ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZ PROJESİ

KAPANIŞ RAPORU

(Mali Rapor)

PROJE NO : 2211S181

PROJE BAŞLANGIÇ –

BİTİŞ TARİHLERİ : 15-09-2022 –07-11-2023

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ : Prof. Dr. Gülmira ÖZEK

KAPANIŞ RAPORUNDA OLMASI GEREKEN BİLGİLER

1. Dönem içinde gerçekleşen harcamaların dökümü ve fasıllar bazında miktarları Tablo-1'de gösterilmelidir.
2. Yurtiçi ve yurtdışı seyahat harcamalarının ayrıntılı bilgisi (güzergâh, tarih, süre, kişi sayısı ve toplam harcama) verilmelidir.
3. Destek sağlayan diğer kuruluşların gerçekleşen harcamalarının miktarı ve ayrıntıları açıklanmalıdır.
4. Harcama akışında karşılaşılan zorluklar ve nedenleri açıklanmalıdır.

GENEL BİLGİLER:

PROJE NO	**2211S181**
PROJE ADI	*Thymus baseri* Öztürk, Yaylaci, Koyuncu & Ocak bitkisinin fitokimyasal ve biyolojik aktivite özelliklerinin araştırılması
KURULUŞ	Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ	Prof. Dr. Gülmira ÖZEK
ARAŞTIRMACILAR	Ecz. Dudu ALTINTAŞ

PROJE SÜRESİ				
Başlama Tarihi	**Bitiş Tarihi**	**Proje Süresi (Ay)**	**Onaylanan Ek Süre (Ay)**	**Ek Süre Dâhil Bitiş Tarihi**
15-09-2022	07-11-2023	14	-	07-11-2023

PROJENİN GENEL BÜTÇE DURUMU					
Fasıllar	**Sözleşmedeki Ödenek**	**Onaylanan Ek Ödenek**	**Toplam Ödenek**	**Toplam Gerçekleşen Harcama (*)**	**Kalan Ödenek**
Personel Giderleri	-	-	-	-	-
Sarf Malzemesi	19.995,01	-	19.995,01	16.954,24	3.040,77
Seyahat	-	-	-	-	-
Hizmet Alımı	-	-	-	-	-
Makine/Teçhizat	-	-	-	-	-
TOPLAM	**19.995,01**	-	**19.995,01**	**16.954,24**	**3.040,77**

(*) Projenin başlama tarihi ve bitiş tarihi arasında, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nden alınan bütçe raporunda yer alan harcamalar ile uyumlu olmalıdır.

PROJE KAPSAMINDA GERÇEKLEŞEN HARCAMALARA İLİŞKİN AÇIKLAMALAR
(Proje No: **2211S181**)

(Her madde için gerektiği kadar alan ve ek sayfa kullanabilirsiniz.)

1. Proje Kapsamında Yapılan Seyahat Harcamalarının Ayrıntılı Bilgisi

a) Saha Çalışmaları

Güzergâh	Tarih	Süre (Gün)	Katılımcı Sayısı	Toplam Harcama (TL)
-	.../.../202. - .../.../202.	-	-	-

b) Yurtiçi Konferans Katılım Giderleri

Toplantının Adı	Yeri	Tarih	Süre (Gün)	Katılımcının Adı Soyadı	Toplam Harcama (TL)
-	-	.../.../202. - .../.../202.	-	-	-

c) Yurtdışı Konferans ve/veya Çalışma Ziyareti Katılım Giderleri

Toplantının Adı veya Çalışma Ziyareti Konusu	Yeri	Tarih	Süre (Gün)	Katılımcının Adı Soyadı	Toplam Harcama (TL)
-	-	.../.../202. - .../.../202.	-	-	-

2. Proje Kapsamında yapılan fasıl aktarmaları ve verilen ek ödenek bilgileri (Varsa)

Eksilen Fasıl (Ekonomik Kod)	Artan Fasıl (Ekonomik Kod)	Aktarılan Tutar (TL)
-	-	-
-	-	-
-	-	-

Ek Ödenek Verilen Fasıl (Ekonomik Kod)	Ek Ödenek Gerekçesi (Kısa Açıklama)	Verilen Ek Ödenek (TL)
-	-	-

3. Proje sözleşmesinde yer alan bütçe kalemlerinin niteliğinde veya niceliğinde Komisyon onayı ile yapılan değişiklikler (Onaylanmış olan bütçe kalemlerinde yapılan nitelik / nicelik değişiklerinde mutlaka Komisyon onayı alındıktan sonra harcama gerçekleştirilmelidir. Aksi takdirde onay alınmadan yapılan bu tür harcamaların iadesi istenir.)

Proje sözleşmesinde yer alan bütçe kalemlerinin niteliğinde veya niceliğinde değişiklik yapılmamıştır.

gs

4. Destek Sağlayan Diğer Kuruluşların Gerçekleşen Harcamalarının Miktarı ve Ayrıntıları

Projeye destek sağlayan bir kuruluş yoktur.

5. Harcama Akışında Karşılaşılan Zorluklar ve Nedenleri

Harcama akışında bir zorlukla karşılaşılmamıştır.

KAPANIŞ RAPORU EK SAYFASI
(Proje No: **2211S181**)

(Her madde için gerektiği kadar alan ve ek sayfa kullanabilirsiniz.)

1. Proje hedef - sonuç ilişkisi

Projenin amacı:

- *Thymus baseri* türünün toprak üstü kısımlarının fitokimyasal profili ve biyolojik aktivite potansiyeli araştırılacaktır. Bitkinin uçucu yağı, sabit yağ asitleri ve farklı polariteli ekstrelerinin kimyasal kompozisyonlarının aydınlatılması amaçlanmıştır.
- Uçucu yağ ve ekstrelerinin biyolojik aktivitelerinin kapsamlı incelenmesi de amaçlanmıştır.

Bu amaçlar doğrultusunda *T. baseri* ile ilgili aşağıdaki çalışmalarının gerçekleştirilmesi hedeflenmiştir:

- *T. baseri* bitkisi uçucu yağın elde edilmesi,
- *T. baseri* bitkisi sabit yağ asitlerin elde edilmesi,
- *T. baseri* farklı polaritelerde çözücülerle ekstrelerinin elde edilmesi,
- Uçucu yağ, sabit yağ ve ekstrelerin kompozisyon ve biyolojik aktivitesinin araştırılması

T. baseri bitkisi üzerinde yapılması planlanan araştırmalar aşağıdaki deneysel çalışmaları kapsamıştır:

- *T. baseri* bitkisi toprak üstü kısmı üzerinde genel madde grupları için fitokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesi
- *T. baseri* bitkisi toprak üstü kısmının hidrodistilasyonu,
- *T. baseri* bitkisi toprak üstü kısmından sabit yağ asitlerinin mikroekstraksiyon ve transesterifikasyonu,
- *T. baseri* farklı polaritelerde çözücülerle ekstrelerinin elde edilmesi,
- Uçucu yağ kompozisyonunun GC-FID ve GC/MS teknikleri ile belirlenmesi,
- Sabit yağ asitleri metil esterlerinin kompozisyonlarının GC-FID ve GC/MS teknikleri ile belirlenmesi,
- Ekstrelerin kompozisyonlarının HPLC tekniği ile belirlenmesi,
- Ekstrelerin sililleme türevlerinin kompozisyonlarının GC-FID ve GC/MS teknikleri ile belirlenmesi,
- Ekstrelerin toplam flavonoit, toplam fenol ve toplam hidroksisinamik asitleri miktarlarının tayini,
- Ekstrelerin ve uçucu yağın Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasitelerinin (TEAC), serbest radikal süpürücü etkilerinin (DPPH testi) değerlendirilmesi,
- Ekstre ve uçucu yağın antioksidan etkileri HPTLC biyootografik yöntemle araştırılması,
- Ekstre ve uçucu yağın antidiyabetik etkilerinin (α-amilaz enzimi inhibisyonu) belirlenmesi.

2. Proje kapsamında elde edilen sonuçların bilimsel, ekonomik ve toplumsal faydaya katkıları

Proje kapsamında Türkiye için endemik bir tür olan Eskişehir civarında yetişen *Thymus baseri* üzerinde kapsamlı fitokimyasal araştırmalar ve biyolojik aktivite değerlendirmeleri gerçekleştirilmiştir. Fitokimyasal araştırmalar kapsamında, gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi, ultra performans birleşim kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi ve yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi tekniklerinden faydalanılmştır. Bitkinin topraküstü kısımlarının uçucu yağı, sabit yağ asitleri profili aydınlatılmıştır.

Bitkiden; uçucu yağ, *n*-hekzanlı, metanollü ve sulu herba ve kök ekstreleri, etanollü ve kloroformlu çiçek ekstreleri ve sabit yağ asitleri elde edilerek kromatografik tekniklerle fitokimyasal incelemelere tabi tutulmuştur. Farklı polaritede çözücüler ile ekstraksiyon sonucunda en yüksek verimin topraküstü kısmı sulu ekstresinde (%57,61) olduğu gözlenmiştir.

Uçucu yağ, yağ asitleri metil esterleri ve silillenmiş ekstrelerin kimyasal kompozisyonları GC-FID/MS ile araştırılmıştır. Uçucu yağın içinde enantiomerik özellikte bulunan ve yüzdesi % 10 üzerinde olan bileşiklerin enantiomerik durumu şiral kolonlar kullanılarak analiz edilmiştir. Uçucu yağın majör bileşikleri olarak (-)-linalool (%34,4), mirsen (%12,9), β-karyofillen (%8,2) ve bisiklogermakren (%6,9) tespit edilmiştir.

T. baseri toprak üstü kısımlarından elde edilen sabit yağ bileşiminde majör bileşik olarak nonadekanoik asit (%44,6), palmitik asit (%18,1) ve linolenik asit (%16,4) saptanmıştır.

RP-HPLC-DAD ile yapılan araştırma sonucunda majör fenolik asit bileşiğinin tüm polar ekstrelerde rozmarinik asit olduğu görülmüştür.

Elde edilen uçucu yağ ve ekstrelerin antioksidan kapasiteleri TEAC, DPPH ve ORAC testleri ile değerlendirilmiştir. Uçucu yağ ve farklı polariteli ekstrelerin troloksa eşdeğer antioksidan kapasite değerleri kıyaslandığında en güçlü etkiyi sulu kök ektresi göstermiştir. DPPH serbest radikal süpürücü aktivite testi analiz sonucuna göre uçucu yağ ve hegzanlı ekstreler %50'den düşük bir aktivite göstermiştir. En yüksek inhibisyon etkisi ise metanollü topraküstü kısımdan elde edilen ekstrede bulunmuştur. ORAC test sonuçlarına göre en yüksek aktivitenin toprak üstü kısmından elde edilen sulu ekstrede olduğu gözlenmiştir.

Biootografik HPTLC yöntemle antioksidan aktiviteden sorumlu bileşikler tayin edilmiştir.

Ekstreler için toplam fenol, toplam flavonoit ve toplam hidroksisinnamik asit miktarları spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. En yüksek fenol miktarına sahip ekstre sulu kök ekstresi (495,86 mg/g_{ekstre}), en yüksek flavonoid içeriğine sahip ekstre sulu herba ekstresidir (91.805 mg/g_{ekstre}).

Uçucu yağ ve ekstrelerin antidiyabetik potansiyeli α-amilaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkisine bağlı olarak değerlendirilmiştir. En etkili ekstre metanollü kök ekstresi (Inh %46,34) olarak tespit edilmiştir.

T. baseri bitkisinin türevlendirilmiş ekstrelerinde GC-MS kullanılarak yapılan tayinde oleanolik asit ve ursolik asit yüksek oranda bulunan triterpenik bileşikler olarak tespit edilmiştir.

Bu araştırmanın kapsamında *T. baseri* türü ilk kez fitokimyasal incelemeye tabi tutularak uçucu ve uçucu olmayan sekonder metabolitleri aydınlatılmıştır. Ayrıca, bitkinin farklı kısımlarının biyolojik aktiviteleri ilk kez değerlendirilmiştir. Elde edilen bileşiklerin literatürde önemli biyolojik aktivite potansiyellerine sahip olduğu görülmüştür. Bu açıdan *T. baseri* bitkisinin kıymetli sekonder metabolitlerin kaynağı olduğu kanıtlanmıştır. Bu bileşikler gıda, parfümeri, kozmetik, ilaç ve kimya sanayiinde değerlendirilme potansiyeline sahiptir.

3. Proje kapsamında elde edilen makine/teçhizat/donanım ve bunların mevcut durumları

Proje kapsamında sadece sarf malzeme alımı yapılmış olup, makine/teçhizat alımı yapılmamıştır. Tüm çalışmalar mevcut makine/teçhizat ile gerçekleştirilmiştir.

4. Proje kapsamında ileriye dönük araştırma önerileri

Araştırmalar sonucu *T. baseri*'nin geniş bir yelpazede fitokimyasallarca zengin olduğu ve bitkinin sekonder metabolitlerinin yeni araştırma projeleri ile devam edilmesi önem kazanmıştır. Ayrıca, *T. baseri* türünden elde edilen ekstre ve uçucu yağı üzerinde daha farklı kimyasal ve aktivite deneylerinde de test edilmesi başta sağlık alanı olmak üzere toplumsal çözümlere imkân vermesi açısından önem taşımaktadır. Benzer tarzdaki çalışmaların yürütülmesi bu açıdan büyük öneme sahiptir.

5. Proje Kapsamında Yapılan veya hazırlanan Yayımlar ve Toplantılarda Sunulan Bildiriler

Sıra	Çıktı türü	Yazarlar	Başlık	Yayın yeri	Durumu*
1	Yüksek Lisans Tezi	Dudu ALTINTAŞ	*Thymus baseri* Öztürk, Yaylaci, Koyuncu & Ocak bitkisinin fitokimyasal ve biyolojik aktivite özelliklerinin araştırılması	Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temmuz 2023	Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından onaylandı

* Hakem değerlendirmesinde, yayınlanmaya kabul edildi, yayınlandı.

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜNÜN ADI SOYADI	İMZASI	TARİH
Prof. Dr. Gülmira ÖZEK		18.07.2023

NOT: Raporun tüm sayfaları proje yürütücüsü tarafından paraflanacak, sadece son sayfa imzalanacaktır.

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ

PROJE HARCAMA RAPORU

Proje No:	2211S181		
Proje Destekleyen Kurum	BAP		
Proje Adı	Thymus baserii Öztürk, Yaylaci, Koyuncu & Ocak Bitkisinin Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Özelliklerinin Araştırılması		
Proje Yöneticisi	GÜLMİRA ÖZEK		
Bölüm	ECZACILIK MESLEK BİLİMLERİ BÖLÜMÜ		
Proje Bütçesi	19995.01		
Proje Türü	Yüksek Lisans Tez Projeleri		
Proje Başlangıç Tarihi	2022-09-15		
Sözleşme Tarihi	2022-11-07		
Proje Bitiş Tarihi	2023-11-07		
	TOPLAM ÖDENEK	HARCANAN ÖDENEK	KALAN ÖDENEK
PERSONEL GİDERLERİ	0.00	0.00	0.00
YURT İÇİ YOLLUK	0.00	0.00	0.00
YURT DIŞI YOLLUK	0.00	0.00	0.00
HİZMET ALIMLARI	0.00	0.00	0.00
TÜK.MAL.ve MALZ. ALIMLARI	19995.01	16954.24	3040.77
MAK. TEÇ. ALIMLARI	0.00	0.00	0.00
BURSİYER ÖDENEKLERİ	0.00	0.00	0.00
TESİS HARCAMALARI	0.00	0.00	0.00
DİĞER SERMAYE HARCAMALARI	0.00	0.00	0.00

ANABAP HARCAMA İŞLEM RAPORU

Proje No:	2211S181
Proje Destekleyen Kurum	BAP
Proje Adı	Thymus baserii Öztürk, Yaylaci, Koyuncu & Ocak Bitkisinin Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Özelliklerinin Araştırılması
Proje Yöneticisi	GÜLMİRA ÖZEK
Bölüm	ECZACILIK MESLEK BİLİMLERİ BÖLÜMÜ
Proje Bütçesi	19.995,01
Proje Türü	Yüksek Lisans Tez Projeleri

Tüketime Yönelik Mal ve Malzeme Alım Ödeneği

İşlem No	Bütçe Kalemi	Firma	Tarih	Tutar	Açıklama
202300092	Laboratuvar Malzemesi ile Kimyevi ve Temrinlik Malzeme Alımları	BO&GA MEDİKAL SAN. VE TİC. LTD.ŞTİ.	2023-02-21	4.484,00	TLC Plates ALUGRAM® Xtra SILGUR / UV254 with Standard Silica Gel 60 and concentration zone, 10 × 20 cm, 20 unit(s)
202300090	Laboratuvar Malzemesi ile Kimyevi ve Temrinlik Malzeme Alımları	İNTERLAB LABORATUAR ÜRÜNLERİ SAN. VE TİC. A.Ş.	2023-02-21	2.076,80	Dichloromethane, EMPLURA, ?99% (GC), 2,5L
202300090	Laboratuvar Malzemesi ile Kimyevi ve Temrinlik Malzeme Alımları	İNTERLAB LABORATUAR ÜRÜNLERİ SAN. VE TİC. A.Ş.	2023-02-21	1.504,50	Methanol, EMPLURA, ?99.5% (GC), 2,5L
202300091	Laboratuvar Malzemesi ile Kimyevi ve Temrinlik Malzeme Alımları	TKLABSİS LABORATUVAR SİSTEMLERİ	2023-02-21	1.433,70	Ethyl acetate, ?99.5% (GC), 2,5L
202300091	Laboratuvar Malzemesi ile Kimyevi ve Temrinlik Malzeme Alımları	TKLABSİS LABORATUVAR SİSTEMLERİ	2023-02-21	1.746,40	Betulinic acid, technical grade 90%, 100 MG
202300091	Laboratuvar Malzemesi ile Kimyevi ve Temrinlik Malzeme Alımları	TKLABSİS LABORATUVAR SİSTEMLERİ	2023-02-21	3.942,38	N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide with trimethylchlorosilane (BSTFA) (with 1% TMCS), 10 × 1 mL, for GC derivatization, LiChropur™, 99% (excluding TMCS)
202300091	Laboratuvar Malzemesi ile Kimyevi ve Temrinlik Malzeme Alımları	TKLABSİS LABORATUVAR SİSTEMLERİ	2023-02-21	1.766,46	Chloroform, ?99% (GC), 2,5L

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

THYMUS BASERİ OZTURK,YAYLACİ, KOYUNCU & OCAK BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Dudu ALTINTAŞ

Eskişehir 2023

THYMUS BASERİ OZTURK, YAYLACİ, KOYUNCU & OCAK BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Dudu ALTINTAŞ

Eskişehir 2023

THYMUS BASERİ OZTURK, YAYLACİ, KOYUNCU & OCAK BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dudu ALTINTAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakognozi Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK

Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Haziran 2023

Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından kabul edilen 2211S181 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Dudu ALTINTAŞ'ın '*Thymus Baseri* Ozturk, Yaylaci, Koyuncu & Ocak Bitkisinin Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Özelliklerinin Araştırılması" başlıklı tezi 20/06/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognozi Anabilim dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı-Adı Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK	.....
Üye	: Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK	.....
Üye	: Prof. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN	.....

Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ
Enstitü Müdürü

ÖZET

THYMUS BASERİ OZTURK, YAYLACİ, KOYUNCU & OCAK BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dudu ALTINTAŞ
Farmakognozi Anabilim Dalı
Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Haziran 2023
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK

Bu çalışmada Eskişehir civarında yetişen *Thymus baseri* Ozturk, Yaylaci, Koyuncu & Ocak (Lamiaceae) bitkisinin üzerinde ilk kez fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bitkiden; uçucu yağ, *n*-hekzanlı, metanollü ve sulu herba ve kök ekstreleri, etanollü ve kloroformlu çiçek ekstreleri ve sabit yağ asitleri elde edilerek kromatografik tekniklerle fitokimyasal incelemelere tabi tutulmuştur. Uçucu yağ, yağ asitleri metil esterleri ve silillenmiş ekstrelerin kimyasal kompozisyonları GC-FID/MS ile araştırılmıştır. Uçucu yağın majör bileşikleri olarak (-)-linalool (%34,4), mirsen (%12,9), β-karyofillen (%8,2) ve bisiklogermakren (%6,9) tespit edilmiştir. Yağ asitleri kompozisyonunda majör bileşikler nonadekanoik (%44,6) ve hekzadekanoik (%18,1) asitler olarak tespit edilmiştir. Silillenen ekstrelerde majör bileşiklerin triterpenik asitler, ursolik asit ve oleanolik asit olduğu tespit edilmiştir. HPLC ile yapılan araştırma sonucunda majör fenolik asit bileşiğinin tüm polar ekstrelerde rozmarinik asit olduğu görülmüştür. Elde edilen uçucu yağ ve ekstrelerin antioksidan kapasiteleri TEAC, DPPH ve ORAC testleri ile değerlendirilmiştir. Biootografik HPTLC yöntemle antioksidan aktiviteden sorumlu bileşikler tayin edilmiştir. Ekstreler için toplam fenol, toplam flavonoit ve toplam hidroksisinnamik asit miktarları spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. Uçucu yağ ve ekstrelerin antidiyabetik potansiyeli α-amilaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkisine bağlı olarak değerlendirilmiştir. En etkili ekstre metanollü kök ekstresi (Inh %46,34) olarak tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Thymus baseri*, Lamiaceae, Antioksidan aktivite, Spektrofotometrik analiz, Kromatografik analiz.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITY PROPERTIES OF *THYMUS BASERİ* OZTURK, YAYLACİ, KOYUNCU & OCAK

Dudu ALTINTAŞ

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, June 2023

Supervisor: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK

In this study, phytochemical and biological activity studies were carried out for the first time on the *Thymus baseri* Ozturk, Yaylaci, Koyuncu & Ocak (Lamiaceae) plant growing around Eskişehir. The essential oil, *n*-hexane, methanol and aqueous herb and root extracts, ethanol and chloroform flower extracts and fatty acids have been obtained and subjected to phytochemical investigations with chromatographic techniques. The chemical compositions of essential oil, fatty acids methyl esters and sillylated extracts were investigated by GC-FID/MS. The main constituents of the essential oil were identified as (-)-linalool (34,4%), myrcene (12,9%), β-caryophyllene (8,2%), and bicyclogermacrene (6,9%). In the composition of fatty acids nonadecanoic acid (44,6%) and hexadecanoic acid (18,1%) were determined as the major compounds. It was found that major compounds were triterpenic compounds, ursolic acid and oleanolic acid in the sillylated extracts. As a result of HPLC analysis, it was found that rosmarinic acid was the major phenolic acid compound in all polar extracts. The antioxidant capacities of the essential oil and extracts were evaluated by TEAC, DPPH and ORAC tests. Biootographic HPTLC method allowed to determine the compounds with antioxidant activity. The total phenols, total flavonoids and total hydroxycinnamic acid content of the extracts were analyzed by spectrophotometric methods. The antidiabetic potential of the essential oil and extracts was evaluated based on their inhibition potential on α-amylase enzyme. The most effective extract was found to be methanol root extract (Inh 46.34%).

Keywords: *Thymus baseri*, Lamiaceae, Antioxidant activity, Spectrophotometric analysis, Chromatographic analysis.

TEŞEKKÜR

Hem lisans hem de yüksek lisans eğitimim ve tez dönemim boyunca danışmanlık yapan, her koşulda bilgilerini sabırla aktaran danışman hocam Prof. Dr. Gülmira ÖZEK'e,

Araştırma konusu olan bitkinin toplanmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen ve laboratuvar çalışmalarımda her ihtiyaç duyduğum zaman tecrübesini paylaşan Uzm. Biol. Süleyman YUR'a,

Tez çalışma konum olan bitkisel materyalin toplanmasında yardım eden ve teşhisini gerçekleştiren Dr. Ömer Koray YAYLACI'ya,

Teknik ve bilimsel bilgilerini hiç tereddüt etmeden paylaşan, özellikle sililleme ve madde teşhisi konusunda yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Temel ÖZEK'e,

HPLC analizlerinin gerçekleştirilmesinde gösterdikleri destek ve yardımlardan dolayı Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK'e,

Tez çalışmalarım boyunca deneysel çalışmalarda imkanlarını kullandığım Farmakognozi Anabilim Dalı'na,

Tez dönemim boyunca tecrübelerini içtenlikle paylaşan Uzm. Ecz. Kevser AYÇİÇEK ve Ecz. Tuğbanur TÜYSÜZ'e,

Varlığını sürekli yanımda hissettiğim Prof. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN ve Doç. Dr. Mert İLHAN'a,

Bu süreçte desteğini benden esirgemeyip dostum, yol arkadaşım olan Elaf AFTAN'a,

Tez projemin gerçekleştirilmesinde maddi destek sağlayan Anadolu Üniversitesi Proje Birimine,

Bugüne kadar her koşulda destekçim olan aileme,

Teşekkürlerimi sunarım.

20/06/2023

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

Dudu ALTINTAŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI.....i

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....ii

ÖZET.....iii

ABSTRACT.....iv

TEŞEKKÜR.....v

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....vi

İÇİNDEKİLER.....vii

TABLOLAR DİZİNİ.....x

ŞEKİLLER DİZİNİ.....xii

GÖRSELLER DİZİNİ.....xiv

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....xv

1. GİRİŞ ve AMAÇ.....1

2. KAYNAK BİLGİSİ.....3

2.1. Lamiaceae Familyası Genel Özellikleri.....3

2.1.1. *Thymus* L. cinsi genel özellikleri.....4

2.1.2. *Thymus baseri* Ozturk, Yaylaci, Koyuncu & Ocak morfolojik özellikleri.....5

2.2. *Thymus* Türleri Üzerinde Etnobotanik Çalışmalar.....6

2.3. *Thymus* Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri.....7

2.4. *Thymus* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Araştırmalar.....10

2.4.1. *Thymus* türlerinin uçucu bileşikleri.....15

2.5. Antioksidan Aktivite Çalışmalarının Önemi.....18

2.6. Antidiyabetik Araştırmaların Önemi.....22

2.6.1. α-Amilaz enzim inhibisyonu.....22

3. MATERYAL VE METOT.....25

3.1. Kimyasal Maddeler.....25

3.2. Cihaz ve Apareyler.....26

3.3. Bitkisel Materyal.....27

3.4. Uçucu Yağ Eldesi.....28

3.5. Sabit Yağ Asitlerinin Eldesi.....28

3.6. Ekstrelerin Eldesi.....29

3.7. Fitokimyasal Analizler.....30

3.7.1. Uçucu yağ ve sabit yağ asitlerinin gaz kromatografisi analizi ve teşhisi..... 30

3.7.2. Silillenen bileşiklerin gaz kromatografisi analizi ve teşhisi.....30

3.7.3. HPLC-DAD ile fenolik asit miktar tayini.....31

3.7.4. Toplam fenol miktar tayini.....32

3.7.5. Toplam flavonoit miktar tayini.....33

3.7.6. Toplam hidroksisinnamik asit miktar tayini.....33

3.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....34

3.8.1. Antioksidan aktivite testleri.....34

3.8.1.1 Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) testi.....34

3.8.1.2. Serbest radikal süpürücü etki (DPPH testi).....34

3.8.1.3. Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) testi.....37

3.8.2. Antidiyabetik aktivite testi.....37

***3.8.2.1. α-Amilaz inhibisyon testi*.....37**

3.9. Biyootografik Analiz.....38

4. BULGULAR.....40

4.1. Uçucu Yağ Özellikleri.....40

4.2. Ekstrelerin Özellikleri.....40

4.3. Fitokimyasal Araştırmaların Sonuçları.....41

4.3.1. Uçucu yağ kimyasal kompozisyonu.....41

4.3.2. Sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu.....45

4.3.3. Silillenen bileşiklerin kimyasal kompozisyonu.....46

4.3.4. HPLC-DAD ile fenolik asit miktarı.....48

4.3.5. Toplam fenol miktarı.....50

4.3.6. Toplam flavonoit miktarı.....51

4.3.7. Toplam hidroksisinnamik asit miktarı.....52

4.4. Biyolojik Aktivite Sonuçları.....53

4.4.1. Antioksidan aktivite bulguları.....53

4.4.1.1. Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değerleri.....53

4.4.1.2. DPPH radikali üzerinden radikal süpürücü etki değerleri.....54

4.4.1.3. Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) değerleri.....55

4.4.2. Antidiyabetik aktivite bulguları.....56

4.4.2.1. α-Amilaz inhibisyon verileri.....56

4.5. HPTLC-Biyootografik Analiz Verileri.....57

5. TARTIŞMA.....59

5.1. Fitokimyasal Analizler.....59

5.1.1. Uçucu yağ profili.....59

5.1.2. Sabit yağ asitleri profili.....61

5.1.3. Silillenen bileşiklerin profili.....63

5.1.4. Polar ekstrelerin profili.....64

5.1.5. Spektrofotometrik miktar tayin çalışmaları.....64

5.2. Biyolojik Aktivite Araştırmaları.....66

5.2.1. Antioksidan aktivite potansiyeli.....67

5.2.2. Antidiyabetik potansiyel.....69

5.3. HPTLC- Biyootografik Çalışmalar.....70

6. SONUÇ.....72

KAYNAKÇA.....73

ÖZGEÇMİŞ

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. *Thymus* türleriyle ilgili Türkiye'de yapılan etnobotanik çalışmalar 6

Tablo 2.2. *Thymus* türleriyle ilgili Dünya'da yapılan etnobotanik çalışmalar 7

Tablo 2.3. *Thymus* türleriyle yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları 8

Tablo 2.4.*Thymus* türlerinde tespit edilen flavonlar 10

Tablo 2.5. *Thymus* türlerinde tespit edilen flavonoitler 11

Tablo 2.6. *Thymus* türlerinde tespit edilen dihidroksiflavononlar 11

Tablo 2.7. *Thymus* türlerinde tespit edilen fenolik asitler 12

Tablo 2.8. *Thymus* türlerinde tespit edilen diterpenoidler 13

Tablo 2.9. *Thymus* türlerinde tespit edilen triterpenoidler 13

Tablo 2.10. *Thymus* türlerinde tespit edilen steroitler 14

Tablo 2.11. *Thymus* türlerinde tespit edilen uçucu bileşikler 15

Tablo 3.1. Kimyasal maddeler ve kaynaklar 25

Tablo 3.2: Kullanılan cihaz ve bilgileri 26

Tablo 3.3. *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerine uygulanan HPTLC analiz koşulları 38

Tablo 4.1. *T. baseri* bitkisinin farklı çözücülerle hazırlanan ekstrelerin verim bilgileri 40

Tablo 4.2. *T. baseri* uçucu yağının kimyasal kompozisyonu 41

Tablo 4.3. *T. baseri* uçucu yağındaki majör grupların dağılımı 44

Tablo 4.4. *T. baseri* sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu 45

Tablo 4.5. *T. baseri* herba ekstrelerinin türevlendirme analiz sonucu 46

Tablo 4.6. *T. baseri* kök ekstrelerinin türevlendirme analiz sonucu 47

Tablo 4.7. *T. baseri* çiçek ekstrelerinin türevlendirme analiz sonucu 47

Tablo 4.8. *T. baseri* ekstrelerinin ters-faz HPLC ile tespit edilen fenolik asitlerin miktarları 49

