gram (+) bakterilere karşı aktivite azalmış, Gram (-) bakteriler ve mantar türleri için aktivite tamamen kaybolmuştur. En yüksek inhibitör aktivite ise *Staphylococcus aureus*'a karşı gözlemlenmiştir (Teimouri, 2012).

Thymus türlerinin hastane enfeksiyonlarına neden olan bakterilere karşı antibakteriyel etkinliğini incelemek için bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada Fas'tan toplanan *Thymus maroccanus* Ball. ve *Thymus broussonetii* Boiss. türlerinin kurutulmuş toprak üstü bölümlerinden hidrodistilasyon işlemi ile elde edilen uçucu yağlar kullanılmıştır. Uçucu yağın bileşenleri GC-MS ile analiz edilmiştir. Türlerin ikisinde de en baskın bulunan bileşik karvakrol olarak tespit edilmiştir. Uçucu yağların antibakteriyel etkinliği agar disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Uçucu yağlar *Pseudomonas aeruginosa* hariç teste tabii tutulan Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı yüksek oranda inhibe edici aktivite sergilemiştir. Uçucu yağlar, Gram (-) bakterileri 0,342 ila 0,685 mg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda inhibe ederken Gram (+) bakterileri ise 0.086 mg/mL ila 0.342 mg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda inhibe etmiştir. Uçucu yağın yapısında antibakteriyel etkiden asıl sorumlu bileşiğin karvakrol olabileceği belirtilmiştir. Karvakrol ve siprofloksasin kombinasyon halinde bakteri suşlarına uygulandığında yüksek sinerjistik etki gözlemlenmiş olup MİK değeri ayrı ayrı uygulamaya göre 1/4 oranında azalmıştır (Fadli vd., 2012).

Gıdaların buzdolabında saklanması sırasında mikrobiyal bozulmayı önlemek için farklı *Thymus* türlerinin antibakteriyel etkinliği değerlendirilmiştir. *Thymus zygis* L., *Thymus vulgaris*, *Thymus capitatus* ve *Thymus mastichina* L. türlerinin uçucu yağlarının kimyasal analizi için GC ve GC-MS teknikleri kullanılmıştır. Antibakteriyel etkinlikleri ise disk difüzyon testi (agar yöntemi) ve mikrodilüsyon tekniğiyle test edilmiştir. *T. capitatus* uçucu yağının ana bileşeni karvakrol (%69,83), *T. mastichina* uçucu yağının ana bileşeni 1,8-sineol (%51,94), *T. zygis* uçucu yağının ana bileşeni timol (%48,59) ve *T. vulgaris* uçucu yağının ana bileşeni linalol (%44,00) olarak tespit edilmiştir. Agar disk difüzyon testinin sonucuna göre *T. zygis* ve *T. capitatus* türlerinin uçucu yağları test edilen 10 bakterinin tümüne karşı inhibitör etki gösterirken *T. mastichina* 8 bakteri türüne ve *T. vulgaris* ise 7 bakteri türüne karşı inhibitör etki göstermiştir. Mikrodilüsyon testi sonuçlarına göre *T. zygis*, *T. capitatus* ve *T. vulgaris* uçucu yağları 1,87 ila 7,5 µL/mL arasında değişen konsantrasyonlarda inhibitör aktivite sergilerken *T. mastichina* uçucu yağı ise 3,75 ila 7,5 µL/mL arasında değişen

konsantrasyonlarda inhibitör etki göstermiştir. Çalışmanın sonucunda *Thymus* türlerinin gıdalardaki mikrobiyal bozulmanın önüne geçmek için kullanılabileceği ileri sürülmüştür (Ballester-Costa vd., 2013).

Thymus vulgaris uçucu yağının oral patojenlere karşı antibakteriyel etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada bitkiden hidrodistilasyonla uçucu yağ elde edilmiştir. Disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak uçucu yağın *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* suşlarına karşı inhibitör etkinliği incelenmiştir. Agar disk difüzyon yönteminde 6 mm ve üstü çaplarda inhibisyon zonu görülmesi inhibitör etki gösterdiğini belirtir. Buna göre *T. vulgaris* uçucu yağı 64 ila 256 µg/mL konsantrasyonlarda 7,5 ila 42 mm arasında değişen inhibisyon zonu oluşturarak tüm suşlara karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. En geniş inhibisyon zonu uçucu yağın 256 µg/mL konsantrasyonda uygulanmasıyla *S. pyogenes* suşuna ($42 \pm 0,8$ mm) karşı oluşmuştur. Mikrodilüsyon testinde ölçülen sonuçlara göre ise *T. vulgaris* uçucu yağına en duyarlı suşlar *S. mutans* (MİK= 1.9 ± 0.2 µg/mL) ve *S. pyogenes* (MİK= 3.6 ± 0.9 µg/mL) olmuştur. En dirençli suşlar ise *P. gingivalis* ve *A. actinomycetemcomitans* (MİK= 32 µg/mL) olmuştur (Fani ve Kohanteb, 2017).

1.6.1.2. Sitotoksik Aktivite

Thymus algeriensis'ten elde edilen uçucu yağın sitotoksik etkisi kolon hücre hattı (HCT116) ve insan hepatosellüler karsinoma hücre hattı (HePG2) ile test edilmiştir. Sitotoksik aktivite 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-bifeniltetrazolium-bromid (MTT) yöntemi kullanılarak incelenmiştir. HCT116 hattı üzerinde yüksek sitotoksik aktivite gösterirken ($LC_{50}= 39,8$ µg/mL ve $LC_{90}= 59,6$ µg/mL) HePG2 üzerindeki etkisi daha sınırlı (LC_{50} ve $LC_{90}> 100$ µg/mL) olmuştur (Ouakouak vd., 2021).

Thymus caramanicus Jalas'ın toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon yöntemi kullanılarak elde edilen uçucu yağ GC-MS teknikleri ile analiz edilmiştir. Baskın bileşikler karvakrol (%51,0) ve timol (%20,84) olarak tespit edilmiştir. Uçucu yağın oral karsinoma (KB) hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi MTT yöntemi ile incelenmiştir. Uçucu yağ, KB hücreleri üzerinde yüksek sitotoksik aktivite ($IC_{50}= 0,44$ µg/mL) göstermiştir (Fekrazad vd., 2017).

Thymus vulgaris'ten elde edilen uçucu yağın servikal kanser (HeLa) ve insan meme karsinomu (MCF-7) hücre hattına karşı sitotoksik etkinliği MTT yöntemiyle incelenmiştir. HeLa hattında $IC_{50}=34,63 \mu\text{g/mL}$ olarak MCF-7 hattında $IC_{50}=27,66 \mu\text{g/mL}$ düzeyinde bulunmuştur (Khalaf ve Abed, 2021).

Thymus serpyllum'un hekzan ekstresinin fitokimyasal profili GC-MS ile analiz edilmiştir. Başlıca bileşikler karvakrol, timol ve timokinon olarak tespit edilmiştir. Hekzanlı ekstrenin meme kanseri hücre hatlarında (MDA-MB-231 ve MCF-7), karaciğer karsinomu hücre hattı (HepG2), kolon kanseri hücre hattı (HCT-116), prostat kanseri hücre hattı (PC3) ve akciğer karsinomu hücre hattı (A549) üzerindeki sitotoksik aktivitesi MTT yöntemi ile analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre $IC_{50}= 23 \pm 0.14 \mu\text{g/mL}$ değeriyle en yüksek antikanser aktivite HepG2 üzerinde gözlemlenmiştir. En zayıf sitotoksik etki ise $IC_{50}= 60 \mu\text{g/mL}$ değeri ile A549 üzerinde gözlemlenmiştir (Baig vd., 2014).

1.6.1.3. Böcek Öldürücü Aktivite

Polonya'dan toplanan *Thymus vulgaris*'ten hidrodistilasyon yöntemiyle uçucu yağ elde edilmiş ve GC-MS tekniği ile analizi gerçekleştirilmiştir. Baskın olarak tespit edilen bileşik timol (%57,44) olmuştur. Timol ve karvakrol (%2,80) bileşiklerinin *Alphitobius diaperinus* (un kurdu) türünün erken ve geç dönemdeki larvaları üzerinde insektisidal aktivitesi değerlendirilmiştir. Ölüm oranı genç larvalarda %85 olarak gözlemlenirken yaşlı larvalarda en yüksek oran %27,5 olarak tespit edilmiştir (Szczepanik vd., 2012).

Thymus kotschyanus'tan elde edilen uçucu yağın böcek öldürücü aktivitesi *Oryzaephilus surinamensis* ve *Sitophilus oryzae* zararlılarına karşı test edilmiştir. Uçucu yağın etkisine en duyarlı böcek türü LC_{50} değeri $4,78 \mu\text{L/L}$ ile *O. surinamensis* olurken *S. oryzae* için LC_{50} değeri $13,20 \mu\text{L/L}$ olarak saptanmıştır (Ghasemi vd., 2020).

Thymus broussonetii ve *Thymus maroccanus* türlerinden buhar distilasyonu yoluyla elde edilen uçucu yağın bir sivrisinek türü olan *Culex pipiens* larvaları üzerindeki öldürücü etkisi araştırılmıştır. Uçucu yağın bileşimi GC ve GC-MS teknikleri yardımıyla analiz edilmiştir. Daha önceki çalışmalarda insektisidal aktivitesi belirlenen karvakrol ve timol, *T. broussonetii* ve *T. maroccanus* uçucu yağında da yüksek oranda tespit edilmiştir. Larvalar her iki uçucu yağda da 0,125 ppm ve üstü dozlarda maruz bırakıldığında larvisit aktivite oldukça yüksek

çıkıştır. Larva popülasyonunun 24 saat içinde %50'sini öldürecek dozlar *T. broussonetii* için 0,23 ppm iken *T. maroccanus* için 0,31 ppm olarak hesaplanmıştır (Belaqziz vd., 2010).

1.6.1.4. Antioksidan Aktivite

Thymus vulgaris'in hekzan ekstresinden elde edilen yağda çözünebilir fraksiyondaki uçucu bileşenler ve buhar distilasyonu yöntemiyle elde edilen uçucu yağdaki bileşenler HPTLC ve GC teknikleri ile analiz edilmiştir. Her iki ekstrede de baskın çıkan bileşikler *p*-simen ve timol olmuştur. Buhar distilasyonundan elde edilen uçucu yağda *p*-simen %30,53 iken hekzan ekstresinde %0,81; timol %30,86 iken hekzan ekstresinde %1,01 oranında çıkmıştır. Her iki ekstrenin de antioksidan aktivitesi fosfomolibden metodu ve DPPH yöntemi (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ile belirlenmiştir. Fosfomolibden metodunda ekstrelerin antioksidan kapasitesi askorbik asite göre kıyaslanmıştır. Ekstreler doza bağlı antioksidan aktivite sergilemiştir. Düşük dozlarda (<0,03 mg/mL) aktivite gözlemlenmemiştir. Yüksek dozlarda (≥0,5 mg/mL) ise her iki ekstrenin askorbik asite yakın yüksek antioksidan aktivite sergilemiştir. DPPH metodunda ise ekstreler 3 mg/mL ve daha yüksek konsantrasyonlarda güçlü antioksidan aktivite göstermiştir. Bu çalışmanın sonucunda uçucu yağ oranı düşük çıkmasına rağmen hekzan ekstresinin de yüksek antioksidan aktivite sergilemesinin nonpolar bileşiklerden kaynaklanabileceği belirtilmektedir (Grigore vd., 2010).

Thymus linearis Benth. ve *Thymus serpyllum* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon işlemiyle elde edilen uçucu yağların yapısı GC ve GC-MS teknikleri ile analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre *T. linearis*'te baskın bulunan bileşik timol (%36,5) iken *T. serpyllum*'da karvakrol (%44,4) olarak tespit edilmiştir. Uçucu yağların antioksidan aktivitesi β -karoten-linoleik asit ve DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. DPPH testinde *T. serpyllum* uçucu yağı (IC₅₀=42,09 µg/mL) *T. linearis* uçucu yağından (IC₅₀=34,8 µg/mL) daha güçlü antioksidan etkinlik sergilemiştir. Ayrıca β -karoten-linoleik asit testinde linoleik asit oksidasyonuna karşı inhibitör etki *T. serpyllum* uçucu yağında %84,2 iken *T. linearis* uçucu yağında %76,0 olarak bulunmuş olup *T. serpyllum* uçucu yağı daha yüksek antioksidan etki göstermiştir (Hussain vd., 2013).

Thymus kotschyanus Boiss. & Hohen., *Thymus eriocalyx* Jasas ve *Thymus daenensis* bitkilerinden hidrodistilasyonla uçucu yağ elde edilmiştir. Ayrıca tüm türlerin metanollü ekstreleri hazırlanarak polar ve nonpolar fraksiyonlarına ayrılmıştır. Bileşiklerin analizi GC ve GC-MS ile yapılmıştır. Antioksidan aktiviteler DPPH ve β -karoten-linoleik asit testleri ile

belirlenmiştir. DPPH testi sonuçlarına göre en yüksek antioksidan aktivite *Thymus daenensis* türünün metanollü ekstresinden elde edilen polar fraksiyonunda ($IC_{50}=19,1 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$) gözlemlenmiştir. En zayıf antioksidan etki ise *T. kotschyanus* türünün metanollü ekstresinin nonpolar fraksiyonunda ($IC_{50}= 526\pm3,1 \mu\text{g/mL}$) gözlemlenmiştir. β -karoten-linoleik asit testinde ise en yüksek inhibisyon oranı *Thymus eriocalyx* türünün metanollü ekstresinden elde edilen nonpolar fraksiyonda ($\%96,1\pm0,8$) tespit edilmiştir. Çalışmanın sonucunda serbest radikal temizleme aktivitesinin metanollü ekstraktların polar fraksiyonunda daha yüksek çıkmasının flavonoidler ve fenolik bileşiklerden kaynaklandığı öne sürülmüştür (Amiri, 2012).

Thymus sipyleus bitkisinin farklı kısımlarından metanol kullanılarak hazırlanan ekstreye antioksidan kapasitesinin tayini için ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) ve DPPH testleri uygulanmıştır. Bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstre ($IC_{50}= 0,703 \pm 0,027 \text{ mg/mL}$) köklerden elde edilen ekstreye göre ($IC_{50}=1,325\pm0,035 \text{ mg/mL}$) DPPH radikalini daha iyi indirgeyerek daha yüksek antioksidan aktivite sergilemiştir. Benzer şekilde ABTS testinde de toprak üstü kısımlar ($IC_{50}=0,869\pm0,066 \text{ mg/mL}$) toprak altı kısımlarına göre ($IC_{50}=1,504 \pm 0,06 \text{ mg/mL}$) daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bitkinin toprak üstü kısımları yüksek fenolik bileşik içeriğinden dolayı toprak altı kısımlarından daha yüksek antioksidan aktivite sergilemiştir. (Gökbulut, 2015).

