

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ  
KOORDİNASYON BİRİMİ KOORDİNATÖRLÜĞÜNE

Proje Türü : Bağımsız Proje

Proje No : 20B0237002

Proje Yürütücüsü : Prof. Dr. Özlem Bahadır Acıkara

Proje Başlığı : Türkiye’de Yetişen Bazı *Heracleum* Türlerinin Antienflamatuvar Etkilerinin Değerlendirilmesi ve Antienflamatuvar Etkili Bileşiklerinin Araştırılması

Yukarıda bilgileri yazılı olan projemin sonuç raporunun e-kütüphanede yayınlanmasını;

İSTİYORUM

İSTEMİYORUM

GEREKÇESİ:

26/11/2021

Proje Yürütücüsü  
İmza

*O. Bahadır*

Prof. Dr. Özlem BAHADIR ACIKARA

1946

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**  
**BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ**  
**SONUÇ RAPORU**

Proje Başlığı

Türkiye’de Yetişen Bazı Heracleum Türlerinin Antienflamatuvar Etkilerinin Değerlendirilmesi ve Antienflamatuvar Etkili Bileşiklerinin Araştırılması

Proje Yürütücüsünün İsmi

Prof. Dr. Özlem Bahadır Acıkara

Araştırmacıların İsmi

Prof. Dr. Esra Küpeli Akkol

Ar. Gör. Ekin Kurtul

Proje Numarası

20B0237002

Bařlama Tarihi

06.01.2020

Bitiř Tarihi

06.01.2022

Rapor Tarihi

26.11.2021

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Ankara - " 2021 "

## 1. Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve Özetleri

### **Türkiye’de Yetişen Bazı *Heracleum* Türlerinin Antienflamatuvar Etkilerinin Değerlendirilmesi ve Antienflamatuvar Etkili Bileşiklerinin Araştırılması**

*Heracleum* cinsi Kuzey yarımkürede özellikle Avrasya'da yayılış gösteren Apiaceae familyasına ait en geniş cinslerden biridir. Bu cinse ait türler gıda, baharat gibi kullanımlarının yanı sıra halk arasında değişik amaçlarla kullanımı nedeniyle tıbbi bitki olarak da öneme sahiptirler. Çin Geleneksel Tıbbında ve yetiştiği bazı ülkelerde antienflamatuvar amaçla kullanımları kayıtlıdır. Ülkemizde ise ishal, dizanteri, güneş çarpması, infertilite, gastrointestinal rahatsızlıklar, hemoroit, astım, bronşit, romatizma, kanser, diyabet, yara, baş ağrısı gibi çeşitli amaçlarla kullanıldığı bilinmektedir. *Heracleum* cinsi kimyasal olarak incelendiğinde uçucu yağ, flavonoit, fenilpropanoit, iridoit, poliasetilen, yağ asitleri gibi pek çok farklı bileşik yanında Apiaceae familyası üyelerinin çoğunda olduğu gibi kumarinler açısından da oldukça zengin bir cinstir. Kumarinlerin de çok sayıda biyolojik aktivitesi yanında antienflamatuvar etki gösterdikleri çok sayıda bilimsel çalışma ile ortaya konmuştur. Bu proje ile halk arasında farklı kullanımları yanında antienflamatuvar amaçla ve romatizmal hastalıkların tedavisinde kullanılan, antienflamatuvar etkinlikleri bilinen kumarin türevleri açısından zengin *Heracleum* türlerinden ülkemizde yetişen biri endemik dört taksonun; *H. sphondylium* subsp. *ternatum* (Velen.), Brummit, *H. sphondylium* subsp. *montanum* (Schleich. Gaudin) Briquet, *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* (C.Koch) Davis, *H. paphlagonicum* Czeccott (endemik), antienflamatuvar aktiviteleri değerlendirilmiş, aktiviteden sorumlu bileşik/bileşikler tespit edilmiştir. Bitkilerin kök ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan diklorometan ve metanollü ekstrelerin antienflamatuvar aktiviteleri karagenin nedenli pençe ödemi, prostaglandin E2 (PGE2) nedenli pençe ödemi ve serotonin nedenli pençe ödemi modelleri kullanılarak değerlendirilmiştir. *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometan ve metanollü ekstreleri en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Biyolojik aktiviteyle yönlendirilmiş fraksiyonlama tekniği kullanılarak en yüksek aktivitenin gözlendiği ekstrelerden etkili bileşiklerin izolasyonu amacıyla her iki ekstre de ayrı ayrı kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmıştır. Fraksiyonların antienflamatuvar etkisi karagenin ve PGE2 nedenli pençe ödemi modelleri ile test edilmiştir. Ekstrelerin serotonin nedenli pençe ödemi modelinde anlamlı bir aktivite göstermemesi nedeniyle fraksiyonların aktivitelerinin değerlendirilmesinde bu model kullanılmamıştır. Fraksiyonlardan en yüksek aktivite gösterenler seçilerek semi-preparatif yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanılarak beş kumarin türevi izole edilmiştir. Bileşiklerin yapıları çeşitli spektroskopik yöntemler (NMR, MS) kullanılarak aydınlatılmış ve heraklenol-3''-O-β-glikozit, heraklenol, byakangelisin, byakangelisin-3''-O-β-glikozit ve meranzin hidrat III olarak tanımlanmıştır. İzole edilen bileşiklerin antienflamatuvar etkileri aynı test modelleri kullanılarak test edilmiş, heraklenol-3''-O-β-glikozit bileşiğinin her iki antienflamatuvar aktivite test modelinde de kontrol grubuna göre önemli ölçüde etkili olduğu, aynı zamanda bileşiğinin etkisinin ekstrenin etkisinden daha yüksek olduğu bulunmuştur.

### Evaluation of Antiinflammatory Activity of Some *Heracleum* Species Growing in Turkey and Investigation of Antiinflammatory Compounds

*Heracleum* is one of the widest genus belongs to Apiaceae family and distributed naturally in northern hemisphere and especially in Eurasia. This genus species have importance as medicinal plant due to their different utilization in folk medicines besides their usage as a spice and as a food. *Heracleum* species are recorded for their anti-inflammatory usage in Traditional Chinese Medicine and in some countries where they grow naturally. In Turkish folk medicine, they are used for diarrhea, dysentery, sunstroke, infertility, gastrointestinal disorders, hemorrhoid, asthma, bronchitis, rheumatism, cancer, diabetes, wound, headache. Earlier phytochemical studies have revealed that *Heracleum* genus contains essential oil, flavonoid, phenylpropanoid, iridoid, polyacetylene, fatty acid as well as coumarins, as in most of the Apiaceae family members. Many studies displayed the anti-inflammatory activity of coumarins besides their numerous biological activities. In this study, anti-inflammatory activities of four *Heracleum* taxa; *H. sphondylium* subsp. *ternatum* (Velen.), Brummit, *H. sphondylium* subsp. *montanum* (Schleicherex Gaudin) Briquet, *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* (C.Koch) Davis, *H. paphlagonicum* Czezcott (endemic) which were used for anti-inflammatory purposes and rheumatic disease in folk medicine and enriched in coumarin derivatives were evaluated for their anti-inflammatory activities and active compound (s) responsible for the activity were isolated. Antiinflammatory activities of dichloromethane and methanolic extracts of *Heracleum* species roots and aerial parts were evaluated by using carrageenan-induced paw edema, prostaglandin E2 (PGE2) induced paw edema, and serotonin-induced paw edema models. *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* roots, dichloromethane and methanolic extracts were determined as the most bioactive extracts. Bioactivity-guided fractionation was used to reveal responsible compounds for anti-inflammatory activity and active fractions were subjected to column chromatography separately. Antiinflammatory activities of fractions were tested with carrageenan and PGE2 induced paw edema test models. Serotonin induced paw edema model was not used for evaluation of fractions anti-inflammatory activity by the reason of results for extracts were not found to be remarkable. Five coumarin derivatives were isolated from the active fractions of extracts by using semi-preparative high performance liquid chromatography, subsequently. Structure elucidations of the compounds were carried out by spectroscopic methods (NMR, MS) and the compounds were identified as heraclenol, heraclenol-3''-O- $\beta$ -glucoside, byakangelicin, byakangelicin-3''-O- $\beta$ -glucoside ve meranzin hydrate III. The isolated compounds were tested for their anti-inflammatory activity and heraclenol-3''-O- $\beta$ -glucoside was found to inhibit the carrageenan and PGE2 induced edema significantly as compared to the control group and the activity of the compound have been found higher than the extracts.

1946

## 2. Amaç ve Kapsam

Proje halk arasında farklı amaçlar yanında antienflamatuvar etkisi nedeniyle kullanımı olan ve Çin Tıbbında antienflamatuvar özellikleri nedeniyle hastalıkların tedavisinde kullanılan ve ayrıca antienflamatuvar etkileri bilinen kumarinler açısından zengin *Heracleum* cinsine ait dört farklı takson olan; *Heracleum sphondylium* subsp. *ternatum* (Velen.) Brummit, *Heracleum sphondylium* subsp. *montanum* (SchleichereXGaudin) Briquet, *Heracleum sphondylium* subsp. *cyclocarpum* (C.Koch) Davis, *Heracleum paphlagonicum* Czezcott toprak üstü kısımlarının ve köklerinin antienflamatuvar etkilerinin *in vivo* yöntemlerle araştırılmasını ve bu aktiviteden sorumlu olan bileşiklerin BAYF (Biyolojik Aktiviteyle Yönlendirilmiş Fraksiyonlama) yöntemi kullanılarak izole edilmesi ve bu maddelerin yapılarının aydınlatılarak ortaya konmasını amaçlamıştır.

## 3. Materyal ve Yöntem

### Bitkisel Materyal

Bitkisel materyal olarak seçilen *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum*, *H. sphondylium* subsp. *montanum*, *H. sphondylium* subsp. *ternatum*, *H. paphlagonicum* Çizelge 1'de verilen lokalitelerden, belirtilen tarihlerde toplandı. Herbaryum örnekleri preslenerek kurutuldu. Örnekler Prof. Dr. Hayri Duman ve Prof. Dr. Ahmet Duran tarafından teşhis edilerek Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryum'una (AEF) kaldırıldı. Bitkilerin toprak üstü kısımları ile kökleri ayrılarak deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere oda sıcaklığında kurutuldu ve toz edildi.

### Çizelge 1. *Heracleum* türlerinin toplandığı lokaliteler

Bitki	Lokalite	Toplanma tarihi	Herbaryum numarası
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>cyclocarpum</i>	A8, Artvin-Murgul Orman içi, 2136m 41°14' 3" K 41°33' 6" D	Temmuz, 2018	AEF 28812
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>montanum</i>	A4, Karabük-Yenice Orman içi, dere kenarı, 1000m 41°10' 27.2964" K 32°20' 47.1258" D	Haziran, 2018	AEF 28814
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>ternatum</i>	B4, Ankara-Kırıkkale yolu Dere kenarı, 900m 39°56' 8" K 33°1' 18" D	Haziran, 2018	AEF 28809
<i>H. paphlagonicum</i>	A4, Çankırı-Ilgaz Dere kenarı, 1753m 41°4' 23" K 33°44' 19" D	Haziran, 2018	AEF 28815

### Deney Hayvanları

Antienflamatuvar etki testlerinde kullanılan Balb-c erkek fareler (20-25 g) Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edildi ve aktivite çalışmaları Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yürütüldü (Etik kurul: Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı 408-.23.09.2019).

Deney ortamına uyum sağlayabilmeleri için en az 48 saat laboratuvar ortamında bekletilen hayvanlar

bu süre boyunca pelet yem ve su ile beslendi. Deneye başlamadan 24 saat önce su serbest bırakılarak yem kesildi. Her bir deney grubunda altışar hayvan kullanıldı.

## Yöntem

### Fitokimyasal Çalışmalar

#### Ekstraksiyon

##### Diklorometanlı Ekstrelerin Hazırlanması

Bitkisel materyal diklorometanla oda sıcaklığında 24 saat boyunca masere edildi. 24 saat sonunda 1 saat ultrasonik banyoda karıştırılarak pileli süzgeç kağıdından süzüldü. Süzülen ekstreler rotavaporda düşük basınç altında 35-40 °C'de yoğunlaştırıldı. Bu işlem her materyal için 5 gün süresince tekrar edildi. Ekstrelerin % verimleri hesaplandı ve aktivite testleri için ayrıldı.

##### Metanollü Ekstrelerin Hazırlanması

Diklorometan ekstraksiyonunun tamamlanmasının ardından kalan bitkisel materyal kurutuldu ve metanol ile 24 saatlik maserasyona bırakıldı. 24 saat sonunda 1 saat ultrasonik banyoda karıştırıldı. Ekstreler pileli süzgeç kağıdından süzülerek, bu işlem 5 gün boyunca tekrarlandı. Süzüntüler birleştirilerek düşük basınç altında 35-40 °C'de uçuruldu. Elde edilen ham ekstreler liyofilize edilerek suyundan kurtarıldı. Ekstre verimleri hesaplanarak biyolojik aktivite testlerine tabi tutuldu.

### Kromatografi Çalışmaları

#### İnce Tabaka Kromatografisi Uygulamaları

Ekstraksiyon çalışmaları sonucunda elde edilen ekstreler silikajel 60 F254 (Merck, 1.05554) kaplı hazır plaklar üzerinde incelendi. Diklorometanlı ekstrelerde çözücü sistemi olarak *n*-hekzan:etilasetat (8:2) kullanıldı. Ekstrelerin uygulandığı plak aynı çözücü sistemi içerisinde iki kez yürütüldü. Metanollü ekstreler için ise etilasetat:metanol:su (80:13,5:10) sistemi mobil faz olarak kullanıldı. Plaklar 256 ve 366 nm UV ışığı altında incelendikten sonra, vanilin-sülfirik asit reaktifiyle muamele edilerek 110 °C'lik etüvde bekletildi ve lekeler tespit edildi.

*H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinden hazırlanan diklorometan ve metanollü ekstrelerin en iyi ayrıldığı çözücü sistemini tespit edebilmek için farklı çözücü karışımları denendi (Çizelge 2).

**Çizelge 2.** *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinden hazırlanan diklorometan ve metanollü ekstrelerinin incelenmesinde kullanılan çözücü sistemleri

Diklorometanlı ekstre için kullanılan çözücü sistemleri	Metanollü ekstre için kullanılan çözücü sistemleri
Diklorometan:metanol (8:2)	Etilasetat:metanol (5:5)
<i>n</i> -Hekzan:etilasetat (8:2)	Etilasetat:metanol (6:4)
<i>n</i> -Hekzan:etilasetat (7:3)	Etilasetat:metanol (7:3)
<i>n</i> -Hekzan:etilasetat (6:4)	Etilasetat:metanol (8:2)
	Etilasetat:metanol (9:1)
	Etilasetat:metanol:su (100:13,5:10)
	Etilasetat:metanol:su (90:13,5:10)
	Etilasetat:metanol:su (80:13,5:10)

Kolon kromatografisi uygulamalarından elde edilen fraksiyonların İTK analizleri silikajel 60 normal faz plaklar üzerinde gerçekleştirildi. Diklorometan ekstresinden elde edilen fraksiyonlar için *n*-hekzan:etilasetat (8:2), *n*-hekzan:etilasetat (7:3), *n*-hekzan:etilasetat (6:4) ve etilasetat:metanol:su (80:13,5:10) çözücü sistemleri kullanıldı. Metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonlar ise kloroform:metanol:su (65:25:4) çözücü sisteminde yürütülerek incelendi. Plaklar UV254 ve UV366 ışık altında incelendikten sonra vanilin-sülfirik asit reaktifi püskürtülerek 110 °C'lik etüvde lekeler gözleninceye kadar ısıtma işlemi uygulandı.

İzole edilen maddeler, izole edildikleri fraksiyonlar ile silikajel İTK plağına uygulanarak ekstrelerin İTK analizlerinde kullanılan çözücü sistemleri ile kontrol edildi.

### **Kolon Kromatografisi Uygulamaları**

Antienflamatuvar etkiden sorumlu olabilecek bileşikleri izole etmek için en yüksek aktivitenin görüldüğü ekstreler olan *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* bitkisinin toprak altından hazırlanan diklorometan ve metanollü ekstreler ayrı ayrı kolon kromatografisine uygulandı. Adsorban olarak silikajel 60 (230-400 mesh, 0.040-0.063 mm, Merck ASTM) kullanıldı.

### **Diklorometanlı Ekstrede Silikajel Kolon Uygulamaları**

Silikajel 350 gram tartıldı ve hekzanla karıştırılarak 5 x 80 cm büyüklüğünde kolona dolduruldu. *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometanlı ekstresi (14,4003 g) aynı miktarda silikajel ile karıştırılarak kurutuldu ve kolona kuru halde tatbik edildi. *n*-Hekzan:etilasetat (8:2) çözücü sistemi ile elüsyona başlandı. 200-250 ml hacimde 121 fraksiyon toplandı. Sonrasında diklorometan:metanol (8:2) çözücü sistemine geçilerek 200-250 ml hacimlerde 8 fraksiyon toplandı. En son metanol ile elüsyon yapılarak toplam 140 fraksiyon elde edildi ve elüsyon bitirildi. Elde edilen fraksiyonlar rotavaporda yoğunlaştırılarak İTK ve YPSK yöntemleri ile kimyasal içerikleri açısından kontrol edildi. Her iki kromatografik yöntem ile elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirilerek benzer kimyasal içeriğe sahip olan fraksiyonlar birleştirildi. Birleştirilen fraksiyonlar antienflamatuvar aktiviteleri için test edildi.

### **Metanollü Ekstrede Silikajel Kolon Uygulamaları**

Silikajel 350 gram tartıldı ve etilasetatla karıştırılarak 5 x 80 cm büyüklüğünde kolona dolduruldu. *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin metanollü ekstresi (21,0867 gr) aynı miktarda silikajel ile karıştırılarak kurutuldu ve kolona kuru halde tatbik edildi. Kolondan etilasetat:metanol:su (80:13,5:10) çözücü sistemi geçirilerek 200-250 ml hacimde 52 fraksiyon toplandı. Ardından kolon metanolla yıkandı ve 9 metanollü fraksiyon toplandı. Elde edilen fraksiyonlar rotavaporda yoğunlaştırılarak İTK ve YPSK yöntemleri ile kimyasal içerikleri incelendi. Benzer kimyasal içeriğe sahip olan fraksiyonlar birleştirildi. Birleştirilen fraksiyonlar antienflamatuvar aktiviteleri için test edildi.

### **Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi Uygulamaları**

#### **Analitik Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi Uygulamaları**

Analitik YPSK analizleri Agilent 1260 G1315 DAD cihazı ile ACE 5 C18 (250 x 4,6 mm; 5 µl partikül büyüklüğü) kolon kullanılarak yapıldı.

Hazırlanan ekstrelerin fitokimyasal içerikleri hakkında ön bilgi sahibi olabilmek için Çizelge 3 ve

Çizelge 4'te verilen analiz koşulları kullanılarak YPSK analizi yapıldı. Kumarin, flavonoit ve fenolik asit içerikleri kalitatif ve kantitatif olarak araştırıldı. Kumarin standardı olarak angelisin, bergapten, ksantotoksin, ostol, edulisin III, edulisin IV, umbelliferon, imperatorin, izoimperatorin, deltoin, kolumbianetin, izoepoksipteriksin; flavonoit standardı olarak amentoflavon, apigenin, apigenin-7-*O*- $\beta$ -glikozit, hiperozit, izokersetin, kemferol, kersetin, luteolin, luteolin-7-*O*- $\beta$ -glikozit, viteksin-2''-*O*-ramnozid; fenolik asitlerden ise ferulik, gallik, kafeik, kinik, sinapik, siringik, vanilik asit kullanıldı. Diklorometanlı ekstrelerde kalitatif olarak tespit edilen ksantotoksin, imperatorin, angelisin, bergapten ve ostol için kantitatif analiz yapıldı. Ksantotoksin, imperatorin, angelisin, ve ostolün 0,025; 0,05; 0,1; 0,25 ve 0,5 mg/ml; bergaptenin ise 0,005; 0,01; 0,025; 0,05; 0,1; 0,25 ve 0,5 mg/ml konsantrasyondaki çözeltileri hazırlanarak YPSK cihazına üçer kez enjekte edildi. Furanokumarinlerin 254 nm; ostolün 330 nm'deki pik alanları konsantrasyonlarına karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafikleri ve denklemleri elde edildi. Ekstreler 10 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanarak 0,45  $\mu$ m membran filtreden süzülür ve YPSK cihazına üçer kez enjekte edildi.

Tespit edilen standart maddelerin Limit of detection (LOD) ve Limit of quantitation (LOQ) değerleri sinyal/gürültü oranı sırasıyla 3 ve 10 olacak şekilde hesaplanarak üç gün boyunca 6'şar kez cihaza enjekte edildi.

**Çizelge 3.** Diklorometanlı ekstrelerin YPSK analizlerinde kullanılan gradient elüsyon sistemi

Zaman (dk)*	%0,2 o-fosforik asit içeren bidistile su (%)	Metanol (%)	Akış Hızı (mL/dak)	Kolon sıcaklığı (°C)
0	55	45	0,5	40°C
5	34,5	65,5	0,5	40°C
25	33,5	67,5	0,5	40°C
30	0	100	0,5	40°C
35	0	100	0,5	40°C

\*post time: 5 dk

**Çizelge 4.** Metanollü ekstrelerin YPSK analizlerinde kullanılan gradient elüsyon sistemi

Zaman (dk)*	%0,2 o-fosforik asit içeren bidistile su (%)	Asetonitril (%)	Metanol (%)	Akış Hızı (mL/dak)	Kolon sıcaklığı (°C)
0	90	10	0	1	40°C
35	0	100	0	1	40°C
35,01	0	0	100	1	40°C
40	0	0	100	1	40°C

\*post time: 5 dk

Diklorometanlı ekstreden elde edilen fraksiyonlar için Çizelge 5; metanollü ekstreden elde edilen fraksiyonlar için Çizelge 6'da verilen analiz koşulları ile akış sistemleri kullanıldı.

İzole edilen maddelerin saf olup olmadığını anlayabilmek ve izole edildikleri fraksiyonlarla karşılaştırabilmek için Çizelge 6'da verilen akış sistemi kullanılarak YPSK analizleri yapıldı.

### Semi-Preparatif Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi Uygulamaları

Preparatif YPSK çalışmaları, Agilent 1260 G1315 DAD cihazı ile ACE 5 C18 (250 x 4,6 mm; 5  $\mu$ l partikül büyüklüğü) kolon kullanılarak yapıldı.

Diklorometanlı ekstrenin en aktif bulunan fraksiyonu 127-140 için Çizelge 7; metanollü ekstrenin en aktif bulunan fraksiyonu 1-10 için Çizelge 8'de verilen akış sistemleri kullanıldı. Semi-preparatif YPSK çalışmalarında kolon fırını kullanılmadı.



**Çizelge 5.** Diklorometanlı ekstreye ait fraksiyonların YPSK analizlerinde kullanılan gradient elüsyon sistemi

Zaman (dk)*	%0,2 asit bidistile su (%)	o-fosforik içeren Asetonitril (%)	Metanol (%)	Akış (mL/dak)	Hızı KOLON (°C)	sıcaklığı
0	60	40	0	1		40°C
25	15	85	0	1		40°C
25,01	0	0	100	1		40°C
30	0	0	100	1		40°C

\*post time: 5 dk

**Çizelge 6.** Metanollü ekstreye ait fraksiyonların YPSK analizlerinde kullanılan gradient elüsyon sistemi

Zaman (dk)*	%0,2 fosforik içeren bidistile su (%)	o-Asetonitril asit(%)	Metanol (%)	Akış (mL/dak)	Hızı KOLON sıcaklığı (°C)
0	90	10	0	1	40°C
20	40	60	0	1	40°C
20,01	0	0	100	1	40°C
25	0	0	100	1	40°C

\*post time: 5 dk

**Çizelge 7.** Diklorometanlı ekstrenin aktif fraksiyonu (127-140) için semi-preparatif YPSK çalışmalarında kullanılan gradient elüsyon sistemi

Zaman (dk)*	Bidistile su (%)	Asetonitril (%)	Metanol (%)	Akış Hızı (mL/dak)
0	90	10	0	1,5
20	47,5	52,5	0	1,5
20,01	0	0	100	1,5
26	0	0	100	1,5

\*post-time: 4 dk

**Çizelge 8.** Metanollü ekstrenin aktif fraksiyonu (1-10) için semi-preparatif YPSK çalışmalarında kullanılan gradient elüsyon sistemi

Zaman (dk)*	Bidistile su (%)	Asetonitril (%)	Metanol (%)	Akış Hızı (mL/dak)
0	70	0	30	1,5
5	47	0	53	1,5
5,01	47	0	53	1,2
11,00	44,3	0	55,7	1,2
11,01	0	100	0	1
12	0	100	0	1
12,01	0	0	100	1
18	0	0	100	1

\*: post-time: 3 dk

**İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini**

Semi-preparatif YPSK ile izole edilen maddelerin yapı tayini için KS, <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C- ve 2D NMR (HMBC, COSY, TOCSY, HSQC) teknikleri kullanıldı.

### **Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi**

Bileşiklerin dötrometanol (MeOD) ve dötrokloroform (CDCl<sub>3</sub>) içinde hazırlanan çözeltilerinin <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR ayrıca HMBC, COSY, TOCSY, HSQC spektrumları Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı II'de bulunan Varian Mercury 400, 400 MHz High Performance Digi NMR Spektrometre cihazı kullanılarak alındı.

### **Kütle Spektroskopisi**

İzole edilen bileşiklerin kütleleri Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı II'de bulunan Waters 2695 Allia Micromass ZQ marka Sıvı kromatografisi (KS)-Kütle spektrometresi cihazı ile ölçüldü. Örnekler metanol içinde çözülüp, dilüe edildikten sonra aşağıda verilen şartlar altında analizler yapıldı.

#### SK/KS Şartlar

YPSK Sistemi	: Waters Alliance
Kolon	: C-18
Hareketli Faz A	: Metanol:Su (50:50)
Hareketli Faz B	: Asetonitril
Akış Hızı	: 0,5mL/dak
Sıcaklık	: 25°C
Enjeksiyon Hacmi	: 10 µL

### **Antienflamatuvar Etki Çalışmaları**

Biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlamanın ilk basamağında hazırlanan ekstrelerin aktiviteleri karagenin, PGE2 ve serotonin nedenli arka pençe ödemi modelleri kullanılarak test edildi. Sonuçlar karşılaştırılarak aktif ekstre/ekstreler tespit edildi. Serotonin nedenli enflamasyonda, ekstrelerde kayda değer sonuçlar elde edilmediği için, bu test fraksiyonlara ve izole edilen maddelere uygulanmadı. Test edilen türler içerisinde *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometan ve metanollü ekstrelerinin aktivitesinin en yüksek olduğunun belirlenmesi sonucunda daha ileri çalışmalar için bu ekstreler tercih edildi ve kolon kromatografisi sonucu elde edilen fraksiyonların ayrıca en yüksek aktivitenin gözlemlendiği fraksiyonlardan elde edilen saf maddelerin antienflamatuvar etki tayinleri karagenin ve PGE2 nedenli enflamasyon modelleri kullanılarak yapıldı.

### **Test Numunelerinin Hazırlanması**

Ekstreler %0,5'lik karboksimetil selüloz (CMC) içinde süspanse edilerek farelere 100 mg/kg dozda gastrik gavaj ile oral olarak uygulandı. Kontrol grubundaki farelere yalnızca %0,5'lik CMC uygulandı. Referans madde olarak kullanılan indometazin (Nobel) %0,5'lik CMC içinde çözülerek 10 mg/kg dozda uygulandı. Test çözeltileri ve referans maddenin uygulanmasından sonra, karagenin, prostaglandin E2 ve serotonin ayrı ayrı uygulanarak enflamasyon oluşturuldu.

### **Karagenin Nedenli Arka Pençe Ödemi**

50 mg karagenin (Sigma Co., No: C-1013) 2,5 ml serum fizyolojik içerisinde süspanse edildi. Hayvanların sağ arka ayaklarının subplantar dokularına 25 µl karagenin solüsyonu, sol arka ayaklarının subplantar dokularına ise kontrol amaçlı serum fizyolojik solüsyonu enjekte edilerek ödem oluşturuldu. Mikrometrik kumpas (Ozaki Co., Tokyo, Japan) kullanılarak her bir ayağın şişme kalınlığı 90 dakika aralıklarla 6 saat boyunca ölçüldü. Sağ ve sol pençe kalınlığı arasındaki fark enflamasyon seviyesi olarak değerlendirildi. Her bir grubun ortalaması karşılaştırılarak istatistiksel olarak analiz edildi (Toker ve ark., 2004 ve Yesilada ve Küpeli, 2002).

### Prostaglandin E2 Nedenli Arka Pençe Ödemi

5 µg PGE2 (Fluka Chemie AG, Art. 82475) 5 µl Tyrode' çözeltisi içinde çözüldü. Hayvanların sağ arka ayaklarının subplantar dokularına 5µl PGE2 çözeltisi, sol arka ayaklarının subplantar dokularına ise kontrol amaçlı 5 µl Tyrode' çözeltisi enjekte edilerek ödem oluşturuldu. Sağ ve sol ayaklardaki şişme farkları mikrometrik kumpas kullanılarak 15 dakika aralıklarla 75 dakika boyunca ölçüldü. Test ve kontrol grupları arasındaki şişme farkları karşılaştırılarak analiz edildi (Küpeli ve Ercil, 2009 ve Yeşilada ve Küpeli, 2007).

### Serotonin Nedenli Arka Pençe Ödemi

5 µg serotonin kreatinin sülfat (Merck, Art. 7768) 5 µl Tyrode' çözeltisinde çözüldü. Hayvanların sağ arka ayak subplantar dokularına 5 µl serotonin çözeltisi, sol arka ayak subplantar dokularına ise 5 µl Tyrode' çözeltisi uygulandı. Pençe ödemleri mikrometrik kumpas ile ölçülerek test ve kontrol gruplarının ortalamaları karşılaştırıldı. Ölçümler 6 dakikada bir 30 dakika boyunca yapıldı (Erdemoğlu ve ark., 2009 ve Küpeli ve ark., 2002).

### Deney Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirilmesi

Deney sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi ANOVA testi ile yapıldı. Standart hatalar \*:p<0,05; \*\*:p<0,01 ve \*\*\*:p:<0,001 olarak ifade edildi.

## 4. Analiz ve Bulgular

### Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

### Ekstraksiyon Çalışmalarına Ait Bulgular

*H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum*, *H. sphondylium* subsp. *montanum*, *H. sphondylium* subsp. *ternatum*, *H. paphlagonicum* kök ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan diklorometan ve metanollü ekstrelerin verimleri Çizelge 9'da verilmiştir.

**Çizelge 9.** *Heracleum* türlerinden elde edilen diklorometan ve metanollü ekstrelerin yüzde verimleri

Bitki Adı	Kullanılan kısım	Diklorometanlı verim (g/g)	ekstre-% Metanollü ekstre-% verim (g/g)
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>ternatum</i>	K	3,90	8,69
	T	4,39	5,37
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>cyclocarpum</i>	K	4,18	6,21
	T	2,28	7,54
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>montanum</i>	K	1,35	7,17
	T	3,73	7,11
<i>H. paphlagonicum</i>	K	2,72	6,30
	T	2,12	9,51

K: Kök, T: Toprak üstü

Ekstrelerin biyolojik aktivite testleri yapıldıktan sonra en aktif çıkan ekstreler, *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometan ve metanollü ekstreleri olarak belirlendi ve çalışmalara bu ekstreler ile devam edildi. İzolasyon çalışmalarında kullanılmak üzere *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinden, 225,64 g bitkisel materyalden hareketle 8.0583 g diklorometanlı, 17.8045 g metanollü ekstre hazırlandı.

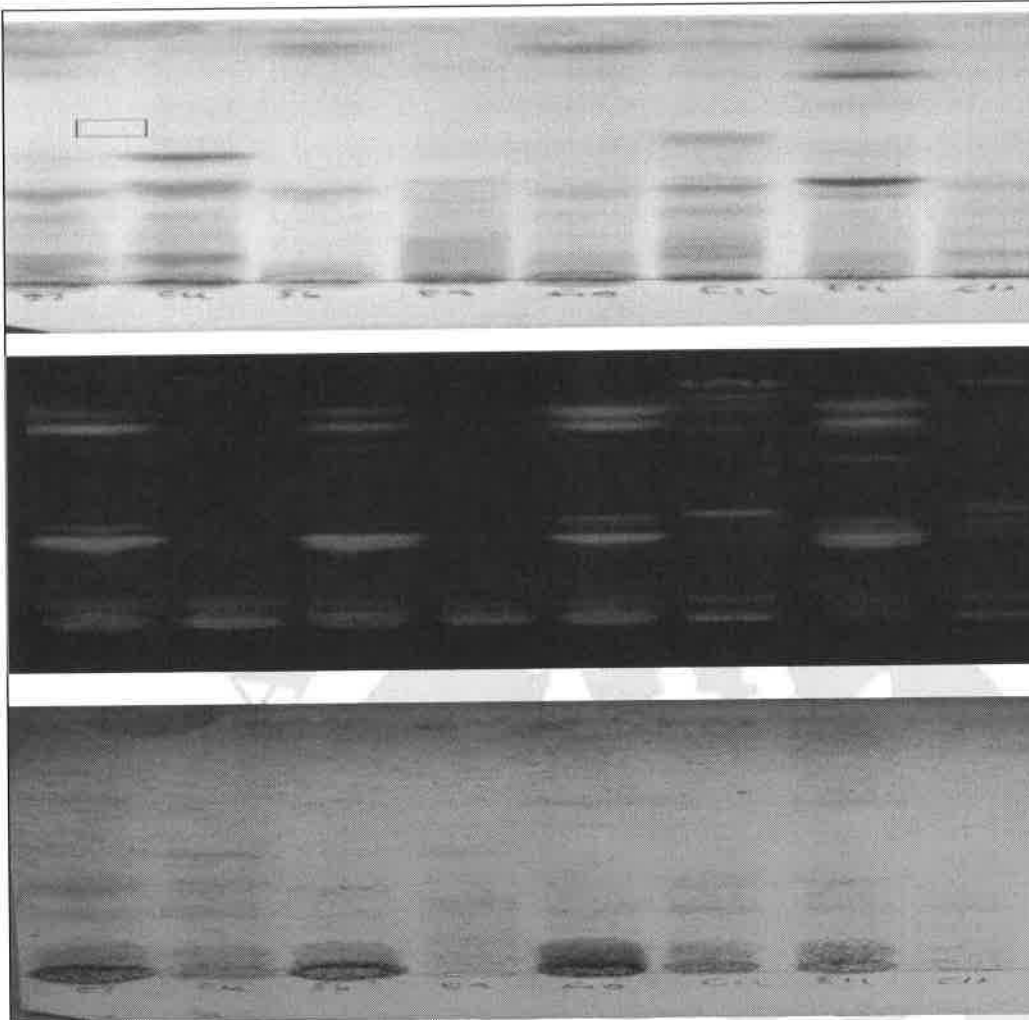
## Kromatografi Çalışmalarına Ait Bulgular

### İnce Tabaka Kromatografisi Çalışmalarına Ait Bulgular

Ekstrelerin fitokimyasal içerikleri hakkında bilgi sahibi olabilmek ve en iyi ayrımın görüldüğü çözücü sistemini/sistemlerini saptayabilmek için İTK çalışmaları yapıldı. Diklorometanlı ekstralar için *n*-hekzan:etilasetat (8:2) çözücü sistemi; metanollü ekstraların ise etilasetat:metanol:su (80:13,5:10) çözücü sistemi ile elde edilen İTK kromatogramları Şekil 1 ve 2’de gösterilmiştir.

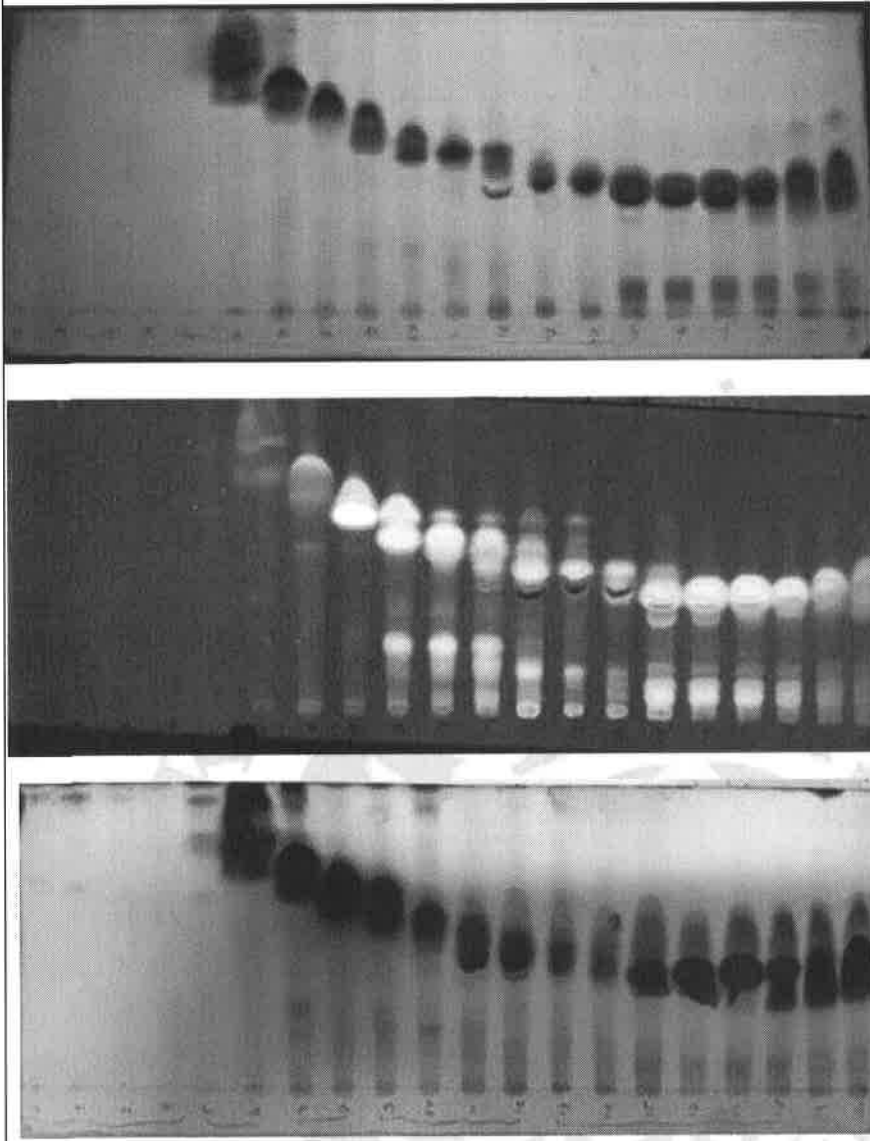


**Şekil 1.** *Heracleum* türlerinin diklorometanlı ekstralarının İTK uygulamaları. 254 nm ve 366 nm ışık ile  $H_2SO_4$ -Vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonraki kromatogramları. Sırasıyla; *H. paphlagonicum* kök ekstresi (1); *H. paphlagonicum* toprak üstü ekstresi (3); *H. sphondylium* subsp. *ternatum* kök ekstresi (5); *H. sphondylium* subsp. *ternatum* toprak üstü ekstresi (7); *H. sphondylium* subsp. *montanum* kök ekstresi (9); *H. sphondylium* subsp. *montanum* toprak üstü ekstresi (11); *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* kök ekstresi (13); *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* toprak üstü ekstresi (15).

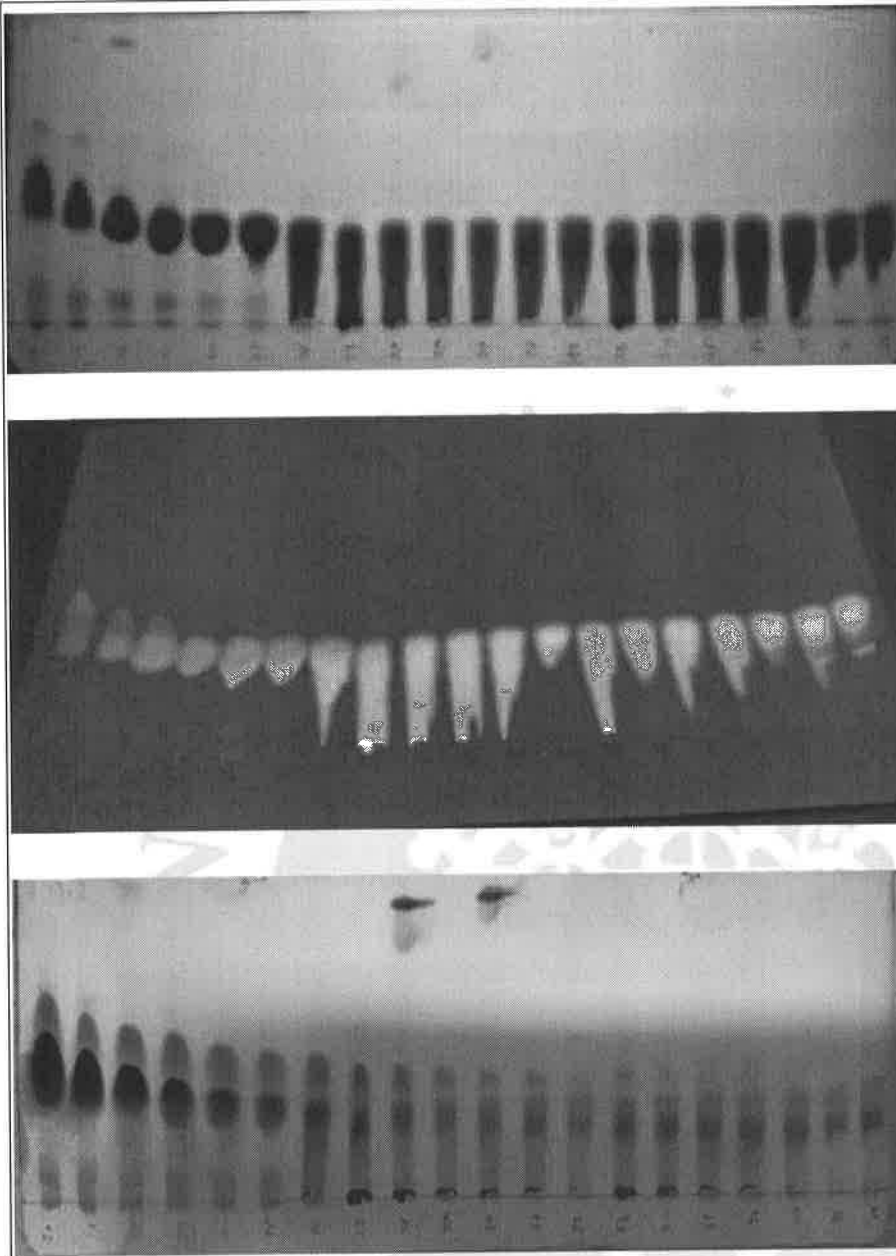


**Şekil 2.** *Heracleum* türlerinin metanollü ekstralarının İTK uygulamaları. 254 nm ve 366 nm ışık ile  $H_2SO_4$ -Vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonraki kromatogramları. Sırasıyla; *H. paphlagicum* kök ekstresi (2); *H. paphlagicum* toprak üstü ekstresi (4); *H. sphondylium* subsp. *ternatum* kök ekstresi (6); *H. sphondylium* subsp. *ternatum* toprak üstü ekstresi (8); *H. sphondylium* subsp. *montanum* kök ekstresi (10); *H. sphondylium* subsp. *montanum* toprak üstü ekstresi (12); *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* kök ekstresi (14); *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* toprak üstü ekstresi (16).