Tablo 4.9. *T. baseri* ekstrelerinin gallik asite eşdeğer toplam fenol miktarları 51

Tablo 4.10. *T. baseri* ekstrelerinin kersetine eşdeğer toplam flavonoit miktarları 52

Tablo 4.11. *T. baseri* ekstrelerinin rozmarinik asit ve klorojenik asit eşdeğeri toplam hidroksisinnamik asit miktarları 53

Tablo 4.12. *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerinin troloksa eşdeğer antioksidan kapasite değerleri 53

Tablo 4.13. *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerinin DPPH testinde IC_{50} ve % inhibisyon değerleri 54

Tablo 4.14. *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerinin troloksa eşdeğer antioksidan kapasite değerleri 56

Tablo 4.15. *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerinin α-amilaz enzimi üzerinde gösterdikleri % inhibisyon değerleri 57

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Lamiaceae familyası bitkisinin genel görünümü 3

Şekil 2.2. *Thymus* cinsi genel morfolojik özellikleri 4

Şekil 2.3. *T. baseri*'nin Türkiye'deki yayılışı 5

Şekil 2.4. Flavon ana iskeleti 11

Şekil 2.5. Flavonol ana iskeleti 11

Şekil 2.6.: Dihidroksiflavonon ana iskeleti 12

Şekil 2.7. Fenolik asit ana iskeleti 13

Şekil 2.8. Diterpen ana iskeleti 13

Şekil 2.9. Triterpenik asit ana iskeleti 14

Şekil 2.10. Sterol ana iskeleti 14

Şekil 2.11. *Thymus* uçucu yağlarında sıkça tespit edilen terpenik bileşikler 18

Şekil 2.12. Antioksidanların sınıflandırılması 19

Şekil 2.13. Peroksil radikalin ve antioksidan maddenin floresans proba etkisi 21

Şekil 3.1. Flavonoitlerin $AlCl_3$ ile tepkimesi 33

Şekil 3.2. Rozmarinik asit kalibrasyon eğrisi 34

Şekil 3.3. Klorojenik asit kalibrasyon eğrisi 34

Şekil 3.4. ABTS radikalinin indirgenme ve yükseltgenme mekanizması 35

Şekil 3.5. Troloks kalibrrasyon eğrisi 36

Şekil 3.6. DPPH radikalinin indirgenme mekanizması 36

Şekil 4.1. *T. baseri* toprak üstü uçucu yağının GC kromatogramı 41

Şekil 4.2. *T. baseri* sabit yağ asitlerinin GC kromatogramı 45

Şekil 4.3. Fenolik asit standartlarının HPLC kromatogramı 49

Şekil 4.4. *T. baseri* metanollü herba ekstresi HPLC kromatogramı (TBHME) 50

Şekil 4.5. *Sigma Plot* programı ile elde edilen IC_{50} değerleri için grafikler..... 55

Şekil 5.1. *T. baseri* bitkisinin uçucu yağındaki majör grupların dağılımı 59

Şekil 5.2. *T. baseri* bitkisinin uçucu yağına ait majör bileşiklerin molekül yapıları..... 60

Şekil 5.3. *T. baseri* majör yağ asitleri..... 62

Şekil 5.4. Türevlendirme sonucu tespit edilen triterpenik bileşikler..... 63

Şekil 5.5. *T. baseri* bitki ekstrelerinin gallik asite eşdeğer toplam fenol miktarı..... 64

Şekil 5.6. *T. baseri* bitki ekstrelerinin kersetine eşdeğer toplam flavonoid miktarı..... 65

Şekil 5.7. *T. baseri* ekstrelerinin rozmarinik asit ve klorojenik asit eşdeğeri toplam hidroksisinnamik asit miktarları..... 66

Şekil 5.8. *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerinin troloksa eşdeğer antioksidan kapasite değerleri 67

Şekil 5.9. *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerinin DPPH serbest radikalini süpürme etkileri değerleri 68

Şekil 5.10. *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerinin troloksa eşdeğer ORAC değerleri 69

Şekil 5.11. *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerinin α-amilaz enzimini inhibe etme etkileri 70

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 2.1.: *Thymus baseri* 5

Görsel 3.1. Kurutulmuş bitkisel materyal A-herba, B-radix, C-herbaryum örneği 27

Görsel 3.2. *T. baseri* herbasının Clevenger apareyinde hidrodistilasyon işlemi..... 28

Görsel 3.3. Toplam lipitleri içeren ekstrenin katı faz kartuşundan geçirme işlemi 29

Görsel 3.4. *T.baseri* baseri hekzanlı ve metanollü ekstrelerdeki çözücülerin rotavapor ile uzaklaştırılması 29

Görsel 3.5. *T. baseri* sulu ekstresindeki çözücünün liyofilizatör ile uzaklaştırılması.... 30

Görsel 4.1. *T. baseri* ekstrelerinin Folin- Ciocalteu reaktifiyle gösterdiği renk değişimi 50

Görsel 4.2. Eksrelerin $AlCl_3$ reaktifi ile tepkime sonucu renk değişimi 51

Görsel 4.3. *T. baseri* ekstrelerinin Na_2MoO_4 reaktifi ile tepkime sonucu renk değişimi 52

Görsel 4.4. *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerinin DPPH serbest radikal süpürme etkisi54

Görsel 4.5. *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerinin zamana karşı fluoresin üzerindeki etkisi 55

Görsel 4.6. *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerinin α-amilaz enzimi üzerindeki etkileri... 56

Görsel 4.7. *T. baseri* uçucu yağ ve hekzanlı ekstrelerinin biyootografisi (antioksidan aktivite) 58

Görsel 4.8. *T. baseri* herba ve kök metanollü ve sulu ekstrelerinin biyootografisi (antioksidan aktivite) 58

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%Inh : Yüzde İnhibisyon

a/a : Ağırlık/Ağırlık

AAPH : 2,2'-Azo-bis(2-metilpropinamidin) hihidroklorür

Abs : Absorbans

ABTS : 2,2'-Azino-bis(3-etilbenztiyazoline-6-sulfonik asit)

AUC : Eğrinin Altındaki Alan

BF_3 : Boron Triflorür

BHT : Bütillenmiş Hidroksi Toluen

dk : Dakika

DMSO : Dimetil sülfoksit

DPPH : 1,1-Difenil-2-pikril hidrazil

FA : Ferulik Asit

FCR : Folin-Ciocalteu Reaktifi

FID : Alev İyonlaşma Dedektörü

GA : Gallik Asit

GAE : Gallik Asite Eşdeğer Miktar

GC/MS : Gaz Kromatografisi/ Kütle Spektrometresi

GC-FID : Gaz Kromatografisi- Alev İyonlaşma Dedektörü

IC_{50} : %50 İnhibisyon gösteren değer

KA : Kafeik Asit

KLA : Klorojenik Asit

NPR : Natural Product Reagent

o-KU : *o*-Kumarik Asit

ORAC : Oksijen Radikali Absorblama Kapasitesi

PEG : Polietilen Glikol

pOHBA : *p*-OH Benzoik Asit

proKA : Protokateşik Asit

p-KA : *p*-Kumarik Asit

RA : Rozmarinik Asit

ROS : Rektif Oksijen Türleri

RRI : Relatif Tutunma İndisi

SIA : Sirinjik asit

TBHHE : *Thymus baseri* hekzanlı herba ekstresi

TBHKE : *Thymus baseri* hekzanlı kök ekstresi

TBMHE : *Thymus baseri* metanollü herba ekstresi

TBSHE : *Thymus baseri* sulu herba ekstresi

TBSKE : *Thymus baseri* sulu kök ekstresi

TBUY : *Thymus baseri* uçucu yağı

TEAK : Troloksa Eşdeğer Antioksidan Kapasite

Tr-SİN : *trans*-Sinnamik Asit

UV : Ultraviyole

VA : Vanilik Asit

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Çok eski çağlardan beri insanlar hastalıklarına çözüm bulmak amacıyla doğal kaynakları kullanmışlardır. Özellikle hastalıkların sebebinin anlaşılamadığı bir dönem olduğu göz önüne alındığında bitki kullanımının deneyim ve hayvanların hareketlerinin gözlemlenmesine dayandığı sonucuna ulaşılmıştır [1].

Bitkilerin tedavide kullanılması ampirik uygulamalarına dayansa da bu bilgiler ışığında günümüzde terapötik ürünler yapılabilmektedir. Örneğin, Antik Mısır döneminde *Ammi majus* bitkisinin vitiligo tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir. Yakın zamanda ise ß-metoksipsoralen sedef tedavisi için terapötik ürün haline getirilmiştir [2]. Bitkileri farmasötik anlamda değerli kılan taşıdıkları sekonder metabolitlerdir. Sekonder metabolitler bitkilerin çevrelerine uyum sağlayabilmeleri ve kendilerini koruyabilmeleri için bitki tarafından üretilmektedir [3]. Yapılan araştırmalar sekonder metabolitlerin terapötik olarak birçok aktivite gösterdiğini kanıtlamaktadır. Yeni ilaç hammaddeleri geliştirmek için bitkiler gibi doğal kaynaklar üzerinde yapılan çalışmalar önemli bir konumdadır [4].

Thymus L. cinsi Lamiaceae familyasına aittir. Dünya genelinde yaklaşık 350 tür ile temsil edilmektedir. Bu türlerin 38'i Türkiye'de yetişmekle beraber endemizm oranı %53 olarak belirlenmiştir [5]. Akdeniz bölgesi *Thymus* L. cinsinin merkezi olmasına karşın dünya üzerinde birçok bölgede yetişmektedir [6].

Thymus türlerinin kullanımı Antik Mısır'a kadar uzanmaktadır. MS I.yy'da yaşayan Dioscorides kekik türlerini astım ve mide rahatsızlıkları için kullanmıştır. *T. serpyllum* türünün antihelmintik, antiseptik, antispasmodik, karminatif, ekspektoran olarak kullanıldığı etnobotanik çalışmalarda kaydedilmiştir [7]. *Thymus vulgaris* L. türüne ait etnobotanik çalışmalarda bu türün antiseptik, böcek ısırıklarının tedavisinde, kas ağrılarının tedavisinde kullanıldığı görülmektedir [8].

T. vulgaris L. ve *T. zygis* L. Avrupa Farmakopesine "Thymi herba" monografıyla kayıtlıdır. Ayrıca, aynı türlerin buhar distilasyonuyla elde edilen uçucu yağları da "Thymi typo thymolo aetheroleum" ismiyle Avrupa Farmakopesinde bulunmaktadır [9].

Thymus türlerinin farmakolojik etkinliklerinden sorumlu olan bileşiklerin aydınlatılabilmesi için çeşitli fitokimyasal çalışmalar yapılmıştır. Etkili bileşiklerin uçucu yağ bileşeni ve fenolik bileşiklerden (fenolik asitler, flavonoitler vb.) oluşturduğu gözlenmiştir [10].

Bu tez çalışması kapsamında *T. baseri* Ozturk, Yaylaci, Koyuncu & Ocak türünün toprak üstü kısımları kullanılarak elde edilen uçucu yağın, sabit yağ asitlerinin ve farklı polariteli çözücülerle elde edilen ekstrelerinin fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmaları yapılmıştır. Bu çalışma çerçevesinde aşağıdaki araştırmaların yapılması planlanmıştır;

- *T. baseri* bitkisi toprak üstü kısmından hidrodistilasyon yöntemiyle uçucu yağ elde edilmesi,
- *T. baseri* bitkisi sabit yağ asitlerinin elde edilmesi,
- *T. baseri* türüne ait herba ve kök kısımlarından farklı polaritede çözücülerle ekstrelerin elde edilmesi,
- Elde edilen uçucu yağ ve sabit yağ asitlerinin bileşimlerinin GC-FID ve GC/MS teknikleri kullanılarak belirlenmesi,
- Ekstrelerin toplam fenol ve flavonoit miktarlarının tespit edilmesi,
- Ekstrelerin ve uçucu yağın antioksidan özelliklerinin DPPH, TEAK, ORAC yöntemleri kullanılarak belirlenmesi,
- Ekstrelerin toplam sinnamik asit miktarının tespit edilmesi,
- Ekstre ve uçucu yağın antidiyabetik potansiyelinin α-amilaz enzimini inhibe etme özelliği ile değerlendirilmesi,
- Ekstrelerin fenolik asit kompozisyonlarının HPLC yöntemi ile belirlenmesi gerçekleştirilmiştir.

T. baseri türü, Öztürk ve ark (2022) tarafından yeni keşfedilen bir türdür. *T. baseri* türüne ait fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları ilk defa bu tez kapsamında gerçekleştirilmiştir.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Lamiaceae Familyası Genel Özellikleri

Lamiaceae familyası Dünya'da 220 cins ve 4000 tür ile temsil edilmektedir [5]. Dünya üzerindeki yayılışları yoğunlukla Akdeniz bölgesi olsa da birçok habitatta yaşayabilmeleri ve yüksek rakımlarda yetişmelerine bağlı olarak birçok yerde yayılış gösterdikleri gözlenmiştir [11]. Türkiye'de ise Lamiaceae familyası 45 cins ve 546 tür ile temsil edilmektedir. [5]

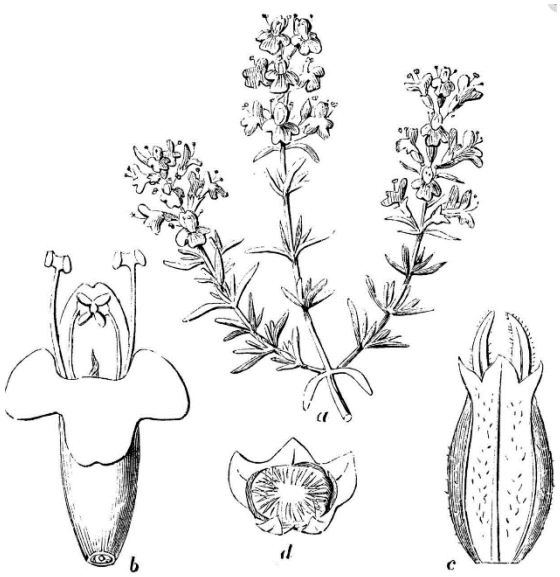
Familyanın morfolojik özellikleri incelendiğinde genellikle çalı şeklindedir (Şekil 2.1). Yapraklar basit, karşılıklı yerleşmektedir. Çiçek durumunun ise vertisillastrum şeklinde olduğu gözlenmektedir. Kaliks genellikle üst lopta 3 dişli, alt lopta 2 dişlidir. Nadiren de aktinomorfiktir. Stamenler korolla yüzeyine yapışık didinamdır. Anter bir veya 2 tekalıdır. Ovaryum üst durumlu, 4 loplu ve 4 ovüllüdür. Stilus ginobaziktir [12].



Şekil 2.1. *Lamiaceae bitkileri genel morfolojik özellikleri (http-1)*

2.1.1. *Thymus* L. cinsi genel özellikleri

Thymus bitkileri morfolojik olarak küçük çalımsı, gövde taban kısmında odunsu, gövde sık ve uzun tüylü, salgı tüylü, yaprak düz veya kıvrık kenarlı, saplı veya sapsız, lamina tabana doğru siliat, örtü tüyü basit, çiçek durumu vertisillatrum, brakteoller genellikle küçük, kaliks belirgin şekilde bilabiat, korolla pembe, mor, beyaz, stamenler didinam, stilus tepede eşit 2 loblu, nüks yüzeyi düz ovaid veya oblong şekilde bve ginedioik özellik göstermektedir (Şekil 2.2) [12].



Şekil 2.2. *Thymus cinsi genel morfolojik özellikleri (http-2)*

Thymus cinsi bitkiler çoğunlukla güneş ışığını fazla alan kayalık bölgelerde yetişirler. Çoğunlukla kayalık bölgelerde yaşamalarına rağmen farklı özellikteki bölgelerde yetişen *Thymus* türleri de vardır. Örneğin; *T. carnosus* Boiss. denize yakın kum tepelerinde, *T. lacaitae* Pau. jipsli topraklarda, *T. vulgaris* L. kireçli topraklarda yetişmektedirler [6].

Thymus türleri içerisinde çeşitli farmakopelere kayıtlı türler vardır. Bunlar;

- *T. vulgaris*; Alman Farmakopesi, Avrupa Farmakopesi, Arjantin Farmakopesi, İngiliz Farmakopesi, İsviçre Farmakopesi, Romanya Farmakopesi, Komisyon E Monografları, WHO Monografları [13]
- *T. serpyllum*; Fransız Farmakopesi, Macar Farmakopesi, İsviçre Farmakopesi, Romanya Farmakopesi, Türk Kodeksi 1948 [13]
- *T. zygis*; Alman Farmakopesi, Fransız Farmakopesi [13]

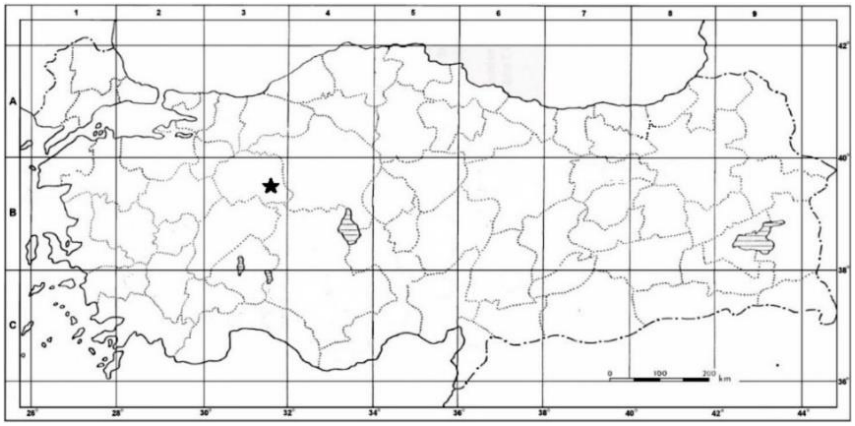
2.1.2. *Thymus baseri* Ozturk, Yaylaci, Koyuncu & Ocak morfolojik özellikleri

T. baseri çalı formundadır. Çiçekli gövdeler 5-9 cm uzunluğunda, dörtgen ve tüylü yapıdadır (Görsel 2.1.). Yapraklar lineer, tüylü, yarıdan fazlası siliat kenarları kıvrıktır. Brakteler ovat-akuminat, 1-1,5 mm boyutlarındadır. Korolla mor-leylak rengindedir. Palinojik özellikleri incelendiğinde polenler izopolar, polen şekilleri suboblat (P/E 0.82), oblat-sferoidaldir [5].



Görsel 2.1. *Thymus baseri* [5].

Türkiye için endemik bir türdür. Orta-Anadolu ile İran-Turan bölgesinde yetişmektedir [5]. *T. baseri* türünün Türkiye'deki dağılımı Şekil 2.3'te verilmiştir.



Şekil 2.3. *T. baseri türünün Türkiye'deki yayılışı* [5]

2.2. *Thymus* Türleri Üzerinde Etnobotanik Çalışmalar

Thymus türlerinin çok çeşitli aktivite gösterdiği hem bilimsel olarak kanıtlanmış hem de halk arasındaki yaygın kullanımla gösterilmiştir. Raporlanmış etnobotanik çalışmalar sonucunda *Thymus* türlerinin halk arasındaki kullanımı Tablo 2.1'de özetlenmiştir. Derlemedeki araştırmaların hepsinde Thymus türlerinin toprak üstü kısmı kullanılmıştır.

Tablo 2.1. *Thymus türleriyle ilgili Türkiye'de yapılan etnobotanik çalışmalar*

***Thymus* türü**	**Halk arasındaki adı**	**Kullanım şekli**	**Kullanım amacı**	**Kaynak**
T. fallax Fisch. & C.A.Mey.	Catri	D, İ	Sırt ağrıları, karın ağrıları	[14]
T. haussknechtii Velen.	Fırat kekiği	D	Solunum hastalıkları, soğuk algınlığ ve grip	[15]
T. leucostomus Hausskn. & Velen.	Ana kekik	İ	Diyabet, balgam söktürücü, böbrek hastalıkları	[16]
T. leucotrichus Hal.	Dağ kekiği	D, İ	Karın ağrısı, soğuk algınlığı	[17]
T. migricus Klokov &Des. Shost.	Peynir kekiği	İ	Sırt ağrısı, böbrek taşı, soğuk algınlığı, bağırsak ağrıları	[14]
T. nummularius M. Bieb.	Limon kekiği	İ	Öksürük kesici, soğuk algınlığı ve grip sindirim sistemi rahatlatıcı,	[18]
T. sibthorpii Benth.	Top kekik	D, İ	Böbrek taşları, mide ağrısı, haricen kepek önleyici	[19]
T. sipyleus Boiss.	Sipil kekiği	D, İ	Astım, soğuk algınlığı, sakinleştirici, mide ağrısı, diyabet, haricen diş ağrılarında gargara	[20]
T. transcaucasicus Ronniger	Kır kekiği	İ	Sırt ağrıları, soğuk algınlığı, böbrek hastalıkları, bağırsak ağrıları, romatizma	[14]
T. zygiodies Griseb.	Bodur kekik	İ	Diyabet, boğaz ağrısı, mide ağrısı	[21]

D: Dekosiyon; **İ**: İnfüzyon

Tablo 2.1'de *Thymus* türlerinin Türkiye'de halk arasında topraküstü kısımlarının özellikle sindirim sistemi hastalıklarında yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir.

Thymus türleri dünyanın çok çeşitli bölgelerinde farklı şekillerde hazırlanıp farklı tıbbi amaçlar için kullanılmıştır. *Thymus* türlerinin Dünya'da halk arasında tıbbi kullanımınına ait etnobotanik çalışmalar Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. *Thymus türleriyle ilgili Dünya'da yapılan etnobotanik çalışmalar*

***Thymus* türü**	**Kullanılan kısım**	**Kullanım şekli**	**Kullanım amacı**	**Kaynak**
T. broussonetii Boiss.	TÜ	İ	Diyare gibi sindirim sistemi hastalıkları, öksürük	[22]
T. capitatus Hoffmanns. & Link	Y	İ	Balgam söktürücü, ülser, eklem ağrıları	[23]
T. longicaulis C.Presl	Ç	İ	Öksürük, soğuk algınlığı ve grip	[24]
T. moroccanus Ball.	TÜ	İ	Sindirim sistemi hastalıkları, ateş düşürücü, öksürük kesici	[22]
T. pulegioides L.	TÜ	D, İ	Solunum sistemi hastalıkları, sindirim sistemi hastalıkları	[25]
T. satureioides Coss.	TÜ	İ	Soğuk algınlığı ve grip, öksürük kesici, ateş düşürücü	[22]
T. vulgaris L.	TÜ	D, İ	Ülser, yara tedavisi, hematom	[26]
	Ç	İ	Solunum sistemi hastalıkları, boğaz ağrısı, tansiyon düşürücü	[27]

TÜ: Toprak üstü; **Y**: yaprak; **Ç**: çiçek; **D**: Dekosiyon; **İ**: İnfüzyon

2.3. *Thymus* Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri

Thymus türleri biyolojik aktivitesi ile ilgili yapılmış bilimsel çalışmalar Tablo 2.3'te derlenmiştir.

Tablo 2.3. *Thymus türleriyle yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları*

Biyolojik aktivite	***Thymus* türü**	**Çalışılan kısım**	**Kullanım şekli**	**Kaynak**
Antimikrobiyal aktivite	*T. laevigatus*	Y	Ekstre (MeOH, DCM)	[28]
	T. vulgaris L.	TÜ	Uçucu yağ	[29]
	T. mastichina L.	TÜ	Uçucu yağ	[30]
Antiviral aktivite	*T. vulgaris* L.	Y	Uçucu yağ	[31]
Antioksidan aktivite	*T. laevigatus*	Y	Ekstre (MeOH, DCM)	[28]
	T. dacicus Borbas	Ç-TÜ	Ekstre (MeOH)	[32]
	T. argaeus	TÜ	Ekstre (DCM, NeOH, Su)	[33]
	T. serpyllum L.	TÜ	Ekstre (su)	[34]
Sitotoksik aktivite	*T. quinquecostatus*	TÜ	Ekstre (EtOH, EtAC fraksiyonu)	[35]
	T. carnosus Boiss	TÜ	Ekstre (su, EtOH)	[36]
	T. citriodorus	TÜ	Uçucu yağ	[35]
Antikanser aktivite	*T. quinquecostatus*	TÜ	Ekstre (EtOH), uçucu yağ	[35]
Antiülserojenik	*T. vulgaris*	Y	Ekstre (EtOH)	[37]
Antiproliferatif aktivite	*T. carnosus*	TÜ	Ekstre (EtOH,)	[38]
Antidiyabetik aktivite	*T. praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii* (TPSE)	TÜ	Ekstre (MeOHG)	[39]
	T. quinquecostatus	TÜ	Ekstrreler	[40]
Antihipertansif aktivite	*T. serpyllum* L.	TÜ	Ekstre (su)	[34]

Tablo 2.3. (*devam*) *Thymus türleriyle yapılmış biyolojik aktivite çalışmaları*

Biyolojik aktivite	*Thymus* türü	Çalışılan kısım	Kullanım şekli	Kaynak
Kemik sağlığı ve kadınlarda menpoz semptomları	*T. vulgaris* L.	TÜ	Ekstre (EtOH)	[41]
Antihelmintik aktivite	*T. bovei*	TÜ	Uçucu yağ	[42]
Antikonvülsan aktivite	*T. vulgaris* L.	TÜ	Uçucu yağ	[43]

TÜ: toprak üstü, **Y**: Yaprak

Thymus türleriyle yapılan biyolojik aktivite araştırmalarının, etnebotanik çalışmalarla örtüştüğü görülmektedir. Özellikle antimikrobiyal etki ve antiviral çalışmalar etnobotanik kullanımı doğrulamaktadır.

Klinik çalışmalar

Öksürük ve bronşit üzerine etki

Balgamlı öksürük şikayeti olan 60 hasta üzerinde yapılan randomize, çift kör klinik bir çalışmada 5 gün boyunca pozitif kontrol olarak bromheksin kullanılırken çalışma grubunda *T. vulgaris* şurubu kullanılmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda 2. ve 5. günlerde bromheksin ve *Thymus* şurupları arasında önemli bir fark görülmemiştir. Bu durum da *T. vulgaris*'in standart preparata yakın etkili olduğunu ifade etmektedir [13].

Analjezik ve antispazmodik etki

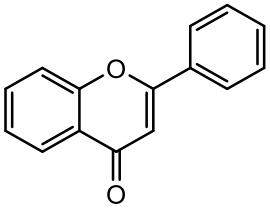
Primer dismenore için yapılan çalışmada 84 öğrenci ile çalışılmıştır. Pozitif kontrol olarak 200 mg ibuprofen, çalışma grubu olarak 25 damla *T. vulgaris* uçucu yağı ve plasebo grubu olarak belirlenmiştir ve öğrenciler 3 gruba ayrılmıştır. Ağrısı olan gruplara belirlenen uygulamalar yapılmıştır. Uygulama öncesi ölçülen ağrı şiddeti değeri; *T. vulgaris* için 6.57±2.02, ibuprofen için 5.30±2.23 ve plasebo için 6.18±1.78 olarak ölçülmüştür. Uygulama sonrasında ölçülen ağrı şiddetindeki değerlerin ibuprofen için 1.21±1.03, *T. vulgaris* için 1.48±1.62 olduğu görülmüştür [44]. Bu sonuca göre *T. vulgaris* uçucu yağının analjezik etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

2.4. *Thymus* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Araştırmalar

Thymus türlerinin sekonder metabolitlerinin belirlenebilmesi için birçok fitokimyasal çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda *Thymus* türlerinden izole edilen bazı sekonder metabolitler Tablo 2.4'te gösterilmiştir. Başlıca madde grupların ana iskeletleri Şekil 2.5-2.11 gösterilmiştir.