1.6.1.5. Enzim İnhibitör Aktivite

Thymus spathulifolius bitkisinin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyonla uçucu yağ elde edilmiş ve yağın içeriği GC-MS tekniği kullanılarak incelenmiştir. En baskın bileşik olarak timol ($\%50,5$); sonra sırasıyla borneol ($\%16,7$) ve karvakrol ($\%7,7$) bileşikler tespit edilmiştir. Uçucu yağın AChE (asetilkolinesteraz), BChE (bütirilkolinesteraz), α -amilaz, α -glukozidaz ve tirozinaz enzimleri üzerindeki inhibitör aktivitesi incelenmiştir. Uçucu yağın kolinesterazlara (AChE ve BChE) karşı inhibitör etkisi araştırılırken referans bileşik olan galantamin ile kıyaslanmıştır. *Thymus spathulifolius* uçucu yağı (AChE için $IC_{50}=0,95 \text{ mg/mL}$ ve BChE için $IC_{50}=1,05 \text{ mg/mL}$) galantamininden (AChE için $IC_{50}=1,51 \mu\text{g/mL}$ ve BChE için $IC_{50}=1,77 \mu\text{g/mL}$) daha zayıf inhibitör aktivite göstermiştir. Tirozinaz inhibe edici etkinliği ise referans bileşik olan kojik asit ile karşılaştırılmıştır. Test edilen uçucu yağın ($IC_{50}=11,03 \text{ mg/mL}$) kojik asite ($IC_{50}=0,14 \text{ mg/mL}$) kıyasla daha zayıf inhibitör aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Akarbozun enzim inhibe edici aktivitesi α -amilaz için $IC_{50}= 0,98 \text{ mg/mL}$ ve α -glukozidaz için $IC_{50}=6,67 \text{ mg/mL}$ olarak bulunurken uçucu yağın inhibitör aktivitesi α -amilaz

için $IC_{50}=7,19$ mg/mL ve α -glukozidaz için $IC_{50}=1,08$ mg/mL olarak bulunmuştur. Uçucu yağ akarbozdan daha güçlü α -glukozidaz inhibe edici aktivite sergilemiştir (Ceylan vd., 2016).

Thymus migricus'un sulu ve metanollü ekstrelerinin fenolik içeriği LC-MS/MS ile analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre bitkinin ana fenolik bileşikleri; kinik asit (18,30 mg/g), klorojenik asit (0,94 mg/g), luteolin-7-*O*-glukozit (0,49 mg/g), luteolin (0,21 mg/g) ve *p*-kumarik asit (0,19 mg/g) olarak tespit edilmiştir. Metanollü ekstrenin enzim inhibe edici aktivitesi AChE, BChE, glutatyon S-transferaz (GST) ve α -glukozidaz enzimlerine karşı incelenmiştir. Ekstre AChE ($IC_{50}=18,23$ mg/mL), BChE ($IC_{50}=17,77$ mg/mL), GST ($IC_{50}=31,50$ mg/mL) ve α -glukozidaz ($IC_{50}=16,50$ mg/mL) üzerinde inhibe edici aktivite sergilemiştir. Ekstrede bulunan ana fenolik bileşiklerin enzim inhibe edici aktivite üzerindeki etkilerini ortaya koymak için *in silico* moleküler yerleştirme çalışmaları yapılmıştır. Bu modellemelerin sonucuna göre, klorojenik asitin AChE inhibisyonundan, luteolin-7-*O*-glukozitin α -glukozidaz inhibisyonundan, luteolinin BChE inhibisyonundan ve kinik asitin GST inhibisyonundan sorumlu olduğu belirlenmiştir (Aras vd., 2021).

1.6.1.6. Antiinflamatuvar ve Analjezik Etki

Thymus linearis'in *n*-hekzan ve metanollü ekstresinin antiinflamatuvar ve analjezik etkisi farelerde karragenan ile indüklenen pençe ödemi testi, kıvranma testi, sıcak plaka yöntemi ve formalin testi ile incelenmiştir. Her iki ekstre de aspirin ile kıyaslandığında kıvranma testi ve formalin testinde ağrıyı önemli ölçüde azaltmıştır. Sıcak plaka testinde ise 30. dakikada hayvanın pençesini yalaması veya sıçrama reaksiyonu göstermesi aspirin verilen kontrol grubunda 3,03 saniyede gelişirken *n*-hekzanlı ekstrenin uygulandığı grupta 2,22 saniyede, metanollü ekstrenin uygulandığı grupta 2,30 saniyede gelişmiştir. Pençe ödeminde ise her iki ekstre de antiinflamatuvar aktivite göstermiştir (Qadir vd., 2016).

Thymus serpyllum'un eter, etanol ve sulu ekstrelerinin analjezik aktivitesi kıvranma testi ve formalin testi ile incelenmiştir. Kıvranma testi sonuçlarına göre; aspirin ağrıyı %57 oranında inhibe ederken eter ekstresi ağrıyı %59, etanol ekstresi %45 ve sulu ekstre %22 oranında inhibe etmiştir. Formalin ile indüklenen pençe yalama testinde ise aspirin %66, eter ekstresi %77, etanollü ekstre %44 ve su ile hazırlanan ekstre %63 oranında ağrıyı inhibe ederek belirgin analjezik etki göstermiştir (Mahee vd., 2015).

1.6.2. Klinik Çalışmalar

Primer dismenore tedavisinde *Thymus vulgaris* ve ibuprofenin analjezik etkisini karşılaştırmak için İran Babol Tıp Bilimleri Üniversitesi'nde klinik çalışma yürütülmüştür. Bu randomize çalışma 18-24 yaş aralığındaki 84 öğrenci ile yapılmıştır. Öğrenciler *T. vulgaris* uçucu yağı ve ibuprofen kapsül alan iki kontrol grubu ve plasebo grup olmak üzere toplamda üç gruba rastgele dağıtılmıştır. Gruplara ağrının başlangıcından itibaren 48 saat boyunca her 6 saatte bir 200 mg ibuprofen kapsül, plasebo kapsül, 25 damla *T. vulgaris* uçucu yağı ve plasebo yağ verilmiştir. Çalışmanın sonucunda hem *T. vulgaris* hem de ibuprofen alan grupta ağrı şiddetinde azalma gözlemlenmiştir (Salmalian vd., 2014).

Thymus serpyllum sulu ekstresinin bağırsak sağlığı üzerindeki etkilerinin incelendiği randomize çift körlü çalışma herhangi bir gastrointestinal bozukluk tanısı almamış, fazla kilolu olan 40 gönüllü ile Almanya'daki bir klinik araştırma merkezinde gerçekleştirilmiştir. Gönüllüler kontrol grubu ve plasebo olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Gönüllülere 8 hafta boyunca *T. serpyllum* sulu ekstresi ve plasebo kapsül (maltodekstrin) uygulanmıştır. İlk 4 hafta sabah aç karna 600 mg ve son 4 hafta sabah aç karna 900 mg olacak şekilde verilmiştir. Çalışmanın sonunda kontrol grubundaki katılımcıların gastrointestinal semptomlarında (şişkinlik, gaz vb.), dışkı sıklığında ve bağırsak mikrobiyotasında iyileşme gözlemlenmiştir (Knaub vd., 2022).

1.7. *Thymus cilicicus* Türü Üzerindeki Biyolojik Aktivite Çalışmaları

T. cilicicus'un zengin uçucu yağ bileşimi ve fenolik bileşik içeriği, çeşitli kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etki, yüksek antioksidan aktivite ve antibakteriyel etkinlik gibi birçok biyolojik aktiviteden sorumludur (Ghafoor vd., 2022; Azaz ve Çelen, 2012).

1.7.1. Böcek Öldürücü Aktivite

T. cilicicus ve *T. cariensis*'ten hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağlar ile hekzan, aseton ve etanolle hazırlanan ekstrelerinin böcek öldürücü aktiviteleri test edilmiştir. Çalışmada bitkilerin *Leptinotarsa decemlineata*, *Rhizopertha dominica*, ve *Callosobruchus maculatus* türü böceklere karşı insektisit aktivitesi *in vitro* koşullarda incelenmiştir. Her iki türün de uçucu yağı böcek türleri üzerinde yüksek toksisite sergilemiştir. Ayrıca tüm

ekstrelerde böcek öldürücü aktivite gözlemlenmiş olup en yüksek aktivite hekzan ekstralarında tespit edilmiştir (Küçükaydın vd., 2021b).

1.7.2. Antioksidan Aktivite

Thymus canoviridis, *Thymus cilicicus*, *Thymus comptus* ve *Thymus revolutus* türlerinden hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağların antioksidan kapasitesi DPPH testi ile incelenmiştir. Dört türün uçucu yağında da baskın bulunan bileşik timol olarak tespit edilmiştir. Tüm türlerde doza bağlı artan antioksidan aktivite gözlemlenmiştir. Uçucu yağlar 100 µg/mL konsantrasyonda uygulandığında en yüksek antioksidan aktivite *T. revolutus* (%29,54) türünde gözlemlenirken en düşük aktivite *T. cilicicus*'ta (%14,76) gözlemlenmiştir (Azaz ve Çelen, 2012).

1.7.3. Sitotoksik Aktivite

T. cilicicus ve *T. cariensis*'in hekzan, aseton ve metanol ekstralarının sitotoksik etkileri MCF-7 hücre hattı kullanılarak MTT yöntemi ile incelenmiştir. En yüksek sitotoksik aktivite *T. cariensis*'in metanollü ekstresinde ($IC_{50}=27,65$ µg/mL) gözlemlenmiştir. *T. cilicicus* bitkisinde ise asetonlu ($IC_{50}=95,18$ µg/mL) ve metanollü ($IC_{50}=83,57$ µg/mL) ekstralarında orta düzeyde sitotoksikite gözlemlenmiştir (Küçükaydın vd., 2021a)

1.7.4. Enzim İnhibitör Aktivite

Thymus cilicicus'tan hekzan, aseton ve metanol ile hazırlanan ekstraların fenolik içeriği HPLC-DAD ile analiz edilmiştir. En yüksek oranda bulunan bileşikler rosmarinik asit ve vanilik asit olmuştur. Ekstrelerin kolinesterazlar (AChE, BChE), üreaz, tirozinaz, α -amilaz ve α -glukozidaz inhibe edici aktivitesi değerlendirilmiştir. AChE ($IC_{50}=75,61$ µg/mL) ve BChE ($IC_{50}=128,6$ µg/mL) inhibisyonu en fazla asetonlu ekstrede gözlemlenmiştir. Metanollü ekstrede üreaz inhibisyonu ($IC_{50}=83,07$ µg/mL) gözlemlenirken hekzan ekstresi tirozinaz ($IC_{50}=141,8$ µg/mL), α -amilaz ($IC_{50}=0,76$ mg/mL) ve α -glukozidaz ($IC_{50}=0,03$ mg/mL) inhibisyonunun en güçlü gerçekleştiği ekstre olarak tespit edilmiştir. (Küçükaydın vd., 2021a).

1.8. Tripsin ve Kimotripsin Enzimlerinin İnhibisyonu

Bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen tripsin ve kimotripsin inhibitör aktivite çalışması *T. cilicicus* bitkisi üzerinde daha önce yapılmamıştır.

Tripsin ve kimotripsin enzimleri proteinlerin sindiriminde rol oynayan, pankreasta üretilen, serin proteaz enzim ailesinin üyeleridir. Tripsin, pankreastan inaktif formu olan tripsinojen şeklinde salgılanır. Tripsinojen duodenuma salındığında burada enteropeptidazlar tarafından aktif tripsin formuna dönüştürülür. İnaktif kimotripsinojen ise duodenuma salındıktan sonra tripsin tarafından aktive edilerek kimotripsin enzimine dönüştürülür (Baird ve Craik, 2013).

Fizyolojik önemlerinin yanı sıra tripsin ve kimotripsin gibi serin proteaz enzimlerinin aşırı üretimi ve artmış aktivitesi pankreatit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ile pankreas, kolon ve rektum kanseri gelişme riskini artırabilir. Bu enzimlerin inaktif formdan aktif forma dönüşüm sıklığı serin proteaz inhibitörleri tarafından kontrol edilir. Serin proteaz inhibitörleri tripsin ve kimotripsinin kontrolsüz aktivasyonunun önlenmesinde önem arz etmektedir (Hirota vd., 2006; Legerska, 2020).

Çeşitli bitki türlerinin tripsin ve kimotripsin inhibitör aktivitesinin incelendiği bir çalışmada bitkinin fenolik bileşik ve flavonoid içeriği ile inhibitör aktivitesi arasında paralellik olduğu gözlemlenmiştir. Bitkilerde bulunan klorojenik asitin güçlü bir tripsin inhibitörü olduğu belirtilmiştir (Günbatan vd., 2024). Rosmarinik asitin serin proteaz enzimleri üzerindeki inhibitör etkisinin incelendiği bir çalışmada, domuz pankreasından elde edilen elastaz enzimini %55 oranında inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda rosmarinik asitin tripsin ve kimotripsin gibi diğer serin proteaz enzimleri üzerinde inhibitör aktivite potansiyeli olduğu belirtilmiştir (Englberger vd., 1988).

Flavonoidlerin tripsin enzimi üzerindeki inhibitör aktivitesinin incelendiği bir çalışmada; luteolin, hesperidin, rutin, kersetin ve kateşin olmak üzere 5 farklı flavonoid ile çalışılmıştır. Bu flavonoidler ve domuz pankreasından elde edilen tripsin arasındaki etkileşimler çeşitli spektroskopik yöntemlerle analiz edilmiştir. Luteolin en düşük IC_{50} değeri ile ($37,6 \pm 0,5 \mu M$) en yüksek inhibitör aktivasyonu göstermiştir. Tripsine en güçlü bağlanan flavonoidler luteolin ve kersetin olmuştur. Çalışmanın sonucunda, flavonoidlerin tripsini inhibe edebilme özelliğinden dolayı obezite ve diyabetin alternatif tedavisinde potansiyel taşıdığı belirtilmiştir (Martinez vd., 2021).

Bu çalışmada *T. cilicicus* bitkisinden hazırlanacak olan metanol, etanol ve etil asetatlı ekstraktların kimyasal içeriğinin İTK ve ters faz YPSK yöntemleri kullanılarak kalitatif ve

kantitatif analizinin yapılması; tripsin ve kimotripsin enzim inhibisyonunun test edilmesi hedeflenmiştir.



2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Bitki Materyali

2023 yılının Temmuz ayında Mersin çevresi Gülnar-Mut yolu üzerinden toplanan *Thymus cilicicus* bitkisi çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Herbaryum materyali haline getirilen bitki örneği, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda (AEF: 28879) kayıt altına alınmıştır. Bitkinin farklı kısımları kurutulduktan sonra değirmende toz edilmiş, elde edilen ekstraleler analiz ve aktivite çalışmalarında kullanılmıştır.

2.2. *Thymus cilicicus* Üzerinde Fitokimyasal İçerik Çalışmaları

T. cilicicus bitkisinden farklı ekstraksiyon yöntemleri ile hazırlanan ekstraleler, tripsin ve kimotripsin inhibisyon testlerinde kullanılmış olup ekstralelerin fitokimyasal yapısı İTK ve YPSK analizleri ile aydınlatılmıştır.

2.2.1. Ekstraksiyon Yöntemleri

Uygun şekilde kurutulmuş *T. cilicicus* bitkisinin toprak üstü ve toprak altı kısımları değirmende öğütölerek toz edilmiş ve tam tartım alınmıştır. Toz edilmiş kısımları etanol, etil asetat ve metanol çözücöleri kullanılarak Soxhlet ekstraksiyonu yöntemiyle ekstre edilmiştir.

Bitkinin toprak üstü ve toprak altı kısımları etanol, etil asetat ve metanol kullanılıp sıcaklık 45°C'ye ayarlanarak bir saat süresince ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle ekstre edilmiştir. Soxhlet ekstraksiyonu ve ultrasonik ekstraksiyon tamamlandıktan sonra ekstraleler süzölümüş, çeker ocak altında çözücölerin uçması sağlanmıştır.