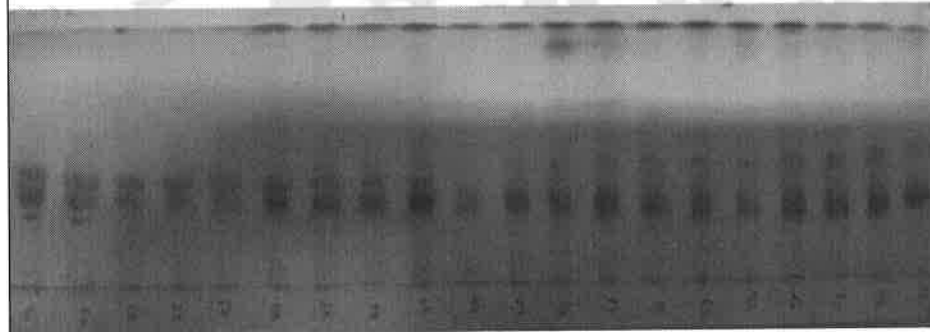
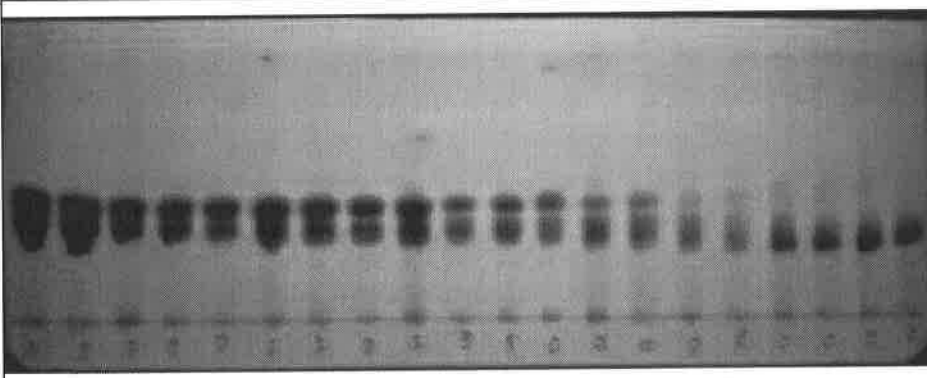
Diklorometanlı ekstrelerin silikajel kolonda elüsyonundan elde edilen fraksiyonlar İTK plakları üzerinde *n*-hekzan:etilasetat (8:2), *n*-hekzan:etilasetat (7:3), *n*-hekzan:etilasetat (6:4) ve etilasetat:metanol:su (80:13,5:10) çözücü sistemleri ile analiz edildi. Diklorometanlı ekstreye ait kromatogramlar Şekil 3-10'da gösterilmiştir.



**Şekil 3.** *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometanlı ekstresinin kolon kromatografisiyle elde edilen fraksiyonlarının İTK kromatogramları (Fraksiyon 1-20). Silikajel plaklar üzerinde *n*-hekzan:etilasetat (8:2) çözücü sistemiyle yürütülerek UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub> ışık altında ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonra.



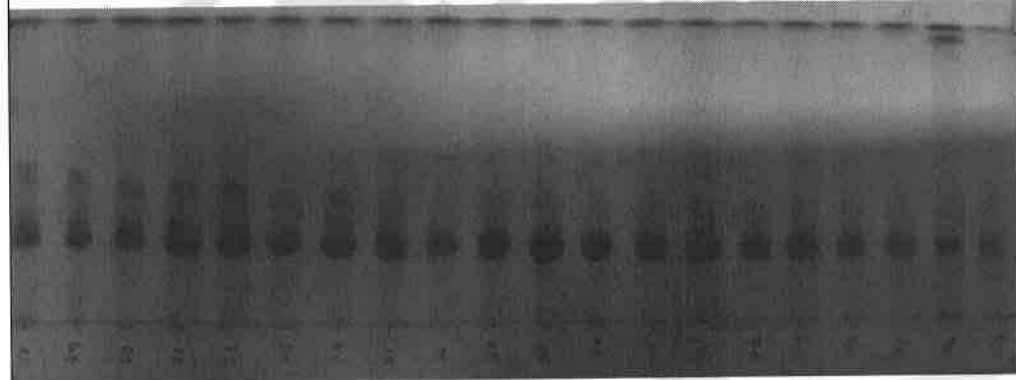
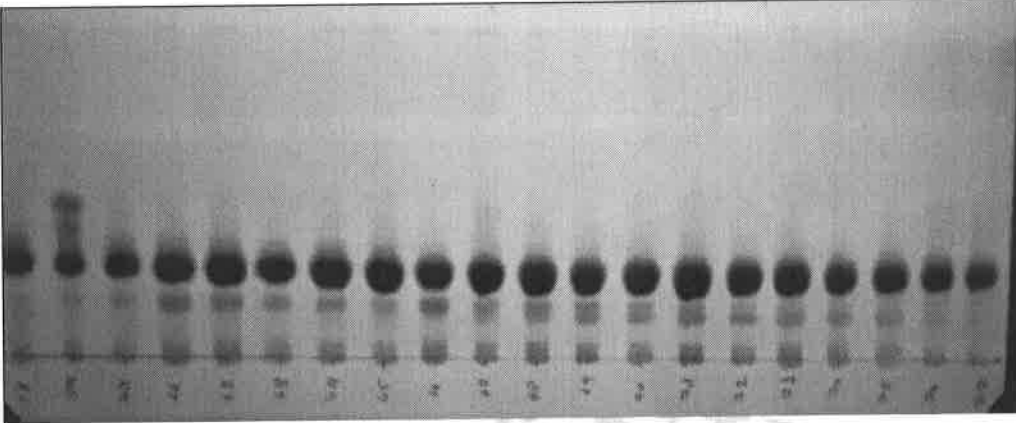
**Şekil 4.** *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometanlı ekstresinin kolon kromatografisiyle elde edilen fraksiyonlarının İTK kromatogramları (Fraksiyon 20-39). Silikajel plaklar üzerinde *n*-hekzan:etilasetat (8:2) çözücü sistemiyle yürütülerek UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub> ışık altında ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonra



**Şekil 5.** *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometanlı ekstresinin kolon kromatografisiyle elde edilen fraksiyonlarının İTK kromatogramları (Fraksiyon 39-58). Silikajel plaklar üzerinde *n*-hekzan:etilasetat (7:3) çözücü sistemiyle yürütülerek UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub> ışık altında ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonraki İTK kromatogramları

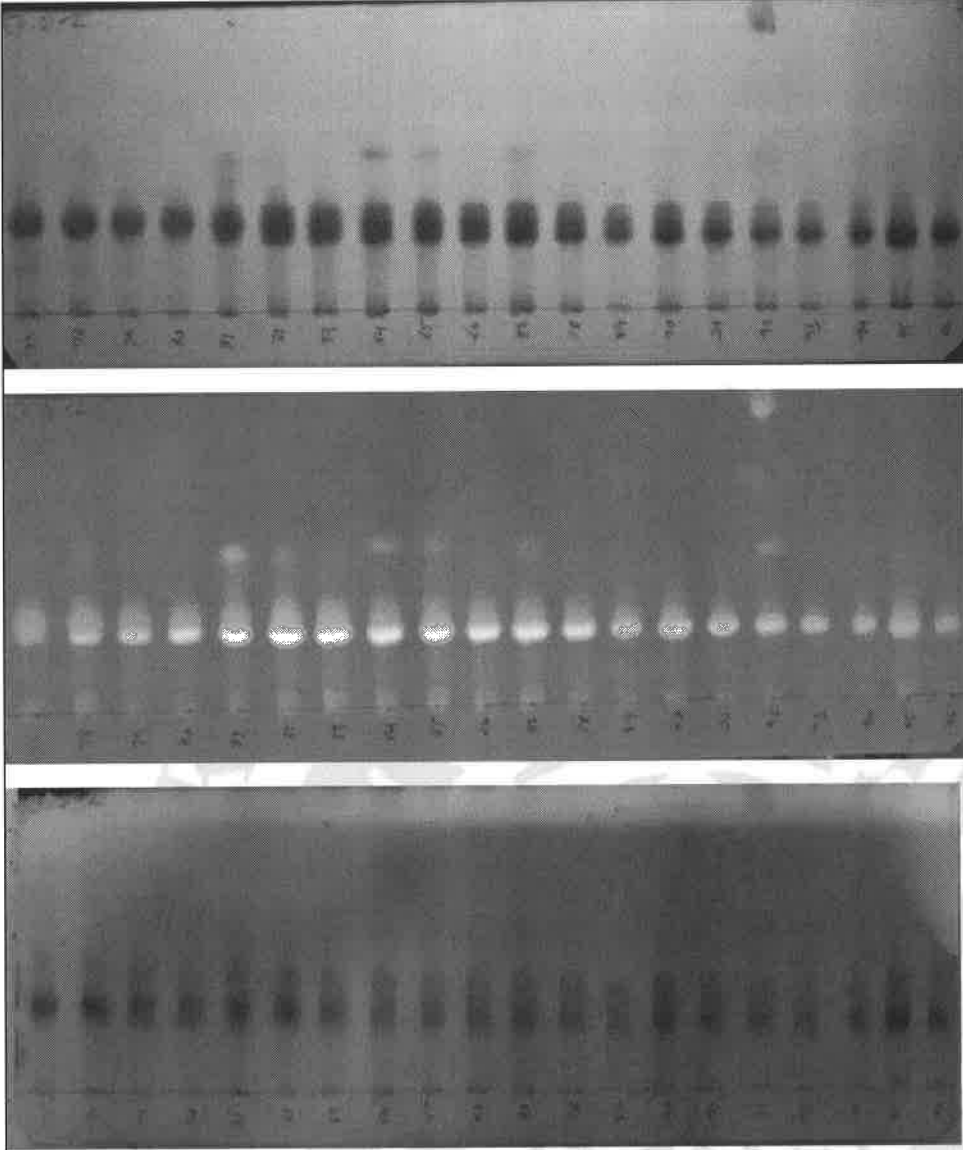
1946





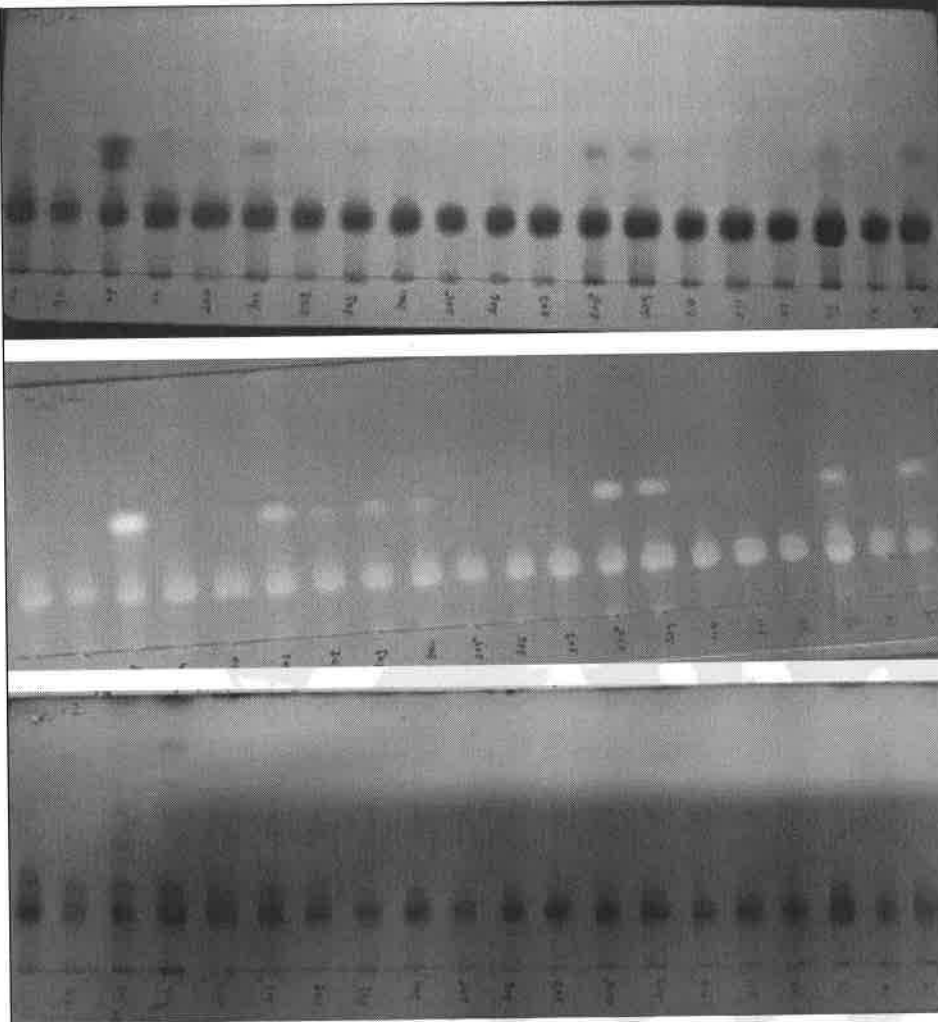
**Şekil 6.** *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometanlı ekstresinin kolon kromatografisiyle elde edilen fraksiyonlarının İTK kromatogramları (Fraksiyon 58-77). Silikajel plaklar üzerinde *n*-hekzan:etilasetat (7:3) çözücü sistemiyle yürütülerek UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub> ışık altında ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonra

1946



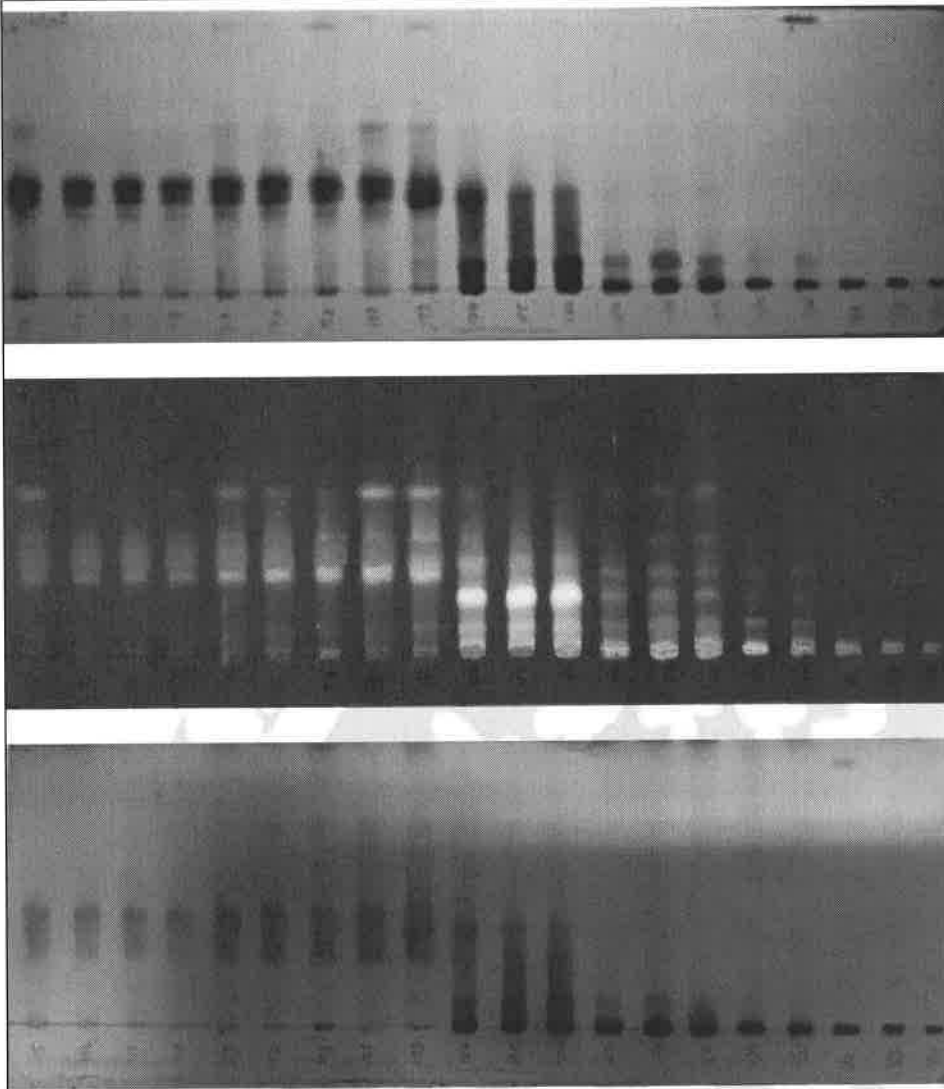
**Şekil 7.** *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometanlı ekstresinin kolon kromatografisiyle elde edilen fraksiyonlarının İTK kromatogramları (Fraksiyon 77-96). Silikajel plaklar üzerinde *n*-hekzan:etilasetat (7:3) çözücü sistemiyle yürütülerek UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub> ışık altında ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonra.

1946



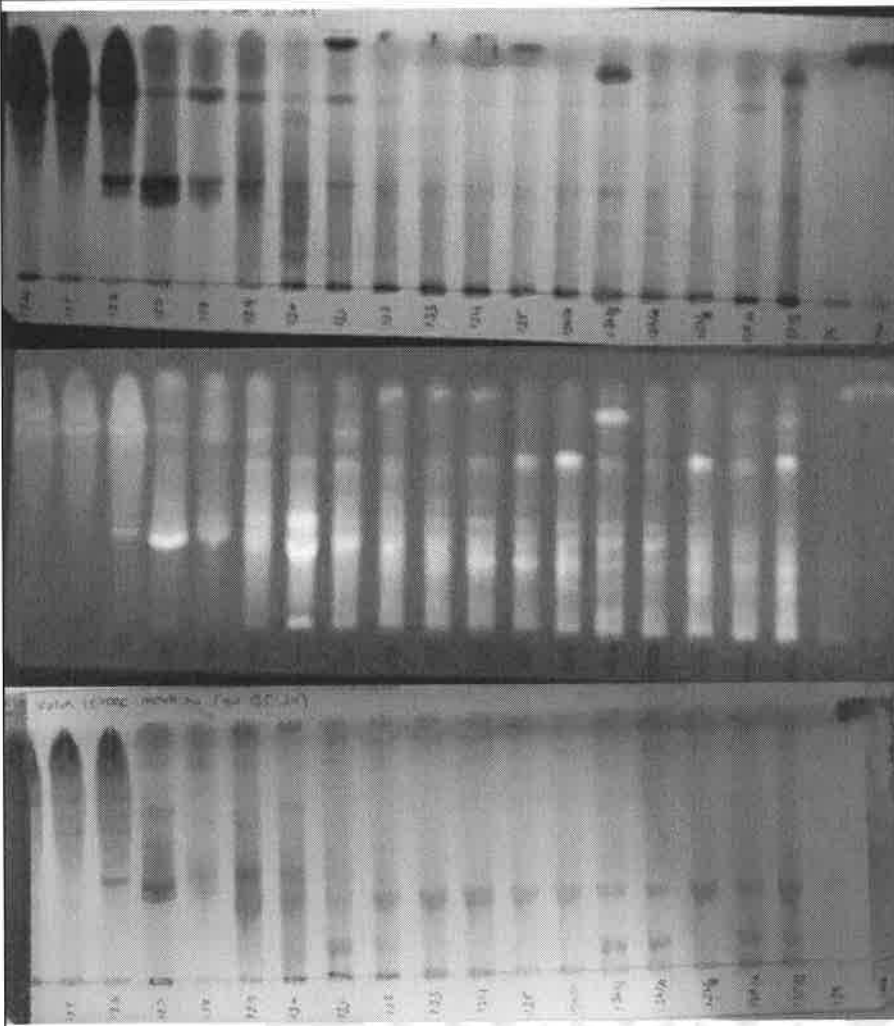
**Şekil 8.** *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometanlı ekstresinin kolon kromatografisiyle elde edilen fraksiyonlarının İTK kromatogramları (Fraksiyon 96-115). Silikajel plaklar üzerinde *n*-hekzan:etilasetat (7:3) çözücü sistemiyle yürütülerek UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub> ışık altında ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonra

1946



**Şekil 9.** *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometanlı ekstresinin kolon kromatografisiyle elde edilen fraksiyonlarının İTK kromatogramları (Fraksiyon 115-134). Silikajel plaklar üzerinde *n*-hekzan:etilasetat (6:4) çözücü sistemiyle yürütülerek UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub> ışık altında ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonra

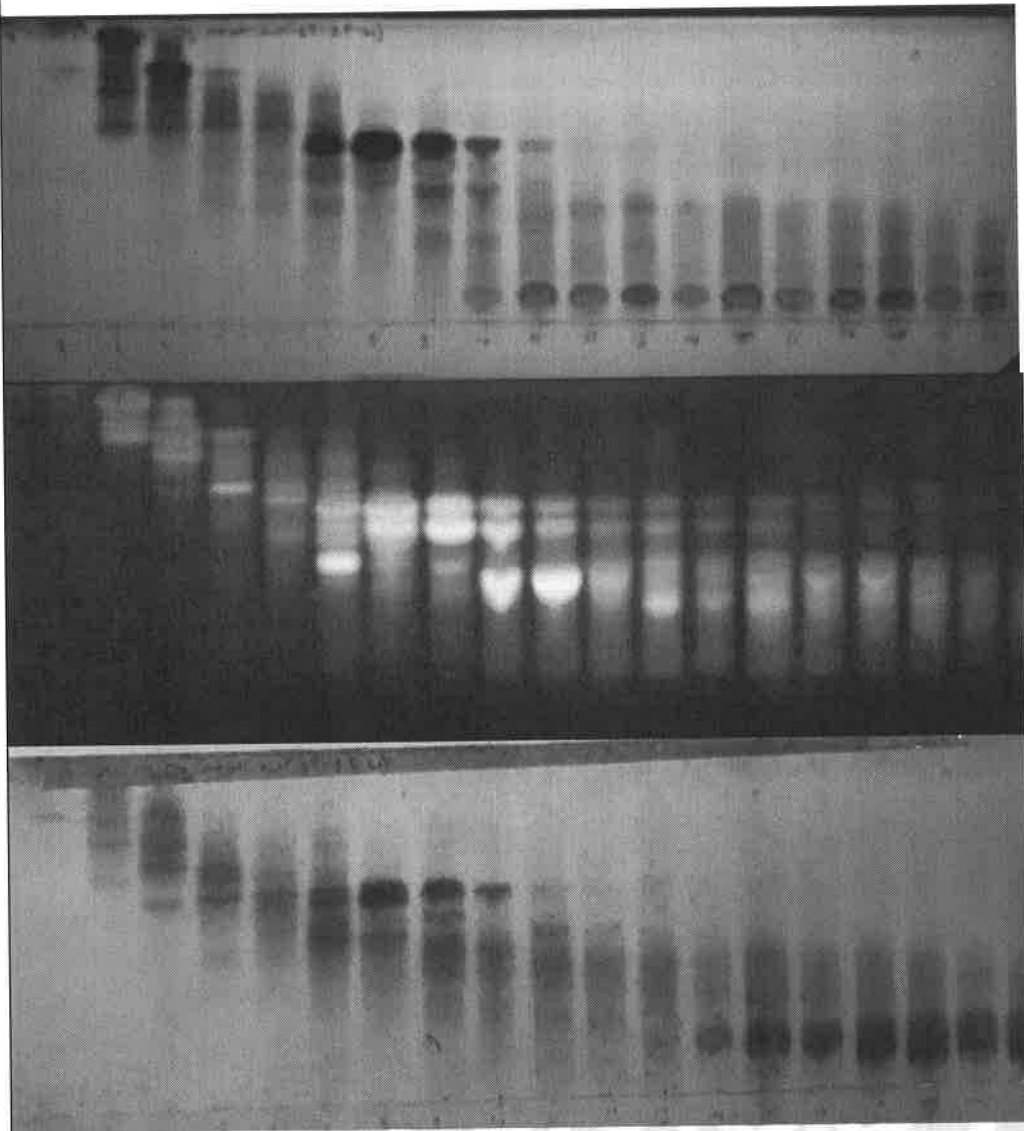
1946



**Şekil 10.** *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometanlı ekstresinin kolon kromatografisiyle elde edilen fraksiyonlarının İTK kromatogramları (Fraksiyon 124-140). Silikajel plaklar üzerinde etilasetat:metanol:su (80:13,5:10) çözücü sistemiyle yürütülerek UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub> ışık ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonra

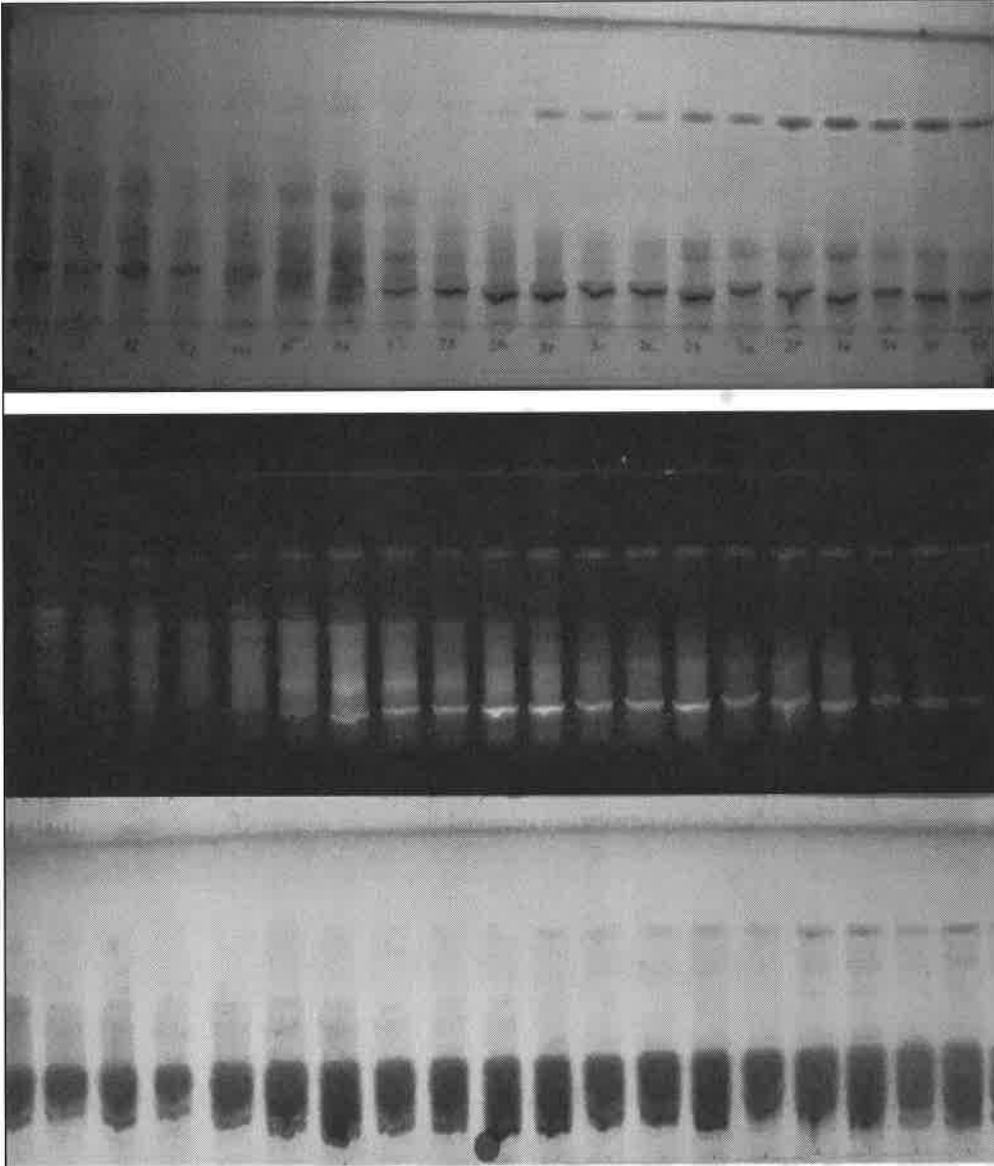
Metanollü ekstresinden elde edilen fraksiyonlar silikajel kaplı plaklar üzerinde kloroform:metanol:su (65:25:4) çözücü sisteminde yürütülerek incelendi. Kromatogramlar Şekil 11-13'de verilmiştir.

1946



**Şekil 11.** *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin metanollü ekstresinin kolon kromatografisiyle elde edilen fraksiyonlarının İTK kromatogramları (Fraksiyon 1-20). Silikajel plaklar üzerinde kloroform:metanol:su (65:25:4) çözücü sistemiyle yürütülerek UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub> ışık ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonra.

1946



**Şekil 12.** *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin metanollü ekstresinin kolon kromatografisiyle elde edilen fraksiyonlarının İTK kromatogramları (Fraksiyon 20-39). Silikajel plaklar üzerinde kloroform:metanol:su (65:25:4) çözücü sistemiyle yürütülerek UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub> ışık ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonra.

1946



**Şekil 13.** *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin metanollü ekstresinin kolon kromatografisiyle elde edilen fraksiyonlarının İTK kromatogramları (Fraksiyon 39-57). Silikajel plaklar üzerinde kloroform:metanol:su (65:25:4) çözücü sistemiyle yürütülerek UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub> ışık ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonra.

İzole edilen bileşikler ile bunları içeren fraksiyonlara ait İTK kromatogramları Şekil 14’te verilmiştir.

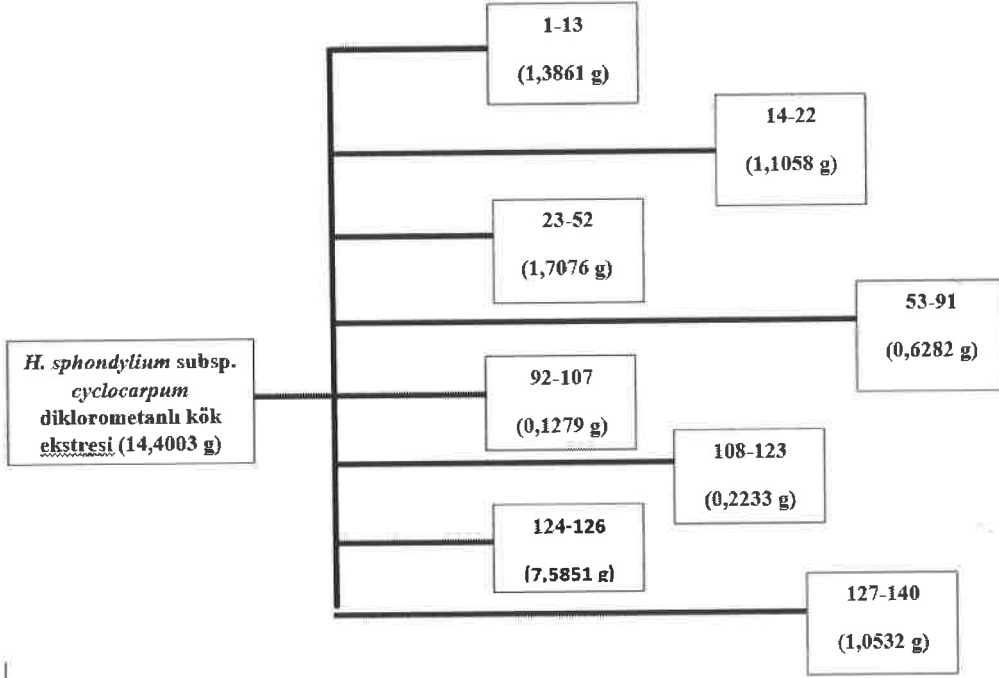


**Şekil 14.** İzole edilen bileşikler ile bunları içeren fraksiyonlara ait İTK kromatogramları. Sırasıyla, C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, diklorometanlı ekstrenin aktif fraksiyonu (127-140), metanollü ekstrenin aktif fraksiyonu, Silikajel plaklar üzerinde etilasetat:metanol:su (80:13,5:10) çözücü sistemiyle yürütülerek UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub> ışık ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-vanilin reaktifi ile muamele edildikten sonraki İTK kromatogramları



**Kolon Kromatografisi Uygulamalarına Ait Bulgular****Diklorometanlı Ekstrenin Silikajel Kolon Uygulamalarına Ait Bulgular**

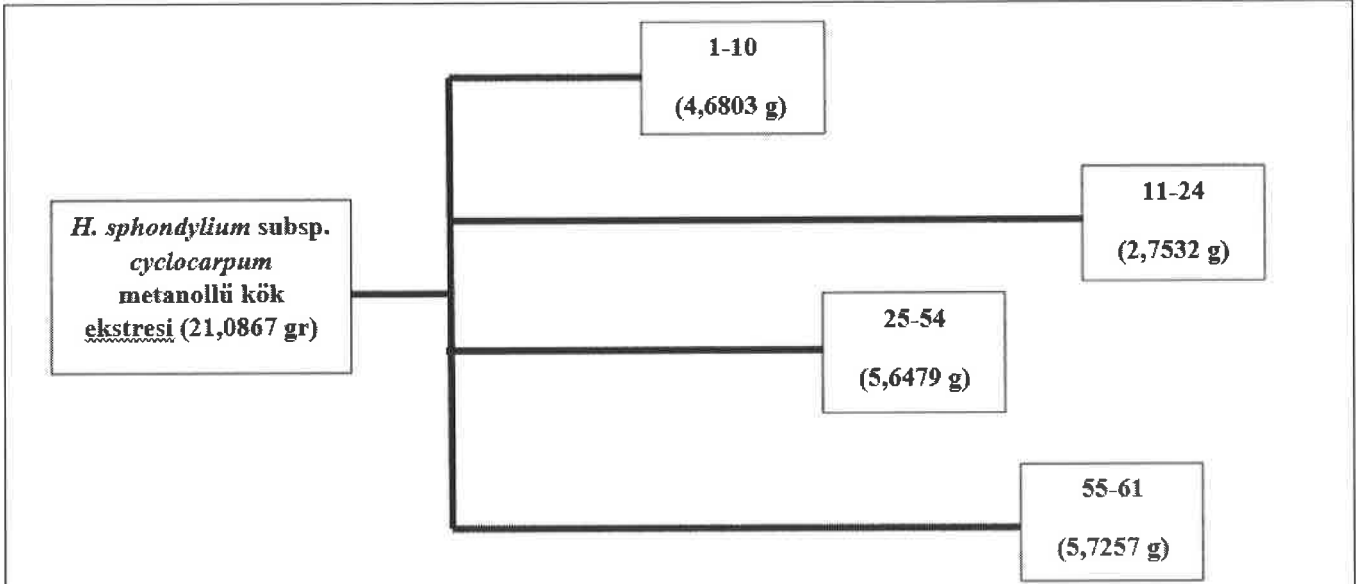
*H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinden hazırlanan diklorometanlı ekstre 14,4003 g tartılarak kolona uygulandı. *n*-Hekzan:etilasetat (8:2), diklorometan:metanol (8:2) ve %100 metanol çözücü sistemleri ile elüe edilerek 140 fraksiyon toplandı. Fraksiyonların İTK ve YPSK analizleri sonucunda benzer içeriğe sahip olanlar birleştirilip tartıldı (Şekil 15).



Şekil 15. *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* diklorometanlı kök ekstresinin silikajel kolon uygulamaları sonucu elde edilen fraksiyonlar

**Metanollü Ekstrenin Silikajel Kolon Uygulamalarına Ait Bulgular**

*H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin metanollü ekstresi 21,0867 g olarak silikajel kolona uygulandı. etilasetat:metanol:su (80:13,5:10) ve % metanol ile 61 fraksiyon toplandı. Fraksiyonların İTK ve YPSK kromatogramları incelenerek benzer fraksiyonlar birleştirildi ve tartıldı (Şekil 16).

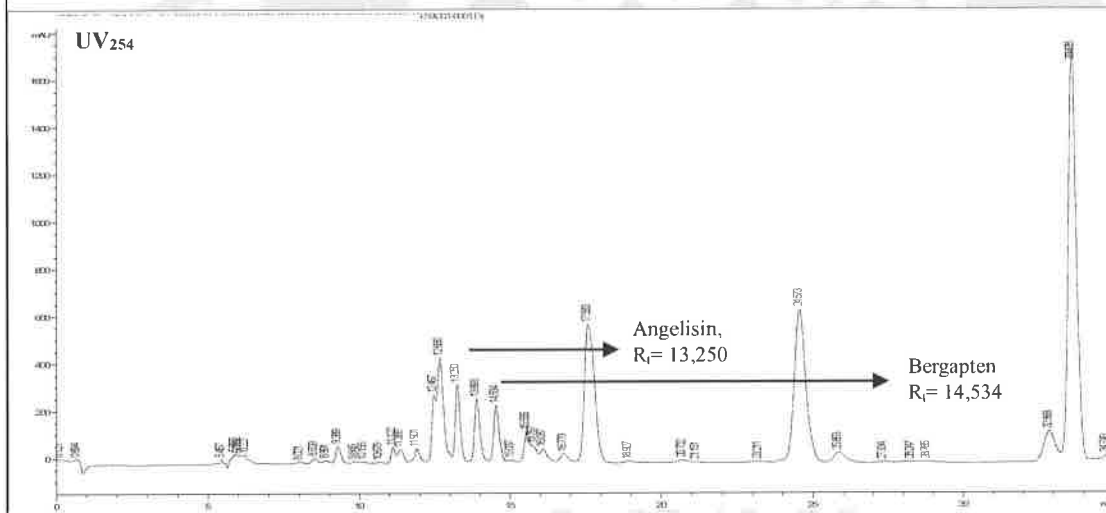


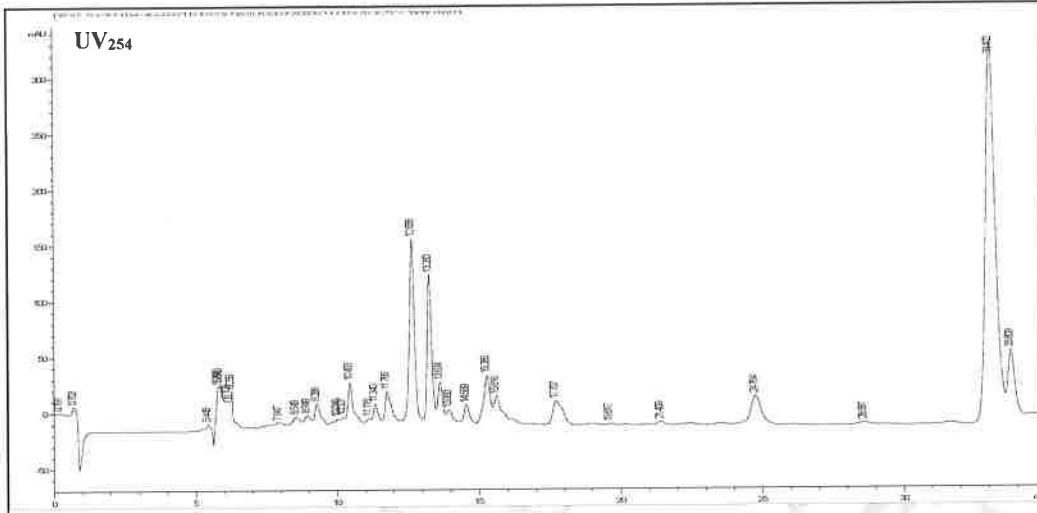
Şekil 16. *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* metanollü kök ekstresinin silikajel kolon uygulamaları sonucu elde edilen fraksiyonlar

#### Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi Uygulamalarına Ait Bulgular

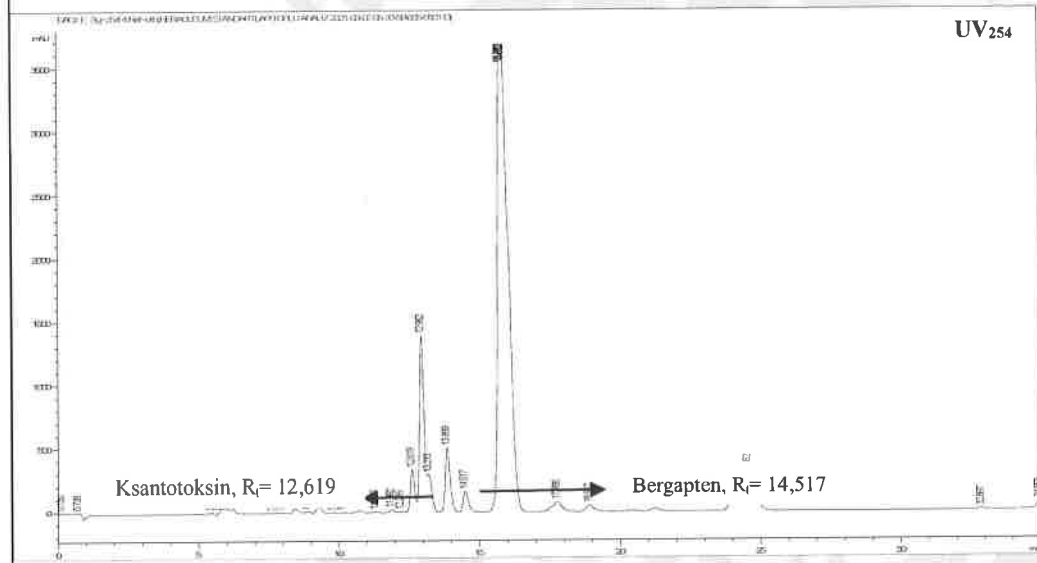
#### Analitik Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi Uygulamalarına Ait Bulgular

Diklorometanlı ekstrelerin YPSK kromatogramları ile tespit edilen maddelerin retansiyon zamanları Şekil 17-24'te verilmiştir.

