



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***INULA HETEROLEPIS* BOISS. ÜZERİNDE  
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

**Melek KARACAOĞLU**

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Engin ŞARER**

**2014- ANKARA**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***INULA HETEROLEPIS* BOISS. ÜZERİNDE  
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

**Melek KARACAOĞLU**

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Engin ŞARER**

**2014- ANKARA**

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Farmakognozi Yüksek Lisans **Programı**

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
Yüksek Lisans **Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20/11/2014

Prof. Dr. Engin ŞARER  
Ankara Üniversitesi  
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Ayşegül KÖROĞLU  
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Alev TOSUN  
Ankara Üniversitesi

**İÇİNDEKİLER**

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	xi
Çizelgeler	xii
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. <i>Inula heterolepis</i> 'in Sistematikteki Yeri	5
1.2. Asteraceae Familyası	6
1.3. <i>Inula</i> L. Cinsi	6
1.4. <i>Inula heterolepis</i> Boiss.	7
1.5. <i>Inula</i> Türlerinin Türkiye'deki Dağılımı	7
1.6. <i>Inula</i> Türlerindeki Etken Bileşikler	11
1.7. <i>Inula</i> Türleri Üzerinde Fitokimyasal Araştırmalar	11
1.8. <i>Inula</i> Türlerinin Biyolojik Etkileri	24
1.8.1. Antiproliferatif ve Sitotoksik Etki	24
1.8.2. Antitümör Etki	28
1.8.3. Kemoprotektif Etki	30
1.8.4. Antienflamatuvar Etki	30
1.8.5. Antimikrobiyal Etki	33
1.8.6. Antioksidan Etki	36
1.8.7. Antifidant Etki	38
1.8.8. Antidiyabetik Etki	39

1.8.9. Üreme Üzerine Etkileri	40
1.8.10. Herbisit Etki	41
1.8.11. Hipolipidemik Etki	41
1.8.12. Kardiyoprotektif Etki	42
1.8.13. Diğer Etkiler	42
1.9. <i>Inula</i> Türlerinin Kullanılışı	43
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>50</b>
2.1. Bitkisel Materyal	50
2.2. Fitokimyasal Analizler	50
2.2.1. Ekstraksiyon ve Kalitatif Analizler	50
2.2.1.1. Ekstraksiyon Yöntemi	50
2.2.1.2. İnce Tabaka Kromatografisi	51
2.2.1.3. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi	52
2.2.2. Kantitatif Analizler	54
2.2.2.1. Total Fenol Miktar Tayini	54
2.2.2.2. Fenolik bileşiklerin HPLC ile Miktar Tayini	55
Çikoric Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi	56
Klorojenik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi	56
Luteoline ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi	56
Kafeik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi	57
Gallik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi	57
Kemferole ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi	58
Kersetine ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi	58
2.2.2.3. LOQ ve LOD Değerlerinin Hesaplanması	59
2.2.3. İzolasyon ve Yapı Tayini Çalışmaları	59

2.2.3.1. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi	59
2.2.3.2. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi	60
2.2.3.3. Ultraviyole Spektroskopisi	60
2.2.3.4. Infrared Spektroskopisi	60
2.3. Aktivite Testleri	61
2.3.1. Antioksidan Aktivite	61
2.3.1.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi	61
2.3.1.2. TEAC/ABTS Yöntemi	62
2.3.2. Antimikrobiyal Aktivite	64
<b>3. BULGULAR</b>	66
3.1. <i>Inula heterolepis</i> 'den Elde Edilen Ekstreler	66
3.2. <i>Inula heterolepis</i> 'in İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi	66
3.3. <i>Inula heterolepis</i> 'deki Bazı Fenolik Bileşiklerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Teşhisi	69
3.4. Total Fenol Miktar Tayini Bulguları	75
3.5. <i>Inula heterolepis</i> 'deki Bazı Fenolik Bileşiklerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Miktar Tayini	77
3.5.1. Standartlara ait Kalibrasyon Eğrileri ve Doğru Denklemleri	78
3.5.2. Standart Bileşiklerin LOQ Konsantrasyonlarındaki Alan Ortalamaları, Standart Sapma (SD) ve Bağlı Yüzde Standart Sapma (% RSD) Değerleri	85
3.6. İzolasyon ve Yapı Tayini Çalışmalarına İlişkin Bulgular	86
3.6.1. İzole edilen X bileşiğinin HPLC Kromatogramı, UV ve IR Spektrumları	86
3.7. Aktivite Testleri	88
3.7.1. Antioksidan Aktivite	88
3.7.1.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi	88

3.7.1.2. TEAC/ABTS Yöntemi	89
3.7.2. Antimikrobiyal Aktivite	90
<b>4. TARTIŞMA</b>	91
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	97
<b>ÖZET</b>	99
<b>SUMMARY</b>	100
<b>KAYNAKLAR</b>	101
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	111

## ÖNSÖZ

Yeryüzünde geniş yayılış gösteren *Inula* cinsinin birçok türü uzun yıllardan beri geleneksel halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Fitokimyasal çalışmalar sonucunda bu türlerden elde edilen çoğu bileşiğin çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte hali hazırda çok az çalışılmış ya da hiç çalışılmamış birçok tür bulunduğu, fitokimyasal ve biyolojik çalışmaların bu türler üzerinde yoğunlaşması gerekliliği bizi Türkiye’de doğal olarak yetişen bazı *Inula* türleri üzerinde çalışmaya yöneltmiştir. Bu sebeple; *Inula* türleri üzerinde daha önce yapılan çalışmalar sonucu yayınlanan literatür özet halinde derlenerek, ülkemizde yetişen bazı *Inula* türleri üzerinde ekstraksiyon, izolasyon, yapı tayini, miktar tayini ve aktivite çalışmaları gerçekleştirilerek, bilim dünyasına yeni veriler kazandırılması amaçlanmıştır.

Uzmanlık eğitimim boyunca tecrübe ve bilgilerinden yararlandığım, beraber çalışmaktan onur duyduğum, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Engin ŞARER’e,

Çalışmalarım esnasında Merkez Laboratuvarını kullanmama olanak sağlayan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı’na,

Yüksek Lisans eğitimime büyük katkılar sağlayan Anabilim Dalımızın değerli hocalarına,

Bitki türlerimin teşhisinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Zeki AYTAÇ’ a

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarımı yönlendirerek yardımlarını esirgemeyen Sayın Yard. Doç. Dr. Selami GÜNAL’a,

Çalışmalarım sırasında beni hoşgörü ve sabırla destekleyen araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Attığım her adımda yanımda olan sevgili arkadaşlarıma,

Beni sevgiyle yetiştiren, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen pek değerli aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.



**SİMGELER ve KISALTMALAR**

<sup>13</sup> C-NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance
<sup>1</sup> H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
ABTS	2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
Aort	Absorbans Ortalaması
C	Konsantrasyon
CD	Circular Dichroism
CE	Capillary Electrophoresis
CPC	Centrifugal Partition Chromatography
COSY	Correlation Spectroscopy
DAD	Diode Array Detection
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
ED <sub>50</sub>	% 50'sine Etkili Olan Doz
EC <sub>50</sub>	% 50'sine Etkili Olan Konsantrasyon
ELSD	Evaporative Light Scattering Detector
FID	Flame Ionization Detector
FT-IR	Fourier Transform Infrared
GC	Gas Chromatography
GC-MS	Gas Chromatography Mass Spectrometry
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
HPLC-MS	High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

HRMS	High-Resolution-Mass Spectrometry
IC <sub>50</sub>	% 50'sini İnhibe Eden Konsantrasyon
IR	İnfrared
LD <sub>50</sub>	Ortalama Letal Doz
LC <sub>50</sub>	Ortalama Letal Konsantrasyon
LC	Liquid Chromatography
LC-MS	Liquid Chromatography-Mass Spectrometry
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantification
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
MPLC	Medium Pressure Liquid Chromatography
MS	Mass Spectrometry
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NO	Nitric Oxide
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
R <sup>2</sup>	Korelasyon Katsayısı
RP-HPLC	Reverse Phase High-Performance Liquid Chromatography
RSD	Relative Standard Deviation
ROESY	Rotating-Frame Overhauser Effect Spectroscopy
S/N	Signale to Noise ratio
SOD	Superoxide Dismutase
SRB	Sulforhodamine-B

TFA	Trifluoroacetic Acid
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TLC	Thin Layer Chromatography
UV	Ultraviole
WHO	World Health Organization

## ŞEKİLLER

Şekil 1.	<i>I. heterolepis</i> 'in Türkiye'de gösterdiği dağılım	9
Şekil 2.	<i>Inula heterolepis</i> , genel görünüş	10
Şekil 3.	<i>Inula heterolepis</i>	10
Şekil 4.	Bitkinin topraküstü ve kök ekstralarının NP/PEG 4000 ile muamelesi sonucunda UV 365nm'de TLC kromatogramı	67
Şekil 5.	Bitkinin topraküstü ve kök ekstralarının, Vanilin/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ile muamelesi sonucunda görünür alanda TLC kromatogramı	68
Şekil 6.	Bitkinin topraküstü ve kök ekstralarının, Anisaldehit/ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ile muamelesi sonucunda UV 365nm'de ve görünür alanda TLC kromatogramı	69
Şekil 7.	<i>I. heterolepis</i> bitkisinin metanol ile hazırlanmış yaprak ekstresinin 330 nm'deki HPLC kromatogramı	70
Şekil 8.	<i>I. heterolepis</i> bitkisinin metanol ile hazırlanmış çiçek ekstresinin 330 nm'deki HPLC kromatogramı	70
Şekil 9.	<i>I. heterolepis</i> bitkisinin metanol ile hazırlanmış kök ekstresinin 270 nm'deki HPLC kromatogramı	70
Şekil 10.	HPLC ile % miktar tayini yapılan fenolik bileşiklerin molekül formülleri	71
Şekil 11.	<i>I. heterolepis</i> ekstralarında bulunan çikoric asitin UV spektrumu	72
Şekil 12.	<i>I. heterolepis</i> ekstralarında bulunan klorojenik asitin UV spektrumu	72
Şekil 13.	<i>I. heterolepis</i> ekstralarında bulunan luteolinin UV spektrumu	73
Şekil 14.	<i>I. heterolepis</i> ekstralarında bulunan kafeik asitin UV spektrumu	73
Şekil 15.	<i>I. heterolepis</i> ekstralarında bulunan gallik asitin UV spektrumu	74
Şekil 16.	<i>I. heterolepis</i> ekstralarında bulunan kemferolün UV spektrumu	74

<b>Şekil 17.</b>	<i>I. heterolepis</i> ekstrelerinde bulunan kersetinin UV spektrumu	75
<b>Şekil 18.</b>	Gallik asite ait kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi	76
<b>Şekil 19.</b>	Çikoric asite ait kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi	78
<b>Şekil 20.</b>	Klorojenik asite ait kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi	79
<b>Şekil 21.</b>	Luteoline ait kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi	80
<b>Şekil 22.</b>	Kafeik asite ait kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi	81
<b>Şekil 23.</b>	Gallik asite ait kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi	82
<b>Şekil 24.</b>	Kemferole ait kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi	83
<b>Şekil 25.</b>	Kersetine ait kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi	84
<b>Şekil 26.</b>	İzole edilen X bileşiğın 270 nm'deki HPLC kromatogramı	87
<b>Şekil 27.</b>	İzole edilen X bileşiğının UV spektrumu	87
<b>Şekil 28.</b>	İzole edilen X bileşiğın IR spektrumu	87

## ÇİZELGELER

<b>Çizelge 1.</b>	<i>I. helenium</i> 'un geliştirilmiş PμZP yöntemiyle saptanan analiz sonuçları	15
<b>Çizelge 2.</b>	TLC'de kullanılan çözücü sistemleri ve revelatörler	51
<b>Çizelge 3.</b>	HPLC analiz koşulları	52
<b>Çizelge 4.</b>	HPLC'de kullanılan çözücü sistemi-V	53
<b>Çizelge 5.</b>	<i>I. heterolepis</i> 'den elde edilen ekstrelerin verimleri ve miktarları	66
<b>Çizelge 6.</b>	<i>I. heterolepis</i> 'in çeşitli kısımlarından elde edilen ekstrelerden hazırlanan çözeltilerin absorbands (Abs) değerleri	75
<b>Çizelge 7.</b>	Gallik asit çözeltilerin absorbands (Abs) ve konsantrasyon (C) değerleri	76
<b>Çizelge 8.</b>	<i>I. heterolepis</i> 'in kısımlarından elde edilen ekstrelerin total fenol miktarları	77
<b>Çizelge 9.</b>	<i>I. heterolepis</i> 'in yaprak, çiçek ve kök ekstrelerinde saptanan fenolik bileşiklerin % miktarları	78
<b>Çizelge 10.</b>	Çikoric asite ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması	79
<b>Çizelge 11.</b>	Çikoric asite ait doğru denklemi korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri	79
<b>Çizelge 12.</b>	Klorojenik asite ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması	80
<b>Çizelge 13.</b>	Klorojenik asite ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri	80
<b>Çizelge 14.</b>	Luteoline ait konsantrasyon değerleri ve pik alanları ortalaması	81
<b>Çizelge 15.</b>	Luteoline ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri	81