2.2.2. *Thymus cilicicus* Boiss. & Balansa'nın İnce Tabaka Kromatografisi ile Fitokimyasal Analizi

İTK yönteminde Silikajel 60 F254 (Merck, 1.05554 20x20) plaklar kullanılmıştır. Kromatografide 6 farklı ekstre kullanılmıştır:

1. ekstre: *T. cilicicus* toprak üstü etanollü ekstresi (Ultrasonik Ekstraksiyon)

2. ekstre: *T. cilicicus* toprak üstü etanollü ekstresi (Soxhlet Ekstraksiyonu)
3. ekstre: *T. cilicicus* toprak üstü metanollü ekstresi (Soxhlet Ekstraksiyonu)
4. ekstre: *T. cilicicus* toprak altı etanollü ekstresi (Soxhlet Ekstraksiyonu)
5. ekstre: *T. cilicicus* toprak altı etil asetatlı ekstresi (Ultrasonik Ekstraksiyon)
6. ekstre: *T. cilicicus* toprak altı metanollü ekstresi (Ultrasonik Ekstraksiyon)

İTK için 2 farklı çözücü sistemi kullanılmıştır:

1. Çözücü Sistemi: Toluen: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1)
2. Çözücü sistemi: Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1)

Toplam 8 farklı standart İTK plaklarına tatbik edilmiştir:

- Standart 1: Rosmarinik Asit
- Standart 2: Apigenin
- Standart 3: Klorojenik Asit
- Standart 4: Kafeik Asit
- Standart 5: Kemferol
- Standart 6: Luteolin
- Standart 7: Kersetin
- Standart 8: Rutin

Ekstreler ve standartlar İTK plaklarına tatbik edilmiştir. Ekstrelerdeki bileşiklerin teşhisi için plaklar yukarıdaki çözücü karışımlarında yürütülerek gün ışığı ve UV ışık altında incelenmiştir.

2.2.3. *Thymus cilicicus* Boiss. & Balansa'daki Bazı Fenolik Bileşiklerin ve Flavonoitlerin YPSK ile Miktar Tayini

Bitkinin farklı kısımlarından hazırlanan 5 ekstre, YPSK'ya uygulanarak içerdikleri bileşikler incelenmiştir. Bu ekstreler aşağıdaki gibidir:

1. ekstre: *T. cilicicus* toprak altı metanollü ekstresi (Ultrasonik Ekstraksiyon)
2. ekstre: *T. cilicicus* toprak üstü metanollü ekstresi (Soxhlet Ekstraksiyonu)
3. ekstre: *T. cilicicus* toprak altı etanollü ekstresi (Soxhlet Ekstraksiyonu)

4. ekstre: *T. cilicicus* toprak üstü etanollü ekstresi (Ultrasonik Ekstraksiyon)
5. ekstre: *T. cilicicus* toprak üstü metanollü ekstresi (Ultrasonik Ekstraksiyon)

Fitokimyasal içeriğin YPSK ile analizini yapabilmek için bitkinin yapısında yer alan bazı muhtemel fenolik asitler ve flavonoidler standart olarak kullanılmıştır. Standartlar aşağıdaki gibidir:

- Standart 1: Klorojenik asit
- Standart 2: Gallik asit
- Standart 3: Ferulik asit
- Standart 4: Kafeik asit
- Standart 5: Rosmarinik asit
- Standart 6: Luteolin
- Standart 7: Apigenin
- Standart 8: Kersetin
- Standart 9: Rutin
- Standart 10: Luteolin-7 glikozit
- Standart 11: Kemferol

YPSK analizi için hazırlanan ekstreler ve standart bileşikler sisteme 3'er defa enjekte edilmiştir. YPSK analiz koşulları 2.2.3.1.'de belirtilmiştir.

Bitkinin farklı kısımlarından farklı çözücü ve yöntemlerle hazırlanan ekstreler ile standartların alıkonma (retansiyon) süreleri ve UV absorbans spektrumları kıyaslanarak bitkinin yapısındaki fenolik asitler ve flavonoidler saptanmıştır.

2.2.3.1. YPSK Analiz Koşulları

- YPSK Sistemi: Agilent 1260 serisi
- Kolon Tipi: ACE C18 (150 x 4,60 mm id; 5 µ)
- Dedektör Tipi: Fotodiyot Dizisi Dedektör (PDA) UV/VIS (200-400 nm)
- Akış Hızı: Dakikada 1 mL
- Enjeksiyon Hacmi: 10 µl
- Dalga boyu: 330 nm ve 360 nm
- Çözücü Sistemi:

Çözücü A: su: %0,1 trifloroasetik asit

Çözücü B: asetonitril: %0,1 trifloroasetik asit

Analizde kullanılan çözücüler Çizelge 2.1.'de belirtildiği gibi bir gradyan sistem ile uygulanmıştır.

Çizelge 2.1. YPSK analizinde uygulanan gradyan sistem

Süre (dk)	Çözücü A (%)	Çözücü B (%)
0	85	15
20	80	20
30	75	25
38	70	30
40	85	15

2.2.3.2. Fenolik Bileşiklerin ve Flavonoitlerin Miktar Tayinleri

Ekstreler belli konsantrasyonlarda sisteme enjekte edilmiş ve fenolik bileşik ve flavonoitlere ait pik alanı ortalama değerleri denkleme uygulanarak konsantrasyon verileri hesaplanmıştır. Hesaplanan verilerle *T. cilicicus*'ta bulunan flavonoitlerin ve fenolik bileşiklerin yüzde oranları belirlenmiştir.

2.2.3.3. Standart Bileşikler İçin Doğru Denklemlerinin Hesaplanması

Kafeik asit için 0,52 mg/mL, rosmarinik asit için 1,03 mg/mL, klorojenik asit için 0,5 mg/mL ve luteolin için 0,15 mg/mL konsantrasyonlarda stok çözeltiler hazırlanmıştır. Stok çözeltilerden hareketle her bir standart için farklı konsantrasyonlar hazırlanıp 10 µL miktarlarda sisteme 3'er defa enjekte edilmiştir. Konsantrasyonlara (x) karşılık gelen pik alanlarının ortalama değeri (y) kullanılarak kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Bu yöntem kullanılarak analizi yapılacak bileşiklere ait doğruların denklemi ve R^2 değerleri hesaplanmıştır. Ekstrelerdeki standart bileşiklerin miktarını hesaplamak için $y=mx+n$ doğru denklemi kullanılmıştır. Kafeik asit, klorojenik asit ve rosmarinik asit için analizler 330 nm'de; luteolin için analizler 360 nm'de yapılmıştır.

2.2.3.4. Teşhis Sınırı (LOD) ve Miktar Tayini Sınır Değerinin (LOQ) Hesaplanması

Standart bileşikler için teşhis sınır değeri hesaplanırken sinyal/gürültü (S/N) oranı 3 olarak alınmıştır. Miktar tayini sınır değeri için ise S/N 10 olarak hesaplanmıştır. Her standart için miktar tayini sınır konsantrasyonlarında 9’ar defa enjeksiyon yapılmış ve bu konsantrasyonlara karşılık alan büyüklüğünün değerleri belirlenmiştir. Standart sapma (SD) ve ortalama (mean) değerleri kullanılarak bu alan değerlerinin bağıl standart sapması da % RSD=(SD/Mean) x 100 formülü ile hesaplanmıştır.

2.3. Aktivite Testleri

Daha önce *T. cilicicus* bitkisi üzerinde tripsin ve kimotripsin inhibisyon çalışmaları yapılmamış olup bu tez kapsamında bitkinin tripsin ve kimotripsin enzimleri üzerindeki inhibitör aktivitesi incelenmiştir.

2.3.1. Kimotripsin İnhibe Edici Aktivite

Thymus cilicicus’un toprak üstü ve toprak altı kısımlarından etanol, metanol ve etil asetat ile hazırlanıp ultrasonik ekstraksiyon ve Soxhlet ekstraksiyonu uygulanan ekstreler kimotripsin inhibitör aktivite testinde kullanılmıştır. Mikro plak kuyucuklarına sırasıyla Tris-HCl tamponu (50mM, pH 7,6), ekstreler ve kimotripsin enzim çözeltisi (Tip II, sığır pankreasından, Sigma-Aldrich, 36 U/mL) eklenmiştir. Plak 37°C’de 15 dk inkübasyona bırakılmıştır. Ardından tüm kuyucuklara reaksiyonu başlatmak için substrat çözeltisi (N-süksinil fenilalanin-*p*-nitroanilid, 1,3mM) eklenmiştir. Tekrar 37°C’de 35 dk inkübasyondan sonra, 410 nm’de absorbans ölçülmüştür. Referans inhibitör olarak PMSF (fenilmetilsülfonil florür) kullanılmıştır. IC₅₀ değerleri GraphPad Prism 6 yazılımı ile hesaplanmıştır. İnhibisyon yüzdesi (%); İnhibisyon yüzdesi (%)=[(A_{Kontrol}-A_{Örnek})/A_{Kontrol}] $\times$ 100 denklemi ile hesaplanmıştır (Günbatan, 2024).

2.3.2. Tripsin İnhibe Edici Aktivite

Mikro plak kuyucuklarına sırasıyla Tris-HCl tamponu (50mM, pH 7,6), ekstreler ve tripsin enzim çözeltisi (Tip I, sığır pankreasından, Sigma-Aldrich, 1mM HCl içinde) eklenmiştir. Plak 37°C’de 15 dk inkübasyona bırakılmıştır. Bu işlemten sonra reaksiyonu

başlatmak için tüm kuyucuklara substrat çözeltisi [1 mg/mL, α -N-benzoil-D,L-arjinin-*p*-nitroanilid (BAPNA), %10 DMSO içinde] eklenerek 37°C’de 45 dk süresince tekrar inkübe edilmiştir. Açığa çıkan *p*-nitroanilid absorbansı 405 nm’de ölçülmüştür. Referans inhibitör olarak PMSF kullanılmıştır. IC₅₀ değerleri GraphPad Prism 6 yazılımı ile hesaplanmıştır. İnhibisyon yüzdesi (%); İnhibisyon yüzdesi (%)=[(A_{Kontrol}-A_{Örnek})/A_{Kontrol}] $\times$ 100 denklemi ile hesaplanmıştır (Günbatan, 2024).



3. BULGULAR

3.1. *Thymus cilicicus* Ekstreleri

T. cilicicus'un toprak altı ve toprak üstü kısımlarından farklı çözücüler kullanılarak farklı ekstraksiyon yöntemleri ile ekstreler hazırlanmıştır.

3.1.1. Soxhlet Ekstraksiyonu

T. cilicicus Boiss. & Balansa'nın toprak üstü (10 g) ve toprak altı (1g) kısımlarından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen etanol, metanol ve etil asetatlı ekstreler çeker ocak altında kurutulmuştur. Bu ekstrelerde hesaplanan verimler Çizelge 3.1'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. Soxhlet ekstraksiyonundan elde edilen ekstre verimleri

Soxhlet Ekstraksiyonu		
Kuru ekstre	Çözücü	% Verim
Öğütülmüş toprak üstü kısımları	Etanol	%20,03 (a/a)
	Metanol	%21,23 (a/a)
	Etil Asetat	%10,93 (a/a)
Öğütülmüş toprak altı kısımları	Etanol	%53,28 (a/a)
	Metanol	%38,30 (a/a)
	Etil Asetat	%34,80 (a/a)

3.1.2. Ultrasonik Ekstraksiyon

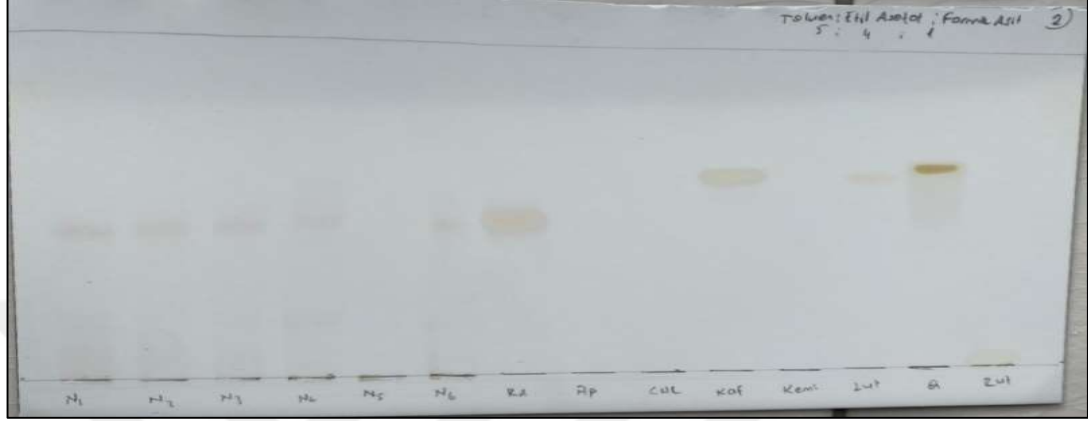
T. cilicicus Boiss. & Balansa'nın farklı kısımları etanol, metanol ve etil asetatla çözülerek ultrasonik ekstraksiyon uygulanmıştır. Ekstraksiyon sonrası pilili süzgeç kağıdı ile süzülen ekstreler çeker ocak altında kurumaya bırakılmıştır. Kurutma sonrası ekstre verimleri Çizelge 3.2.'de belirtildiği gibidir.