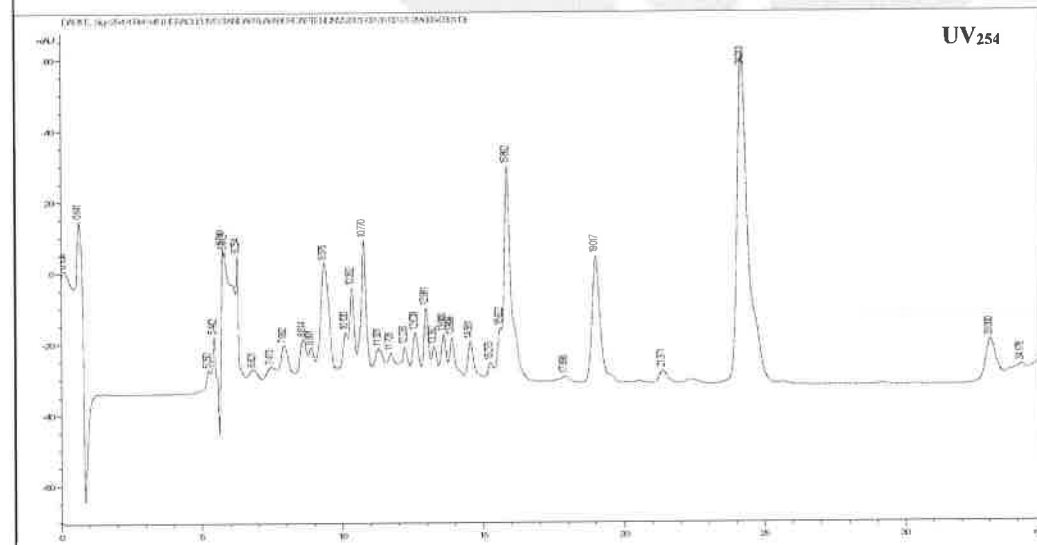




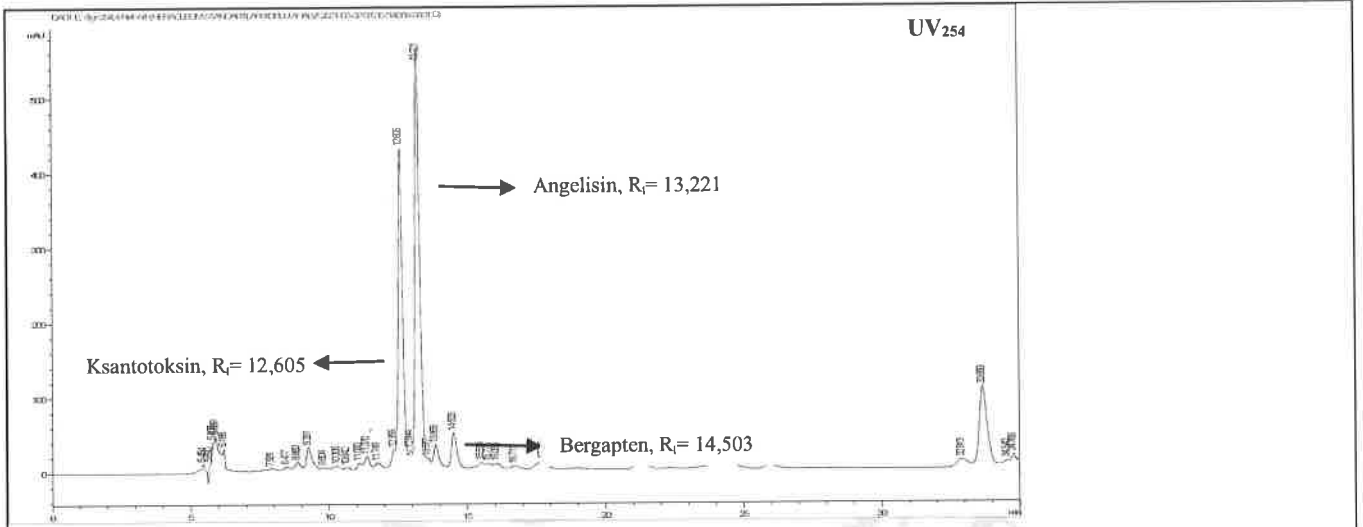
Şekil 18. *H. paphlagonicum* diklorometanlı toprak üstü ekstresine ait YPSK kromatogramı



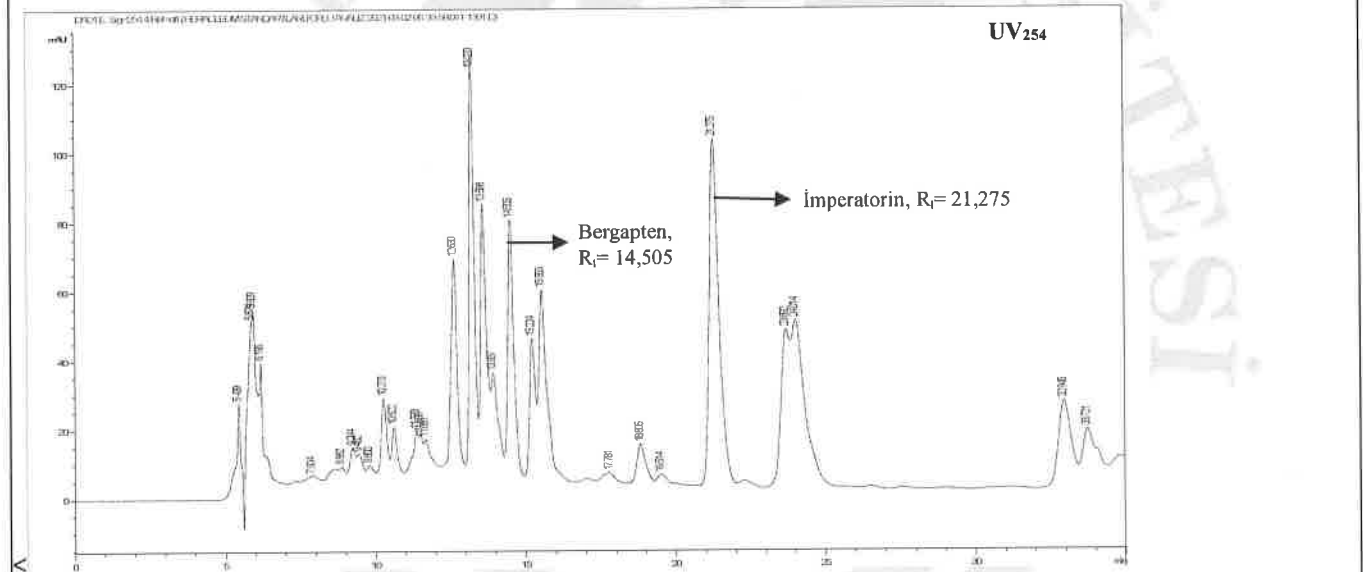
Şekil 19. *H. sphondylium* subsp. *ternatum* diklorometanlı kök ekstresine ait YPSK kromatogramı



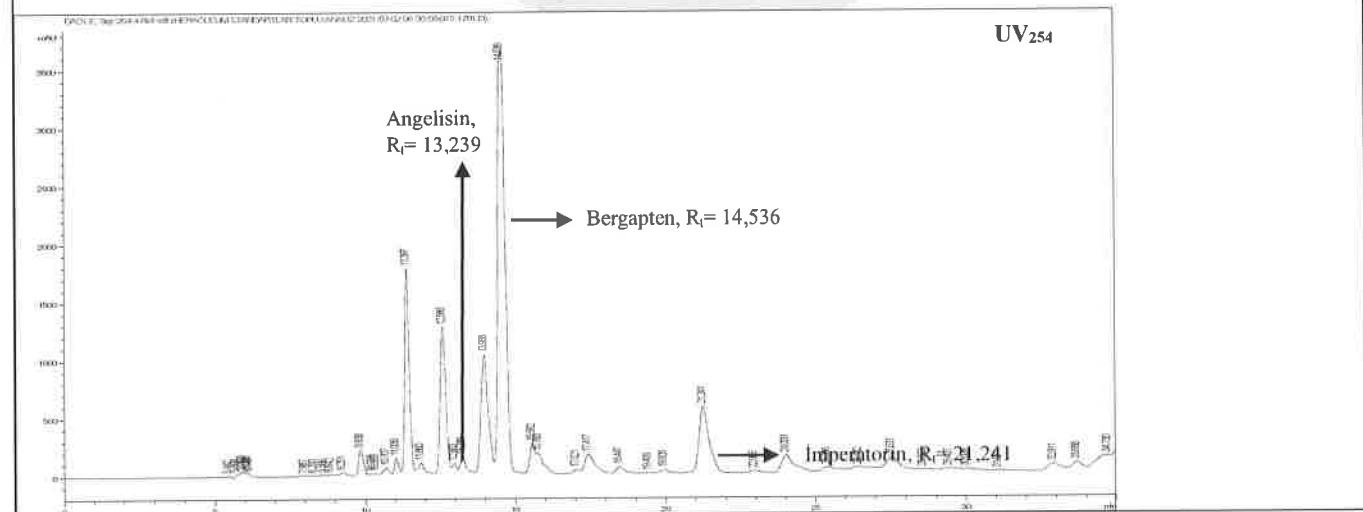
Şekil 20. *H. sphondylium* subsp. *ternatum* diklorometanlı toprak üstü ekstresine ait YPSK kromatogramı

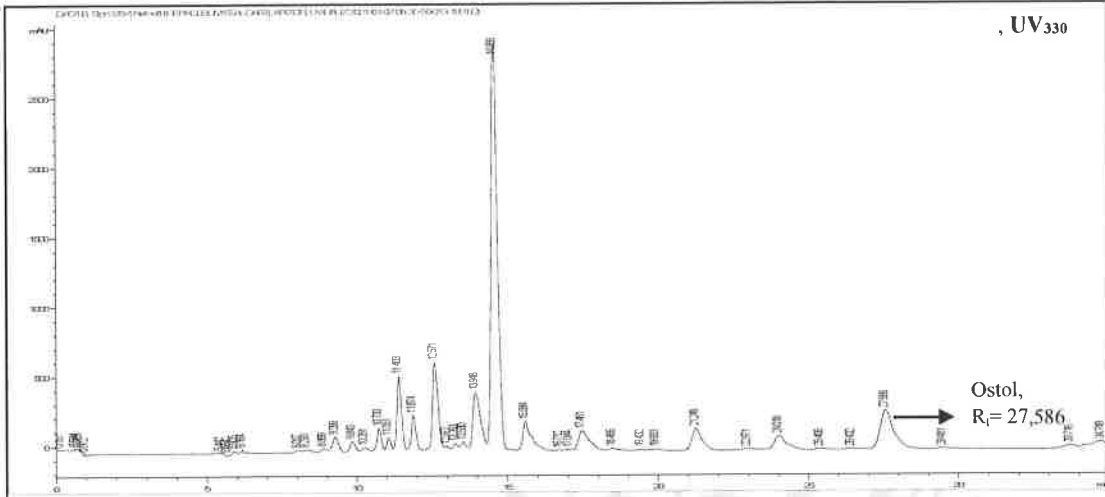


Şekil 21. *H. sphondylium* subsp. *montanum* diklorometanlı kök ekstresine ait YPSK kromatogramı

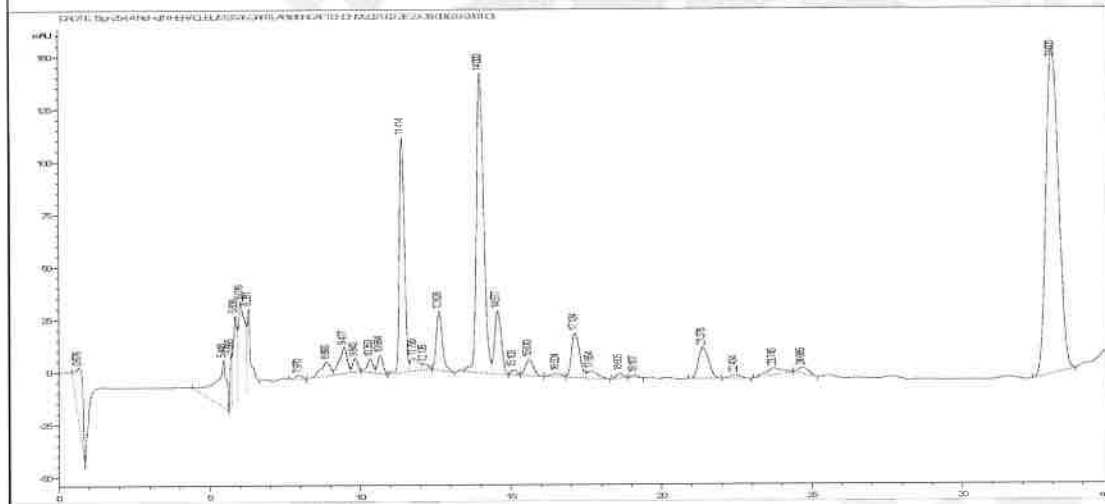


Şekil 22. *H. sphondylium* subsp. *montanum* diklorometanlı toprak üstü ekstresine ait YPSK kromatogramı



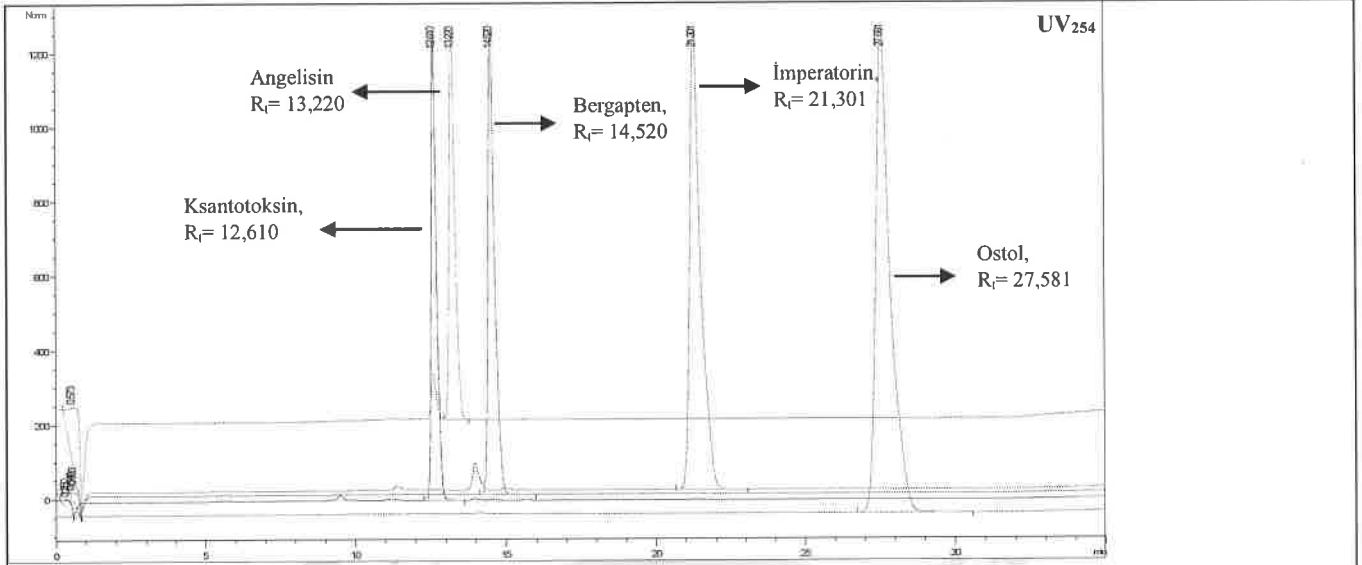


Şekil 23. *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* diklorometanlı kök ekstresine ait YPSK kromatogramı



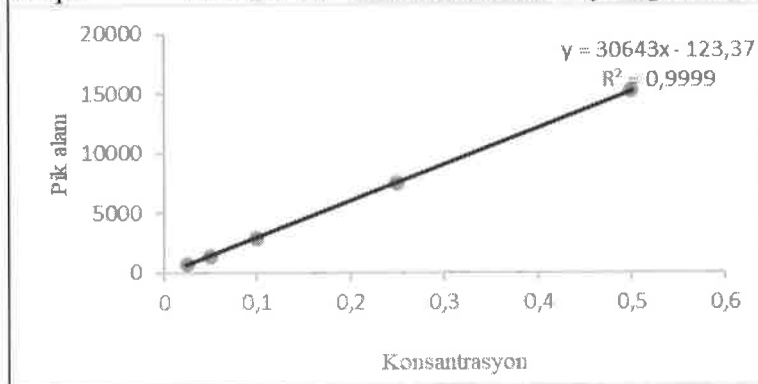
Şekil 24. *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* diklorometanlı toprak üstü ekstresine ait YPSK kromatogramı

*H. paphlagonicum* köklerinin diklorometanlı ekstresinde angelisin ve bergapten; *H. sphondylium* subsp. *ternatum* köklerinin diklorometanlı ekstresinde ksantotoksin ve bergapten; *H. sphondylium* subsp. *montanum* köklerinin diklorometanlı ekstresinde ksantotoksin, angelisin ve bergapten; *H. sphondylium* subsp. *montanum* toprak üstü kısımlarının diklorometanlı ekstresinde imperatorin ve bergapten; *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometanlı ekstresinde imperatorin, angelisin, bergapten ve ostol tespit edildi ve kantitatif YPSK analizleri yapıldı. Tespit edilen maddelere ait YPSK kromatogramı Şekil 25'te verilmiştir.

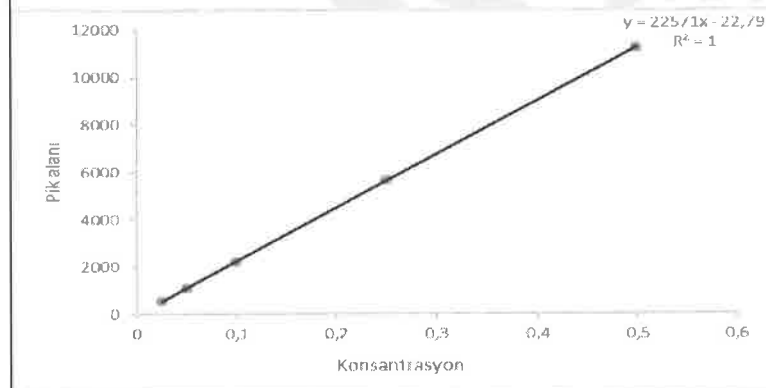


Şekil 25. *Heracleum* ekstralarında tespit edilen kumarinlerin YPSK kromatogramları

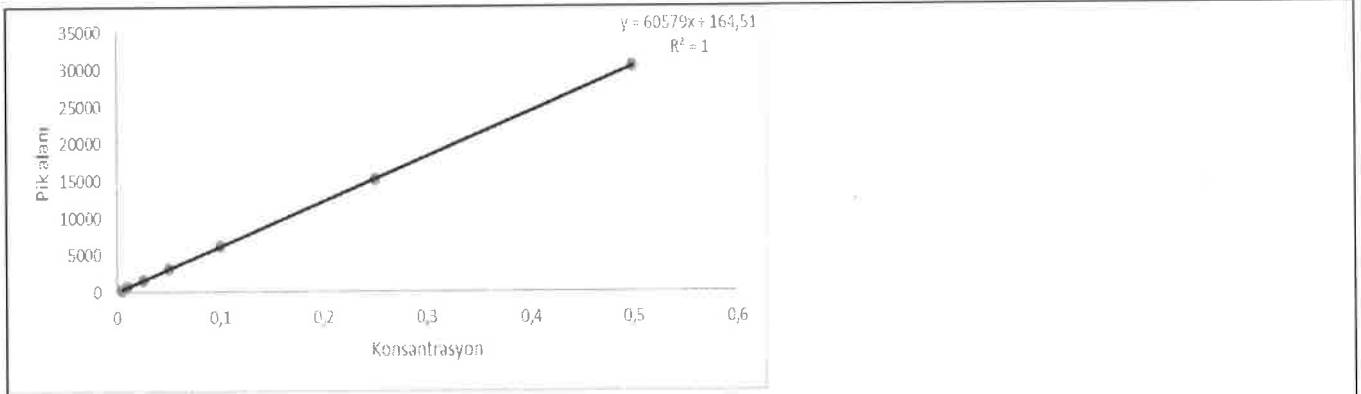
Tespit edilen kumarin türevlerine ait kalibrasyon grafikleri ve denklemleri Şekil 26-30'da verilmiştir.



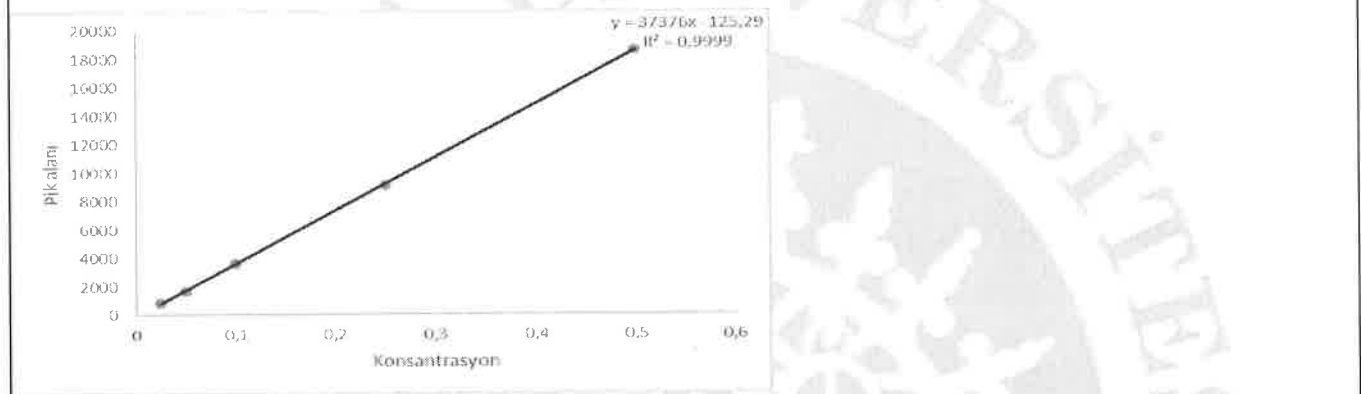
Şekil 26. Ksantotoksin kalibrasyon grafiği ve denklemi



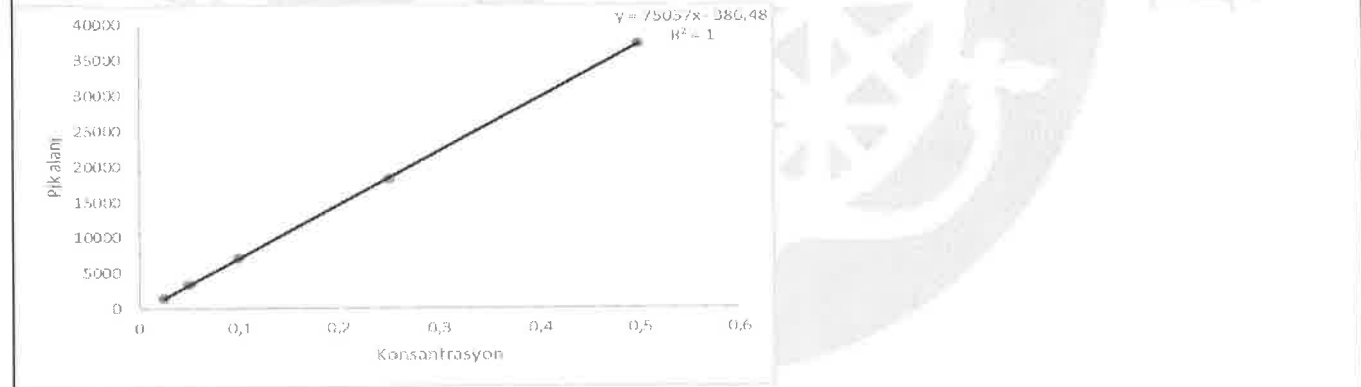
Şekil 27. Angelisin kalibrasyon grafiği ve denklemi



Şekil 28. Bergapten kalibrasyon grafiği ve denklemleri



Şekil 29. İmperatorin kalibrasyon grafiği ve denklemleri



Şekil 30. Ostol kalibrasyon grafiği ve denklemleri

Ekstrelerde maddelere ait pik alanları kalibrasyon denklemlerinde yerine konularak her bir ekstredeki maddelerin miktarı hesaplandı. Madde miktarları ile maddelerin LOD ve LOQ değerleri Çizelge 10'da verilmiştir.

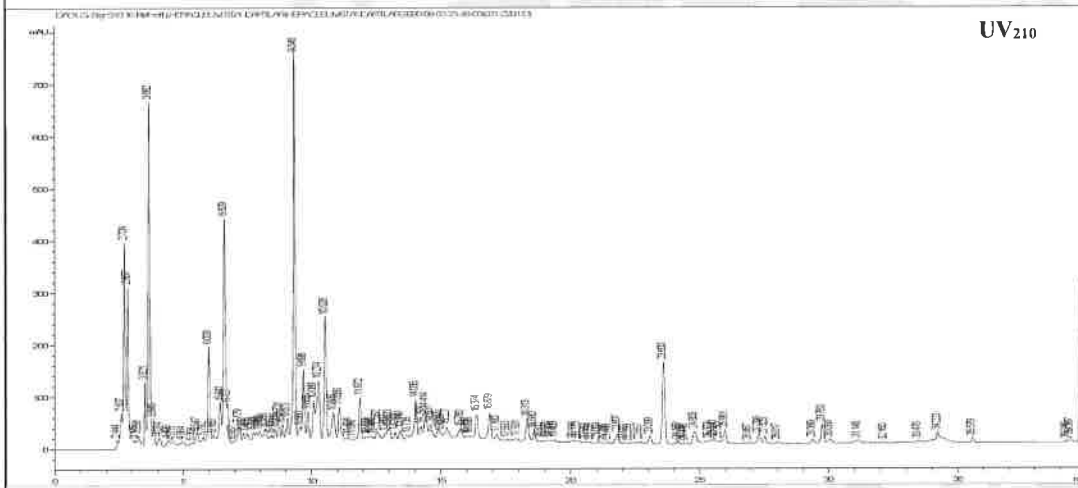
Diklorometanlı ekstrelerin kumarin içerikleri incelendiğinde ksantotoksin, angelisin, bergapten, imperatorin ve ostol varlığı görüldü. En yüksek bergapten ve imperatorin içeriği *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinde (%0,49 mg/g ve %0,14 mg/g) tespit edildi. *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerindeki ostol oranı %0,05 mg/g olarak bulundu. *H. sphondylium* subsp. *montanum* kökleri en yüksek ksantotoksin içeriğine (%0,06 mg/g), *H. paphlagonicum* kökleri ise en yüksek angelisin içeriğine (%0,04) sahip ekstreler olarak saptandı.

**Çizelge 10.** *Heracleum* türlerinde YPSK ile tespit edilen kumarin miktarları

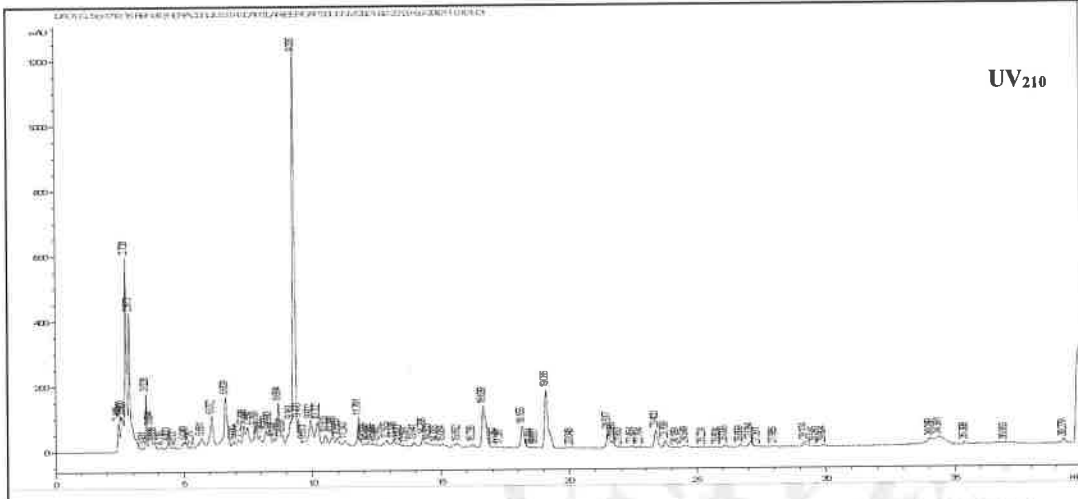
	Bitki kısımlarındaki madde miktarları (% mg/gr)				
	Ksantotoksin	Angelisin	Bergapten	İmperatorin	Ostol
HPK	-	0,0399±0,0001	0,0125±0,0001	-	-
HSTK	0,0361±0,0001	-	0,0089±0,0000	-	-
HSMK	0,0586±0,0001	0,0380±0,0006	0,0010±0,0000	-	-
HSMT	-	-	0,0047±0,0000	0,0238±0,0000	-
HSCK	-	0,0218±0,0001	0,4982±0,0015	0,1411±0,0093	0,0522±0,0006
LOD	0,00079	0,00079	0,00044	0,00022	0,00559
LOQ	0,0024	0,0024	0,00147	0,00075	0,01863

HPK: *H. paphlagonicum* kök, HSTK: *H. sphondylium* subsp. *ternatum* kök, HSMK: *H. sphondylium* subsp. *montanum* kök, HSMT: *H. sphondylium* subsp. *montanum* toprak üstü, HSCK: *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* kök

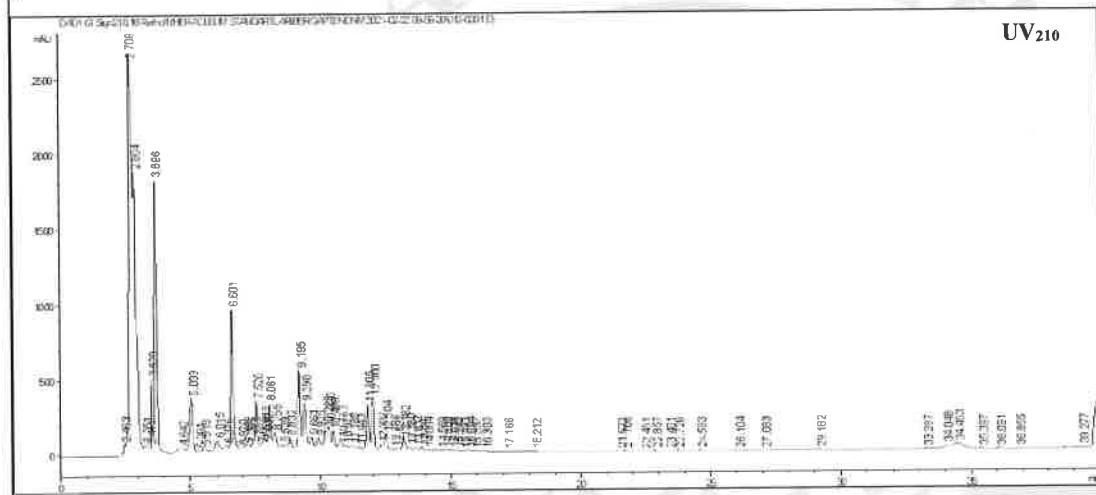
Metanollü ekstrelerin YPSK kromatogramları Şekil 31-38'de verilmiştir. Analizi yapılan flavonoid ve fenolik asit türevlerine test edilen ekstrelerde rastlanmadı.



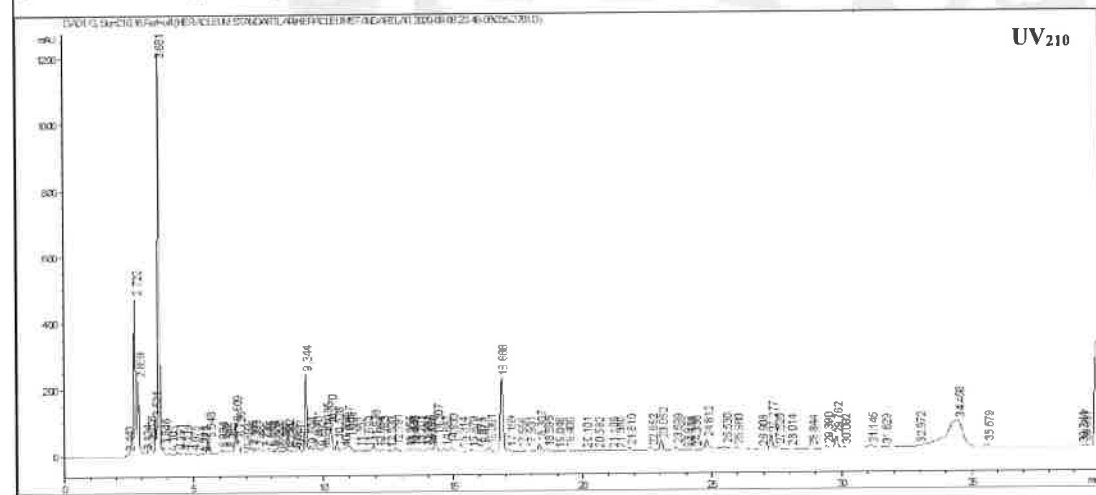




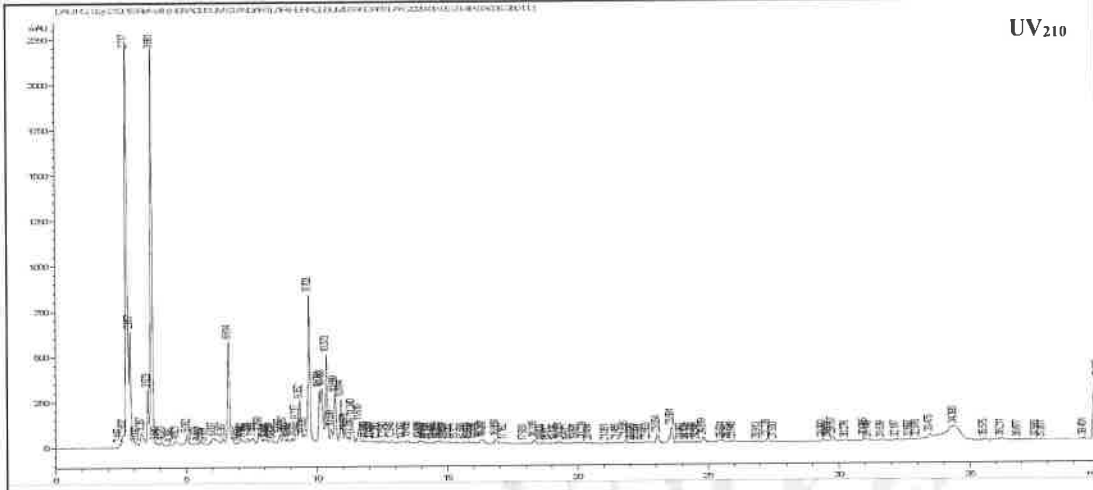
Şekil 33. *H. sphondylium* subsp. *ternatum* metanollü kök ekstresine ait YPSK kromatogramı



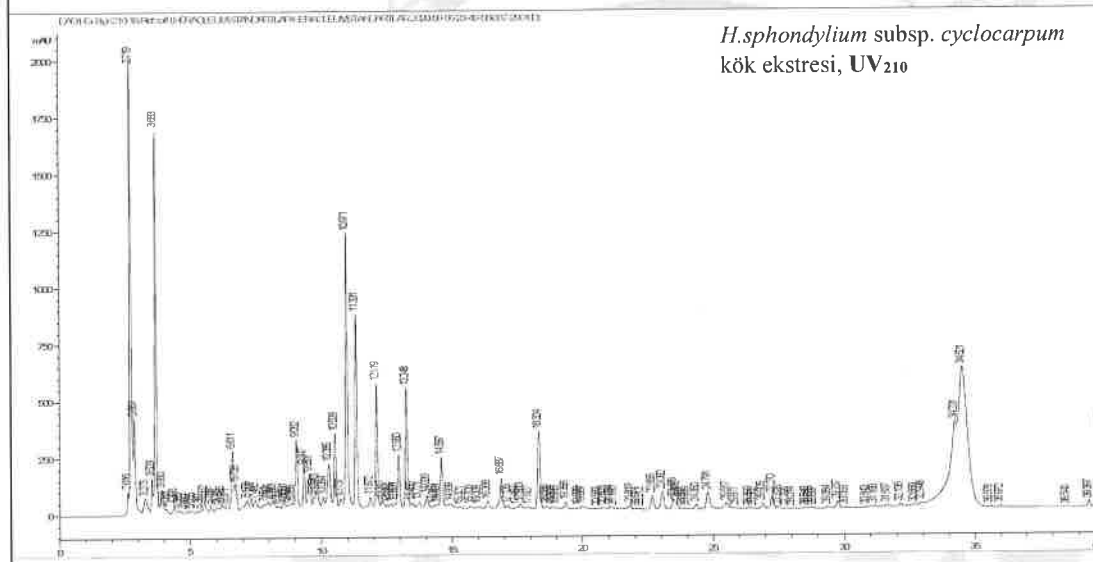
Şekil 34. *H. sphondylium* subsp. *ternatum* metanollü toprak üstü ekstresine ait YPSK kromatogramı



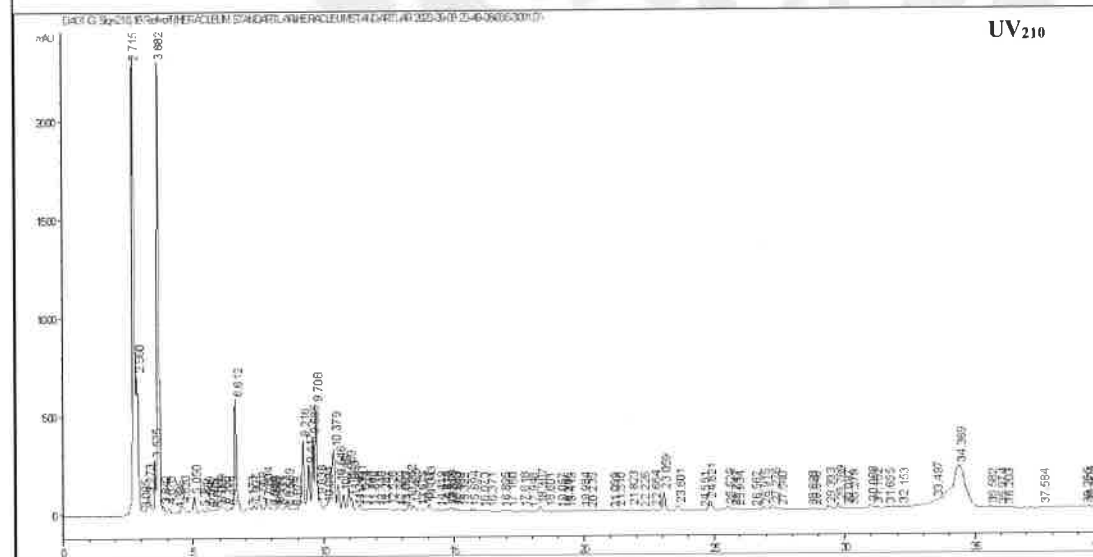
Şekil 35. *H. sphondylium* subsp. *montanum* metanollü kök ekstresine ait YPSK kromatogramı



Şekil 36. *H. sphondylium* subsp. *montanum* metanollü toprak üstü ekstresine ait YPSK kromatogramı



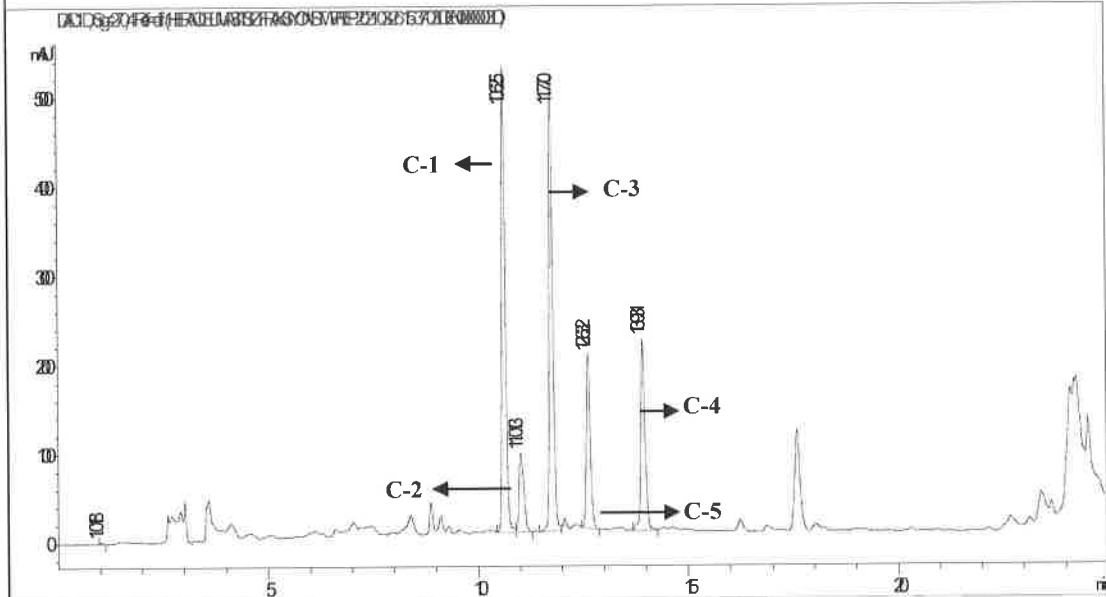
Şekil 37. *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* metanollü kök ekstresine ait YPSK kromatogramı



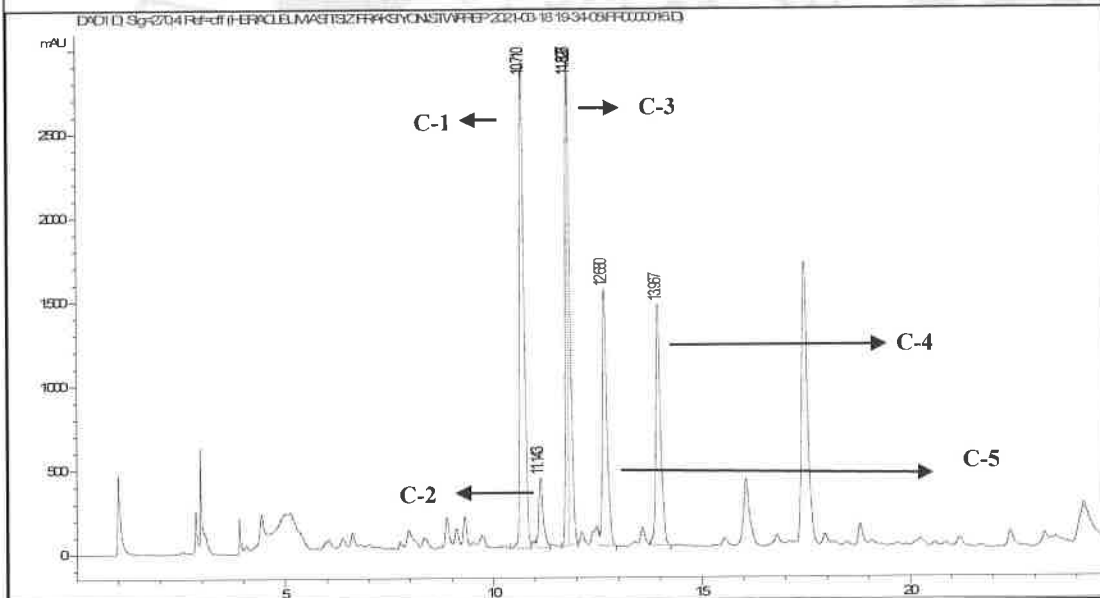
Şekil 38. *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* metanollü toprak üstü ekstresine ait YPSK kromatogramı

Diklorometanlı ekstrenin en yüksek aktiviteye sahip 127-140 numaralı fraksiyonuna ait YPSK

kromatogramı Şekil 39'da, metanollü ekstrenin aktivitesi en yüksek fraksiyon grubu 1-10 numaralı fraksiyona ait YPSK kromatogramı Şekil 40'ta verilmiştir. Kromatogramlarda ayrıca izole edilen bileşikler gösterilmiştir. İki fraksiyondan izole edilen bileşiklerin her iki fraksiyonda da bulunduğu tespit edilmiştir.



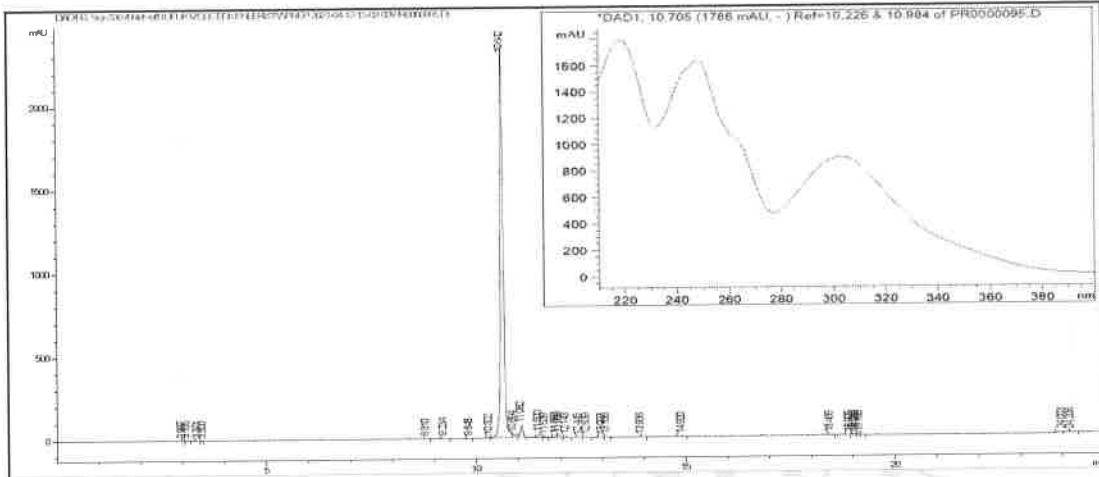
Şekil 39. Diklorometanlı ekstrenin 127-140 numaralı fraksiyonuna ait YPSK kromatogramı



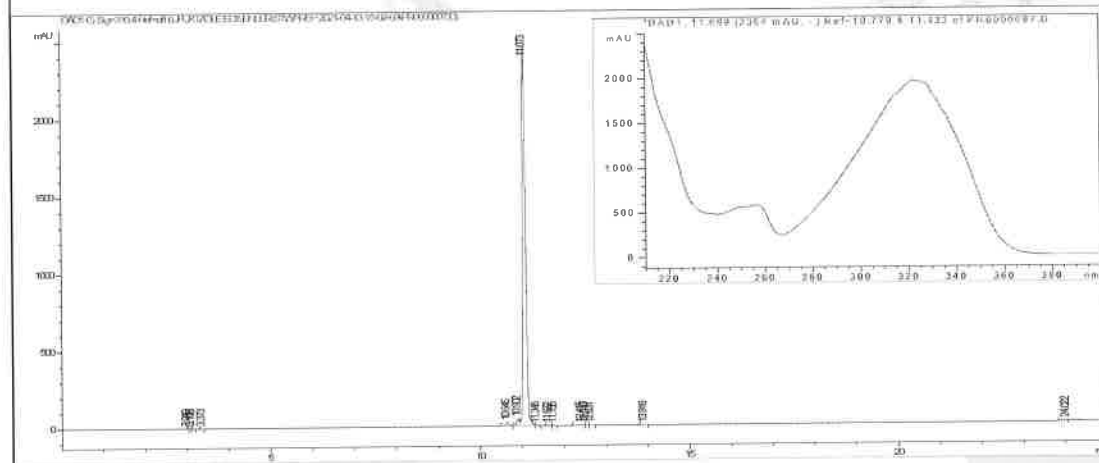
Şekil 40. Metanollü ekstrenin 1-10 numaralı fraksiyonuna ait YPSK kromatogramı

İzole edilen maddelerin YPSK kromatogramları ile UV spektrumları Şekil 41-45'te gösterilmiştir.