<b>Çizelge 16.</b>	Kafeik asite ait konsantrasyon değerleri ve pik alanları ortalamaları	82
<b>Çizelge 17.</b>	Kafeik asite ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri	82
<b>Çizelge 18.</b>	Gallik asite ait konsantrasyon değerleri ve pik alanları ortalaması	83
<b>Çizelge 19.</b>	Gallik asite ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri	83
<b>Çizelge 20.</b>	Kemferole ait konsantrasyon değerleri ve pik alanları ortalaması	84
<b>Çizelge 21.</b>	Kemferole ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri	84
<b>Çizelge 22.</b>	Kersetine ait konsantrasyon değerleri ve pik alanları ortalaması	85
<b>Çizelge 23.</b>	Kersetine ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri	85
<b>Çizelge 24.</b>	Standartların LOQ konsantrasyonuna göre hazırlanan çözeltilerinin pik alanlarının ortalamaları, standart sapma değerleri ve bağıl yüzde standart sapma değerleri	86
<b>Çizelge 25.</b>	<i>I. heterolepis</i> ekstralarının DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite bulguları	88
<b>Çizelge 26.</b>	Kafeik asit için konsantrasyon ve % inhibisyon değerleri	88
<b>Çizelge 27.</b>	<i>I. heterolepis</i> ekstralarının TEAC/ABTS yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite bulguları	89
<b>Çizelge 28.</b>	Kafeik asit ve troloks için konsantrasyon ve % inhibisyon değerleri	89
<b>Çizelge 29.</b>	<i>I. heterolepis</i> ekstralarının ve standart ilaçların MIC değerleri ( $\mu\text{g/ml}$ )	90
<b>Çizelge 30.</b>	Türkiye kaynaklı bazı <i>Inula</i> türlerinin total fenol miktarları	92
<b>Çizelge 31.</b>	Türkiye kaynaklı bazı <i>Inula</i> türlerinin DPPH ve ABTS yöntemleri ile saptanan $\text{IC}_{50}$ değerleri	94

**Çizelge 32.**

Türkiye kaynaklı bazı *Inula* türlerine  
ait ekstrelerin MIC değerleri

95



## 1. GİRİŞ

İnsanların yaşamları boyunca farklı alanlarda başvurduğu bitkiler, birçok etnik grup için oldukça önemli rollere sahiptir. Gıda ihtiyacını karşılamanın yanında bitkiler, çeşitli hastalıkların tedavisinde ve profilaksisinde öncelikle tercih edilmektedir. Tıpta; bitkilerin böcekler, mantarlar ve otçul memelilere karşı savunma mekanizmaları sonucu ürettikleri kimyasallardan bazıları kullanılmaktadır. Birçoğu aromatik maddeler, bir kısmı fenolikler veya onların oksijenlenmiş türevleri olan sekonder metabolitler bu kimyasallara örnek gösterilebilir. Bitkilerle tedavi yüzyıllar boyu ilgi kaynağı olmuş ve bu zamana kadar toplamın sadece % 10'u kadar olduğu tahmin edilen onikibin civarında bileşik izole edilmiştir (Inta ve ark., 2013; Vaher ve ark., 2014).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2011 verilerine göre; gelişmekte olan ülkelerdeki dünya nüfusunun yaklaşık % 70 ila % 95'i temel sağlık hizmetlerinde, öncelikli olarak bitkilerden yararlanmaktadır. Ayrıca halen Avrupa ve Amerika'da reçetelenen ilaçların yaklaşık % 50'sinin bizzat doğal ürünler ya da bitkiler ve türevlerini içerdiği belirlenmiştir. Bu durum ilaç endüstrisinin tıbbi bitkisel ürünlere olan ilgisini arttırmış; bitkisel ilaçlar, bitkisel kozmetikler ve bitkisel gıda takviyelerinin üretiminin artması sonucu şifalı bitkilerin tıbbi ve kültürel alanlardaki önemine ek olarak ekonomik değerleri de oldukça artmıştır (Talib ve ark., 2012; Dzoyem ve ark., 2013; Mabona ve ark., 2013).

Çiçekli bitkilerin en büyük familyası olan Asteraceae (Compositae), 1620 cins ve 23600'den fazla türü kapsar; Türkiye'de ise 446 tanesi endemik olmak üzere 1186 tür ve 140 cins ile temsil edilmektedir (Öztürk ve Çetin, 2013). Bu familyaya ait birçok bitkinin ekonomik değeri oldukça yüksektir. Örnek olarak; ilaç olarak kullanılan ekinezya (*Echinacea sp.*Moench), sebze olarak tüketilen enginar (*Cynara cardunculus L.*), tohumlarından yağ elde edilen ayçiçeği (*Helianthus annuus L.*), çok uzun yıllardır tekstil boyası olarak kullanılan aspir (*Carthamus tinctorius L.*), oldukça popüler ve biyolojik açıdan muadillerine kıyasla daha güvenilir bir insektisit olan pire otu (*Tanacetum coccineum*(Wild.)Grierson) gösterilebilir (Bruno ve ark., 2013).

Asteraceae familyasına ait türler üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar ise; bitkilerin tıbbi etkinliğini sağlayan monoterpenler, seskiterpenler, seskiterpen laktonlar, diterpenler, triterpenler, poliasetilenler, flavonoidler, kumarinler, benzofuranlar, asetofuranlar ve fenilpropanlar gibi grupların varlığı tespit edilmiştir (Alvarenga ve ark., 2001).

Asteraceae familyasının tıbbi önemi olan *Inula* L. cinsi; Avrupa, Asya ve Afrika gibi Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak bulunur ve bünyesinde 100'den fazla türü barındırır. Bu familya ait bazı türler, çok eskiden beri antiinflamatuar ve antikanser etkileri nedeniyle halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Başta *Inula helenium* L., *I. racemosa* Hooker fil., *I. viscosa* (L.) Aiton, *I. britannica* L. *I. royleana* DC., *I. japonica* Thunb., *I. rhizocephala* var. *rhizocephaloids* (Clarke) Kitam., *I. obtusifolia* A. Kern., *I. grantioides*, *I. helianthus-aquatica* C.Y.Wu. gibi tıbbi değeri literatür verileriyle kanıtlanmış türler olmak üzere, bu cinse ait yaklaşık 25 tür fitokimyasal açıdan araştırılmış; yapısında bulunan sekonder metabolitlerin antiinflamatuar hastalıklar, dizanteri, astım tedavisini de kapsayan çok çeşitli farmakolojik etkiler oluşturduğu belirlenmiştir (Giamperi ve ark., 2010; Amin ve ark., 2013; Qin ve ark., 2013; Spiridon ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2013; Jallali ve ark., 2014). *Inula* cinsi, Doğu Asya'da da yaklaşık 100 tür ile temsil edilmesine rağmen; türlerin bir çoğunun Batı Himalaya'nın ulaşılması zor bölgelerinde yetişmesi nedeniyle, literatür verilerinde yalnızca birkaç türe ait kimyasal özellik belirlenebilmiştir. Türler üzerinde yapılan çalışmalar; başta alantolakton ve izoalantolakton olmak üzere seskiterpen laktonlar, seskiterpenik asitler, triterpenler, steroller ve flavonoidler gibi kimyasal açıdan iyi bilinen çeşitli bileşiklerini taşıdıklarını ortaya koymaktadır. Sahip oldukları bu kimyasal içerik sayesinde *Inula* cinsine ait bitkilerin; hepatit, alerji, tümör, ülser, tüberküloz, öksürük, soğukalgınlığı, diyabet gibi çok çeşitli hastalıkların tedavisinde etkinlik sağladığı ortaya konmuştur. *Inula* cinsinde yer alan bitkilerin tıbben önemli fitokimyasalların sentezinden sorumlu olmalarının yanı sıra; hem allopatide hem de geleneksel tedavi sistemlerinde birçok hastalığın tedavisinde kullanıldıkları bildirilmiştir (Amin ve ark., 2013).

Birçok *Inula* türü, çok uzun yıllardan beri Çin Halk Tıbbında; sıklıkla peptik özellikleri, ekspektoran, detümesans, antienflamatuvar ve vermifüj etkileri nedeniyle kullanılmaktadır. Bazı *Inula* türlerinin çiçekli dalları; astrenjan olarak, üriner sistem enfeksiyonları, malaria, anemi, tüberküloz ve bronşit tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 2013; Jallali ve ark., 2014). *Inula helenium*'un halk ilacı olarak genellikle; astım, bronşit, boğmaca gibi solunum rahatsızlıkları, sindirim sistemi bozuklukları, üriner enfeksiyonlar ile cilt hastalıklarının tedavisinde ve sinek kovucu olarak kullanıldığı ortaya konmuştur. Ayrıca bitkinin köklerinden elde edilen uçucu yağın sahip olduğu potansiyel antistafilokok etkinin de, etnofarmakolojik kullanımıyla bağlantılı olduğu belirlenmiştir (Stojanović-Radić ve ark., 2012; Radulović ve ark., 2014).

*Inula britannica* çiçekleri; sahip oldukları immunomodülatör, hepatoprotektif, antihepatit etkileriyle Geleneksel Çin Tıbbında birçok reçetede oldukça yaygın olarak yer almıştır (Hong ve ark., 2012). Neredeyse bin yıldan bu yana antimikrobiyal ajan olarak kullanılan *Inula racemosa*; iskemik kalp hastalığı, diyabet, bronşiyal astım gibi, patogenezinde oksidatif hasarın başrolü oynadığı hastalıklarda da etkinlik gösteren geleneksel Çin tıbbı droglarındandır (Salil ve ark., 2012). Geleneksel farmakopeler incelendiğinde; *I. viscosa*'nın hemostatik ajan, topikal antienflamatuvar, diüretik, antimikrobiyal olarak ve gastroduodenal rahatsızlıklar ile diyabetin tedavisinde terapötik amaçlarla kullanıldığı belirlenmiştir (Mamoci ve ark., 2012). Son çalışmalarda, çeşitli *Inula* türlerinden elde edilen ekstraların; kardiyovasküler, hipoglisemik, antitümör, antiülser, antibakteriyal, antiviral, antifungal, antiparazitik ve hepatoprotektif etkileri kaydedilmiştir (Giamperi ve ark., 2010; Spiridon ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2013; Jallali ve ark., 2014). *Inula* cinsi bitkilerinde etkiden sorumlu karakteristik bileşikler; seskiterpenler, monoterpenler, diterpenler gibi terpenik bileşikler ile flavonoidlerdir (Zhang ve ark., 2013). Renksiz, acı, nispeten stabil, lipofilik bileşikler olan seskiterpenler; genelde Asteraceae familyası bitkilerinde sıklıkla rastlanan sekonder metabolitlerdendir (Saad ve ark., 2012).

Son yıllarda önemli bir araştırma konusu haline gelen seskiterpenik bileşikler; sahip oldukları antienflamatuvar, antibakteriyal (bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığını artırma özellikleri de dahil olmak üzere), antiprotozoal, antikarsinogenik, antitümoral ve antioksidan özellikleri ile bilinirler (Vinholes ve ark., 2014). *Inula* cinsi bitkilerin sahip oldukları biyolojik aktivitelerin çeşitliliği; taşıdıkları ödesman, germakran, guayan, bis-seskiterpen tip seskiterpen türevleriyle açıklanmıştır. Özellikle guayan tip seskiterpenlerde yaygın olarak rastlanan fonksiyonel bir grup olan  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lakton halkasının; artemisin, tapsigargin, partenolit ve bunların sentetik türevleri örneklerindeki gibi, antikanser aktiviteye ilişkin umut vaaddettiği belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2013; Qin ve ark., 2013).