Tablo 2.4. *Thymus türlerinde tespit edilen flavonlar*

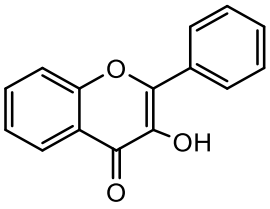
Bileşik	**Tür**	**Kaynak**
Luteolin	*T. vulgaris*	[45]
	T. quinquecostatus	[35]
Apigenin	*T. vulgaris*	[45]
	T. serpyllum	[46]
Baikalin	*T. vulgaris*	[47]
Baikalein	*T. vulgaris*	[47]
Krisin	*T. vulgaris*	[48]
Timonin	*T. vulgaris*	[45]
Timusin	*T. vulgaris*	[35]
Ksatomikrol	*T. vulgaris*	[49]
Salvigenin	*T. vulgaris*	[48]
Sirsimaritin	*T. vulgaris*	[48]
Sirsilineol	*T. vulgaris*	[48]
8-Metoksisirsilineol	*T. vulgaris*	[49]
Skutellarein	*T. quinquecostatus*	[49]
Skutellarin	*T. quinquecostatus*	[35]
Skutellarein 4'-metil eter	*T. quinquecostatus*	[35]
4'Metoksiluteolin	*T. quinquecostatus*	[35]
6-Hidroksiluteolin	*T. vulgaris*	[35]
Luteolin-7-*O*-β-glukozit	*T. quinquecostatus*	[35]
	T. vulgaris	[50]
Apigenin-7-*O*-rutinozit	*T. vulgaris*	[51]
Genkwanin	*T. vulgaris*	[35]
5-Demetilnobiletin	*T. vulgaris*	[35]
Sideritoflavon	*T. vulgaris*	[35]
Gardenin B	*T. vulgaris*	[35]
5-Desmetilsinensetin	*T. vulgaris*	[35]
	T. numidicus	[52]



Şekil 2.4. *Flavon ana iskeleti*

Tablo 2.5. *Thymus türlerinde tespit edilen flavonoller*

Bileşik	Tür	Kaynak
Rutin	*T. vulgaris*	[48]
	T. serpyllum	[46]
	T. quinquecostatus	[40]
Isoramnetin	*T. vulgaris*	[35]
Isohamnetin-3-*O*-glukozit	*T. vulgaris*	[51]
Kaemferol	*T. vulgaris*	[48]
Kaemferol-*O*-glukuronid	*T. vulgaris*	[50]
Kaemferide-3-*O*-rutinosid	*T. vulgaris*	[35]
Kersetin	*T. vulgaris*	[48]
	T. serpyllum	[46]
Kersetin-3-*O*-glukosid	*T. vulgaris*	[50]
Kersetin-3-*O*-glukuronid	*T. vulgaris*	[50]
Mirsetin	*T. vulgaris*	[48]



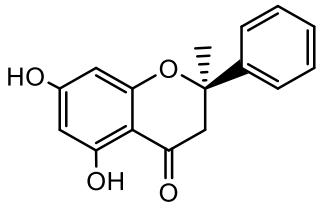
Şekil 2.5. *Flavonol ana iskeleti*

Tablo 2.6. *Thymus türlerinde tespit edilen dihidroksiflavanonlar*

Bileşik	Tür	Kaynak
Naringenin	*T. vulgaris*	[48]
	T. webbianus	[51]
Naringin	*T. vulgaris*	[48]

Tablo 2.6. (devam) *Thymus türlerinde tespit edilen dihidroksiflavonlar*

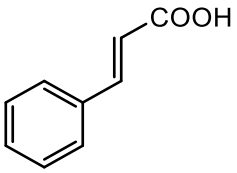
Bileşik	Tür	Kaynak
Sakuranetin	*T. vulgaris*	[35]
Naringenin-7-*O*- glukosit	*T. vulgaris*	[51]
Naringenin-7-*O*-rutinosit	*T. vulgaris*	[51]
Hesperetin-7-*O*-rutinosit	*T. vulgaris*	[50]
Eriodiktiol	*T. vulgaris*	[50]
	T. serpyllum	[46]
Eriositrin	*T. vulgaris*	[35]
Eriodiktiol-7-*O*-glukosit	*T. vulgaris*	[51]
Eriodiktiol-7-glukuronit	*T. vulgaris*	[51]
	T. serpyllum	[51]



Şekil 2.6. *Dihidroksiflavanon ana iskeleti*

Tablo 2.7. *Thymus türlerinde tespit edilen fenolik asitler*

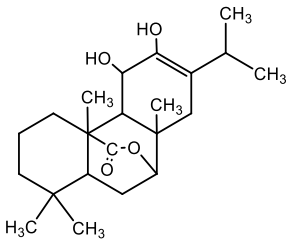
Bileşik	Tür	Kaynak
Sinnamik asit	*T. vulgaris*	[53]
Ferulik asit	*T. vulgaris*	[48]
	T. serpyllum	[46]
	T. quinquecostatus	[35]
Kafeik asit	*T. vulgaris*	[50]
	T. quinquecostatus	[35]
Klorojenik asit	*T. serpyllum*	[46]
	T. quinquecostatus	[35]
Rozmarinik asit	*T. vulgaris*	[50]
	T. quinquecostatus	[54]
Gallik asit	*T. vulgaris*	[48]
Vanilik asit	*T. vulgaris*	[48]



Şekil 2.7. *Fenolik asit ana iskeleti*

Tablo 2.8. *Thymus türlerinde tespit edilen diterpenoidler*

Bileşik	**Tür**	**Kaynak**
Karnosol	*T. vulgaris*	[35]
	T. fontanesii	[55]
Karnosik asit	*T. zygis* subsp. *gracilis*	[56]
Abietatrien	*T. lotocephallus*	[57]
Abietadien	*T. carnosus*	[58]
Kauren		
Manool oxide	*T. pallidus*	[59]



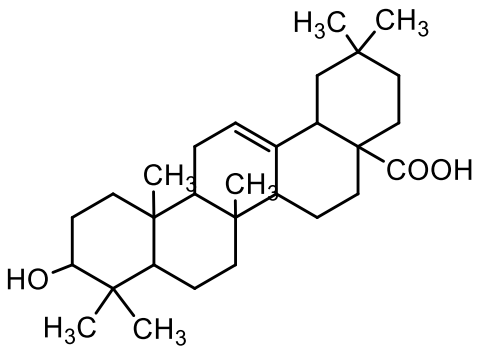
Şekil 2.8. *Diterpen ana iskeleti*

Tablo 2.9. *Thymus türlerinde tespit edilen triterpenoidler*

Bileşik	**Tür**	**Kaynak**
Oleanolik asit	*T. quinquecostatus*	[35]
Ursolik asit	*T. quinquecostatus*	[35]
Korosolik asit	*T. serpyllum*	[60]
	T. praecox ssp. *arcticus*	

Tablo 2.9. (devamı) *Thymus türlerinde tespit edilen triterpenoidler*

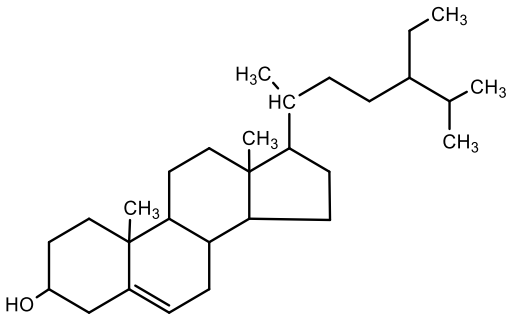
Bileşik	Tür	Kaynak
Betulinik asit	*T. austriacus*	[61]
	T. sibtorpii	
	T. serpyllum	
	T. praecox ssp. arcticus	



Şekil 2.9. *Triterpenik asit ana iskeleti*

Tablo 2.10. *Thymus türlerinde tespit edilen steroller*

Bileşik	Tür	Kaynak
β-Sitosterol	*T. quinquecostatus*	[35]
	T. mongolicus	[35]
	T. algeriensis	[61]
Daukosterol	*T. quinquecostatus*	[35]
Stigmasterol	*T. vulgaris*	[62]
Campesterol	*T. vulgaris*	[63]



Şekil 2.10. *Sterol ana iskeleti*

Yapılan literatür taraması sonucunda *Thymus* türlerinin fenolik bileşikler, flavonoitler, fenolik asitler, terpenik bileşikler (di ve triterpenler), steroller açısından zengin olduğu ortaya çıkmıştır. Bunun yanı sıra Lamiaceae familyasında sıkça görülen hidroksisinnamik asit türevleri bu cinste de yoğun bir şekilde tespit edilmiştir.

2.4.1. *Thymus* türlerinin uçucu bileşikleri

Thymus türlerinde bulunan uçucu yağın kompozisyonunu tespit etmek için birçok çalışma yapılmıştır. Bu araştırmalar sonucunda belirlenen bileşikler Tablo 2.13'de özetlenmiştir.

Tablo 2.11. *Thymus türlerinde tespit edilen uçucu bileşikler*

Madde	*Thymus* türü (Bileşik %)	Kaynak
Timol	*T. vulgaris* (46.21)	[64]
	T. algeriensis (29.2)	[65]
	T. kotschanus (39.7)	[66]
	T. eriocalyx (42.6)	[66]
Karvakrol	*T. vulgaris* (2.44)	[64]
	T. algeriensis (1.7)	[65]
	T. kotschanus (7.6)	[66]
	*T. eriocalyx (*32.3)	[66]
α- Pinen	*T. vulgaris* (2.97)	[64]
	T. algeriensis (0.1)	[65]
	T. kotschyanus (0.5)	[66]
	T. eriocalyx (1.6)	[66]
β- Pinen	*T. vulgaris* (0.71)	[64]
	T. daenensis subsp. *lancifolius* (0.1)	[66]
Mirsen	*T. vulgaris* (3.45)	[64]
	T. willdenowii (2.43)	[67]
α-Terpinen	*T. vulgaris* (2.69)	[64]
	T. algeriensis (0.3)	[65]
	T. kotschyanus (1.2)	[66]
p-Simen	*T. vulgaris* (9.91)	[64]
	T. algeriensis (6.8)	[65]
	T. kotschyanus (5.4)	[66]
	T. serpyllum (6.67)	[68]

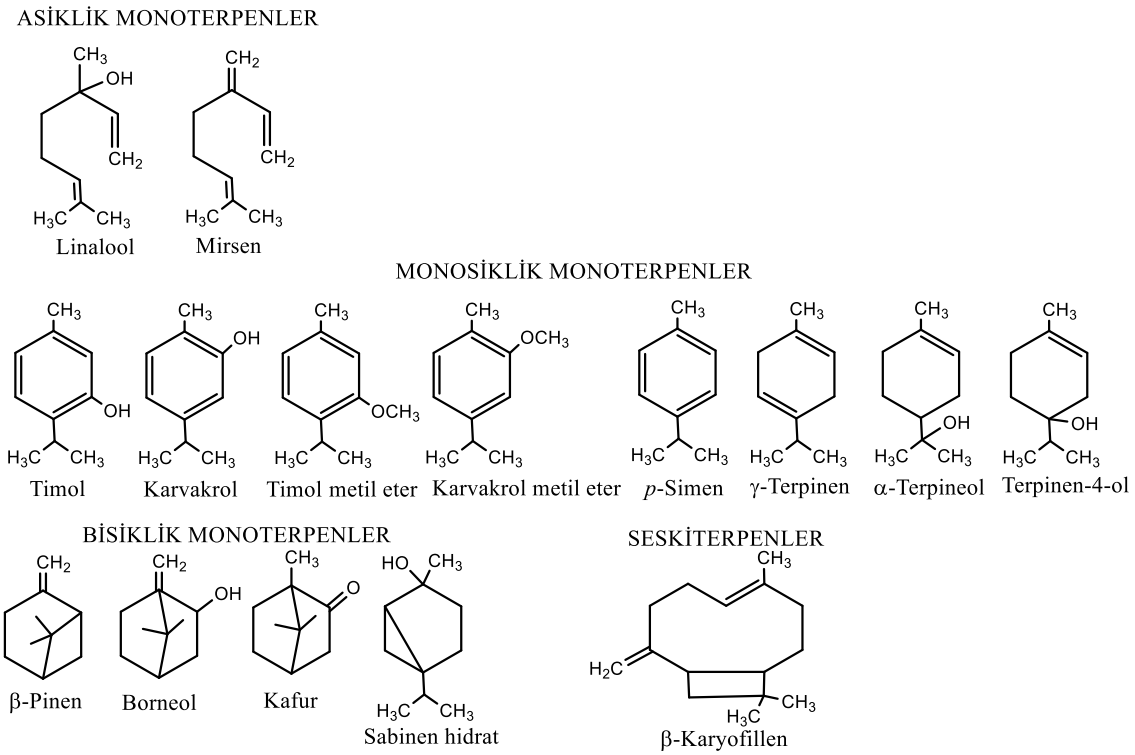
Tablo 2.11. (devam) *Thymus türlerinde tespit edilen uçucu bileşikler*

Madde	*Thymus* türü (Bileşik %)	Kaynak
o-Simen	*T. zygis* (23.14)	[67]
Limonen	*T. vulgaris* (1.23)	[64]
	T. algeriensis (0.4)	[65]
	T. willdenowii (2.16)	[67]
1,8-Sineol	*T. vulgaris* (1.96)	[64]
	T. willdenowi (1.77)	[67]
	T. serpyllum (2.69)	[68]
γ-Terpinen	*T. vulgaris* (14.08)	[64]
	T. zygis (1.98)	[67]
	T. fallax (1.96)	[68]
Linalool	*T. vulgaris* (3.99)	[64]
	T. algeriensis (47.3)	[65]
	T. daensis subsp. *lancifolius* (0.3)	[66]
	T. fallax (4.02)	[68]
β- Karyofillen	*T. vulgaris* (1.64)	[64]
	T. algeriensis (2.9)	[65]
Germakren D	*T. vulgaris* (0.4)	[64]
	T. willdenowii (16.51)	[67]
α-Fellandren	*T. vulgaris* (0.42)	[64]
Karyofillen oksit	*T. vulgaris* (0.21)	[64]
	T. kotschyanus (0.6)	[66]
	T. eriocalyx (0.5)	[66]
Sabinen	*T. algeriensis* (0.1)	[65]
Bornil asetat	*T. algeriensis* (0.1)	[65]
Spatulenol	*T. kotschyanus* (0.3)	[66]
	T. daenensis subsp. *lancifolius* (0.2)	[66]
	T. zygis (0.18)	[67]
	T. serpyllum (1.08)	[68]
γ-Bisabolen	*T. kotschyanus* (1.2)	[66]
	T. eriocalyx (0.8)	[66]
α-Tuyen	*T. kotschyanus* (0.5)	[66]
	T. daensis subsp. *lancifolius* (0.9)	[66]
α-Kadinol	*T. willdenowii* (1.32)	[67]
γ- Kadinen	*T. willdenowii* (0.87)	[67]
Kamfen	*T. willdenowii* (0.96)	[67]
	T. zygis (0.78)	[67]

Tablo 2.11. (devam) *Thymus türlerinde tespit edilen uçucu bileşikler*

Madde	*Thymus* türü (Bileşik %)	Kaynak
Terpinen-4-ol	*T. willdenowii* (1.06)	[67]
	T. zygis (0.35)	[67]
Borneol	*T. willdenowii* (4.74)	[67]
	T. zygis (3.30)	[67]
	T. pubescence (4.45)	[68]
Geranil asetat	*T. willdenowii* (8.35)	[67]
	T. fallax (2.58)	[68]

Thymus türleri uçucu yağlarının infraspesifik değişkenliği kabul edilmiş bir durumdur. Thymus uçucu yağlarının çoğunda ana bileşikler fenolik monoterpen yapısındaki timol ve karvakroldür. Bu durum *Thymus* türlerinin tipik olarak güçlü, baharat kokulu olmasına neden olur. Timole her zaman biyogenetik süreçlerle yakından bağlantılı olan bazı monoterpenler, yani bir timol izomeri ile p-simen ve γ-terpinen eşlik eder. Son ikisi timolün ve karvakrol biyogenetik yolağındaki öncülerdir. Genellikle *Thymus* uçucu yağlarında timol ve karvakrol metil eterleri de mevcuttur. Uçucu yağlarda sıkça tespit edilen diğer monoterpenler ise linalool ve daha düşük yüzdelerde borneol, kafur, limonen, mirsen, ß-pinen, *trans*-sabinen hidrat, α-terpineol ve terpinen-4-ol'dür [6].Seskiterpen bileşikler *Thymus* uçucu yağlarında çok miktarlarda bulunmazlar ancak seskiterpen yapılı ß-karyofillen bazı *Thymus* türlerinde bulunabilir ve terapötik anlamda önemli bir seskiterpen bileşiktir. Şekil 2.11'de *Thymus* uçucu yağlarında sıkça tespit edilen terpenik bileşiklerin molekül yapıları gösterilmiştir.



Şekil 2.11. *Thymus uçucu yağlarında bulunan terpenik bileşikler*

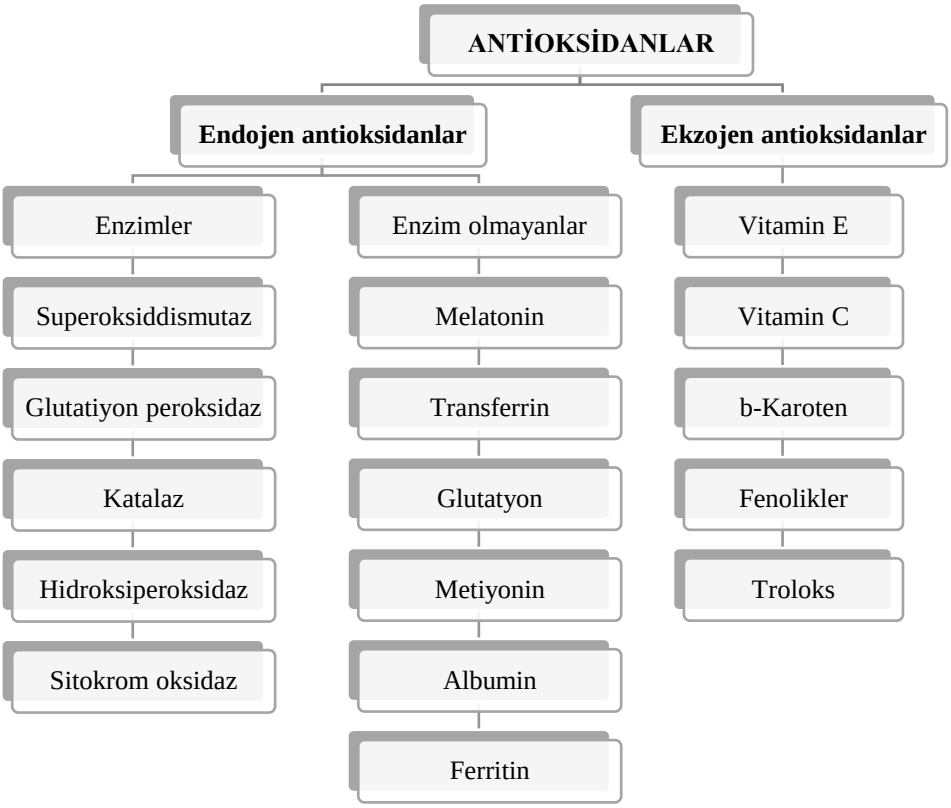
Thymus türlerinden elde edilen abietatrien, abietadien, kauren gibi aromatik olmayan terpenlere de rastlanmaktadır. Literatür taramamız sonucunda *Thymus* türlerinin uçucu yağ bileşiminin neredeyse tamamen terpenlerden oluştuğu, fenilpropanoidler gibi grupların görülmediği tespit edilmiştir [69]. Bununla birlikte, ticari *Thymus* türlerinin ana kaynağı olan *Thymus vulgaris*'in kimyasal olarak polimorf bir tür olduğunu belirtmek gerekir.

2.5. Antioksidan Aktivite Çalışmalarının Önemi

Oksidatif stres; hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^-) ve süperoksit anyonu (O_2^-) gibi serbest radikal/reaktif oksijen türleriyle gerçekleşen reaksiyonlar sonucu meydana gelen hasardır [70].

Endojen olarak serbest radikaller enflamatuvar süreçleri destelemek konusunda rol almaktadırlar. İmmün sistem hücrelerinde patojen mikroorganizmaların öldürülmesinde etkilidirler. Ancak bu süreçte aşırı artan serbest radikaller doku hasarına sebep olmaktadırlar. Ayrıca, aminoasit polimerizasyonu ile proteinlerin oluşması, glikoz polimerizasyonu ile glikojen oluşumu da serbest radikallerin katılımıyla

gerçekleşmektedir. Endojen antioksidan enzimler sayesinde serbest radikallerin zararlı etkilerinden dokuların korunması sağlanmaktadır [71]. Antioksidanlar, oluşan radikali stabilize ederek oksidatif hasarın azaltılmasını sağlamaktadırlar [72]. Endojen antioksidanların yanı sıra ekzojen antioksidanlar yardımıyla da serbest radikallerle mücade edilebilmektedir [71]. Bu antioksidanların sınıflandırılması Şekil 2.12'de gösterilmiştir.



Şekil 2.12. *Antioksidanların sınıflandırılması*

Testlerde uygulanan reaksiyonlara bağlı olarak, antioksidan kapasite tayinleri kabaca iki grubta sınıflandırılır: hidrojen atomu transferi (HAT) reaksiyonlarına dayanan testler, ve elektron transferine (ET) dayalı testler.

HAT bazlı tayinlerin çoğunluğu rekabetçi bir reaksiyon şeması uygular: azo bileşiklerinin dekompozisyonu yoluyla termal olarak üretilen peroksil radikalleri için antioksidan ve substrat rekabet eder [73].

1-) Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar

- Oksijen radikal absorpsiyon kapasitesi yöntemi (ORAC)
- Toplam radikal tuzaklayıcı antioksidan parametre yöntemi (TRAP)
- β-Karoten soldurma yöntemi
- Krosin soldurma testi,
- Düşük yoğunluklu lipoproteinlerin indüklenmiş otoksidasyonunun inhibisyonu,

Elektron Transferine dayanan testler, redüklendiğinde rengi değişen bir oksidanın redüklenmesini sağlayan antioksidanın kapasitesini ölçer. Renk değişim derecesi, numunedeki antioksidan konsantrasyonları ile ilişkilidir.

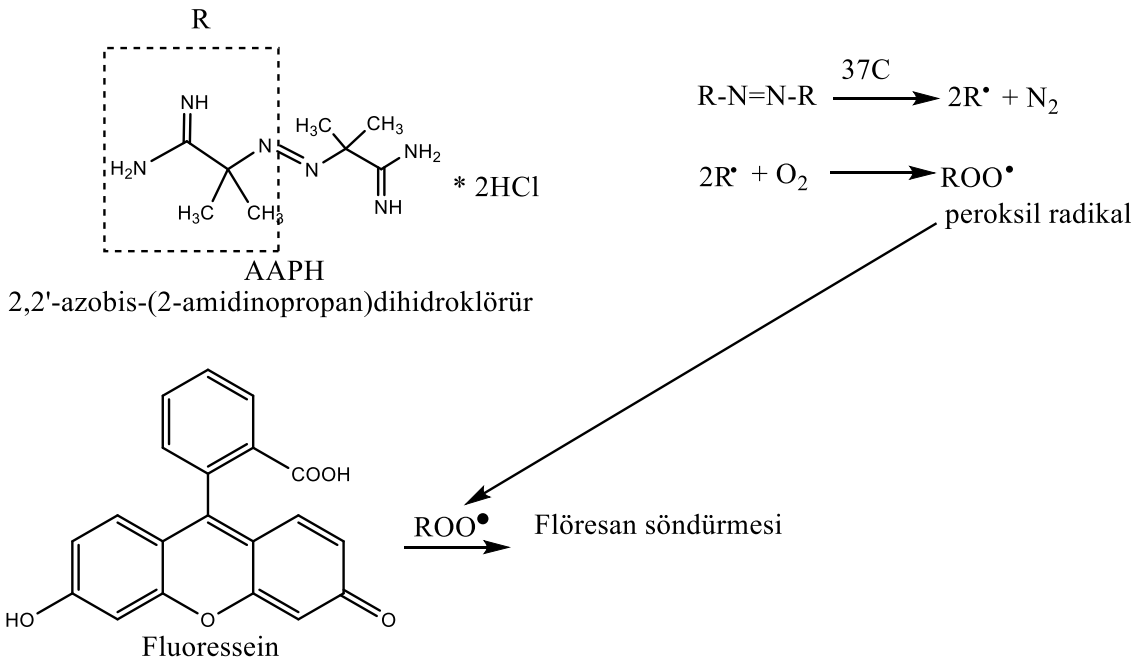
2-) Elektron transferine dayanan reaksiyonlar

- Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC)
- Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan potansiyeli (FRAP)
- DPPH radikali süpürme kapasitesi
- Cu (II) redükleme antioksidan potansiyeli (CUPRAC)

Antioksidan etkili bileşiklerin değerlendirilmesinde sıkça Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (ORAC) ölçümleri uygulanmaktadır. ORAC deneyi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) varlığında söndürülen bir probtan gelen floresan sinyali ölçer. Reaksiyon ortamına bir antioksidanın eklenmesi, üretilen ROS'u absorblar ve floresan sinyalinin devam etmesini sağlar. ORAC analizinin modifikasyonları arasında; floresan probu olarak fluoresein'in kullanımı, toplam antioksidan kapasite elde etmek için hidrofilik ve lipofilik antioksidanların ayrılması ve yüksek verimli bir platforma adapte edilmesidir.

ORAC deneyinde, ROS jeneratörü olarak kullanılan AAPH (2,2'-azobis(2-metilpropiyonamidin) dihidroklorür), termal dekompozisyon dolayısı serbest peroksil radikalleri üretir. Bu serbest radikalller, vücutta da yaygın olarak bulunur ve bu reaksiyonu biyolojik anlamlı hale getirir. Ayrıca, AAPH maddesi suda ve lipitte çözünen maddeler ile tepkimeye girebilir, böylece numunelerin toplam antioksidan potansiyelinin ölçmesinde kullanılabilir. Bu yöntemde, 37ºC'de bulunan AAPH'den azot-merkezli peroksi radikallerinin üretimi uyarılır, antioksidan bileşikler ise bu serbest radikalleri

süpürür, fluoressein'in flöresansı ölçülür. Test'te uygulanan reaksiyonun mekanizması Şekil 2.12'de gösterilmiştir.



Şekil 2.13. *Peroksil radikalin ve antioksidan maddenin floresan proba etkisi [74]*

TEAC analizi $ABTS^{\circ+}$ radikal katyonunun absorbansının serbest radikal süpürücüler tarafından engellenmesi temeline dayanır. ABTS bileşiği maksimum absorbsyonu 660, 734 ve 820 nm'de verir. Radikal katyon formunda üretilen $ABTS^{\circ+}$, lipofilik ve hidrofilik substratların toplam antioksidan aktivitesini spektrofotometrik olarak ölçmek amaçla kullanılır. Deney öncesi ABTS reaktifi sulu ortamda potasyum persülfat ile tepkimeye girer (oda sıcaklığında, karanlıkta, 16 saat) ve tepkime sonucunda aktif katyon radikali $ABTS^{o+}$ meydana gelir (koyu mavi renkli). Trolox, vitamin E'nin suda çözünen analoğu olup referans standart olarak kullanılır [75].

Antioksidan aktivite tespitlerinde geniş bir şekilde kulanılan difenilpikrilhidrazil (DPPH) koyu-mor renkli stabil bir serbest radikaldir. Radikal süpürücü etkili maddeler ile tepkimeye girdiğinde reaktifin rengi sarıya döner. Bu test'te, DPPH serbest radikaline antioksidan tarafından proton transferi 517 nm'de absorbansın azalmasına neden olur. Bu süreç görünür alanda spektrofotometre ile absorbans sabitlenene kadar takip edilmesine dayanmaktadır. Son yıllarda bitçok araştırma raporlarında bu reaktifle yapılan test

sonuçları yayınlanmakla beraber, reaktifin ışık fotonlarına ve oksijene karşı hassas olduğunu unutmamalıdır [76].

Apak ve ark. tarafından geliştirilen ve bilim dünyasına tanıtılan CUPRAC yönteminde Neokuproin (Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu Cu(II)-Neokuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), antioksidan substratı tarafından 450 nm' de maksimumu absorbans veren Cu(I)-Neokuproin (Cu(I)-Nc) kompleksine indirgenmesinde yararlanılarak antioksidan kapasite tespiti yapılır [77].

2.6. Antidiyabetik Araştırmaların Önemi

Diabetes mellitus, yetersiz insülin ve insülin direncinden veya her ikisinden kaynaklanan yüksek plazma glikoz seviyesi ile karakterize bir hastalıktır [78]. Pankreasa zarar veren herhangi bir durum diyabete neden olabilir. Bunlar; pankreatit, enfeksiyon, pankreatektomi ve pankreotik karsinom olarak sayılabilir. Ayrıca GH (Büyüme Hormonu), kortizol, glukagon ve epinefrin gibi bazı hormonlar insülin etkinliğini antagonize eder [79]. Kan glukoz seviyesi kontrol altına alınmazsa akut veya kronik komplikasyonlara sebep olabilmektedir. Diyabet hastalığı 3 grup halinde incelenmektedir.

Tip 1 diyabet: İnsüline bağımlı diyabet olarak da bilinmektedir. Vücutta insülin üretimi yoktur. Bu yüzden kan şeker seviyesi regüle edilemez.

Tip 2 diyabet: İnsüline bağımlı olmayan diyabet olarak da bilinmektedir. Üretilen insülin yetersizdir veya kullanılamaz. Yaşlılık obezite ve hareketsiz yaşam koşulları diyabet prevalansında artışa sebep olmaktadır.

Gestasyonel diyabet: Gebelik diyabeti olarak da bilinmektedir. İlk kez gebelik döneminde ortaya çıkmaktadır [78].

Hipoglisemik ajan olarak; sülfonilüreler, biguanidinler, α-glukozidaz inhibitörleri ve tiazolidindionlar gibi insülin salgılatıcı ya dainsülin duyarlılaştırıcı hedefi olan ilaçlar tercih edilmektedir [79].

2.6.1. α-Amilaz enzim inhibisyonu

Enzimler biyokimyasal reaksiyonları kataliz ederler. Kan glukoz seviyesinin düzenlenmesinden sorumlu reaksiyonlarda görev alan enzimlerden biri de α-amilazdır [80]. α-Amilaz nişastadaki α-1,4 glikozidik bağların hidrolizinden sorumlu olan bir hidrolaz enzimidir. Enzim yapısında kalsiyum kofaktörü taşımaktadır. Nişasta amiloz ve amilopektin polimerlerinden oluşmaktadır. Amilopektin dallanmış glikoz birimleri ile

karakterizedir. Doğrusal ardışık glikoz birimleri birbirlerine α-1,4 glikozidik bağ ile bağlanırken dallanma bölgeleri α-1,6 glikozidik bağ ile bağlanmıştır. α-Amilaz enzim inhibitörleri nişastanın parçalanmasını inhibe ederek kan glikoz seviyesini daha düşük tutmak konusunda yardımcı olmaktadırlar [81].

Kaynak taramasında birçok *Thymus* türlerinin antidiyabetik etkileri araştırmalarına rastlanmıştır. Dessalegn vd (2015) çalışmasında *T. schimperi* Ronniger yapraklarından farklı polariteli çözücülerle elde edilen ekstrelerin α-amilaz üzerindeki etkinliğini incelemiştir [82]. Benzer şekilde, Kadhim vd (2018) *T. vulgaris* toprak üstü kısmından farklı çözücüler ile elde edilen ekstrelerin α-amilaz inhibisyon etkinliğini rapor etmiştir [83].

Mushtaq ve ark. *T. serpyllum*'un farklı çözücüler ile elde edilen ekstrelerinin hipoglisemik aktivitesini tavşanlar üzerinde değerlendirmiş ve karşılaştırmış. Diyabet hastalığı intravenöz alloksan monohidrat enjeksiyonu ile indüklenmiştir. Sulu ekstre, farklı dozlarda insülin ile sinerjistik bir etki göstermiştir. *T. serpyllum* sulu ekstresinin diyabet ve ilişkili komplikasyonları tedavi etmek için tek başına veya insülin ile kombinasyon halinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır [84].

T. schimperi'nin metanollü ham ekstresi streptozotosin kaynaklı diyabetik farelerde verilen dozlarda kan şekeri seviyesini önemli ölçüde azaltmıştır ve gözlenen azalma doza bağlı bir şekilde idi. Ayrıca, butanol ve sulu fraksiyonlarının anti-diyabetik aktiviteye sahip olduğunu rapor edilmiştir [85].

Özbek ve ark. (2009), *T. fallax* yaprak uçucu yağının diyabetik farelerde kan şekeri değerlerini önemli ölçüde azaltarak hipoglisemik etki gösterdiği hakkında rapor etmiştir [86].

Haile ve ark. (2021), streptozotosin kaynaklı diyabetik farelerde hipoglisemik aktivite ve oral glikoz tolerans testi kullanılarak *T. serrulatus'*un in vivo kan şekeri düşürme etkisini değerlendirmiştir. *T. serrulatus* sulu ekstresi ve uçucu yağı, diyabet ve yüksek kan şekeri tedavisi için umut verici terapötik ajanlar olduğunu rapor etmiştir [87].

T. kotschyanus Boiss & Hohen bitkisinin halk tıbbındaki kullanım bilgileri dikkate alınarak, sulu ekstresinin hipoglisemik ve hipolipidemik etkilerini Tip II diyabetli hastalarda araştırılmıştır. Normal anti-diyabetik ilaçlarla birlikte tip II diyabetli hastalarda *T. kotschyanus* sulu ekstresi, glikoz seviyelerinin kontrol altına alınmasına ve LDL-C seviyelerinin daha düşük olmasına yardımcı olmuştur [88].