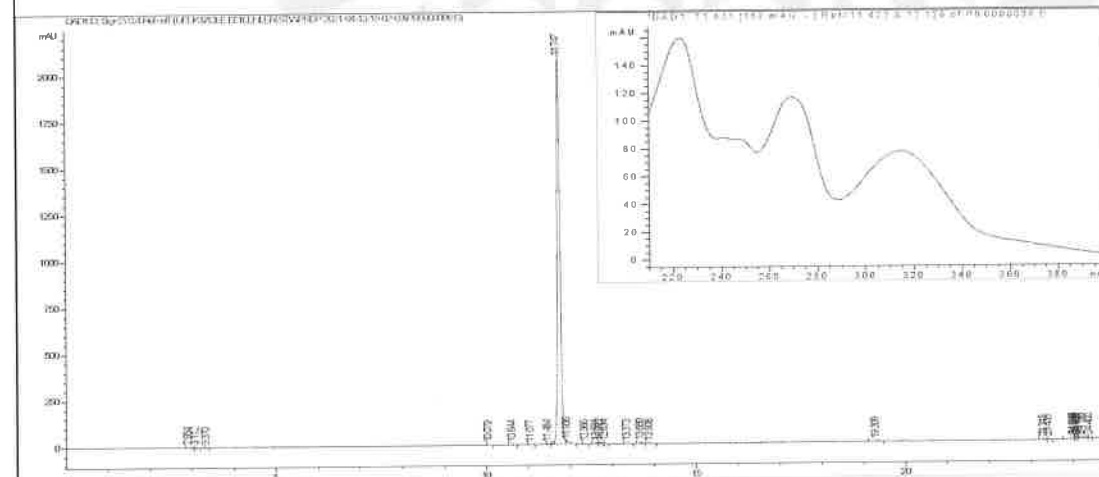
## EK-11 Sonuç Raporu Formatı



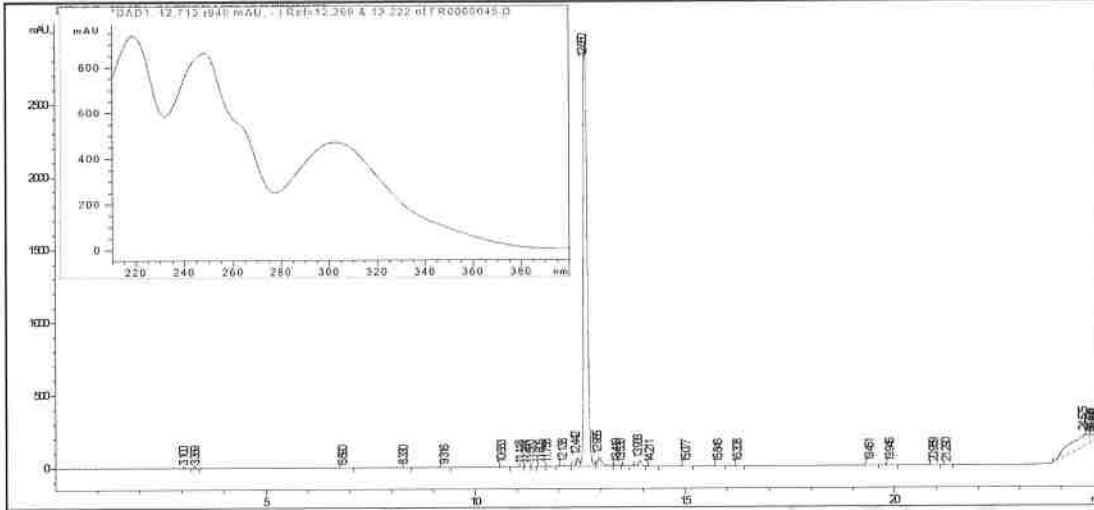
Şekil 41. C-1 bileşiğine ait YPSK kromatogramı ve UV spektrumu



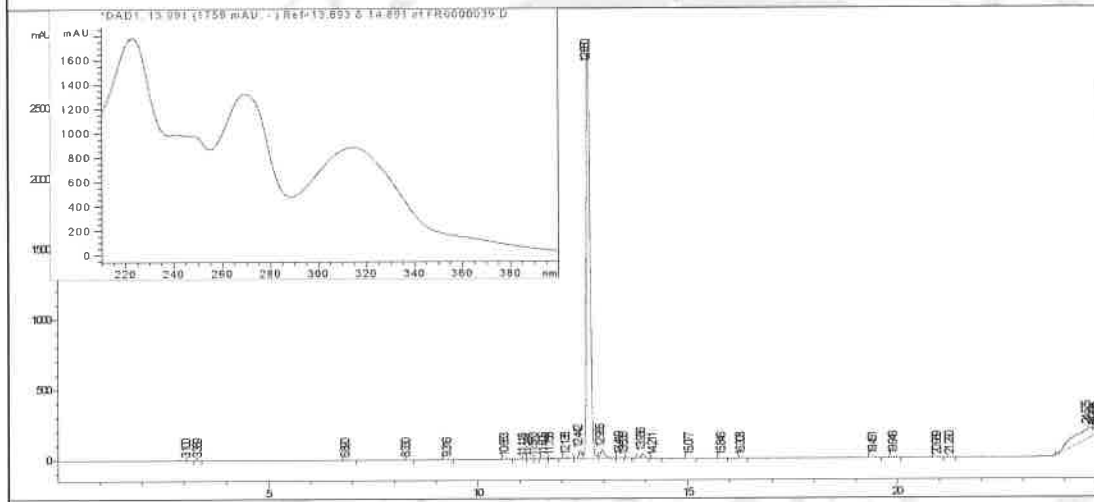
Şekil 42. C-2 bileşiğine ait YPSK kromatogramı ve UV spektrumu



Şekil 43. C-3 bileşiğine ait YPSK kromatogramı ve UV spektrumu



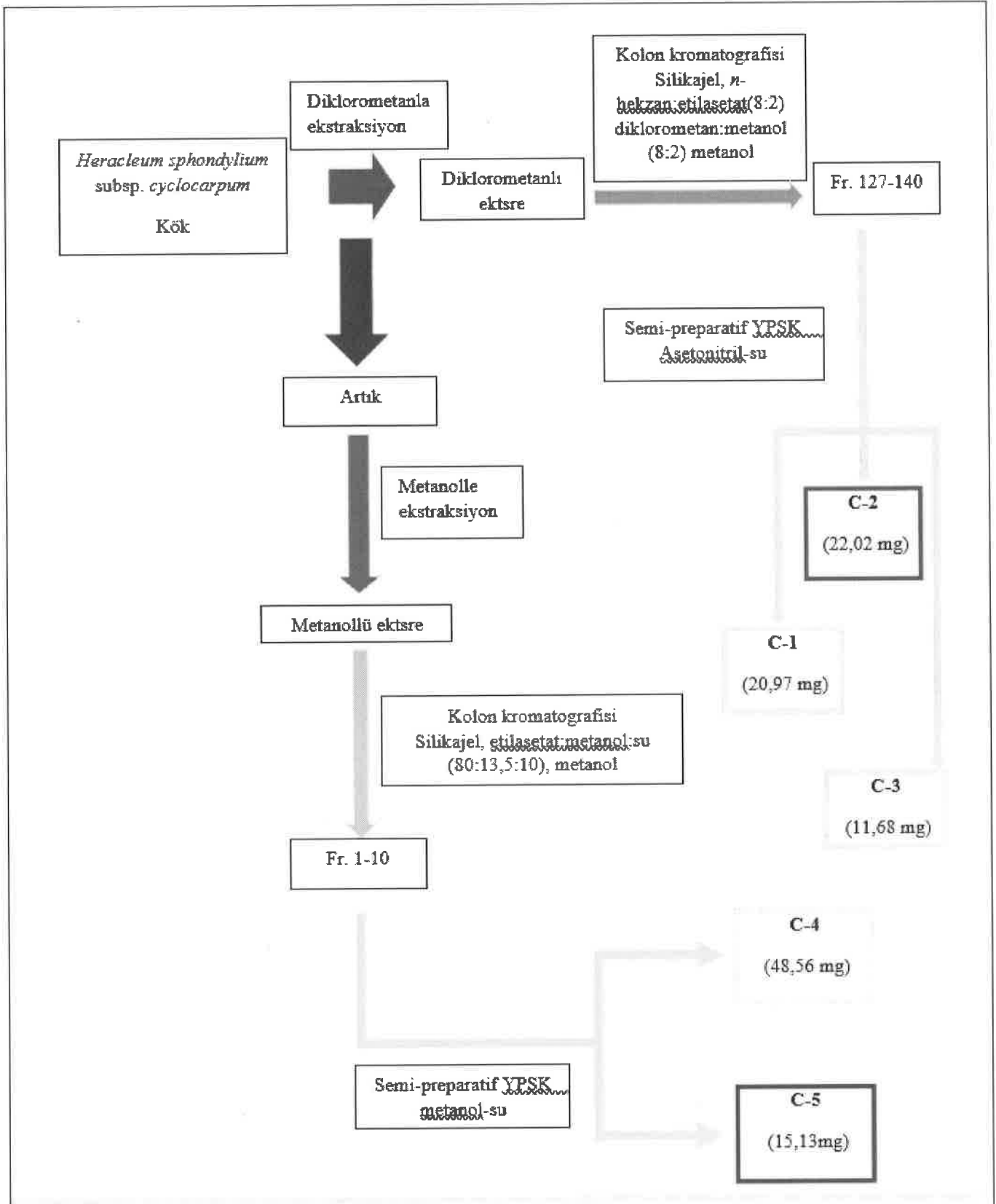
Şekil 44. C-4 bileşiğine ait YPSK kromatogramı ve UV spektrumu



Şekil 45. C-5 bileşiğine ait YPSK kromatogramı ve UV spektrumu

### Semi-Preparatif Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi Uygulamalarına Ait Bulgular

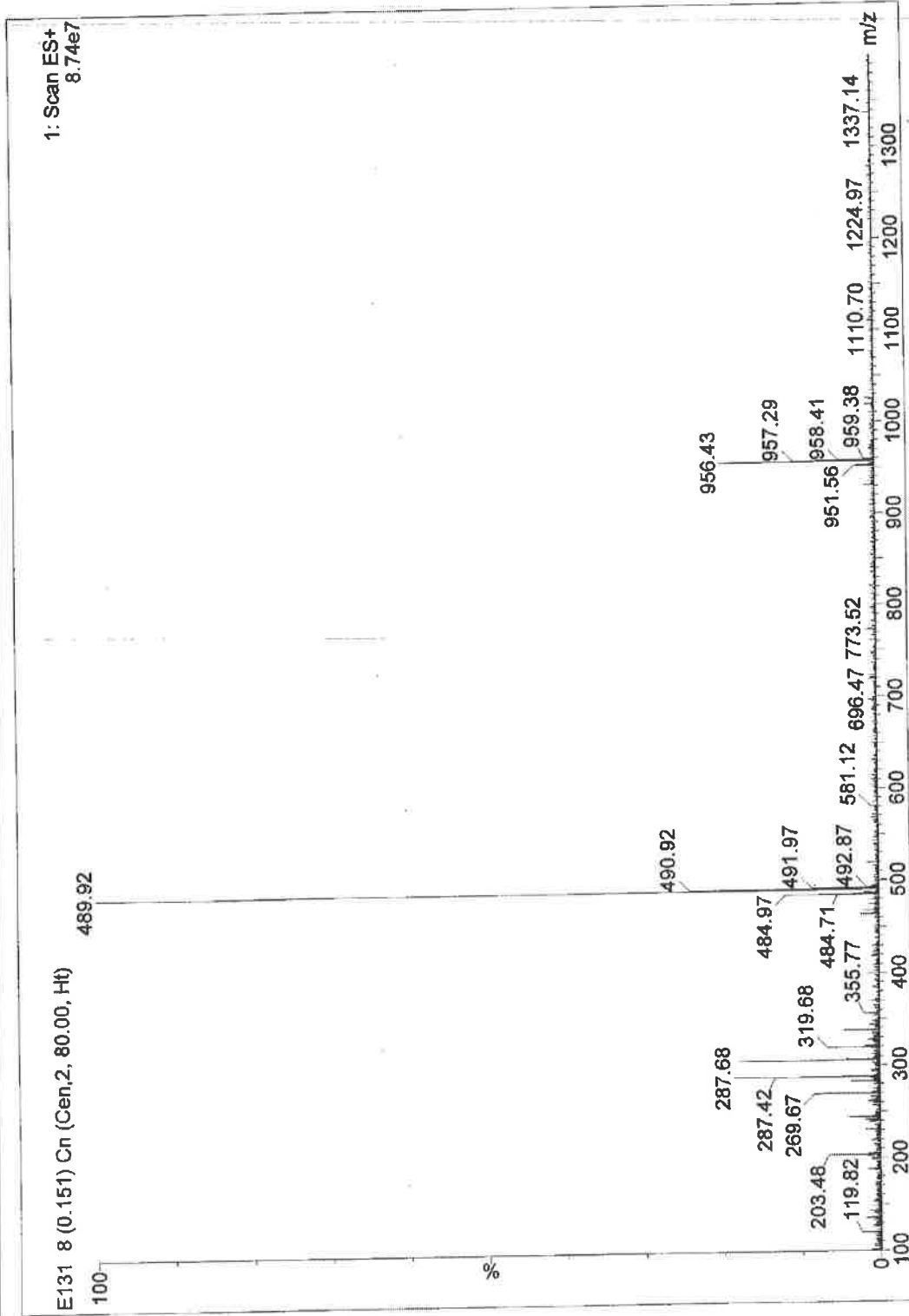
*H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometanlı ekstresine ait 127-140 numaralı fraksiyondan semi-preparatif YPSK ile C-1 (20,97 mg), C-2 (22,02 mg) ve C-3 (11,68 mg) bileşikleri izole edilmiştir. Metanollü ekstrenin 1-10 numaralı fraksiyonundan C-4 (48,56 mg) ve C-5 (15,13 mg) bileşikleri izole edilmiştir. C-1, C-2, C-3, C-4, C-5 bileşiklerine ait izolasyon şeması Şekil 46'da gösterilmiştir.



Şekil 46. *H. spondylium* subsp. *cyclocarpum* kök ekstrelerinden izole edilen C-1, C-2, C-3, C-4 ve C-5 bileşiklerine ait izolasyon şeması

**Yapı Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular****C-1 Bileşiğinin Yapı Tayini**

C-1 bileşiğine ait kütle spektrumu Şekil 47'da verilmiştir.  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR ile 2D NMR spektrumları Şekil 48-53'te verilmiştir. C-1 bileşiğinin  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR bulguları Çizelge 11'de gösterilmiştir.



Şekil 47. C-1 bileşiğine ait kütle spektrumu







E-131

Sample Name:  
E-131

Data Collected on:  
marcmz400-marcmz400

Archive directory:  
/home/vms1/vmsays/data

Sample directory:  
E-131\_0210423\_01

F1DF11: current

Pulse Sequence: CARRPM (s2pr1)

Solvent: cd3od

Data collected on: Apr 23 2021

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vms1

Pulpr. delay 1.000 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.304 sec

Width 25129.6 Hz

3648 transmits

CARRIER C13, 100.6240838 MHz

DECOUPLE H1, 400.1776324 MHz

Power 38 db

continuously on

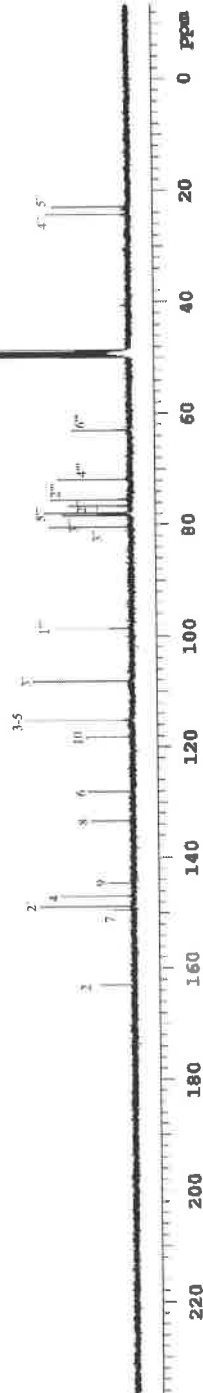
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

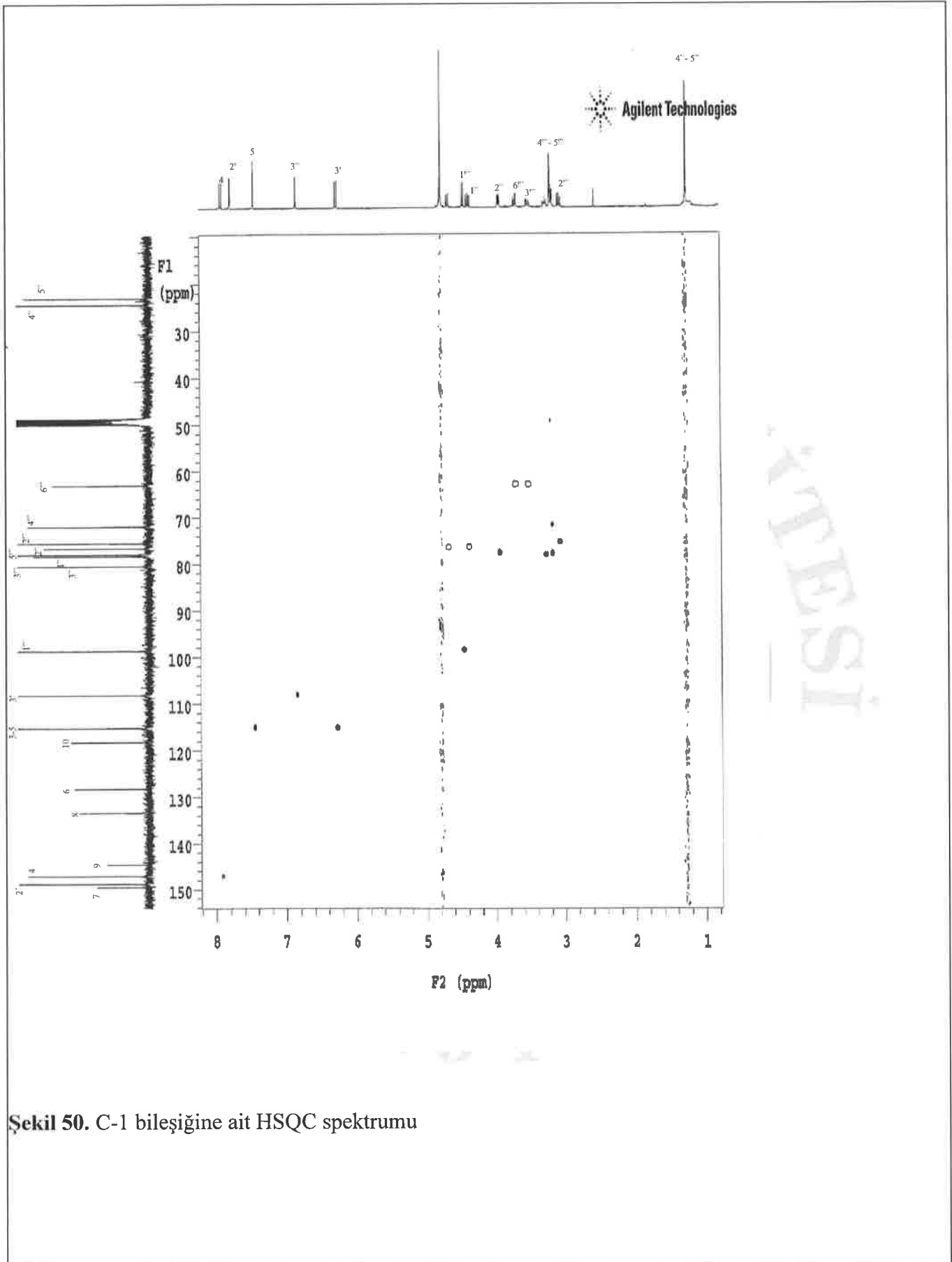
FT size 65836

Scal time 2 hr, 39 min



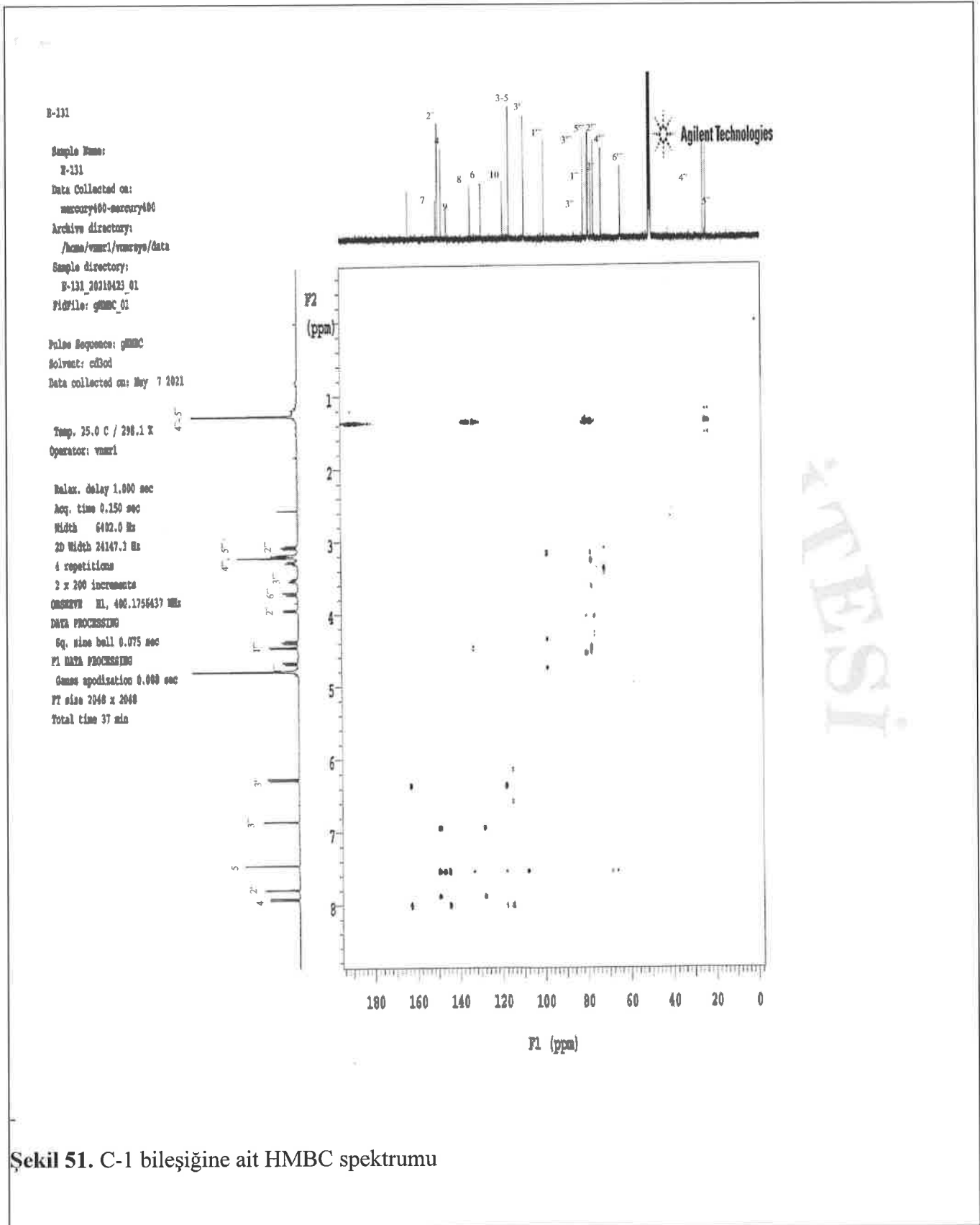
KİTAPSI

Şekil 49. C-1 bileşiğine ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu

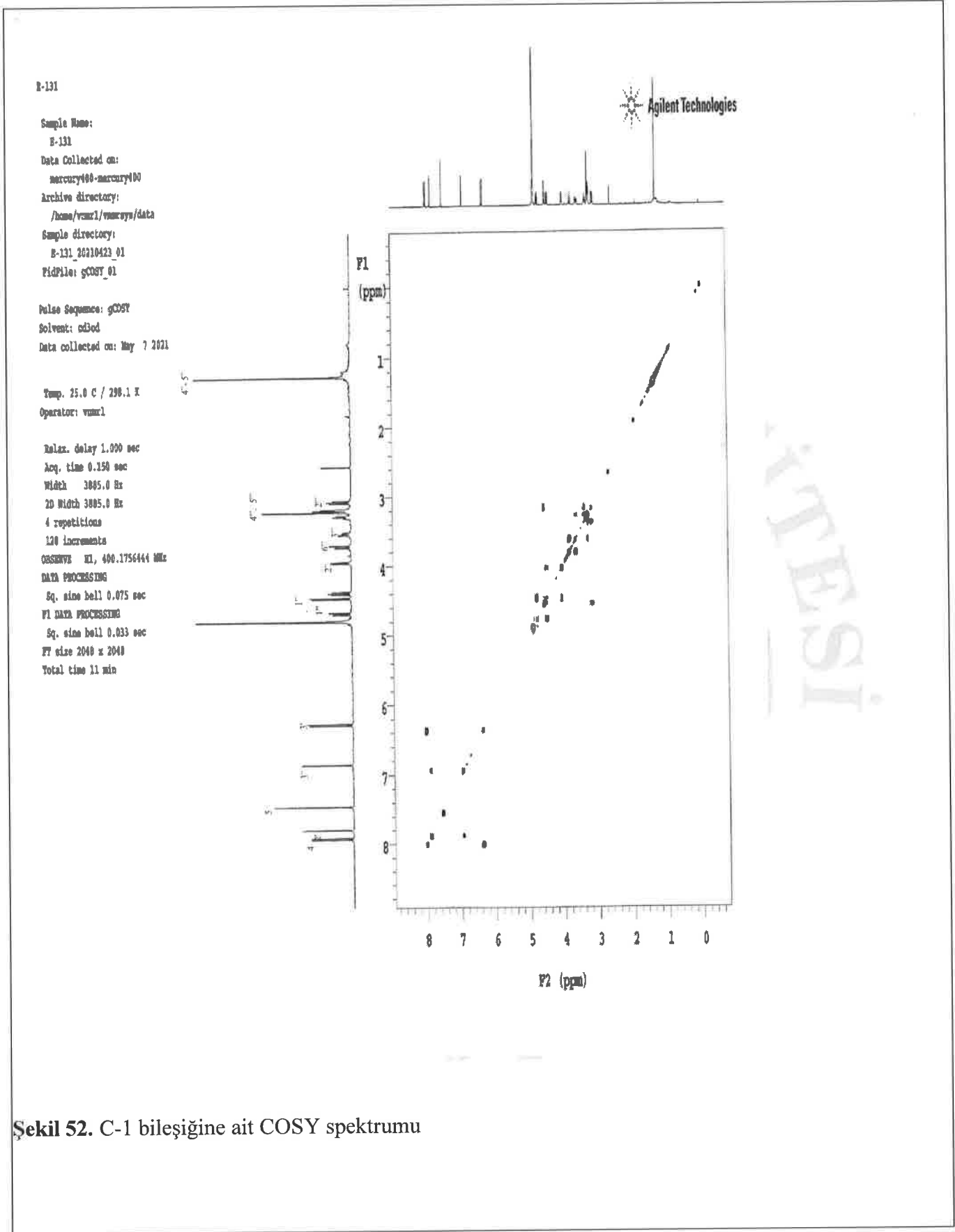


Şekil 50. C-1 bileşiğine ait HSQC spektrumu

# EK-11 Sonuç Raporu Formatı

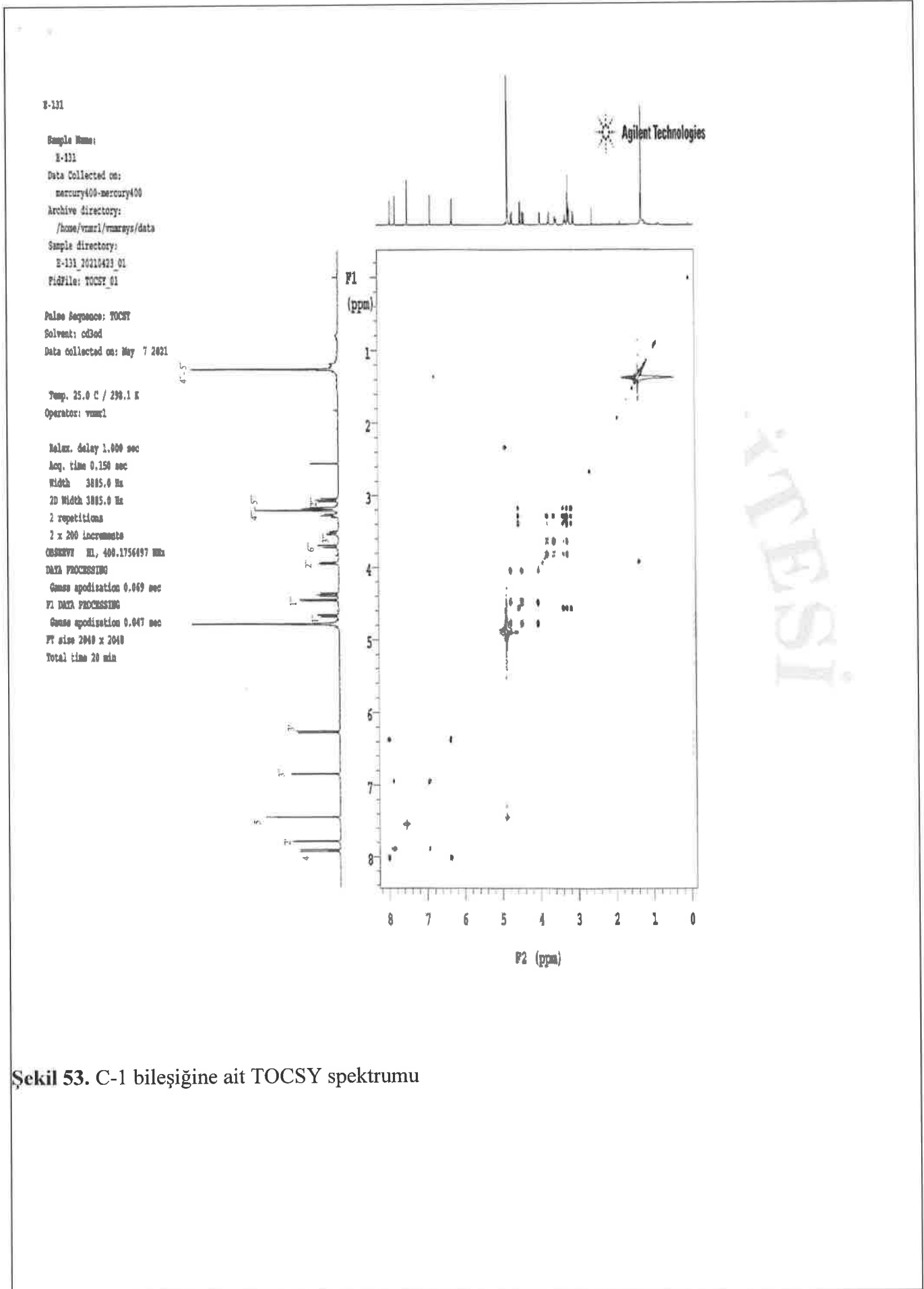


# EK-11 Sonuç Raporu Formatı



Şekil 52. C-1 bileşiğine ait COSY spektrumu

# EK-11 Sonuç Raporu Formatı

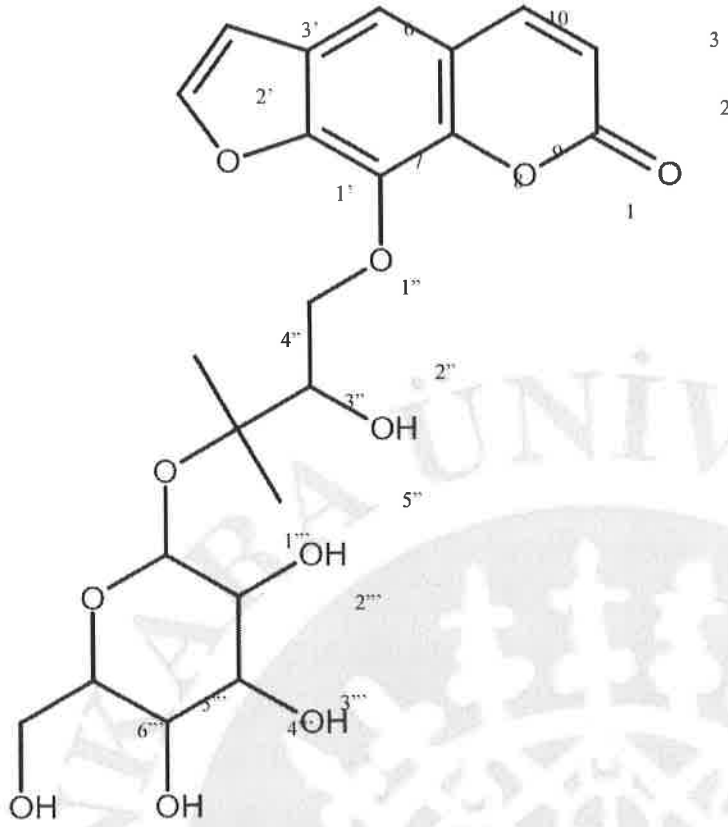


Şekil 53. C-1 bileşiğine ait TOCSY spektrumu

Çizelge 11. C-1 bileşiğinin <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR bulguları

Kimyasal kayma	Proton	C	δ (ppm)
-	-	-	-
-	-	C-2	162,954
6,26 (1H, d, <i>J</i> = 10)	H-3	C-3	115,168
7,90 (1H, d, <i>J</i> = 9,6)	H-4	C-4	146,936
7,44 (1H, s)	H-5	C-5	115,168
-	-	C-6	128,115
-	-	C-7	149,482
-	-	C-8	133,334
-	-	C-9	144,605
-	-	C-10	118,115
-	-	-	-
7,77 (1H, d, <i>J</i> =2)	H-2'	C-2'	148,720
6,84 (1H, d, <i>J</i> =2)	H-3'	C-3'	108,157
4,37 (1H, dd, <i>J</i> =8; 9,2); 4,67 (1H, dd, <i>J</i> =2,4; 10,4)	H-1''	C-1''	76,564
3,93 (1H, dd, <i>J</i> =2; 8)	H-2''	C-2''	77,829
-	-	C-3''	80,382
1,25 (3H, s)	H-4''	C-4''	24,933
1,25 (3H, s)	H-5''	C-5''	24,282
4,45 (1H, d, <i>J</i> = 8,0)	H-1'''	C-1'''	98,617
3,06 (1H, dd, <i>J</i> = 8,0; 9,2)	H-2'''	C-2'''	75,413
3,27 (1H, m)	H-3'''	C-3'''	78,263
3,18 (1H, m)	H-4'''	C-4'''	71,840
3,18 (1H, m)	H-5'''	C-5'''	77,913
3,51 (1H, m), 3,71 (1H, dd, <i>J</i> =1,2; 11,2)	H-6'''	C-6'''	62,970

C-1 bileşiğinin <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR spektrumları incelendiğinde (Çizelge 3.3.), δ6,26 (1H, d, *J*= 10), δ7,90 (1H, d, *J*= 9,6) ppm'lerde gözlenen karakteristik dubletler kumarin yapısını işaret etmiştir. δ162,954 ppm'de gözlenen karbon sinyali ise kumarin iskeletinin karbonil grubu için karakteristik olup kumarin yapısını doğrulamıştır. Bileşiğe ait diğer aromatik protonlar δ7,44 ppm'de singlet, δ7,77 (*J*=2) ve δ6,84 (*J*=2) ppm'de iki ayrı dublet olarak görülmüştür. δ7,77 ve δ6,84 protonları ise kumarin halkasına kondanse bir furan halkasının varlığını ortaya koymuştur. Aromatik protonların yanı sıra δ4,37 (1H, dd, *J*=8; 9,2); δ4,67 (1H, dd, *J*=2,4; 10,4) ve δ3,93 (1H, dd, *J*=2; 8) ppm'de aromatik olmayan proton sinyalleri izlenmiştir. δ4,37 ve δ4,67 ppm'lerde dubletin dubleti olarak görülen proton sinyallerinin kimyasal kaymaları göz önünde bulundurularak oksijen atomuna bağlı -CH<sub>2</sub> grubuna ait olduğu belirlenmiş, HMBC spektrumunda δ133,334 ppm'de gözlenen karbon sinyali ile etkileşimi olduğu görülmüştür. δ3,06 ppm'de dubletin dubleti olarak gözlenen proton sinyalinin -CH<sub>2</sub> grubuna komşu karbondaki kimyasal kayma değeri ile anlaşılmıştır. δ1,25 ppm'de metil protonlarına ait iki singlet gözlenmiştir. HMBC verileri metil gruplarının δ80,382 ppm'deki karbona bağlandığını göstermiştir. δ4,45 (1H, d, *J*= 8,0) sinyali β-konumundan bağlı bir anomerik protonu işaret etmiştir. HMBC spektrumuna bakıldığında δ98,617 karbonuna bağlı bir ozon varlığı anlaşılmıştır. <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR bulguları ozon glikoz olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen bilgiler literatür verileriyle (Niu ve ark., 2002) karşılaştırılarak C-1 bileşiği "heraklenol-3''-O-β-glikozit" olarak tayin edilmiştir (Şekil 54).

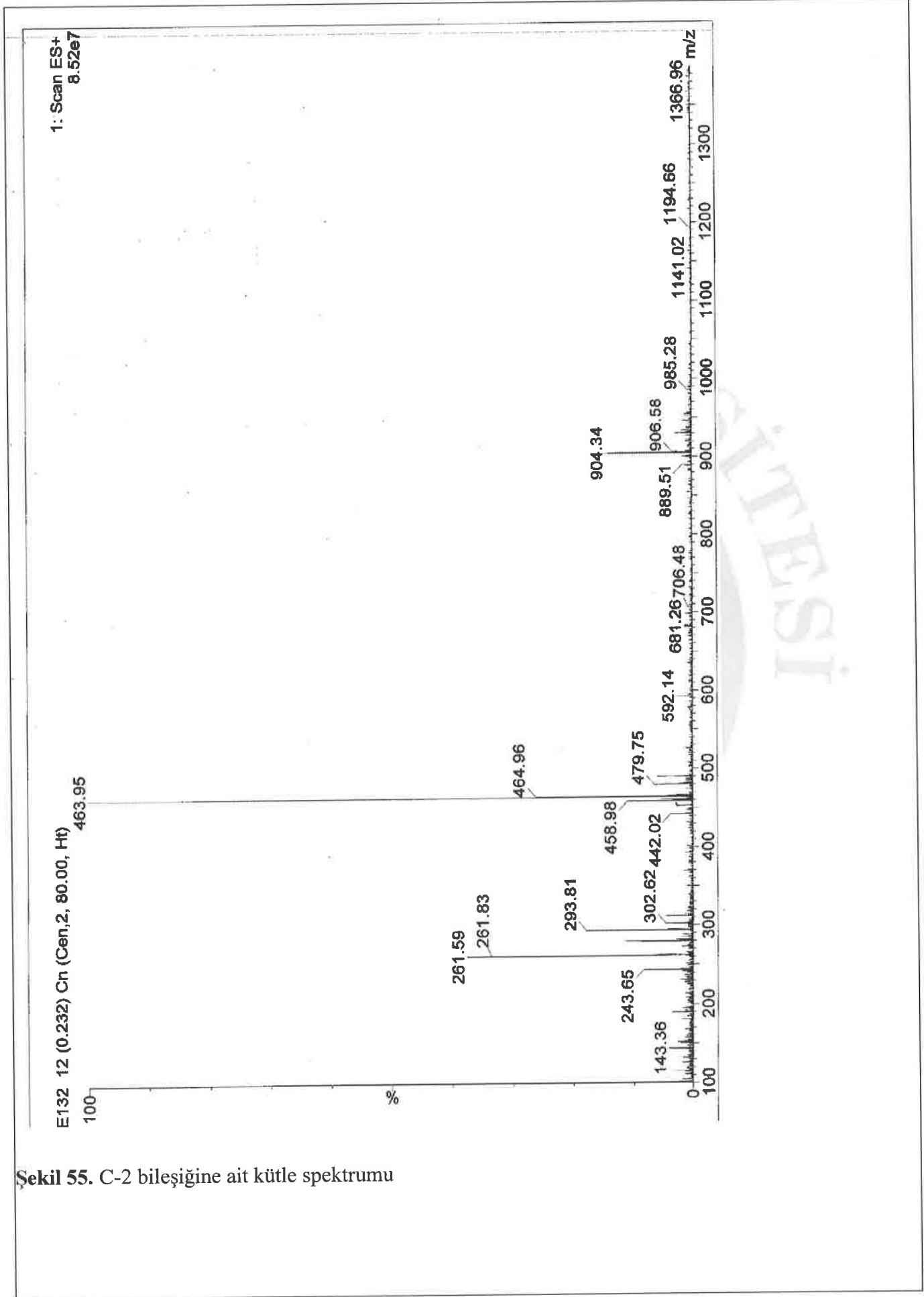


Molekül Adı	Heraklenol-3''-O-β-glikozit
Molekül Ağırlığı	466
Molekül Formülü	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> O <sub>11</sub>
Özelliği	Sarı, yağimsı

Şekil 54. C-1 bileşiğinin yapı tayini bulguları

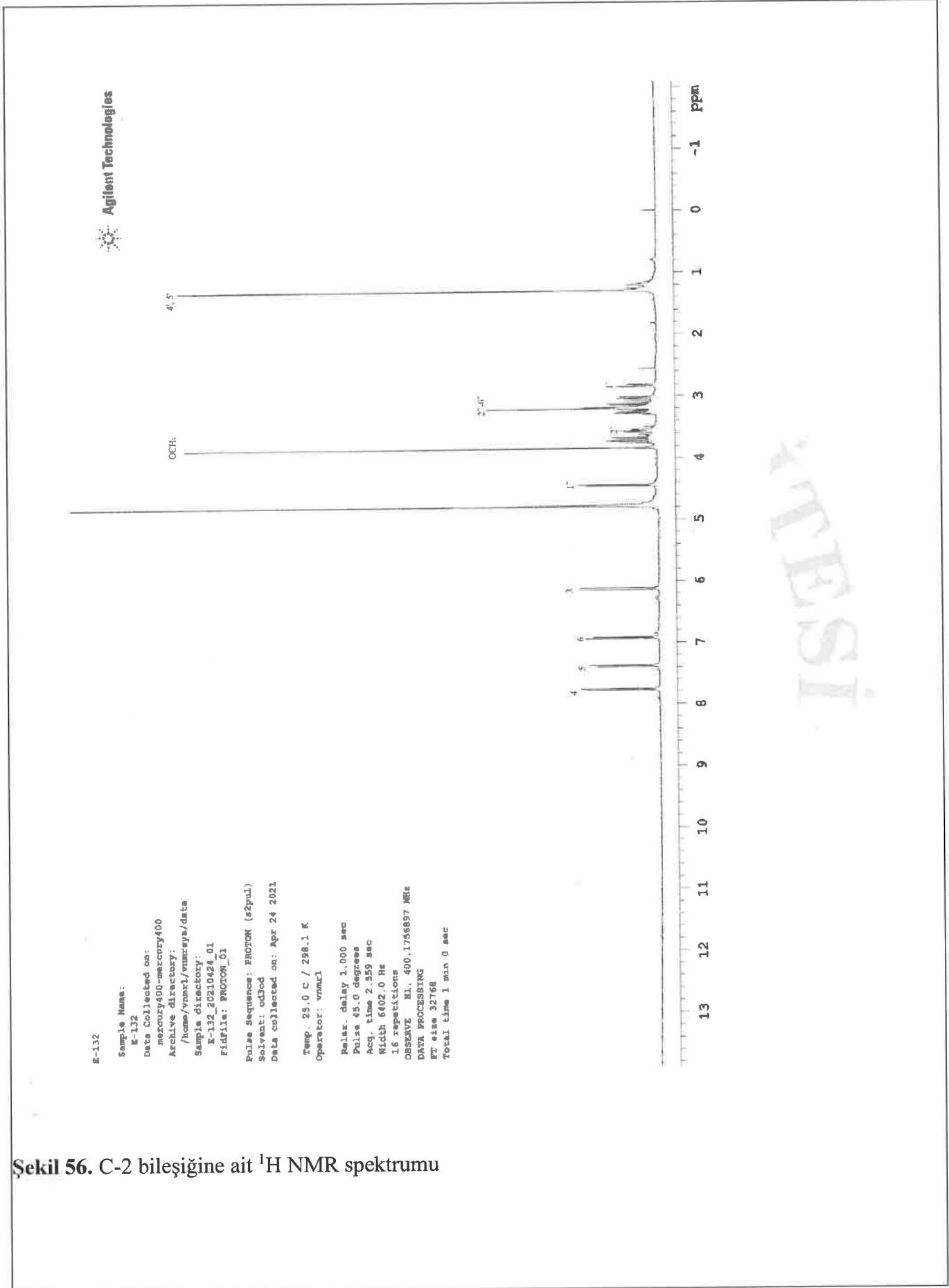
### C-2 Bileşiğinin Yapı Tayini

C-2 bileşiğine ait kütle spektrumu ile <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR ile 2D NMR spektrumları Şekil 55-61'de verilmiştir. <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR bulguları Çizelge 12'de sunulmuştur. C-2 bileşiğinin yapı tayini bulguları Şekil 62'de gösterilmiştir.