*I. helenium*, *I. japonica* ve *I. racemosa* ana aktif bileşenlerinden olan alantolakton ve izoalantolakton'un; toksisite yaratmaksızın larvisidal, antifungal, antihelmintik, antimikrobiyal, antienflamatuvar, antitripanosomal ve antikanser özellikler başta olmak üzere çeşitli farmakolojik etkilere sahip olduğu kaydedilmiştir. Bileşiklerin ayrıca kanser vakalarında, sıklıkla salınımı anormalleşen çoklu hücrel sinyal yollarını hedefleyerek, apoptozisi indüklediği bildirilmiştir. Çalışmalarda kolon, melanoma, ovaryum, prostat, akciğer, lösemi tip kanser hücre serileri üzerindeki antiproliferatif etkileri; kanser hücrelerinin etkili ve seçici ölümüne neden olarak sağladığı ileri sürülmüştür (Rasul ve ark., 2013).

Tez konusunu oluşturan *Inula heterolepis* türü yurdumuzda doğal olarak yetişmektedir. *Inula heterolepis* Boiss. başta Güney Lübnan olmak üzere Doğu Akdeniz ülkelerinde yetişen, yaklaşık 30-70 cm boyunda ve sarı renkli kapitulum taşıyan, çok yıllık bir bitkidir. Flora of Turkey'de *Inula heterolepis* Boiss., *I. candida* (L.) Cass. var. *heterolepis* (Boiss.) ve *I. verbascifolia* (Willd.) Hausskn. subsp. *heterolepis* Boiss. olmak üzere 2 sinonimle anılmaktadır. Türkçe'de ise bu tür "Kaya andızı, Kaya andız otu, Çay otu, Çakşır çayı, Çekşir çayı" adlarıyla bilinir (Davis, 1982, Baytop 1999, Polat ve Satıl, 2012).

*I. heterolepis* Boiss.'in, Anadolu'da halk arasında infüzyon halinde iştah açıcı olarak, baş ağrısına ve hemoroide karşı kullanıldığı kaydedilmiştir. Ayrıca Balıkesir kırsalında özellikle kadınların kısırlık tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada ise; *I. heterolepis* sulu ekstresi, farelerde alkolik hepatik hasara karşı anlamlı derecede etkili bulunmuştur (Baytop, 1999, Saygı ve ark., 2003; Altundağ ve Öztürk, 2011; Polat ve Satıl, 2012).

Türkiye'de doğal olarak yetişen *I. heterolepis* üzerinde ülkemizde yapılmış dört çalışma vardır. Literatüre kayıtlı bu çalışmalar; bitkiden etken madde izolasyonu, bitkinin hepatik hasar üzerine etkisi ve halk arasında kullanımının rapor edildiği etnobotanik 2 çalışma ile sınırlıdır. Bu tür üzerinde; yurtdışı kaynaklı örnekler bugüne kadar yapılmış herhangi bir çalışma ise bulunmamaktadır. Bu tez kapsamında; Anadolu kaynaklı *I. heterolepis* bitkisi; içerdiği flavonoidler, terpenik bileşikler yönünden incelenmiş ve bitkiden hazırlanan ekstraların antioksidan ve antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır.

### 1.1. *Inula heterolepis*'in Sistematikteki Yeri

*Inula heterolepis*'in TÜBİVES (Türkiye Bitkileri Veri Servisi) kayıtlarına göre sistematik olarak sınıflandırılması:

<b>Alem</b>	: Plantae
<b>Alt Alem</b>	: Tracheobionta
<b>Bölüm</b>	: Magnoliophyta
<b>Sınıf</b>	: Magnoliopsida
<b>Altsınıf</b>	: Asteridae
<b>Takım</b>	: Asterales
<b>Familya</b>	: Asteraceae Giseke
<b>Oymak</b>	: Inulae
<b>Cins</b>	: <i>Inula</i> L.
<b>Tür</b>	: <i>Inula heterolepis</i> Boiss.

## 1.2. Asteraceae Familyası

Asteraceae; çiçekli bitkilerden oluşan, yaklaşık 25000 tür ve 1700 cins ile Antartika hariç dünyanın her yerinde yayılış gösteren, bitkiler aleminin en büyük familyalarındandır. Bazıları tek yıllık olmak üzere, genellikle çok yıllık bitkilerden oluşur. Çoğu otsu ve çalı, daha az olarak ağaç formunda olup; genellikle karada (nadiren epifitik veya akuatik), bazen suda yaşayan bitkilerden oluşur. Yapraklar alternan veya opozit, nadiren sarmal dizilişli; genellikle tüm, loblu ya da dişli ve stipulasızdır. Çiçek durumu kapitulium olup; tabanda, birkaç istisnası bulunmakla birlikte, birkaç seri brakte ile çevrili involukrum bulunur. Çiçekler temel olarak, tüpsü aktinomorf veya dilsiz zigomorf olmak üzere 2 tipte olup, tek veya çift eşeylidir. Kaliks yaprak şeklinde gelişmeyip, tüy veya pul şeklini alarak papus meydana getirirken; korolla genelde 5 petallidir. Andrakeum, anterleri birleşik 4 veya 5 stamen içerir. Ginekeum 2 karpelden oluşmuş olup, tek ovüllü ve alt durumludur. Meyve tipi aken olup, duruma göre bazen kalıcı bir papus taşıyabilir (Davis, 1982; Funk ve ark., 2009).

## 1.3. *Inula* L. Cinsi

Avrupa Afrika ve Asya'nın ılıman bölgelerinde yaygın olarak bulunan *Inula* cinsi 120 kadar tür ile temsil edilmekte olup; tek yıllık, iki yıllık veya çok yıllık ot ve çalı formunda bitkilerden oluşur. Linnaeus'den bu yana farklı botanikçiler tarafından bu cins üzerinde revizyonlar yapılmıştır. Buna göre *Inula* cinsinde; indumentum değişken olmakla birlikte nadiren tüysüz. Kök iyi gelişmiş veya yok; gövde genellikle dallanmış, nadiren basit. Yapraklar otsu, zarımsı, alternan dizilişli, basit, genellikle sapsız. Kapitulum tek veya birçok, heterogam ışımsal, diskiform veya homogam ve diskoit. Reseptakulum; çıplak, düz. İnvolumu oluşturan brakteler 3-7 adet, çok sıralı, imbrikat, otsu. Kenarda yer alan çiçekler, dişli, dilsiz-dilcikli, 2-3 dişli veya hermafrodit, borumsu, 5 dişli. Merkezdeki çiçekler hermafrodit, tüpsü, 5 dişli. Anterler kuyruklu, apendiksler akut-obtus. Akenler, kolon şeklinde veya uca doğru daralmış, köşeli. Papus, tabanda tek ya da 1-2 sıra halinde, kalıcı, çok çeşitli, tüyümsü (Abid ve Qaiser., 2002; Toma ve ark., 2010).

#### 1.4. *Inula heterolepis* Boiss.

Anadolu'nun güney ve batı bölgelerinde, genellikle kıyı kesimlerinde, 0-1500 metre yükseklikte; kireçtaşı, kayalık, uçurum ve çağıllıklarda doğal olarak yetişen çok yıllık bir bitkidir. Çiçeklenme zamanı Haziran-Ağustos arasında olan bitki, yeşilimsi-beyaz renkte yoğun keçemsi otsu formda. Kök, petiol kalıntıları ile kaplı kalın odunsu ve genellikle lanat-piloz. Kökler birkaç tane, 15-40 cm, dik, yukarı doğru dallanmış. Ana yapraklar ovat veya eliptik-ovat, 2-6x1-3 cm boyutunda, petiol uzunluğu 1-7 cm, uçta obtus veya subakut, tabanda attenuat, kenarları tam ya da dentikulat. Gövde yaprakları boyutu azalmakla birlikte ana yapraklara benzer şekilde, üstte olanlar sapsız. Kapitulum diskiform, 4-6 rasemozlu ya da 20'e kadar subkorimboz panikula. Involukrum 0,75-1 cm uzunluğunda; brakteler 4-5 serrat, imbrikat; dıştakiler oblong, obtus, 3-4x1-1,5 mm boyutunda, beyaz keçemsi; içtekiler linear, akuminat, 5,5-7x0,5 mm, pubesent. Dişi çiçekler dar boru şeklinde ve subligulat, (2-)3-3,75(-5) mm. Disk çiçekler 5-6 mm. Akenler 1,5-2 mm, üst yarısında çok ince pubesent. Papus beyaz, 4,5-5,5 mm tüyler 10-15 adet, skabroz, tabanda serbest (Davis, 1982).

Bitki Türkiye'de; Adana, Kahramanmaraş, Mersin, Karaman, Antalya, Aydın, İzmir, Muğla, Denizli, Kütahya, Bursa, Kocaeli, Isparta ve çevresinde doğal olarak yetişir.

#### 1.5. *Inula* Türlerinin Türkiye'deki Dağılımı

Türkiye'de *Inula* cinsi, 8'i endemik(\*) olmak üzere 34 takson ile temsil edilir. *Inula* cinsi endemizm oranının % 28,5'i Türkiye'dedir. Ülkemizde yetişen *Inula* türlerinin TÜBİVES (Türkiye Bitkileri Veri Servisi) sıralanışı aşağıdaki gibidir: **(2013 yılında bulunan ve endemik bir tür olan *Inula tuzgoluensis* TÜBİVES kayıtlarında henüz yer almamaktadır)** (Öztürk ve Çetin, 2013).

*Inula acaulis* Schott et Kotschy ex Boiss.

*Inula acaulis* Schott et Kotschy ex Boiss. var. *acaulis* Schott et Kotschy ex Boiss.

*Inula acaulis* Schott et Kotschy ex Boiss. var. *caulescens* Nab.

*Inula anatolica* Boiss.\*

*Inula aschersoniana* Janka

*Inula aucherana* DC.

*Inula britannica* L.

*Inula crithmoides* L.

*Inula conyzae* DC.

*Inula discoidea* Boiss.\*

*Inula ensifolia* L.

*Inula fragilis* Boiss & Hausskn.\*

*Inula germanica* L.

*Inula graveolens* (Linnaeus) Desf.

*Inula helenium* L.

*Inula helenium* L. subsp. *orgyalis* (Boiss.) Grierson

*Inula helenium* L. subsp. *pseudohelenium* Grierson

*Inula helenium* L. subsp. *turcoracemosa* Grierson

*Inula helenium* L. subsp. *vanensis* Grierson\*

***Inula heterolepis* Boiss.**

*Inula inuloides* (Fenzl) Grierson

*Inula macrocephala* Boiss. et Kotschy ex Boiss.\*

*Inula mariae* Bordz.

*Inula montbretiana* DC.

*Inula oculus-christi* L.

*Inula orientalis* Lam.

*Inula peacockiana* (Aitch. et Hemsl.) Krovin

*Inula salicina* L.

*Inula sarana* Boiss.\*

*Inula sechmenii* Hartvig & Strid\*

*Inula spiraeifolia* L.



*Inula thapsoides* (Bieb. ex Willd.) Sprengel

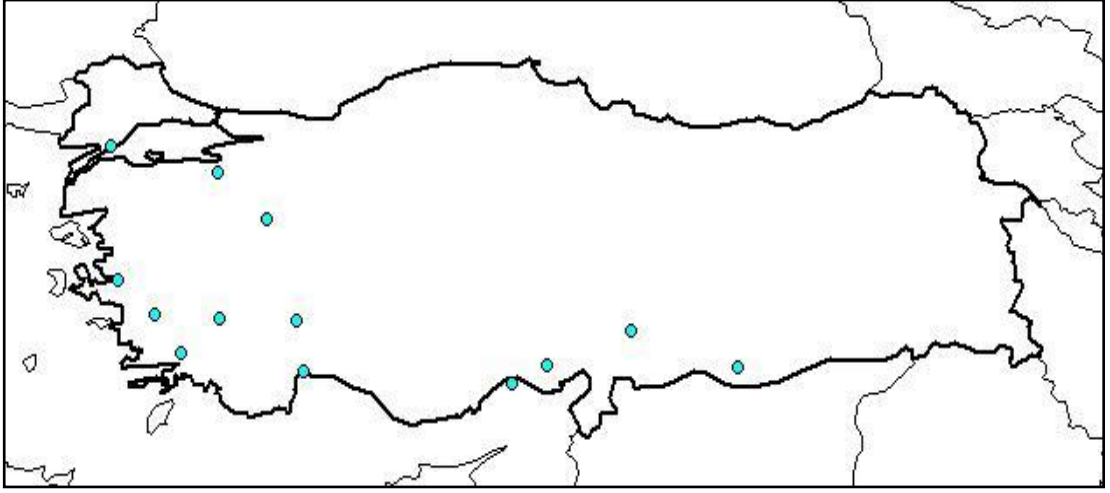
*Inula thapsoides* (Bieb. ex Willd.) Sprengel subsp. *australis* Grierson

*Inula thapsoides* (Bieb. ex Willd.) Sprengel subsp. *thapsoides* (Bieb. ex Willd.) Sprengel

*Inula viscidula* Boiss. et Kotschy

*Inula viscosa* (L.) Aiton

*Inula tuzgoluensis*\*



Şekil 1. *I. heterolepis*'in Türkiye'de gösterdiği dağılım (TÜBİVES, Haziran 2014)

Flora of Turkey ve ilave karelerin de bulunduğu Van Herbariyumu kayıtları incelendiğinde; *Inula heterolepis*'in yer aldığı karelerin A1, A2, A3, A4, A7, A9, B1, B2, B3 B4, B5, B6, B7, B9, B10, C1, C2, C3, C4, C5, C6 olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2. *Inula heterolepis*, genel görünüş (<https://www.flickr.com/> Ağustos, 2012)



Şekil 3. *Inula heterolepis* (Arazi çalışması, Ağustos, 2012)

### 1.6. *Inula* Türlerindeki Etken Bileşikler

*Inula* türlerinde yer alan etken bileşikler, uçucu yağ; çoğunluğunu timol türevlerinin oluşturduğu monotерpenler; ödesman, makrofilik asit, eleman, germakran, guayan tip siklik seskiterpenler; bis-seskiterpenler ile seskiterpen-monoterpen dimerleri; farnesol ve nerolidol türevlerini de içine alan alifatik seskiterpenler; diterpenler; triterpenler; steroidler; fenolik asitler; benzofuranlar; flavonoidler; poliasetilenler; glikolipitler ve amino asit türevleri olarak belirlenmiştir (Zhao ve ark., 2006; Qin ve ark., 2008; Manez ve ark., 2007; Stojakowska ve ark., 2010).