Çizelge 3.2. Ultrasonik ekstraksiyondan elde edilen ekstre verimleri

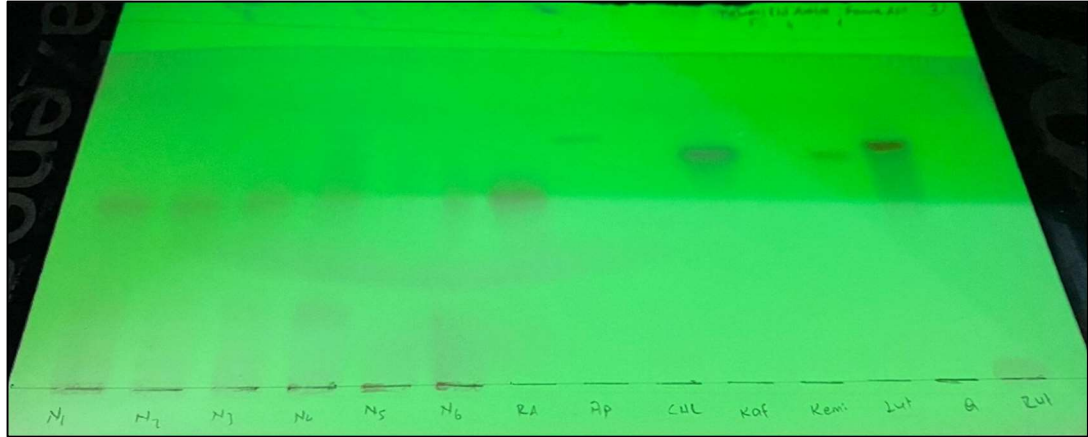
Ultrasonik Ekstraksiyon		
Kuru ekstre	Çözücü	% Verim
Öğütülmüş toprak üstü kısımları	Etanol	%49,66 (a/a)
	Metanol	%9,56 (a/a)
	Etil Asetat	54,74 (a/a)
Öğütülmüş toprak altı kısımları	Etanol	%17,27 (a/a)
	Metanol	%13,96 (a/a)
	Etil Asetat	%11,24 (a/a)

3.2. *T. cilicicus*'un İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile İncelenmesi

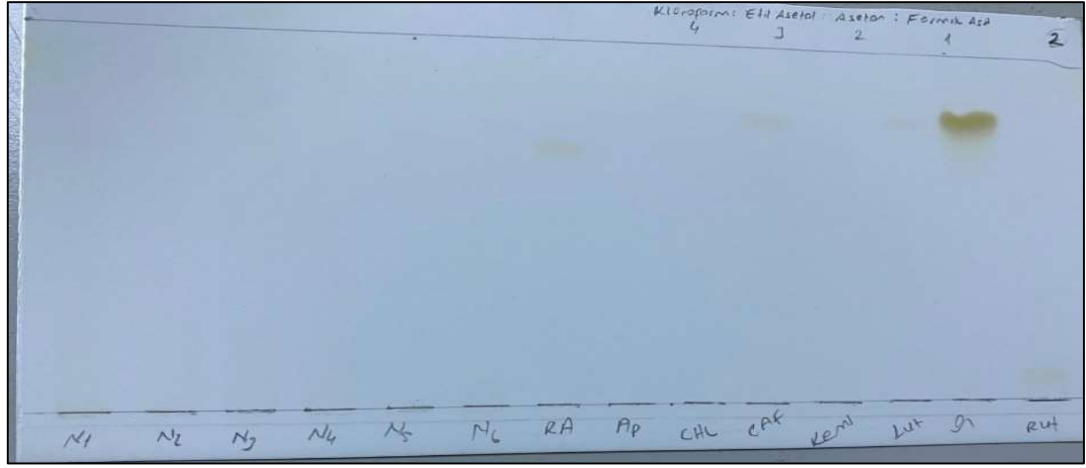
Bölüm 2.2.2.'de belirtilen ekstreler ile ayrı ayrı 2 çözücü sistemi kullanılarak İTK uygulamaları yapılmıştır. Elde edilen kromatogramlar Şekil 3.1.- 3.4'te sunulduğu gibidir.



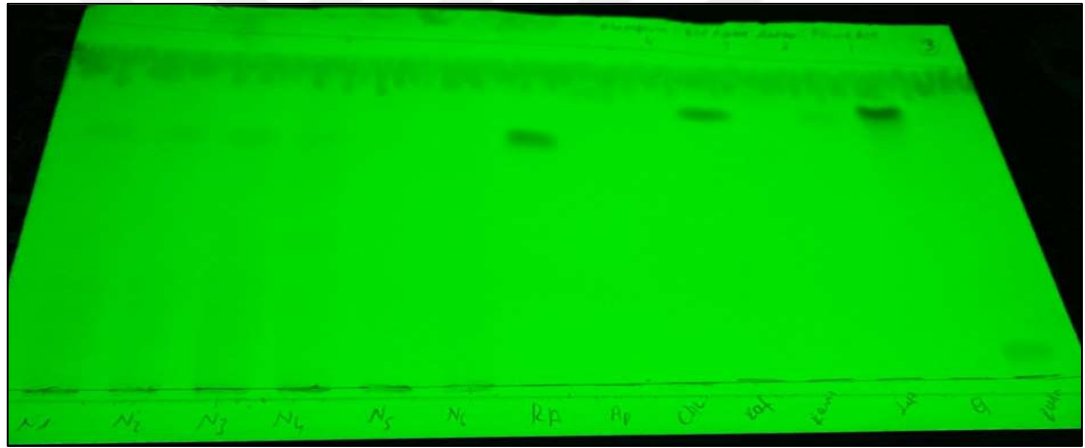
Şekil 3.1. *T. cilicicus*'un farklı kısımlarının etanol, metanol ve etil asetatlı ekstreleri ile standart bileşiklerin Toluene: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde gün ışığında İTK kromatogramı (N₁-N₆: Ekstreler; RA: rosmarinik asit, AP: apigenin, CUL: klorojenik asit, KAF: kafeik asit, KEM: kemferol, LUT: luteolin, Q: kersetin, RUT: rutin)



Şekil 3.2. *T. cilicicus*'un farklı kısımlarının etanol, metanol ve etil asetatlı ekstreleri ile standart bileşiklerin Toluene: Etil Asetat: Formik Asit (5:4:1) çözücü sisteminde UV ışık 254 nm'deki İTK kromatogramı (N₁-N₆: Ekstreler; RA: rosmarinik asit, AP: apigenin, CUL: klorojenik asit, KAF: kafeik asit, KEM: kemferol, LUT: luteolin, Q: kersetin, RUT: rutin)



Şekil 3.3. *T. cilicicus*'un farklı kısımlarının etanol, metanol ve etil asetatlı ekstreleri ile standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde gün ışığında İTK kromatogramı (N₁-N₆: Ekstreler; RA: rosmarinik asit, AP: apigenin, CHL: klorojenik asit, KAF: kafeik asit, KEM: kemferol, LUT: luteolin, Q: kersetin, RUT: rutin)



Şekil 3.4. *T. cilicicus*'un farklı kısımlarının etanol, metanol ve etil asetatlı ekstreleri ile standart bileşiklerin Kloroform: Etil Asetat: Aseton: Formik Asit (4:3:2:1) çözücü sisteminde UV ışık 254 nm'deki İTK kromatogramı (N₁-N₆: Ekstreler; RA: rosmarinik asit, AP: apigenin, CHL: klorojenik asit, KAF: kafeik asit, KEM: kemferol, LUT: luteolin, Q: kersetin, RUT: rutin)

3.3. *T. cilicicus*'un Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) Analizleri

T. cilicicus Boiss. & Balansa'da bulunması muhtemel olan fenolik bileşiklerin ve flavonoidlerin analizi için ters faz YPSK tekniği kullanılmıştır. Analiz koşulları Bölüm 2.2.3.1.'de belirtilmiştir. Analizde, bitkiden hazırlanan ekstreler ile standart bileşiklere ait alıkonma süreleri ve UV absorbans spektrumları kıyaslanıp bitkinin yapısındaki fenolik

bileşikler ve flavonoidler tespit edilmiştir. Bitkide ana bileşik olarak saptanan rosmarinik asit, kafeik asit, klorojenik asit ve luteolinin miktarı tayin edilmiştir.

3.3.1. Standart Bileşiklerin Doğru Denklemleri

Doğru denklemi hesaplamaları Bölüm 2.2.3.2.'de belirtildiği şekilde yapılmış ve ulaşılan veriler Çizelge 3.3.'te sunulmuştur.

Çizelge 3.3. Standartların doğru denklemi, R², LOD ve LOQ değerleri

Standart Bileşik	Doğru Denklemi	R ² Değeri	LOD Değeri (mg/mL)	LOQ Değeri (mg/mL)
Kafeik asit	$y=56891x+30,81$	0,9996	0,00002091	0,000069
Rosmarinik asit	$y=28820x-26,234$	0,9999	0,00007273	0,000240
Klorojenik asit	$y=22083x-6,4807$	0,9999	0,00011212	0,000370
Luteolin	$y=26111x+4,4994$	0,9999	0,00001038	0,0000346

3.3.2. Standartların LOQ Derişimlerindeki Alan Ortalamaları, SD ve % RSD Verileri

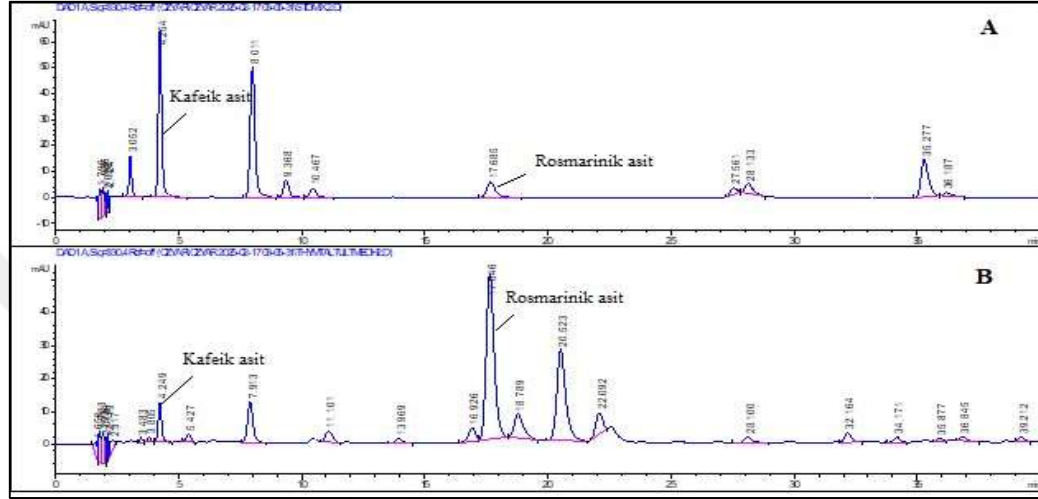
Standartlara ait alan ortalaması, SD ve %RSD değerleri LOQ konsantrasyonlarına göre hesaplanarak Çizelge 3.4.'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Standartların alan ortalaması, SD ve %RSD değerleri

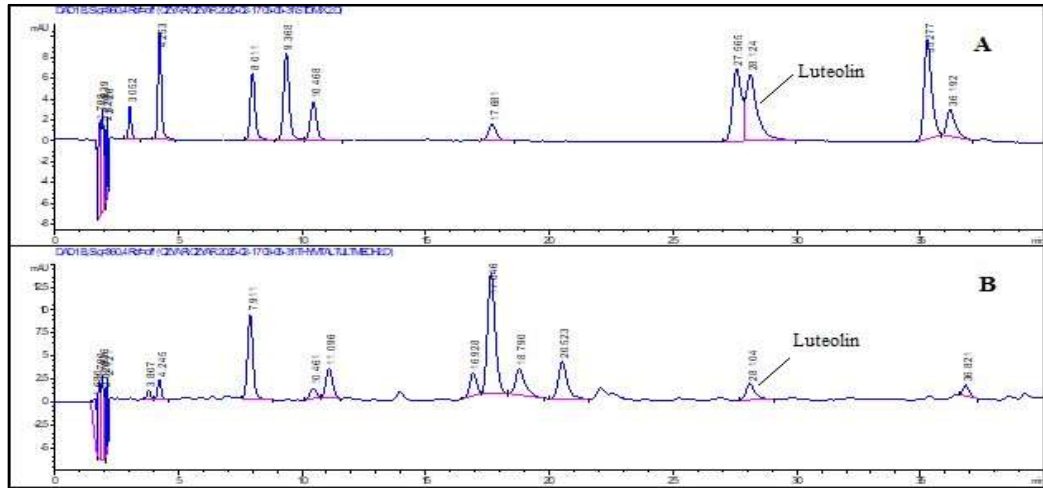
Standart Bileşik	Alan Ortalaması (n=9)	SD Değeri	%RSD Değeri
Kafeik asit	5,13	0,0997	1,9409
Rosmarinik asit	130,79	0,1572	1,9487
Klorojenik asit	7,35	0,1309	1,7809
Luteolin	7,34	0,0758	1,0326

3.3.3. *T. cilicicus* Boiss. & Balansa'nın YPSK Analizinden Elde Edilen Kromatogramlar

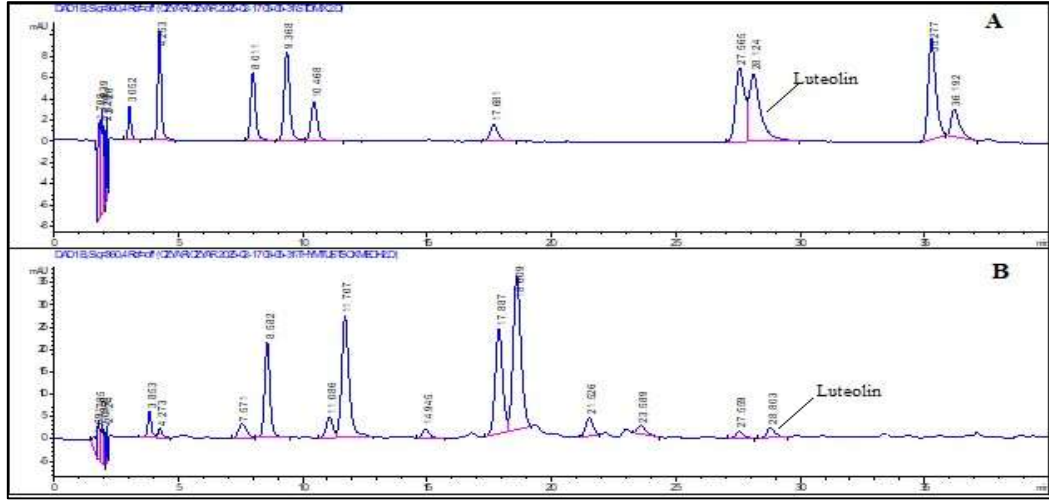
T. cilicicus'tan hazırlanan ekstratlar YPSK yöntemi ile analiz edilmiş olup 330 nm ve 360 nm'deki kromatogramlar ve UV spektrumları Şekil 3.5-3.17'de sunulmuştur.