Yukarıda verilen bilgiler ışığında şunu diyebiliriz; yapılmış araştırmalar sonucunda *Thymus* türlerinin hipoglikemik etkileri hem halk arasında hem bilimsel farmakolojik değerlendirmeler sonucunda önemli ölçüde yüksek kan şekeri üzerinde etkilere sahip olduğu görülmektedir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kimyasal Maddeler

Araştırma kapsamında fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılan kimyasal maddelerin listesi Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. *Kimyasal maddeler ve kaynaklar*

Kimyasal madde	Kimyasal formül/Kısaltma	Kaynak
2-2'-Azino-bis (3 etilbenztiyazolin-6-sülfonik asit)	ABTS+·	Sigma-Aldrich, Almanya
2,2-Azobis (2-metilpropinamidin) dihidroklorür	AAPH	"
Akarboz	$C_{25}H_{43}NO_{18}$	"
α-Amilaz (porcine pankreatik)		Sigma Ald. Fransa
Alüminyum klorür	$AlCl_3$	Merck, Almanya
Asetik asit	CH_3COOH	"
N,O-bis(trimetilsilil)-trifluoroasetamid + trimetilklorosilan	$CF_3C[=NSi(CH_3)_3]OSi(CH_3)_3$	"
Borontriflorür	BF_3	Merck, Almanya
Dietileter	$C_4H_{10}O$	J.T. Baker, Hollanda
Difenil pikril hidrazil	DPPH	Sigma Ald. ABD
Dimetil sülfoksit	DMSO	Sigma Ald. ABD
Disodyum fosfat	Na_2HPO_4	"
Etanol	C_2H_5OH	"
Etil asetat	$C_4H_8O_2$	"
Fluoreseyin	$C_{20}H_{12}O_5$	Sigma Ald. Fransa
Formik asit	HCOOH	"
Folin-Ciocalteu reaktifi	FCR	Sigma Ald, İsviçre
Gallik asit	GA	"
Glasiyel asetik asit	CH_3COOH	"
Hidroklorik asit	HCl	"
n-Hekzan	C_6H_{14}	Merck, Almanya
İzopropil alkol	C_3H_8O	"
İyot	I	"
Kalsiyum klorür	$CaCl_2$	Fluka, Almanya
Kersetin	$C_{15}H_{10}O_7$	"
Kloroform	$CHCl_{13}$	"
Metanol	CH_3OH	"

Tablo 3.1. (devam) *Kimyasal maddeler ve kaynaklar*

Kimyasal madde	Kimyasal formül/Kısaltma	Kaynak
Nişasta	$(C_6H_{10}O_3)n$	“
Polietilen glikol-4000	PEG-4000	“
Potasyum hidroksit	KOH	“
Potasyum iyodür	KI	“
Potasyum persülfat	$K_2S_2O_8$	“
Rozmarinik asit	$C_{18}H_{16}O_8$	“
Rutin	$C_{27}H_{30}O_{16}$	“
Sodyum dihidrojen fosfat	NaH_2PO_4	“
Sodyum hidroksit	NaOH	Merck
Sodyum karbonat	Na_2CO_3	Merck
Sodyum klorürü	NaCl	Riedel de Haen, Almanya
Toluen	C_7H_8	“
Troloks	$C_{14}H_{18}O_4$	“

3.2. Cihaz ve Apareyler

Deneysel çalışmalar için kullanılan cihaz ve apareyler hakkındaki bilgiler Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. *Kullanılan cihaz ve bilgileri*

Cihaz	Cihaz Bilgileri
Automathic Devoloping Chamber 3	CAMAG
Automathic TLC Sampler 4	CAMAG
Chromatogram Immersion Device III	CAMAG
Clevenger Apareyi	EP’ne uygun
Çekerocak	
ELISA mikroplak okuyucu	Biotek Powerwave XS
GC/FID	Agilent 6890N SEM Ltd, İstanbul, Türkiye
GC/MSD sistemi	Agilent 5975 (USA; SEM Ltd., İstanbul, Türkiye)
Hassas terazi	Metler Toledo, NewClassic MS
Manyetik karıştırıcı	IKO KS260
pH metre	WTW series, InoLab, pH720
Rotavapor sistemi	Heidolp Instrument, Laborota 4010-Digital
Ultrasonik su banyosu	Elma, S100H
Ultratorrax homojenizatör	MIULAB MT-30K Handheld Homogenizer

3.3. Bitkisel Materyal

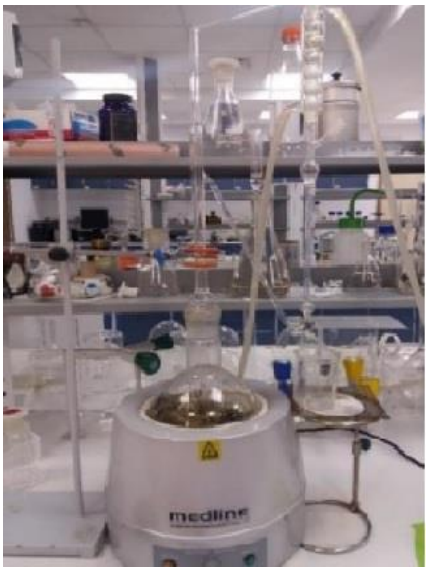
Çalışmada *Thymus baseri* bitkisinin toprak üstü kısmları (yaprak, çiçek) ve toprak altı kısımları kullanılmıştır. Bitki çiçeklenme döneminde 18.06.2016 tarihinde Eskişehir Sivrihisar Karacaören bölgesinde 39º17′47′′ N, 31º17′47′′ E 1560-1800 m lokasyonunda toplanmıştır. Bitkinin toplanması ve teşhisi Dr. Ömer Koray Yaylacı tarafından yapılmıştır. Toplanan bitki materyali serin ve gölge bir ortamda kurutulmuştur. Bitkisel materyaller Görsel 3.1'de gösterilmiştir.



Görsel 3.1. *Kurutulmuş bitkisel materyal: A-herba, B-radix, C-herbaryum örneği.*

3.4. Uçucu Yağ Eldesi

Kurutulmuş bitkisel materyalin toprak üstü kısımları bağ makası ile ufaltıldıktan sonra Clevenger apareyinde (3 saat) hidrodistilasyona tabi tutulmuştur [9]. Kullanılan aparey Görsel 3.2'de gösterilmiştir. Süre sonunda elde edilen uçucu yağın verimi bitkinin içerdiği nem miktarı (%2,0) dikkate alınarak hesaplanmıştır. Yağ örneği amber vial içinde +4°C'de kromatografik ve biyolojik aktivite analizleri öncesi muhafaza edilmiştir.



Görsel 3.2. *Thymus baseri herbasının Clevenger apereyinde hidrodistilasyon işlemi*

3.5. Sabit Yağ Asitlerinin Eldesi

Sabit yağ asitleri mikroekstraksiyon yöntemi ile elde edilmiştir. Bu amaçla Fatty Acid Extraction Kit'i kullanılmıştır. Ekstraksiyon prosedürü kit'in önerdiği protokole göre yapılmıştır [89]. Total lipitleri içeren ekstrenin katı faz kartuşundan geçirilmesi Görsel 3.3'te gösterilmiştir. Ekstraksiyon sonucu elde edilen sabit yağ asitlerinin analizi için trans esterifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. 200 uL ekstreden alınarak azot gazı altında kurutuldu ve üzerine 1 mL Boron Triflorür reaktifi ve 0,3 mL *n*-hekzan eklenerek geri çeviren soğutucu altında 95°C'de 1 saat ısıtılmıştır. Daha sonra karışımın üzerine saf su ve 1 mL *n*-hekzan eklenerek vortekste karıştırılmıştır. Faz ayrımı gerçekleştikten sonra organik faz alınarak azot gazı altında yoğunlaştırılmıştır. Elde edilen sabit yağ asiti metil esterleri amber vial içinde +4Cº'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



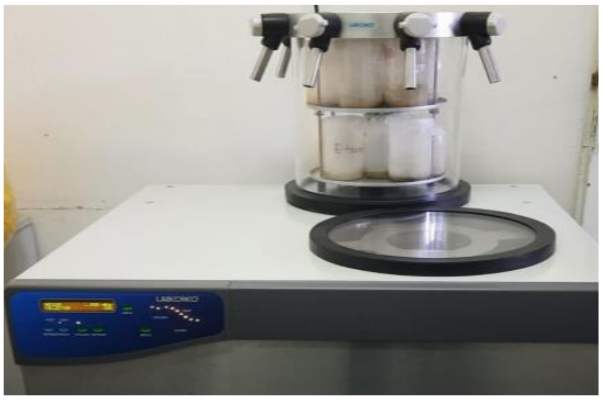
Görsel 3.3. *Toplam lipitleri içeren ekstrenin katı faz kartuşundan geçirme işlemi*

3.6. Ekstrelerin Eldesi

Bitkisel materyalin kök ve toprak üstü kısımları ayrı ayrı farklı polaritedeki çözücüler (*n*-hekzan, metanol ve su) kullanılarak ekstre edilmiştir. Bu amaçla toprak üstü kısımlar (16 g) ve kökler (20 g) uygun boyuta getirildikten sonra cam balonda 24 saat×2 sırasıyla *n*-hekzan, metanol ve su ile maserasyona bırakılmıştır. Süre sonunda elde edilen ekstreler birleştirilerek filtre edilmiştir. Sıvı ekstreden organik çözcülerin uzaklaştırılması için rotavapor kullanılmıştır (Görsel 3.4). Su ile elde edilen ektsrelerin kurutulması için liyafilizatör kullanılmıştır (Görsel 3.5).



Görsel 3.4. *Thymus baseri hekzanlı ve metanollü ekstrelerindeki çözücülerin rotavapor ile uzaklaştırılması*



Görsel 3.5. *Thymus baseri sulu ekstresindeki çözücünün liyofilizatör ile uzaklaştırılması*

3.7. Fitokimyasal Analizler

3.7.1. Uçucu yağ ve sabit yağ asitlerinin gaz kromatografisi analizi ve teşhisi

Uçucu yağ ve sabit yağ asitlerinin metil esterlerinin çözeltileri *n*-hegzan içinde hazırlanmıştır. Uçucu yağın ve sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonları GC-FID ve GC/MS teknikleriyle aydınlatılmıştır. Kromatografik ayırım için HP-Innowax ve Rt-β-DEXse kolonları kullanılmıştır [90].

Maddelerin tanımlanmasında tutunma zamanları ve kütle spektrumları standartlara ve literatür bilgilerine paralel olarak değerlendirilmiştir. Wiley GC/MS Library (Wiley, New York, NY, USA), MassFinder software 4.0 (Dr. Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg) [91], Adams Library [92], ve Başer Library of Essential Oil Constituents [93] kütüphanesi kaynak olarak kullanılmıştır. Madde miktarların belirlenmesinde alev iyonlaşma dedektöründen (FID) elde edilen piklerin yüzde alanları kullanılmıştır.

3.7.2. Silillenen bileşiklerin gaz kromatografisi analizi ve teşhisi

T. baseri bitkisin kök, herba ve çiçek kısımlarından elde edilen ekstreler uçucu bileşen ve fenolik bileşen açısından araştırılmak üzere gaz kromatografisi ve sıvı kromatografisi teknikleriyle analize tabi tutulmuştur. Bunun yanı sıra, bitkinin taşıdığı karbonhidrat türevi ve triterpen saponin bileşenlerin analizi için ön türevlendirme çalışmaları gerçekleştirilerek gaz kromatografisi sisteminde analizleri yapılmıştır. Bu doğrultuda, kök ve herba kısımlarından daha önce elde edilen hekzanlı, metanollü ve sulu ekstreler doğrudan türevlendirme işlemine tabi tutulmuştur. Ancak, az miktarda olan çiçekler ayrı ayrı etanol: tetrahidrofuran (1:1) ve kloroform ile masere edilerek (20 dak

×3) ekstreler elde edilmiştir. Maseratlar 10 dakika boyunca 1.000 rpm'de santrifüj edilmiş, (Eppendorf 5810) ve süpernatan bir Pasteur pipeti kullanılarak 100 ml'lik bir konik cam şişeye aktarılmıştır. Bu ekstraksiyon prosedürü üç kez tekrarlanmıştır. Süpernatanlar birleştirilerek, susuz sodyum sülfat üzerinde kurutulmuş ve döner buharlaştırıcı (Büchi Rotavapor, İsviçre) ile yoğunlaştırılmıştır. Numuneler, Razborsek[94] yöntemine göre BSTFA reaktifi ile muamele edilerek trimetilsilil türevleri elde edilmiştir. Bu şekilde elde edilen numuneler gaz kromatografisi sistemine enjekte edilmiştir.

Türevlendirme sonucu elde edilen numunelerin kimyasal kompozisyonu gaz kromatigrafisi tekniği ile araştırılmıştır. Bu amaçla sililleme ürünü (1 uL) GC-FID ve GC/MS sistemine enjekte edilmiştir. GC/MS analizi için 5973 Network Mass Selective Detector ile donanımlı Agilent 6890N Network GC Sistemi kullanılmıştır. Bileşiklerin ayrımı için HP-5 FSC kolonu, taşıyıcı gaz olarak ise Helyum (0.8 mL/dak) kullanılmıştır. GC fırın sıcaklığı 60°C'den 320°C'ye 3°C/dk artışla arttırılıp 16.667 dk tutulmuştur. (toplam 90 dk). Kütle değerleri m/z 35 ile 1050 arasında kaydedilmiştir. Aynı analiz koşulları GC ve GC/MS için uygulanmış, örneklerin analizleri 5:1 split mod uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon ve dedektör için 250°C sıcaklık uygulanmış, kütle spektrumları 70 eV elektron enerjisi ile alınmıştır.

Maddelerin teşhisi: Analiz örneklerinin içerdiği maddelerin teşhisi bu maddelere ait kütle spektrumları standart maddelerin TMS türevleri ile oluşturulan spektrum verileriyle karşılaştırılarak ve "Wiley-NIST" ve TG-TUREV kütüphaneleri kaynak olarak kullanılmıştır. Kütüphanelerdeki maddelerin kütle spektrumlarına benzerliği ve aynı tip kolondaki relatif tutunma indisleri karşılaştırılarak bileşiklerin teşhisi gerçekleştirilmiştir.

3.7.3. HPLC-DAD ile fenolik asit miktar tayini

T. baseri polar ekstrelerinin fenolik asitleri HPLC-DAD sisteminde analiz edilerek bileşimi aydınlatılmıştır. Bu amaçla, Öztürk ve ark. (2007) çalışmasında belirtilen koşullarda ters faz sıvı kromatografisi yöntemi ile analitik kolon ve gradient elüsyon şartları uygulanmıştır. Numunelerdeki bileşiklerin ve standart maddelerin tutunma zamanları ve UV spektrumları karşılaştırmalı olarak kontrol edilerek ekstrelerin fenolik asitleri teşhis edilmiş, miktar tayinleri yapılmıştır [95].

Analiz şartları:

Cihaz:	Shimadzu 20 AVP (Shimadzu, Kyoto, Japan)
İşlemci:	Class VP Chromatography Manager Software (Shimadzu Kyoto, Japan)
Pompa:	Shimadzu LC20AT (Shimadzu, Kyoto, Japan)
Kolon:	INTERTSIL ODS3-C_{18} kolon (100 mm, 4,6 i.d, 3µm partikül çapı) (GL SciencesInc.)
Degazer:	DGU-$20A_5$ (Shimadzu, Japan)
Enjektör:	SIL 20A (Shimadzu, Japan)
Dedektör:	SPD-M-20A (Shimadzu, Kyoto, Japan), 280nm
Akış hızı:	1,0 mL/dk
Enjeksiyon hacmi:	10 µL
Gradient sistem	Hareketli faz A: Metanol: su: formik asit (10:88:2, h/h/h)
	Hareketli Faz B: Metanol: su: formik asit (90:8:2, h/h/h)

3.7.4. Toplam fenol miktar tayini

Toplam fenol miktar tayini, bazik ortamda Folin- Ciocateau reaktifinin antioksidan etkili bileşikler ile indirgenmesi üzerine kuruludur. Deneyde gerçekleşen tepkimenin şeması aşağıda gösterilmiştir:

$$Mo(VI) + \bar{e} \longrightarrow Mo(V)$$

Deney ortamın bazik olmasını sağlamak için Na_2CO_3 (sodyum karbonat) çözeltisi kullanılmıştır. Toplam fenol miktarını hesaplamak için absorbans değerleri 760 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür [96]. Bu ölçüm sonucu kullanılarak ekstrelerdeki toplam fenol miktarı gallik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır.

T. baseri ekstrelerinin derişimi 1 mg/mL olarak hazırlanmıştır. Uygulama için 96 – derin kuyucuklu plağın kuyucuklarına 12 kanallı otomatik pipetörle (Eppendorf) 20 µL numune (ekstre, gallik asit) eklenmiştir. Üzerine 1560 µL saf su, 100 µL Folin- Ciocalteu reaktifi ve 300 µL Na_2CO_3 çözeltisi eklenmiştir. Karışım karanlıkta 2 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda karışımın 300 µL'si alınarak 96- kuyucuklu mikroplak'a aktarılmıştır. Mikroplak okuyucuda 760 nm'de absorbans okuması yapılmıştır.

3.7.5. Toplam flavonoit miktar tayini

Toplam flavonoid miktar tayini için $AlCl_3$ ile oluşan renkli kompleksin spektrofotometrik olarak incelenmesi yöntemi esas alınmıştır [97]. Yöntemin esası Al(III)-flavonoit şelatının meydana gelmesidir. Numunelerde bulunan flavonoitlerin toplam miktarını belirlemek için 415 nm'de spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır [97]. Standart olarak rutin ve kersetin kullanılmıştır. Deney mekanizması Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

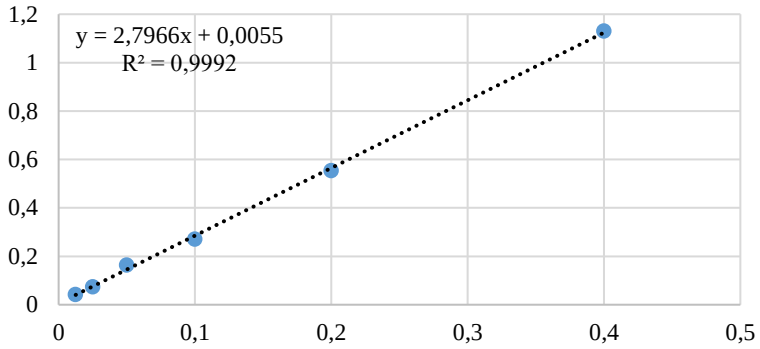


Şekil 3.1. *Flavonoitlerin $AlCl_3$ ile tepkimesi [97]*

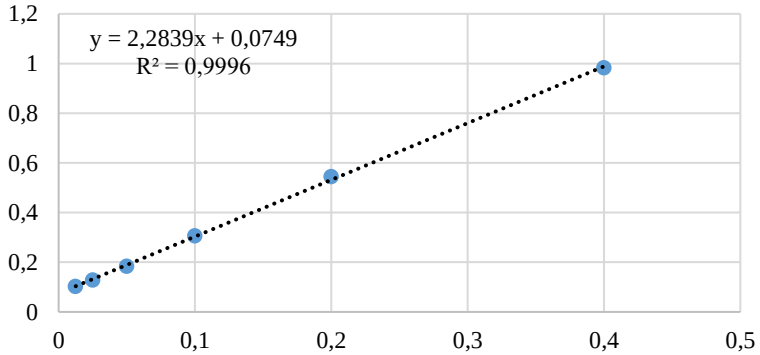
Ekstreler 10 mg/mL derişimle hazırlanmıştır. Deney için; 96- derin kuyucuklu plağın kuyucuklarına 12 kanallı otomatik pipetör ile (Eppendorf) 80 µL numune (ekstre, rutin, kersetin) eklenmiştir. Üzerine 80 µL $AlCl_3$ ve 1840 µL absolü etanol eklenmiştir. Blank olarak kullanılacak numuneler için $AlCl_3$ yerine 10 µL asetik asit çözeltisi eklenmiştir. Karışım karanlıkta 40 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra karışımın 300 µL'si 96-kuyucuklu mikroplağa aktarılmıştır. Absorbans değerleri 415 nm'de ölçülerek belirlenmiştir. Kersetin ve rutin kalibrasyon eğrisi üzerinden ekstrelerdeki toplam flavonoit miktarı hesaplanmıştır.

3.7.6. Toplam hidroksisinnamik asit miktar tayini

Toplam hidroksisinnamik asit miktarının belirlenmesi için kolorimetrik ölçüm esasına dayanan bir yöntem kullanılmaktadır. O-Hidroksifenollerle kompleks oluşturan HCl-$NaNO_2$-Na_2MoO_4-NaOH kromojenik sistemi kullanılarak spektrofotometrik ölçüm ile yöntem uygulanmıştır. Bu çalışmada standart olarak rozmarinik asit ve klorojenik asit kullanılmıştır [98]. Standartların kalibrasyon eğrileri Şekil 3.2 ve 3.3'te gösterilmiştir.



Şekil 3.2. *Rozmarinik asit kalibrasyon eğrisi*



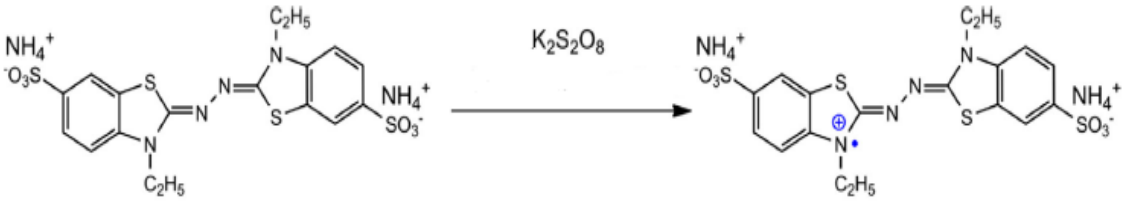
Şekil 3.3. *Klorojenik asit kalibrasyon eğrisi*

3.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.8.1. Antioksidan aktivite testleri

3.8.1.1. Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) testi

Bu yöntem ABTS [2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)] reaktifinin katyonunun spektrofotometrik olarak incelendiği bir yöntemdir. ABTS ve $K_2S_2O_8$ (potasyum persülfat) ile oluşturulan reaksiyon sonucunda mavi/yeşil $ABTS^{\bullet+}$ radikali oluşmaktadır. Oluşan radikalin absorbans değeri 734 nm'de ölçülmüştür. Aynı koşullarda reaksiyona tabi tutulan Trolox'un aktivitesine göre sonuçlar değerlendirilmiştir [99]. Şekil 3.4'te deneyin tepkimesi gösterilmiştir.

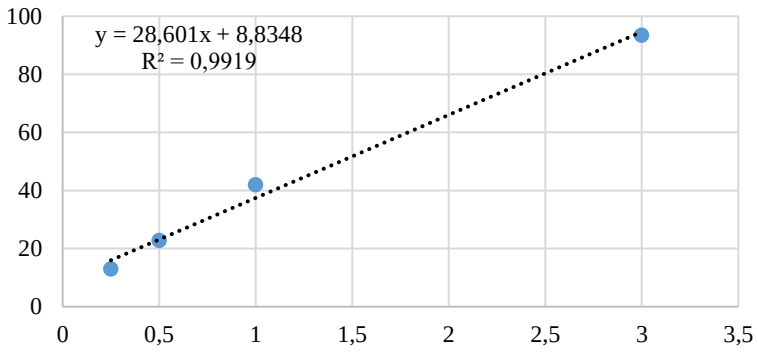


Şekil 3.4. *ABTS radikalinin indirgenme ve yükseltgenme mekanizması [100]*

Deneyde, *T. baseri* ekstrelerinin antioksidan kapasitesi Troloksa eşdeğer olarak hesaplanmıştır. ABTS ve $K_2S_2O_8$ oda sıcaklığında su ile karıştırılarak karanlıkta 16 saat bekletilmiştir. Daha sonra, oluşan $ABTS^{\bullet+}$ derişik çözeltisi absolü etanol ile absorbans değeri 780 oluncaya dilüe edilmiştir. Deney uygulanırken 96-derin kuyucuklu plak üzerine 10 µL numune çözeltisi (uçucu yağ, ekstre, troloks) ve üzerine 990 µL ABTS çözeltisi eklenerek 30 dk oda sıcaklığında karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra 12 kanallı otomatik pipetör (Eppendorf) ile karışımın 300 µL'si 96-kuyucuklu mikroplak'a aktarılmıştır. 734 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Standart olarak kullanılan Troloks'un kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Bu eğri doğrultusunda lineer doğru denklemi belirlenmiştir. Bu denklem numunelerin 30 dk sonunda gösterdiği Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasitenin hesaplanmasında kullanılmıştır. İnhibisyon yüzde değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\%\text{Inh} = \frac{Abs_{kontrol} - Abs_{numune}}{Abs_{kontrol}} \qquad (\textit{Denklem}\ 3.1)$$

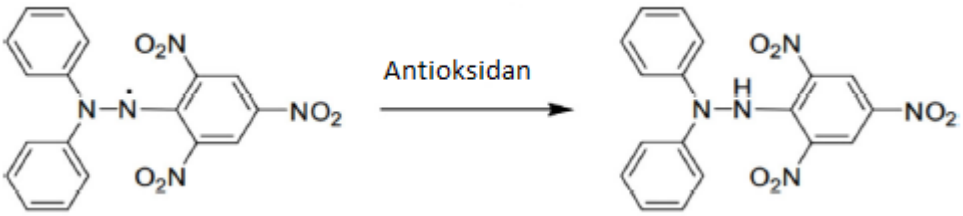
$Abs_{kontrol}$ ve Abs_{numune}, kontrol ve numunelerin 734 nm'de ölçülen absorbans değerlerini ifade etmektedir. Troloks için elde edilen kalibrasyon eğrisi ve lineer doğru denklemi Şekil 3.5'te gösterilmiştir.



Şekil 3.5. *Troloks kalibrasyon eğrisi*

3.8.1.2. Serbest radikal süpürücü etki (DPPH testi)

Kararlı bir radikal olan DPPH (2,2-difenil- pikrilhidrazil)'in ekstrelerde bulunan antioksidan etkili bileşikler ile etkileşiminin spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanmaktadır. Bu etkileşim DPPH'ın indirgenmesini temel almaktadır. Mor renkli DPPH radikali antioksidan madde ile etkileştiğinde rengini kaybetmektedir. Difenil-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal süpürme yöntemi, bir bileşiğin, bir ekstrenin veya diğer biyolojik kaynakların antioksidan antioksidan potansiyelini değerlendirmek için ilk yaklaşımı sunar. En basit hatlarıyla bu yöntemde bir bileşik veya ekstre DPPH çözeltisi ile karıştırılır ve absorbans değeri belli bir süreden sonra kaydedilir. Elektron transferi mantığına dayanan bir yöntemdir [101]. Kimyasal reaksiyon Şekil 3.6'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. *DPPH radikalinin indirgenme mekanizması [100]*

T. baseri uçucu yağı ve ektrelerinin serbest radikal süpürücü etkileri *in vitro* koşullarda test edilmiştir. Spektrofotometrik bu yöntem için taze hazırlanmış DPPH kararlı serbest radikal çözeltisi kullanılmıştır [101].

3.8.1.3. Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) testi

Floresan bir madde olan fluoresein'in serbest radikal üreticisi olarak görev alan AAPH (2,2-azobis (2-metilpropinamidin) dihidroklorür) ile etkileşimine dayanan bir metottur. Antioksidan etkili madde fluoresein'in floresan özelliğinin kaybolmasını geciktirmektedir [102].

Numunelerin total antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için fluoreseinin floresans özelliğinin AAPH radikaliyle reaksiyonu sonucu kaybolmasıyla ölçülmüştür [102]. Deneyde, 96-kuyucuklu plağın kuyucuklarına 25 µL numune (uçucu yağ/ ekstre/ troloks) ve 150 µL 4nM fluoresein çözeltisi eklenmiştir. Karışım karanlıkta 37ºC 'de 30 dakika süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra karışıma 25 µL 225 nM AAPH reaktifi eklenerek plak içindeki karışım 10 saniye çalkalanmıştır.

3.8.2. Antidiyabetik aktivite testi

3.8.2.1. α-Amilaz inhibisyon testi

α-Amilaz enzimi, çoğunlukla pankreastan salgılanan ve nişastanın parçalanmasında rol oynayan bir enzimdir. Oligomerlerine kadar parçalandığında nişasta diyabet hastalarının kan glukoz seviyesinde yükselmelere sebep olmaktadır. Bu sebeple α-amilaz enzim inhibisyonu diyabetli hastalar için bir tedavi hedefidir. *İn vitro* koşullarda α-amilaz inhibisyon testi yapabilmek için I_2/KI (potasyum iyodür), nişasta çözeltisi ve α-amilaz enzimi kullanılmaktadır. İyot çözeltisi reaksiyonun belirteci olarak kullanılmaktadır. Nişastanın parçalanma derecesine göre iyot çözeltisi kompleks oluşturur. Oluşan kompleksin renk değişimi sprektroskopik yöntemle ölçülmektedir. Absorbans değerleri inhibisyon seviyesi hakkında bilgi vermektedir [103].

Deneyde, 96-kuyucuklu plağa 50 µL numume (ekstre/uçucu yağ/akarboz) otomatik pipetör ile (Eppendorf) dilüsyon yöntemi kullanılarak eklenmiştir. Numune üzerine 50 µL enzim çözeltisi eklenmiştir. Her numunede blank olarak kullanılacak kuyucuğa 50 µL tampon çözeltisi ilave edilmiştir. Karanlıkta 37ºC de 10 dakika süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda tüm karışım üzerine 50 µL nişasta çözeltisi eklenmiş ve 37ºCde 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra karışım üzerine 25 µL HCl çözeltisi ve 100 µL I_2/KI reaktifi eklenmiştir. Absorbans değerleri 630 nm'de ölçülmüştür. İnhibisyon aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Denklem 3.2):

$$\%\text{Inh} = \frac{(Abs_{kontrol} - Abs_{kontrol\ blank}) - (Abs_{numune} - Abs_{numune\ blank})}{Abs_{kontrol} - Abs_{kontrol\ blank}} \times 100 \qquad (\textit{Denklem}\ 3.2)$$

$Abs_{kontrol}$ ve $Abs_{kontrol\ blank}$, kontrol ve kontrol blanki için ölçülen absorbans değerleridir. Abs_{numune} ve $Abs_{numune\ blank}$, numune ve numune blanki için ölçülen absorbans değerleridir.

3.9. Biyootografik Analiz

HPTLC ile kompleks bitkisel ekstre içeriğindeki bileşiklerin hızlı bir şekilde ayrılması ve incelenmesi sağlanmaktadır. Biyootografi tekniği de biyolojik aktivite konusunda pratik bilgi sağlayan bir yöntemdir. Bu çalışma için *T. baseri* bitkisinden elde edilen uçucu yağın ve farklı çözücülerle hazırlanmış ekstrelerin (Hegzan/Metanol/Su) silika jel HPTLC plağı (10x10) kullanılarak kromatografik ayrımı sağlanmıştır. Kromatografik ayırım koşulları Tablo 3.3'te gösterilmiştir.

Deneyin ilk aşamasında numunelerin kromatografik ayırımın sağlanabilmesi için uygun hareketli faz belirlenmiştir. Hegzanlı ekstre ve uçucu yağın kromatografik ayırımını gözlemlemek amacıyla anisaldehit belirteci uygulanmıştır. Daha sonra plak 100-105º de 5 dakika ısıtılmıştır. Kromatografik ayırım sonucu UV 254 ve 366 nm dalga boyunda incelenmiştir. Polar ekstrelere ise NPR-PEG reaktifi uygulanmıştır. Daha sonra plak 100-105 º de 5 dakika ısıtılmıştır. Kromatografik ayırım sonucu UV 254 ve 366 nm dalga boyunda incelenmiştir.