Son yıllarda yapılan fitokimyasal çalışmalar incelendiğinde; *Inula* cinsine ait bitkilerde sıklıkla rastlanan seskiterpen laktonlar üzerinde yoğunlaştığı ortaya çıkmıştır. Asteraceae, Apiaceae, Magnoliaceae familyalarındaki bazı türlerde yer alan sekonder metabolitler olan seskiterpen laktonların; şimdiye kadar tanımlanmış 5000'in üzerinde türevinin olduğu rapor edilmiştir. Seskiterpen laktonların sahip oldukları biyolojik aktiviteler; antiinflamatuvar, antitümoral, antimikrobiyal, antihelmintik ve antifidant (beslenmeyi önleyici) olarak sıralanmıştır. Son yıllarda antikanser özellikleri ile de dikkat çeken seskiterpen laktonların, kanser gelişimi ve ilerlemesine engel olan; apoptozisin indüklenmesi, metastazın önlenmesi, enflamasyon yanıtlarının inhibe edilmesi gibi birkaç prosesle etki gösterdikleri bildirilmiştir (Lei ve ark., 2012; Shivali ve ark., 2012).

### 1.7. *Inula* Türleri Üzerinde Fitokimyasal Araştırmalar

Bu bölümde *Inula* cinsi bitkilerine ait literatür verileri incelenmiş; bu türler üzerinde son yıllarda yapılan fitokimyasal çalışmalar derlenmiştir. Elde edilen veriler; son dönem çalışmaların türlerin gösterdiği birçok biyolojik etkiden de sorumlu tutulan terpenik bileşikler, özellikle de seskiterpenler üzerinde yoğunlaştığını ortaya koymuştur.

### ***Inula helenium***

Japonya'da yapılan bir çalışmada; *Inula helenium*'un köklerinden hazırlanan metanollü ekstrenin kolon kromatografisine tabi tutulmasıyla n-hekzan, kloroform, etil asetat ve n-butanol fraksiyonları elde edilmiştir. Sonrasında n-hekzan fraksiyonundan izole edilen germakran, ödesman (alantolakton, izoalantolakton, 11 $\alpha$ ,13-dihidroalantolakton, 5-epoksialantolakton) ve eleman (igalan) tip seskiterpen laktonların yapıları <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, DEPT, HMQC, HMBC, NOE, COSY gibi spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Konishi ve ark., 2002).

Polonya'da yapılan bir çalışmada; *I. helenium*'un aseptik fidanlarının yaprak eksplantlarından kültüre alınmış köklerinin, etanollü ekstresi hazırlanarak kolon, ince tabaka gibi çeşitli kromatografik yöntemler ile fraksiyonlarına ayrılmıştır. İzole edilen timol türevi 2 bileşiğin; 10-izobütiriloksi-8,9-epoksi-timol izobütirat ve 10-izobütiriloksi-6-metoksi-8,9-epoksi-timol izobütirat yapısında olduğu spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır. Bileşiklerden ilkinin RP-HPLC kullanılarak yapılan miktar tayini sonucunda; doğal bitki köklerindeki miktardan 2 katı kadar düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca doğal bitki köklerinin karakteristik elementleri olan alantolakton/izoalantolakton içeriğinin ne kültüre alınan kökte ne de kallus kökte bulunmadığı da ortaya konmuştur (Stojakowska ve ark., 2004).

Güney Kore'de yapılan bir çalışmada; *I. helenium* köklerinden süperkritik sıvı ekstraksiyonuyla % 1,7 verimle, hidrodistilasyonla % 1,0 verimle elde edilen uçucu yağların GC-MS analizi ile yapıları aydınlatılmıştır. Elde edilen uçucu yağlarda; başta alantolakton, izoalantolakton ve  $\beta$ -elemen olmak üzere seskiterpen laktonlar açısından zengin 20 kadar bileşiğin değişik oranlarda bulunduğu saptanmıştır (Nho ve ark., 2008).

Çin'de yapılan bir çalışmada; farklı lokasyonlardan toplanan 11 *I. helenium* örneğinin kurutulmuş kök ekstratlarından biyoaktif seskiterpen lakton yapısındaki igalan, alantolakton, izoalantolakton kolon kromatografisiyle izole edilmiştir. Yapıları NMR analizleri ile aydınlatılan 3 bileşiğe ait veriler kıyaslandığında; örneklerin ana

bileşen, alantolakton ve izoalantolakton, miktarlarının sırasıyla 10,72-18,01 mg/g, 6,96-20,70 mg/g aralığında değiştiği vurgulanmıştır. Örnekler arasında saptanan farklılığın; bitkinin yetiştiği çevre, toplanma mevsimi, kurutma işlemleri, depolama koşulları gibi faktörlerden kaynaklandığı öne sürülmüştür. Analizler; Agilent Zorbax XDB-C18 (250mm×4,6mm, 5µm) özellikte kolon kullanılarak, asetonitril:su (55: 45) içeren çözücü sisteminde 1,0 ml/dk akış hızında 210 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Öte yandan; GC (Gaz Kromatografisi), CE (Kapiller elektroforez), TLC (İnce Tabaka Kromatografisi) gibi kromatografik yöntemlerle, birbirinin güçlkle ayrılan iki izomer için geliştirilen ve valide edilen HPLC yönteminin doğru, hızlı, güvenilir ve kalite-kontrol çalışmalarında kolaylıkla yararlanılabilecek olduğu ortaya konmuştur (Huo ve ark., 2010).

Literatür verilerine göre timol türevleri, triterpenler, steroller ve % 44 oranında inülin de içerdiği bilinen *I. helenium* bitkisinin köklerinden, % 1,4 verimle elde edilen uçucu yağ üzerinde Sırbistan'da yapılan bir çalışmada; çoğunluğu seskiterpen yapısında olmak üzere 45 farklı bileşiğin varlığı, GC ve GC-MS kullanılarak tespit edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde; uçucu yağın bileşiminde ödesman tip seskiterpen lakton yapısındaki alantolakton ile izoalantolakton'un sırasıyla % 55,8 ve % 26,1 oranında yer aldığı saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada; uçucu yağın bileşiminde diplofillinin (% 5,1) de yer aldığı da ilk kez rapor edilmiştir (Stojanović-Radić ve ark., 2012).

Romanya'da yapılan bir çalışmada, *I. helenium*'un toprak üstü kısımları etilasetat:metanol:petrol eteri (1:1:1) çözücü karışımıyla ekstraksiyon ve saponifikasyona tabi tutulmuş olup; bitkinin karotenoit bileşimi HPLC kullanılarak araştırılmıştır. Total karotenoit içeriği de spektrofotometrik analizle belirlenen bitkinin; yaprak, çiçek durumu, tüpsü çiçek ve dilsü çiçeklerinin karotenoit içeriğinin birbirlerinden oldukça farklı oranda olduğu belirlenmiştir. İnsan sağlığı ve beslenmesinde oldukça önemli role sahip karotenoit oranı; yapraklarda % 4,87 mg iken, dilsü çiçeklerde % 47,7 mg'a kadar vardığı kaydedilmiştir. Dilsü çiçeklerde ana bileşenin % 73,8 oranında lutein-5,6-epoksit olduğu; tüpsü çiçeklerde ise % 36,9 oranında anteraksantin ve % 28,4 luteine rastlandığı bildirilmiştir.

Yapraklarda  $\beta$ -karoten ve luteolin karışımının total karotenoit miktarının % 72'sini oluşturduğu; bitkinin tüm toprak üstü kısımlarınınsa düşük miktarda neoksantin ve violaksantin içerdiği saptanmıştır (Nan ve ark., 2012).

Çin'de yapılan bir çalışmada; önceki çalışmalarla kayda değer in-vitro sitotoksik aktivite sergilediği de bilinen *I. helenium* köklerinden elde edilen etanollü ekstrenin kimyasal bileşimi araştırılmıştır. Ekstrenin kloroformlu fraksiyonunda alantolakton, izoalantolakton ve bunların türevlerine ek olarak  $\beta$ -sitosterol, stigmasterolün de yer aldığı spektral ve kromatografik yöntemlerle belirlenmiştir (Yan ve ark., 2012).

Çeşitli çalışmalarda GC ve LC teknikleri kullanılarak kaydedilen sonuçlara göre *I. helenium* köklerinden elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşiminin başta alantolakton ve izoalantolakton olmak üzere, ödesman tip seskiterpen laktonlar ile timol türevleri, terpenler, steroller ve inulinden oluştuğu saptanmıştır (Spiridon ve ark., 2013).

Romanya'da yapılan bir çalışmada; *I. helenium* köklerinden elde edilen kloroformlu ve etil asetatlı ekstrelerin, GC-MS ve HPLC-MS yöntemleri kullanılarak kimyasal bileşimi araştırılmıştır. Hazırlanan *I. helenium* ekstrelerin ikisinin de; kafeik, klorojenik, dikafeoylkinik, hidroksibenzoik gibi fenolik asitlerin; terpen türevi bileşiklerden alantolaktonun; epikateşin, kateşin gallat, ferulik asit-4-*O*-glukozit, dihidrokersetin pentozil rutinozit, kemferol-7-*O*-dipentozit ve kersetin-3-*O*- $\beta$ -glukopiranozit gibi farklı flavonoitlerin varlığı saptanmıştır (Spiridon ve ark., 2013).

Sırbistan'da yapılan bir çalışmada; *I. helenium*'un kurutulmuş köklerinden hidrodistilasyonla % 1,4 verimle elde edilen uçucu yağdan yeni 9 tane uzun zincirli-3-metil-2-alkanonlar teşhis edilmiştir. Bunların sentetik türevleri hazırlanmış; analizler sırasında GC ve GC-MS gibi kromatografik yöntemler kullanılmıştır (Radulović ve ark., 2014).

Estonya'da yapılan bir çalışmada; *I. helenium*'dan hazırlanan sulu ve alkollü ekstrelerin total fenol, total flavonoid miktarları ile aminoasit, peptid ve protein miktarları geliştirilen “Automatic Spot Preparation and Image Processing of Paper Microzone-Based Assays” ile kolorimetrik olarak belirlenmiştir. Konsantrasyon değerlerinin **Çizelge 1**'de yer aldığı gibi olduğu bildirilmiştir. Geliştirilen yöntemin, polifenoller için 0,03-0,25 g/L konsantrasyon aralığında doğrusal bir yanıt verdiği ve tayin alt sınırının 0,03 g/L olduğu saptanmıştır. Flavonoidler ve aminoasitler için geliştirilen ve uygulanabilir bulunan “the paper microzone based assays(PμZP)” ile elde edilen sonuçlarının geleneksel PμZP yöntemleri sonuçlarıyla benzer olduğu ortaya çıkarılmıştır. Aynı zamanda; yöntemin analiz süresi ile tekrar edilebilirlik açısından daha avantajlı olduğu ve farklı gıdaların rutin analizlerinde de fayda sağlayabileceği vurgulanmıştır (Vaher ve ark., 2014).