Şekil 55. C-2 bileşiğine ait kütle spektrumu





Şekil 56. C-2 bileşiğine ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu



# EK-11 Sonuç Raporu Formatı

E-132

Sample Name:

E-132

Data Collected on:

mercury(0)-mercury(0)

Archive directory:

/home/vmm1/vmmops/data

Sample directory:

E-132\_20210424\_01

File: gssqc\_02

Pulse Sequence: gssqc

Solvent: cd3od

Data collected on: May 8 2021

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vmm1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 6402.0 Hz

2D Width 17105.0 Hz

8 repetitions

2 x 128 increments

CBSXWZ H1, 400.1756824 MHz

DECOUPLE C13, 100.6317945 MHz

Power 45 dB

on during acquisition

off during delay

GARF-1 modulated

DATA PROCESSING

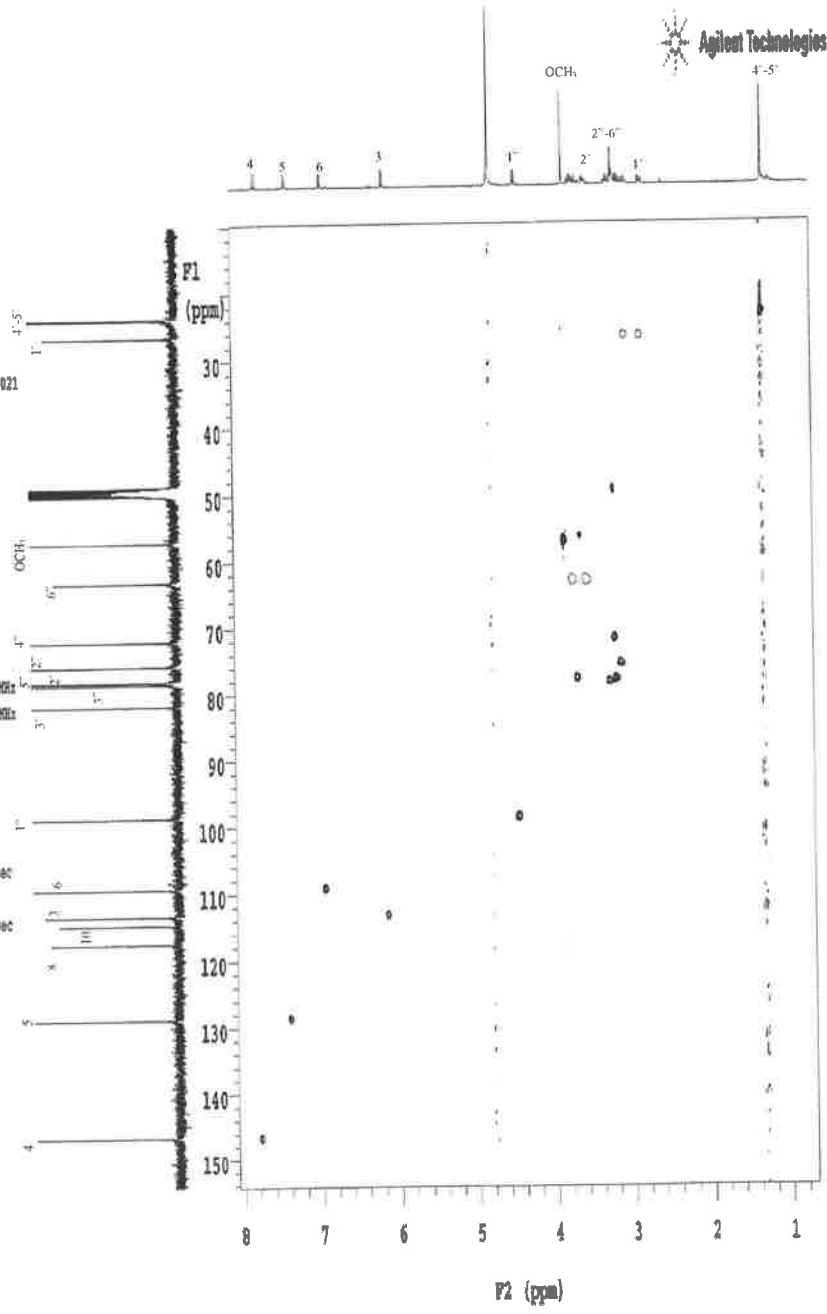
Gauss apodization 0.065 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.007 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 44 min



Şekil 58. C-2 bileşiğine ait HSQC spektrumu

# EK-11 Sonuç Raporu Formatı

E-132

Sample Name:

E-132

Data Collected on:

mercury400-mercury400

Archive directory:

/home/vnmr1/vnmrsys/data

Sample directory:

E-132 20210424\_01

FidFile: gHMBC\_01

Pulse Sequence: gHMBC

Solvent: cd3od

Data collected on: May 7 2021

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 6402.0 Hz

2D Width 24147.3 Hz

4 repetitions

2 x 200 increments

OBSERVE H1, 400.1756474 MHz

DATA PROCESSING

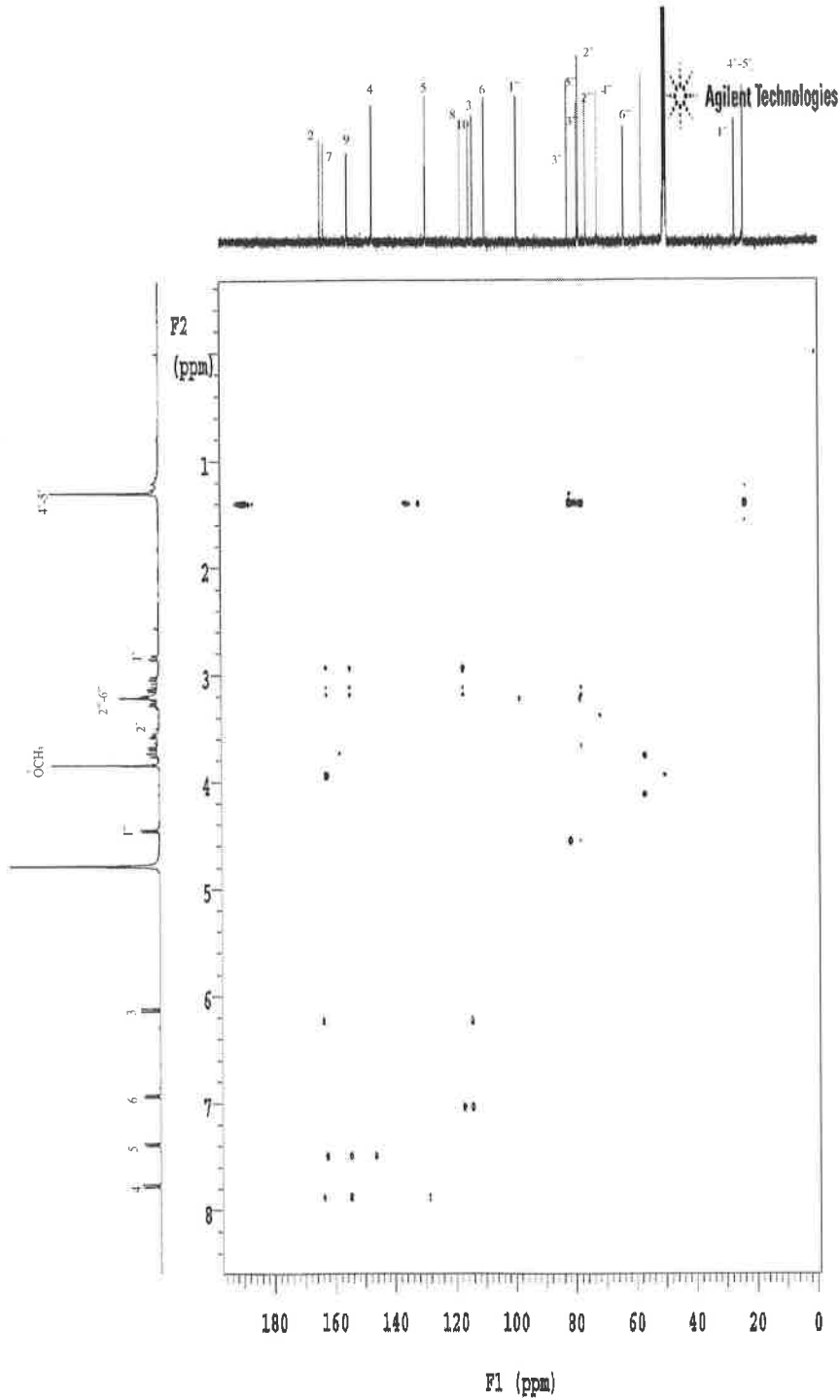
Sq. sine bell 0.075 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.008 sec

FT size 2048 x 2048

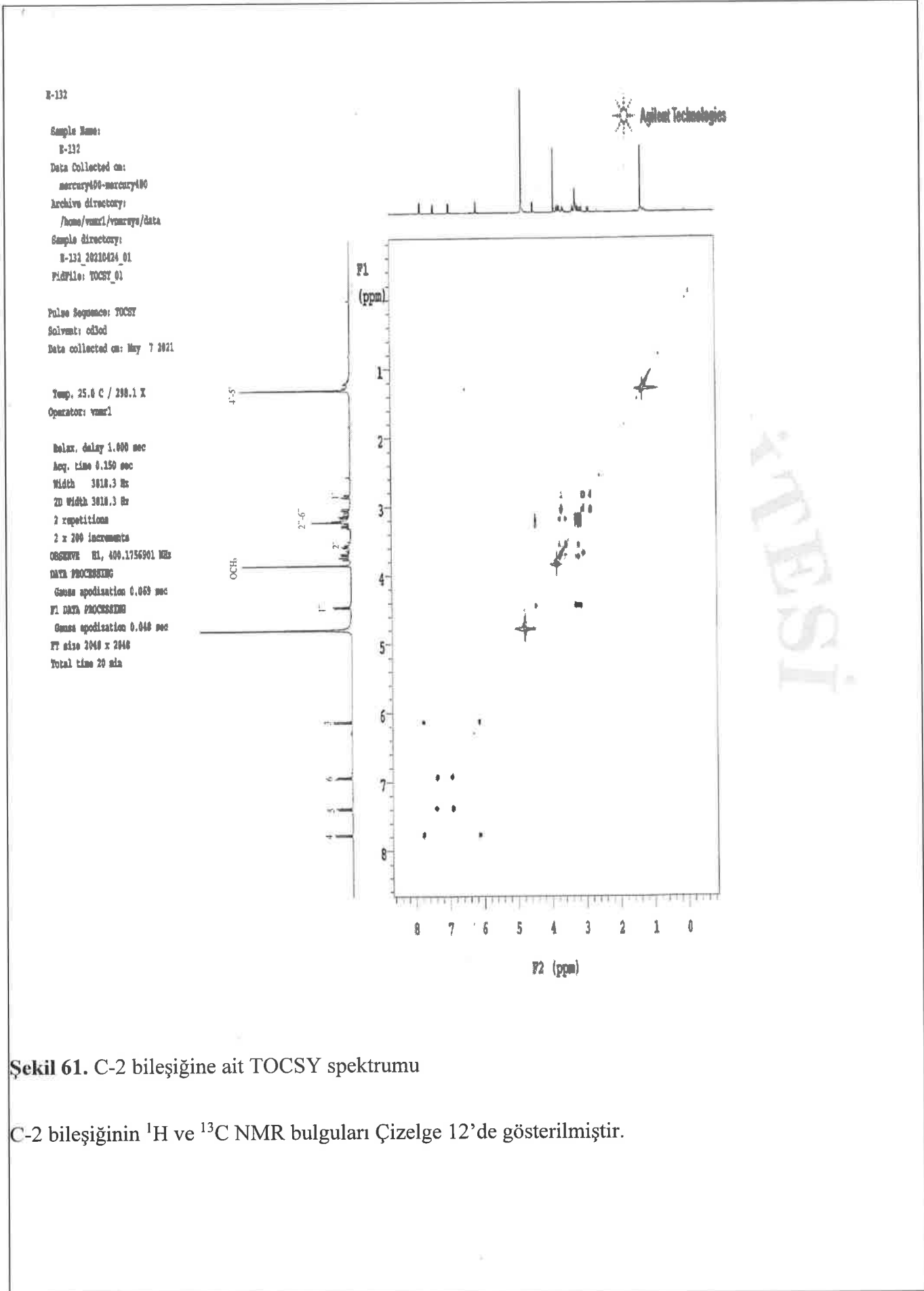
Total time 37 min



Sekil 59. C-2 bileşiğine ait HMBC spektrumu



## EK-11 Sonuç Raporu Formatı



Şekil 61. C-2 bileşiğine ait TOCSY spektrumu

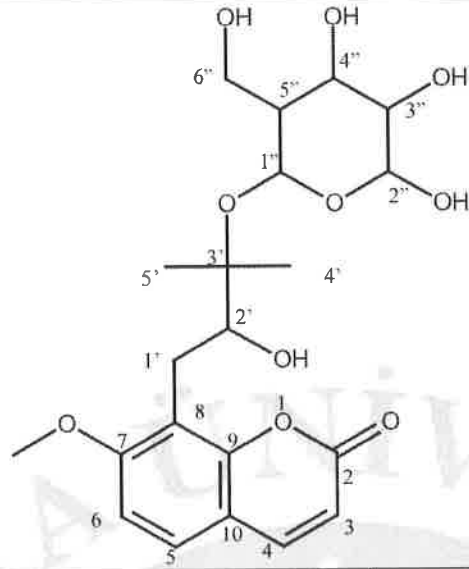
C-2 bileşiğinin  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR bulguları Çizelge 12'de gösterilmiştir.

EK-11 Sonuç Raporu Formatı

Çizelge 12. C-2 bileşiğinin <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR bulguları

Kimyasal kayma	Proton	C	δ (ppm)
-	-	-	-
-	-	C-2	163,842
6,12 (1H, d, <i>J</i> = 9,2)	H-3	C-3	113,226
7,76 (1H, d, <i>J</i> = 9,2)	H-4	C-4	146,546
7,38 (1H, d, <i>J</i> = 8,8)	H-5	C-5	128,659
6,92 (1H, d, <i>J</i> = 8,8)	H-6	C-6	109,177
-	-	C-7	162,679
-	-	C-8	117,294
-	-	C-9	154,885
-	-	C-10	114,510
2,83 (1H, dd, <i>J</i> =13,6; 2,4); 3,06 (1H, d, <i>J</i> =10,4)	H-1'	C-1'	26,269
3,68 (1H, dd, <i>J</i> =2,4; 10)	H-2'	C-2'	77,854
-	-	C-3'	81,600
1,29 (3H, s)	H-4'	C-4'	23,545
1,27 (3H, s)	H-5'	C-5'	23,404
4,45 (1H, d, <i>J</i> =7,6)	H-1"	C-1"	98,499
3,06 (1H, d, <i>J</i> =10)	H-2"	C-2"	75,534
3,25 (1H, m)	H-3"	C-3"	78,311
3,18, (1H, m)	H-4"	C-4"	71,822
3,10 (1H, m)	H-5"	C-5"	77,968
3,57, (1H, dd, <i>J</i> =5,2; 12; 3,73, dd, <i>J</i> =1,2; 12)	H-6"	C-6"	62,939
3,83 (3H, s)	7-OCH <sub>3</sub>	7-OCH <sub>3</sub>	56,913

C-2 bileşiğinin <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR spektrumları incelendiğinde 21 C atomu içerdiği görülmüştür. δ163,842 ppm'de gözlenen kumarin yapısının karbonil grubuna ait karakteristik karbon sinyali ile δ6,12 ve δ7,76 ppm'lerde *J*=9,2 değeriyle gözlenen dubletler kumarin iskeletinin varlığını ortaya koymuştur. δ7,38 ve δ7,76 sinyalleri ise kumarin iskeletine ait diğer aromatik protonları işaret etmiştir. δ3,83 (3H, s) ppm'de gözlenen metoksi sinyalinin HMBC spektrumunda δ162,679 ppm'deki karbon ile etkileştiği belirlenmiş ve metoksi grubunun iskelete 7. konumdan bağlandığı anlaşılmıştır. Bir diğer süstitüsyonun ise iskelete 8.konumdan bağlanan δ26,269 sinyalinin temsil ettiği C-1' karbonu olduğunu, H-1' protonlarının HMBC spektrumunda δ117,294 karbonuyla gösterdiği etkileşim ortaya koymuştur. C-2 bileşiğinin TOCSY spektrumu incelendiğinde δ26,269 protonlarının, δ2,83 (1H, dd, *J*=13,6; 2,4) ve δ3,06 (1H, d, *J*=10,4), δ77,854 protonuna komşu olduğu görülmüştür. δ1,293 (3H, s) ve δ1,271 (3H, s) sinyallerinin temsil ettiği metil protonları ile δ2,83 (1H, dd, *J*=13,6; 2,4); δ3,06 (1H, d, *J*=10,4); δ3,68 (1H, dd, *J*=2,4; 10) sinyalleri iki oksijen atomu bağlı alifatik butil grubunu göstermiştir. δ4.45 (1H, d, *J*= 7,6) δC 98.499 ppm'deki anomerik karbon sinyali şeker ünitesinin varlığını ifade etmiş, <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C şekerin glukoz olduğunu doğrulamıştır. Glukozun anomerik protonu δ4,45 *J*=7,6 değeriyle β konumundan bağlandığını göstermiştir. Literatür verileri ile karşılaştırıldığında C-2 bileşiğinin 3'-*O*-β-glikozilmeranzin hidrat olduğu ortaya çıkmıştır ve meranzin hidrat III olarak isimlendirilmiştir (Tian ve ark., 2019). C-2 bileşiğinin yapı tayini bulguları Şekil 62'de verilmiştir.



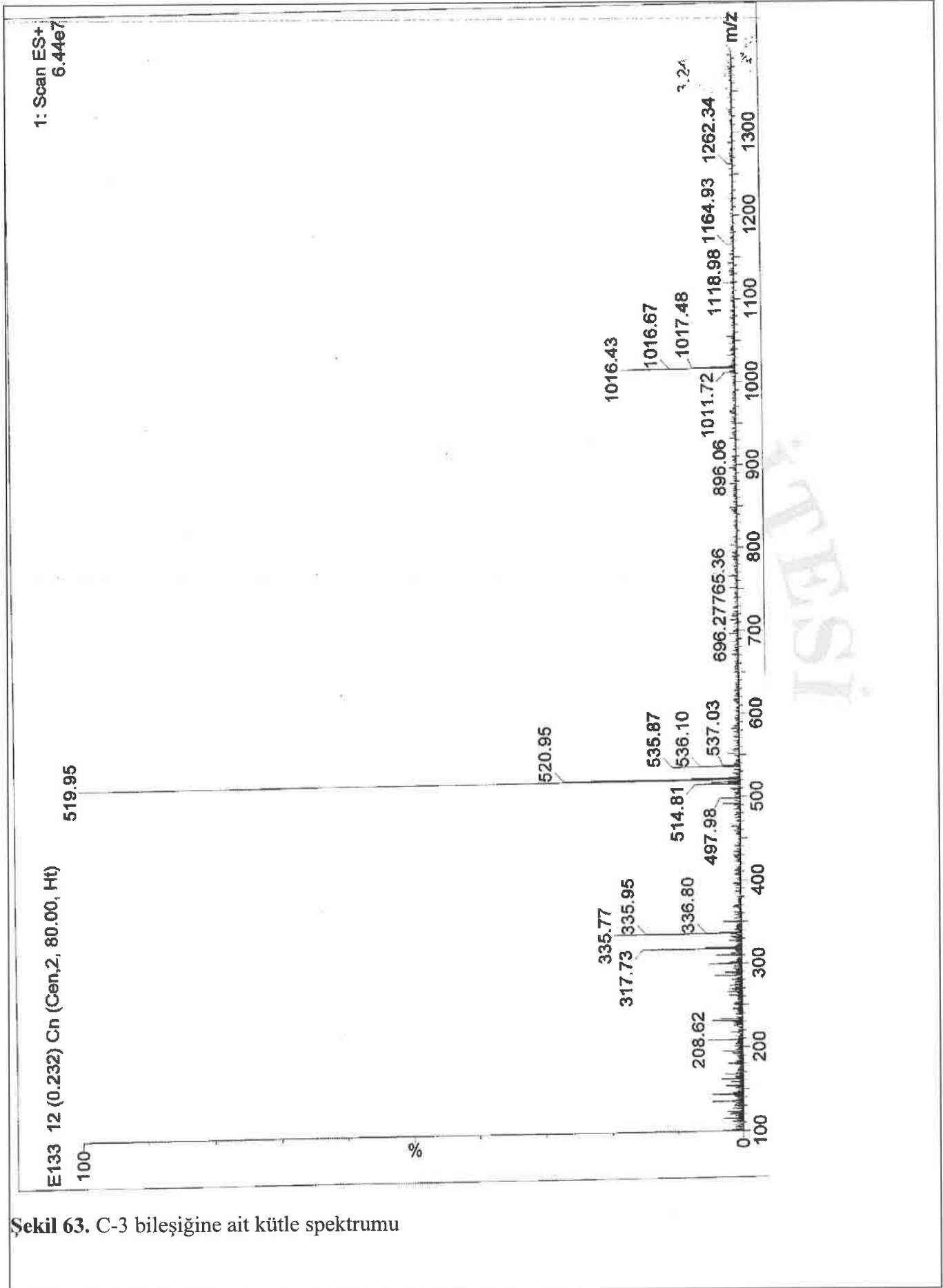
<b>Molekül Adı</b>	Meranzin hidrat III
<b>Molekül Ağırlığı</b>	422
<b>Molekül Formülü</b>	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>
<b>Özelliği</b>	Sarı, yağimsı

**Şekil 62.** C-2 bileşiğinin yapı tayini bulguları

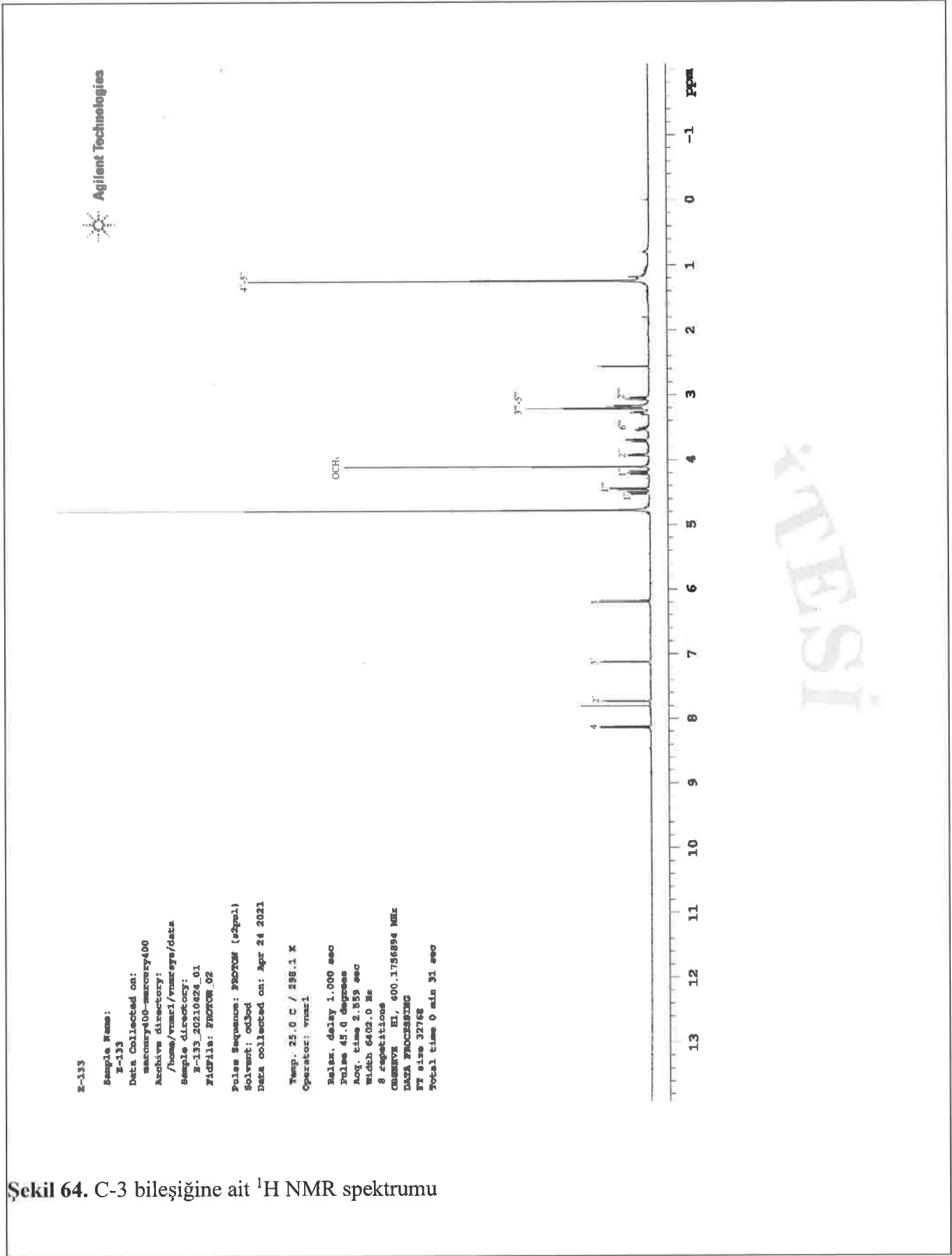
### C-3 Bileşiğinin Yapı Tayini

C-3 bileşiğine ait kütle spektrumu ile <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR ile 2D NMR spektrumları Şekil 63-69'da verilmiştir.





Şekil 63. C-3 bileşiğine ait kütle spektrumu



Şekil 64. C-3 bileşiğine ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu

E-133

Sample Name:

E-133

Data Collected on:

mercury400-mercury400

Archive directory:

/home/vmax1/vmaxraya/data

Sample directory:

E-133\_20210424\_01

File: CARBON\_01

Pulse Sequence: CARBON (zgpg3)

Solvent: cd3od

Date collected on: Apr 24 2021

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vmax1

Relax. delay 1.000 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.304 sec

Width 25125.6 Hz

3512 repetitions

OBSERVE C13, 100.6240850 MHz

DECOUPLE H1, 400.1776514 MHz

Power 36 dB

continuously on

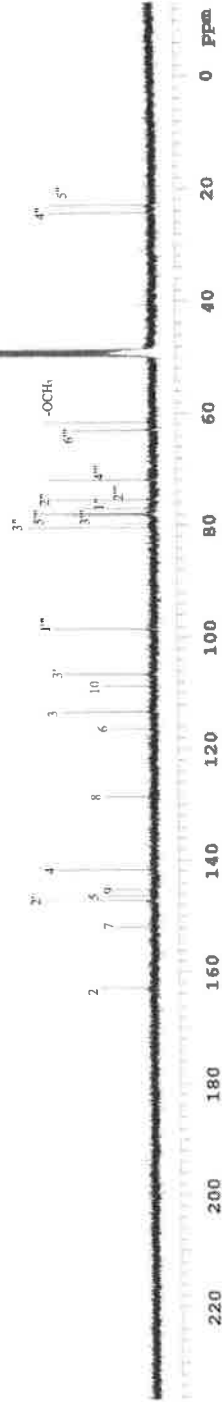
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

FT size 65536

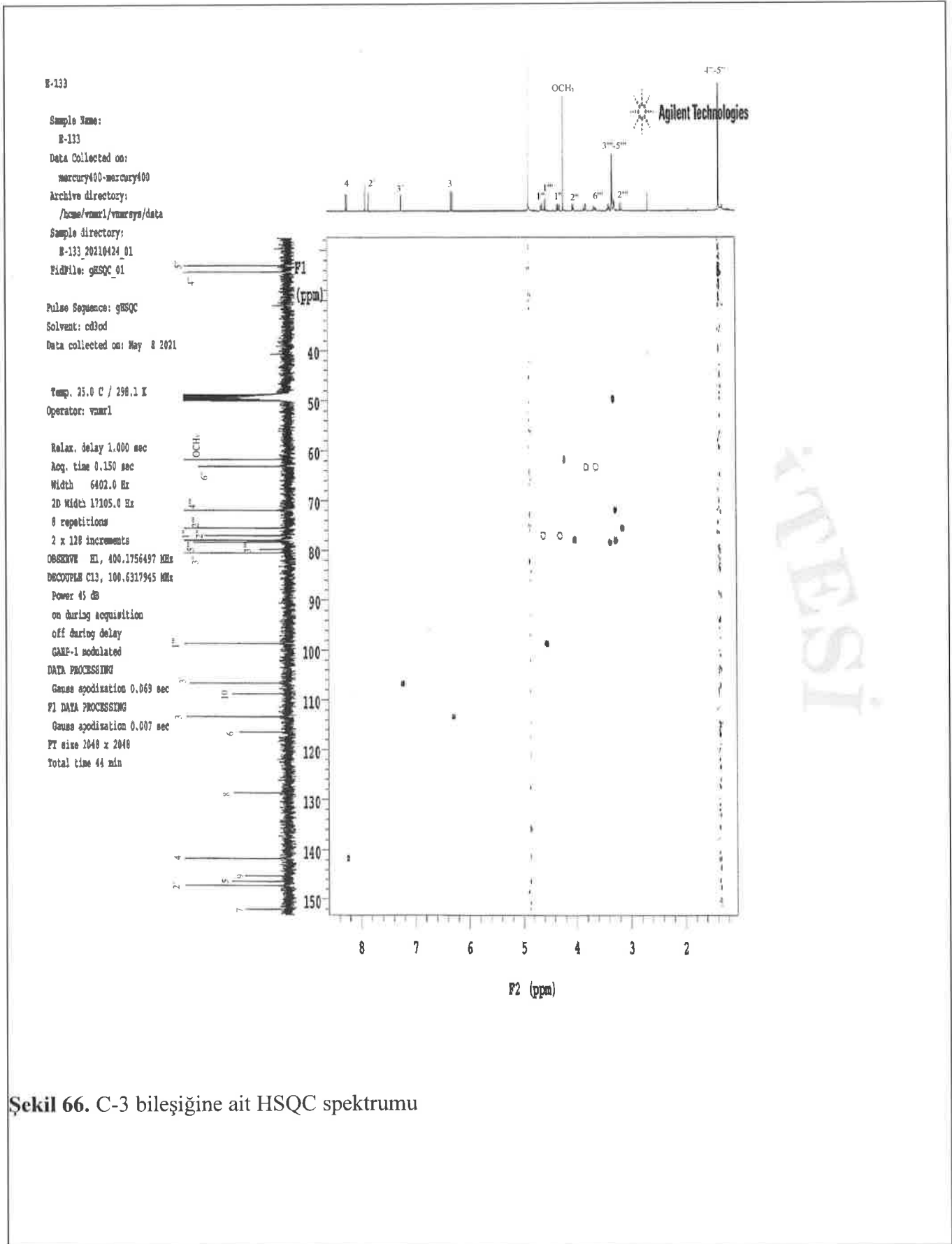
Total time 2 hr, 20 min



İTFSİ

Şekil 65. C-3 bileşiğine ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu

# EK-11 Sonuç Raporu Formatı



Şekil 66. C-3 bileşiğine ait HSQC spektrumu

# EK-11 Sonuç Raporu Formatı

N-133

Sample Name:

N-133

Date Collected on:

mercury400-mercury100

Archive directory:

/home/vnmr1/vnmrsyn/data

Sample directory:

N-133\_20210424\_01

FidFile: gMBC\_01

Pulse Sequence: gMBC

Solvent: cd3cd

Data collected on: May 0 2021

Temp. 25.0 C / 298.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.150 sec

Width 6402.0 Hz

2D Width 24147.3 Hz

4 repetitions

2 x 200 increments

OBSERVE H1, 400.1756459 MHz

DATA PROCESSING

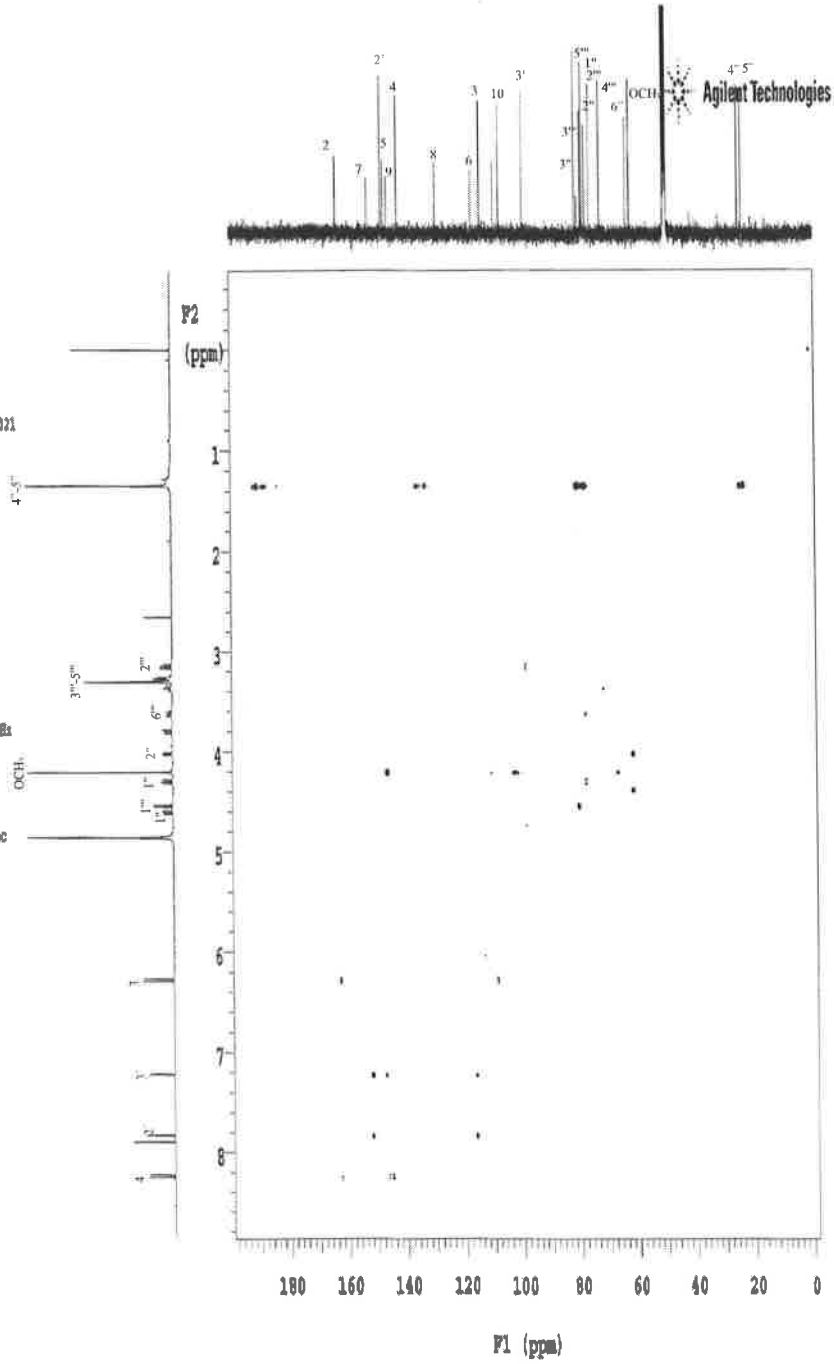
Sq. sine bell 0.075 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodisation 0.000 sec

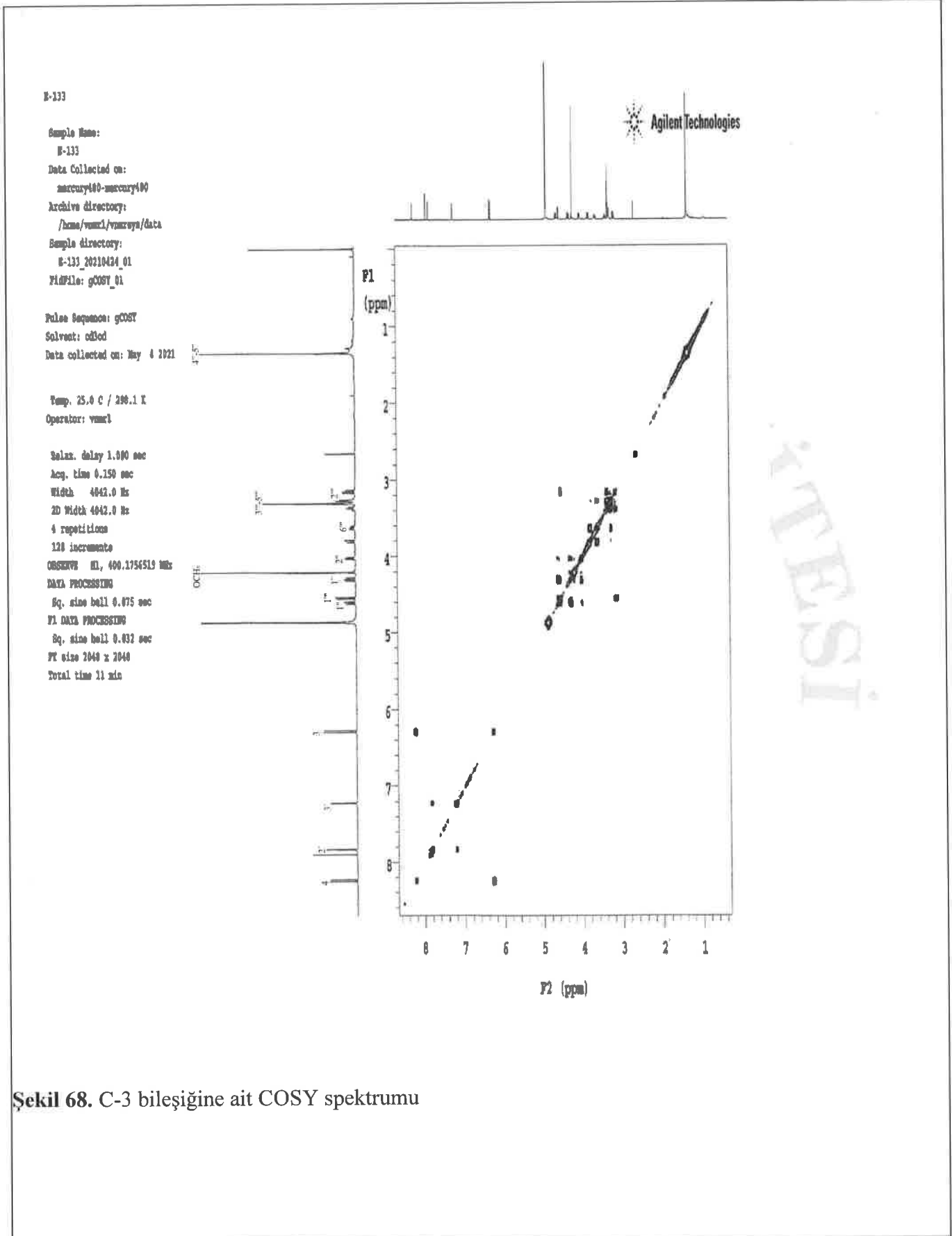
FF else 2048 x 2048

Total time 37 min

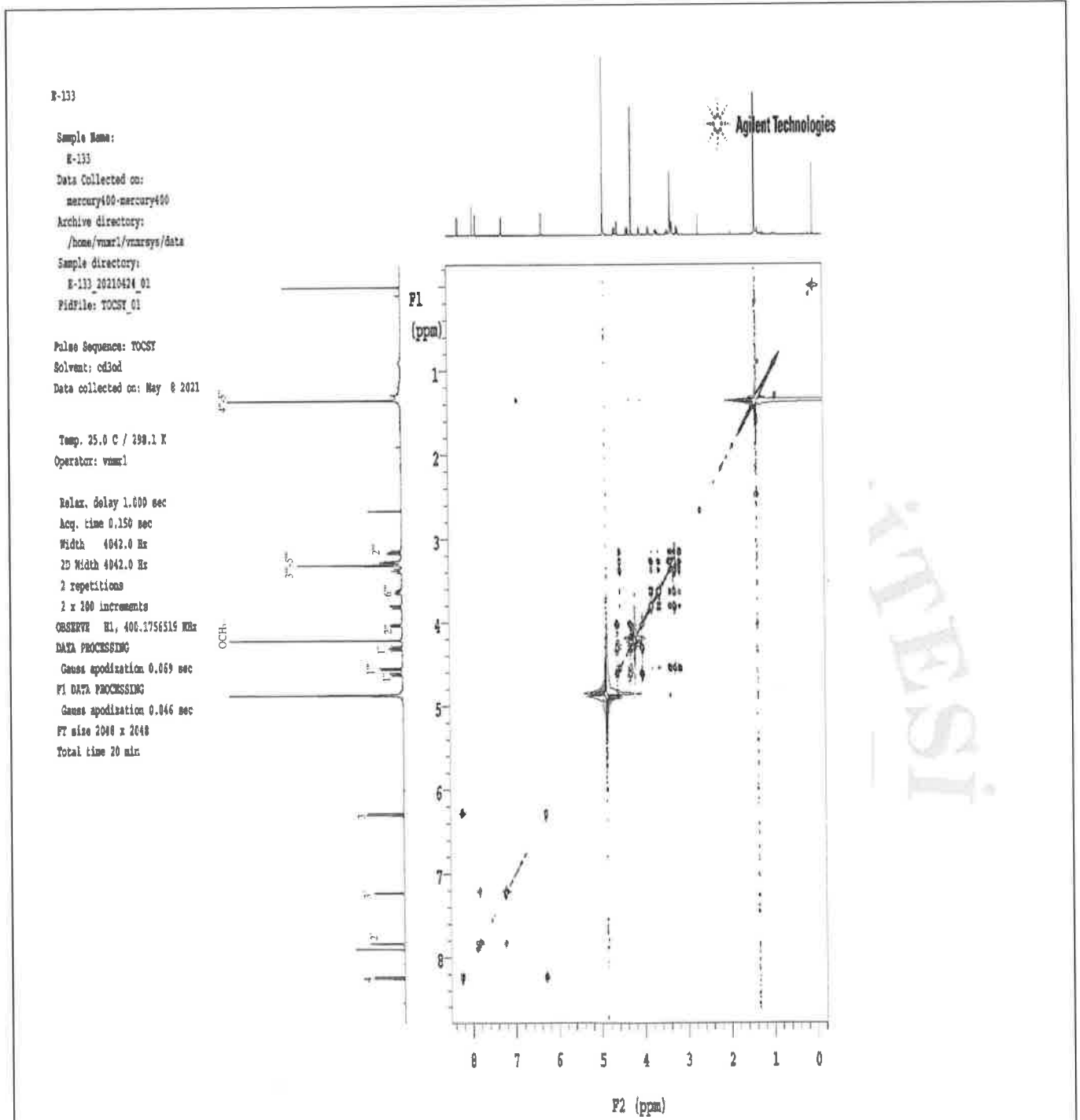


Şekil 67. C-3 bileşiğine ait HMBC spektrumu

# EK-11 Sonuç Raporu Formatı



Şekil 68. C-3 bileşiğine ait COSY spektrumu



**Şekil 69.** C-3 bileşiğine ait TOCSY spektrumu

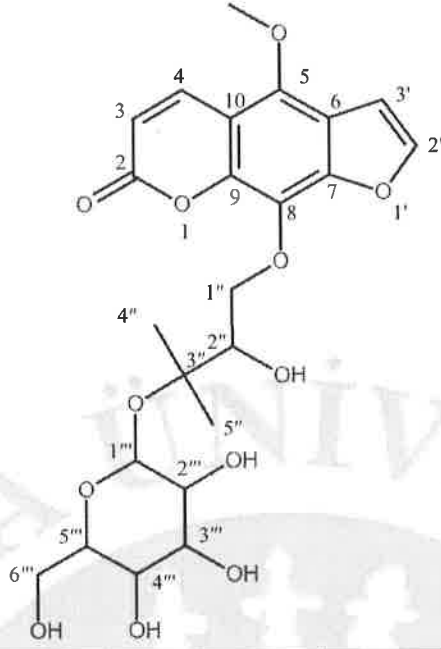
C-3 bileşiğinin  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR bulguları Çizelge 13'te sunulmuştur.  $\delta 6,18$  (1H, d,  $J=10$ ) sinyali kumarin yapısının H-3 protonunu,  $\delta 8,13$  (1H, d,  $J=10$ ) sinyali ise H-4 protonunu göstermiştir.  $\delta 7,72$  (1H, d,  $J=2$ ) ve  $\delta 7,12$  (1H, d,  $J=2,4$ ) protonları ise düzlemsel furanokumarin yapısını işaret etmiştir. Metoksi grubuna ait  $\delta 4,108$  (3H, s) protonları HMBC spektrumunda  $\delta 146,334$  karbon sinyaliyle etkileşmiştir ve kumarin halkasına 5.konumdan bağlı metoksi grubunun varlığı ortaya konmuştur.  $\delta 4,51$  (1H, dd,  $J=2,8; 10,4$ ) ve  $\delta 4,20$  (1H, dd,  $J=8, 10,4$ ) protonları oksijen atomuna bağlı bir  $-\text{CH}_2$  grubunu göstermiştir. HMBC spektrumunda  $\delta 128,564$  ppm'deki karbon sinyaliyle etkileşen  $-\text{CH}_2$  protonları yapının halkaya oksijen ile 8.konumdan bağlandığını işaret etmiştir. Dubletin dubleti olarak gözlenen

$\delta$ 3,92 (1H, dd,  $J=2,4; 7,6$ ) protonunun kimyasal kayma değeri ve TOCSY etkileşimleri  $-\text{CH}_2$  grubuna bağlı bir karbonda olduğu göstermiştir.  $\delta$ 1,24 (3H, s) ve  $\delta$ 1,24 (3H, s) ppm'de izlenen proton sinyalleri ile HMBC etkileşimleri kuaterner karbona ( $\delta$ 80,397 ppm) bağlı iki metil grubunun varlığını göstermiştir. Anomerik protona ait sinyal  $\delta$ 4,45 (1H, d,  $J=7,6$ ) ppm'de izlenmiş ve  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR bulguları ile glikoz olarak tayin edilen uzun  $\beta$  konumundan bağlandığı ortaya konmuştur. Bulgular C-3'ün "byakangelisin-3"- $O$ - $\beta$ -glikozit" olduğunu göstermiştir ve literatür verileriyle desteklenmiştir (Şekil 70) (Kim ve ark., 1992).