Deneyin ikinci aşamasında numunelerin kromatografik ayırımının ardından plak üzerine uygulanan DPPH reaktifi ile antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Plak üzerine DPPH uygulandıktan sonra plaklar karanlıkta 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Plağın yüzeyi mor renkli olan DPPH reaktifi ile mor renkle boyanmışken antioksidan etkili aktif bileşik içeren bileşen spotları soluk sarı renk göstermiştir.

Tablo 3.3. *T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerine uygulanan HPTLC analiz koşulları*

İşlem	Detaylar	Sistem
Numune hazırlama	Uçucu yağ ve hegzanlı ekstreler hekzan içinde çözülmüştür (10 mg/mL). Polar ekstrelerin çözeltileri metanolde hazırlanmıştır (10 mg/mL).	
Stasyoner faz	HP-TLC silica gel 60_{F254} 10×10 cm	Merck

Tablo 3.3. (devam) *T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerine uygulanan HPTLC analiz koşulları*

İşlem	Detaylar	Sistem
Hareketli faz	Uçucu yağ ve hekzanlı ekstre için: Toluen: Etil asetat (93:7)	Automathic Devoloping Chamber 3
Hareketli faz	Polar ekstreler için Etil aseat:Asetik asit: Formik asit: Su (100:11:11:26)	
Numune uygulama	5 µL	Automathic TLC Sampler 4
Yürütme	70 mm	Automathic Devoloping Chamber 3
Kurutma	Havada	
Spot belirlenmesi	Plak daldırma hızı: 5, süre: 1 sn Tank: 20 ×10 cm	Chromatogram Immersion Device III
Belirteç	Anisaldehit reaktifi: uçucu yağ ve hekzanlı ekstre için NPR+ PEG reaktifi: polar ekstreler için	CAMAG Reprostar 3

Reaktiflerin hazırlanması

1) Anisaldehit reaktifi; 0,5 mL anisaldehit ve 10 mL glasiyel asetik asit karıştırılmış ve üzerine 85 mL metanol ve 5 mL derişik sülfürik asit eklenmiştir.
2) NPR reaktifi; difenilborikasit etilaminoester 1,0 g tartılıp 100 mL metanolde çözülmüştür.
3) PEG; polietilenglikol-4000 5.0 g tartılıp 100 mL metanolde çözülmüştür.
4) DPPH; 0,05 g DPPH 100 mL metanolde çözülmüştür. Karanlıkta muhafaza edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Uçucu Yağ Özellikleri

Uçucu yağ eldesi için *T. baseri* topraküstü kısımları kullanılarak hidrodistilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen uçucu yağ keskin aromatik kokulu ve açık sarı renklidir. Yağ numunesi amber renkli şişede +4ºC'de muhafaza edilmiştir. Uçucu yağın verimi bitkisel materyalin nem miktarı dikkate alınarak %0,06 olarak tespit edilmiştir.

4.2. Ekstrelerin Özellikleri

T. baseri topraküstü kısımından ve köklerinden farklı polaritedeki çözücüler kullanılarak sıralı bir şekilde masere edildikten sonra toplanan ekstreler döner buharlaştırıcı ve liyofilizatörde kurutulup Eppendorf tüplerde saklanmıştır. Hegzan ile elde edilen ekstre keskin kokulu ve sarı-turuncu renklidir. Metanollü ekstre ise koyu yeşil renkli ve yapışkandır. Liyofilizatörde kurutularak elde edilen sulu ekstre kahverengi –bej renkli toz şeklindedir. Elde edilen tüm numuneler fitokimyasal ve biyolojik aktivite deneyi öncesi +4ºC'de saklanmıştır.

Kurutulmuş topraküstü kısımların ve köklerin sırasıyla *n*-hegzan, metanol ve su ile 48 saatlik maserasyonu sonucundan elde edilen ekstrelerin verimleri kuru baz üzerinden % (a/a) hesaplanmıştır. Ekstrelere ait verim bilgileri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1: *T. baseri bitkisinin farklı çözücülerle hazırlanan ekstrelerin verim bilgileri*

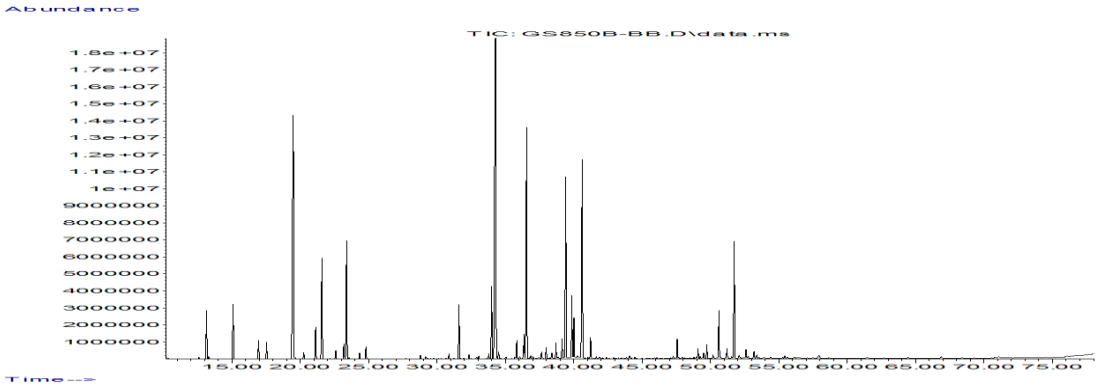
Ekstre türü	Ekstre miktarı, g	Verim, %
TBHHE	1,31	8,19
TBHKE	1,19	5,94
TBMHE	5,10	31,86
TBMKE	4,11	20,54
TBSHE	9,22	57,61
TBSKE	7,81	39,06

* **TBHHE**: *T. baseri* hegzanlı herba ekstresi; **TBHKE**: *T. baseri* hekzanlı kök ekstresi; **TBMHE**: *T. baseri* metanollü herba ekstresi; **TBMKE**: *T. baseri* metanollü kök ektresi; **TBSHE**: *T. baseri* sulu herba ekstresi; **TBSKE**: *T. baseri* sulu kök ekstresi.

4.3. Fitokimyasal Araştırmaların Sonuçları

4.3.1. Uçucu yağ kimyasal kompozisyonu

T. baseri uçucu yağının kimyasal bileşimi gaz kromatografisi tekniği ile belirlenmiştir. Bileşenlerin kantitatif analizi için GC-FID, kalitatif analizinde GC/MS sonuçları kullanılmıştır. Elde edilen veriler Şekil 4.1 ve Tablo 4.2'da gösterilmiştir.



Şekil 4.1. *T. baseri toprak üstü uçucu yağının GC kromatogramı*

Tablo 4.2: *T. baseri uçucu yağının kimyasal kompozisyonu*

No	RRI	Bileşik	%
1	1032	α-Pinen	1,4
2	1035	α-Tuyen	e
3	1076	Kamfen	1,8
4	1118	β-Pinen	0,6
5	1132	Sabinen	0,5
6	1174	Mirsen	12,9
7	1176	α-Fellandren	e
8	1188	α-Terpinen	0,2
9	1203	Limonen	1
10	1213	1,8-Sineol	3,1
11	1225	(*Z*)-3-Hekzenal	e
12	1244	Amil furan (= 2-Pentil furan)	e
13	1246	(*Z*)-β-Osimen	0,2
14	1255	γ-Terpinen	0,4
15	1266	(*E*)-β-Osimen	4

Tablo 4.2. (devam) *T. baseri uçucu yağının kimyasal kompozisyonu*

No	RRI	Bileşik	%
16	1266	3-Oktanon	e
17	1280	*p*-Simen	0,1
18	1290	Terpinolen	0,3
19	1296	Oktanal	e
20	1348	6-Metil-5-hepten-2-on	e
21	1367	3-Nonanon	e
22	1393	3-Oktanol	0,1
23	1400	Nonanal	0,1
24	1429	Perillen	e
25	1452	1-Octen-3-ol	0,2
26	1458	*cis*-1,2-Limonen epoksit	e
27	1474	*trans*-Sabinen hidrat	1,6
28	1482	(*Z*)-3-Hekzenil-2-metil butirat	e
29	1495	Bisikloelemen	0,1
30	1497	α-Kopaen	e
31	1505	Dihidroedulan II	e
32	1528	α-Bourbonen	e
33	1532	Kafur	2,3
34	1535	β-Bournonen	0,1
35	1553	(-)-Linalool*	34,4
36	1556	*cis*-Sabinen hidrat	0,3
37	1589	β-Ylangen	e
38	1590	Bornil asetat	0,4
40	1611	Terpinen-4-ol	0,7
41	1612	β-Karyofilen	8,2
42	1614	Karvakrol metil eter (= Metil karvakrol)	e
43	1645	*cis*- İzodihidrokarvon	e
44	1646	Aromadendra-1(10),4(15)-dien	e
45	1661	Alloaromadendren	e
46	1668	(*Z*)-β-Farnesen	0,4
47	1670	*trans*-Pinokarveol	e
48	1682	δ-Terpineol	0,2

Tablo 4.2. (devam) *T. baseri uçucu yağının kimyasal kompozisyonu*

No	RRI	Bileşik	%
49	1687	α-Humulen	0,4
50	1694	*p*-Vinilanisol	e
51	1706	α-Terpineol	0,6
52	1719	(-)-Borneol*	5,9
53	1726	Germakren D	1,7
54	1734	Kadina-3,5-dien	0,2
55	1741	β-Bisabolen	0,9
56	1755	Bisiklogermakren	6,9
57	1773	δ-Kadinen	e
58	1776	γ-Kadinen	0,5
59	1786	Nerol	e
60	1815	2,6-Dimetil-3(*E*),5(*Z*),7-oktatrien-2-ol	e
61	1827	(*E*,*E*)-2,4-Dekadienal	e
62	1838	(*E*)-β-Damassenon	e
63	1853	*cis*-Kalamen	e
64	1900	Nonadekan	e
65	1934	Mirsen-8-ol	e
66	1953	Palustrol	e
67	1958	(*E*)-β-Ionon	e
68	2001	Isokaryofillen oksit	e
69	2008	Karyofillen oksit	0,5
70	2041	Pentadekanal	e
71	2057	Ledol	e
72	2069	1,6-Germakradien- 5β-ol	e
73	2072	Kubeban-11-ol	e
74	2081	1,10-di-epi-Kubenol	0,2
75	2098	Globulol	0,1
76	2100	Heneikosan	e
77	2104	Viridiflorol	0,3
78	2131	Heksahidro-farnesil aseton	0,1
79	2144	Spatulenol	1,2
80	2179	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	e

Tablo 4.2. (devam) *T. baseri uçucu yağının kimyasal kompozisyonu*

No	RRI	Bileşik	%
81	2181	Isotimol	2,6
82	2187	T-Kadinol	0,1
83	2209	T-Muurolol	0,1
84	2232	α-Bisabolol	e
85	2239	Karvakrol	0,2
86	2247	*trans*-α-Bergamotol	0,2
87	2255	α-Kadinol	0,1
88	2300	Trikosan	0,1
89	2316	Karyofilladienol I	e
90	2324	Karyofilladienol II	0,1
91	2500	Pentakosan	e
92	2594	Fitol	e
93	2675	Heptakosan	e
94	2680	Miristik asit	e
95	2931	Hekzadekanoik asit	1,2
		Toplam	**99,8**

RRI: relativ tutunma indisi; e: eser; % miktarları FID dedektör verilerine göre verilmiştir;
* enantiomerlerin ayırımı şiral kolonda gerçekleştirilmştir.

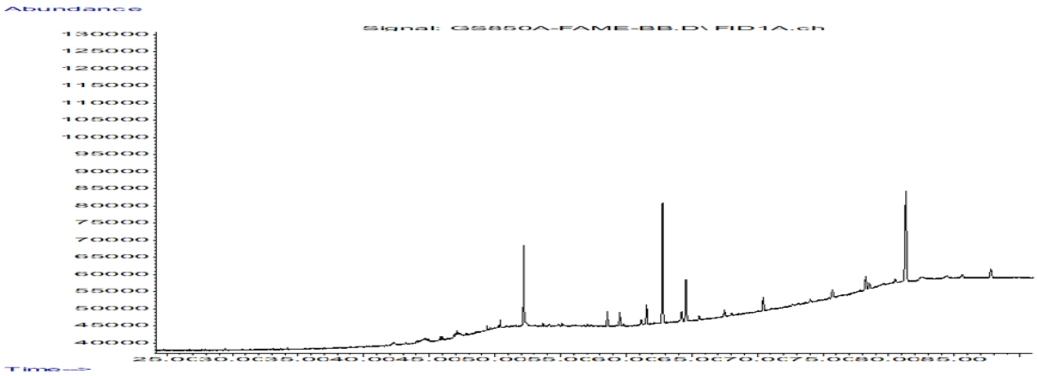
T. baseri uçucu yağındaki majör bileşen grupları hidrokarbonlar, oksijenli monoterpenler ve seskiterpenler olarak sınıflandırılmıştır. Uçucu yağdaki majör bileşen grupları dağılımı Tablo 4.3' de gösterilmiştir.

Tablo 4.3: *T. baseri uçucu yağındaki majör grupların dağılımı*

Grup	%
Hidrokarbon monoterpen	23,4
Oksijenli monoterpen	52,3
Hidrokarbon seskiterpen	19,4
Oksijenli seskiterpen	3
Diğer	1,7

4.3.2. Sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu

T. baseri toprak üstü kısımlarından elde edilen metillenmiş sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu GC-FID ve GC/MS yöntemiyle belirlenmiştir. Yağ asitlerinin kromatografik ayrımı ve kimyasal kompozisyonu Şekil 4.2 ve Tablo 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.2. *T. baseri sabit yağ asitlerinin GC kromatogramı*

Tablo 4.4: *T. baseri sabit yağ asitlerinin kimyasal kompozisyonu*

No	RRI	Bileşik	%
1	2018	Metil tetradekanoat	e
2	2122	Dimetil azelat	e
3	2223	Metil heksadekanoat	18,1
4	2436	Metil oktadekanoat	4,7
5	2468	Metil oleat	4,6
6	2509	Metil linoleat	7,4
7	2514	Metil nonadekanoat	44,6
8	2536	Etil nonadekanoat	4,2
9	2572	Metil linolenat	16,4
10	2634	Metil araşidat	e
11	2841	Metil behenat	e
12	3021	Metil tetrakosanoat	e
		Toplam	**99,5**

4.3.3. Silillenen bileşiklerin kimyasal kompozisyonu

Gaz kromatografisi ile *T. baseri* bitkisine ait herba, çiçek ve kök ekstrelerinde bulunan triterpenik bileşiklerin türevlendirilerek ayrımı gerçekleştrilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler Tablo 4.5, Tablo 4.6, Tablo 4.7'de gösterilmiştir.

Tablo 4.5 *T. baseri herba ekstrelerinin türevlendirme analiz sonucu*

No	RRI	Bileşik	TBHHE-türev	TBMHE-türev	TBSHE-türev
1	1506	Malik asit- 3TMS	-	0,1	6,6
2	1702	L-Fukoz - 4TMS	-	-	3,1
3	1738	D-Ksilopiranoz - 4TMS	-	e	1,4
4	1799	Glikoz per-trimetilsilildehidro türevi	-	0,4	-
5	1843	α-Fruktofuranoz- 5TMS	-	1,0	2,0
6	1852	ß-D-Fruktofuranoz -5TMS	-	1,1	3,1
7	1901	Kuinik asit- 5TMS	-	1,7	**13,4**
8	1929	α-Glukopiranoz- 5TMS	-	1,9	4,3
9	1972	Mannitol -6TMS	-	0,3	-
10	2023	ß-Glukopiranoz- 5TMS	-	1,5	3,3
11	2052	Hekzadekanoik asit - 3TMS	5,7	0,2	e
12	2095	Trimetilsilil kateşolaktat tris (trimetilsilil) eter	-	0,4	
13	2127	*myo*-İnositol-6TMS	-	1,6	5,7
14	2151	(*E*)-Kafeik asit- 3TMS	-	0,2	-
15	2217	(Z,Z)-9,12-Oktadekadienoik asit- 3TMS	1,6	0,1	-
16	2224	α-Linolenik asit - TMS	5,6	0,1	-
17	2712	Sakkaroz türevi-7TMS	7,8	-	-
18	2713	Sukroz- 8TMS	-	5,3	**56,9**
19	2901	Nonakosan	**23,5**	-	-
20	3101	Eikosan	**15,3**	-	-
21	3184	Klorojenik asit- 6 TMS	-	0,1	-
22	3302	Pentakosan	**11,7**	-	-
23	3368	ß-Sitosterol TMS	7,55	0,5	-
24	3464	Rozmarinik asit- 5TMS	-	3,0	-
25	3507	Raffinoz-11 TMS	-	1,9	-
26	3602	Oleanolik asit- 2 TMS	**21,1**	**47,9**	e
27	3647	Ursolik asit- 2TMS	-	**28,3**	-
28	3680	Betulinik asit- 2TMS	-	1,4	-
		Toplam	**100,0**	**99,1**	**100,0**
		Triterpenik maddeler	28,7	78,1	0
		Fenolik asitler	0,0	3,7	0
		Karbonhidratlar	7,8	16,9	100,0
		Yağ asitleri türevleri	12,9	0,4	0,0
		Alkanlar	50,6	0,0	0,0

TBHHE: *T. baseri* hegzanlı herba ekstresi; **TBMHE**: *T. baseri* metanollü herba ekstresi; **TBSHE**: *T. baseri* sulu herba ekstresi.

Tablo 4.6. *T. baseri kök ekstrelerinin türevlendirme analiz sonucu*

No	RRI	Bileşik	TBMKE-türev	TBSKE-türev
1	1506	Malik asit- 3TMS	-	1,4
2	1757	Ksilitol - 5TMS	1,2	-
3	1761	Ribitol - 5TMS	0,8	-
4	1843	α-Fruktofuranoz- 5TMS	1,9	1,2
5	1852	ß-D-Fruktofuranoz -5TMS	3,1	2,4
6	1858	Fruktopiranoz- 5TMS	-	0,5
7	1901	Kuinik asit- 5TMS	5,4	**10,8**
8	1929	α-Glukopiranoz- 5TMS	4,5	2,6
9	1942	ß-Mannopiranoz- 5TMS	2,5	1,0
10	1971	Mannitol- 6TMS	7,8	2,4
11	1980	Sorbitol- 6TMS	e	-
12	2023	ß-Glukopiranoz- 5TMS	3,8	2,98
13	2049	Heksadekanoik asit- TMS	0,8	-
14	2093	Trimetilsilil kateşolaktat tris (trimetilsilil) eter	1,3	3,7
15	2127	*myo*-Inositol- 6TMS	6,1	3,9
16	2151	(*E*)-Kafeik asit- 3TMS	1,4	1,1
17	2713	Sukroz- 8TMS	31,3	20,7
18	2816	D-Trehaloz -8TMS	5,0	1,3
19	3507	Raffinoz- 11TMS	-	5,9
20	3602	Oleanolik asit- 2TMS	**10,0**	-
21	3647	Ursolik asit- 2TMS	**9,0**	-
22	>4000	3-α- Mannobioz -8TMS	-	36,9
		Toplam	**95,9**	**98,6**
		Triterpenik maddeler	19,0	0,0
		Fenolik asitler	2,8	4,8
		Karbonhidratlar	73,4	93,9
		Yağ asitleri türevleri	0,8	0,0

TBMKE: *T. baseri* metanollü kök ektresi; **TBSKE**: *T. baseri* sulu kök ekstresi.

Tablo 4.7. *T. baseri çiçek ekstrelerinin türevlendirme analiz sonucu*

NO	RRI	Bileşik	TBÇEE-türev	TBÇKE-türev
1	1234	Borneol TMS eter	0,15	0,4
2	1253	Benzoik ais- TMS	0,1	0,2
3	1283	Gliserol- TMS	0,5	0,2
4	1422	Benzenpropanoik asit -TMS eter	0,1	0,4
5	1551	*trans*- Sinnamik asit -TMS	33,9	24,0
6	1843	α-Fruktofuranoz- 5TMS	1,1	-
7	1852	ß-D-Fruktofuranoz- 5TMS	2,0	-
8	1858	Fruktopiranoz- 5TMS	2,2	-

Tablo 4.7. (devam) *T. baseri çiçek ekstrelerinin türevlendirme analiz sonucu*

NO	RRI	Bileşik	TBÇEE-türev	TBÇKE-türev
9	1901	Kinik asit- 5TMS	1,9	-
10	1929	α-Glukopiranoz- 5TMS	1,9	-
11	1943	ß-Manopiranoz- 5TMS	0,6	-
12	2023	ß-Glukopiranoz- 5TMS	2,1	-
13	2042	*scyllo*- Inositol - 5TMS	0,4	-
14	2051	Hekzadekanoik asit- mono TMS	1	0,5
15	2113	Metoksisikloheksapentol- 5TMS	0,2	-
16	2127	*myo*-İnozitol- 6TMS	0,2	-
17	2249	Oktadekanoik asit - TMS	0,2	0,5
18	2591	Sukroz türevi- 7TMS	5,1	-
19	2591	Sukroz türevi- TMS	6,5	
20	2713	Sukroz- 8TMS	4,1	-
21	2751	1,3- Benzendikarboksilik asit, bis (2-etilheksil) ester	2,2	7,3
22	2803	1-Monostearin -2TMS	0,9	0,6
23	3464	Rozmarinik asit- 5TMS	0,9	-
24	3602	Oleanolik asit- 2 TMS	**14,8**	**47,5**
25	3647	Ursolik asit- 2TMS	5,2	**15,7**
26	3680	Betulinik asit- 2TMS	e	1,4
		Toplam	**88,3**	**98,9**
		Triterpenik maddeler	20,0	64,6
		Monoterpenik maddeler	0,2	0,4
		Fenolik asitler	34,9	24,7
		Karbonhidratlar	28,7	0,2
		Yağ asitleri türevleri	2,1	1,7

TBÇEE: *T. baseri* çiçek etanollü ekstresi; **TBÇKE**: *T. baseri* çiçek kloroformlu ekstresi.

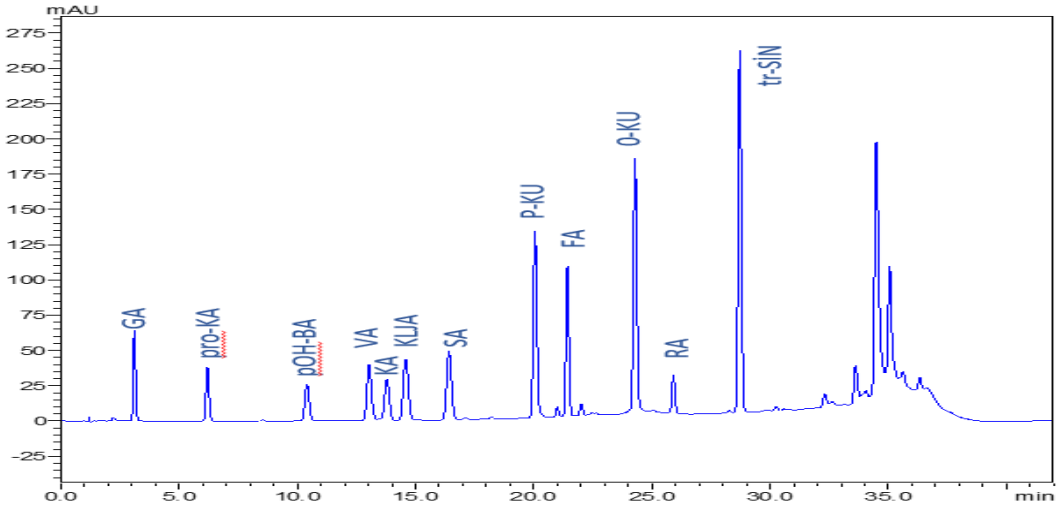
4.3.4. HPLC-DAD ile fenolik asit miktarı

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) tekniği kullanılarak metanollü ve sulu ekstrelerinde bulunan fenolik asitlerin, gallik asit (GA), protokateşik asit (proKA), kafeik asit (KA), klorojenik asit (KLA), sirinjik asit (SİA), *p*-kumarik asit (p-KU), ferulik asit (FA), o-kumarik asit (o-KU), vanilik asit (VA), *trans*-sinnamik asit (Tr-SİN), rozmarinik asit (RA)] ayrımı C_{18} kolonda metodlar kısmında belirtilen koşullarda gerçekleştirilmiştir. Deneye ilişkin kromatogramlar ve sonuçlar Şekil 4.3 ve 4.4 ve Tablo 4.8'de gösterilmiştir.

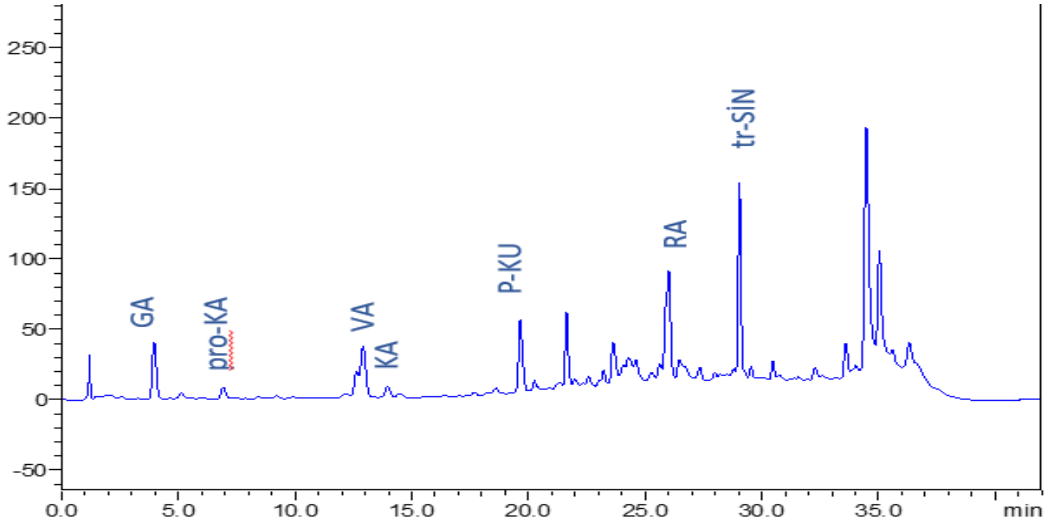
Tablo 4.8. *T. baseri ekstrelerinin ters-faz HPLC ile tespit edilen fenolik asitlerin miktarları*

Fenolik asitler	Ekstreler			
	TBMHE	**TBMKE**	**TBSHE**	**TBSKE**
proKA			0,18	1,96
KA	0,28		0,38	0,12
KLA	0,83	0,42	0,54	0,38
SİA	0,26	0,01	0,21	0,28
p-KU	0,71	0,26	0,99	0,84
FA	0,39	0,19	0,64	0,49
o-KU	0,48	0,41	0,58	0,46
GA			0,14	
VA	0,91		2,14	0,31
tr-SİA	0,25	0,22	0,29	0,14
RA	4,87	1,364	3,94	15,46

GA: gallik asit; **proKA**: protokateşik asit: *p*-OH benzoik asit; **KA**: kafeik asit; **KLA**: klorojenik asit; **SİA**: sirinjik asit, ***p*-KU**: *p*-kumarik asit; **FA**: ferulik asit; **o-KU**: o-kumarik asit; **VA**: vanilik asit; **tr-SİN**: *trans*-sinnamik asit; **RA**: rozmarinik asit.



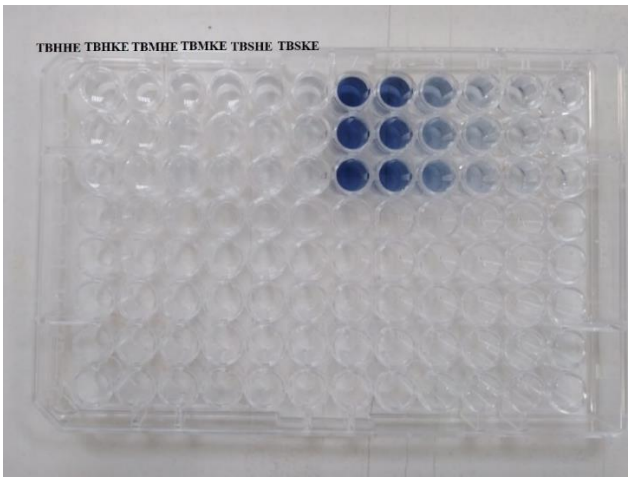
Şekil 4.3. *Fenolik asit standartlarının HPLC kromatogramı*



Şekil 4.4. *T. baseri metanollü herba ekstresi HPLC kromatogramı (TBHME)*

4.3.5. Toplam fenol miktarı

T. baseri ekstrelerindeki toplam fenol miktarı Folin- Ciocalteu metodu ile gallik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Deneyde ekstrelerin etkisi ile FCR reaktifinin renk değişimi Görsel 4.1'de gösterilmiştir. Ekstrelerin toplam fenol miktarlarının gallik asit eşdeğeri değerleri Tablo 4.9'da gösterilmiştir.



Görsel 4.1. *T. baseri ekstrelerinin Folin- Ciocalteu reaktifiyle gösterdiği renk değişimi*

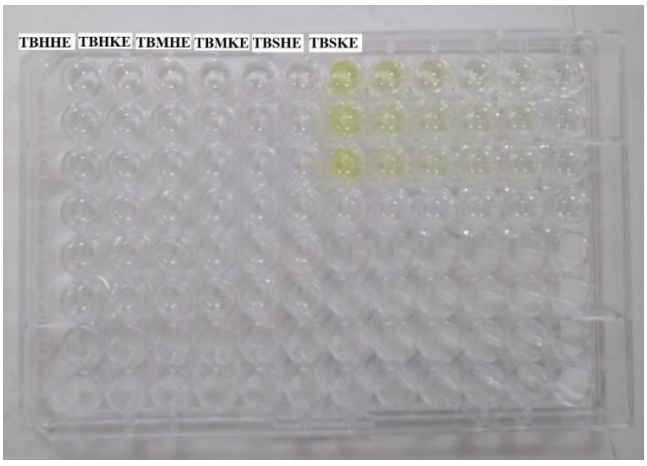
Tablo 4.9. *T. baseri ekstrelerinin gallik asite eş değer toplam fenol miktarı*

Numune	GAEmg/g_{ekstre}
TBHHE	132,34±0,01
TBHKE	135,97±0,00
TBMHE	323,61±0,01
TBMKE	68,711±0,01
TBSHE	348,09±0,03
TBSKE	495,86±0,01

TBHHE: *T. baseri* hegzanlı herba ekstresi; **TBHKE**: *T. baseri* hekzanlı kök ekstresi; **TBMHE**: *T. baseri* metanollü herba ekstresi; **TBMKE**: *T. baseri* metanollü kök ektresi; **TBSHE**: *T. baseri* sulu herba ekstresi; **TBSKE**: *T. baseri* sulu kök ekstresi.

4.3.6. Toplam flavonoit miktarı

T. baseri ekstrelerinin toplam flavonoit miktarları spektrofotometrik yöntem kullanılarak $AlCl_3$ reaktifi ile belirlenmiştir. Standart madde olarak kersetin kullanılmış ve numunelerin içerdiği toplam flavonoit miktarı kersetine eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Numunelerin reaksiyon sonucu oluşturduğu renk değişimi Görsel 4.2'de gösterilmiştir. Ekstrelerin içerdiği toplam flavonoit miktarı kersetine eşdeğer olarak Tablo 4.10'da verilmiştir.