**Çizelge 1.** *I. helenium*'un geliştirilmiş PμZP yöntemiyle saptanan analiz sonuçları (C:konsantrasyon g/L, s:standart sapma (n=3)) (Vaher ve ark., 2014)

Ekstre	Total fenol içeriği Sulu ekstre (g GAE/L) C±s	Total fenol içeriği Metanollü ekstre, (g GAE/L) C±s	Total flavonoid içeriği Sulu ekstre (g CE/L) C±s	Protein miktarı Sulu ekstre (g GSHE/L) C±s
<i>I. helenium</i> (kök)	0,05±0,02	0,16±0,03	0,04±0,01	0,37±0,05

### *Inula viscosa*

Portekiz'de yapılan bir çalışmada; endemik bir alt tür olan *Inula viscosa* subsp. *revoluta*'dan hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağ flash kromatografisine tabi tutulmuş, kimyasal bileşimi GC, GC-MS ve NMR kullanılarak aydınlatılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; uçucu yağın, başta fokienol ve (E)-nerolidol içeriği olmak üzere, kimyasal bileşiminin Türkiye ve İspanya kaynaklı türlerden elde edilen uçucu yağlarınkine yakın olduğu saptanmıştır (Miguel ve ark., 2008).

Cezayir'de yapılan bir çalışmada; *I. viscosa*'nın kurutulmuş yapraklarından hidrodistilasyonla % 0,148 verimle ve buhar distilasyonu ile ise % 0,453 verimle elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi GC-MS kullanılarak araştırılmıştır. Toplamda 33 bileşiğin izole edildiği, her 2 uçucu yağda da ana fraksiyonu oksijenlenmiş seskiterpenlerin oluşturduğu belirlenmiştir. Hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağdaki ana bileşenlerin; 12-karboksiödesma-3,11-dien (% 28,88), linolenik asit (% 7,80), palmitik asit (% 5,38), bütül hidroksi toluen (% 4,11) ve fokienol (% 3,37) olduğu bildirilmiştir. Su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağda ise; 12-karboksiödesma-3,11-dien (% 56,81), 2,3-didehidrokostik asit (% 3,25), bütül hidroksi toluen (% 2,63) ve pentakosan (% 2,31)'in varlığı saptanmıştır. Sonuçların; Türkiye, İspanya, Fransa'dan temin edilen bitkilerin uçucu yağları üzerindeki çalışma sonuçlarıyla örtüşmemesi, ekolojik faktörler ve genetik varyasyonların farkı ile açıklanmıştır. Öte yandan, literatür verileri incelendiğinde; 12-karboksiödesma-3,11-dien'in antifungal ve antimikrobiyal aktiviteye, seskiterpen yapısındaki 2,3-didehidrokostik asitin ise antienflamatuvar aktiviteye sahip oluşu, bitkinin geleneksel Cezayir farmakopelerinde yer almasına kanıt olarak sunulmuştur (Haoui ve ark., 2011).

Ürdün'de yapılan bir çalışmada; halk arasında kullanılan 79 bitkinin kurutulmuş örnekleri piyasadan temin edilmiş; atomik absorpsiyon spektrometresi yardımıyla total kurşun miktarları araştırılmıştır. Tedavide kullanılan bitkilerde mikroorganizmalar, böcekler, çevresel kimyasallar ve metaller (özellikle kurşun, kadmiyum, civa) gibi kontaminantların varlığının, kullanım amacının aksine toksik etkiler yarattığı bildirilmiştir. Sonuçlar, Ürdün tıbbi bitkilerinin kurşun miktarlarının; literatür verilerine kıyasla daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Analizi yapılan bitkilerin Pb değerleri doğrultusunda; günlük alındığı tahmin edilen miktarlar hesaplanmış ve birçok bitkinin Pb düzeylerinin Dünya Sağlık Örgütü'nün tavsiye ettiği değerlerden yüksek olduğu bildirilmiştir. Analizlerde 33,4 µg Pb/g ile en yüksek miktarda Pb içeren bitkinin, yara tedavisinde ve eklem hastalıklarında sıklıkla kullanılan *I. viscosa* olduğu bildirilmiştir (Alomary ve ark., 2013).



### ***Inula britannica***

Çin'de yapılan bir çalışmada; 7 farklı bölgeden toplanan *Inula britannica* çiçeklerinden % 4 verimle elde edilen etanollü ekstrenin flavonoit içeriği, geliştirilen ters faz HPLC (RP-HPLC) yöntemi ile analiz edilmiştir. Yöntemde; ODS-3 kolon ve metanol: asetonitril: sitrik asitli su çözücü sistemi gradient olarak 1,0 mL/min akış hızında kullanılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; başta antioksidan ve antienflamatuvar etkiler olmak üzere; ekstrelerin sahip olduğu biyolojik aktivitelerden de sorumlu tutulan; spinasetin, kersetin, luteolin, 6-metoksiluteolin ve izoramnetin ana flavonoitlerinin varlığına rastlanmıştır. Geliştirilen RP-HPLC yönteminin validasyon parametreleri doğrusallık, tayin sınırı (LOD), tayin değeri (LOQ), geri kazanım, tekrarlanabilirlik ve stabilite olarak belirlenmiştir (Geng ve ark., 2007).

Çin'de yapılan diğer bir çalışmada; *I. britannica* çiçeklerinden elde edilen sulu ekstrenin polisakkarit içeriği, HPLC ve IR kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlar ekstrenin sırasıyla 4,1: 1: 1,4: 2,7: 14,6: 6,3: 7,9 molar oranında mannoz, glukuronik asit, ramnoz, galakturonik asit, glukoz, galaktoz, arabinoz tipi polisakkarit içerdiğini ortaya koymuştur (Honga ve ark., 2012).

Yine Çin'deki bir çalışmada; *I. britannica* bitkisi ile ülkenin farklı bölgelerinde bu bitkiyerine kullanılan türler (*I. japonica* ve *I. hupehensis*) arasındaki kimyasal farklılıklar, temin edilen 23 farklı örnek kullanılarak araştırılmıştır. Bu amaçla geliştirilen LC-MS/MS yönteminin bitkinin kalite kontrolünde kullanılabilirliği de incelenmiştir. Sonuçlar; *I. britannica*'dan elde edilen 6'sı seskiterpen lakton (britanilakton ve türevleri), 7'si flavonoit (luteolin, 6-hidroksiluteolin-6-metileter, kersetin, spinasetin, kemferol, izoramnetin, sinarozit), 2'si fenolik asit (klorojenik asit, kafeik asit) olan 15 bileşiğin bitkiyi *I. japonica* ve *I. hupehensis*'den ayırt etmede kullanılabileceği ortaya konmuştur. Öte yandan geliştirilen LC-MS/MS yönteminin, kalitatif ve kantitatif analizler söz konusu olduğunda; HPLC-UV ve HPLC-ELSD'ye kıyasla daha basit, hızlı, hassas ve spesifik olduğu ortaya konmuştur (Shi ve ark., 2013).

### *Inula japonica*

Çin kaynaklı *Inula japonica*'nın çiçeklerinin alkollü ekstresinden, flavonol yapısında japonisin A ve japonisin B olarak adlandırılan 2 yeni bileşiğin yanı sıra, aralarında apigenin, kersetin, nepetin, luteolin, patuletin ve izokersitrinin de bulunduğu 9 flavonoidin izole edildiği bildirilmiştir. Yapıları çeşitli spektral yöntemlerle aydınlatılan, 8. C konumunda sübstitüe 1-feniletıl fonksiyonel grubuna sahip flavonol türevi bileşiklerin; ilk kez bu araştırmada tespit edildiği bildirilmiştir (Yu ve ark., 2006).

Çin'de yapılan diğeri bir çalışmada; ödesman ve guayan tip seskiterpenleri içerdiği bilinen *I. japonica* bitkisinin topraküstü kısımlarından hazırlanan etanollü ekstre çeşitli fraksiyonlarına ayrılmıştır. Diklorometanlı fraksiyondan; kromatografik yöntemlerle dimerik seskiterpen lakton türevi japonikon A, B, C ve D bileşikleri izole edilmiştir. Biyolojik açıdan da aktif olduğu saptanan bileşiklerin yapıları; 2 boyutlu NMR spektroskopu teknikleri kullanılarak aydınlatılmıştır (Qin ve ark., 2009).

Çin kaynaklı *I. japonica*'nın topraküstü kısımlarının etanollü ekstresinin oral alım sonrası, rat plazmasındaki farmakokinetik parametrelerinin belirlenebilmesi için HPLC-UV yöntemi yeterli olmadığından LC-MS/MS yöntemi geliştirilmiştir. Seçicilik, doğrusallık, doğruluk ve kesinlik parametrelerine sahip yöntem ile bitki ekstresinden izole edilen seskiterpen türevi 3 bileşik (1-asetoksi-6-hidroksieriolanolit, 1-hidroksialantolakton ve ivangustin) incelenmiştir. Bileşiklerin benzer farmakokinetik davranışlar gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmada 1-hidroksialantolakton'un da romatoid artrit tedavisinde kullanımının patent aldığı bildirilmiştir (Yang ve ark., 2012).

Tayvan'da yapılan bir çalışmada; Flos Inulae'nin sulu ekstresinin fenolik madde içeriği HPLC kullanılarak belirlenmiştir. Analizlerde ekstrede; kersetin (10,1 mg/g ekstre), rutin (9,4 mg/g ekstre), kemferol (5,5 mg/g ekstre), klorojenik asit (3,8 mg/g ekstre), luteolin (1,8 mg/g ekstre) varlığı saptanmıştır. Öte yandan; total polifenol

içeriğinin gallik asit ekivalanı olarak 210,7 mg/g ekstre, total flavonoit içeriğinin de 125,2 mg/g ekstre olduğu bildirilmiştir (Huang ve ark., 2013).

### ***Inula racemosa***

Hindistan'da yapılan bir çalışmada; *Inula racemosa* köklerinden elde edilen etanollü ekstrenin total lakton miktarının saptanabilmesi için geliştirilen FT-IR spektroskopik yöntemi valide edilmiştir. Validasyon parametreleri; doğrusalılık, doğruluk, kararlılık, özgünlük, tayin sınırı (LOD) (1µg), tayin değeri (LOQ) (10µg), olarak belirlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde; FT-IR spektroskopisiyle tayin edilen total lakton miktarının  $2,12 \pm \% 0,47$  olduğu saptanmış; geliştirilen yöntemin, bilinen diğer spektroskopik yöntemlere kıyasla daha az iş gücü gerektirdiği ve özellikle kalite kontrol sürecinde kolaylıkla uygulanabilir olduğu belirlenmiştir (Shivali ve ark., 2012).

Çin'de yapılan bir çalışmada; *I. racemosa*'nın kurutulmuş köklerinden hazırlanan metanollü ekstreden 5 yeni seskiterpen lakton (rasemosalaktonlar A-E) ve varlığı daha önceden saptanmış 19 alantolakton türevi madde izole edilmiş, yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır (Ma ve ark., 2013).

Hindistan kaynaklı *I. racemosa*'nın köklerinden Soxhlet apareyi ile kloroform kullanılarak elde edilen yağdan, kolon kromatografisine tabi tutularak izole edilen alantolakton, izoalantolaktonun yapısı, IR ve <sup>1</sup>H-NMR gibi spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır. Bunların sentetik türevlerinin de antifungal aktiviteleri araştırılmıştır (Kataria ve Chacal, 2013).

Çin'de yapılan diğer bir çalışmada *I. racemosa* köklerinin etanollü ekstresinden 2 yeni tri-nor-ödesman tip seskiterpenoit izole edilmiştir. Yapıları <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, DEPT, HMBC, NOESY gibi spektral yöntemlerle aydınlatılan bileşiklerin 8-okso-tri-nor-ödesm-6-en-5α-ol ve tri-nor-ödesm-5-en-7β,8β-diol olduğu belirlenmiştir (Zhang ve ark., 2013).

### ***Inula cappa***

Literatür verileri ışığında; çeşitli kısımlarından (tüm bitki, kabuk ve kök) flavonoidler, inositol türevleri, fenolik glikozitler, sitotoksik etkili germakrolit tip seskiterpenlerin izole edildiği belirlenen *Inula cappa*'nın topraküstü kısımlarının fitokimyasal içeriği, Çin'de yapılan bir çalışmada araştırılmıştır. Bitki ekstresinden izole edilen 3 yeni germakrolit ve 6 seskiterpen tip bileşiğin kimyasal yapıları HMQC, HMBC, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY ve ROESY spektral yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır (Wang ve ark., 2012).