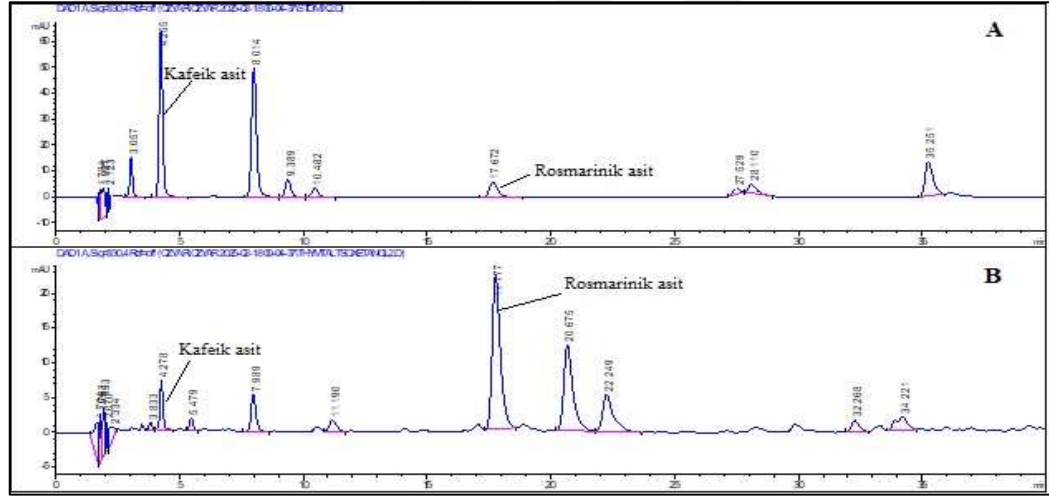
Şekil 3.5. Standartlara ait 330 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve *T. cilicicus*'un toprak altı kısımlarından ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen metanollü ekstratın 330 nm'deki YPSK kromatogramı (B)



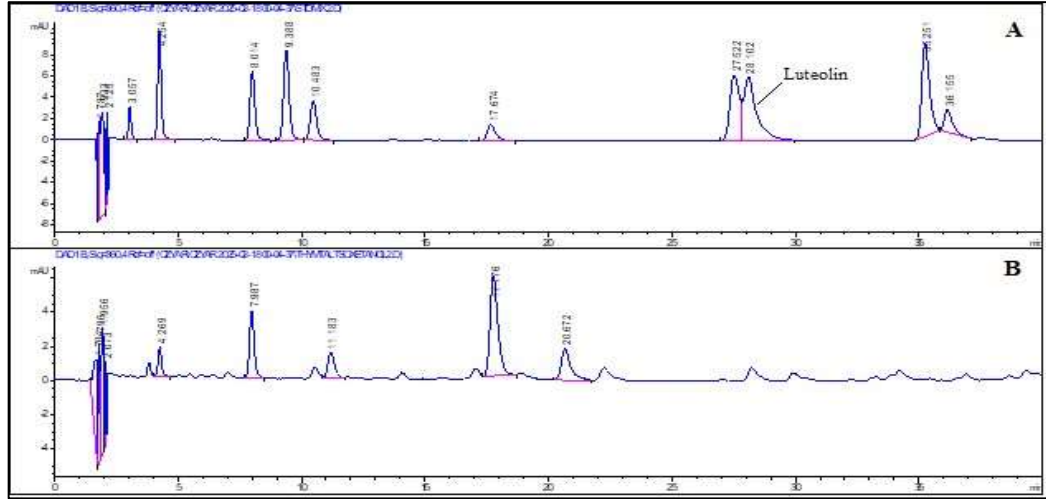
Şekil 3.6. Standartlara ait 360 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve *T. cilicicus*'un toprak altı kısımlarından ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen metanollü ekstratın 360 nm'deki YPSK kromatogramı (B)



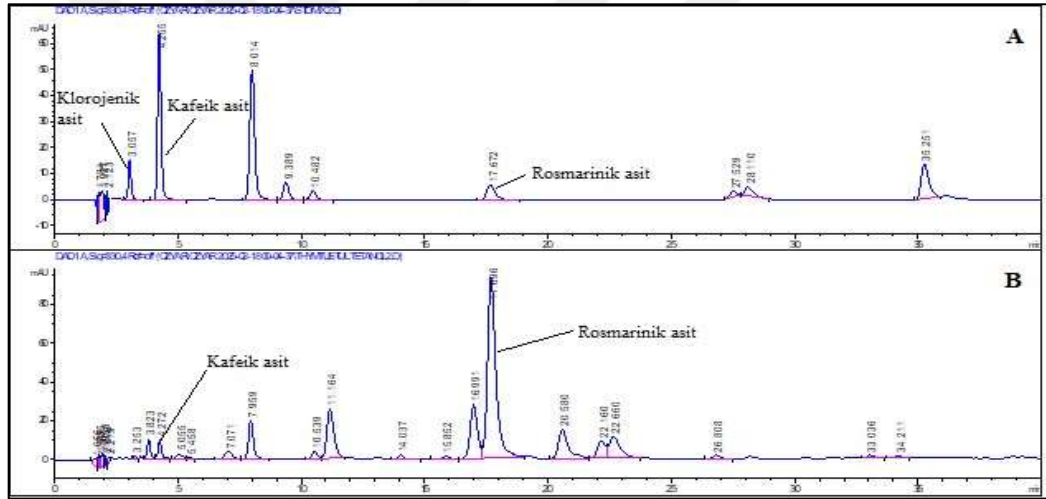
Şekil 3.7. Standartlara ait 360 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve *T. cilicicus*'un toprak üstü kısımlarından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen metanollü ekstrenin 360 nm'deki YPSK kromatogramı (B)



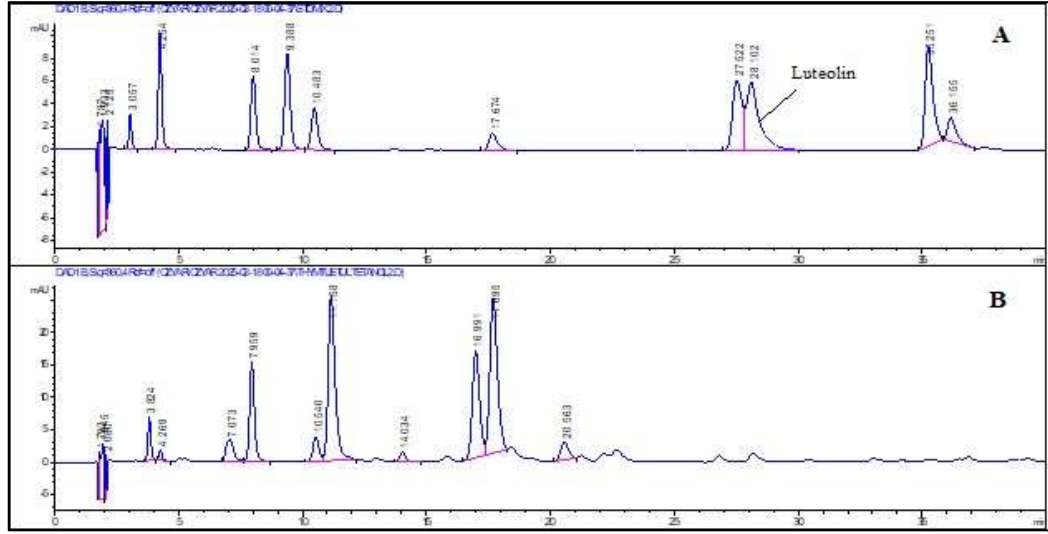
Şekil 3.8. Standartlara ait 360 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve *T. cilicicus*'un toprak altı kısımlarından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen etanollü ekstrenin 360 nm'deki YPSK kromatogramı (B)



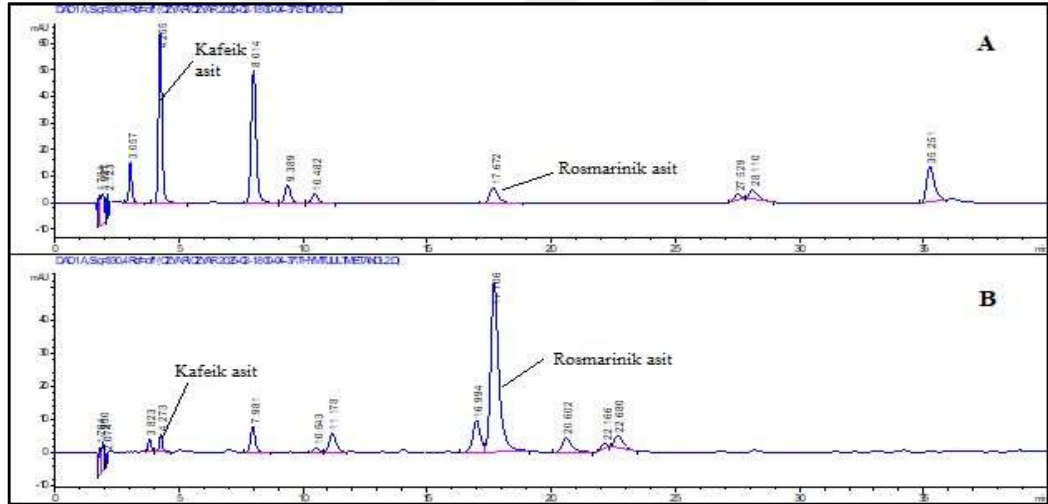
Şekil 3.9. Standartlara ait 360 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve *T. cilicicus*'un toprak altı kısımlarından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen etanolü ekstrenin 360 nm'deki YPSK kromatogramı (B)



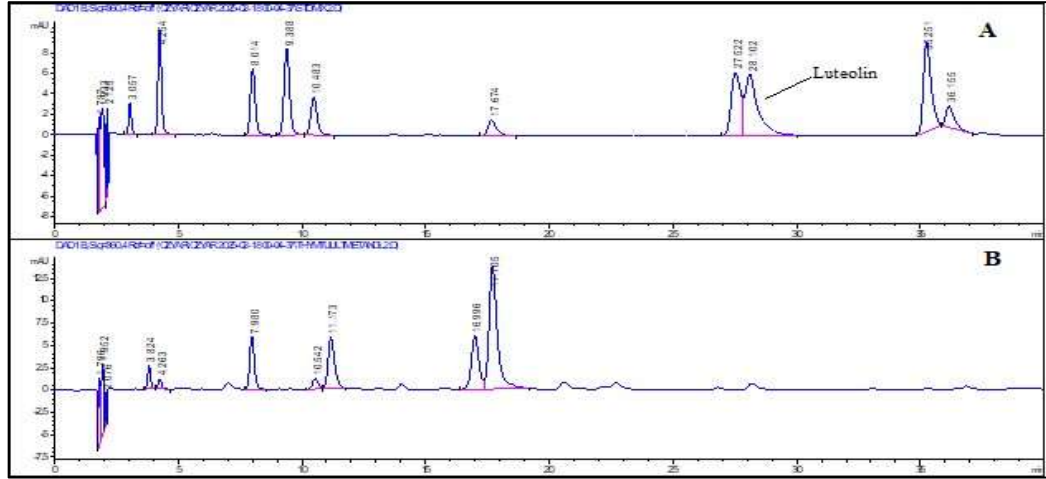
Şekil 3.10. Standartlara ait 330 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve *T. cilicicus*'un toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen etanolü ekstrenin 330 nm'deki YPSK kromatogramı (B)



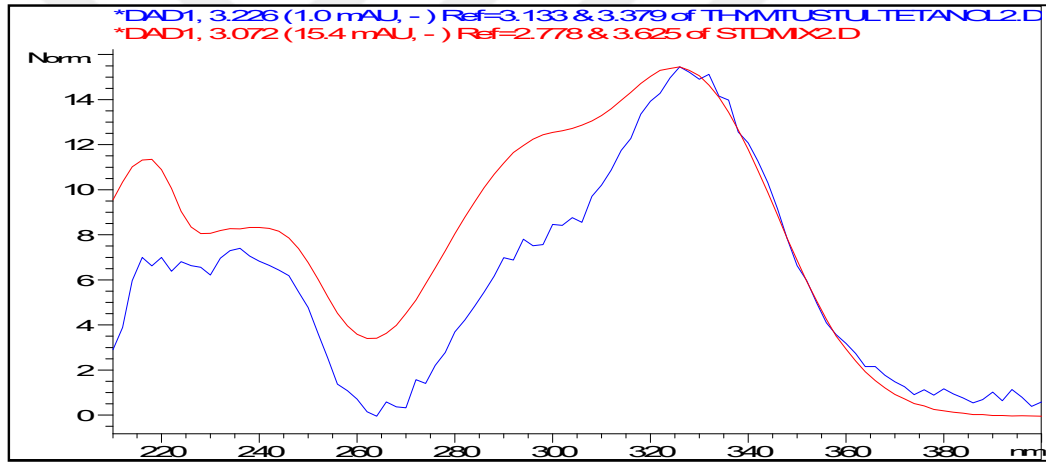
Şekil 3.11. Standartlara ait 360 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve *T. cilicicus*'un toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen etanolü ekstrenin 360 nm'deki YPSK kromatogramı (B)



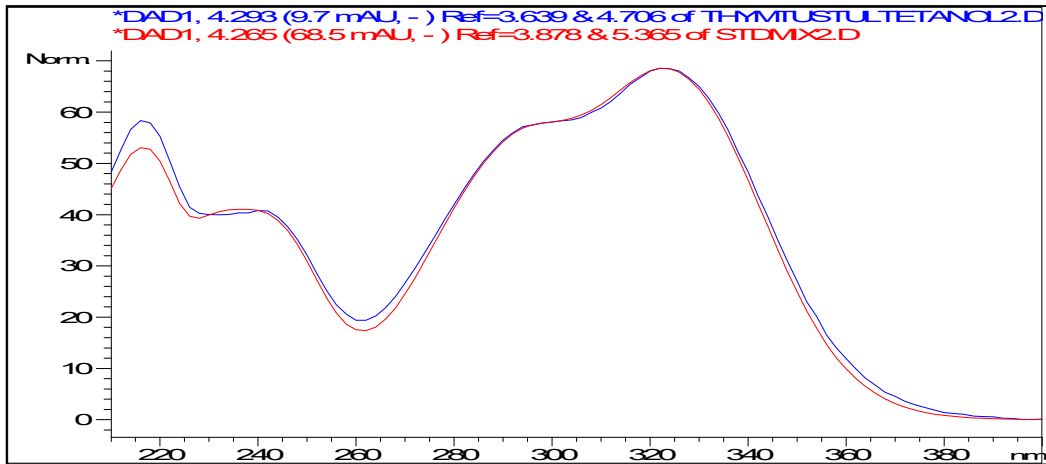
Şekil 3.12. Standartlara ait 330 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve *T. cilicicus*'un toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen metanolü ekstrenin 330 nm'deki YPSK kromatogramı (B)



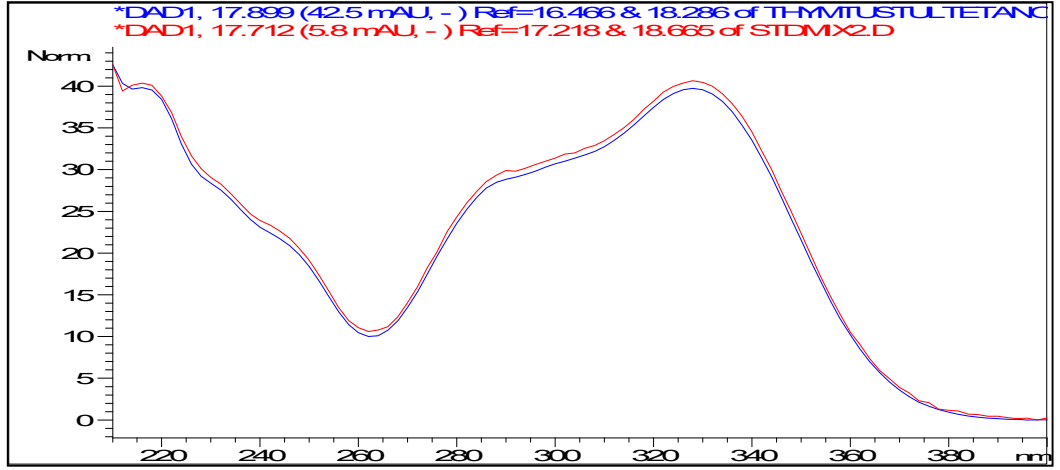
Şekil 3.13. Standartlara ait 360 nm'deki YPSK kromatogramı (A) ve *T. cilicicus*'un toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen metanollü ekstrenin 360 nm'deki YPSK kromatogramı (B)



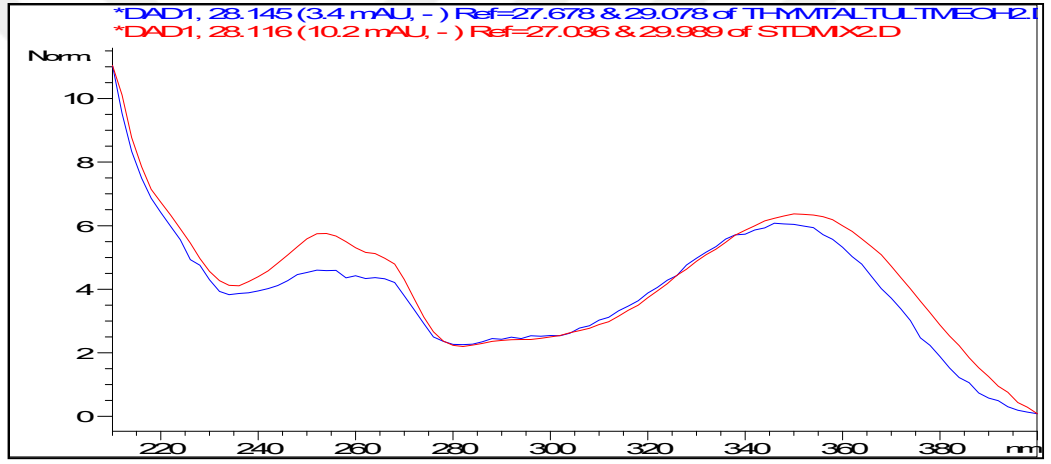
Şekil 3.14. Standart klorojenik asit ve ekstredeki klorojenik asitin çakıştırılmış UV spektrumu