Görsel 4.2. *Ekstrelerin $AlCl_3$ reaktifi ile tepkime sonucu renk değişimi*

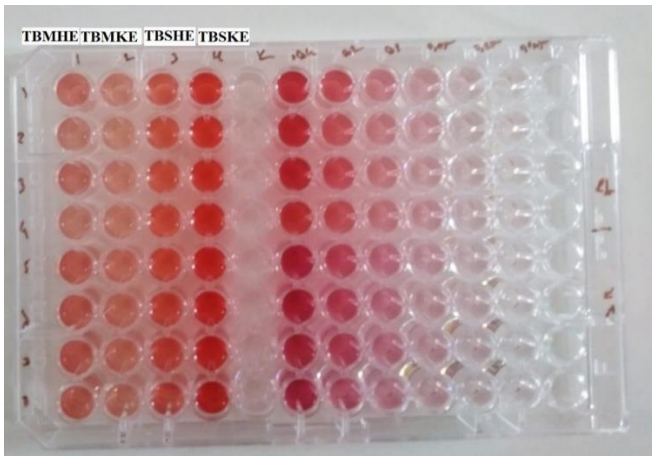
Tablo 4.10. *T. baseri ekstrelerinin kersetine eşdeğer toplam flavonoit miktarları*

Numune	KE mg/g_{ekstre}
TBHHE	3,986±0,001
TBHKE	2,413±0,001
TBMHE	42,073±0,004
TBMKE	33,469±0,002
TBSHE	91,805±0,007
TBSKE	11,156±0,001

TBHHE: *T. baseri* hegzanlı herba ekstresi; **TBHKE**: *T. baseri* hekzanlı kök ekstresi; **TBMHE**: *T. baseri* metanollü herba ekstresi; **TBMKE**: *T. baseri* metanollü kök ektresi; **TBSHE**: *T. baseri* sulu herba ekstresi; **TBSKE**: *T. baseri* sulu kök ekstresi.

4.3.7. Toplam hidroksisinnamik asit miktarı

T. baseri ekstrelerinin toplam hidroksisinnamik asit miktarı HCl-$NaNO_2$-Na_2MoO_4-NaOH kromojenik sistemi kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile belirlenmiştir. Reaksiyon sırasında reaktifin etkisiyle ekstrelerdeki renk değişimi Görsel 4.3'te gösterilmiştir. Rozmarinik asit ve klorojenik eşdeğeri toplam hidroksisinnamik asit miktarı hesaplanmıştır ve Tablo 4.11'de gösterilmiştir.



Görsel 4.3. *T. baseri ekstrelerinin Na_2MoO_4 reaktifi ile tepkime sonucu renk değişimi*

Tablo 4.11. *T. baseri ekstrelerinin rosmarinik asit ve klorojenik asit eşdeğeri toplam hidroksisinnamik asit miktarı*

Numune	RA mg/g_{ekstre}	KA mg/g_{ekstre}
TBMHE	0,18±0,01	0,19±0,11
TBMKE	0,11±0,00	0,10±0,01
TBSHE	0,19±0,01	0,21±0,01
TBSKE	0,42±0,02	0,48±0,02

TBMHE: *T. baseri* metanollü herba ekstresi; **TBMKE**: *T. baseri* metanollü kök ektresi; **TBSHE**: *T. baseri* sulu herba ekstresi; **TBSKE**: *T. baseri* sulu kök ekstresi.

4.4. Biyolojik Aktivite Sonuçları

4.4.1. Antioksidan aktivite bulguları

4.4.1.1. Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) değerleri

T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerin antioksidan aktivitesi ABTS radikalini süpürme yeteneğine göre değerlendirilmiştir. Numunelerin aktivitesi troloks ile karşılaştırılmıştır. Numunelerin troloksa eşdeğer antioksidan kapasite bilgileri Tablo 4.12'de verilmiştir.

Tablo 4.12. *T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerinin troloksa eşdeğer antioksidan kapasite değerleri*

Numune	TEAC (mM)
TBUY	inaktif
TBHHE	inaktif
TBHKE	inaktif
TBMHE	0,149±0,024
TBMKE	0,118±0,015
TBSHE	0,092±0,007
TBSKE	0,669±0,065

TBUY: *T. baseri* uçucu yağı; **TBHHE**: *T. baseri* hegzanlı herba ekstresi; **TBHKE**: *T. baseri* hekzanlı kök ekstresi; **TBMHE**: *T. baseri* metanollü herba ekstresi; **TBMKE**: *T. baseri* metanollü kök ektresi; **TBSHE**: *T. baseri* sulu herba ekstresi; **TBSKE**: *T. baseri* sulu kök ekstresi *Tüm numuneler 1 mg/mL konsantrasyonundadır.

4.4.1.2. DPPH radikali üzerinden radikal süpürücü etki değerleri

T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerinin spektrofotometrik yöntemle analizi ile DPPH radikalini süpürme etkisi analiz edilmiştir. Deneyde numunelerin etkisi dolayısıyla DPPH reaktifinin renk değişimi Görsel 4.4'te gösterilmiştir.



Görsel 4.4. *T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerinin DPPH serbest radikal süpürme etkisi*

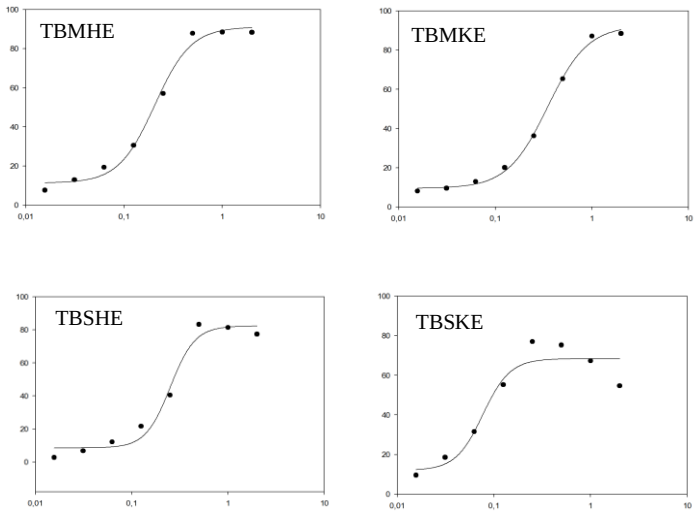
Uçucu yağ ve ekstrelerin % inhibisyon değerleri hesaplandıktan sonra %50'den fazla inhibisyon etkisi gösteren numuneler için %50 inhibisyon sağlayan minimum konsantarasyon değerleri tespit edilmiştir. *SigmaPlot* programı ile % inhibisyon değerleri ve konsantrasyon bilgileri kullanılarak IC_{50} değerleri Tablo 4.13'te verilmiştir.

Tablo 4.13. *T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerinin DPPH testinde gösterdikleri IC50 ve % inhibisyon değerleri*

Numune	IC_{50} (mg/mL)	İnhibisyon (%)
TBUY	*	<10
TBHHE	*	%36
TBHKE	*	%22
TBMHE	0,208±0,08	**
TBMKE	0,381±0,025	**
TBSHE	0,0232±0,014	**
TBSKE	0,08±0,04	**
Gallik asit (0,1 mg/mL)	0,002±0.00	**

TBUY: *T. baseri* uçucu yağı; **TBHHE**: *T. baseri* hegzanlı herba ekstresi; **TBHKE**: *T. baseri* hekzanlı kök ekstresi; **TBMHE**: *T. baseri* metanollü herba ekstresi; **TBMKE**: *T. baseri* metanollü kök ektresi; **TBSHE**: *T. baseri* sulu herba ekstresi; **TBSKE**: *T. baseri* sulu kök ekstresi; *Numunelerin inhibisyon değerleri %50'nin altında olduğu için IC_{50} değerleri tespit edilmeyip sadece Inh % değerleri verilmiştir.; **Numunelerin inhibisyon değerleri %50'nin üstünde olduğu için Inh. % değeri yerine daha önemli olan IC_{50} değerleri dilüsyon yöntemi ile tespit edilmiştir. Numunelerin başlangıç konsantrasyonu 2 mg/mL olarak kullanılmıştır.

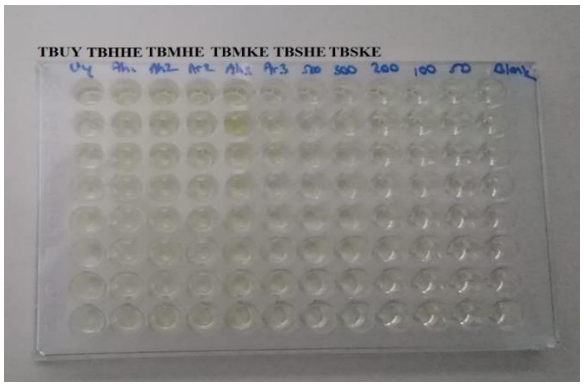
Sigma Plot programı ile elde edilen IC_{50} değerleri için bazı grafik örnekleri Şekil 4.5'te gösterilmiştir.



Şekil 4.5. *Sigma Plot programı ile elde edilen IC_{50} değerleri için bazı grafik örnekleri. TBMHE: T. baseri metanollü herba ekstresi; TBMKE: T. baseri metanollü kök ektresi; TBSKE: T. baseri sulu kök ekstresi; TBSHE: T. baseri sulu herba ekstresi*

4.4.1.3. Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) değerleri

T. baseri uçucu yağı ve ekstrelerinin ORAC değerlendirmesi fluoresein rengindeki solma derecesine göre belirlenmiştir. *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerindeki fluoresein bileşiğinin lüminesans değerlerinin zamana karşı değişimi Görsel 4.5'te verilmiştir. Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite değerleri de Tablo 4.14'te gösterilmiştir.



Görsel 4.5. *T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerin zamana karşı fluoresin üzerindeki etkisi*

Tablo 4.14. *T. baseri uçucu yağ ve ektrelerinin troloksa eşdeğer antioksidan kapasite değerleri*

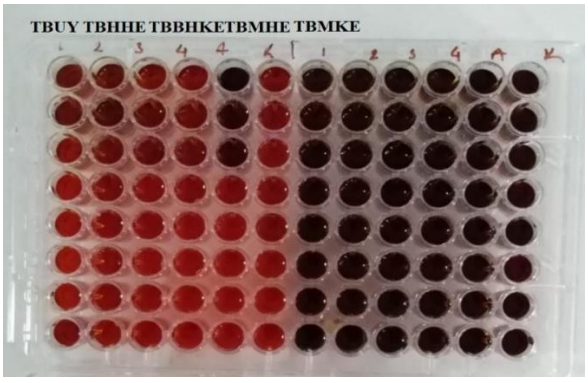
Numune	ORAC (TEμM)
TBUY	58,89±6,45
TBHHE	36,12±3,36
TBHKE	İnaktif
TBMHE	40,20±2,12
TBMKE	93,68±7,01
TBSHE	277,12±3,89
TBSKE	175,53±4,68

TBUY: *T. baseri* uçucu yağı; **TBHHE**: *T. baseri* hegzanlı herba ekstresi; **TBHKE**: *T. baseri* hekzanlı kök ekstresi; **TBMHE:** *T. baseri* metanollü herba ekstresi; **TBMKE**: *T. baseri* metanollü kök ektresi; **TBSHE**: *T. baseri* sulu herba ekstresi; **TBSKE**: *T. baseri* sulu kök ekstresi; *Uçucu yağ ve hegzan numuneleri 1 mg/mL, metanol ve su ekstreleri 0,1 mg/mL konsantrasyonunda kullanılmıştır.

4.4.2. Antidiyabetik aktivite bulguları

4.4.2.1. α-Amilaz inhibisyon verileri

T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerinin α-amilaz enzimi üzerindeki inhibisyon gücü, enzimin nişastayı hidroliz etme özelliğine göre belirlenmiştir. Bu tepkimeyi ölçülebilir hale getirmek için I_2+ KI reaktifi uygulanmıştır. Antidiyabetik etkili akarboz standart madde olarak kullnılmıştır. Deney sonucunda elde edilen renk değişimleri Görsel 4.6'da gösterilmiştir. Deney sonucunda elde edilen enzim inhibisyon değerleri Tablo 4.15'te verilmiştir.



Görsel 4.6. *T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerinin α-amilaz enzimi üzerindeki etkileri*

Tablo 4.15. *T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerinin α-amilaz enzimi üzerinde gösterdikleri % inhibisyon değerleri*

Numune	İnhibisyon, %
TBUY	İnaktif
TBHHE	İnaktif
TBHKE	İnaktif
TBMHE	33,90±0,98
TBMKE	46,34±0,93
TBSHE	26,26±1,06
TBSKE	15,61±3,32
Akarboz (1mg/mL)	98,15±1,44

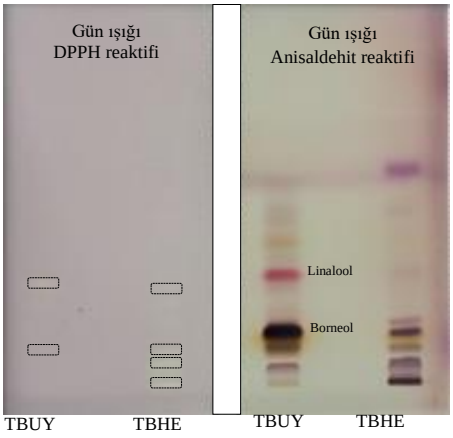
TBUY*: T. baseri* uçucu yağı; **TBHHE**: *T. baseri* hegzanlı herba ekstresi; **TBHKE**: *T. baseri* hekzanlı kök ekstresi; **TBMHE**: *T. baseri* metanollü herba ekstresi; **TBMKE**: *T. baseri* metanollü kök ektresi; **TBSHE**: *T. baseri* sulu herba ekstresi; **TBSKE**: *T. baseri* sulu kök ekstresi *Tüm numuneler 10 mg/mL konsantrasyonunda kullanılmıştırr.

4.5. HPTLC-Biyootografik Analiz Verileri

Proje kapsamında *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerin biyootografik olarak antioksidan aktivitesinin incelenmesi HPTLC tekniği ile yapılmıştır. Bunun için öncelikle uçucu yağ ve ekstrelerin farklı hareketli fazlarda ayrımları incelenmiştir. Değerlendirmeye alınan hareketli fazlar;

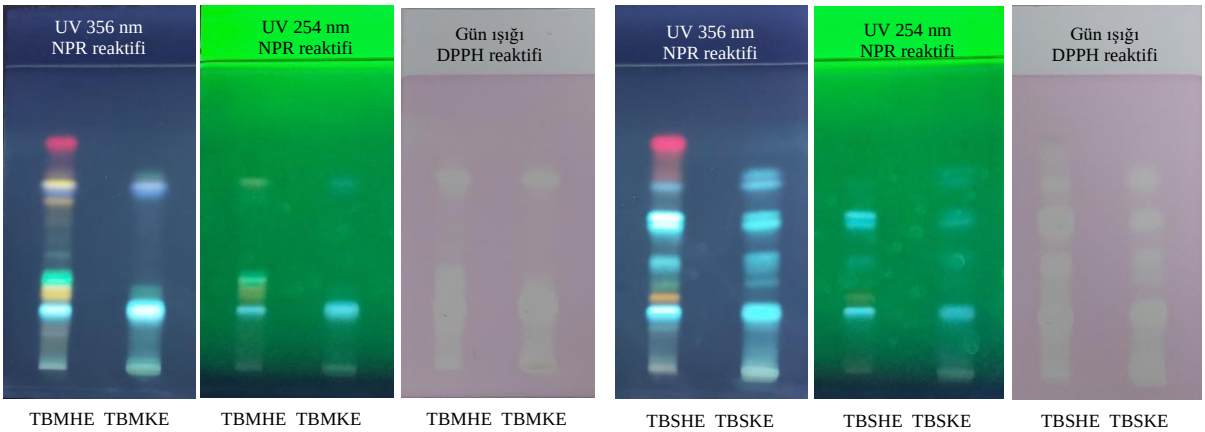
- Kloroform: etil asetat: aseton: formik asit (40:30:20:10)
- Toluen: etil asetat (93:7)
- Sülfürik asit: etil alkol (1:9)
- Etil asetat: asetik asit: formik asit: su (100:11:11:26)
- Formik asit: su: etil asetat (10:10:80)

Uçucu yağ ve hegzanlı ekstrelerin ayrımının toluen: etil asetat (93:7) hareketli fazında daha iyi olduğu gözlenmiştir. Polar ekstreler için ise en iyi ayrımın etil asetat: asetik asit: formik asit: su (100:11:11:26) mobil fazında olduğu tespit edilmiştir. Uygun hareketli fazlar seçildikten sonra ayrımı daha net gözlemleyebilmek için uçucu yağ ve hegzanlı ekstre uygulanan plak üzerine belirteç olarak anisaldehit reaktifi püskürtülüp 5 dk 100-105ºC'de ısıtılmıştır. Ayrıca, plakta ayrılan maddeleri tespit edebilmek için standart madde uygulaması yapılmıştır. Uçucu yağ ve hegzanlı ekstre için bu standartlar; borneol, linalool, karvakrol olarak belirlenmiştir. Daha sonra aynı uygulama yapılan plağa DPPH reaktifi püskürtülmüştür. DPPH uygulaması sonucunda antioksidan aktivite gösteren maddelerin oluşturduğu sarı spotların konumları işaretlenmiştir (Görsel 4.7).



Görsel 4.7. *T. baseri herba uçucu yağ ve hekzanlı ekstresinin biyootografisi (antioksidan aktivite)*

Metanollü ve sulu ekstrelerde ayrılan maddelerin daha net gözlenmesi için plağa NPR belirteci püskürtülüp 5 dk 100-105ºC'de ısıtılmıştır ve ardından PEG çözeltisi püskürtülmüştür. Oluşan renklenmeler UV 254 ve 366 nm altında incelenmiştir. Ayrıca, plakta ayrılan maddeleri tespit edebilmek için standart madde uygulaması yapılmıştır. Bu standartlar; klorojenik asit, rozmarinik asit, 3,4 DHBA, kafeik asit, ferulik asit, hiperozit, rutin, trans-sinnamik asit, vanilik asit olarak belirlenmiştir. Aynı uygulama tekrarlanmış ve plak üzerine DPPH reaktifi püskürtülmüştür. Uygulama sonucunda antioksidan aktivite gösteren maddelerin oluşturduğu sarı spotlar işaretlenmiştir (Görsel 4.8)



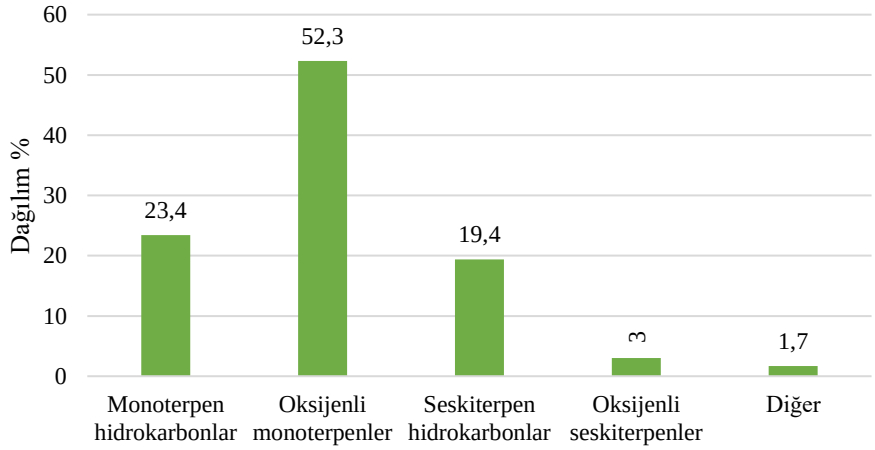
Görsel 4.8. *T. baserii herba ve kök metanollü ve sulu ekstrelerinin biyootografisi (antioksidan aktivite)*

5. TARTIŞMA

5.1. Fitokimyasal Analizler

5.1.1. Uçucu yağ profili

Proje kapsamında *T. baserii* uçucu yağ profili ilk kez aydınlatılmıştır. Uçucu yağında tespit edilen bileşikler başlıca dört majör grup altında toplanmıştır. Bunlar; hidrokarbon monoterpenler ($C_{10}H_{16}$), hidrokarbon seskiterpenler ($C_{15}H_{24}$), oksijenli monoterpenler ($C_{10}H_{16}O$) ve oksijenli seskiterpenlerdir ($C_{15}H_{24}O$). Uçucu yağın profili incelendiğinde yağın bileşimini çoğunlukla oksijenli monoterpenler grubu bileşiklerini (%52,3) oluşturduğu gözlenmiştir. İkinci en önemli madde grubunu ise hidrokarbon monoterpenler (%23,4) oluşturmaktadır. Uçucu yağ bileşenlerinin grup dağılımı Şekil 5.1'de gösterilmiştir.



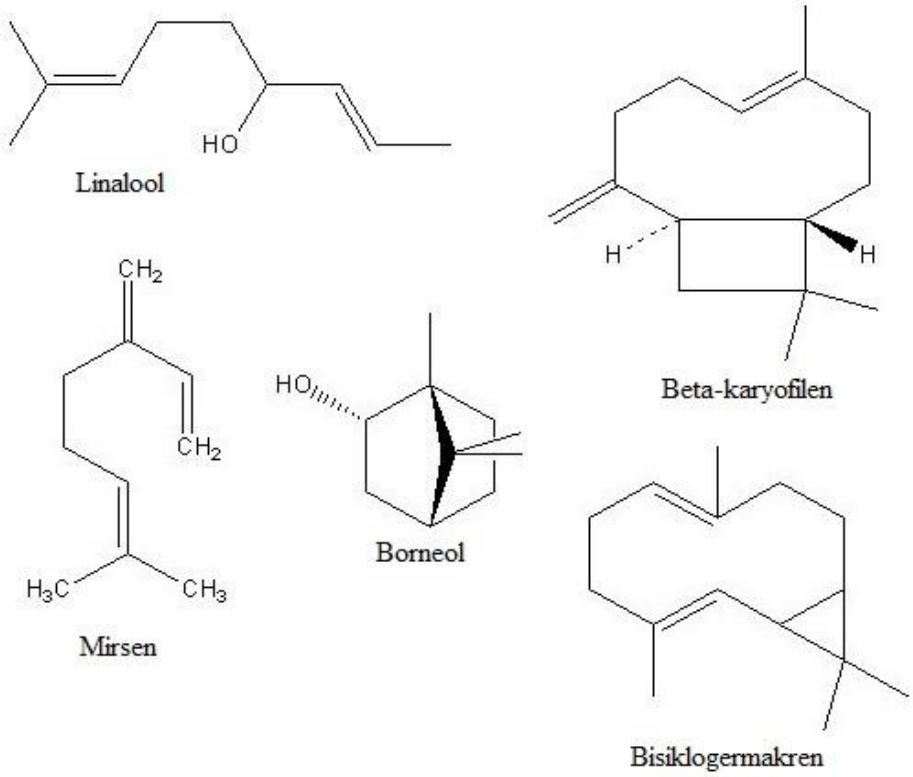
Şekil 5.1. *T. baseri bitkisinin uçucu yağındaki majör grupların dağılımı*

T. baseri uçucu yağının %99,8'ini oluşturan 95 adet uçucu bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin çoğunluğu oksijenli monoterpenlerden (24 bileşik) oluşmaktadır. Monoterpen hidrokarbonlar grubu ise 14 bileşikten oluşmuştur. Uçucu yağın bileşimini oluşturan ana bileşiklerin; (-)-linalool (%34,4), mirsen (%12,9), ve (-)-borneol (%5,9) olduğu tespit edilmiştir.

T. baseri uçucu yağın ana bileşiklerine ait molekül yapıları Şekil 5.2'de gösterilmiştir. Ayrıca, uçucu yağın bileşiminde seskiterpem grubuna ait 22 bileşik olduğu bulunmuştur. En yüksek miktardaki seskiterpen bileşiklerin ß-karyofilen (%8,2) ve

bisiklogermakren (%6,9) olduğu tespit edilmiştir. Az miktarda yağ asitleri (%1,2) saptanmıştır.

T. baseri uçucu yağında fenolik monoterpenlerden sadece az miktarda karvakrol tespit edilmiştir (%0,2), oysa literatürde birçok *Thymus* türlerinde karvakrol ve timol yüksek miktarlarda saptanmıştır [104].*T. vulgaris* (%45,0) [105], *T. pubescens* (%48,8) [106], *T. persicus* (%27,1) [107] türlerinde karvakrol ve timol major bileşikler olarak saptanmıştır.



Şekil 5.2. *T. baseri uçucu yağına ait majör bileşiklerin molekül yapıları [6]*

(-)-Linalool, *T. baseri* uçucu yağın ana bileşiğidir. Çeşitli *Thymus* türlerinde de uçucu yağların linaloolce zengin olduğu literatürde rapor edilmiştir. *T. algeriensis* (%47,3) [65], *T. fedtschenkoi* var. *handelii* (%12,9) [108], *T. willkomii* (%27,0) [109] bunlardan bazılarıdır.

Stahl-Biskup sınıflandırılmasına göre, *Thymus*'un genetik temelli yedi farklı kemotipi bilinmektedir [110]. Uçucu yağdaki baskın monoterpenlerine göre adlandırılırlar:

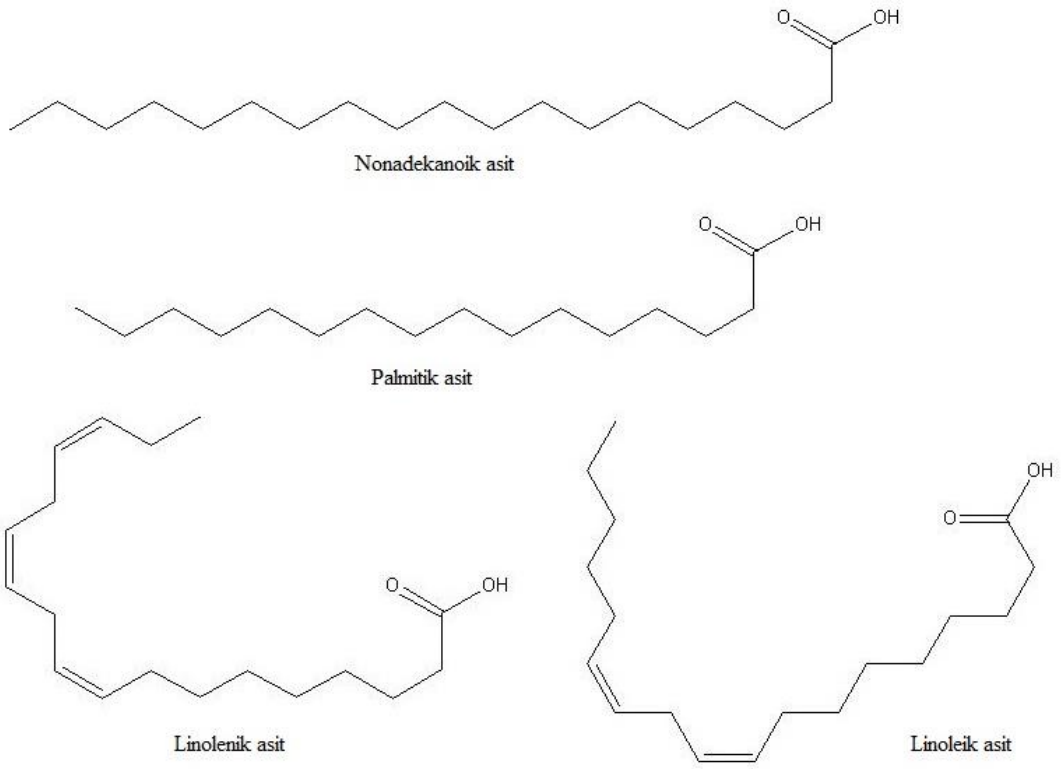
- timol tipi,
- karvakrol tipi,
- linalool tipi,
- geraniol tipi,
- α-terpineol tipi,
- *trans*-thuyanol (= *trans*-sabinen hidrat)
- sineol tipi.

Bu sınıflandırmaya göre, *T. baseri* yağının linalol kemotipine ait olduğunu söylemek mümkündür. Türkiye kökenli başka iki türün, *T. haussknechtii* Velen ve *T. kotschyanus* Boiss. & Hohen var. *kotschyanus*'un uçucu yağları, timol, karvakrol, linalool, linalil asetat, 1,8-sineol ve γ -terpinen ile karakterize olup Stahl-Biskup sınıflandırmasında ilk gruba girer. Bununla birlikte *T. haussknechtii* uçucu yağında kafur ve β-karyofilen ile birlikte ana bileşenler olarak linalool (%19,9) ve borneol (%10,4) de bulunmuştur [104].

Yunanistanda *T. longicaulis* C. Presl subsp. *chaoubardii* (Reichenb. fd.) Jalas, bir m^2 alanda yetişen aynı popülasyondan üç kemotipi toplanmıştır. Gaz kromatografik analiz sonucunda bu yağların üç kemotipe ait olduğu tespit edilmiştir. Limonen (%18,7) ve timol (%19,4); geraniol (%56,8) ve geranil asetat (%7.6); linalool (%63,1) ve α-terpinil asetat (%20,4) sırasıyla üç farklı kemotipin her birinde baskın bileşenler olarak saptanmıştır [111]. İspanya'da, sadece iki kemotip mevcut, bir sineol tipi ve bir linalool tipi [112]. Ancak, şunu unutmamalı, ki ticari öneme sahip olan sadece timol kemotipidir. Bütün bu bilgiler *Thymus* uçucu bileşenler açısından çok polimorfik bir cins olduğunu bir kez daha göstermektedir.

5.1.2. Sabit yağ asitleri profili

Çalışma kapsamında *T. baseri* sabit yağ profili incelendiğinde çoğunlukla doymuş yağ asitleri içerdiği tespit edilmiştir. Ana bileşiklerin; nonadekanoik asit (%44,6), palmitik asit (%18,1), linolenik asit (%16,4), linoleik asit (%7,4) olduğu tespit edilmiştir. Majör yağ asitlerinin molekül formülleri Şekil 5.3'te gösterilmiştir.