Çin'de yapılan bir çalışmada; ülkenin güneyinde geniş bir alana yayılmış olan *I. cappa* etanollü kök ekstresi üzerinde fitokimyasal araştırmalar yapılmıştır. Kolon kromatografisiyle izole edilen 2 yeni fenolik glikozit olan 4-[(6-*O*-(*E*)-kafeoyl)-β-D-glukopiranozil]vanilik asit ve 3-*O*-[β-D-apiofuranozil-(1-6)-β-D-glukopiranozil]-6-hidroksi-p-simen'in yapısı spektral analizlerle aydınlatılmıştır (Wu ve ark., 2013).

### ***Inula lineariifolia***

Geleneksel Çin Tıbbında geniş bir kullanıma sahip *Inula lineariifolia*'nın topraküstü kısımlarından hazırlanan etanollü ekstreden 4 yeni seskiterpen dimeri (lineariifolianoitler E-H) ve 5'i yeni olmak üzere toplam 12 seskiterpen izole edilmiştir (Qin ve ark., 2013).

### ***Inula hookeri***

Çin'in Yunnan bölgesi için endemik bir tür olan *Inula hookeri*'den elde edilen etanollü ekstreden; 17 karbonlu, uzun yan zincirli 4 yeni psödoguayanolit olan hukerolit A-D izole edilmiştir. Bileşiklerin yapıları ve mutlak konfigürasyonları kombine bir NMR spektroskopisi, CD spektrum ve modifiye Mosher metodu kullanılarak aydınlatılmış; olası biyosentez yolları belirlenmiştir (Cheng ve ark., 2013).

### ***Inula falconeri***

Himayalar için endemik bir tür olan *Inula falconeri*'nin topraküstü kısımlarının alkollü ekstresinin kimyasal bileşimi kolon kromatografisi, TLC, preparatif HPLC gibi kromatografik yöntemler kullanılarak incelenmiştir. Ekstrede, spektral analizler ve literatür verileri ışığında; başta guayan, psödoguayan, ksantan, ödesman, germakran, daha nadir olarak sekokaryofillan, kromolevan ve karabran tip olmak üzere 26 seskiterpen lakton ve 10 yeni seskiterpen izole edildiği bildirilmiştir (Cheng ve ark., 2011).

### ***Inula sericophylla***

Çin'in batı ve güneybatı bölgesinde yetişen ve endemik bir tür olan *Inula sericophylla*'dan elde edilen etanollü ekstrenin fitokimyasal içeriği, HPLC-DAD kullanılarak ilk kez araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar, *I. japonica*, *I. lineariifolia*, *I. falconeri* ve *I. hupehensis* ile karşılaştırılarak; türlerin kemotaksonomik benzerlikleri incelenmiştir. *I. sericophylla*'nın ana bileşen olarak içerdiği 4'ü timol türevi, 3'ü seskiterpen lakton türevi (bigevolin, ergolit ve tomentosin) bileşiklerin *I. hupehensis*'in yapısında da yer alması sebebiyle; bu iki türün genetik açıdan benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. Öte yandan *I. falconeri*, *I. japonica*, *I. lineariifolia*'dan da tıpkı *I. sericophylla*'da olduğu gibi psödoguayanolit, ksantanolit ve guayanolit (sadece *I. falconeri*) izole edilmesine rağmen, ana bileşenlerin farklı oluşu nedeniyle, genetik açıdan yakınlık göstermedikleri saptanmıştır (Cheng ve ark., 2012).

### ***Inula graveolens***

Fransa'dan kaynaklı *Inula graveolens* uçucu yağının kimyasal bileşimi, farklı türlere ait 9 uçucu yağ ile birlikte GC-MS kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, *I. graveolens* uçucu yağının bileşiminde; başlıca terpinen-4-ol,

borneol, kamfen,  $\beta$ -karyofillen,  $\alpha$ -terpineol'ün yer aldığı bildirilmiştir (Dohi ve ark., 2009).

Irak'da yapılan bir çalışmada; genel olarak bitkilerde antioksidan, antiinflamatuvar, antikarsinojen gibi biyolojik etkilerden sorumlu tutulan flavonoidler ve fenolik bileşikleri açısından incelendiğinde; *I. graveolens*'in 100 gr ekstrede gallik asit eşdeğeri olarak % 1,63 fenol, kersetin eşdeğeri olarak ise % 0,52 flavonoid içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Al-fartosy, 2011).

### ***Inula macrophylla***

Özbekistan'dan toplanan *Inula macrophylla* kabuklarından hazırlanan metanollü ekstreden kromatografik yöntemlerle izole edilen seskiterpenlerin yapısı  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  gibi spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır. Ekstreden, iki seskiterpen ünitesinin C-C bağıyla birleşmesi sonucu oluşan bir bis-seskiterpen olan, makrofillidimer C ve ödesmanolit ya da eleman tip seskiterpen türevleri olan makrofillilaktonlar A–G ilk kez izole edilmiştir (Fua ve ark., 2001).

### ***Inula ensifolia***

Polonya'da yapılan bir çalışmada; *Inula ensifolia*'nın kök ve topraküstü kısımlarının kloroformlu ekstrelerinden preparatif TLC ve HPLC gibi kromatografik yöntemler kullanılarak,  $\alpha$ -tokoferol, 5 timol türevi bileşik, 3 kersetin türevi ve 4 kafeoylkinik asit türevi bileşik izole edilmiştir. Yapıları  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , COSY gibi spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Stojakowska ve ark., 2010).

### ***Inula verbascifolia***

Yunanistan'da yapılan bir çalışmada; endemik bir tür olan *Inula verbascifolia* subsp. *methanea* bitkisinin topraküstü kısımlarının metanol-diklorometanlı (1:1) ekstresi kromatografik yöntemlerle incelenmiştir. İzole edilen 2 yeni ksanten ve 1 yeni germakranolit türevi bileşik ile seskiterpen lakton yapısındaki inusonyolit,

4-*O*-dihidroinusoniyolit, 9- $\beta$ -hidroksipartenolit türevi bileşiklerin yapıları, IR, HRMS,  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR, DEPT, COSY, HMQC VE HMBC gibi spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Ahmed ve ark., 2003).

### ***Inula hupehensis***

Çin'de yapılan bir çalışmada; bronşit, diyabet ve barsak ülseri gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılan *Inula hupehensis*'in köklerinden elde edilen metanollü ekstreden, kolon kromatografisiyle timol türevi bileşikler izole edilmiştir. Yapıları IR,  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR gibi spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılan bileşiklerden 9-*O*- $\beta$ -D-glukopiranozil-9-hidroksitimol ilk kez bu çalışmada rapor edilmiştir (Zhao ve ark., 2010).

### ***Inula heterolepis***

Muğla'dan toplanan *Inula heterolepis*'in topraküstü kısımlarından izole edilen skualen, lupeol izomerleri ve asetat türevleri, hageanolit ve yapısı hageanolit ile yakından ilişkili 3 yeni germakranolit ve ödesmanolit tip seskiterpen laktonun yapısı spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır (Bohlmann ve ark., 1982; Barrero ve ark., 2003).

## 1.8. *Inula* Türlerinin Biyolojik Etkileri

### 1.8.1. Antiproliferatif ve Sitotoksik Etki

Japonya'da yapılan bir çalışmada; *I. helenium* köklerinin metanollü ekstresi; hekzan, kloroform, etil asetat ve butanollü fraksiyonlarına ayrılmış ve MK-1, HeLa ve B16F10 tümör hücre serilerine karşı gösterdikleri antiproliferatif aktiviteleri MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliumbromit) yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Hücre büyümesinde; hekzan-çözünbilir fraksiyonunun en yüksek; etil asetat ve butanollü fraksiyonların ise oldukça düşük inhibitör aktivite gösterdiği; sulu fraksiyonun ise herhangi bir aktivite göstermediği belirlenmiştir. Hekzanlı fraksiyondan izole edilen, spektral analizler sonucu yapısı aydınlatılan germakran, eleman ve ödesman tip 7 seskiterpenden ise, 5-fluorourasil'e kıyasla, 5 $\alpha$ -epoksialantolakton ve alantolakton'un en yüksek antiproliferatif etkiyi gösterdiği ortaya konmuştur (Konishi ve ark., 2002).

Rusya'da etnotıp alanında yapılan bir çalışmada; kanser hastalarında hastalığın semptomlarını hafifletmek amacıyla kullanılan 61 bitki türünden hazırlanan etanollü ekstrelerin, insan lenfoblastik Raji hücre kültürü üzerindeki sitotoksik aktivitesi araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; içlerinde *I. helenium*'un da bulunduğu 5 türün, 10 ve 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyon değerlerinde, sitotoksik aktivite göstererek hücrelerin büyümesini baskıladığı ortaya konmuştur. Ayrıca *I. helenium*'undan izole edilen helenin (% 40 alantolakton + % 60 izoalantolakton)'in saptanan sitotoksik aktivitesinin farmasötik antineoplastik ilaçlar siklofosfamid ve fluorourasil'in etkinliklerini aştığı, metotreksatinkine ise yaklaştığı bildirilmiştir (Spiridonov ve ark., 2005).

İran'da yapılan bir çalışmada; *I. granitoides*, *I. vulgare* *I. thapsoides*, *I. oculus-christi* ve *I. salicina* bitkilerinin topraküstü kısımlarından hazırlanan etanollü ekstrelerin kloroformda çözünebilen fraksiyonları hazırlanmıştır. Fraksiyonların insan kolon adenokarsino, insan göğüs adenokarsinomu, insan hepatoselüler karsinomu, yeşil



Afrika maymun böbreği ve balb c fare fibrosarkomu'nu içeren 5 farklı hücre serisi üzerindeki sitotoksik etkisi MTT kullanılarak araştırılmıştır. Elde edilen IC<sub>50</sub> değerleri sonucunda, en yüksek sitotoksik aktiviteyi *I. oculus-christi*'nin gösterdiği belirlenmiştir (Mosaddegha ve ark., 2006).

İsrail'de yapılan bir çalışmada; *I. viscosa* yapraklarından izole edilen seskiterpen lakton tip tomentosin ve inuviskolit'in antikanser etkisi araştırılmıştır. Literatür verileri cilt hastalıklarında etkili olduğu belirlenen inuviskolit'in, antimikrobiyal ve bazı kanserli hücre serilerine karşı sitotoksik etkilere; tomentosin'in ise, fungustatik ve antimalaryal etkilere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu bilgiler ışığında yapılan çalışmada; söz konusu bileşiklerin insan melanoma hücre serileri SK-28, 624 mel and 1363 mel'e karşı doza bağlı etkinliği araştırılmıştır. Sonuçlar; bileşiklerin, çeşitli yollarla etkileyerek, hücre siklusunda G2/M geçişini bloke ettiğini ve apoptozisi indükleyerek, hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ortaya çıkarmıştır (Rozenblat ve ark., 2008).

Mısır'da yapılan bir çalışmada; *I. crithmoides*'in topraküstü kısmı sulu ekstresinin, erkek sıçanlarda okratoksin A (OTA) ile oluşturulan oksidatif stres ve mutajenitenden koruyucu etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla 10 adet erkek Sprague-Dawley sıçandan oluşan, 1'i kontrol grubu olmak üzere toplam 4 gruba, 15 gün süreyle OTA, bitki ekstresi, OTA ve bitki ekstresi uygulanmıştır. Kan ve doku örnekleri toplanarak gerçekleştirilen biyokimyasal analizler sonucunda *I. crithmoides* ekstresinin güvenilirliği kanıtlanmıştır (Abdel-Wahhab ve ark., 2008).

Hindistan'da yapılan bir çalışmada; *I. racemosa* köklerinden elde edilen etanollü ekstre ve n-hekzan, kloroform, n-butanol ve sulu fraksiyonlarının kolon, yumurtalık, prostat, akciğer, SSS ve lösemi kanser hücre serilerine karşı sitotoksik etkileri in-vitro olarak değerlendirilmiştir. Ana bileşen olarak alantolakton ve izoalantolakton içeren n-hekzanlı fraksiyonun HL-60 hücreleri üzerindeki etkinliği detaylı olarak incelenmiştir. Söz konusu fraksiyonun; en düşük IC<sub>50</sub> değerini 10,25 lg/ml ile kolon kanseri hücre serisi Colo-205'e karşı, en yüksek IC<sub>50</sub> değerini ise SSS kanser hücre serisi olan SF-295'e karşı gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca n-hekzanlı fraksiyonun

normal hücreler üzerinde herhangi bir sitotoksik etki yaratmadığı; ara reaktif oksijen türleri üretimine yol açarak, hem intrensek yol hem de ekstrensek yolla HL-60 hücrelerinde apoptozisi indüklediği belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmayla; *I. racemosa*'nın biyolojik açıdan aktif bileşenlerinden, terapötik uygulamalarda kullanılabilir potansiyel bir antikanser ajan geliştirilebileceği ortaya konmuştur (Pal ve ark., 2010).