**Çizelge 13.** C-3 bileşiğinin  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR bulguları

Kimyasal kayma	Proton	C	$\delta$ (ppm)
-	-	-	-
6,18 (1H, d, $J=10$ )	H-3	C-2	162,270
8,13 (1H, d, $J=10$ )	H-4	C-3	113,301
-	-	C-4	141,663
-	-	C-5	146,334
-	-	C-6	116,372
-	-	C-7	151,943
-	-	C-8	128,564
-	-	C-9	145,176
-	-	C-10	108,759
-	-	-	-
7,72 (1H, d, $J=2$ )	H-2'	C-2'	147,188
7,12 (1H, d, $J=2,4$ )	H-3'	C-3'	106,626
4,51 (1H, dd, $J=2,8; 10,4$ ); 4,20 (1H, dd, $J=8, 10,4$ )	H-1''	C-1''	76,930
3,92 (1H, dd, $J=2,4; 7,6$ )	H-2''	C-2''	77,814
-	-	C-3''	80,397
1,24 (3H, s)	H-4''	C-4''	24,221
1,24 (3H, s)	H-5''	C-5''	22,948
4,45 (1H, d, $J=7,6$ )	H-1'''	C-1'''	98,594
3,05 (1H, dd, $J=7,6; 9,2$ )	H-2'''	C-2'''	75,421
3,17 (1H, m)	H-3'''	C-3'''	78,271
3,17 (1H, m)	H-4'''	C-4'''	71,862
3,17 (1H, m)	H-5'''	C-5'''	77,928
3,73 (1H, dd, $J=20; 11,6$ ); 3,52 (1H, dd, $J=5,2; 12$ )	H-6'''	C-6'''	62,993
4,10 (3H, s)	5-OCH <sub>3</sub>	5-OCH <sub>3</sub>	61,606



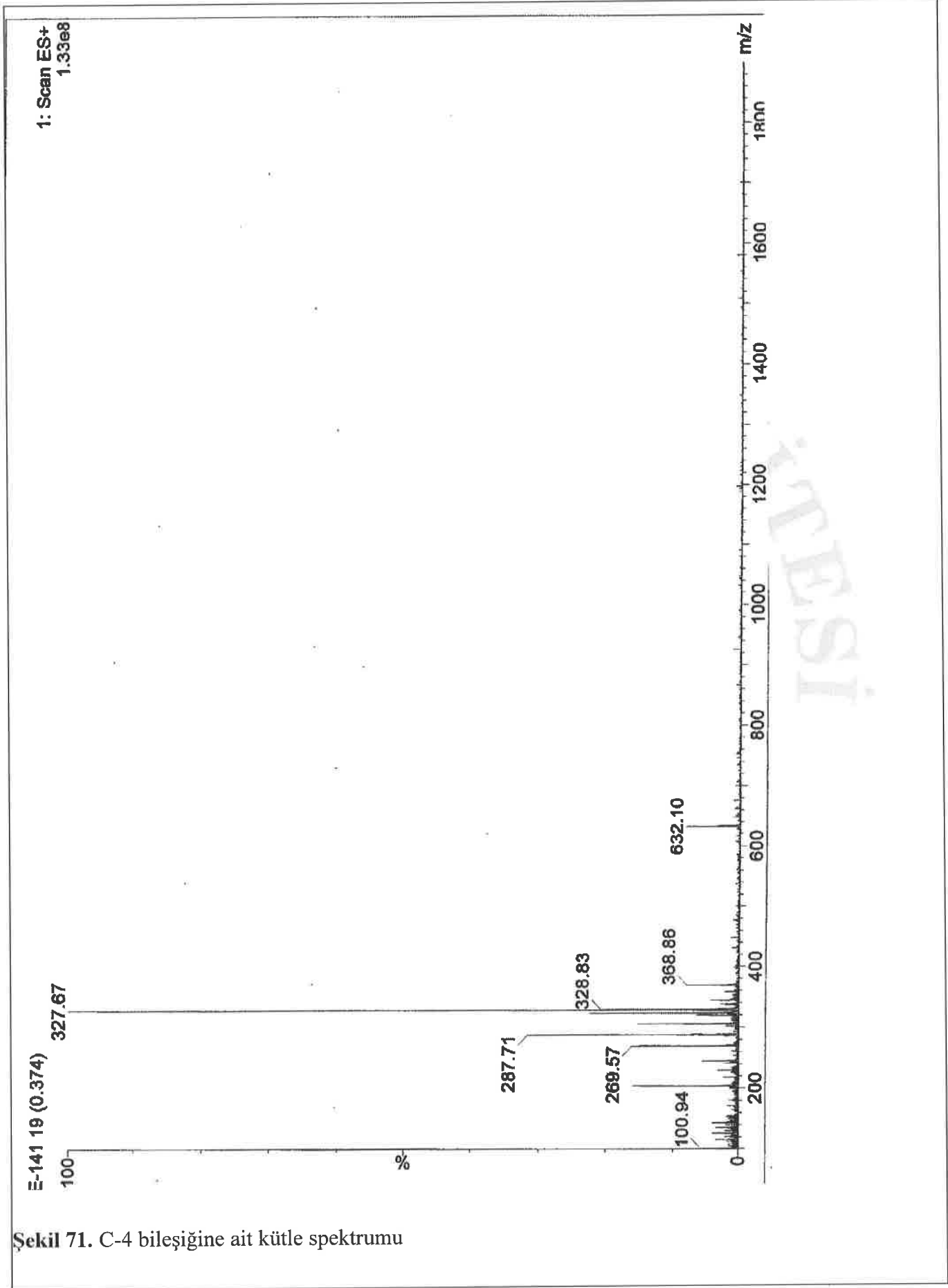


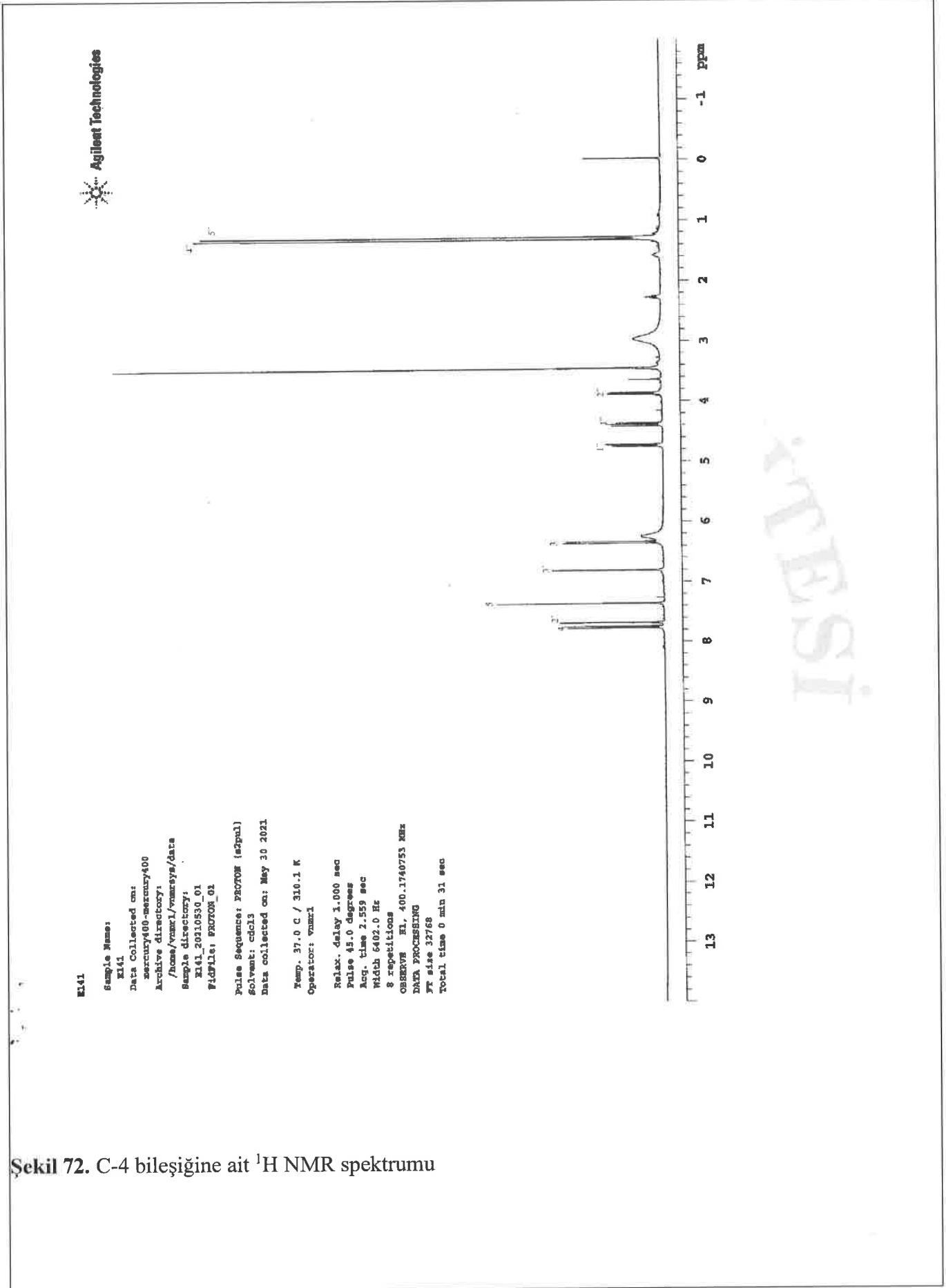
<b>Molekül Adı</b>	Byakangelisin-3''-O-β-glikozit
<b>Molekül Ağırlığı</b>	496
<b>Molekül Formülü</b>	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> O <sub>12</sub>
<b>Özelliği</b>	Sarı, yağimsı

**Şekil 70.** C-3 bileşiğinin yapı tayini bulguları

#### C-4 Bileşiğinin Yapı Tayini

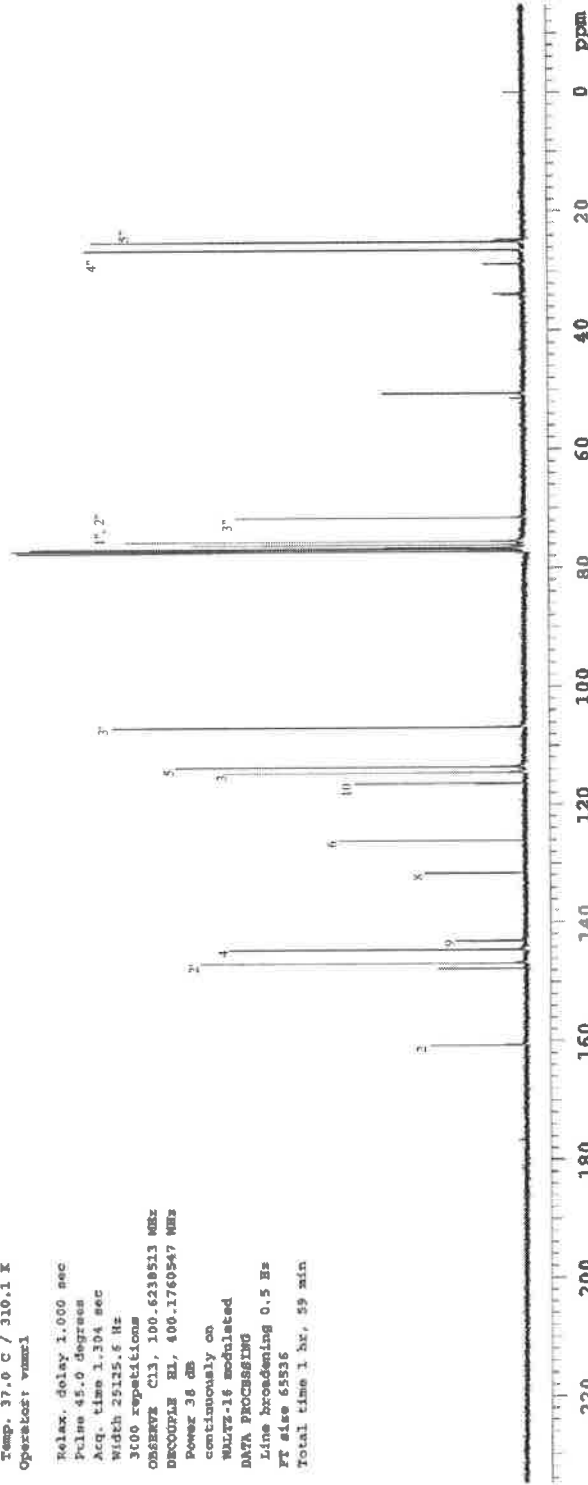
C-4 bileşiğine ait kütle spektrumu ile <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR ile 2D NMR spektrumları Şekil 71-77'de verilmiştir.





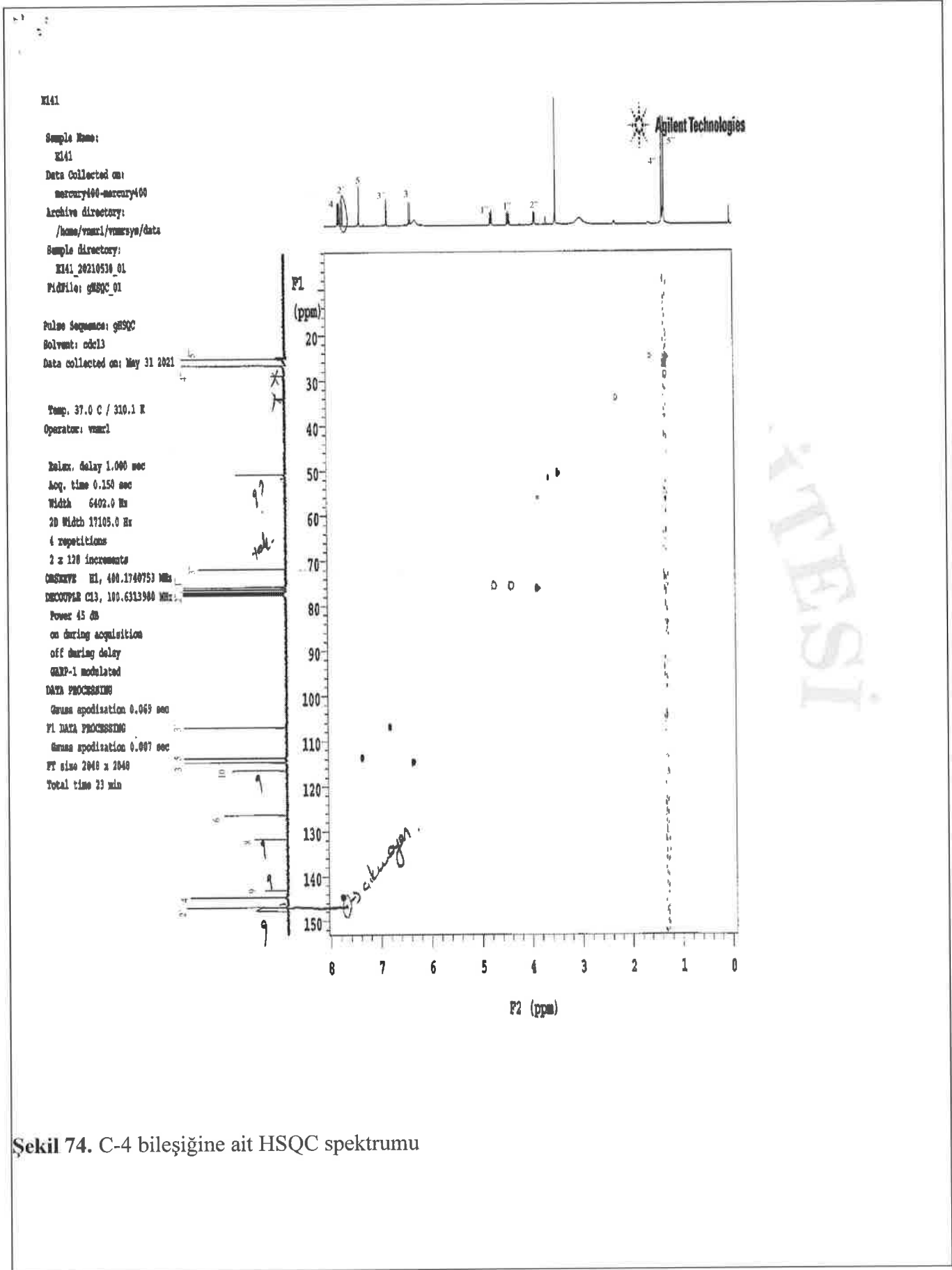
Şekil 72. C-4 bileşiğine ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu

E141  
 Sample Name: E141  
 Data Collected on: mercury400-mercury400  
 Archive directory: /home/vmsxl/vmsxys/data  
 Sample directory: E141\_20210530\_01  
 P1GFile: CARBOH\_01  
 Pulse Sequence: CARBOH (s2pul)  
 Solvent: cdcl3  
 Data collected on: May 30 2021  
 Temp: 37.0 C / 310.1 K  
 Operator: vmsxl  
 Relax: Golay 1.000 sec  
 Pulse 45.0 Degrees  
 Acq. time 1.304 sec  
 Width 25125.6 Hz  
 3000 repetitions  
 OBSERVE C13, 100.6239513 MHz  
 DECOUPLE H1, 400.1760547 MHz  
 Power 36 dB  
 continuously on  
 WALTZ-16 modulated  
 DATA PROCESSING  
 Line broadening 0.5 Hz  
 FT size 65536  
 Total time 1 hr, 59 min



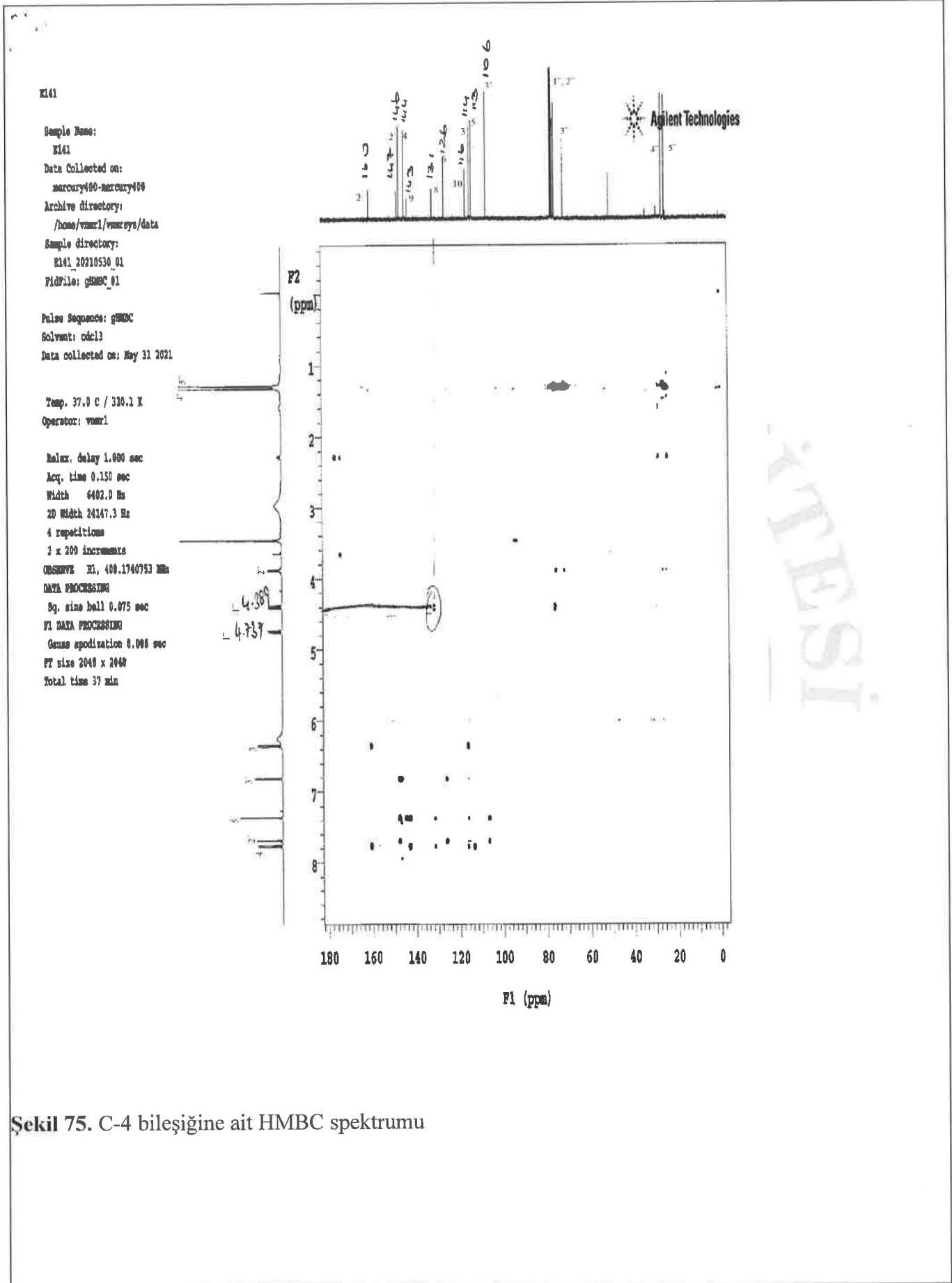
Şekil 73. C-4 bileşiğine ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu

# EK-11 Sonuç Raporu Formatı

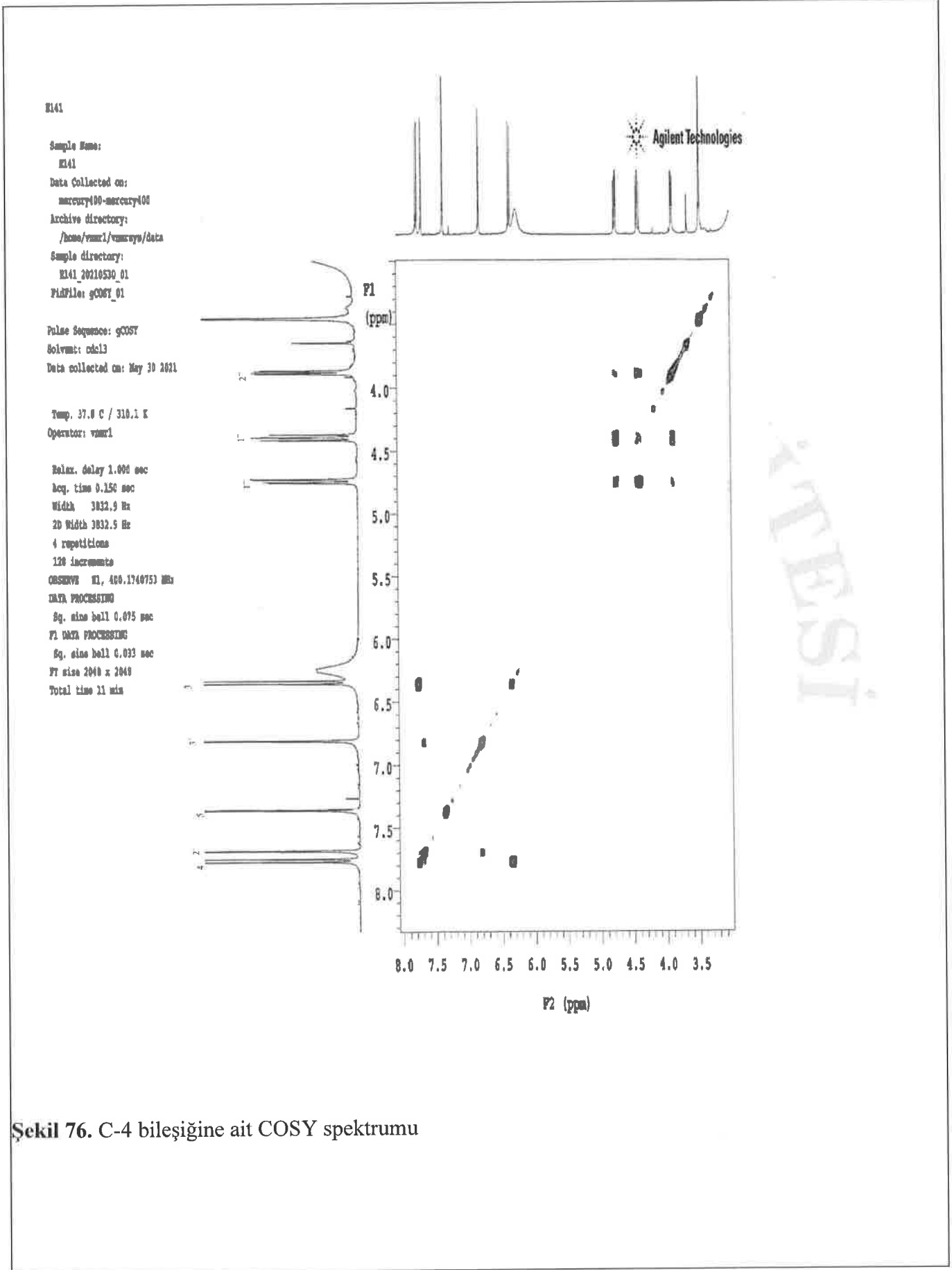


Şekil 74. C-4 bileşiğine ait HSQC spektrumu

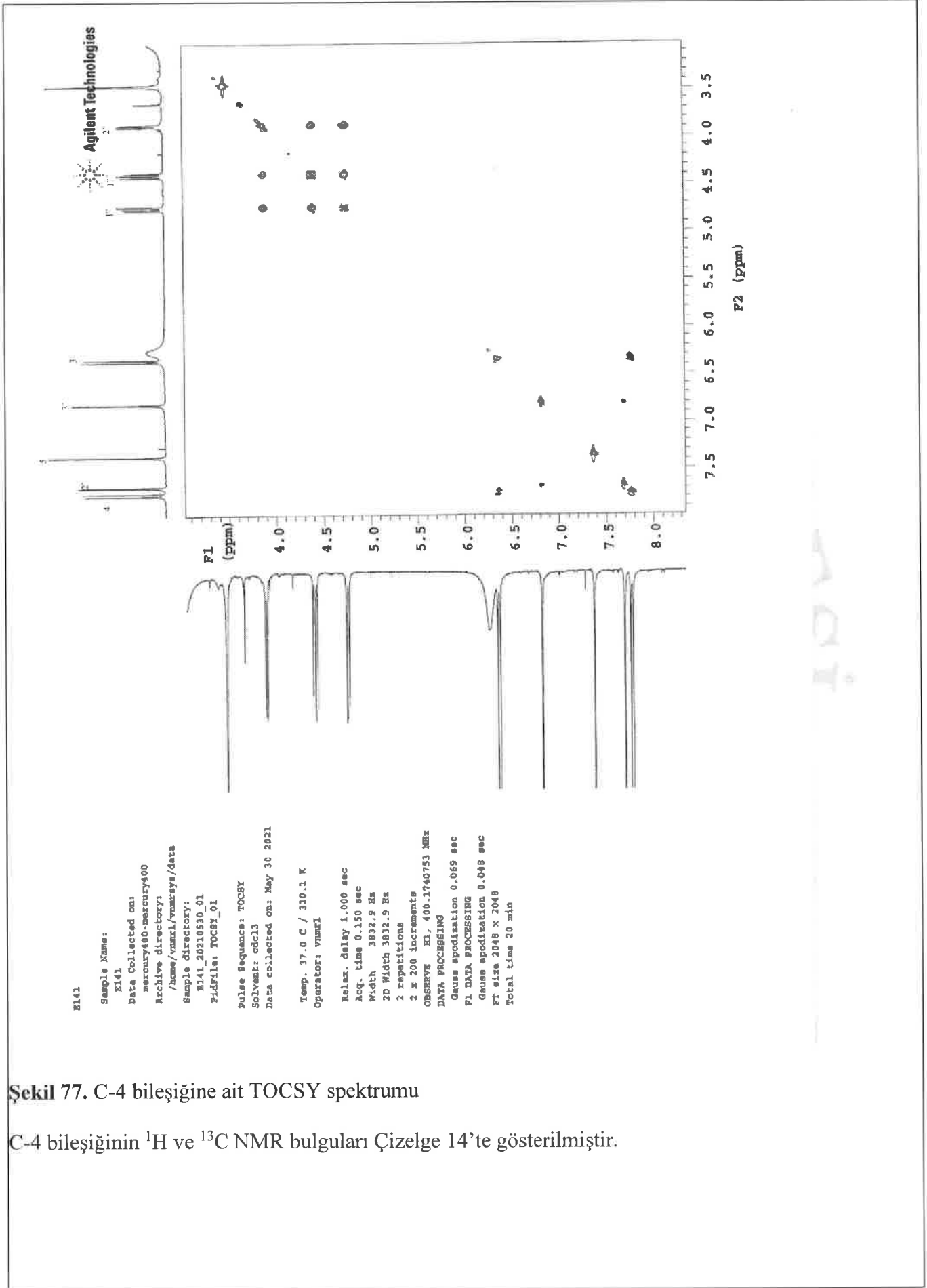
# EK-11 Sonuç Raporu Formatı



# EK-11 Sonuç Raporu Formatı



Şekil 76. C-4 bileşiğine ait COSY spektrumu



Şekil 77. C-4 bileşiğine ait TOCSY spektrumu

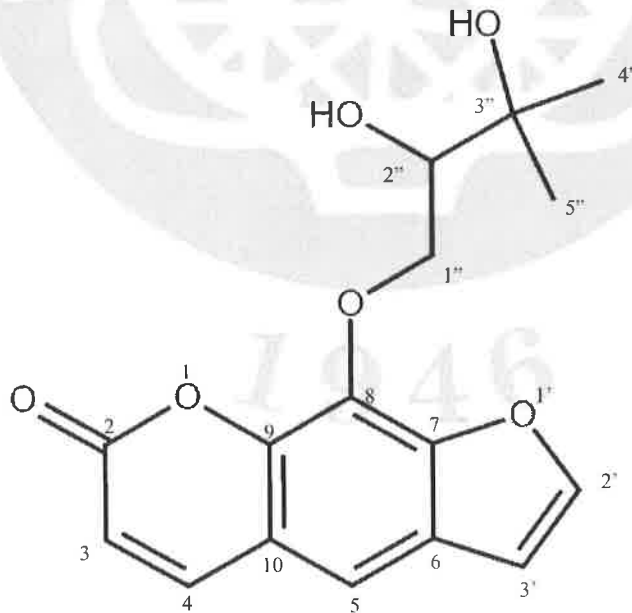
C-4 bileşiğinin <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR bulguları Çizelge 14’te gösterilmiştir.



**Çizelge 14.** C-4 bileşiğinin  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR bulguları

Kimyasal kayma	Proton	C	$\delta$ (ppm)
-	-	-	-
-	-	C-2	160,621
6,43 (1H, d, $J=9,2$ )	H-3	C-3	114,572
7,75 (1H, d, $J=9,2$ )	H-4	C-4	144,565
7,35 (1H, s)	H-5	C-5	113,597
-	-	C-6	126,178
-	-	C-7	147,750
-	-	C-8	131,596
-	-	C-9	143,041
-	-	C-10	116,886
7,68 (1H, d, $J=2$ )	H-2'	C-2'	146,859
6,80 (1H, d, $J=2,4$ )	H-3'	C-3'	106,853
4,73 (1H, dd, $J=2,8; 10$ ); 4,38 (1H, dd, $J=8, 10$ )	H-1''	C-1''	75,602
3,87 (1H, dd, $J=2,8; 8$ )	H-2''	C-2''	76,174
-	H-3''	C-3''	71,594
1,31 (3H, s)	H-4''	C-4''	26,452
1,27 (3H, s)	H-5''	C-5''	25,035

C-4 bileşiğinin NMR bulguları (Çizelge 3.6) incelendiğinde C-1 bileşiğinin aglikonuyla çok benzer proton ve karbon sinyallerine sahip olduğu görülmüştür.  $\delta 6,43$  (1H, d,  $J=9,2$ ) ve  $\delta 7,75$  (1H, d,  $J=9,2$ ) karakteristik proton sinyalleri güçlü bir şekilde kumarin yapısının işaret etmiştir.  $\delta 160,621$  ppm'deki karbonil yapısına ait sinyal kumarin iskeletini doğrulamıştır.  $\delta 7,68$  ve  $\delta 6,80$  protonları kumarin iskeletine kondanse furan yapısını göstermiştir.  $\delta 1,31$  (3H, s) ve  $\delta 1,27$  (3H, s) sinyalleri iki metil grubunu ifade etmiş olup,  $\delta 4,73$  (1H, dd,  $J=2,8; 10$ );  $\delta 4,38$  (1H, dd,  $J=8, 10$ ) sinyalleri kumarin halkasına oksijen atomu ile bağlanmış  $-\text{CH}_2$  yapısını göstermiştir. Komşu karbonunda ise  $\delta 3,87$  (1H, dd,  $J=2,8; 8$ ) proton sinyali görülmüştür.  $\delta 71,594$  karbon sinyali ile  $\delta 1,31$  (3H, s) ve  $\delta 1,27$  (3H, s) metil protonu sinyalleri  $\delta 3,87$  protonunun karbonuna bağlı bir izopropil grubunun varlığını ortaya koymuştur. Bileşik heraklenol olarak tayin edilmiş, literatür verileriyle bu bulgular doğrulanmıştır. (Niu ve ark., 2002) (Şekil 78).

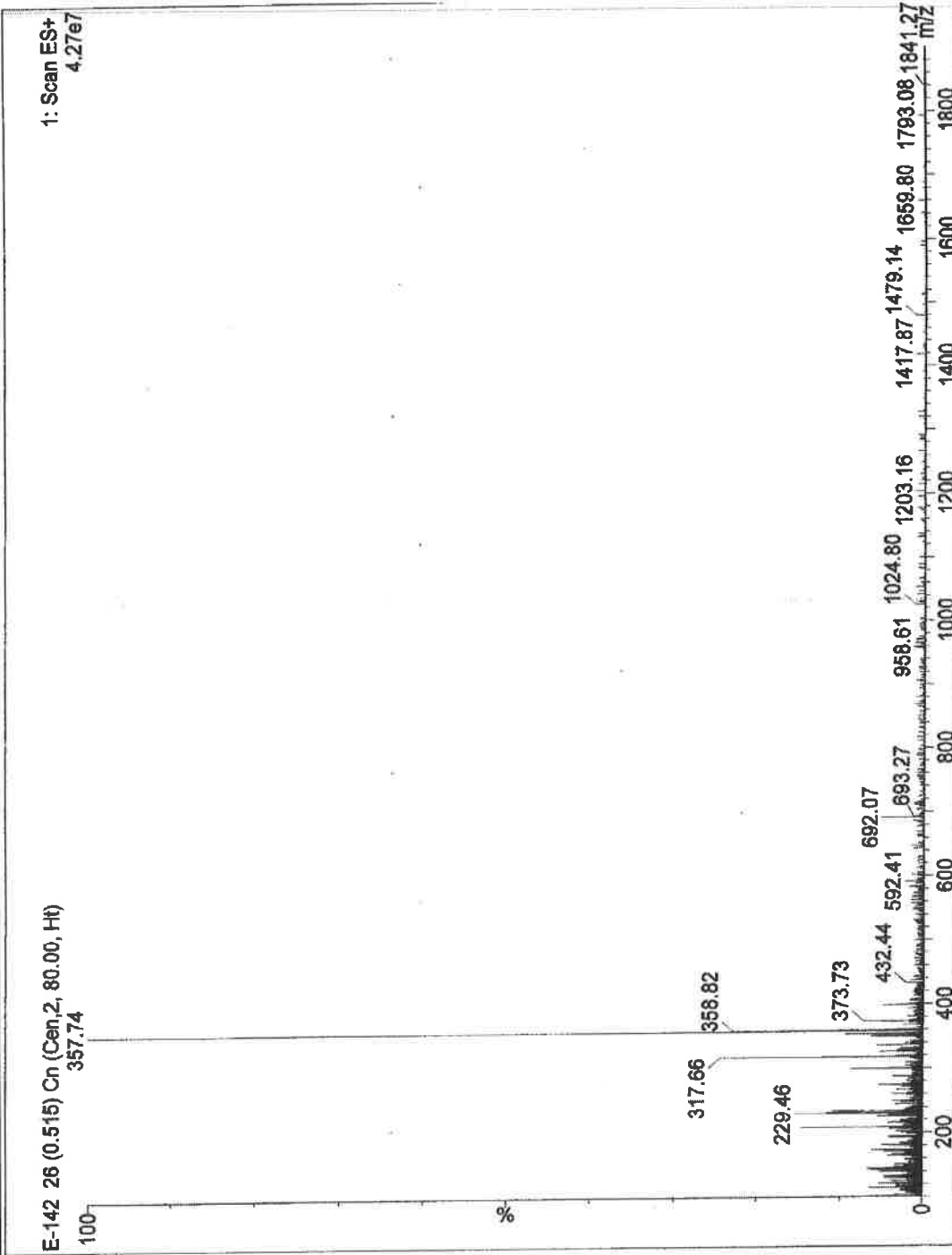


Molekül Adı	Heraklenol
Molekül Ağırlığı	304
Molekül Formülü	$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_6$
Özelliği	Sarı, yağimsı

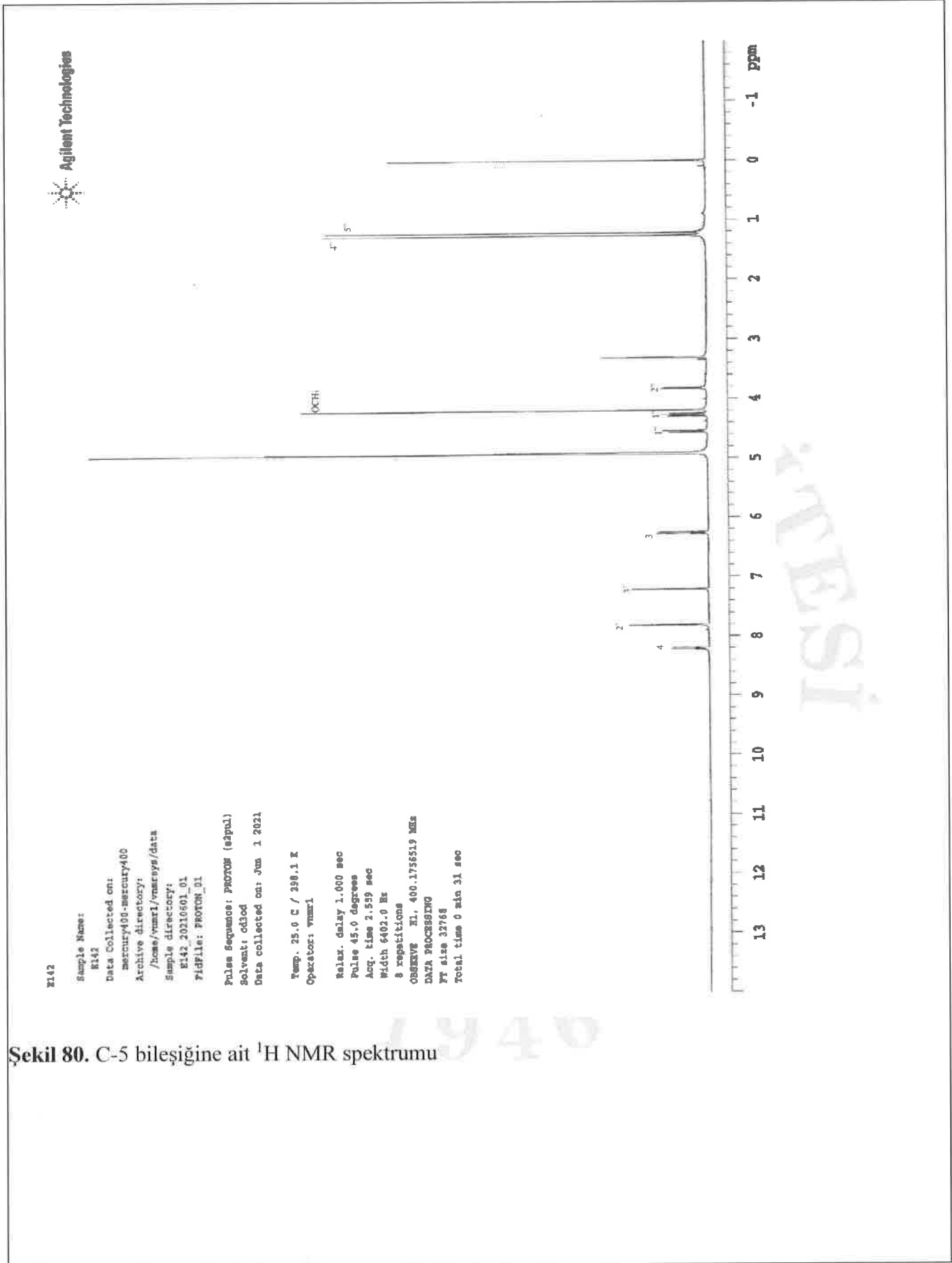
**Şekil 78.** C-4 bileşiğinin yapı tayini bulguları

**C-5 Bileşiğinin Yapı Tayini**

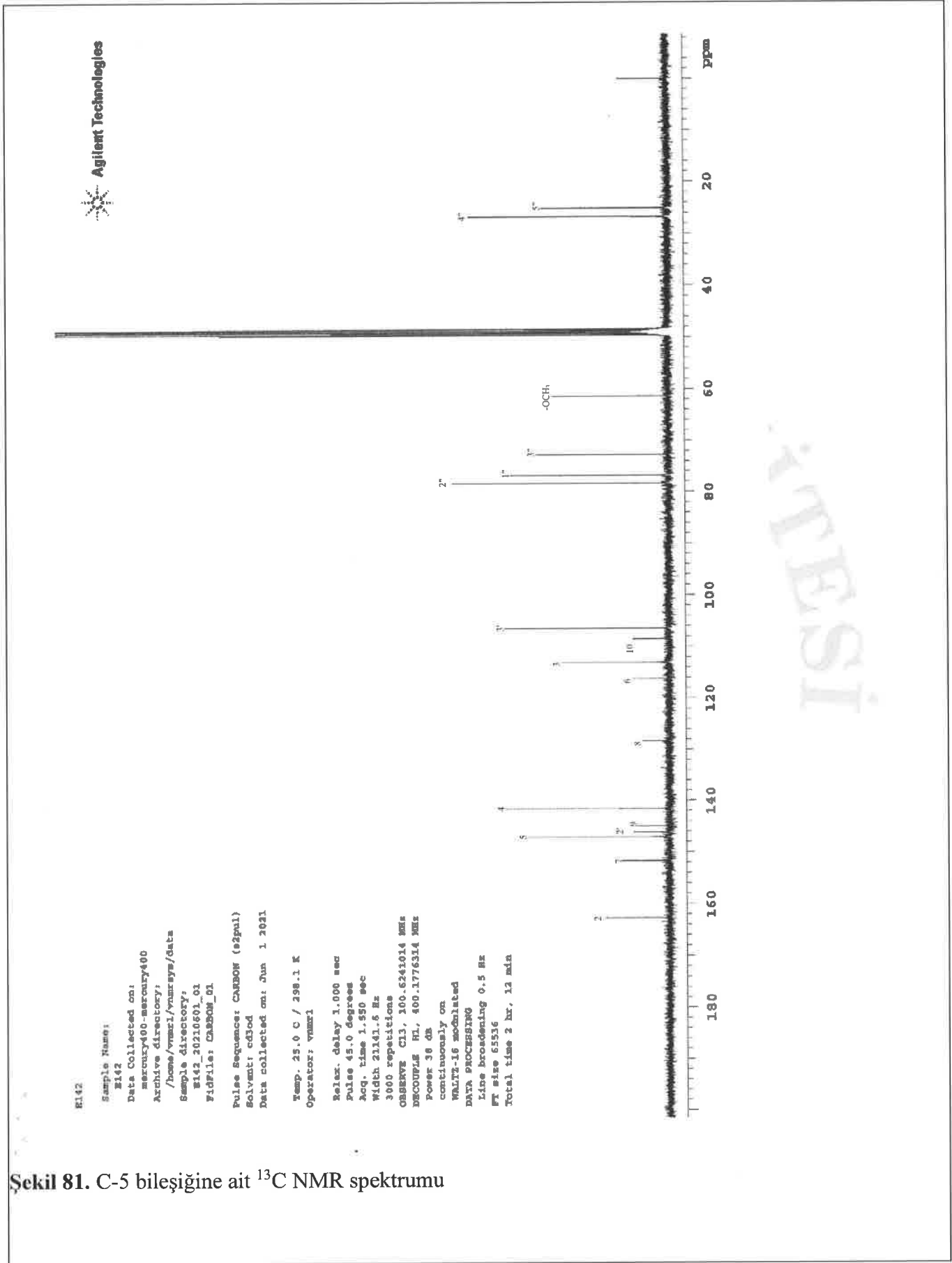
C-5 bileşiğine ait kütle spektrumu Şekil 79'da verilmiştir.  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR ile 2D NMR spektrumları Şekil 80-85'te verilmiştir. C-1 bileşiğinin  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR bulguları Çizelge 15'te gösterilmiştir.