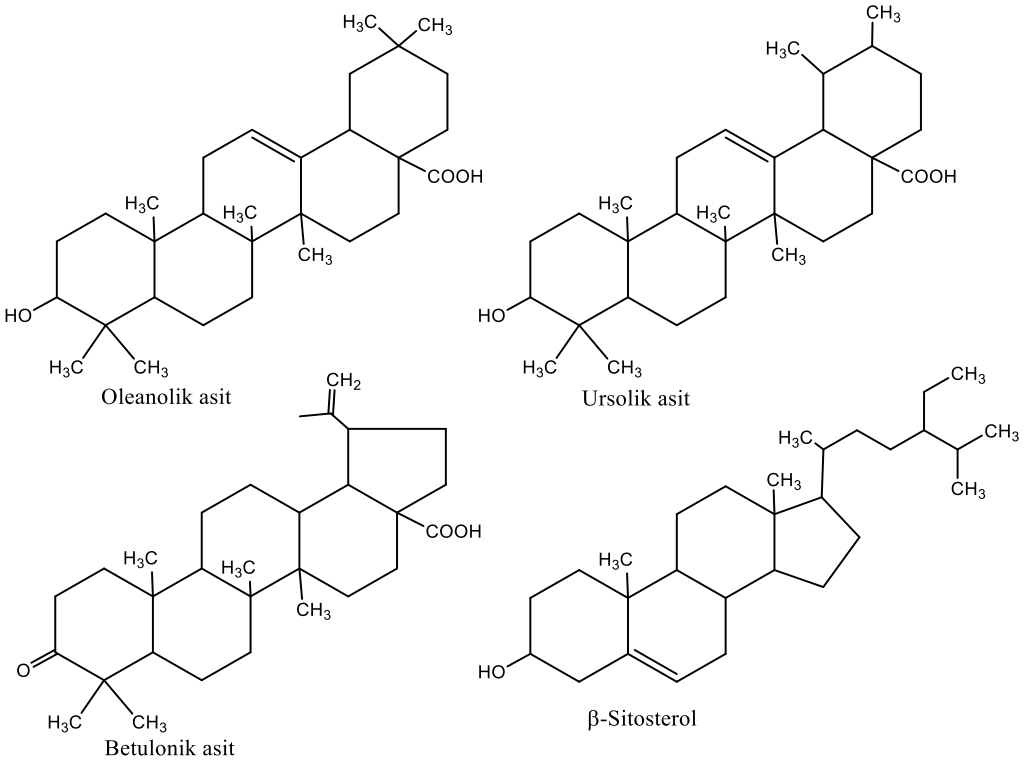
Şekil 5.3. *T. baseri majör yağ asitleri [113]*

Literatür taramasında *Thymus* türlerinin sabit yağ asitler açısından çok detaylı araştırılmadığı görülmüştür. Kısıtlı sayıda yayınlarda *Thymus* türlerinde sabit yağ bileşimi daha çok doymuş asitlerce domine olduğu görülmektedir. *T. capitatus* türünde yapılan çalışmada bu türe ait yağ asitleri belirlenmiştir. Bu bileşiklerin; palmitik asit (%28,63), stearik asit (%19,68), laurik asit (%16,83), oleik asit (%16,28) olduğu tespit edilmiştir [114]. *T. cariensis* ve *T. cilicicus* hekzanlı ekstreleri üzerinde yağ asitleri incelenmiştir. *T. cariensis* hekzan ekstresinde bulunan majör yağ asitleri; linolenik asit (%22,65), palmitik asit (%15,08), linoleik asit (%14,37) ve behenik asit (%12,54) olarak belirlenmiştir. *T. cilicicus* hekzan ekstresinde bulunan majör yağ sitleri; linolenik asit (%26,37), palmitik asit (%11,41), behenik asit (%8,08), linoleik asit (%7,57) olarak tespit edilmiştir [115]. Literatür verileri *T. baseri* yağ asidi kompozisyonu ile karşılaştırıldığında benzer bir profil gösterdikleri görülmektedir.

5.1.3. Silillenen bileşiklerin profili

Fenolik ve triterpenik bileşikler *Thymus* türleri için önemli ve karakteristik bileşik gruplarıdır. Oleanolik asit, ursolik asit, korosolik asit ve betulinik asitleri *Thymus* türlerinde en çok bulunan triterpenik bileşiklerdir [60].

T. baseri ekstrelerinin triterpenik bileikleri gaz kromatografisi analizi sonucunda özellikle oleanolik asit ve ursolik asit bileşiklerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Oleanolik asit ve ursolik asit en çok metanollü herba ekstresinde bulunmuştur. Ursolik asit hekzanlı ve sulu ekstrelerde tespit edilmemiştir. Türevlendirme sonucu tespit edilen triterpenik bileşiklerin molekül yapıları Şekil 5.4'de gösterilmiştir.



Şekil 5.4. *Türevlendirme sonucu tespit edilen triterpenik bileşikler*

Triterpenik bileşikler terapötik olarak önemli maddelerdir. Başlıca etkileri; antikanser, hepatoprotektivite, antioksidan ve antiinflamatuvar olarak rapor edilmiştir [116]. *T. pubescens* türüne ait kök ve toprak üstü kısımlarının etanolik ekstreleri triterpenik bileşikleri yönünden incelenmiştir. Kök ekstresinde bulunan başlıca triterpenler oleanolik asit (14,73 mg/g_{ekstre}) ve ursolik asit (12,08 mg/g_{ekstre}) olarak belirlenmiştir. Herba ekstresi için belirlenen triterpenler de oleanolik asit (92,78 mg/g_{ekstre}) ve ursolik asit (63,373 mg/g_{ekstre}) olarak tespit edilmiştir [117]. *T. vulgaris*

toprak üstü kısımlarının metanolik ekstresi triterpenik profili yönünden incelenmiştir. Majör triterpenik bileşikler ursolik asit (109,53 mg/100g_{bitki}), oleanolik asit (20,65 mg/100g_{bitki}) ve betulinik asit (6,56 mg/100g_{bitki}) olarak tespit edilmiştir [118].

Thymus türlerinin sağlık üzerine terapotik etkileri, fenolik bileşiklerin, triterpenik asitlerin ve uçucu yağların varlığına bağlanmıştır. Rapor edilmiş fitokimyasal çalışmalar *Thymus* türlerinin çoğunlukla genetik kökene bağlı ve bu nedenle taksonomik ve sistematik çalışmalarda kullanılabilecek karakteristik fenolik ve triterpenik profillere sahip olduğunu göstermiştir [60].

5.1.4. Polar ekstrelerin profili

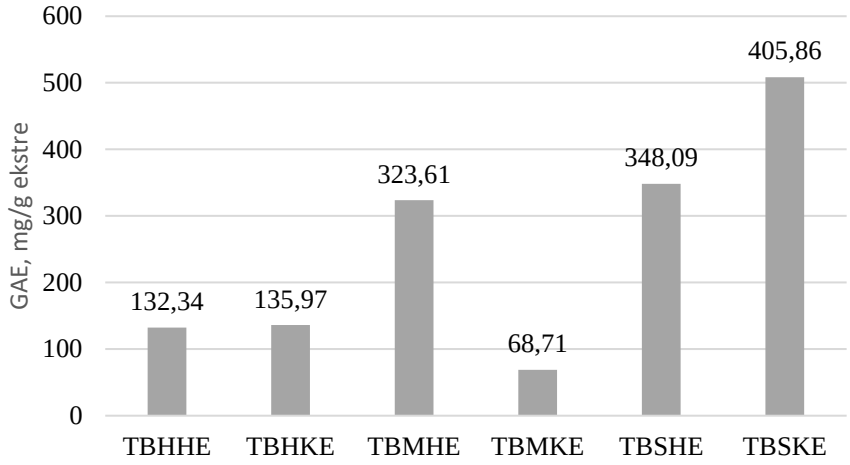
Fenolik bileşikler, redoks özelliklerinden dolayı antioksidan aktivite göstermektedirler [119]. Yayınlanmış çalışmalarda antioksidan aktivitenin yanı sıra fenolik asitlerin antiinflamatuvar, antimikrobiyal, kardiyoprotektif, nöroprotektif ve antikanser aktivitelerinin olduğuna dair tespitler yapılmıştır [120].

T. baseri ekstrelerinin sıvı kromatografisi analizi sonucunda metanol ve su ekstrelerinde en çok bulunan fenolik asitin rozmarinik asit olduğu bulunmuştur. Ayrıca, metanollü herba ekstresinde vanilik asit en çok bulunan diğer fenolik asittir.

5.1.5. Spektrofotometrik miktar tayin çalışmaları

T. baseri ekstrelerinin toplam fenol miktarı tayini spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür. En yüksek fenol miktarının sulu kök ekstresinde bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.5).

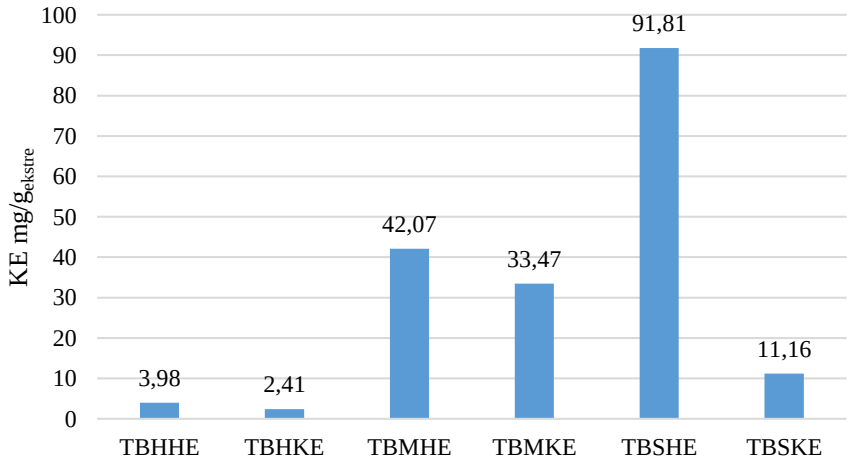
T. comosus toprak üstü kısımları kullanılarak 3 farklı ekstre hazırlanmıştır. Bu ekstrelerin toplam fenol miktarı hesaplanmıştır. Bu analiz sonucunda toplam fenol miktarları ultrasonik destekli %50 etanol ekstraksiyonu için 2075,82 µg/g, etanol maserasyonu için 1885,59 µg/g ve su infüzyonu için 1433,86 µg/g olarak ölçülmüştür. Toplam fenol miktarı su infüzyonunda en düşük miktara sahip olsa da en yüksek fenolik asit içeriği su infüzyonunda (154,61 µg/g) tespit edilmiştir [121].



Şekil 5.5. *T. baseri ekstrelerinin gallik asite eşdeğer toplam fenol miktarı*

T. baseri ekstrelerinin toplam flavonoit miktarı spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. Sulu herba ekstresinin en yüksek flavonoit miktarını taşıdığı tespit edilmiştir (Şekil 5.6). Flavonoit miktarının sulu ekstrede fazla bulunması bitkideki flavonoitlerin glikozidik yapılı olduğunu düşündürmektedir.

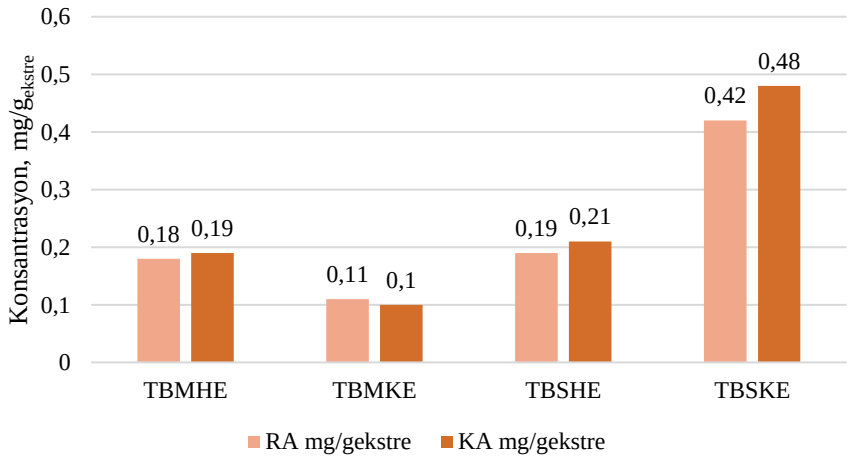
T. capitatus topraküstü kısımlarından farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstrelerde toplam flavonoit miktarı tayın edilmiştir. Metanol ekstresi için 13.15 KEmg/g_{ekstre}, aseton ekstresi için ise 6.79 KEmg/g_{ekstre} olarak ölçülmüştür [122].



Şekil 5.6. *T. baseri* ekstrelerinin kersetine eşdeğer toplam flavonoit miktarları

T. baseri ekstrelerine ailt toplam hidroksisinnamik asit miktar tayini spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür. Standart olarak rosmarinik ve klorojenik asit kullanılmıştır. Sonuçlar bu iki standarta eşdeğer olarak hesaplanmıştır. En yüksek total sinnamik asit miktarı sırasıyla rosmarinik asit ve klorojenik asit için de sulu kök ekstresinde bulunmuştur (0,42 RAEmg/g_{ekstre}; 0,48 KAE mg/g_{ekstre}). Sonuçlar Şekil 5.7'de gösterilmiştir.

T. serpyllum toprak üstü kısmından su ekstresi hazırlanmıştır. Bu ektre için toplam hidroksisinnamik asit miktar tayini yapılmıştır. Yapılan analiz sonucunda toplam hidroksisinnamik asit miktarı 1,20 g/L olarak bulunmuştur [123].



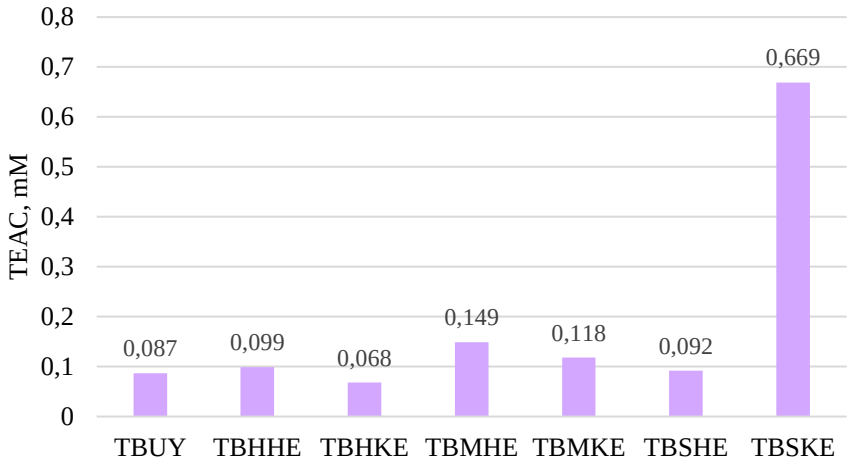
Şekil 5.7. *T. baseri ekstrelerinin rozmarinik asit ve klorojenik asit eşdeğeri toplam hidroksisinnamik asit miktarları*

5.2. Biyolojik Aktivite Araştırmaları

Doğal kaynaklı etkin antioksidan maddelerin arayışı günümüzde çok önemli bir araştırma konusunu oluşturmaktadır. Sanayi ve teknolojinin gelişmesinin katkılarıyla oluşan ekzojenik faktörler ve yanlış yaşam tarzı gibi değişik nedenlerden dolayı kanser, kardiyo-vasküler ve iperglisemi gibi rahatsızlıklarda önemli oranda artışlar görülmektedir. Bu hastalıkların önlenmesinde antioksidan etkili maddeler büyük potansiyele sahiptirler [124].

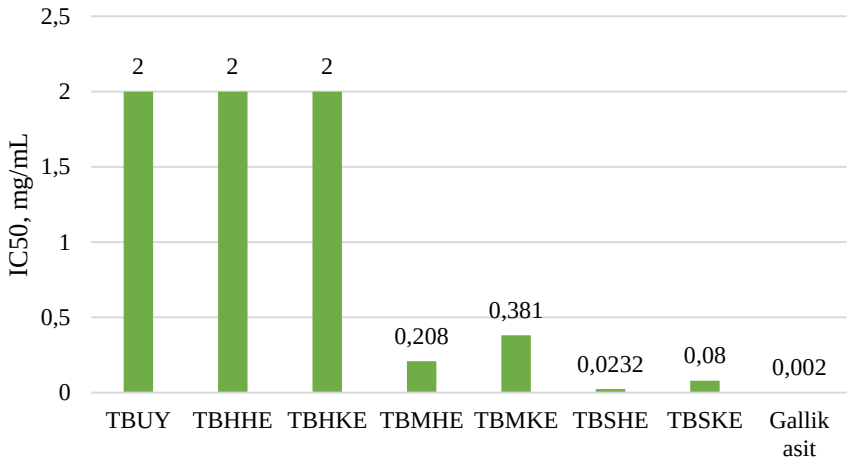
5.2.1. Antioksidan aktivite potansiyeli

T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerinin ABTS radikali üzerinden radikal süpürücü etkisi troloksa eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Yapılan test sonucuna göre uçucu yağ ve hegzanlı ekstreler ABTS serbest radikallerine karşı belirtilen deney şartlarında inaktif olarak saptanmıştır. Polar ekstreler ise önemli derecede aktivite göstermektedirler (Şekil 5.8).



Şekil 5.8. *T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerinin troloksa eşdeğer antioksidan kapasite değerleri*

T. baseri uçucu yağ ve ektrelerinin DPPH radikali üzerinden radikal süpürücü etkileri spektrofotometrik yöntemle araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucuna göre uçucu yağ ve hegzanlı ekstrelerin %50'den düşük bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Polar ekstrelerin ise önemli derecede aktivite gösterdiği gözlenmiştir (Şekil 5.9).

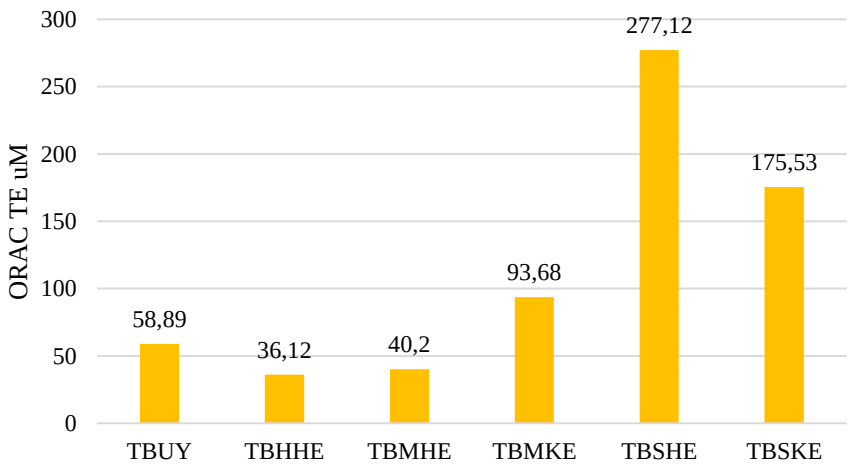


Şekil 5.9. *T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerin DPPH serbest radikalini süpürme etkileri*

Literatürde, *T. cariensis* ve *T. cilicicus* türlerinin farklı polaritedeki çözücülerle elde edilen ekstrelerin DPPH radikali üzerinde inhibisyon etkileri rapor edilmiştir. Hekzan ekstreleri IC_{50} değeri hesaplanamayacak kadar zayıf bulunmuştur (>200 µg/mL). Metanollü ekstrelerin IC_{50} değerleri; *T. cariensis* için 17,90 µg/mL, *T. cilicicus* için 24,51 µg/mL olarak saptanmıştır. Metanollü ekstrelerin antioksidan aktivitesinin daha yüksek olması rozmarinik asit içeriğine bağlanmıştır [125]. *T. sipyleus* toprak üstü kısımlarından farklı yöntemlerle ekstreler hazırlanmıştır. Antioksidan aktivite DPPH testi ile ölçülmüştür. Apolar çözücülerle elde edilen ekstrelerde IC_{50} değeri hesaplanamayacak kadar zayıf etki görülmüştür. En güçlü aktivite su ile hazırlanan ekstrede (IC_{50}= 43,5 µg/g) gözlenmiştir [126]. *T. vulgaris'in* uçucu yağının oksijenli fenolik bileşikleri (timol/karvakrol) DPPH nötralize etmede en etkili bileşikler olarak tespit edilmiştir. Ultrasonik banyoda hazırlanmış diklorometanlı ekstreler, uçucu yağa yakın oranlarda uçucular içeriyordu, ancak çok düşük antioksidan aktivite göstermiştir [127]. *T. caramanicus* Jalas DPPH testinde en yüksek radikal-süpürücü aktivitesi, butillenmiş hidroksitoluenden (BHT, IC_{50} = 19.7 µg/ml) daha yüksek olan metanollü ekstrenin (IC_{50} = 43.0 µg/mL) polar alt fraksiyonu göstermiştir [128].*T. daenensis* Celac (Iran) ham ekstresi DPPH serbest radikali süpürme /antioksidan potansiyeli IC_{50} = 194 ± 0.02 µg/ml olarak saptanmıştır [129]. *T. spathulifolius'un* metanol ekstresinin polar alt fraksiyonu, DPPH stabil serbest radikalinin etkisini, sentetik antioksidan BHT' ye göre (19.8 ± 0.5 µg/ml) daha etkili bir IC_{50} ile azaltabilmiştir (16.15 ± 0.5 µg/mL) [130].

T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerinin ORAC deneyinde peroksit radikallerinin fluoresein üzerindeki floresan özelliği söndürmesi spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda uçucu yağ ve hegzanlı ekstreler zayıf aktivite gösterirken polar ekstreler daha yüksek antioksidan etkiye sahiptir (Şekil 5.10).

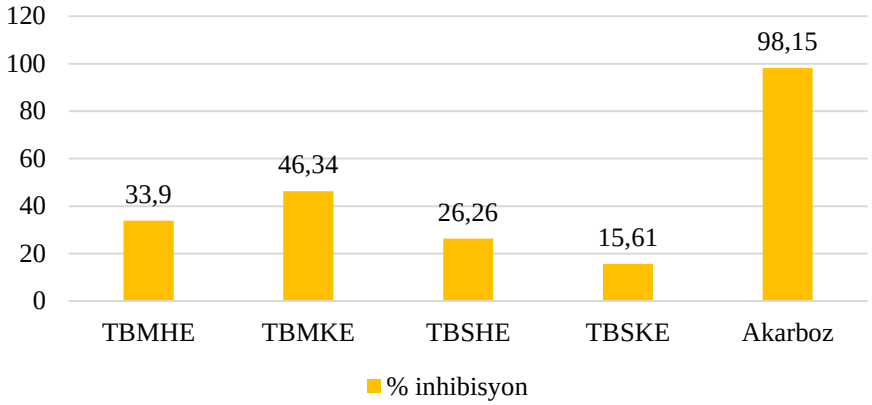
T. praecox spp. *arcticus*' un toprak üstü kısımlarından hazırlanan su ekstresinde antioksidan aktivite tayini ORAC yöntemi kullanarak hesaplanmıştır. Antioksidan aktivite değeri 13,40 TE µmol/g ekstre olarak hesaplanmıştır[119].



Şekil 5.10. *T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerinin troloksa eşdeğer ORAC değerleri*

5.2.2. Antidiyabetik potansiyel

T. baseri uçucu yağ ve ekstrelerinin antidiyabetik aktivitesi α-amilaz enzimini inhibe etme potansiyeli ile *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Spektrofotometrik yöntemle analizi gerçekleştirilmiştir. Numunelerin α-amilaz üzerindeki inhibitör etkinliği standart madde olan akarboz ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Uçucu yağ ve hegzanlı numuneler inaktif olarak değerlendirilmiştir. Test edilen numunelerin arasında metanollü kök ekstresinin en yüksek (%46,34) aktiviteyi gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak, standart madde ile karşılaştırıldığında güçlü bir etkinlik oluşturmadığı gözlenmiştir (Şekil 5.11).



Şekil 5.11. *T. baseri* uçucu yağ ve ektrelerinin α-amilaz enzimini inhibe etme etkileri

T. schimperi toprak üstü kısımlarından elde edilen metenol ekstresi 500 mg/kg dozda farelere uygulanmıştır. Üç haftalık uygulama boyunca haftalık olarak açlık kan şekeri ölçümü yapılmıştır. Bu uygulama sonucunda metanol ekstresi grubunda kan şekeri seviyesinde %27,7'lik bir düşüş tespit edilmiştir. Standart olarak glibenklamid kullanılmıştır. Standart madde uygulaması sonucunda açlık kan şekeri seviyesinde %46,1'lik bir azalma gözlenmiştir [131]. Bu çalışma *T. schimperi* metanol ekstresinin diyabet tedavisinde destekleyici bir ajan olma potansiyeli taşıdığını göstermiştir.

T. fedtschenkoi toprak üstü kısımlarından farklı çözücüler kullanılarak fraksiyonlama yapılmıştır. Ekstrelerin α-glukozidaz enzimi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. 500 µg/mL konsantrasyonda ekstreler için etkinlik IC50 değeri ölçülemeyecek kadar zayıftır. Ancak ekstrelerde bulunan romarinik asit billeşiği için IC50 değeri 43,38 µM olarak ölçülmüştür [132].

5.3. HPTLC- Biyootografik Çalışmalar

Çalışma kapsamında *T. baseri* bitkisinin farklı polaritedeki çözücülerle hazırlanan ekstreler ve uçucu yağdaki bileşenlerin hem ayrımı hem de antioksidan aktivitesini gözlemleyebilmek için HPTLC uygulaması yapılmıştır.

Uçucu yağ ve hegzanlı ekstreler için; borneol, linalool ve karvakrol standart madde olarak kullanılmıştır.

Polar ekstreler için ise; klorojenik asit, rosmarinik asit, 3,4 DHBA, kafeik asit, ferulik asit, hiperozit, rutin, trans sinnamik asit, vanilik asit standart olarak kullanılmıştır.

Antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin tespiti için de belirteç olarak DPPH reaktifi uygulanmıştır. Uçucu yağ ve hekzanlı ekstrelerin antioksidan aktivitesinden linalool ve borneol bileşiklerinin sorumlu olduğu görülmüştür. Polar ekstreler için ise; klorojenik asit, rutin, hiperozit, rozmarinik asit, ferulik asit ve kafeik asit bileşikleri antioksidan aktiviteden sorumlu bileşikler olduğu gözlemlenmiştir.

Farklı polifenolik bileşiklerin karışımları, ekstrelerde olduğu gibi, her türdeki flavonoidler ve fenolik asitler arasındaki denge, nihayi antioksidan aktiviteyi önemli derecede etkileyebilir. Yapılmış yayınlarda, fenolik asitler ve flavonoidler farklı antioksidan kapasiteler sergilemiştir. Fenolik asitler flavonoidlere kıyasla daha güçlü radikal temizleyici olarak tanıtılmıştır.

6. SONUÇ

- Proje kapsamında Eskişehir civarında yetişen *Thymus* baseri bitkisi üzerinde ilk kez biyolojik aktivite ve fitokimyasal araştırmalar gerçekleştirilmiştir.
- Farklı polaritede çözücüler ile ekstraksiyon sonucunda en yüksek verimin topraküstü kısmı sulu ekstresinde (%57,61) olduğu gözlenmiştir.
- *T. baseri* toprak üstü kısmından hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri olarak; (-)-linalool (%34,4), mirsen (%12,9) ve ß-karyofilen (%8,2) tespit edilmiştir.
- *T. baseri* toprak üstü kısımlarından elde edilen sabit yağ bileşiminde majör bileşik olarak nonadekanoik asit (%44,6), palmitik asit (%18,1) ve linolenik asit (%16,4) saptanmıştır.
- Uçucu yağ ve farklı polariteli ekstrelerin troloksa eşdeğer antioksidan kapasite değerleri kıyaslandığında en güçlü etkiyi sulu kök ektresi göstermiştir.
- DPPH serbest radikal süpürücü aktivite testinde analiz sonucuna göre uçucu yağ ve hegzanlı ekstreler %50'den düşük bir aktivite göstermiştir. En yüksek inhibisyon etkisi metanollü topraküstü kısımdan elde edilen ekstrede bulunmuştur.
- ORAC test sonuçlarına göre en yüksek aktivitenin sulu toprak üstü kısmından elde edilen ekstrede olduğu gözlenmiştir.
- En yüksek fenol miktarına sahip ekstre sulu kök ekstresi (495,86 mg/g_{ekstre}), en yüksek flavonoid içeriğine sahip ekstre sulu herba ekstresidir (91.805 mg/g_{ekstre}).
- *T. baseri* uçucu yağ ve ekstrelerinin α-amilaz enzimi üzerinde zayıf-orta etkili (%15,61-46,34) inhibisyon potansiyeli olduğu bulunmuştur.
- *T. baseri* bitkisinin HPLC-DAD kullanılarak yapılan fenolik asit miktar tayininde metanol ve su ekstresinde rosmarinik asit en yüksek oranda bulunan fenolik asit olarak bulunmuştur.
- *T. baseri* bitkisinin türevlendirilmiş ekstrelerinde GC-MS kullanılarak yapılan tayinde oleanolik asit ve ursolik asit yüksek oranda bulunan triterpenik bileşikler olarak tespit edilmiştir.

KAYNAKÇA

[1] Petrovska, B. (2012). Historical review of medicinal plants′ usage. *Pharmacog. Rev*., 6 (11), 1.

[2] Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol. Aspects Med.*, 27 (1), 1–93.

[3] Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., and Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Sci.*, 161 (5), 839–851.

[4] Hadacek, F. (2002). Secondary metabolites as plant traits: Current assessment and future perspectives. *Crit. Rev. Plant Sci*., 21 (4), 273–322.

[5] Ozturk, D., Yaylaci, O.K., Koyuncu, O., Sezer, O., Ozgisi, K., and Ocak, A. (2022). A new species of *Thymus* (Lamiaceae) from central Anatolia (Turkey). *Pak. J. Bot,*. 54 (2), 453-459.

[6] Stahl-Biskup, E. and Sáez, F., Eds. (2002) in: Thyme genus *Thymus*, Taylor and Francis, London ; New York pp. 45–74.

[7] Jarić, S., Mitrović, M., and Pavlović, P. (2015). Review of ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological study of *Thymus serpyllum* L. *Evid. Based Compl. Altern. Med.*, 2015, 1–10.

[8] Majti, R.K. and Singh, V.P (2019). A review on research advances in ethnobotany and pharmacognosy of some medicinal plants. *Farm. & Manag.*, 4 (1), 45–52.

[9] Commission, E.P (1980). European pharmacopoeia. 8th ed. Maisonneuve.

[10] Patil, S.M., Ramu, R., Shirahatti, P.S., Shivamallu, C., and Amachawadi, R.G. (2021). A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological aspects of *Thymus vulgaris* Linn. *Heliyon*, 7 (5), 1–22.

[11] Azaz, A.D., Irtem, H.A., Kurkcuoğlu, M., Can Baser, K.H. (2004) Composition and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of some *Thymus* species. *Z. Naturforschung C. J.*, 59 (1–2), 75–80.

[12] Davis P.H (1982) Flora of Turkey and East Aegean Islands. in: Lamiaceae, University of Edinburgh Press, Edinburgh. Vol.7, 36–463.

[13] Özgen, U. ve Şener, S. Ö., *Thymus vulgaris*, *T.serpyllum*, *T. zygis*. in: FFD Monogafları bitkiler ve etkileri, Akademisyen Kitabevi, 3rd ed. pp. 1029–1042.

[14] Altundag, E. ve Ozturk, M. (2011) Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia Soc.*, 19, 756–777.

[15] Cakilcioglu, U., Khatun, S., Turkoglu, I., Hayta, S. (2011) Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazig-Turkey). *J. Ethnopharmacol.,* 137 (1), 469–486.

[16] Koyuncu, O., Öztürk, D., Potoğlu Erkan, İ., Savaroğlu ,F., Akcoşkun, Ö., and Ardıç, M. (2010) Risk categories and ethnobotanical features of the Lamiaceae taxa growing naturally in Osmaneli (Bilecik/Turkey) and environs. *Biodivers. Conserv.,* 3 (3), 31–45.

[17] Özdemir, E. and Alpınar, K. (2015) An ethnobotanical survey of medicinal plants in western part of central Taurus Mountains: Aladaglar (Nigde – Turkey). *J. Ethnopharmacol.,* 166, 53–65.