Çin kaynaklı *I. racemosa*'nın etanollü ekstresinden kromatografik ve spektral yöntemlerle 2'si ilk defa olmak üzere, ödesman tip seskiterpen lakton yapısında 8 bileşik izole edilmiştir. Bileşiklerin; A549 insan akciğer kanseri, Bel 7402 insan karaciğer kanseri, BGC 823 insan mide kanseri, HCT-8 insan kolon kanseri ve A2780 insan yumurtalık kanseri hücre serilerine karşı gösterdikleri sitotoksik aktivite, MTT yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Bileşiklerden; 4'ünün sitotoksik aktivite gösterdiği saptanırken, 2 bileşiğin de ratların polimorfonükleer lökositlerinden salınan  $\beta$ -glukuronidaz'a karşı güçlü bir in-vitro aktivite göstererek anti-platelet aktivite edici faktör (anti-PAF) etkinliğine sahip olduğu ortaya konmuştur (Zhang ve ark., 2012).

Ürdün'de yapılan bir çalışmada; *I. viscosa*'dan izole edilen 14 bileşiğin MCF-7, Hep-2 ve Vero hücre serilerine karşı sergiledikleri antiproliferatif etki MTT yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Apoptotik aktiviteleri TUNEL kolorimetrik ölçümü kullanılarak; kanser hücreleri ve bakterilerde meydana getirdikleri morfolojik değişiklikler ise, taramalı elektron mikroskopisi kullanılarak saptanmıştır. Sonuçta; antiproliferatif etkinlik gösterdiği saptanan 4 flavonoitten 3,3'-di-*O*-metilkersetin ve 3-*O*-metilkersetin'in, MCF-7 hücrelerine karşı sırasıyla 10,11 ve 11,23  $\mu\text{g/mL}$  IC<sub>50</sub> değerleriyle; apoptotik cisimlerin formasyonu, çekirdek kondensasyonu ve DNA fragmentasyonu sağlayarak apoptozise neden olduğu bildirilmiştir (Talib ve ark., 2012).

Çin kaynaklı *I. cappa*'nın topraküstü kısımlarından izole edilen 9 seskiterpen yapısındaki bileşiğin antiproliferatif etkileri incelenmiştir. Sonuçlar; A549 insan akciğer kanser hücre serisine karşı SRB (Sulforhodamine-B) yöntemi, insan lösemi

hücre serisine (HL-60) karşı ise MTT yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Bileşiklerin; HL-60 hücre serisine karşı orta düzeyde antiproliferatif etki gösterdiği, A549 hücre serisine karşı ise kayda değer bir etki göstermediği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2012).

Sırbistan'da yapılan bir çalışmada; *I. britannica*'nın etanollü ekstresinden CPC (centrifugal partition chromatography), flash kromatografisi, semi-preparatif HPLC gibi yöntemlerle 5'i yeni seskiterpen lakton türevi olan 10 bileşik izole edilmiştir. Bileşiklerin 4 farklı insan kanser hücre serisine, bunların çoklu ilaca dirençli muadillerine ve normal insan keratositlerine karşı sitotoksik aktivitesi araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; seskiterpen laktonların ilaca duyarlı ve dirençli kanser hücre serilerine karşı benzer sitotoksik aktivite sergilediği, MTT ile SRB yöntemleri kullanılarak ve IC<sub>50</sub> değerleri göz önünde bulundurularak saptanmıştır (Fischedick ve ark., 2013).

Çin'de yapılan bir çalışmada; *I. racemosa*'nın kurutulmuş köklerinden hazırlanan metanollü ekstreden izole edilen 24 bileşiğin antiproliferatif aktiviteleri araştırılmıştır. Bileşiklerden 7 tanesinin sigara içmeyen kanserli akciğer hücresi A549, hepatoselüler karsinoma HepG2 ve insan fibrosarkoma HT1080 hücrelerine karşı 0,38 ila 4,19 µg/mL arasında değişen IC<sub>50</sub> değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. İki bileşiğin ise; endotel hücrelerine karşı sahip olduğu 2,4 ve 2,5 µg/ml IC<sub>50</sub> değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, sahip oldukları antiproliferatif aktivitenin yanı sıra; 1,0 µg/mL konsantrasyonda endotel hücre oluşumunu da inhibe ettikleri saptanmıştır (Ma ve ark., 2013).

Çin'de yapılan diğer bir çalışmada; *I. racemosa* köklerinden izole edilen tri-nor-ödesman tip seskiterpenoitlerin; A549 (insan akciğer kanseri), BEL7402 (insan karaciğer kanseri), BGC823 (insan mide kanseri), HCT8 (insan kolon kanseri) ve A2780 (insan yumurtalık kanseri) gibi 5 farklı insan kanser hücre serisine karşı sitotoksik aktivitesi, MTT yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlar; bileşiklerin önemli bir sitotoksik aktivite sergilemediğini ortaya koymaktadır (Zhang ve ark., 2013).

Çin kaynaklı *I. lineariifolia*'nın topraküstü kısımlarından izole edilen lineariifolianoitlerin, insan meme kanseri hücre serileri (MCF-7 ve MDA-MB-231) ve insan normal meme hücre serisine karşı (MCF-10A) sitotoksik aktiviteleri in-vitro olarak değerlendirilmiştir. Bileşiklerden lineariifolianoit E'nin, insan meme kanser hücre serilerine karşı seçici bir etki gösterdiği; insan normal meme hücre serisinde ise düşük toksisiteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bitkiden elde edilen seskiterpenler ve seskiterpen dimerlerinin doz, hücre tipi ve yapı ile ilişkili olmak üzere, antikanser etkiden esas sorumlu yapılar olduğu belirlenmiştir. Bileşiklerden seskiterpen dimerlerinin, monomerlerine kıyasla daha iyi ilaç benzeri özelliklere sahip olduğu saptanmıştır (Qin ve ark., 2013).

Yine Çin'de yapılan bir çalışmada; *I. hookeri* bitkisinden izole edilen hokerolitlerin, lipopolisakkarit ile indüklenmiş RAW 264,7 makrofajlarında NO üretimi üzerindeki inhibitör etkileri ve HepG2, HeLa, PC-3 ve MGC-803 hücre serilerine karşı gösterdikleri sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Sonuçta; bileşiklerin oldukça zayıf antiinflamatuvar ve sitotoksik özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir (Cheng ve ark., 2013).

Literatür verileri incelendiğinde; *I. helianthus-aquatica*'dan izole edilen seskiterpen lakton yapısındaki bigevolin bileşiğinin, insan monoblastik lösemi hücre serisi U937 de dahil olmak üzere, 8 kanser hücre serisine karşı inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir (Amin ve ark., 2013).

### **1.8.2. Antitümör Etki**

Çin'de yapılan bir çalışmada; *I. japonica* çiçekleri ile *I. helenium* köklerinden izole edilen 8 seskiterpen laktonun antitümör aktiviteleri araştırılmıştır. Bileşiklerden izoalantolakton ve santamarin'in pelvik kanser hücre serilerine karşı gösterdikleri büyüme inhibe edici aktivitenin, diğerlerine kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır. Öte yandan; bileşiklerin insan embriyonik akciğer fibroblastik hücrelerine karşı toksik olmadığı da belirlenmiştir. Sonuçlar uyarınca; antitümör

aktivitenin var olabilmesi için  $\alpha$ -eksometilen- $\gamma$ -lakton halkasının gerekli olduğu da ortaya konmuştur (Li ve ark., 2011).

Çin'de yapılan bir çalışmada; bazı *Inula* türlerinde aktif bileşen olarak yer alan seskiterpen lakton türevi alantolaktonun, insan karaciğer kanseri hücre serileri HepG2, Bel-7402 ve SMMC-77212'e karşı apoptozis aktivasyonunu indükleyici etki gösterip göstermediği araştırılmıştır. Sonuçlar,  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lakton halkası taşıyan alantolakton'un HepG2 hücrelerinde; p53, Bax, kaspaz-8, t-Bid, kaspaz-9 ve kaspaz-3 aktivasyonunu indükleyerek ve nükleer faktör kappa B (NF-kB) ile Bcl-2 yollarını inhibe ederek mediyatör aracılı apoptozisi indükleyici ve hücre büyümesini inhibe edici aktiviteler sergilediğini ortaya koymuştur (Lei ve ark., 2012).

Çin'de yapılan bir çalışmada; izoalantolaktonun baş ve boyun kanserlerinin % 90'nının sebebi olan skuamöz hücreli karsinom hücre serisi üzerindeki antitümör etkinliği ve mekanizması MTT yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlar *I. helenium*'un köklerinden izole edilebilen bir seskiterpen lakton olan bu maddenin, apoptozisi indükleyerek ve G1 fazında hücre döngüsünü durdurarak, söz konusu hücre serisi üzerinde antitümör etki oluşturduğunu ortaya koymaktadır (Wu ve ark., 2013).

Hong-Kong'da yapılan bir çalışmada; *I. helianthus-aquatica* bitkisinden izole edilen bir seskiterpen lakton türevi olan bigevolinin U937 insan lösemi hücre serisinde ve Ehrlich assit tümör modellerinde güçlü antitümör aktivite oluşturduğu belirlenmiştir. Bu veriler ışığında yapılan diğer bir çalışmada, bitkinin yaprak ve çiçeklerinin petrol eterli ekstresinden izole edilen bigevolinin; zebrabalığı embriyoları, insan mikrovasküler endotel hücreleri, insan periferik mononükleer kan hücreleri üzerinde antianjiyogenik ve immunomodülatör etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca söz konusu etkileri; tümörün yayılması, enflamasyonu, angogenezis ve hücre adezyonunun gerçekleştiği tümör mikro çevresini etkileyerek oluşturduğu ileri sürülmüştür (Yue ve ark., 2013).

### 1.8.3. Kemoprotektif Etki

Kore'de 216 bitki ekstresi ile yapılan bir çalışmada; *I. helenium*'un metanollü ekstresinin, kimyasal karsinogenezin önlenmesinde söz sahibi 2 enzimden biri olan kinin redüktazın indüklenmesinde oldukça yüksek kapasiteye sahip olduğu ortaya konmuştur (Kwon ve ark., 2002).

Güney Kore'de yapılan başka bir çalışmada; *I. helenium* ile hazırlanan metanollü ekstre; polaritelerine göre hekzan, diklorometan, butanol ve sulu fraksiyonlarına ayrılmış ve hekzan fraksiyonunun da, tıpkı metanollü ekstre gibi, oldukça kuvvetli kinin-redüktaz indükleyici aktivite sergilediği ortaya konmuştur. Ayrıca metanollü ekstrelerden izole edilen 7 seskiterpenik bileşikten alantolakton, izoalantolakton, 5- $\alpha$ -epoksialantolakton'un detoksifikasyon enzimlerini (kinin-redüktaz ve glutatyon-S-transferaz) önemli ölçüde indükleyici aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Bileşiklerin kemoprotektif potansiyelleri üzerinde daha fazla durulması gerektiği bildirilmiştir (Lim ve ark., 2007).

### 1.8.4. Antienflamatuvar Etki

Japonya'da yapılan bir çalışmada; *I. britannica*'nın ovalbümin ile immunize edilmiş C57BL/6 farelerde T hücre farklılaşmasıyla antikor ve sitokin üretimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bitkinin T1/2 dengesini regüle ederek antikorlar üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Özellikle; antikor üretimiyle yakından alakalı IL-4 ve IL-6 olmak üzere, inguinal lenf nodlarında toplanmış lenfositlerce gerçekleştiren sitokin üretimini baskıladığı ve böylece antikor üretimini de azalttığı ortaya konmuştur (Song ve ark., 2002).

Literatür verileri incelendiğinde; *I. britannica*'nın çiçeklerinden izole edilen flavonoid ve seskiterpen lakton yapısındaki bileşiklerin, P-388 lenfatik lösemi hücrelerine karşı kuvvetli inhibitör etki gösterdiği ortaya çıkmıştır (Geng ve ark., 2007).