Şekil 3.15. Standart kafeik asit ve ekstredeki kafeik asitin çakıştırılmış UV spektrumu



Şekil 3.16. Standart rosmarinik asit ve ekstredeki rosmarinik asitin karşılaştırılmış UV spektrumu



Şekil 3.17. Standart luteolin ve ekstredeki luteolinin karşılaştırılmış UV spektrumu

T. cilicicus ekstrelerindeki fenolik bileşik ve flavonoidlerin % miktarları Çizelge 3.5.'te belirtildiği gibidir.

Çizelge 3.5. Ekstrelerdeki fenolik bileşikler ile flavonoidlerin miktarları (%)

	Rosmarinik asit	Klorojenik asit	Kafeik asit	Luteolin
E ₁	1,8440	-	0,0734	0,7110
E ₂	1,1303	-	0,0613	0,6820
E ₃	0,7077	-	0,0154	-
E ₄	3,9897	0,0342	0,4623	-
E ₅	2,6870	-	0,0130	-

E₁: *T. cilicicus*'un toprak altı kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilmiş metanollü ekstre

E₂: *T. cilicicus*'un toprak üstü kısımlarından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilmiş metanollü ekstre

E₃: *T. cilicicus*'un toprak altı kısımlarından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilmiş etanollü ekstre

E₄: *T. cilicicus*'un toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilmiş etanollü ekstre

E₅: *T. cilicicus*'un toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilmiş metanollü ekstre

3.4. Enzim İnhibe Edici Aktivite Testleri

Enzim inhibitör aktivite testi için kullanılan *T. cilicicus* numuneleri Çizelge 3.6’da gösterilmiştir.

Çizelge 3.6. Enzim inhibisyon testinde kullanılan numuneler

Numune No	Ekstre	Ekstraksiyon Yöntemi
N ₁	Toprak üstü etanollü ekstresi	Soxhlet
N ₂	Toprak üstü etanollü ekstresi	Ultrasonik
N ₃	Toprak üstü metanollü ekstresi	Soxhlet
N ₄	Toprak üstü metanollü ekstresi	Ultrasonik
N ₅	Toprak üstü etil asetatlı ekstresi	Soxhlet
N ₆	Toprak üstü etil asetatlı ekstresi	Ultrasonik
N ₇	Toprak altı etanollü ekstresi	Soxhlet
N ₈	Toprak altı etanollü ekstresi	Ultrasonik
N ₉	Toprak altı metanollü ekstresi	Soxhlet
N ₁₀	Toprak altı metanollü ekstresi	Ultrasonik
N ₁₁	Toprak altı etil asetatlı ekstresi	Soxhlet
N ₁₂	Toprak altı etil asetatlı ekstresi	Ultrasonik

3.4.1. Kimotripsin Enzim İnhibe Edici Aktivite Testi

T. cilicicus bitkisinin farklı kısımlarından etanol, metanol ve etil asetat çözücülerıyla hazırlanmış 12 farklı ekstrenin 200 µg/mL ve 400 µg/mL konsantrasyonlarında kimotripsin inhibitör aktivitesi test edilmiştir. İnhibisyon oranları Çizelge 3.7’deki gibidir.

Çizelge 3.7. *T. cilicicus*’un kimotripsin enzim inhibisyonu sonuçları

Numune No	Derişim (µg/mL)	% inhibisyon± standart sapma	Derişim (µg/mL)	% inhibisyon± standart sapma
N ₁	200	16,94±1,07	400	55,92±1,46
N ₂	200	33,70±0,62	400	69,03±1,41
N ₃	200	43,40±1,35	400	81,45±0,40
N ₄	200	35,30±0,27	400	45,53±1,58
N ₅	200	13,56±0,88	400	38,36±1,16
N ₆	200	29,00±0,95	400	46,76±1,35
N ₇	200	46,51±1,05	400	53,36±1,86
N ₈	200	21,85±1,24	400	29,36±1,50
N ₉	200	31,71±1,01	400	42,77±0,55
N ₁₀	200	39,74±1,46	400	44,10±1,24
N ₁₁	200	16,99±1,02	400	37,68±1,30
N ₁₂	200	29,50±1,60	400	47,39±1,01
PMSF	125	99,31±0,02		

3.4.2. Tripsin Enzim İnhibe Edici Aktivite Testi

T. cilicicus bitkisinin farklı kısımlarından etanol, metanol ve etil asetat çözücülerıyla hazırlanmış 12 farklı ekstrenin 200 ve 400 (µg/mL) konsantrasyonlarında tripsin inhibitör aktivitesi test edilmiştir. İnhibisyon oranları Çizelge 3.8’de yer almaktadır.

Çizelge 3.8. *T. cilicicus*’un tripsin enzim inhibisyonu sonuçları

Numune No	Derişim (µg/mL)	% inhibisyon ± standart sapma	Derişim (µg/mL)	%inhibisyon± standart sapma
N ₁	200	21,91±0,94	400	28,28±0,43
N ₂	200	27,90±1,33	400	40,06±0,74
N ₃	200	31,84±0,16	400	38,49±1,61
N ₄	200	28,27±0,15	400	40,16±1,44
N ₅	200	44,49±0,06	400	61,46±0,21
N ₆	200	43,02±0,35	400	62,41±1,30
N ₇	200	35,13±0,50	400	53,75±0,41
N ₈	200	34,18±1,35	400	34,41±0,74
N ₉	200	35,23±1,56	400	41,93±0,57
N ₁₀	200	45,50±0,15	400	48,58±0,46
N ₁₁	200	35,61±0,81	400	48,94±0,09
N ₁₂	200	57,12±0,28	400	70,55±1,30
PMSF	160	98,67±0,64		

İnhibisyon oranı yüksek ekstreler için hesaplanan inhibisyon konsantrasyonu (IC₅₀) verileri Çizelge 3.9’da sunulmuştur.

Çizelge 3.9. IC₅₀ değerleri

Numune No	IC ₅₀ (µg/mL)
Kimotripsin İnhibe Edici Aktivite Testi	
N ₁	371,50±10,90
N ₂	268,36±6,40
N ₃	173,63±1,71
N ₇	268,63±17,11
PMSF	16,33±0,31(µM)
Tripsin İnhibe Edici Aktivite Testi	
N ₅	174,03±2,61
N ₆	230,27±5,74
N ₇	392,03±3,18
N ₁₀	205,20±9,87
N ₁₂	113,96±0,90
PMSF	67,56±2,82 (µM)

4. TARTIŞMA

Dünyada 220 türü bulunan ve Lamiaceae familyasına ait en büyük bitki grubundan biri olan *Thymus* cinsi Asya ve Avrupa'ya özgü olup ılıman, sıcak, kuru ve güneşli iklimlerde yetişmektedir. Türkiye'de Akdeniz ve Ege bölgesinde yaygın olup 39 tür ve 58 taksonla temsil edilmektedir. *Thymus* türlerinin uzun yıllardır halk arasında mide ve solunum rahatsızlıklarında, boğaz enfeksiyonlarında, diş hastalıklarında geleneksel kullanımı bulunmaktadır. Antispazmodik, antiseptik, antifungal, antiviral, antioksidan etkilerinden dolayı yaygın kullanımı tespit edilmiştir. *Thymus* türleri ile ilgili ağırlıklı olarak uçucu yağının analizine yoğunlaşan çalışmaların yanı sıra türlerin yapısındaki fenolik bileşiklerin de incelendiği birçok fitokimyasal çalışma mevcuttur. *Thymus cilicicus* türü ile ilgili ise fitokimyasal ve aktivite çalışmaları kısıtlı sayıdadır ve bu tür için özgün çalışmaların artırılması önem arz etmektedir. Bu çalışmada *T. cilicicus*'un toprak üstü ve toprak altı kısımlarından etanol, metanol ve etil asetatlı ekstreler hazırlanmıştır. Bu ekstrelerdeki fenolik içeriğin kalitatif ve kantitatif analizi için İTK ve ters faz YPSK yöntemleri kullanılmıştır. Bu tür için literatürde daha önce çalışılmamış olan tripsin ve kimotripsin inhibisyon testleri tezimizin özgünlüğünü ortaya koymaktadır.

Tez kapsamında kullanılan bitki örneği Mersin civarından toplanmış olup kurutulmuş bitkinin toprak üstündeki ve toprak altındaki kısımları öğütülerek etanol, metanol ve etil asetatlı ekstreler hazırlanmıştır. Ekstrelerin hazırlanmasında Soxhlet ekstraksiyonu ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemlerinin kullanılması hem fitokimyasal içeriklerin hem de enzim inhibitör aktivitenin farklı ekstraksiyon yöntemine göre kıyaslanabilir olmasını sağlamıştır. Elde edilen 12 ekstrenin tümü tripsin ve kimotripsin inhibisyon testinde kullanılmıştır. Ekstreler 200 µg/mL ve 400 µg/mL konsantrasyonlarda kullanılarak inhibisyon oranları değerlendirilmiştir. Uygulanan konsantrasyon arttırıldığında inhibisyon yüzdelерinde de belirgin artışlar gözlemlenmiştir. Ekstreler, tripsin ve kimotripsin enzimleri üzerinde yüksek inhibe edici aktivite sergilemiştir. Tripsin inhibisyonunda $IC_{50}=113,96\pm0,90$ µg/mL değerine göre en aktif ekstre, toprak altı kısımlarından hazırlanıp ultrasonik ekstraksiyon uygulanan etil asetatlı ekstre olmuştur. Etil asetatla hazırlanan ekstreler diğer çözücülere göre daha yüksek tripsin inhibitör aktivite sergilemiştir. Ultrasonik ekstraksiyon uygulanan ekstrelerin Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilenlere göre daha iyi aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstreler toprak altı kısımlarından elde edilen ekstrelerle göre daha yüksek tripsin inhіbe edici etki göstermiştir.

Kimotripsin inhibisyon testinde ise toprak üstü kısımlarından Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen metanollü ekstre $IC_{50}=173,63\pm1,71$ µg/mL değeri ile en aktif inhibisyonu sergilemiştir. Etanol ve metanolle hazırlanan ekstreler etil asetatlı ekstrele göre daha yüksek inhibitör aktivite göstermiştir. Tripsin inhibisyon testine benzer şekilde toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstreler toprak altı kısımlarından elde edilen ekstrele kıyasla çok daha yüksek inhibitör aktivite sergilemiştir. Literatürde yer alan çalışmalara bakıldığında tripsin ve kimotripsin gibi serin proteaz enzimleri rosmarinik asit ve klorojenik asit gibi fenolik asitler tarafından yüksek oranda inhibe edilmektedir. Bizim çalışmamızda da özellikle kimotripsin inhibitör aktivite testinde, metanol ve etanolle hazırlanan ekstreler yüksek inhibitör aktivite sergilemiştir.

Mevcut literatür ve bu çalışmanın bulguları birlikte değerlendirildiğinde rosmarinik asit, klorojenik asit ve luteolinin kimotripsin ve tripsin enzimleri üzerinde inhibitör etkileri olduğu görülmektedir. *T. cilicicus* yapısında da yer alan luteolinin serin proteaz enzimlerine yüksek bağlanma afinitesinin, bitkinin doza bağlı olarak yüksek inhibitör aktivite göstermesine neden olduğu düşünülmektedir.

Enzim inhibisyon testinde gösterdikleri aktiviteye göre seçilen ekstrelerin fenolik içeriği önceden belirlenen 2 farklı çözücü sistemi kullanılarak İTK yöntemi ile analiz edilmiştir. Sunulan kromatogramlarda da yer aldığı üzere rosmarinik asit varlığı net bir şekilde görülmektedir. Kloroform: etil asetat: aseton: formik asit çözücü sisteminin aseton içeriği ayırma olumlu bir etki yapmış olup incelediğimiz bileşikler toluen: etil asetat: formik asit çözücü sistemine göre daha keskin bantlar şeklinde gözlemlenmiştir.

Bitkinin farklı kısımlarından farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen etanollü ve metanollü ekstreler ters faz YPSK yöntemi ile incelenmiştir. Ekstrelerdeki klorojenik asit, gallik asit, kafeik asit, ferulik asit, rosmarinik asit, luteolin, apigenin, kersetin, rutin, luteolin-7 glikozit ve kemferol bileşiklerinin kalitatif ve kantitatif analizi YPSK ile yapılmıştır. Bitkideki ana bileşiklerin rosmarinik asit, klorojenik asit, kafeik asit ve luteolin olduğu YPSK analizi ile gösterilmiştir. Tüm ekstrelerde tespit edilebilen bileşikler rosmarinik asit ve kafeik asit olmuştur. Rosmarinik asit içeriği en yüksek ekstre, bitkinin toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen etanollü ekstre (%3,9897). Toprak üstü kısımlarının rosmarinik asit içeriği toprak altı kısımlarından daha yüksektir. Etanol ve metanolle hazırlanan ekstrelerin daha yüksek miktarda rosmarinik asit içerdiği tespit edilmiştir. Ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen ekstrelerdeki rosmarinik asit oranı Soxhlet ekstraksiyonu ile elde

edilen ekstrelerden daha yüksek olmuştur. Kafeik asit içeriği en yüksek ekstre, toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen etanollü ekstre (%0,4623) olmuştur. Rosmarinik asitte olduğu gibi ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen ekstrelerde kafeik asit miktarı da daha yüksek bulunmuştur. Klorojenik asitin varlığı yalnızca toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen etanollü ekstrede (%0,0342) tespit edilebilmiştir. Luteolin, toprak altı kısımlarından ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen metanollü ekstrede en yüksek oranda (%0,7110) tespit edilmiştir. Luteolin tespit edilebilen diğer ekstreye bakıldığında onun da metanolla hazırlandığı görülmektedir. Bitkiden elde edilen fitokimyasal bileşiklerin miktarına bakıldığında kullanılan çözücü ve ekstraksiyon yöntemine göre farklı sonuçların elde edildiği gözlemlenmektedir.