Şekil 79. C-5 bileşiğine ait kütle spektrumu

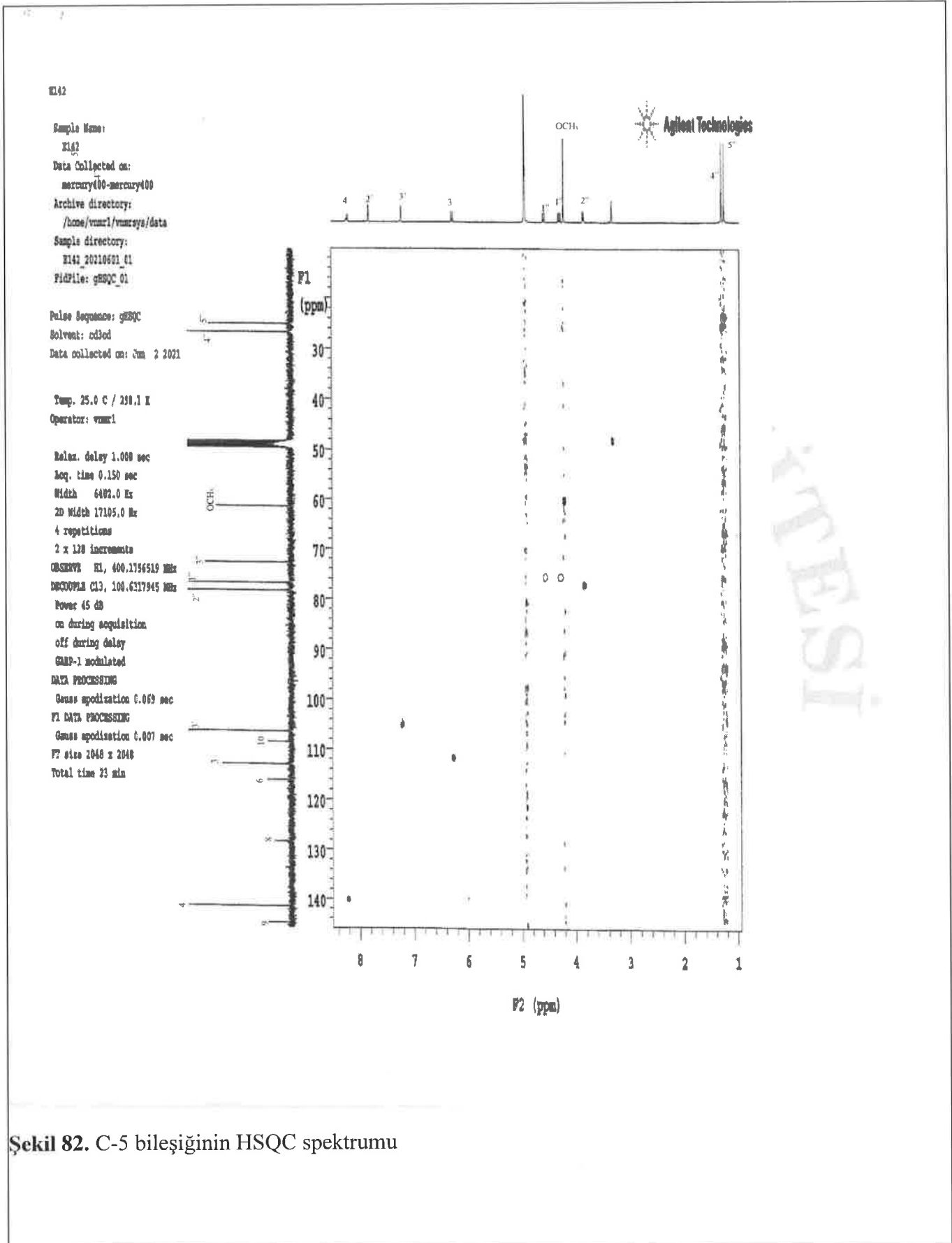


Şekil 80. C-5 bileşiğine ait <sup>1</sup>H NMR spektrumu



Şekil 81. C-5 bileşiğine ait <sup>13</sup>C NMR spektrumu

# EK-11 Sonuç Raporu Formatı

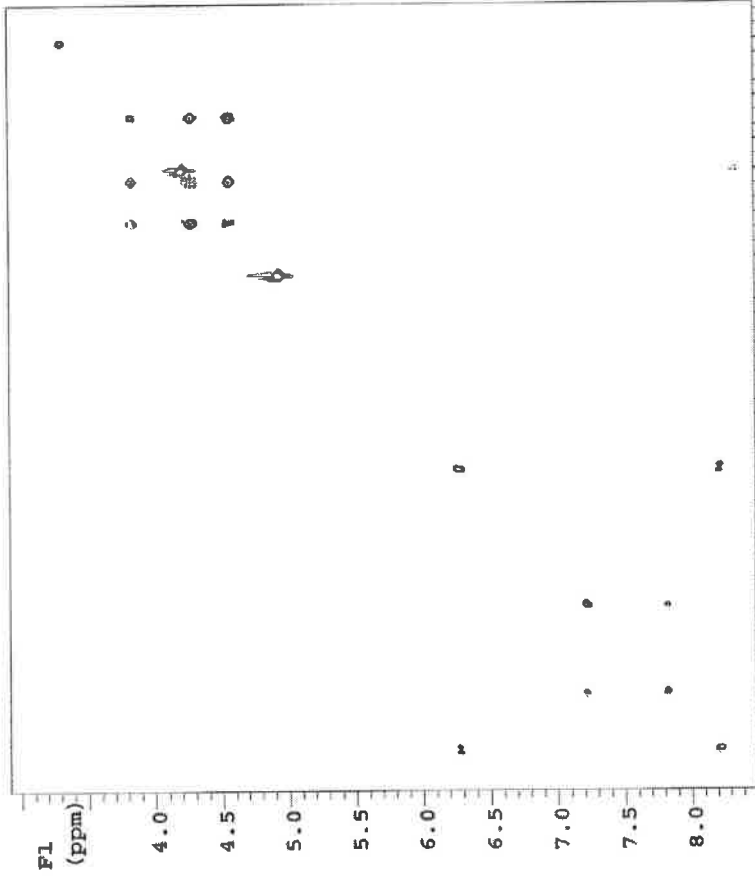


Şekil 82. C-5 bileşiğinin HSQC spektrumu





Agilent Technologies



E142

Sample Name:  
E142  
Data Collected on:  
mercury400-mercury400  
Archive directory:  
/home/vnmr1/vnmrsys/data  
Sample directory:  
E142\_20210601\_01  
Fidfile: TOCSY\_01

Pulse Sequence: TOCSY  
Solvent: cd3od  
Data collected on: Jun 2 2021

Temp. 25.0 C / 298.1 K  
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec  
Acq. time 0.150 sec  
Width 4105.1 Hz  
2D Width 4105.1 Hz  
2 repetitions

2 x 200 increments  
OBSERVE E1, 400.1756519 MHz  
DATA PROCESSING  
Gauss apodization 0.069 sec  
F1 DATA PROCESSING  
Gauss apodization 0.045 sec  
F1 size 2048 x 2048  
Total time 20 min

Şekil 85. C-5 bileşiğinin TOCSY spektrumu



Çizelge 15. C-5 bileşiğinin <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR bulguları

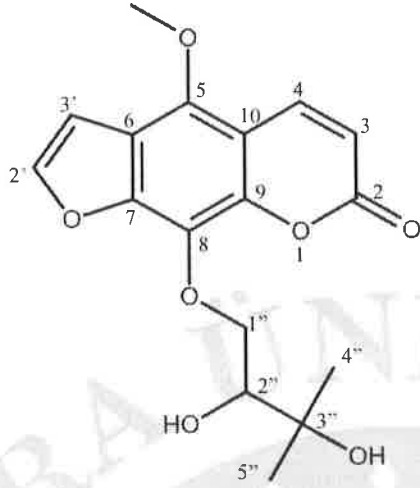
Kimyasal kayma	Proton	C	δ (ppm)
-	-	-	-
6,25 (1H, d, J= 9,8)	H-3	C-2	162,715
8,2 (1H, d, J= 10)	H-4	C-3	113,093
-	-	C-4	141,498
-	-	C-5	146,089
-	-	C-6	116,190
-	-	C-7	151,686
-	-	C-8	128,334
-	-	C-9	144,883
-	-	C-10	108,560
-	-	-	-
7,81 (1H, d, J= 2,4)	H-2'	C-2'	146,993
7,20 (1H, d, J=2,4)	H-3'	C-3'	106,470
4,55 (1H, dd, J=2,4; 10,8); 4,26 (1H, dd, J=8; 10,4)	H-1''	C-1''	75,602
3,87 (1H, dd, J=2,8; 8)	H-2''	C-2''	76,840
-	H-3''	C-3''	72,782
1,26 (3H, s)	H-4''	C-4''	26,738
1,21 (3H, s)	H-5''	C-5''	25,096
4,19 (3H, s)	5-OCH <sub>3</sub>	5-OCH <sub>3</sub>	61,426

<sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR bulgularının C-3 bileşiğinin aglikonuyla çok benzer sinyaller gösterdiği tespit edilmiştir. Kumarinin halkasının 3 ve 4. konumdaki karakteristik proton sinyalleri sırasıyla δ6,25 (1H, d, J= 9,8) ve δ8,2 (1H, d, J= 10) olarak izlenmiştir. δ162,71 ppm'deki karbonile ait sinyal de kumarin yapısını işaret etmiştir. δ7,81 (1H, d, J=2,4) ve δ7,20 (1H, d, J=2,4) protonları kumarin halkasına düzlemsel olarak kondanse olmuş furan halkasını göstermiştir. Aromatik olmayan δ 4,55 (1H, dd, J=2,4; 10,8); δ ,26 (1H, dd, J=8; 10,4) protonları kumarine oksijen ile bağlı -CH<sub>2</sub> grubunu, δ3,87 protonu ise dubletin dubleti olarak izlenen sinyaliyle CH<sub>2</sub> gurubuna komşu protonu göstermiştir. δ72,782 karbonu ve δ1,26 (3H, s), δ1,21 (3H, s) metil protonları izopropil yapısını işaret etmiş, HMBC bulguları ise δ3,87 protonunun bağlı olduğu δ76,840 karbonundan bağlandığını göstermiştir. δ4,19 (3H, s) ve 61,426 ppm'deki sinyallerle izlenen metoksi grubunun HMBC etkileşimleri ise kumarin halkasına 5. konumdan bağlandığını göstermiştir. Bu verilere göre C-5 bileşiği "byakangelisin" olarak tayin edilmiştir ve Dinçel ve ark. (2013) tarafından *H.platytenium*'dan izole edilen byakangelisin verileriyle karşılaştırılarak doğrulanmıştır (Şekil 86).

#### Antienflamatuvar Etki Çalışmalarına Ait Bulgular

#### Karagenin Nedenli Arka Pençe Ödemi Çalışmalarına Ait Bulgular

*Heracleum* türlerinin kök ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan diklorometan ve metanollü ekstraların karagenin nedenli arka pençe ödemindeki etkileri Çizelge 16'da verilmiştir. Ekstrelerin karagenin nedenli arka pençe ödemi üzerindeki etkilerine bakıldığında standart olarak kullanılan indometazine en yakın inhibisyonu gösteren ekstraların *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometan ve metanollü ekstraları olduğu görülmüştür. Diklorometanlı ekstre ödemi 180, 270 ve 360. dakikaların sonunda sırasıyla %40,5; %43,4 ve %43,2 oranında inhibe etmiştir. Metanollü ekstre ise 270 ve 360 dakika sonunda %32,6 ve %36,9 oranında kontrol grubuna göre anlamlı etki göstermiştir. Her iki ekstre de 90 dakika boyunca inhibisyon göstermemiştir. *H. sphondylium* subsp. *ternatum* kökleri ise 360 dakika sonunda kayda değer aktivite göstermiştir. Diklorometanlı ekstrenin inhibisyon yüzdesi %23,4 olarak ölçülürken, metanollü ekstrenin ise %25,4 olarak hesaplanmıştır. Test edilen diğer ekstraların karagenin nedenli arka pençe ödemi üzerinde antienflamatuvar etkileri gözlenmemiştir. Standart olarak kullanılan indometazinin aktivitesi ise 180. ve 360. dakikalar arasında % 25,6-44,3 olarak bulunmuştur.



<b>Molekül Adı</b>	Byakangelisin
<b>Molekül Ağırlığı</b>	334
<b>Molekül Formülü</b>	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>
<b>Özelliği</b>	Sarı, yağimsı

#### Şekil 86. C-5 bileşiğinin yapı tayini bulguları

*H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometan ve metanollü ekstralarının kolon fraksiyonlarını karagenin nedenli arka pençe ödemindeki etkileri Çizelge 17'de gösterilmiştir. Diklorometanlı ekstrenin 127-140 fraksiyonu ile metanollü ekstrenin 1-10 fraksiyonu en yüksek antienflamatuvar etkiyi göstermiştir. Fr(1-10) 270 ve 360. dakikaların sonunda ödemi %27,6 ve %31,9 oranında inhibe etmiştir. Fr(127-140) ise %26,1 ve %29,2 oranında inhibisyon göstermiştir. Metanollü ekstrenin 11-24 fraksiyonu 360 dakikanın sonunda ödemi %28 inhibe etmiştir. İndometazinin etkisi %12,8-44,3 arasında ölçülmüştür. Diğer fraksiyonlarda ise kontrol grubuna göre anlamlı aktivite gözlenmemiştir. *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometan ve metanollü ekstralarından izole edilen C-1, C-2, C-3, C-4, C-5 bileşiklerinin karagenin nedenli arka pençe ödemi üzerindeki antienflamatuvar etkileri Çizelge 18'de verilmiştir.

İzole edilen bileşiklerin karagenin nedenli enflamasyon üzerindeki etkileri incelendiğinde heraklenol-3''-*O*- $\beta$ -glikozitin en yüksek etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Karagenin nedenli pençe ödemi 270 dakikada %34,9 oranında inhibe etmiştir. Bunu %29,6 inhibisyonla byakangelisin-3''-*O*- $\beta$ -glikozit izlemiştir. Her iki bileşik de 270. dakikada indometazinden yüksek aktivite göstermiştir. İzole edilen diğer maddeler ise karagenin nedenli pençe ödeminde kontrol grubuna göre anlamlı aktivite sergilememiştir.

**Çizelge 16.** *Heracleum* ekstrelerinin farelerde karagenin nedenli arka pençe ödemi üzerine etkileri

Numune	Doz (mg/kg)	Şişme kalınlığı (x10 <sup>-2</sup> mm) ± OSH (% inhibisyon)				
		90 dk	180 dk	270 dk	360 dk	
<i>Kontrol</i>		46,2 ± 5,4	53,5 ± 5,9	60,1 ± 5,7	66,8 ± 6,4	
<i>H. paphlagicum</i>	K	DCM 100	49,8 ± 4,7	59,4 ± 5,2	64,3 ± 5,9	67,2 ± 5,1
		MeOH 100	47,5 ± 5,3	47,1 ± 5,4 (11,9)	53,3 ± 5,0 (11,3)	56,4 ± 4,8 (15,6)
	T	DCM 100	48,9 ± 5,4	48,8 ± 5,1 (8,8)	52,1 ± 5,2 (13,3)	59,5 ± 4,9 (10,9)
		MeOH 100	51,4 ± 5,5	46,2 ± 5,3 (13,6)	51,5 ± 5,4 (14,3)	58,8 ± 4,8 (11,9)
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>ternatum</i>	K	DCM 100	42,1 ± 3,7 (8,8)	44,2 ± 3,9 (17,4)	48,1 ± 4,2 (19,9)	51,2 ± 3,9 (23,4)*
		MeOH 100	48,5 ± 3,6	45,5 ± 3,9 (14,9)	47,6 ± 3,7 (20,8)	49,8 ± 3,5 (25,4)*
	T	DCM 100	55,7 ± 4,2	46,3 ± 4,6 (13,5)	52,3 ± 5,0 (12,9)	68,6 ± 4,9
		MeOH 100	48,0 ± 2,8	54,3 ± 3,2	61,4 ± 3,1	69,4 ± 3,5
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>montanum</i>	K	DCM 100	55,9 ± 3,1	55,6 ± 3,6	63,5 ± 3,8	70,3 ± 3,5
		MeOH 100	54,6 ± 5,0	59,1 ± 5,5	55,2 ± 5,1 (8,2)	57,0 ± 4,4 (14,7)
	T	DCM 100	50,2 ± 3,5	54,2 ± 3,8	65,3 ± 4,0	70,3 ± 3,7
		MeOH 100	46,9 ± 3,1	57,8 ± 5,2	56,0 ± 5,3 (6,8)	60,1 ± 3,9 (10,0)
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>cyclocarpum</i>	K	DCM 100	52,1 ± 3,2	40,5 ± 4,2 (24,3)*	43,4 ± 4,6 (27,8)*	44,2 ± 4,3 (33,8)**
		MeOH 100	51,6 ± 5,1	41,3 ± 4,1 (22,8)	40,5 ± 3,9 (32,6)**	42,1 ± 4,2 (36,9)**
	T	DCM 100	53,5 ± 3,4	55,9 ± 3,1	64,6 ± 3,6	71,4 ± 3,9
		MeOH 100	50,4 ± 3,9	55,2 ± 3,4	60,2 ± 3,9	68,5 ± 4,2
	indometazin 10	40,3 ± 4,0 (12,8)	39,8 ± 3,7 (25,6)*	38,4 ± 3,5 (36,1)**	37,2 ± 3,4 (44,3)***	

OSH: Ortalama standart hata

**Çizelge 17.** *Heracleum sphondylium* subsp. *cyclocarpum* kök ekstrelerinden elde edilen fraksiyonların farelerde karagenin nedenli arka pençe ödemi üzerine etkileri

Numune	Doz (mg/kg)	Şişme kalınlığı (x10 <sup>-2</sup> mm) ± OSH (%inhibisyon)				
		90 dk	180 dk	270 dk	360 dk	
<i>Kontrol</i>		41,2 ± 4,7	46,9 ± 4,2	53,6 ± 5,1	59,9 ± 4,8	
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>cyclocarpum</i> diklorometanlı kök ekstresi	Fraksiyon (1-13)	100	53,4 ± 3,9	59,7 ± 3,8	65,8 ± 4,2	71,4 ± 5,3
	Fraksiyon (14-22)	100	44,7 ± 3,8	47,5 ± 3,5	50,4 ± 3,9 (5,9)	52,3 ± 3,4 (12,7)
	Fraksiyon (23-52)	100	54,1 ± 5,6	57,6 ± 4,4	59,2 ± 4,6	61,2 ± 4,1
	Fraksiyon (53-91)	100	52,3 ± 3,2	53,8 ± 3,7	55,6 ± 4,1	63,4 ± 4,7
	Fraksiyon (92-107)	100	53,6 ± 4,1	55,5 ± 4,5	59,1 ± 4,0	62,7 ± 4,3
	Fraksiyon (108-123)	100	41,5 ± 3,2	42,4 ± 3,5 (9,6)	44,1 ± 3,9 (17,7)	51,6 ± 3,4 (13,9)
	Fraksiyon (124-126)	100	43,5 ± 3,4	46,2 ± 3,8 (1,4)	47,9 ± 3,1 (10,6)	51,5 ± 3,2 (14,0)
	Fraksiyon (127-140)	100	42,9 ± 3,5	43,1 ± 3,9 (8,1)	<b>39,6 ± 3,7 (26,1)*</b>	<b>42,4 ± 3,5 (29,2)**</b>
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>cyclocarpum</i> metanollü kök ekstresi	Fraksiyon (1-10)	100	42,8 ± 3,8	45,5 ± 3,5 (2,9)	<b>38,8 ± 3,2 (27,6)*</b>	<b>40,8 ± 3,6 (31,9)**</b>
	Fraksiyon (11-24)	100	41,7 ± 3,1	46,3 ± 3,7 (1,2)	40,6 ± 4,1 (24,3)	43,1 ± 3,6 (28,0)**
	Fraksiyon (25-54)	100	43,5 ± 4,9	45,0 ± 4,5 (4,1)	47,3 ± 4,2 (11,8)	49,6 ± 3,8 (17,2)
	Fraksiyon (55-61)	100	42,3 ± 4,1	44,7 ± 4,5 (4,7)	45,2 ± 4,3 (15,7)	50,1 ± 4,4 (16,4)
İndometazin	10	31,1 ± 3,2 <b>(24,5)*</b>	33,8 ± 3,4 <b>(27,9)**</b>	37,2 ± 3,1 <b>(30,6)**</b>	34,4 ± 3,6 <b>(42,6)***</b>	

OSH: Ortalama standart hata

1946

**Çizelge 18.** *Heracleum sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinden izole edilen maddelerin farelerde karagenin nedenli arka pençe ödemi üzerine etkileri

Numune	Doz (mg/kg)	Şişme kalınlığı (x10 <sup>-2</sup> mm) ± OSH (%inhibisyon)			
		90 dk	180 dk	270 dk	360 dk
Kontrol		35,2 ± 4,6	41,0 ± 4,9	48,6 ± 5,1	51,0 ± 4,2
Heraklenol-3''-O-β-glikozit	100	31,3 ± 3,2 (11,1)	34,4 ± 2,5 (16,1)	<b>31,6 ± 2,4</b> <b>(34,9)**</b>	<b>33,8 ± 2,9</b> <b>(33,7)**</b>
Meranzin hidrat III	100	29,4 ± 3,5 (16,4)	32,7 ± 3,0 (20,2)	36,1 ± 3,7 (25,7)	39,4 ± 3,8 (22,7)
Byakangelisin-3''-O-β-glikozit	100	37,1 ± 2,9	40,3 ± 3,1	<b>34,2 ± 3,8</b> <b>(29,6)**</b>	<b>37,1 ± 3,2</b> <b>(27,3)*</b>
Heraklenol	100	30,6 ± 5,7 (13,1)	36,3 ± 3,7 (11,5)	38,0 ± 3,2 (21,8)	40,3 ± 3,4 (20,9)
Byakangelisin	100	36,0 ± 4,1	39,6 ± 4,3 (3,4)	40,3 ± 3,9 (17,1)	42,5 ± 3,1 (16,7)
indometazin	10	24,2 ± 3,3 <b>(31,3)**</b>	30,1 ± 3,1 <b>(26,6)*</b>	35,8 ± 3,2 <b>(26,3)*</b>	31,6 ± 3,0 <b>(38,0)**</b>

OSH: Ortalama standart hata

**Prostaglandin E2 Nedenli Arka Pençe Ödemi Çalışmalarına Ait Bulgular**

PGE2 ile oluşturulan ödem üzerindeki en yüksek etki *H. spondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinde gözlenmiştir. Diklorometanlı kök ekstresi PGE2 ile indüklenen ödemi 30-60 dakikalari arasında inhibe etmiştir. En yüksek aktiviteyi 45. dakika sonunda göstermiştir (%33,5). 75.dakika sonunda ise kayda değer inhibisyon yapmamıştır. Metanollü ekstre 30-75 dakikalari arasında %26,2-%35,7 oranında aktivite sergilemiştir. İndometazinin anlamlı inhibitör etkisi 30. dakikada başlamış 60. dakika sonunda ise en yüksek etkiyi göstermiştir (%41,3). Esktrelerin PGE2 nedenli enflamasyondaki inhibisyonları Çizelge 19'da verilmiştir. *H. spondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometanlı ekstresinin 127-140 numaralı fraksiyonu ile metanollü ekstresinin 1-10 numaralı fraksiyonu PGE2 nedenli ödemde en yüksek etkiyi sergilemiştir. Fr(127-140) 60 ve 75. dakikalarda sırasıyla %37,3 ve %26,9 inhibisyon yapmıştır. Fr(1-10) ise 45, 60 ve 75. dakikalarda %31,2, %39,2 ve %34,3 oranında etki göstermiştir. Metanollü ekstrenin 11-24 numaralı fraksiyonu yalnızca 60 dakika sonunda anlamlı inhibisyon yapmıştır (%27,5). Test edilen diğer fraksiyonların aktiviteleri kontrol grubu ile kıyaslandığında kayda değer bulunmamıştır (Çizelge 20).

*H. spondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometan ve metanollü ekstrelerinden izole edilen bileşiklerin PGE2 nedenli enflamasyondaki etkileri Çizelge 21'de verilmiştir. Heraklenol-3''-O-β-glikozit %25,3-38,6 aralığında inhibisyon yaparak en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Bunu byakangelisin-3''-O-β-glikozit izlemiştir. 30. dakikada %26,9 45. dakikada ise %27,4 inhibisyon yapmıştır. Bu iki bileşiğin aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuş, izole edilen diğer maddeler ise anlamlı aktivite göstermemiştir.

**Çizelge 19.** *Heracleum* ekstrelerinin farelerde PGE2 nedenli arka pençe ödemi üzerine etkileri

Numune	Doz (mg/kg)	Şişme kalınlığı ( $\times 10^{-2}$ mm) $\pm$ OSH (% inhibisyon)						
		0 dk	15 dk	30 dk	45 dk	60 dk	75 dk	
<i>Kontrol</i>		3,7 $\pm$ 1,2	16,3 $\pm$ 1,5	23,7 $\pm$ 1,4	15,8 $\pm$ 1,2	12,6 $\pm$ 1,3	9,2 $\pm$ 1,1	
<i>H. paphlagicum</i>	K	DCM 100	3,9 $\pm$ 1,1	16,4 $\pm$ 1,2	20,9 $\pm$ 1,5 (11,8)	13,9 $\pm$ 1,4 (12,0)	10,9 $\pm$ 1,6 (13,5)	7,5 $\pm$ 1,2 (18,5)
		MeOH 100	3,7 $\pm$ 1,2	16,6 $\pm$ 1,4	19,8 $\pm$ 1,3 (16,5)	12,7 $\pm$ 1,6 (19,6)	9,7 $\pm$ 1,4 (23,0)	7,7 $\pm$ 1,5 (16,3)
	T	DCM 100	4,0 $\pm$ 1,4	16,5 $\pm$ 1,6	25,1 $\pm$ 1,4	14,4 $\pm$ 1,9 (8,9)	10,7 $\pm$ 1,8 (15,1)	14,4 $\pm$ 1,6
		MeOH 100	3,9 $\pm$ 1,0	16,1 $\pm$ 1,1 (1,2)	21,3 $\pm$ 1,9 (10,1)	14,3 $\pm$ 1,7 (9,5)	19,8 $\pm$ 1,3	13,7 $\pm$ 1,6
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>ternatum</i>	K	DCM 100	3,7 $\pm$ 1,0	16,3 $\pm$ 1,3	18,8 $\pm$ 1,4 (20,7)	<b>10,4<math>\pm</math>1,0</b> (34,2)*	<b>9,5<math>\pm</math>0,6</b> (24,6)*	7,4 $\pm$ 0,8 (19,6)
		MeOH 100	3,9 $\pm$ 1,1	16,5 $\pm$ 1,0	18,1 $\pm$ 1,2 (23,7)	<b>10,7<math>\pm</math>0,7</b> (32,3)*	<b>8,9<math>\pm</math>0,9</b> (29,4)*	7,3 $\pm$ 1,1 (20,7)
	T	DCM 100	4,1 $\pm$ 1,3	16,4 $\pm$ 1,9	24,7 $\pm$ 1,6	13,8 $\pm$ 1,9 (23,7)	9,7 $\pm$ 1,3 (23,0)	7,6 $\pm$ 1,0 (17,4)
		MeOH 100	4,1 $\pm$ 1,2	16,6 $\pm$ 1,2	25,6 $\pm$ 1,7	17,7 $\pm$ 1,6	<b>17,9<math>\pm</math>1,5</b>	11,9 $\pm$ 1,7
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>montanum</i>	K	DCM 100	4,2 $\pm$ 1,6	15,1 $\pm$ 1,6 (7,4)	21,8 $\pm$ 1,6 (8,0)	18,8 $\pm$ 1,3	19,6 $\pm$ 1,8	11,3 $\pm$ 1,2
		MeOH 100	3,8 $\pm$ 1,1	15,7 $\pm$ 0,7 (3,7)	19,7 $\pm$ 0,6 (16,9)	13,2 $\pm$ 0,7 (16,5)	10,8 $\pm$ 0,8 (14,3)	8,9 $\pm$ 0,6 (3,3)
	T	DCM 100	4,2 $\pm$ 1,3	<b>16,9<math>\pm</math>1,9</b>	24,6 $\pm$ 1,5	17,2 $\pm$ 1,3	16,5 $\pm$ 1,8	14,8 $\pm$ 1,8
		MeOH 100	4,4 $\pm$ 1,1	16,5 $\pm$ 1,4	25,9 $\pm$ 1,8	17,5 $\pm$ 1,6	16,7 $\pm$ 1,4	14,7 $\pm$ 1,3
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>cyclocarpum</i>	K	DCM 100	3,5 $\pm$ 1,0 (5,4)	14,8 $\pm$ 1,1 (9,2)	<b>16,4<math>\pm</math>0,8</b> (30,8)*	<b>10,5<math>\pm</math>0,9</b> (33,5)*	<b>8,7<math>\pm</math>0,9</b> (30,9)**	7,1 $\pm$ 1,1 (22,8)
		MeOH 100	4,0 $\pm$ 0,9	13,6 $\pm$ 1,1 (16,6)	<b>17,5<math>\pm</math>0,8</b> (26,2)*	<b>11,2<math>\pm</math>1,0</b> (29,1)*	<b>8,1<math>\pm</math>0,8</b> (35,7)**	<b>6,7<math>\pm</math>0,7</b> (27,2)*
	T	DCM 100	4,0 $\pm$ 1,1	16,4 $\pm$ 1,9	26,5 $\pm$ 1,4	18,6 $\pm$ 1,9	18,5 $\pm$ 1,7	13,5 $\pm$ 1,8
		MeOH 100	4,1 $\pm$ 1,1	16,5 $\pm$ 1,3	26,3 $\pm$ 1,7	18,2 $\pm$ 1,4	18,9 $\pm$ 1,9	15,3 $\pm$ 1,3
indometazin	10	3,6 $\pm$ 0,5 (2,7)	13,9 $\pm$ 1,1 (14,7)	15,2 $\pm$ 1,0 (35,9)**	9,9 $\pm$ 0,9 (37,3)**	7,4 $\pm$ 0,7 (41,3)***	6,1 $\pm$ 0,8 (33,7)**	

SH: Ortalama standart hata; K: Kök, T: Toprak üstü, DCM: Diklorometan, MeOH: Metanol

**Çizelge 20.** *Heracleum sphondylium* subsp. *cyclocarpum* kök ekstrelerinden elde edilen fraksiyonların farelerde PGE2 nedenli arka pençe ödemi üzerine etkileri

Numune	Doz (mg/kg)	Şişme kalınlığı ( $\times 10^{-2}$ mm) $\pm$ OSH (% inhibisyon)						
		0 dk	15 dk	30 dk	45 dk	60 dk	75 dk	
<i>Kontrol</i>		3,1 $\pm$ 1,4	12,4 $\pm$ 1,6	20,1 $\pm$ 1,9	18,9 $\pm$ 1,7	15,3 $\pm$ 1,5	10,8 $\pm$ 1,2	
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>cyclocarpum</i> diklorometanlı kök ekstraktı	Fraksiyon (1-13)	100	3,2 $\pm$ 1,0	13,7 $\pm$ 1,2	21,3 $\pm$ 1,7	19,2 $\pm$ 1,9	17,0 $\pm$ 1,7	14,4 $\pm$ 1,5
	Fraksiyon (14-22)	100	3,1 $\pm$ 1,2	14,2 $\pm$ 1,5	20,7 $\pm$ 1,4	21,7 $\pm$ 1,1	19,4 $\pm$ 1,4	13,2 $\pm$ 1,2
	Fraksiyon (23-52)	100	3,3 $\pm$ 1,5	15,6 $\pm$ 1,3	20,9 $\pm$ 1,2	22,5 $\pm$ 1,6	16,6 $\pm$ 1,3	11,7 $\pm$ 1,1
	Fraksiyon (53-91)	100	3,4 $\pm$ 1,7	14,5 $\pm$ 1,5	22,6 $\pm$ 1,9	20,4 $\pm$ 1,5	18,8 $\pm$ 1,2	12,4 $\pm$ 1,0
	Fraksiyon (92-107)	100	3,1 $\pm$ 1,1	11,7 $\pm$ 1,4 (5,6)	19,4 $\pm$ 1,3 (3,5)	17,6 $\pm$ 1,7 (6,9)	13,3 $\pm$ 1,8 (13,1)	10,9 $\pm$ 1,5
	Fraksiyon (108-123)	100	3,3 $\pm$ 1,4	12,9 $\pm$ 1,9	20,8 $\pm$ 1,5	16,2 $\pm$ 1,4 (14,3)	12,5 $\pm$ 1,7 (18,3)	12,3 $\pm$ 1,4
	Fraksiyon (124-126)	100	3,1 $\pm$ 1,2	12,6 $\pm$ 1,1	19,6 $\pm$ 1,1 (2,5)	16,9 $\pm$ 1,2 (10,6)	13,4 $\pm$ 1,2 (12,4)	11,2 $\pm$ 1,3
	Fraksiyon (127-140)	100	3,2 $\pm$ 1,6	11,4 $\pm$ 1,4 (8,1)	17,1 $\pm$ 1,2 (14,9)	14,6 $\pm$ 1,4 (22,8)	<b>9,6<math>\pm</math>1,5</b> (37,3)*	<b>7,9<math>\pm</math>1,1</b> (26,9)*
	Fraksiyon (1-10)	100	3,4 $\pm$ 1,9	10,6 $\pm$ 1,8 (14,5)	16,9 $\pm$ 1,1 (15,9)	<b>13,0<math>\pm</math>1,1</b> (31,2)**	<b>9,3<math>\pm</math>1,2</b> (39,2)**	<b>7,1<math>\pm</math>1,0</b> (34,3)**
	<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>cyclocarpum</i> metanolü kök ekstraktı	Fraksiyon (11-24)	100	3,2 $\pm$ 1,8	10,8 $\pm$ 1,7 (12,9)	17,8 $\pm$ 1,4 (5,6)	15,3 $\pm$ 1,1 (19,0)	<b>11,1<math>\pm</math>1,1</b> (27,5)*
Fraksiyon (25-54)		100	3,2 $\pm$ 1,5	11,9 $\pm$ 1,2 (4,0)	18,5 $\pm$ 1,6 (7,9)	15,1 $\pm$ 1,3 (20,1)	12,2 $\pm$ 1,1 (20,3)	8,5 $\pm$ 1,5 (21,3)
Fraksiyon (55-61)		100	3,1 $\pm$ 1,3	15,7 $\pm$ 1,3	18,2 $\pm$ 1,2 (9,5)	17,7 $\pm$ 1,0 (6,3)	13,2 $\pm$ 1,4 (13,7)	11,6 $\pm$ 1,6
Indometazin	10	3,1 $\pm$ 1,1	10,1 $\pm$ 1,5 (18,5)	15,3 $\pm$ 1,7 (23,9)*	12,8 $\pm$ 1,2 (32,3)**	8,4 $\pm$ 1,1 (45,1)***	6,8 $\pm$ 0,9 (37,0)***	

OSH: Ortalama standart hata; K: Kök, T: Toprak üstü, DCM: Diklorometan, MeOH: Metanol

**Çizelge 21.** *Heracleum sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinden izole edilen maddelerin farelerde PGE2 nedenli arka pençe ödemi üzerine etkileri

Numune	Doz (mg/kg)	Şişme kalınlığı (x 10 <sup>-2</sup> mm)± OSH (% inhibisyon)					
		0 dk	15 dk	30 dk	45 dk	60 dk	75 dk
Kontrol		3,5±0,9	11,2±1,8	19,3±1,2	21,5±1,1	14,6±1,0	8,2±0,8
Heraklenol-3''-O-β-glikozit	100	4,1±1,4	12,6±1,3	13,9±1,3 (27,9)*	13,2±0,8 (38,6)**	10,9±0,5 (25,3)*	8,5±0,5
Meranzin hidrat III	100	4,0±1,2	15,5±1,4	18,3±1,1 (5,2)	18,1±1,0 (15,8)	16,1±1,3	7,1±0,9 (13,4)
Byakangelisin-3''-O-β-glikozit	100	3,5±1,0	10,1±1,0	14,1±1,2 (26,9)*	15,6±1,3 (27,4)*	14,1±1,4 (3,4)	7,4±0,6 (9,8)
Heraklenol	100	3,8±1,1	13,1±1,1	15,0±1,4 (22,3)	17,3±1,1 (19,5)	12,3±1,2 (15,8)	9,0±0,7
Byakangelisin	100	3,9±1,0	11,3±1,1	16,8±1,5 (12,9)	19,4±1,5 (9,8)	15,2±1,7	10,8±0,4
indometazin	10	3,5±0,5	9,4±0,7 (16,1)	11,4±1,0 (40,9)***	11,5±1,2 (46,5)***	10,3±1,1 (29,5)*	5,2±0,3 (36,5)**

OSH: Ortalama standart hata

**Serotonin Nedenli Arka Pençe Ödemi Çalışmalarına Ait Bulgular**

Serotonin nedenli arka pençe ödeminde *Heracleum* ekstrelerinin kayda değer aktivitesi görülmemiştir (Çizelge 22). Bu nedenle, bu test fraksiyonlara ve izole edilen maddelere uygulanmamıştır.

**Çizelge 22.** *Heracleum* ekstrelerinin farelerde serotonin nedenli arka pençe ödemi üzerine etkileri

Numune	Doz (mg/kg)	Şişme kalınlığı (x 10 <sup>-2</sup> mm)± OSH (% inhibisyon)						
		0 dk	6 dk	12 dk	18 dk	24 dk	30 dk	
Kontrol		4,2±0,9	9,8±1,1	15,7±1,4	20,2±1,3	22,9±1,1	25,5±1,3	
<i>H. paphlagicum</i>	K	DCM	4,3±0,5	10,1±0,7	12,9±1,2 (17,8)	18,1±1,1 (10,4)	20,4±1,3 (10,9)	25,8±1,2
		MeOH	4,9±0,9	10,8±1,1	18,8±1,4	25,7±1,6	27,4±1,3	29,8±1,5
	T	DCM	4,6±0,8	12,3±1,2	15,8±1,1	22,8±1,2	25,8±1,8	28,5±1,7
		MeOH	4,8±1,1	11,6±1,3	17,1±1,1	18,9±1,5 (6,4)	20,6±1,0 (10,0)	27,0±1,2
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>ternatum</i>	K	DCM	4,7±0,7	10,1±1,4	14,2±1,5 (9,6)	18,3±1,2 (9,4)	19,2±1,6 (16,2)	26,0±1,1
		MeOH	4,5±0,7	9,2±1,1 (6,1)	13,4±1,2 (14,6)	16,6±1,4 (17,8)	18,9±1,1 (17,5)	20,8±1,0 (18,4)
	T	DCM	4,9±0,8	9,9±1,7	14,9±1,5 (5,1)	19,5±1,4 (3,5)	19,9±1,9 (13,1)	28,3±1,7
		MeOH	5,3±1,4	11,0±1,3	17,7±1,4	22,9±1,5	26,1±1,7	29,3±1,5
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>montanum</i>	K	DCM	4,6±0,5	10,8±0,9	16,1±1,3	21,7±1,2	23,2±1,3	26,9±1,2
		MeOH	5,4±1,3	12,1±1,6	18,3±1,2	23,4±1,4	25,2±1,3	27,9±1,1
	T	DCM	5,0±1,1	9,5±1,3 (3,1)	13,6±1,2 (13,4)	18,8±1,1 (6,9)	24,2±1,5	25,6±1,5
		MeOH	4,3±0,6	11,5±0,9	16,9±1,2	21,5±1,4	25,1±1,5	26,8±1,4
<i>H. sphondylium</i> subsp. <i>cyclocarpum</i>	K	DCM	4,4±0,7	9,9±0,8	13,3±1,1 (15,3)	17,5±1,2 (13,4)	20,0±1,5 (12,7)	22,9±1,1 (10,2)
		MeOH	5,1±1,2	10,6±1,4	14,8±1,3 (5,7)	19,4±1,1 (3,9)	18,8±1,5 (17,9)	22,5±1,3 (11,8)
	T	DCM	4,1±0,7	10,9±1,1	17,9±1,6	27,4±1,8	25,2±1,4	27,6±1,4
		MeOH	4,1±0,5	13,2±0,9	16,3±1,3	21,3±1,2	28,9±1,3	28,3±1,5
indometazin	10	3,9±0,4 (7,1)	7,2±0,6 (26,5)*	10,9±1,1 (30,6)**	15,4±0,9 (23,8)*	16,2±0,7 (29,3)**	18,8±0,4 (26,2)**	

OSH: Ortalama standart hata; K: Kök, T: Toprak üstü, DCM: Diklorometan, MeOH: Metanol

**5. Sonuç ve Öneriler**

İnsanlar çağlar boyunca, çeşitli hastalıkların tedavisinde bitkilerin iyileştirici etkisinden faydalanmışlardır. Bitkiler insanlık tarihi boyunca gerek gıda gerekse ilaç olarak kullanılarak hastalıkları önlemede ve tedavi etmede başarılı olmuşlardır. Tıbbi bitkilerle ilgili yazılı kayıtlar Sümerlere kadar uzanmakla beraber arkeolojik kayıtlar tıbbi bitki kullanımının daha eskilere dayandığını göstermektedir (Raskin ve ark., 2002). Bitkiler yüzyıllarca etki mekanizmaları ve etkili bileşiklerine dair herhangi bir bilgi olmaksızın yalnızca gözleme dayalı olarak tedavi amacıyla kullanılmıştır. Bilimsel çalışmaların ilerlemesiyle bitkilerin tedavi edici etkilerinin nereden kaynaklandığı konusu araştırılmaya başlanmış ve



tedavi amacıyla kullanılan bitkilerden etkili bileşikler izole edilmiştir. Bitkisel kaynaklı bileşikler 19. yy.'dan beri klinikte yer almaktadır. Günümüze kadar keşfedilen doğal ilaçlar insan sağlığında hayati rol oynamış, sentetik ilaçlarla zorlu bir rekabete girmiş olmasına rağmen güvenlik ve etkinlik profilleri nedeniyle tercih edilen ilaçlar olmuşlardır (Veeresham, 2012). Bitki ekstrelerinin biyolojik aktivitelerinin ve fitokimyasal içeriklerinin taranması çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılabilen yeni ilaçların keşfi için oldukça önemlidir (Ergene ve ark., 2006).