[18] Saraç, Diren Uycan, Özkan, Zafer Cemal, and Akbulut, Sefa (2013) Ethnobotanic features of Rize/Turkey province. *Biodivers. Conserv.,* 6 (3), 57–66.

[19] Ecevit Genç, G. and Özhatay, N. (2006) An ethnobotanical study in Çatalca (European Part of İstanbul). *Turk J. Pharm. Sci*., 3 (2), 73–89.

[20] Demirci, S. and Özhatay, N. (2012) An ethnobotanıcal study ın Kahramanmaraş (Turkey); wıld plants used for medıcınal purpose ın Andırın, Kahramanmaraş. *Turk J. Pharm. Sci*., 9 (1), 75–92.

[21] Fakir, H., Korkmaz, M., and Icel, B. (2016) Medicinal plants traditionally used for pain alleviation in Antalya province, turkey. *Stud. Ethno-Med.,* 10 (3), 314–324.

[22] El Bouzidi, L., Jamali, C.A., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D., Abbad, A., (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan *Thymus* species. *Ind. Crops Prod.,* 43 450–456.

[23] Casiglia, S., Bruno, M., Scandolera, E., Senatore, F., and Senatore, F. (2019). Influence of harvesting time on composition of the essential oil of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. & Link. growing wild in northern Sicily and its activity on microorganisms affecting historical art crafts. *Arab. J. Chem.,* 12 (8), 2704–2712.

[24] Scherrer, A.M., Motti, R., and Weckerle, C.S. (2005). Traditional plant use in the areas of Monte Vesole and Ascea, Cilento National Park (Campania, Southern Italy). *J. Ethnopharmacol.,* 97 (1), 129–143.

[25] Cornara, L., La Rocca, A., Marsili, S., and Mariotti, M.G. (2009). Traditional uses of plants in the Eastern Riviera (Liguria, Italy). *J. Ethnopharmacol.*, 125 (1), 16–30.

[26] Gilca, M., Tiplica, G.S., and Salavastru, C.M. (2018). Traditional and ethnobotanical dermatology practices in Romania and other Eastern European countries. *Clin. Dermatol.,* 36 (3), 338–352.

[27] Alarcón, R., Pardo-de-Santayana, M., Priestley, C., Morales, R., and Heinrich, M. (2015). Medicinal and local food plants in the south of Alava (Basque Country, Spain). *J. Ethnopharmacol.*, 176, 207–224.

[28] Al-Fatimi, M., Wurster, M., Schröder, G., and Lindequist, U. (2010). In vitro antimicrobial, cytotoxic and radical scavenging activities and chemical constituents of the endemic *Thymus laevigatus* (Vahl). *Rec. Nat. Prod.*, 4 (1), 49–63.

[29] Rota, M.C., Herrera, A., Martínez, R.M., Sotomayor, J.A., and Jordán, M.J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, Thymus zygis and Thymus hyemalis essential oils. *Food Control*, 19 (7), 681–687.

[30] Rodrigues, M., Lopes, A.C., Vaz, F., Filipe, M., Alves, G., Ribeiro, M.P., Countinho, P., Araujo, A. R. T., (2020). *Thymus mastichina*: Composition and biological properties with a focus on antimicrobial activity. *Pharm.*, 13, 1–26.

[31] Kaewprom, K., Chen, Y.-H., Lin, C.-F., Chiou, M.-T., and Lin, C.-N. (2017). Antiviral activity of *Thymus vulgaris* and *Nepeta cataria* hydrosols against porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Thai J. Vet. Med.,* 47 (1), 25–33.

[32] Petrović, S., Ušjak, L., Milenković, M., Arsenijević, J., Drobac, M., Drndarević, A., Niketic, M., (2017). *Thymus dacicus* as a new source of antioxidant and antimicrobial metabolites. *J. Funct. Foods.,* 28, 114–121.

[33] Zengin, G., Atasagun, B., Zakariyyah Aumeeruddy, M., Saleem, H., Mollica, A., Babak Bahadori, M., Mahomoodally, M. F., (2019) Phenolic profiling and in vitro biological properties of two Lamiaceae species (*Salvia modesta* and *Thymus argaeus*): A comprehensive evaluation. *Ind. Crops and Prod.*, 128, 308–314.

[34] Mihailovic-Stanojevic, N., Belščak-Cvitanović, A., Grujić-Milanović, J., Ivanov, M., Jovović, Dj., Bugarski, D., Miloradović, Z. (2013). Antioxidant and

antihypertensive activity of extract from *Thymus serpyllum* L. in experimental hypertension. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 68 (3), 235–240.

[35] Li, X., He, T., Wang, X., Shen, M., Yan, X., Fan, S., Wang, L., Wang, X., Xu, X., Sui, H., She, G., (2019). Traditional uses, chemical constituents and biological activities of plants from the genus *Thymus*. *Chem. Bio.*, 16 (9), 1–33.

[36] Martins-Gomes, C., Taghouti, M., Schäfer, J., Bunzel, M., Silva, A.M., and Nunes, F.M. (2018). Chemical characterization and bioactive properties of decoctions and hydroethanolic extracts of *Thymus carnosus* Boiss. *J. Funct.* Foods, 43, 154–164.

[37] Shaban, N.S., Tohamy, El-Banna, H. A., Abeer, M. R., El-Gendy, A. A., Asmaa, O. (2015). Phytochemical and pharmacological studies of ethanolic extract of *Thymus vulgarıs*. *World J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 4 (10), 1988–2001.

[38] Martins-Gomes, C., Souto, E.B., Cosme, F., Nunes, F.M., and Silva, A.M. (2019). *Thymus carnosus* extracts induce anti-proliferative activity in Caco-2 cells through mechanisms that involve cell cycle arrest and apoptosis. *J. Funct*. Foods, 54, 128–135.

[39] Cam, M.E., Hazar-Yavuz, A.N., Yildiz, S., Ertas, B., Ayaz Adakul, B., Taskin, T., Alan, S., Kabasakal, L., (2019) The methanolic extract of *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii* restores glucose homeostasis, ameliorates insulin resistance and improves pancreatic β-cell function on streptozotocin/nicotinamide-induced type 2 diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, 231, 29–38.

[40] Hyun, T.K., Kim, H.-C., and Kim, J.-S. (2014). Antioxidant and antidiabetic activity of *Thymus quinquecostatus* Celak. *Ind. Crops Prod.*, 52, 611–616.

[41] Noh, Y.-H., Cheon, S., Kim, I.H., Lee, S., Yin, X., Jeong, J., Lee, S., Yin, X., Jeong, J., Lee, H., Ahn, J. H., Han, S. S., Bae, Y., Jung, Y., Lee, W., (2019). The effects of MS-10 dietary supplement, mixture of Korean thistle and thyme extracts, on bone health, and symptoms in menopausal women. *J. Funct. Foods*, 52, 680–689.

[42] Jaradat, N., Adwan, L., K'aibni, S., Shraim, N., and Zaid, A.N. (2016). Chemical composition, anthelmintic, antibacterial and antioxidant effects of *Thymus bovei* essential oil. *Evid. Based Comp. Altern. Med.*, 16 (1), 418.

[43] Skalicka-Woźniak, K., Walasek, M., Aljarba, T.M., Stapleton, P., Gibbons, S., Xiao, J., Luszxzki, J. J., (2018). The anticonvulsant and anti-plasmid conjugation potential of *Thymus vulgaris* chemistry: An in vivo murine and in vitro study. *Food Chem. Tox*., 120, 472–478.

[44] Hajar, S., Roshanak, S., Moghadamnia, A. A., Bijani, A., Faramarzi, M., Amiri, F. N., Bakouei, F., Behmanesh, F., Bekhradi, R., (2014). Comparative effect of *Thymus vulgaris* and ibuprofen on primary dysmenorrhea: A triple-blind clinical study. *Caspian J. Intern. Med*., 5 (2), 82–88.

[45] Van Den Broucke, C.O., Dommisse, R.A., Esmans, E.L., and Lemli, J.A. (1982). Three methylated flavones from *Thymus vulgaris*. *Phytochem.*, 21 (10), 2581–2583.

[46] Varga, E., Bardocz, A., Belák, Á., Maráz, A., Felinger, A., Böszörményi, A., Györgyi, H., (2015). Antımicrobial activity and chemıcal composıtıon of thyme essentıal oils and the polyphenolıc content of different *Thymus* extracts. *Farm.*, 63 (3), 357–361.

[47] Chen, J., Li, Z., Chen, A., Ye, X., Luo, H., Rankin, G., Chen, Y., (2013). Inhibitory effect of baicalin and baicalein on ovarian cancer cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 14 (3), 6012–6025.

[48] El-Newary, S.A., Shaffie, N.M., and Omer, E.A. (2017). The protection of *Thymus vulgaris* leaves alcoholic extract against hepatotoxicity of alcohol in rats. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, 10 (4), 361–371.

[49] Miura, K., Kikuzaki, H., and Nakatani, N. (2002) Antioxidant Activity of Chemical Components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. *J. Agric. Food Chem.*, 50 (7), 1845–1851.

[50] Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Silva, S., Henriques, M., and Ferreira, I.C.F.R. (2015). Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of cultivated thyme: Antioxidant and antibacterial activities, and phenolic characterisation. *Food Chem.*, 167, 131–137.

[51] R. Pereira, O. and M. Cardoso, S. (2013). Overview on *Mentha* and *Thymus* polyphenols. *Curr. Anal. Chem.*, 9 (3), 382–396.

[52] Georgiou, D., Djeddi, S., and Skaltsa, H. (2015). Secondary metabolites from *Thymus numidicus* Poiret. *Biochem. Syst. Ecol.*, 59, 104–106.

[53] Roby, M.H.H., Sarhan, M.A., Selim, K.A.-H., and 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. *Ind. Crops Prod.*, 43, 827–831.

[54] Lee, I.-C., Bae, J.-S., Kim, T., Kwon, O.J., and Kim, T.H. (2011). Polyphenolic constituents from the aerial parts of *Thymus quinquecostatus* var. *japonica* collected on ulleung island. *J Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 54 (5), 811–816.

[55] Sobeh, M., Rezq, S., Cheurfa, M., Abdelfattah, M.A.O., Rashied, R.M.H., El-Shazly, A.M., Yasri, A., Wink, M., Mahmoud, M. F., (2020). *Thymus algeriensis* and *Thymus fontanesii*: Chemical composition, in vivo antiinflammatory, pain killing and antipyretic activities: A comprehensive comparison. *Biomolecules*, 10 (4), 599.

[56] Jordán, M.J., Martínez, R.M., Martínez, C., Moñino, I., and Sotomayor, J.A. (2009). Polyphenolic extract and essential oil quality of *Thymus zygis* ssp. *gracilis* shrubs cultivated under different watering levels. *Ind. Crops Prod.*, 29 (1), 145–153.

[57] Cristina Figueiredo, A., Miguel, M.G., Duarte, A.M.F., Barroso, J.G., and Pedro, L.G. (2001). Essential oil composition of *Thymus lotocephallus* G. López & R. Morales, collected during flowering and vegetative phases: Essentıal oil of *Thymus lotocephallus*. *Flavour Fragr. J.*, 16 (6), 417–421.

[58] Miguel, M.G., Duarte, J., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., and Pedro, L.G. (2005). *Thymus carnosus* Boiss.: Effect of harvesting period, collection site and type of plant material on essential oil composition. *J. Essent. Oil Res.*, 17 (4), 422–426.

[59] Asdadi, A., Alilou, H., Akssira, M., Hassani, L.M.I., Chebli, B., Moutaj, R., Gonz, C., Zohr, I., (2014). Chemical composition and anticandidal effect of three *Thymus* species essential oils from Southwest of Morocco against the emerging nosocomial fluconazole-resistant strains. *J. Biol.*, 4, 16–26.

[60] Raudone, L., Zymone, K., Raudonis, R., Vainoriene, R., Motiekaityte, V., and Janulis, V. (2017). Phenological changes in triterpenic and phenolic composition of *Thymus* L. species. *Ind. Crops Prod.*, 109, 445–451.

[61] Gedara, S. R. (2008). Terpenoid content of the leaves of *Thymus algeriensis* Boiss. *Mansoura J. Pharm.*, 24, 133–143.

[62] Jiménez-Arellanes, A., Martinez, R., García, R., León-Díaz, R., Luna-Herrera, J., Molina-Salinas, G, Said-Fernandez, S., (2006). *Thymus vulgaris* as a potencial source of antituberculous compounds. *Pharmacologyonline,* 3, 569–574.

[63] GuillCn, M.D. and Manzanos, M.J. (1998). Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus vulgaris* L. plant. *Food Chem.,* 63, 373–383.

[64] Shabnum, S. and Wagay, M.G. (2011). Essential oil composition of *Thymus vulgaris* L. and their uses. *J. Res. Dev.,* 11, 83–94.

[65] Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., and Chelghoum, C. (2006). Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of T*hymus algeriensis* Boiss. *Int. J. Aromather.,* 16 (2), 95–100.

[66] Amiri, H. (2012). Essential oils composition and antioxidant properties of three *Thymus* species. *Evid. Based Compl. Altern. Med.,* 1–8.

[67] Radi, F. Z., Bouhrim, M., Mechchate, H., Al-zahrani, M., Qurtam, A. A., Aleissa, A. M., Drioiche, N., Handaq, N., Zair, T., (2021). Phytochemical analysis, antimicrobial and antioxidant properties of *Thymus zygis* L. and *Thymus willdenowii* Boiss. essential oils. *Plants,* 11 (1), 15.

[68] Tohidi, B., Rahimmalek, M., and Arzani, A. (2017). Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. *Food Chem.,* 220, 153–161.

[69] Stahl-Biskup, E. (1991). The Chemical composition of *Thymus* oils: A review of the literature 1960–1989. *J. Essent. Oil Res.,* 3 (2), 61–82.

[70] Burton, G.J. and Jauniaux, E. (2011). Oxidative stress. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.,* 25 (3), 287–299.

[71] Francenia Santos-Sánchez, N., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., and Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. in: E. Shalaby (Ed.), *Antioxidants,* IntechOpen, pp. 1–28.

[72] Namiki, M. (1990.) Antioxidants/antimutagens in food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.,* 29 (4), 273–300.

[73] Büyüktuncel, E., (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharm. J.,* 17, 93–103.

[74] Zulueta, A., Esteve, M.J., and Frígola, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chem.,* 114 (1), 310–316.

[75] Arts, M.J.T.J., Sebastiaan Dallinga, J., Voss, H.-P., Haenen, G.R.M.M., and Bast, A. (2004). A new approach to assess the total antioxidant capacity using the TEAC assay. *Food Chem.,* 88 (4), 567–570.

[76] Okan, O.T., Varlibaş, H., Öz, M., and Deniz, İ. (2013). Antioksidan analiz yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilecek odun dışı bazı bitkisel ürünler. *Kastamonu Üniv., Orman Fak. Derg.,* 13, 48–59.

[77] Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S., Bektaşoğlu, B., Berker, K., Özyurt, D., (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12 (7), 1496–1547.

[78] Chauhan, A., Sharma, P.K., Srivastava, P., Kumar, N., and Dudhe, R. (2010). Plants having potential antidiabetic activity: A review. *Der Pharm. Lett.,* 2 (3), 369–387.

[79] R. Kokil, G., V. Rewatkar, P., Verma, A., Thareja, S., and R. Naik, S. (2010). Pharmacology and chemistry of diabetes mellitus and antidiabetic drugs: A critical review. *Curr. Med. Chem.,* 17 (35), 4405–4423.

[80] Tiwari, S., Srivastava, R., Singh, C., Shukla, K., Singh, R., Singh, P., Sharma, R., (2015). Amylases: An overview with special reference to alpha amylase. *J. Glob. Biosci.,* 4 (1), 1886–1901.

[81] Sundarram, A. and Murthy, T.P.K. (2014) α-Amylase production and applications: A Review. *J. App. Environ. Microbiol.,* 2 (4), 166–175.

[82] Engeda, D., Geremew, B., Gulelat, D.H., and Rupasinghe, H. P.V., (2015). Antioxidant and alpha-amylase inhibition activities in vitro of various solvent extracts of *Thymus schimperi* Ronniger. *J. Med. Plants. Res.,* 9 (15), 515–524.

[83] Aljarah, A.K. and Hameed, I.H. (2018). In Vitro anti-diabetic properties of methanolic extract of *Thymus vulgaris* using α-glucosidase and α-amylase inhibition assay and determination of its bioactive chemical compounds. *Ind. J. Pub. Health Res. Develop.,* 9 (3), 388–392.

[84] Mushtaq, M.N., Bashir, S., Ullah, I., Karim, S., Rashid, M., and Malik, M.N.H. (2016). Comparative hypoglycemic activity of different fractions of *Thymus serpyllum* L. in alloxan induced diabetic rabbits. *Pak. J. Pharm. Sci.,* 29, 1483–1488.

[85] Shewasinad, A., Bhoumik, D., Hishe, H.Z., and Masresha, B. (2019). Antidiabetic activity of methanol extract and fractions of *Thymus schimperi* Ronniger leaves in normal and streptozotocin induce dabetic mice. *Ir. J Pharmacol Ther.*, 16, (1–8).

[86] Özbek, H., Özturk, M., and Özgöce, F. (2009). Investigation on median lethal dose (LD50) and hypoglycemic effect of *Thymus fallax* F. leaves essential oil. in: Phytopharm. Ther. Values V, Studium Press LLC, pp. 255–261.

[87] Haile, T., Cardoso, S.M., De Oliveira Raphaelli, C., Pereira, O.R., Pereira, E.D.S., Vizzotto, M., Nora, L., Asfaw, A. A., Periasamy, G., Karim, A., (2021). Chemical composition, antioxidant potential, and blood glucose lowering effect of aqueous extract and essential oil of *Thymus Serrulatus* Hochst. Ex Benth. *Front. Pharmacol.*, 12, 1-14.

[88] Taleb, A.M., Qannadi, F., Changizi-Ashtiyani, S., Zarei, A., Rezvanfar, M.R., Akbari, A., Hekmatpou, D., (2017). The effect of aqueous extract T*hymus kotschyanus* Boiss. et Hohen on glycemic control and dyslipidemia associated with type II diabetes: a randomized controlled trial. *Ir. J. End. Met.*, 19 (4), 234–243.

[89] Möller, R., Nürnberg, G., Albrecht, E., Ruth, W., Brockmann, G.A., and Dannenberger, D. (2019). A method for analyzing fatty acids in cattle hair, with special emphasis on lauric acid and myristic acid. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 121 (11), 1–7.

[90] Özek, G., Özek, T., Işcan, G., Başer, K.H.C., Hamzaoglu, E., and Duran, A. (2007). Comparison of hydrodistillation and microdistillation methods for the analysis of fruit volatiles of *Prangos pabularia* Lindl., and evaluation of its antimicrobial activity. *S. Afr. J. Bot.*, 73 (4), 563–569.

[91] König, W. A., Hochmuth, D. H., and Joulain, D. (2001). Terpenoids and related constituents of essential oils, Library of MassFinder 2.1.

[92] Adams, R.P., (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry: Allured publishing corporation Carol Stream, IL.

[93] Baser, K.H.C., Demirci, F. (2007). Chemistry of Essential Oils, in: Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability, ed. Berger, R.G., Springer Science & Business Media, pp.43-87.

[94] Razboršek, M.I., Vončina, D.B., Doleček, V., and Vončina, E. (2008). Determination of oleanolic, betulinic and ursolic acid in Lamiaceae and mass spectral fragmentation of their trimethylsilylated derivatives. *Chrom.*, 67 (5), 433–440.

[95] Öztürk, N., Tunçel, M., and Tunçel, N.B. (2007). Determination of phenolic acids by a modified HPLC: Its application to various plant materials. *J. Liq. Chromatogr.*, 30 (4), 587–596.

[96] Singleton, V.L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.*, 299, 152–178.

[97] Shraim, A.M., Ahmed, T.A., Rahman, M.M., and Hijji, Y.M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: a critical evaluation. *LWT- Food Sci. Techn.*, 150, 1–11.

[98] Štefan, M.B., Vuković Rodríguez, J., Blažeković, B., Kindl, M., and Vladimir-Knežević, S. (2014). Total hydroxycinnamic acids assay: Prevalidation and application on Lamiaceae species. *Food Anal. Methods*, 7 (2), 326–336.

[99] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 26 (9–10), 1231–1237.

[100] Xiao, F., Xu, T., Lu, B., and Liu, R. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Front.*, 1 (1), 60–69.

[101] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Tech.*, 28 (1), 25–30.

[102] Dudonné, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., and Mérillon, J.-M. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *J. Agric. Food Chem.*, 57 (5), 1768–1774.

[103] Afiukwa, C. A., Ibiam, U. A., Edeogu, C. O., Nweke, F. N.1, and Chukwu, U. E. (2009). Determination of amylase activity of crude extract from partially germinated mango seeds (*Mangifera oraphila*). *Afr. J. Biotechn.*, 8 (14), 3294–3296.

[104] Bagci, E. and Başer, K.H.C. (2005). Study of the essential oils of *Thymus haussknechtii* Velen and *Thymus kotschyanus* Boiss. et Hohen var.*kotschyanus*

(Lamiaceae) taxa from the eastern Anatolian region in Turkey. *Flavour Fragr. J.*, 20 (2), 199–202.

[105] Fachini-Queiroz, F.C., Kummer, R., Estevão-Silva, C.F., Carvalho, M.D. de B., Cunha, J.M., Grespan, R., Bersani-Ama, C., Cuman, R., K., (2012). Effects of thymol and carvacrol, constituents of T*hymus vulgaris* L. essential oil, on the inflammatory response. *Evid. Based Compl. Altern. Med.*, 2012, 1–10.

[106] Sefidkon, F., Askari, F., and Ghorbanli, M. (2002). Essential oil composition of *Thymus pubescens* Boiss. et Kotschy ex Celak from Iran. *J. Essent. Oil Res.*, 14 (2), 116–117.

[107] Sefidkon, F., Dabiri, M., and Mirmostafa, S.A. (2002). The essential oil of *Thymus persicus* (Ronniger ex Rech. f.) Jalas from Iran. *J. Essent. Oil Res.*, 14 (5), 351–352.

[108] Başer, K.H.C., Demirci, B., Kirimer, N., Satil, F., and Tümen, G. (2002). The essential oils of *Thymus migricus* and *T. fedtschenkoi* var. *handelii* From Turkey: essentıal oils of *Thymus migrcius* and *T. fedtschenkoi. Flavour Fragr. J.*, 17 (1), 41–45.

[109] Adzet, T., Cañigueral, S., Gabalda, N., Ibañez, C., Tomas, X., and Vila, R. (1991). Composition and variability of the essential oil of *Thymus willkomii*. *Phytochemistry*, 30 (7), 2289–2293.

[110] Keefover-Ring, K., Thompson, J.D., and Linhart, Y.B. (2009). Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction. *Flavour Fragr. J.*, 24 (3), 117–122.

[111] Tzakou, O., Verykokidou, E., Roussis, V., and Chinou, I. (1998). Chemical composition and antibacterial properties of *Thymus longicaulis* subsp. *chaoubardii* oils: Three chemotypes in the same population. *J. Essent. Oil Res.*, 10 (1), 97–99.

[112] Torras, J., Grau, M.D., López, J.F., and De Las Heras, F.X.C. (2007). Analysis of essential oils from chemotypes of *Thymus vulgaris* in Catalonia. *J. Sci. Food Agric.*, 87 (12), 2327–2333.

[113] Rustan, A.C. and Drevon, C.A. (2005). Fatty Acids: Structures and Properties. in: John Wiley & Sons, Ltd (Ed.), Encycl. LIFE Sci., 1st ed., Wiley, .

[114] Zaïri, A., Nouir, S., Zarrouk, A., Haddad, H., Khélifa, A., Achour, L., Tangy, F., Chaouachi, M., Trabelsi, M., (2019). Chemical composition, fatty acids profile

and biological properties of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns essential oil. *Sci Rep*., 9 (1), 1–8.

[115] Küçükaydın, S., Tel-Çayan, G., Duru, M.E., Kesdek, M., and Öztürk, M. (2021). Chemical composition and insecticidal activities of the essential oils and various extracts of two *Thymus* species: *Thymus cariensis* and *Thymus cilicicus*. *Toxin Rev.,* 40 (4), 1461–1471.

[116] Liu, J. (2005). Oleanolic acid and ursolic acid: research perspectives. *J. Ethnopharmacol.,* 100, 92–94.

[117] Yigitkan, S., Akdeniz, M., Yener, I., Seker, Z., Yilmaz, M.A., Firat, M., Kavak, D. E., Yılmaz Kose, P., Ertas, A., Kolak, U., Orhan, İ. E., (2022). Comprehensive study of chemical composition and biological activity of *Thymus pubescens* Boiss. et Kotschy ex Čelak. *S. Afr. J. Bot.,* 149, 425–434.

[118] Mirjalili, M.H., Ayyari, M., Bakhtiar, Z., Farimani, M.M., and Sonboli, A. (2016). Quantification of betulinic, oleanolic and ursolic acids as medicinally important triterpenoids in some *Thymus* species from Iran. *Res. J. Pharmacogn.,* 3 (1), 23–28.

[119] Zheng, W. and Wang, S.Y. (2001) Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.,* 49 (11), 5165–5170.

[120] Saibabu, V., Fatima, Z., Khan, L.A., and Hameed, S. (2015). Therapeutic Potential of dietary phenolic acids. *Adv. Pharmacol. Sci.,* 2015 1–10.

[121] Babotă, M., Frumuzachi, O., Nicolescu, A., Stojković, D., Soković, M., Rocchetti, G., Zhang, L., Lucini, L., Crişan, G., Mocan, A., Vostinaru, O. (2023). Phenolic profile, in vitro antimicrobial and in vivo diuretic effects of endemic wild thyme *Thymus comosus* Heuff ex. Griseb. (Lamiaceae) from Romania. *Front. Pharmacol.,* 14, 1–12.

[122] Benoutman, A., Erbiai, E.H., Edderdaki, F.Z., Cherif, E.K., Saidi, R., Lamrani, Z., Pintado, M., Pinto, E., Esteves da Silva, J.C.G., Maouni, A. (2022). Phytochemical composition, antioxidant and antifungal activity of *Thymus capitatus*, a medicinal plant collected from Northern Morocco. *Antibiotics*, 11 (5), 681.

[123] Maleš, I., Dragović-Uzelac, V., Jerković, I., Zorić, Z., Pedisić, S., Repajić, M., Garofulic, M., Dobrincic, A. (2022). Non-volatile and volatile bioactives of *Salvia officinalis* L., *Thymus serpyllum* L. and *Laurus nobilis* L. extracts with

potential use in the development of functional beverages. *Antioxidants*, 11 (6), 1–20.

[124] Charles, D.J. (2012). Antioxidant properties of spices, herbs and other sources. Springer Science & Business Media, New York, pp. 589.

[125] Küçükaydın, S., Çayan, F., Tel-Çayan, G., and Duru, M.E. (2021). HPLC-DAD phytochemical profiles of *Thymus cariensis* and *T. cilicicus* with antioxidant, cytotoxic, anticholinesterase, anti-urease, anti-tyrosinase, and antidiabetic activities. *S. Afr. J. Bot.*, 143, 155–163.

[126] Ustuner, O., Anlas, C., Bakirel, T., Ustun-Alkan, F., Diren Sigirci, B., Ak, S., Akpulat, H. A., Donmez, C., Koca Çalışkan, U., (2019). In vitro evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial and wound healing potential of *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. Rosulans (Borbas) Jalas. *Molecules*, 24 (18), 1–21.

[127] Chizzola, R., Michitsch, H., and Franz, C. (2008). Antioxidative properties of *Thymus vulgaris* leaves: Comparison of different extracts and essential oil chemotypes. *J. Agric. Food Chem.*, 56 (16), 6897–6904.

[128] Safaei-Ghomi, J., Ebrahimabadi, A.H., Djafari-Bidgoli, Z., and Batooli, H. (2009). GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its main constituent carvacrol. *Food Chem.*, 115 (4), 1524–1528.

[129] Sabahi, Z., Zarshenas, M.M., Farmani, F., Faridi, P., Moein, S., and Moein, M. (2013). Essential oil Composition and in vitro antioxidant activity of ethanolic extract of *Thymus daenensis* Celak from Iran. *Glob. J. Pharmacol.*, 7 (2), 153–158.

[130] Sokmen, A., Gulluce, M., Askin Akpulat, H., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sokmen, M., Sahin, F., (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Cont.*, 15 (8), 627–634.

[131] Melesie Taye, G., Bule, M., Alemayehu Gadisa, D., Teka, F., and Abula, T. (2020). In vivo antidiabetic activity evaluation of aqueous and 80% methanolic extracts of leaves of *Thymus schimperi* (Lamiaceae) in alloxan-induced diabetic mice. *Diabetes Metab. Syndr. Obes.*, 13, 3205–3212.

[132] Mohammadi-Liri, A., Parsa-Khankandi, H., Dehnoee, A., Mojtabavi, S., Faramarzi, M.A., and Delnavazi, M.-R. (2023). α-Glucosidase inhibitors from the

aerial part of *Thymus fedtschenkoi*: Isolation, kinetic and molecular docking study. *Chem. Pap.*, 77 (1), 571–581.

http-1: https://hortflora.rbg.vic.gov.au/taxon/ada1e62a-5340-11e7-b82b-005056b0018f, (Erişim tarihi: 22.05.2023)

http-2: https://www.alamy.com/stock-photo/thymus-vulgaris.html?blackwhite=1& sortBy = relevant, (Erişim tarihi: 22.05.2023)

http-3: https://sciencesolutions.wiley.com/solutions/technique/gc-ms/, (Erişim tarihi: 23.10.2022)

ÖZGEÇMİŞ

Adı- Soyadı	:	Dudu ALTINTAŞ
Yabancı Dil	:	İngilizce (B1)
Doğum Yeri ve Yılı	:	Isparta / 1998
E-Posta	:	duduaaltintas@gmail.com
ORCID ID	:	0000-0002-5133-2799

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- Yüksek Lisans: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı
- Lisans: 2021, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakltesi
- Lise: 2016, Ahmet Melih Doğan Anadolu Lisesi
- İlk ve Orta Öğretim: 2012 Selahattin Şeçkin İlköğretim Okulu
- 2022, Araştırma görevlisi, Düzce Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı

Yayınları ve Bilimsel Faaliyetleri:

- Altıntaş, D., Özek, G., Başer, K. H. C., Duran, A.,(2021), Poster sunumu, Phytochemical and Biological Activity Investigations on *Heptaptera triquetra*, 3. International Gazi Pharma Symposium Series
- Özek, G., Altıntaş, D., Başer, K. H. C., (2022), Poster sunumu, Bazı Apiaceae türleri üzerinde sabit yağ kimyasal kompozisyonu araştırılması, BİHAT 2022
- Altıntaş, D., Zarf Tokan, S., Koca Çalışkan, U., (2022), Helichrysum arenarium (L.) Moench'in Taksonomik, Biyolojik Aktivite ve Biyokimyasal Açıdan İncelenmesi, Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Fonksiyonel Kullanım Alanları, Ticareti ve Sürdürülebilirliği,119-149