T. cilicicus bitkisi ana bileşikler olarak; rosmarinik asit, kafeik asit, klorojenik asit gibi fenolik asitler ile luteolin gibi flavon grubu flavonoit içermektedir. Ekstreler etanol ve metanol gibi yüksek polariteye sahip çözücüler ile hazırlandığında elde edilen bileşiklerin miktarı daha yüksek olmuştur. Ekstraksiyon yöntemi de ekstrelerdeki fenolik bileşik ve flavonoit miktarını etkilemiştir. Ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen ekstrelerin genel olarak daha yüksek miktarda bileşik içerdiği tespit edilmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımlarının tripsin ve kimotripsin enzimleri üzerinde daha yüksek inhibitör aktivite sergilemesinin rosmarinik asiti daha yüksek oranda içermesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Thymus cilicicus'tan hazırlanan ekstrelerin yüksek oranda rosmarinik asit, klorojenik asit, kafeik asit ve luteolin içermesi *Thymus* türlerinin geleneksel kullanımını destekleyici önemli veriler sunmaktadır. Bu tez çalışması, fitokimyasal içeriği ve aktivitesi bakımından kısıtlı çalışmaların bulunduğu *T. cilicicus* türünün, tripsin ve kimotripsin inhibe edici aktivite yönünden incelenmesi ve olumlu sonuçlar elde edilmesi, İTK ve YPSK yöntemleri kullanılarak fitokimyasal analizinin yapılması ile literatürü destekleyen ve yeni veriler sunan özgün bir çalışmadır. Tripsin ve kimotripsin inhibe edici aktive sonuçlarına bakıldığında *T. cilicicus*'un serin proteaz enzimlerinin aşırı aktivitesi ile tetiklenen pankreatit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve bazı kanser türlerinde potansiyel farmasötik uygulamalar için kullanılabileceği görülmektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Literatüre bakıldığında Türkiye’de ve yurtdışında *Thymus* türleri ile yapılan farmakognozik çalışmaların *Thymus cilicicus* dışındaki türlerde yoğunlaştığı görülmektedir. Bu tez kapsamında ise *Thymus* türleri ile ilgili literatürde yer alan veriler detaylı olarak incelenmiş ve Türkiye’de yetişen *Thymus cilicicus* türünün fitokimyasal yapısı ve enzim inhibitör etkinliği üzerinde çalışmalar yapılmıştır.

Tez çalışmasında öncelikle Lamiaceae familyasının botanik özellikleri araştırılmıştır. Tezde kullanılan *T. cilicicus* türü ve *Thymus* cinsine ait diğer türler hakkında mevcut çalışmalar incelenerek bu cinsin botanik özellikleri, fitokimyasal yapısı, farmakolojik aktivitesi ve geleneksel kullanımı üzerinde durulmuştur. Diğer pek çok *Thymus* türünün geleneksel kullanımı yaygın olsa da *T. cilicicus* için bu veriler sınırlıdır. Bitkinin fitokimyasal yapısı incelendikçe birçok inflamatuvar hastalığın tedavisinde yer alabileceği düşünülmektedir.

Serin proteaz enzimleri proteinlerin sindirilmesinde ve vücut tarafından kullanılabilir hale getirilmesinde önemli bir enzim ailesidir. Fakat serin proteaz grubu enzimlerin aşırı aktivitesi ile bazı kronik inflamatuvar hastalıkların oluşum mekanizması arasında bağlantı vardır. Tripsin ve kimotripsin enzimlerinin kontrolsüz olarak aktifleşmesi de pankreatit başta olmak üzere gastrointestinal sistemin inflamatuvar hastalıklarını tetiklemekte ve kanser gelişme riskini artırmaktadır. Birçok fenolik bileşik, başta rosmarinik asit olmak üzere, bu enzimlerin aktivitesini inhibe ederek inflamatuvar hastalıkların gelişme riskini azaltmaktadır.

Thymus türlerinin bilinen yüksek fenolik içeriği bizi *T. cilicicus* türünü analiz ederek tripsin ve kimotripsin inhibitör aktivitesini incelemeye yöneltmiştir. Enzim inhibitör aktivite çalışmaları kapsamında; Mersin’den toplanan *T. cilicicus* bitkisinin öğütülmüş farklı kısımlarından etanol, metanol ve etil asetat çözücülerini kullanılarak Soxhlet ekstraksiyonu ve ultrasonik ekstraksiyon olmak üzere iki farklı yöntemle ekstraktlar hazırlanmıştır. Tüm ekstraktların tripsin ve kimotripsin enzimlerini inhibe edici aktivitesi değerlendirilmiştir. Ekstraktlar, her iki enzim için de yüksek inhibitör aktivite sergilemiştir. Kimotripsin enziminin inhibisyonunda etanol ve metanollü ekstraktlar daha yüksek aktivite gösterirken tripsin enziminin inhibisyonunda etil asetatlı ekstraktlarda yüksek aktivite gözlemlenmiştir. Genel olarak Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktların inhibitör aktivitesi yüksek bulunmuştur. Ekstraksiyonun daha uzun sürede gerçekleşmesinin ana bileşikler dışında diğer

fenolik asit türevleri, flavonoidler ve terpenleri de açığa çıkararak inhibitör aktiviteyi artırmış olabileceği düşünülmektedir.

Mevcut çalışmaların ve bu çalışmanın bulgularına bakıldığında fenolik bileşikler ve luteolin gibi flavonoidler, tripsin ve kimotripsin enzimlerine karşı yüksek afinite sergilemektedirler. Bu durum da düşük konsantrasyonlarda bile inhibitör etki göstermelerini sağlamaktadır. Sonuçlara bakıldığında, zengin fenolik bileşik içeriği ve luteolin gibi önemli bir flavonoidi yapısında barındıran *T. cilicicus* türünün, tripsin ve kimotripsin gibi sindirim enzimleri üzerindeki rolü metabolik hastalıkların alternatif tedavisinde potansiyel taşıdığını göstermektedir.

Fitokimyasal analizde daha anlamlı sonuçlar elde edebilmek için enzim inhibitör aktivite testinde yüksek aktivasyon gösteren ekstraktlar İTK ve YPSK uygulamalarında kullanılmıştır. Bitkinin fitokimyasal yapısını aydınlatmada ilk olarak İTK yöntemi kullanılmış ve yöntem iki farklı çözücü sistemi ile uygulanmıştır. Kullanılan kloroform: etil asetat: aseton: formik asit çözücü sisteminin toluen: etil asetat: formik asit çözücü sistemine göre daha polar bir yapıda olmasının fenolik asitlerin ayırımına olumlu katkısı olduğu düşünülmektedir.

Çözücü olarak etanol ve metanolün kullanıldığı ultrasonik ekstraksiyon ve Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen 5 farklı ekstre, fenolik bileşikler ve flavonoid içeriği bakımından YPSK yöntemi ile analiz edilmiştir. Rosmarinik asitin tüm ekstraktlarda tespit edilen, miktar olarak en baskın fenolik bileşik olduğu gözlemlenmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımlarında rosmarinik asit miktarı daha yüksek tespit edilmiştir. Ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen ekstraktlerdeki miktarlar incelendiğinde kullanılan ekstraksiyon yönteminin de rosmarinik asit verimi üzerinde belirleyici olduğu sonucuna varılmıştır. Tespit edilen diğer baskın fenolik bileşik ise kafeik asit olmuştur. Kafeik asit, bitkinin toprak üstü kısımlarından etanol ile hazırlanıp ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen ekstrede en yüksek miktarda bulunmuştur. Klorojenik asit ise yalnızca bir ekstrede ve diğer bileşiklere kıyasla daha düşük miktarda elde edilmiştir. Bu analize bakıldığında, fenolik bileşikler içinde klorojenik asitin bitkinin kullanılan kısmına, kullanılan çözücüye ve ekstraksiyon yöntemine en duyarlı bileşik olduğu düşünülmektedir. Flavonoid grubu bileşiklerden luteolin ise hem toprak altı hem de toprak üstü kısımlarından metanol ile hazırlanan ekstraktlarda tespit edilmiştir. Bu sonuca bakıldığında metanolün luteolin için uygun bir çözücü olduğu düşünülmektedir.

Genel olarak YPSK analiz sonuçları değerlendirildiğinde fenolik bileşik veriminin en yüksek olduğu ekstre, bitkinin toprak üstü kısımlarından ultrasonik ekstraksiyon ile hazırlanan etanollü ekstre olmuştur. Fenolik asitlerin etanolde iyi çözündüğü görülmektedir. Özellikle ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlerde verim daha yüksek olmuştur. Bu durumun, ekstraksiyonun daha düşük sıcaklıkta gerçekleşmesinden dolayı bileşiklerin stabil kalması, ultrasonik dalgaların bitkinin hücre duvarını parçalaması sonucu çözücülerin hücrelere daha iyi nüfuz etmesi ve bileşikler daha iyi açığa çıkarmasından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Flavonoit verimi ise yine ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen ekstrede daha yüksek bulunmuştur. Elde edilen luteolin miktarlarına bakıldığında flavonoit içeriği bakımından bitkinin toprak altı kısımlarının daha zengin kaynak olduğu düşünülmektedir.

Yapılan taramalar sonucu, *T. cilicicus* türü için ülkemizde ve dünya çapında literatür verilerinin yetersiz olduğu ve daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulduğu açıkça görülmektedir. *Thymus* cinsi yüz yıllardır geleneksel kullanımı olan önemli türleri bünyesinde barındırmaktadır. Ülkemizde de yetişen *T. cilicicus* türü başta olmak üzere *Thymus* türleri ile ilgili çalışmaların artırılması, geleneksel kullanımda güvenilirlik ve etkinliğine dair daha güçlü verilerle ilenilmesi açısından önem arz etmektedir.

Bu tez çalışmasında, *T. cilicicus* türünün hem toprak altı hem de toprak üstü kısımlarından farklı çözücüler ve ekstraksiyon yöntemleri ile hazırlanan ekstraktler kullanılarak fitokimyasal analizler yapılmıştır. Bu sayede bitkinin fitokimyasal yapısı fenolik bileşikler açısından çözücü ve ekstraksiyon yöntemine göre kıyaslanarak incelenebilmiştir. *T. cilicicus*'un, ilk kez tripsin ve kimotripsin enzimi üzerindeki inhibe edici aktivitesinin değerlendirilmesi ve yüksek inhibisyon oranlarının elde edilmesi bu tez çalışmasını özgün kılmaktadır. Bu çalışma, bitkinin fitokimyasal yapısı ve tedavi edici özelliklerinin aydınlatılması bakımından ileride yapılacak çalışmalara destekleyici veriler sunabilecek niteliktedir. Elde edilen verilere bakıldığında *T. cilicicus* ekstraktleri farmasötik veya nutrasötik amaçlarla kullanılacaksa, hedef bileşiklere yönelik optimum çözücü ve ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi doğru bir strateji olacaktır.

KAYNAKLAR

- 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*, 9(9), 814. <https://doi.org/10.3390/antiox9090814>
- Akman, T. Ç., Şimşek, S., Akşit, Z., Akşit, H., Aydın, A., Tüfekçi, A. R., Adem, S., & Yılmaz, M. A. (2024). Liquid chromatography-tandem mass spectrometry profile and antioxidant, antimicrobial, antiproliferative, and enzyme activities of *Thymus pectinatus* and *Thymus convolutus*: *in vitro* and *in silico* approach. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(7), 4039–4049. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13286>
- Amiri, H. (2012). Essential oils composition and antioxidant properties of three *Thymus* species. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2012(1), 728065. <https://doi.org/10.1155/2012/728065>
- Aras, A., Türkan, F., Yildiko, U., Atalar, M. N., Kılıç, Ö., Alma, M. H., & Bursal, E. (2021). Biochemical constituent, enzyme inhibitory activity, and molecular docking analysis of an endemic plant species, *Thymus migricus*. *Chemical Papers*, 75, 1133-1146. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01375-z>
- Azaz, A. D., & Çelen, S. (2012). Composition and *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of four *Thymus* species in Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 24, 2082–2086.
- Aziz, S. (2008). Studies on the chemical constituents of *Thymus serpyllum*. *Turkish Journal of Chemistry*, 32(5), 605-614.
- Baig, S., Ahma, B. A., Azizan, A. H., Ali, S. H. M., Rouhollahi, E., & Abdulla, M. A. (2014). Hexane extract of *Thymus serpyllum* L.: GC-MS profile, antioxidant potential and anticancer impact on HepG2 (liver carcinoma) cell line. *Internertional Scientific Indexing*, 8, 1518-25.
- Baird, T. T., Craik, C. (2013). *Handbook of proteolytic enzymes*. San Diego: Academic Press
- Ballester-Costa, C., Sendra, E., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2013). Chemical composition and *in vitro* antibacterial properties of essential oils of four *Thymus* species from organic growth. *Industrial Crops and Products*, 50, 304-311. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.052>
- Batı Akdeniz Kalkınma Ajansı. (2021). Kekik (*Origanum onites*, *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*) Tarımı ve endüstrisi fizibilite raporu. <https://www.kalkinmakutuphanesi.gov.tr/dokuman/kekik-tarimi-ve-endustrisi-fizibilite-raporu/2688>
- Belaqiz, R., Harrak, R., Romane, A., Oufdou, K., & ElFels, M. A. E. (2010). Antimicrobial and insecticidal activities of the endemic *Thymus broussonetti* Boiss. and *Thymus maroccanus* Ball. *Records of Natural Products*, 4(4), 230.

- Benomari, F. Z., Djabou, N., Moumani, M., Hassani, F., Muselli, A., & Costa, J. (2020). Chemical variability of essential oils of three subspecies of *Thymus munbyanus* Boiss. & Reut. from Western Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 32(5), 474-484. <https://doi.org/10.3390/molecules28114439>
- Boros, B., Jakabová, S., Dörnyei, Á., Horváth, G., Pluhár, Z., Kilar, F., & Felinger, A. (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*, 1217(51), 7972-7980. doi: 10.1016/j.chroma.2010.07.042.
- Bouyahya, A., Chamkhi, I., Guaouguaou, F. E., Benali, T., Balahbib, A., El Omari, N. & El Menyiy, N. (2020). Ethnomedicinal use, phytochemistry, pharmacology, and food benefits of *Thymus capitatus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 259, 112925. doi: 10.1016/j.jep.2020.112925.
- Bozdemir, Ç. (2019). Türkiye’de Yetişen Kekik Türleri, Ekonomik Önemi ve Kullanım Alanları. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29(3), 583–594. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.511777>
- Ceylan, R., Zengin, G., Uysal, S., Ilhan, V., Aktumsek, A., Kandemir, A., & Anwar, F. (2016). GC-MS analysis and *in vitro* antioxidant and enzyme inhibitory activities of essential oil from aerial parts of endemic *Thymus spathulifolius* Hausskn. et Velen. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 31(6), 983-990. doi: 10.3109/14756366.2015.1077822.
- Costa, P., Gonçalves, S., Valentão, P., Andrade, P. B., Coelho, N., & Romano, A. (2012). *Thymus lotocephalus* wild plants and *in vitro* cultures produce different profiles of phenolic compounds with antioxidant activity. *Food chemistry*, 135(3), 1253-1260. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.072>
- Çelik, G., Kılıç, G., Kanbolat, Ş., Özlem Şener, S., Karaköse, M., Yaylı, N., & Karaoğlu, Ş. A. (2021). Biological activity, and volatile and phenolic compounds from five Lamiaceae species. *Flavour and Fragrance Journal*, 36(2), 223-232. <https://doi.org/10.1002/ffj.3636>
- Dauqan E., Abdullah A. (2017). Medicinal and Functional Values of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Herb. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5 (02): 017-022. doi: 10.7324/JABB.2017.50203
- Englberger, W., Hadding, U., Etschenberg, E., Graf, E., Leyck, S., Winkelmann, J., Parnham, M. J. (1988). Rosmarinic acid: a new inhibitor of complement C3-convertase with anti-inflammatory activity. *International journal of immunopharmacology*, 10(6), 729-737. [https://doi.org/10.1016/0192-0561\(88\)90026-4](https://doi.org/10.1016/0192-0561(88)90026-4)
- Ertas, A., Boga, M., Yilmaz, M. A., Yesil, Y., Tel, G., Temel, H. & Ugurlu, P. (2015). A detailed study on the chemical and biological profiles of essential oil and methanol extract of *Thymus nummularius* (Anzer tea): Rosmarinic acid. *Industrial Crops and Products*, 67, 336-345. doi:10.1016/j.indcrop.2015.01.064
- Fadli, M., Saad, A., Sayadi, S., Chevalier, J., Mezrioui, N. E., Pagès, J. M. & Hassani, L. (2012). Antibacterial activity of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* essential oils against nosocomial infection–bacteria and their synergistic potential with antibiotics. *Phytomedicine*, 19(5), 464-471. doi: 10.1016/j.phymed.2011.12.003