Son yıllarda daha fazla insanın bitkisel tıbbi ürün kullanımına yönelmesiyle Dünyada da bitkisel ilaçlara olan ilgi yeniden canlanmıştır. Gelişmekte olan ülkelerden insanların %80'i tıbbi bitkilerden elde edilen bileşikler içeren geleneksel tedavileri kullanmaktadır (Dash ve ark., 2007).

Tez konusu olarak seçilen *Heracleum* cinsi "Hogweed" ya da "tavşancıl otu" olarak bilinmekte Kuzey Yarımküre'de özellikle Avrasya'da yayılış göstermekle birlikte Dünya'da 125 tür, ülkemizde ise 18 tür ve 23 taksonla temsil edilmektedir (Bahadori ve ark., 2016). Çin geleneksel tıbbında ve yetiştiği bazı ülkelerde antienflamatuvar amaçla kullanımı dikkat çekmektedir. Bunun yanı sıra çok sayıda farklı amaçlarla geleneksel kullanımı bildirilmiştir. *H. sphondylium* kök ve toprak üstü kısımları Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'da yara iyileştirici olarak, ayrıca diyare, dizanteri ve menstrual hastalıklarda kullanılmaktadır. *H. austriacum* subsp. *austriacum* beyaz çiçekleri ise Rönesans döneminde Avrupa'da epilepsiyi tedavi etmek için kullanılmıştır (Usjak ve ark., 2018 ve Uysal ve ark., 2019). *Heracleum* türlerinin baş ağrısı, romatoid artrit, diş ağrısı, ateş, deri hastalıkları, sırt ağrısı gibi enflamasyonla ilişkili olabilecek hastalıkların tedavisinde kullanımları bildirilmiştir. (Amiri ve Joharchi, 2013; Arnold ve ark., 2015; Bae ve ark., 2012; Hosseinzadeh ve ark., 2019; Jaric ve ark., 2015; John ve ark., 2007; Karimi ve Ito, 2012; Kim ve ark., 2019; Rastogi ve ark., 2007 ve Vitalini ve ark., 2015).

*Heracleum* türlerinin fitokimyasal içerikleri incelendiğinde ise zengin kumarin içeriğine sahip oldukları özellikle iyi furanokumarin kaynakları olduğu görülmektedir (Hosseinzadeh ve ark., 2019). *Heracleum* cinsine ait bitkilerin halk arasındaki kullanımlarının yanı sıra zengin kumarin içerikleri ile kumarin bileşiklerinin kanıtlanmış antienflamatuvar aktiviteleri de tez konusunun çıkış noktası olmuştur.

Bu çalışmada Türkiye'de yetişen dört *Heracleum* taksonunun, *H. paphlagonicum*, *H. sphondylium* subsp. *ternatum*, *H. sphondylium* subsp. *montanum*, *H. sphondylium* subsp. *cylocarpum*, kök ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan diklorometanlı ve metanollü ekstrelerin antienflamatuvar etkisi değerlendirilmiş, etkiden sorumlu olabilecek bileşiklere ulaşabilmek amacıyla biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama yapılmıştır. Seçilen türlerden hazırlanan ekstrelerin antienflamatuvar aktivite tayininde karagenin nedenli arka pençe ödemi, PGE2 nedenli arka pençe ödemi ve serotonin nedenli arka pençe ödemi testleri kullanılmıştır. *H. sphondylium* subsp. *cylocarpum* köklerinin diklorometanlı ekstresi karagenin nedenli pençe ödemi %10,2-15,35 metanollü ekstresi ise %3,9-17,9 aralığında inhibe ederek en yüksek aktiviteyi göstermiştir. PGE2 nedenli enflamasyonda ise her iki ekstrenin inhibisyon kapasitesi %5,4-35,7 aralığında bulunmuştur. Karagenin testinde kontrol grubuna göre anlamlı etkinin 180. dakikadan sonra görülmesi, ekstre ve fraksiyonların serotonin üzerinden değil araşidonik asit yolları ile etki gösterdiğini düşündürmüştür. Serotonin ile oluşturulan enflamasyonda etki görülmemesi bu hipotezi doğrulamıştır. Bu nedenle biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama amacıyla aktivite yönlendirmeli izolasyona karagenin ve PGE2 nedenli pençe ödemi testleriyle devam edilmiştir. En yüksek aktiviteyi gösteren iki ekstre ayrı ayrı kolon kromatografisine uygulanarak fraksiyonlanmıştır. Elde edilen fraksiyonlar kromatografik yöntemlerle değerlendirilerek, benzer içeriğe sahip olanlar birleştirilmiştir. Fraksiyonların aktiviteleri karagenin ve PGE2 nedenli ödem üzerinde test edilerek en aktif fraksiyonlar diklorometanlı ekstrenin 127-140 numaralı fraksiyonu ile metanollü ekstrenin 1-10 numaralı fraksiyonu olarak bulunmuştur. Semi-preparatif YPSK kullanılarak 127-140 numaralı fraksiyondan furanokumarin heterozitleri, heraklenol-3"-O-β-glikozit, byakangelisin 3"-O-β-glikozit ile 7-metoksi kumarin glikoziti meranzin hidrat III; 1-10 numaralı fraksiyondan ise furanokumarin aglikonları olan heraklenol ve byakangelisin izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin antienflamatuvar etkileri test edilmiş, heraklenol ve byakangelisin heterozitlerinde kontrol grubuna göre anlamlı aktivite gözlenmiştir. Heraklenol-3"-O-β-glikozit karagenin nedenli arka pençe ödeminde %33,7-34,9; PGE2 nedenli arka pençe ödeminde %25,3-38,6 oranında inhibisyon meydana getirmiştir. Byakangelisin 3"-O-β-glikozitin ise inhibisyon yüzdesi karagenin ve PGE2 nedenli enflamasyon için sırasıyla %27,3-29,6 ve %26,9-27,4 olarak hesaplanmıştır.



Literatür verileri incelendiğinde farklı *Heracleum* türleri üzerinde yapılan antienflamatuvar aktivite çalışmalarına rastlanmıştır. Liu ve ark., (1998) tarafından yapılan bir çalışmada *H. candicans*, *H. moellendorffii*, *H. rapula*, ve *H. stenopterum* köklerinin COX-1 ve 5-LOX'u kayda değer olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. *H. moellendorffii* kökleri *in vitro* olarak NO ve PGE2 üretimini inhibe etmiştir. (Park ve ark., 2017). *H. moellendorffii* yapraklarından izole edilen dehidrogeijerin ise LPS nedenli enflamasyonda NO, iNOS, COX-2 ve proenflamatuvar sitokin üretimini azaltmıştır (Bae ve ark., 2012). *H. persicum* meyvelerinin uçucu yağı ile sulu-alkollü ekstresi karagenin nedenli pence ödeminde anlamlı inhibisyon göstermiştir (Hajhashemi ve ark., 2009). *H. rigens* tohum ve köklerinin metanollü ekstresi ise sıçanlarda karagenin nedenli pence ödeminin doza bağlı olarak inhibe etmiştir (Jagannath ve ark., 2012).

Çalışmamızda izole edilen bileşiklere bakıldığında, heraklenolün *Heracleum* türlerinde oldukça yaygın olduğu görülmüştür. *H. canascens* (Razdan ve ark., 1982), *H. brunonis* (Khetwal ve Pathak, 1987), *H. rapula* (Niu ve ark., 2002), *H. yunnngingense* (Taniguchi ve ark., 2005), *H. candicans* (Nakamori ve ark., 2008), *H. dissectum* (Gao ve ark., 2019) kökleri ile *H. platytenium* toprak üstü kısımlarından (Erdoğan Orhan ve ark., 2016) izole edilmiştir. Heraklenol-3"-O-β-glikozit ise *H. dissectum* (Zhang ve ark., 2020) ile *H. rapula* köklerinde (Niu ve ark., 2002) bulunmuştur. Byakangelisin, *H. platytenium* ile *H. dissectum* türlerinin toprak üstü kısımlarından (Erdoğan Orhan ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2017b) ve *H. nepalense* köklerinden (Bose ve ark., 2007) izole edilmiştir. Byakangelisin 3"-O-β-glikozit ve meranzin hidrat III ise önceki çalışmalarda *Heracleum* türlerinde tespit edilmemiştir.

Heraklenol-3"-O-β-glikozit, byakangelisin 3"-O-β-glikozit, meranzin hidrat III ile heraklenol ve byakangelisin bileşiklerine Apiaceae ve Rutaceae familyalarında sıklıkla rastlandığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Heraklenol aglikonunun *Ruta montana* L. (Rutaceae) toprak üstü kısımlarından (Kabouche ve ark., 2003); *Phebalium* aff. *tuberculosum* (Rutaceae) yapraklarından (Roux ve ark., 2006), *Citrus junos* Tanaka (Apiaceae) tohumlarından (Song ve ark., 2019), *Clausena lansium* (Lour.) Skeels (Rutaceae) (Maneerat ve ark., 2010) ve *Rhadinothermus rudis* subsp. *amblycarpus* (Rutaceae) dallarından (Girard ve ark., 2005), *Selinum cryptotaenium* Boiss. (Apiaceae) köklerinden (Rao ve ark., 2006), *Angelica lucida* L. (Apiaceae) (Widelski ve ark., 2009) ve *Pastinaca sativa* L. s.l. (Apiaceae) meyvelerinden (Kviesis ve ark., 2019) izole edildiği bildirilmiştir. *Prangos pabularia* Lindley (Apiaceae) kök, çiçek ve tohumlarından ise heraklenol ve heraklenol-3"-O-β-glikozit izole edilmiştir (Sharma ve ark., 2013). Heraklenol-3"-O-β-glikozit ayrıca *Angelica dahurica* ve *Angelica archangelica* subsp. *litoralis* köklerinden izole edilmiştir (Kwon ve Kim, 1992 ve Thastrup ve Lemmich, 1983).

Byakangelisin *Angelica dahuricae* Bentham et Hooker (Apiaceae) köklerinden (Piao ve ark., 2004), *Pastinaca sativa* meyvelerinden (Kviesis ve ark., 2019) ve *Murraya koenigii* (L) Spreng (Rutaceae) tohumlarından (Adebajo ve Reisch, 2000) izole edilmiştir. Byakangelisin 3"-O-β-glikozit ise *Angelica dahurica* ve *Angelica archangelica* subsp. *litoralis* köklerinden (Kim ve ark., 1992 ve Thastrup ve Lemmich, 1983) izole edilmiştir ve izolasyonuna dair başka bir çalışma bulunmamıştır.

Meranzin hidrat III'ün aglikonu olan meranzin hidrat doğal olarak ilk defa *Magydaris tomentosa* çiçeklerinden izole edilene kadar meranzinin sentetik izomeri olarak tanınmıştır (Li ve ark., 2019). Meranzin hidrat; Apiaceae familyasında *Angelica biserrata*'nın (R.H. Shan & C.Q. Yuan) C.Q. Yuan & R.H. Shan kök ve rizomlarından (Ma ve ark., 2019), *Phellolophium madagascariense* Baker yapraklarından (Riviere ve ark., 2006), *Prangos ferulace* (L.) Lindl, *Prangos hulusii* S. G. Senol, H. Yıldırım & Ö. Seçmen ve *Ferulago subvelutina* Rech. F. köklerinden (Abyshv ve ark., 1974; Naseri ve ark., 2013 ve Tan ve ark., 2017); *Cnidium monnieri* Cusson meyvelerinden (Shin ve ark., 2011); *Seseli tortuosum* L.B.S. Eur. toprak üstü kısımlarından (Ceccherelli ve ark., 1989); Rutaceae familyasında ise *Citrus aurantium* var. *amara* L. meyvelerinin kurutulmuş kabuklarından izole edilmiştir (Sarker ve ark., 2008). Apiaceae ve Rutaceae familyaları dışında *Ficus hirta* Vahl köklerinden izole edildiği bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2013). Meranzin hidrat glukoziti olan meranzin hidrat III bileşiği ise günümüze kadar yapılan çalışmalarda yalnızca *Citrus grandis* (L.) Osbeck meyvelerinde ve *C. aurantium* var. *amara* flavedosunda bulunmuştur (Mchale ve ark., 1987 ve Tian ve ark., 2019).

Fitokimyasal çalışmaların yanı sıra izole edilen bileşiklerin çeşitli aktiviteleri görülmüştür. Heraklenol-3"-O-β-glikozit HePG2 8 (karaciğer) hücre serilerinde zayıf (Zhang ve ark., 2020), NCI-H322 (akciğer)

hücre dizilerinde ise standarttan yüksek aktivite sergilerken aglikonu olan heraklenol ise A431 (epidermoid) için anlamlı sitotoksitite ortaya çıkarmıştır (Farooq ve ark., 2014).

Kumarinlerin sitokinler üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada heraklenol 10 µg/ml konsantrasyonda, IL-4, IL-1β ve TNF-α salınımlarını standart olarak kullanılan prednizolona (0,3 µg/ml) karşı %2,6; %17,3 ve %66,7 oranında inhibe etmiştir (Tada ve ark., 2002). Başka bir çalışmada, TPA nedenli kulak ödeminde 0,1-1 mg/kulak dozda, %23,1-75,7 aralığında inhibisyon yaptığı bulunmuştur. Antienflamatuvar etkisinin doza bağlı olduğu bildirilmiştir (Garcia-Argaez ve ark., 2000). Diyabetik sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada byakangelisinin şekere bağlı kataraktı ve diyabetik nöropatiyi iyileştirdiği bildirilmiştir (Shin ve ark., 1998). İnterlökin IL-1β ile indüklenen fare kondrositlerinde yapılan bir çalışmada, byakangelisin IL-1β-aracılı iNOS, COX-2, TNF-α ve IL-6 ekspresyonunu inhibe etmiş, kolajen ve agrekan ekspresyonunu artırmıştır. Bu bulgular byakangelisinin osteoartrit tedavisi ve profilaksisinde kuvvetli bir aday olduğunu göstermiştir (Zhang ve ark., 2020). Bir başka çalışmada byakangelisinin κB aktivasyonunu inhibe ederek sitokin salınımını engellediği bulunmuştur (Li ve Wu, 2017).

Aterosklerotik fareler ile yapılan bir çalışmada meranzin hidrat antiaterosklerotik etki göstermiş, ayrıca ateroskleroza eşlik eden depresyon parametrelerinde iyileşme sağlamıştır (Li ve ark., 2019). *Ex vivo* bir çalışmada meranzin hidratin protrombin zamanını düşürerek antikoagülan etki gösterdiği bulunmuştur (Roselli ve ark., 2006). *C. grandis* kabuklarından izole edilen meranzin hidrat ksilen nedenli kulak kepçesi ödemi 3 mg/kg dozda %19,5; 1,5 mg/kg dozda %17,9 oranında azaltmıştır. Karagenin nedenli enflamasyonu ise 1,5 ve 3 mg/kg dozlarda sırasıyla %37,8 ve %47,6 oranında inhibe etmiştir. *in vitro* testlerde 5 µg/ml konsantrasyonda IL-1β, PGE2 ve TNF-α üretimini azaltmıştır (Zhao ve ark., 2019). Bir başka çalışmada ise galaktozamin nedenli karaciğer toksisitesine karşı kuvvetli koruyucu etki gösterdiği ortaya konmuştur (Tian ve ark., 2019). *C. monnieri* meyvelerinden izole edilen meranzin hidratin insan nötrofillerinde fMet-Leu-Phe/sitokalazın B (fMLP/CB) indüklü superoksit üretimini ve elastaz salınımını inhibe ettiği bildirilmiştir (Lee ve ark., 2014). *Limnocitrus littoralis* (Miq.) Swingle yapraklarından izole edilen meranzin hidrat izomeri meranzinin *in silico* moleküler modelleme çalışmalarında COX-2'yi doza bağlı olarak COX-1'i ise doza bağlı olmadan inhibe ettiği bildirilmiştir. COX-1 üzerindeki etkisi ise COX-2'den düşük bulunmuştur (Do ve ark., 2007).

Çalışmamızda, BAYF ile izolasyonun yanı sıra hazırlanan ekstrelerin kumarin, flavonoit ve fenolik asit içerikleri de YPSK yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Bitki ekstralarının yapılan analiz koşullarında standart madde olarak kullanılan flavonoit ve fenolik asitleri içermediği görülürken, kumarinlerden yalnızca ksantotoksin, imperatorin, angelisin, bergapten ve ostol tespit edilmiştir. *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* kökleri yüksek bergapten içeriği (%0,49) ile dikkat çekerken 7-metoksi kumarin türevi olan ostol (%0,05) de yalnızca bu ekstrede saptanmıştır. Ksantotoksin *H. sphondylium* subsp. *ternatum* ve *H. sphondylium* subsp. *montanum* köklerinde tespit edilmiş; *H. paphlagonicum*, *H. sphondylium* subsp. *montanum* ve *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin angelisin içeriği ise birbirine yakın bulunmuştur (sırasıyla; %0,04; %0,04 ve %0,02). İmperatorin sadece *H. sphondylium* subsp. *montanum* toprak üstü ekstresi ve *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* kök ekstresinde tespit edilmiştir.

*Heracleum* türlerinin kökleri ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan 16 farklı ekstre ile başladığımız ve en yüksek antienflamatuvar aktivite görülen ekstre/fraksiyonu takip ederek yürüttüğümüz bu izolasyon çalışması bizi heraklenol-3"-O-β-glikozit bileşiğine ulaştırmıştır. Bileşiğin aktivitesinin ekstralardan yüksek bulunması, aynı zamanda aktif fraksiyonlardan izole edilen diğer bileşiklerin de kumarin yapısında olması *Heracleum* türlerinin geleneksel kullanımındaki antienflamatuvar etkisinin büyük olasılıkla kumarin türevi bileşiklerden kaynaklandığını göstermektedir.

## 6. Geleceğe İlişkin Öngörülen Katkılar

Sentetik ilaçlara göre daha az yan etkiye sahip olmaları ya da yan etkiye sahip olmamaları nedeniyle tıbbi bitkiler sıklıkla tercih edilmekte ancak olası yan etkileri yeterince göz önünde bulundurulmamaktadır. *Heracleum* türleri sergiledikleri farmakolojik aktivitelerle oldukça umut verici olsa da insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinin olabileceği de bilinmektedir. Özellikle bergapten,

imperatorin, ksantotoksin gibi fototoksik furanokumarinlerin epidermal dokuya nüfuz ederek güneş ışığıyla aktive oldukları, enflamasyonu ve hücre zarı hasarını tetiklediği bildirilmiştir (Bahadori ve ark.; 2016; Maggi ve ark.,2014).

Bu çalışmada *Heracleum* türlerinin halk arasındaki antienflamatuvar kullanımları ve zengin kumarin içeriklerinden yola çıkılarak seçilen ve daha önce detaylı bilimsel çalışmaların yapılmadığı dört *Heracleum* taksonunun antienflamatuvar etkileri *in vivo* olarak test edilmiştir. En yüksek aktiviteyi gösteren *H. sphondylium* subsp. *cyclocarpum* köklerinin diklorometan ve metanollü ekstrelerinden biyolojik aktiviteyle yönlendirilmiş fraksiyonlama yöntemi izlenerek beş kumarin türevi bileşik izole edilmiş ve yapıları heraklenol-3''-O- $\beta$ -glikozit, heraklenol, byakangelisin, byakangelisin-3''-O- $\beta$ -glikozit ve meranzin hidrat III olarak spektroskopik yöntemler kullanılarak tayin edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin antienflamatuvar etkileri değerlendirilmiş ve en yüksek aktivite heraklenol-3''-O- $\beta$ -glikozit bileşiğinde görülmüştür. İzole edilen bileşikler ile ekstrelerin sergiledikleri inhibisyon değerleri karşılaştırıldığında heraklenol-3''-O- $\beta$ -glikozitin bitki ekstrelerinden daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Aglikonlar ise anlamlı bir aktivite göstermemiştir.

*Heracleum* türlerinin antienflamatuvar etkisinin değerlendirilerek, etkiden sorumlu bileşiklerin izolasyonunu amaçlayan başka bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca byakangelisin 3''-O- $\beta$ -glikozit ve meranzin hidrat III bileşikleri *Heracleum* türlerinden ilk defa bu çalışma ile izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Seçilen taksonların kök ve toprak üstü kısımlarının kumarin içeriği analiz edilmiş ve tespit edilen kumarin türevlerinin miktar tayini ilk kez bu çalışma ile yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda heraklenol ve byakangelisin aglikonlarının antienflamatuvar etkisi gösterilmiş ancak heterozit formları ile gerçekleştirilen antienflamatuvar etki çalışmasına rastlanmamıştır. Bu nedenle güçlü aktivite gösteren heraklenol-3''-O- $\beta$ -glikozit bileşiği ve bu bileşik üzerinden hazırlanacak standardize ekstrelerin daha detaylı çalışılarak etki mekanizmalarının ortaya çıkarılması önem taşımaktadır.

#### 7. Sağlanan Altyapı Olanakları ile Varsa Gerçekleştirilen Projeler

#### 8. Sağlanan Altyapı Olanaklarının Varsa Bilim/Hizmet ve Eğitim Alanlarındaki Katkıları

#### 9. Kaynaklar

ABYSHEV AZ, DENISENKO PP, KOSTYUCHENKO NP, ERMAKOV AI, SHEINKER YN (1972). Natural meranzin hydrate- A new component. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*, 5: 608-612.

ADEBAJO AC, REISCH J (2000). Minor furocoumarins of *Murraya koenigii*. *Fitoterapia*, 71: 334-337.

AMIRI MS, JOHARCHI MR (2013). Ethnobotanical investigation of traditional medicinal plants commercialized in the markets of Mashhad, Iran. *Avicenna J Phytomed*, 3(3): 254-271.

ARNOLD N, BAYDOUN S, CHALAK L, RAUS TH (2015). A contribution to the flora and ethnobotanical knowledge of Mount Hermon, Lebanon. *Fl.Medit.*, 25: 13-55.

BAE DS, KIM CY, LEE JK (2012). Anti-inflammatory effects of dehydrogeijerin in LPS-stimulated murine macrophages. *International Immunopharmacology*, 14: 734-739.

BAHADORI MB, DINPARAST L, ZENGİN G (2016). The Genus *Heracleum*: A comprehensive review on its phytochemistry, pharmacology, and ethnobotanical values as a useful herb. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15: 1018-1039.

BOSE SK, DEWANJEE S, MANDAL SC (2007). Antibacterial activity of methanol extract of roots of *Heracleum nepalense* D Don. on bacteria causing diarrhoea. *Oriental Pharmacy and Experimental*

Medicine, 7(3): 286-289.

CECCHERELLI P, CURINI M, MARCOTULLIO MC, MADRUZZA G (1989). Tortuoside, a new natural coumarin glucoside from *Seseli tortuosum*. Journal of Natural Products, 52(4): 888-890.

DASH S, NATH LK, BHISE S, BHUYAN N (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of *Heracleum nepalense* D Don root. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 4(1):341-347.

DİNCEL D, HATIPOĞLU SD, GÖREN AC, TOPÇU G (2013). Anticholinesterase furocoumarins from *Heracleum platytaenium*, a species endemic to the Ida Mountains. Turkish Journal of Chemistry, 37: 675-683.

DO QT, LAMY C, RENIMEL I, SAUVAN N, ANDRE P, HIMBERT F, MORIN-ALLORY L, BERNARD P (2007). Reverse pharmacognosy: Identifying biological properties for plants by means of their molecule constituents: application to meranzin. Planta Med, 73: 1235-1240.

ERDEMOGLU N, TURAN NN, KÜPELİ AKKOL E, SENER B, ABACIOGLU N (2009). Estimation of anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant activities on *Arctium minus* (Hill) Bernh. ssp. minus. Journal of Ethnopharmacology, 121: 318-323.

ERDOĞAN ORHAN İ, TOSUN F, SKALICKA-WOZNIAK K (2016). Cholinesterase and tyrosinase inhibitory, and antioxidant potential of randomly selected Umbelliferous plant species and the chromatographic profile of *Heracleum platytaenium* Boiss. and *Angelica sylvestris* L. var. sylvestris. Journal of the Serbian Chemical Society, 81(4):357-368.

ERGENE A, GULER P, TAN S, MIRICI S, HAMZAOGLU E, DURAN A (2006). Antibacterial and antifungal activity of *Heracleum sphondylium* subsp. *artvinense*, African Journal of Biotechnology, 5(11): 1087-1089.

FAROOQ S, REHMAN S, DANGROO NA, PRIYA D, BANDAY JA, SANGWAN PL, QURISHI MA, KOUL S, SAXENA AK (2014). Isolation, cytotoxicity evaluation and HPLC-quantification of the chemical constituents from *Prangos pabularia*, PLOS ONE; 9(12): e115110.

GARCÍA-ARGAEZ AN, APAN TOR, DELGADO HP, VELAZQUEZ G, MARTINEZ-VAZQUEZ M (2000). Anti-inflammatory activity of coumarins from *Decaroptis bicolor* on TPA ear mice model. Planta Med., 66: 279-281.

GAO Y, MI J, ZHANG CL, ZHANG XQ, PENG YJ, BAO Y, ZHANG HL (2019). Three New Polyacetylene Glycosides from the Roots of *Heracleum dissectum* and Their Triglyceride Accumulating Activities in 3T3-L1 Cells. Chemistry & Biodiversity, 16: 1-9.

GIRARD C, ROUX D, MUYARD F, COLOMBAIN M, TILLEQUIN F, WATERMAN PG, BEVALOT F (2005). 3-substitued coumarins from the twigs of *Rhadinothamnus rudis* ssp. *amblycarpus*. Z. Naturforsch, 60b: 561-564.

HAJHASHEMI V, SAJJADI SE, HESHMATI M (2009). Anti-inflammatory and analgesic properties of *Heracleum persicum* essential oil and hydroalcoholic extract in animal models. Journal of Ethnopharmacology, 124: 475-480.

HOSSEINZADEH Z, RAMAZANI A, RAZZAGHI-ASL N (2019). Plants of the Genus *Heracleum*

as a Source of Coumarin and Furanocoumarin. *Journal of Chemical Reviews*, 1(2): 78-98.

JAGANNATH N, RAMAKRISHNAIAH H, KRISHNA V (2012). Anti-inflammatory and anticancer activity of *Heracleum rigens* Wall.ex DC. *Phytopharmacology*, 3(1): 61-67.

JARIC S, MACUKANOVIC-JOCIC M, DJURDJEVIC L, MITROVIC M, KOSTIC O, KARADZIC B, PAVLOVIC P (2015). A ethnobotanical survey of traditionally used plants on Suva planina mountain (South-eastern Serbia). *Journal of Ethnopharmacology*, 175: 93-108.

JOHN AJ, KARUNAKARAN VP, GEORGE V, SETHURAMAN MG (2007). Chemical Composition of Leaf and Fruit Oils of *Heracleum candolleianum*. *Journal Essential Oil Research*, 19: 358-359.

KABOUCHE Z, BENKIKI N, SEGUIN E, BRUNEAU C (2003). A new dycoumarinyl ether and two rare furocoumarins from *Ruta montana*. *Fitoterapia*, 74: 194-196.

KARIMI AG, ITO M (2012). Sedative effect of vapor inhalation of essential oil from *Heracleum afghanicum* Kitamura seeds. *Journal Essential Oil Research*, 24(6): 571-577.

KHETWAL KS, PATHAK RP, JOSHI B (1987). Active Crystalline Principles From *Heracleum brunonis*. *Journal of Natural Products*, 50(5): 997-998.

KIM HN, KIM JD, YEO JH, SON HJ, PARK SB, PARK GH, EO HJ, JEONG JB (2019). *Heracleum moellendorffii* roots inhibit the production of pro-inflammatory mediators through the inhibition of NF- $\kappa$ B and MAPK signaling, and activation of ROS/Nrf2/HO-1 signaling in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19: 1-10.

KIM SH, KANG SS, KIM CM (1992). Coumarin glycosides from the roots of *Angelica dahurica*. *Arch. Pharm. Res.*, 15(1): 73-77.

KÜPELİ AKKOL E, ERCİL D (2009). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of some *Linaria* species from Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 47(3): 188-194.

KVIESIS J, KLIMENKOV S, ARBIDANS L, PODJAVA A, KLAVINS M (2019). Evaluation of furanocoumarins from seeds of the wild parsnip (*Pastinaca sativa* L.s.l.). *Journal of Chromatography*, 1105: 54-66.

KWON YS, KIM CM (1992). Coumarin glycosides from the roots of *Angelica dahurica*. *Kor J. Pharmacogn.*, 23(4): 221-224.

LEE TH, CHEN YC, HWANG TL, SHU CW, SUNG PJ, LIM YP, KUO WL, CHEN JJ (2014). New coumarins and anti-inflammatory constituents from the fruits of *Cnidium monnieri*. *Int. J. Mol. Sci.*, 15: 9566-9578.

LI L, YU A, WANG Z, CHEN K, ZHENG W, ZHOU JJ, XIE Q, YAN HB, REN P, HUANG X (2019). Chaihu-Shugan-San and absorbed meranzin hydrate induce antiatherosclerosis and behavioral improvements in high-fat diet ApoE<sup>-/-</sup> mice via anti-inflammatory and BDNF-TrkB pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 115: 1-12.

LI D, WU L (2017). Coumarins from the roots of *Angelica dahurica* cause anti-allergic inflammation. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 14: 874-880.

- LIU JH, ZSCHOCKE S, REININGER E, BAUER R (1998). Comparison Of Radix Angelicae Pubescentis and Substitutes -Constituents and Inhibitory Effect On 5-Lipoxygenase and Cyclooxygenase. *Pharmaceutical Biology*, 36(3): 207-216.
- MA J, HUANG J, HUA S, ZHANG Y, ZHANG Y, LI T, DONG L, GAO Q, FU X (2019). The ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Angelica biserrata* – A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 231: 152-169.
- MAGGI F, QUASSINTI L, BRAMUCCI M, LUPIDI G, PETRELLI D, VITALI LA, PAPA F, VITTORI S (2014). Composition and biological activities of Hogweed [*Heracleum sphondylium* L. subsp. *ternatum* (Velen.) Brummitt] essential oil and its main components octyl acetate and octyl butyrate. *Natural Product Research*, 28(17): 1354-1363.
- MANEERAT W, PRAWAT U, SAEWAN N, LAPHOOKHIEO S (2010). New coumarins from *Clausena lansium* twigs. *J. Braz. Chem. Soc.*, 21(4): 665-668.
- MCHALE D, KHOPKAR PP, SHERIDAN JB (1987). Coumarin glycosides from *Citrus flavedo*. *Phytochemistry*, 26(9): 2547-2549.
- NAKAMORI T, TANIGUCHI M, SHIBANO M, WANG NH, BABA K (2008). Chemical Studies on the Root of *Heracleum candicans* Wall. *J Nat Med*, 62: 403-412.
- NASERI M, MONSEF-ESFEHANI HR, SAEIDNIA S, DASTAN D, GOHARI AR (2013). Antioxidative coumarins from the roots of *Ferulago subvelutina*. *Asian Journal of Chemistry*, 25(4): 1875-1878.
- NIU XM, KI SH, JIANG B, ZHAO QS, SUN HD (2002). Constituents from the roots of *Heracleum rapula* Franch. *Journal of Asian Natural Products Research*, 4(1): 33-41.
- PARK SY, LEE N, LEE S, KIM MJ, CHUN W, KIM HP, YANG HJ, LEE HS, KWON Y (2017). A new 3, 4-epoxyfurocoumarin from *Heracleum moellendorffii* Roots. *Natural Product Sciences*, 23(3): 213-216.
- RAO GX, GAO YL, LIN YP, XIAO YL, LI SH, SUN HD (2006). Chemical constituents of *Selinum cryptotaenium*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 8(3):273-275.
- RASKIN I, RIBNICKY DM, KOMARNYTSKY S, ILIC N, POULEV A, BORSJUK N, BRINKER A, MORENO DA, RIPOLL C, YAKOBY N, O'NEAL JMO, CORNWELL T, PASTOR I, FRIDLINDER B (2002). *Plants and Human Health in the Twenty-first Century. Trends in Biotechnology*, 20(12): 522-531.
- RAZDAN TK, KACHROO V, HARKAR S, KOUL GL (1982). Furanocoumarins from *Heracleum canescens*. *Phytochemistry*, 21(4): 923-927.
- RIVIERE C, GOOSSENS L, POMMERY N, FOURNEAU C, DELELIS A, HENICHART JP (2006). Antiproliferative effects of isopentenylated coumarins isolated from *Phellolophium madagascariense* Baker. *Natural Product Research*, 20(10): 909-916.
- ROSELLI S, MAGGIO A, BELLONE G, FORMISANO C, BASILE A, CICALA C, ALFIERI A, MASCOLO N, BRUNO M (2007). Antibacterial and anticoagulant activities of coumarins isolated



from the flowers of *Magydaris tomentosa*. *Planta Med*, 72: 116-120.

ROUX D, MUYARD F, GIRARD C, COLOMBAIN M, TILLEQUIN F, WATERMAN PG, BEVALOT F (2006). Phebaclavin I, a novel 3-prenylated coumarin, and trichoclin acetate, a new natural furanocoumarin, from the aerial parts of *Phebalium* aff. *Tuberculosum* (Rutaceae). *Natural Product Research*, 20(3): 279-283.

SARKER SD, HABIBI B, SHARIFI T, ASNAASHARI S, NAHAR L, DELAZAR A (2008). Effect of *Citrus aurantium* var *amara* on weight change in mice. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 8(3): 222-227.

SHARMA N, ASHOK PK, NEGI A, LAKSHMAYYA B (2013). A review on ethnobotany, phytochemical and pharmacological Dynamics of *Prangos pabularia* Lindl. *Journal of Natural Remedies*, 13(2): 68-75.

SHIN KH, LIM SS, KIM DK (1998). Effect of byakangelicin, an aldose reductase inhibitor, on galactosemic cataracts, the polyol contents and Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>ATPase activity in sciatic nerves of streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 5(2): 121-127.

SHIN E, LEE C, SUNG SH, KIM YC, HWANG BY, LEE MK (2011). Antifibrotic activity of coumarins from *Cnidium monnieri* fruits in HSC-T6 hepatic stellate cells. *J Nat Med*, 65: 370-374.

SONG HY, JO A, SHIN J, LIM EH, LEE YE, JEONG DE, LEE M(2019). Anti-inflammatory activities of isogosferol, a furanocoumarin isolated from *Citrus junos* seed shells through bioactivity-guided fractionation. *Molecules*, 24: 1-16.

TADA Y, SHIKISHIMA Y, TAKAISHI Y, SHIBATA H, HIGUTI T, HONDA G, ITO M, TAKEDA Y, KODZHIMATOV OK, ASHURMETOV O, OHMOTO Y (2002). Coumarins and  $\gamma$ -pyrone derivatives from *Prangos pabularia*: antibacterial activity and inhibition of cytokine release. *Phytochemistry*, 59(6): 649-654.

TAN N, YAZICI-TÜTÜNİŞ S, BİLGİN M, TAN E, MİSKİ M (2017). Antibacterial activities of pyrenylated coumarins from the roots of *Prangos hulusii*. *Molecules*, 22: 1-8.

TANIGUCHI M, YOKOTA O, SHIBANO M, WANG NH, BABA K (2005). Four Coumarins from *Heracleum yunnngnigense*. *Chem. Pharm. Bull.*, 53(6): 701-704.

THASTRUP O, LEMMICH J (1983). Furocoumarin glucosides of *Angelica archangelica* subspecies *litoralis*. *Phytochemistry*, 22(9): 2035-2037.

TIAN D, WANG F, DUAN M, CAO L, ZHANG Y, YAO X, TANG J (2019). Coumarin analogues from the *Citrus grandis* (L.) Osbeck and their hepatoprotective activity. *J Agric Food Chem*, 67: 1937-1947.

TOKER G, KÜPELİ E, MEMİSOĞLU M, YESİLADA E (2004). Flavonoids with antinociceptive and anti inflammatory activities from the leaves of *Tilia argentea* (silver linden). *Journal of Ethnopharmacology*, 95: 393-397.

USJAK LJ, PETROVIC S, DROBAC M, NIKETIC M (2018). Constituents of the essential oils of *Heracleum austriacum* subsp. *siifolium*, an endemic plant of the Southeastern alps. *Chemistry of*

Natural Products, 54(2): 384-386.

UYSAL A, OZER OY, ZENGİN G, STEFANUCCI A, MOLLICA A, PICOT-ALLAIN CMN, MAHOMOODALLY MF (2019). Multifunctional approaches to provide potential pharmacophores for the pharmacy shelf: *Heracleum sphondylium* L. subsp. *ternatum* (Velen.) Brummitt. Computational Biology and Chemistry, 78: 64-73.

VEERESHAM C (2012). Natural products derived from plants as a source of drugs. Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research, 3(4): 200-201.

VITALINI S, PURICELLI C, MIKEREZI I, IRITI M (2015). Plants, people and traditions: ethnobotanical survey in the Lombard Stelvio National Park and neighbouring areas (Central Alps, Italy). Journal of Ethnopharmacology, 173(15): 435-458.

WIDELSKI J, POPOVA M, GRAIKOU K, GLOWNIAK K, CHINOU I (2009). Coumarins from *Angelica lucida* L. – Antibacterial activities. Molecules, 14: 2729-2734.

YEŞİLADA E, KÜPELİ E (2002). *Berberis crataegina* DC. root exhibits potent anti-inflammatory, analgesic and febrifuge effects in mice and rats. Journal of Ethnopharmacology, 79: 237-248.

ZHANG H, SU Y, WANG X, MI J, HUO Y, WANG Z, LIU Y, GAO Y (2017b). Antidiabetic activity and chemical constituents of the aerial parts of *Heracleum dissectum* Ledeb. Food Chemistry, 214: 572-579.

ZHANG C, DENG S, CHEN L, YANG M, WANG B, ZHANG X, GAO Y, ZHANG H (2020). A new coumarin isolated from the roots of *Heracleum dissectum* Ledeb. Natural Product Research, 2020: 1-6.

ZHAO YL, YANG XW, WU BF, SHANG JH, LIU YP, DAI Z, LUO XD (2019). Anti-inflammatory effect of Pomelo peel and its bioactive coumarins. J Agric. Food. Chem. 67: 8810-8818.

ZHENG RR, YA J, WANG WJ, YANG HB, ZHANG QW, ZHANG XQ, YE WC (2013). Chemical studies on roots of *Ficus hirta*. China Journal of Chinese Materia Medica, 38(21): 3696-3701.

## 10. Ekler

### a. Mali Bilanço ve Açıklamaları

Proje kapsamında istenen malzemelerin tamamı tek seferde alınmıştır. Tüm malzemeler tüketim ürünüdür ve deneysel çalışmalar sırasında kullanılmıştır.

1- Balb-C/Kby fare (erkek): in vivo deneylerde kullanıldı.

2- metanol: Ekstraksiyon ve kromatografi çalışmalarında kullanıldı.

3- asetonitril: YPSK analizlerinde çözücü olarak kullanıldı.

4- vial-vida kapak N9: YPSK numulerini hazırlamada kullanıldı.

5- şırınga filtre-PTFE: YPSK cihazına enjekte edilecek numuneleri süzmek için kullanıldı.

6- Diklorometan: Ekstraksiyon işlemleri ve İTK çalışmalarında kullanıldı.



EK-11 Sonuç Raporu Formatı

- 7- İTK Silikajel Alüminyum plak: İTK çalışmalarında kullanıldı.
- 8- İTK Silikajel 60 RP-18 Alüminyum plak: İTK çalışmalarında kullanıldı.
- 9- Pipet ucu mavi: Küçük hacimli sıvıların aktarımında kullanıldı.
- 10- Pipet ucu sarı: Küçük hacimli sıvıların aktarımında kullanıldı.
- 11- şırınga-sökülebilir iğneli-seri RN-iğne tipi A-25 µl: Numunelerin hayvanlara tatbiki için kullanıldı.
- 12- şırınga-sökülebilir iğneli-seri RN-iğne tipi A-50 µl: Numunelerin hayvanlara tatbiki için kullanıldı.

Türkiye'de Yetişen Bazı Heracleum Türlerinin Antienflamatuvar Etkilerinin Değerlendirilmesi | 2080237002 | Devam Ediyor

Bölge	Yardımcılar	İş Planı	Gider Listesi	Ödenekler	Yayımlar ve Atıf Sayıları	Hakemler	Doçentler	İzmirli Formlar	Raporlar	Baş. Kom. Kararları	Son
-------	-------------	----------	---------------	-----------	---------------------------	----------	-----------	-----------------	----------	---------------------	-----

Proje Bütçesi (Başlangıç ödeneginde proje kabul edilene kadar teklif edilen, kabul edildikten sonra kabul edilen rakamlar gösterilir)

Bütçe Yılı	Detaylar													
Bütçe Kodu	Açıklama	Öncelki Yılları Devir	Başlangıç Ödenegi	Edilen Aiktarma	Düşülen Aiktarma	Edilen Ödenek	Düşülen Ödenek	Net Ödenek	Harcanan (Mahsup)	Harcanan (Diğer)	Bloke Edilen (Avans)	Bloke Edilen (Diğer)	Kalan	
2020	05.2	TÜKETİME YÖNELİK MAL VE MALZEME ALIMLARI	0,00	40.000,00	0,00	0,00	0,00	0,00	40.000,00	0,00	37.557,33	0,00	0,00	2.442,67
	<b>Toplam</b>		<b>0,00</b>	<b>40.000,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>40.000,00</b>	<b>0,00</b>	<b>37.557,33</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>2.442,67</b>
2021	05.2	TÜKETİME YÖNELİK MAL VE MALZEME ALIMLARI	2.442,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2.442,67	0,00	0,00	0,00	0,00	2.442,67
	<b>Toplam</b>		<b>2.442,67</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>2.442,67</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>2.442,67</b>

	Giderin açıklaması	Miktar	Ölçü birimi	Kullanılan	Kalan	Birim Fiyatı	KDV dahil tutarı
1	Balb-C/Kby fare (erkek)	556	Adet	556	0	47,2	26.243,20
2	Methanol 99,9% for liquid chromatography (2.5 lt)	30	Şişe	30	0	94,4	2.832,00
3	Acetonitrile %99.9 gradient grade for liquid chromatography (2.5 lt)	10	Şişe	10	0	233,64	2.336,40
4	Vial-vida kapak-N9-1,5ml-11,6*32mm-şeffaf (1 paket=100 adet)	2	paket	2	0	158,12	316,24
5	şırınga filtre-PTFE-0.20/25 (1paket=100 adet)	2	paket	2	0	708	1.416,00
6	Dichlorometane %99 (2.5 lt)	5	Şişe	5	0	159,3	796,5
7	TLC silicagel 60, 25 Aluminium sheet , F254 (25 adet)	4	Adet	4	0	518,4	2.073,60
8	TLC silicagel 60, RP-19 F254S 20 Aluminium sheet (20 adet)	2	Adet	2	0	1.489,32	2.978,64

EK-11 Sonuç Raporu Formatı

9	Pipet ucu-mavi-1000µl (1paket=500 adet)	1	paket	1	0	40,12	40,12
10	Pipet ucu-sarı-200µl (1paket=1000 adet)	1	paket	1	0	29,5	29,5
11	şırınga-sökülebilir iğneli- seri RN-iğne tipi A-25 µl	1	Adet	1	0	401,2	401,2
12	şırınga-sökülebilir iğneli- seri RN-iğne tipi A-50 µl	1	Adet	1	0	497,96	497,96
13	Sözleşmeden arta kalan tutar	1	Adet	0	1	38,64	38,64
							40.000,00

b. Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar

c. Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar

d. Sunumlar (bildiriler ve teknik raporlar) **(Altyapı ve Yönlendirilmiş Projeler için uygulanmaz)**

e. Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler **(Altyapı ve Yönlendirilmiş Projeler için uygulanmaz)**

1946