- Fani, M. & Kohanteb, J. (2017). *In vitro* antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* essential oil against major oral pathogens. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 22(4), 660–666. <https://doi.org/10.1177/2156587217700772>
- Fekrazad, R., Afzali, M., Pasban-Aliabadi, H., Esmacili-Mahani, S., Aminizadeh, M., & Mostafavi, A. (2017). Cytotoxic effect of *Thymus caramanicus* Jasas on human oral epidermoid carcinoma KB cells. *Brazilian Dental Journal*, 28(1), 72-77. doi: 10.1590/0103-6440201700737
- Frezza, C., Venditti, A., Serafini, M., & Bianco, A. (2019). Phytochemistry, chemotaxonomy, ethnopharmacology, and nutraceuticals of Lamiaceae. *Studies in Natural Products Chemistry*, 62, 125–178. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64185-4.00004-6>
- Ghafoor, N. A., Galatali, S., Yeniocak, S., KAYA, E., SARAC, N., & UĞUR, A., (2022). Investigating anticancer potency of *in vitro* propagated endemic *Thymus cilicicus* Boiss. & Bal. extract on human lung, breast, and prostate cancer cell lines. *Biologia*, vol.77, no.11, 3229-3239. doi: 10.1007/s11756-022-01168-7
- Ghasemi, G., Alirezalu, A., Ghosta, Y., Jarrahi, A., Safavi, S. A., Abbas-Mohammadi, M. & Lorenzo, J. M. (2020). Composition, antifungal, phytotoxic, and insecticidal activities of *Thymus kotschyianus* essential oil. *Molecules*, 25(5), 1152. doi: 10.3390/molecules25051152.
- Gökbulut, A. (2015). Validated RP-HPLC Method for Quantification of Phenolic Compounds in Methanol Extracts of Aerial Parts and Roots of *Thymus sipyleus* and Evaluation of Antioxidant Potential. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(10), 1871–1877. doi: 10.4314/tjpr.v14i10.19
- Grigore, A., Paraschiv, I. N. A., Colceru-Mihul, S., Bubueanu, C., Draghici, E., & Ichim, M. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. volatile oil obtained by two different methods. *Romanian Biotechnological Letters*, 15(4), 5436-5443.
- Günbatan, T., Dilmaç, E., Gökbulut, A., Sucu, M., & Gürbüz, İ. (2024). Screening Study on Serine Protease Inhibitory Activity of 10 Plant Species. *Chemistry & Biodiversity*, e202402776. doi: 10.1002/cbdv.202402776
- Gürdal, B., & Kültür, S. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Muğla, Turkey). *Journal of ethnopharmacology*, 146(1), 113–126. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.012>
- Hirota, M., Ohmuraya, M., Baba, H. (2006). The role of trypsin, trypsin inhibitor, and trypsin receptor in the onset and aggravation of pancreatitis. *Journal of gastroenterology*, 41, 832–836. doi.org/10.1007/s00535-006-1874-2
- Horwath, A. B., Grayer, R. J., Keith-Lucas, D. M., & Simmonds, M. S. (2008). Chemical characterisation of wild populations of *Thymus* from different climatic regions in southeast Spain. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(2), 117-133. doi:10.1016/j.bse.2007.08.009
- Hosseinzadeh, S., Jafarikukhdan, A., Hosseini, A., & Armand, R. (2015). The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of *Thymus vulgaris*. *International Journal of Clinical Medicine*, 6(9), 635-642. doi: 10.4236/ijcm.2015.69084.

- Hussain, A. I., Anwar, F., Chatha, S. A., Latif, S., Sherazi, S. T., Ahmad, A. & Sarker, S. D. (2013). Chemical composition and bioactivity studies of the essential oils from two *Thymus* species from the Pakistani flora. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1), 185-192. doi: 10.1016/j.lwt.2012.06.003
- Hyun, T. K., Kim, H. C., & Kim, J. S. (2014). Antioxidant and antidiabetic activity of *Thymus quinquecostatus* Celak. *Industrial Crops and Products*, 52, 611-616.
- Imelouane, B., Amhamdi, H., Wathelet, J. P., Ankit, M., Khedid, K., & El Bachiri, A. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11(2), 205-208.
- Jabri-Karoui, I., Bettaieb, I., Msaada, K., Hammami, M., & Marzouk, B. (2012). Research on the phenolic compounds and antioxidant activities of Tunisian *Thymus capitatus*. *Journal of functional foods*, 4(3), 661-669. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.04.007>
- Jain, N., & Choudhary, P. (2022). Phytochemistry, traditional uses and pharmacological aspect of *Thymus vulgaris*: a review. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 84(6), 1369-1379. doi:10.36468/pharmaceutical-sciences.1035
- Jarić, S., Mitrović, M., & Pavlović, P. (2015). Review of ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological study of *Thymus serpyllum* L. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015(1), 101978. doi: 10.1155/2015/101978
- Khalaf, A. N., & Abed, I. J. (2021). Evaluating the *in vitro* cytotoxicity of *Thymus vulgaris* essential oil on MCF-7 and HeLa cancer cell lines. *Iraqi Journal of Science*, 2862-2871. <https://doi.org/10.24996/ij.s.2021.62.9.3>.
- Khouya, T., Ramchoun, M., Amrani, S., Harnafi, H., Rouis, M., Couchie, D. & Alem, C. (2020). Anti-inflammatory and anticoagulant effects of polyphenol-rich extracts from *Thymus atlanticus*: An *in vitro* and *in vivo* study. *Journal of ethnopharmacology*, 252, 112475. doi: 10.1016/j.jep.2019.112475
- Knaub, K., Schön, C., Suarez, C. G., & Pischel, I. (2022). Effects of a food supplement with a wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) extract on gut health and the microbiome in humans: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *Food and Nutrition Sciences*, 13(11), 931-949. doi:10.4236/fns.2022.1311065
- Küçükaydın, S., Çayan, F., Tel-Çayan, G., & Duru, M. E. (2021a). HPLC-DAD phytochemical profiles of *Thymus cariensis* and *T. cilicicus* with antioxidant, cytotoxic, anticholinesterase, anti-urease, anti-tyrosinase, and antidiabetic activities. *South African Journal of Botany*, 143, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.07.018>
- Küçükaydın, S., Tel-Çayan, G., Duru, M. E., Kesdek, M., & Öztürk, M. (2021b). Chemical composition and insecticidal activities of the essential oils and various extracts of two *Thymus* species: *Thymus cariensis* and *Thymus cilicicus*. *Toxin Reviews*, 40(4), 1461-1471. doi:10.1080/15569543.2020.1731552
- Legerska, B., Chmelova, D., Ondrejovic, M. (2020). TLC-Bioautography as a fast and cheap screening method for the detection of α -chymotrypsin inhibitors in crude plant extracts. *Journal of biotechnology*, 313, 11-17. doi:10.1016/j.jbiotec.2020.02.016

- Mahdi, I., Bakrim, W. B., Bitchagno, G. T. M., Annaz, H., Mahmoud, M. F., & Sobeh, M. (2022). Unraveling the phytochemistry, traditional uses, and biological and pharmacological activities of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022(1), 6487430. <https://doi.org/10.1155/2022/6487430>
- Maheen, S., malik, M. N. H., Ahmad, T., Latif, F., Tabassum, N., Khan, A. Q. & Ali, H. (2015). Evaluation of anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of *Thymus serpyllum* Linn. in mice. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 72, 113. doi:10.13140/RG.2.1.3150.2808
- Martinez-Gonzalez, A. I., Díaz-Sanchez, A. G., De la Rosa, L. A., Bustos-Jaimes, I., & Alvarez-Parrilla, E. (2021). A novel approach to trypsin inhibition by flavonoids. *Journal of Food Bioactives*, 14, Article 202114272. <https://doi.org/10.31665/JFB.2021.14272>
- Ouakouak, H., Benarfa, A., Messaoudi, M., Begaa, S., Sawicka, B., Benchikha, N., & Simal-Gandara, J. (2021). Biological properties of essential oils from *Thymus algeriensis* Boiss. *Plants*, 10(4), 786. <https://doi.org/10.3390/plants10040786>
- Ozcan, M., & Chalchat, J. C. (2004). Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 30(3-4), 68-73. doi: 10.4236/fns.2022.1311065
- Prasanth Reddy, V., Ravi Vital, K., Varsha, P. V., & Satyam, S. (2014). Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. *Medicinal and Aromatic Plants*, 3(164), 2167-0412.
- Qadir, M. I., Parveen, A., Abbas, K., & Ali, M. (2016). Analgesic, anti-inflammatory and anti-pyretic activities of *Thymus linearis*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29(2), 591-594.
- Rashid Malik, N., Yadav, K. C., & Verma, A. (2016). *Optimization of Process Parameters in Extraction of Thyme Oil Using Response Surface Methodology (RSM) I*. 4(1).
- Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A. H., & Khalel, K. I. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 43, 827-831. doi:10.1016/j.indcrop.2012.08.029
- Rowshan, V., Bahmanzadegan, A., & Saharkhiz, M. J. (2013). Influence of storage conditions on the essential oil composition of *Thymus daenensis* Celak. *Industrial crops and products*, 49, 97-101. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.04.029>
- Salmalian, H., Saghebi, R., Moghadamnia, A. A., Bijani, A., Faramarzi, M., Amiri, F. N. & Bekhradi, R. (2014). comparative effect of *Thymus vulgaris* and ibuprofen on primary dysmenorrhea: A triple-blind clinical study. *Caspian journal of internal medicine*, 5(2), 82.
- Sarıkaya, A. G., Tıǧlı Kaytanlıoǧlu, E. H., & Fakir, H. (2022). İki farklı yörede doğal yayılış gösteren aş kekiği (*Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis*)’nin uçucu bileşenlerinin belirlenmesi. *European Journal of Science and Technology*. <https://doi.org/10.31590/ejosat.1054350>
- Selvi, S., Polat, R., Çakılcıoǧlu, U., Celep, F., Dirmenci, T. & Ertuǧ, Z. F. (2022). An ethnobotanical review on medicinal plants of the Lamiaceae family in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 46(4), 283–332. <https://doi.org/10.55730/1300-008X.2712>

- Sik, B., Kapcsandi, V., Szekelyhidi, R., Hanczke, E. L., & Ajtony, Z. (2019). Recent advances in the analysis of rosmarinic acid from herbs in the Lamiaceae family. *Natural Product Communications*, 14(7), 1934578X19864216. doi:10.3390/antiox10111821
- Szczepanik, M., Zawitowska, B. and Szumny, A. (2012). Insecticidal activities of *Thymus vulgaris* essential oil and its components (thymol and carvacrol) against larvae of *Lesser Mealworm*, *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). *Allelopathy Journal*, 30, 129-142.
- Şener, İ., Tekelioğlu, F., Zurnacı, M., Baloglu, P., Gür, M., & Güney, K. (2021). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of *Thymus Praecox*. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 21(1), 65-73. <https://doi.org/10.17475/kastorman.908659>
- Tarım ve Orman Bakanlığı. (2022). Kekik fizibilite raporu ve yatırımcı rehberi. <https://www.tarimorman.gov.tr/BUGEM/Belgeler/YATIRIMCI%20REHBER%C4%B0/KEKIK%20FIZIBILITE%20RAPORU.pdf>
- Teimouri, M. (2012). Antimicrobial activity and essential oil composition of *Thymus daenensis* Celak from Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(4), 631-5.
- Toujani, M. M., Rittà, M., Civra, A., Genovese, S., Epifano, F., Ghram, A. & Donalisio, M. (2018). Inhibition of HSV-2 infection by pure compounds from *Thymus capitatus* extract *in vitro*. *Phytotherapy Research*, 32(8), 1555-1563. doi: 10.1002/ptr.6084
- Tümen, G., Koyuncu, M., Kirimer, N., & Baser, K. H. C. (1994). Composition of the essential oil of *Thymus cilicicus* Boiss. & Bal. *Journal of Essential Oil Research*, 6(1), 97-98. doi:10.1080/10412905.1994.9698336
- Türkiye Bitkileri. (2025, Şubat 8). *Thymus cilicicus*. <https://turkiyebitkileri.com/foto%C4%9Fraf-galerisi/lamiaceae-ball%C4%B1babagiller/thymus-kekik/thymus-cilicicus.html?start=12>
- Uikey, J. (2024). Reviewing of plant belonging to Lamiaceae family. *International Journal of Scientific Development and Research*, 9, 2403029.
- Waheed, M., Hussain, M. B., Saeed, F., Afzaal, M., Ahmed, A., Irfan, R., Akram, N., Ahmed, F., & Hailu, G. G. (2024). Phytochemical profiling and therapeutic potential of Thyme (*Thymus spp.*): A medicinal herb. *In Food Science and Nutrition*. John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4563>
- Wang, M., Li, J., Ho, G. S., Peng, X., & Ho, C.-T. (1998). Isolation and identification of antioxidative flavonoid glycosides from thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Journal of Food Lipids*, 5(4), 313–321. doi:10.1111/j.1745-4522.1998.tb00127.x. doi: 10.1111/j.1745-4522.1998.tb00127.x
- Xu, Z., Chang, L. (2017). Lamiaceae. *In identification and control of common weeds*: Volume 3 (ss. 181–265). Singapore: Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5403-7_8
- Yıldız, B., Tümen, G., Demirkuş, N., Adıgüzel, N., Akyalçın, H., & Bahçecioglu, Z. (2004). *Türkiye'de yetişen Thymus L. (Lamiaceae) türlerinin revizyonu ve türler üzerinde palinolojik ve kimyasal araştırmalar* (TÜBİTAK Proje No: 198T003, Yayınlanmamış proje raporu).

Yigitkan, S., Fırat, M. (2024). Essential oil contents and biological activities of *Thymus canoviridis* *jalas* and *Thymus sipyleus* Boiss. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 48(3),1068-1077. doi.org/10.33483/jfpau.1484485



ÖZGEÇMİŞ

Hatice Yaren UĞURLU

1. Öğrenim Durumu

Yüksek Lisans (2022-)- Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı

Lisans (2015- 2020)- Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Lise (2010- 2014)- Vezirköprü Anadolu Öğretmen Lisesi

2. Ünvanları

2020- Eczacı

3. Mesleki Deneyim

Özel Koru Kavaklıdere Hastanesi (2025-)- Mesul müdür eczacı

Medikal Park Batıkent Hastanesi (2025-2025)- İkinci eczacı

T.C. Sağlık Bakanlığı Uluslararası Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü (2023-2025)- İlaç Operasyonları Uzmanı

Özel Magnet Hastanesi (2022- 2023)- Mesul müdür eczacı

Cadde Eczanesi (2022-2022)- İkinci eczacı

Nazlı Eczanesi (2020- 2021)- Yardımcı eczacı

4. Yayınlar

-