İspanya'da yapılan bir çalışmada; antiseptik özellikleri ve deri iltihaplanmalarında kullanıldığı bilinen *I. viscosa*'nın çiçekli topraküstü kısımlarından izole edilen flavanon türevi; sakuranetin, 7-*O*-metilaromadendrin, and 3-asetil-7-*O*-metilaromadendrin'in antienflamatuvar etkileri in-vivo ve in-vitro testlerle araştırılmıştır. In-vitro çalışmalarda, flavanon türevlerinden sakuranetinin sıçan polimorfonükleer lökositlerinde; 5-lipoksigenaz (5-LOX) enzimi üzerinde doğrudan etkili olduğu, lökotrien B4 üretiminin inhibisyonunda en güçlü etkiyi yarattığı ve elastaz enziminin salınım süreçlerini düzenlediği saptanmıştır. Bulgular sakuranetin'in araşidonik asit metabolizmasından sorumlu tutulan 5-LOX için selektif inhibitör etkinlik gösterebileceğini vurgulamıştır. In-vivo çalışmalarda ise; fosfolipaz ile indüklenmiş pençe ödem testinde, en aktif bileşiğin 7-*O*-metilaromadendrin olduğu ortaya konmuştur. Öte yandan flavanon türlerinden herhangi birinin miyeloperoksidaz ve protein kinaz C aktiviteleri üzerinde etkinlik göstermediği de belirlenmiştir (Hernández ve ark., 2007).

Çin kaynaklı *I. britannica*'dan elde edilen total flavonoit ekstresinin (TFE), sıçanlarda yaralanmalara bağlı şişlikle indüklenmiş neointimal hiperplazisi üzerine etkileri araştırılmıştır. Sıçanlara, oral yolla 12,5, 25 and 50 mg/kg/gün dozda uygulanan total flavonoit ekstresinin; p47phox'ın salınımı ve plazma SOD aktivitesinin artması aracılığıyla, oksidatif stres gelişimini baskılayarak, neointimal hiperplaziyi inhibe ettiği ortaya konmuştur. Ayrıca, yüzyıllardan beri Geleneksel Çin Tıbbında bronşit ve enflamasyon tedavisinde kullanılan bitkinin antienflamatuvar etkinlik mekanizmalarından birinin de, sahip olduğu antioksidan aktivite olduğu vurgulanmıştır (Zhang ve ark., 2009).

Yine Çin kaynaklı *I. japonica* topraküstü kısımlarından izole edilen, dimerik seskiterpen lakton yapısı, japonikon A'nın, antienflamatuvar hastalıklar oluşumunda rol oynayan TNF- $\alpha$  antagonisti olup olmadığı araştırılmıştır. Bileşiğin doğrudan bu sitokini hedefleyerek ve onun TNF reseptör-1 ile etkileşimini engelleyerek, yeni nesil antienflamatuvar ilaçların gelişiminde öncü madde olabileceğini rapor edilmiştir (Hu ve ark., 2012).

Çin'de yapılan diğerk bir çalışmada; *I. japonica* bitkisinden izole edilen bir seri dimerik seskiterpen lakton türevinden Japonikon F'nin, lipopolisakkarit ile indüklenmiş RAW 264,7 makrofaj hücrelerinde NO üretimi üzerindeki inhibitör etkileri değerklendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde; bileşikin, 4,1 µg/mL IC<sub>50</sub> değeriyle güçlü bir şekilde inhibe ettiği ortaya konmuştur (Ye ve ark., 2012).

Romanya'da yapılan bir çalışmada; *I. helenium* köklerinden elde edilen kloroformlu ve etil asetatlı ekstrelerin antienflamatuvar aktiviteleri, flojistik ajan olarak taze yumurta albümini kullanılarak değerklendirilmiştir. Referans bileşik olarak aspirinin kullanıldığı çalışmada; bitki köklerinin kayda değerk bir antienflamatuvar etkinlik göstermediği bildirilmiştir (Spiridon ve ark., 2013).

Güney Kore'de yapılan bir çalışmada; *I. helenium*'un etanollü ekstresinin artrit, otoimmün hastalıklar ve kanser gibi birçok enflamasyonlu hastalığın patogenezinde rol oynayan medyatörlerin üretim yollarına etkisi araştırılmıştır. Bitkinin hem in-vivo ve in-vitro olarak Hem-oksjenaz-1 aktivitesine katkı sağladığı ve bu yolla antienflamatuvar etkinlik gösterdiği ortaya konmuştur (Park ve ark., 2013).

Çin'de yapılan bir çalışmada; *I. japonica* bitkisinden izole edilen japokinonların, lipopolisakkarit ile indüklenmiş RAW 264,7 makrofaj hücrelerinde NO üretimi üzerindeki inhibitör etkileri değerklendirilmiştir. Elde edilen olumlu sonuçların bitkinin akılcı kullanımı ve izole edilen bileşiklerin yol göstericiliğinde yeni antienflamatuvar ajanların geliştirilmesinde bilimsel bir temel oluşturabileceği ortaya konmuştur (Zhu ve ark., 2013).

Aynı araştırma grubu tarafından *I. japonica*'dan izole edilen dimerik seskiterpen lakton türevi (bir guyanolit ile bir ödesman arasında oluşan valerolakton sistemine sahip) neojaponikon A ve japonikon M'nin, lipopolisakkarit ile indüklenmiş RAW 264,7 makrofaj hücrelerinde NO üretimi üzerindeki inhibitör etkileri değerklendirilmiştir. Sonuçlar değerklendirildiğinde; bileşiklerin sırasıyla 4,5 ve 12,0 µg.mL<sup>-1</sup> IC<sub>50</sub> değerkleriyle oldukça güçlü bir şekilde NO üretimini inhibe ettikleri ortaya konmuştur (Ye ve ark., 2013).



### 1.8.5. Antimikrobiyal Etki

Yunanistan'da yapılan bir çalışmada; halk tıbbında peptik ülser dahil olmak üzere birçok mide rahatsızlığında geleneksel olarak kullanılan 70 adet bitki ekstresi ve ticari kullanıma sahip birkaç bitkinin anti-*Helicobacter pylori* etkisi araştırılmıştır. Çalışmada yer alan *Inula* türlerinden, *I. heterolepis* Boiss. ve *I. verbascifolia* (Willd.) Hausskn. ssp. *methanea* (Hausskn.)'nin topraküstü kısımlarından elde edilen sulu metanolik ekstrelerin, klinik olarak izole edilen 15 *Helicobacter pylori*'ye karşı kayda değer bir etki yaratmadığı belirlenmiştir (Stamatis ve ark., 2003).

Güney Kore'de yapılan bir çalışmada; *I. helenium* köklerinden süperkritik sıvı ekstraksiyonu ve hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağların Gram-pozitif, Gram-negatif bakteriler ve *Candida* türlerine karşı antimikrobiyal etkinliği mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Uçucu yağların 0,009mg/ml'den >14 mg/ml'ye değişen oranlarda MIC değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar; hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağın diğerine kıyasla, başta Gram-pozitif bakterilere olmak üzere, çalışılan mikroorganizmalara karşı daha aktif olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağın, *Candida* türlerine karşı; antifungal etkinliği kanıtlanmış çay ağacı ve bergamot uçucu yağlarından daha aktif olduğu ve yapılacak klinik çalışmalarla kandidiyazisle mücadelede fitoformülasyonlarda yer alma olasılığının yüksek olduğu bildirilmiştir (Nho ve ark., 2008).

Amerika'da yapılan bir çalışmada; doğal bileşiklerin larva ve yetişkin *Aedes aegypti* (sarıhumma, dang humması gibi ciddi morbidite ve mortalite oranlarına sahip akut viral hastalıkların insanlara bulaşmasında rol oynayan)'ler üzerindeki larvisidal etkinlikleri araştırılmıştır. Poliasetilenler, fitosteroller, flavonoidler, seskiterpenler ve triterpenoidlerin incelendiği çalışmada; etkinlik gösterdiği saptanan ödesman tip seskiterpenlerden alantolakton ve izoalantolaktonun yapı-etki ilişkileri araştırılmıştır. Çeşitli yollar kullanılarak üretilen bileşiklerin, sentetik türevlerinin de, *Aedes aegypti* larvalarına karşı gösterdikleri LC<sub>50</sub> değerleri incelenmiştir. Sonuçlar; sentetik türevlerinden herhangi birinin, 10,0 mg/ml LC<sub>50</sub> değerine sahip olan izoalantolakton

kadar etkin olmadığını ortaya çıkarmaktadır. Öte yandan; 12,4'den 69,9 mg/ml'ye değişen LC<sub>50</sub> değerlerine sahip sentetik türevlerinin de alantolaktone benzer etkinlik gösterdiği saptanmıştır (Cantrell ve ark., 2010).

Sırbistan kaynaklı *Inula helenium* L., *Helichrysum arenarium* L., *Cichorium intybus* L.'un antibakteriyal aktiviteleri ve gıda sanayinde besin bozulmalarına karşı in-vitro olarak kullanılan sodyum nitrit, sodyum benzoat, potasyum sorbat gibi bazı koruyucularla kullanıldıklarında gösterdikleri sinerjistik etki araştırılmıştır. Bitkilerden hazırlanan tüm sulu ekstraktların; Gram-pozitif bakterilerden *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycooides*, *Staphylococcus aureus* ve Gram-negatif bakterilerden *Agrobacterium radiobacter* var. *tumefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas fluorescens*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdikleri bildirilmiştir. Tüp dilüsyon yöntemiyle saptanan MIC değerlerinin; test edilen mikroorganizma türlerinin taksonomik karakterlerine ve bitki ekstraktlarının tip ve konsantrasyonlarına bağlı olarak değiştiği belirlenme birlikte en güçlü aktiviteyi *C. intybus*'un gösterdiği saptanmıştır. Öte yandan bakterilerden; tek başına ve koruyucularla kombine halde bitki ekstraktlarına karşı en dirençli olanların *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* olduğu; en duyarlı olanın ise *Pseudomonas fluorescens* olduğu belirlenmiştir. *I. helenium*'a ilişkin sonuçlara bakıldığında ise; bitki ekstraktının *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas fluorescens*'a karşı sodyum nitrit ve potasyum sorbatla sinerjik etki gösterdiği bildirilmiştir (Stanojevic ve ark., 2010).

Çin'de yapılan bir çalışmada; *I. hupehensis*'in köklerinden izole edilen timol türevi 4 bileşiğin antimikrobiyal etkinlikleri araştırılmıştır. Bileşiklerin; 3 bakteri ve 6 bitki patojeni mantara karşı gösterdikleri antimikrobiyal etki, yarı sentetik timol türevi bir madde ile kıyaslanmıştır. Test edilen timol türevleri arasında sadece 8-hidroksi-9,10-diizobütilloksitimol'ün *Staphylococcus aureus*, Metisilin'e dirençli *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı 62,3, 62,8 ve 250 µg/ml MIC değerleriyle, kayda değer bir etki gösterdiği bildirilmiştir. Öte yandan, aynı bileşiğin bitkilere patojen mantar türleri olan *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora melonis* ve *Peronophythora litchi*'e karşı sırasıyla 157, 180 ve 141 µg/ml EC<sub>50</sub> değerleriyle inhibitör aktivite sergilediği de saptanmıştır (Zhao ve ark., 2010).

Ürdün'de yapılan bir çalışmada; *I. viscosa*'dan izole edilen 14 bileşiğin, 2 Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*), 2 Gram-negatif (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*) bakteri ve 1 mantar (*Candida albicans*) türüne karşı sergilediği antimikrobiyal aktivite, mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; bileşiklerden 3,3'-di-*O*-metilkersetin ve 3-*O*-metilkersetin'in bakteri sitoplazmik membran ve hücre duvarına zarar vererek *Bacillus cereus* ve *Salmonella typhimurium*'a karşı 62,5 µg/mL ve 125 µg/mL MIC değerleriyle etkili oldukları ortaya konmuştur. Diğer bileşiklerin de kayda değer bir etki oluşturduğu belirtilmiş; bitkiden izole edilen kersetinin metillenmiş türevlerinin antimikrobiyal ajan olarak umut vaat ettikleri vurgulanmıştır (Talib ve ark., 2012).

Sırbistan'da yapılan diğer bir çalışmada; *I. helenium*'un kurutulmuş köklerinden hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağın, *Staphylococcus aureus* hücre membranına karşı etkisi ve inhibitör/bakterisidal etkinliği araştırılmıştır. Mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenen minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) değeri 0,01 µl.mL<sup>-1</sup>; minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBC) değeri ise 0,02 µl.mL<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Sonuçlar literatür verileriyle kıyaslandığında; uçucu yağın daha düşük MIC değerine sahip olduğu ve oldukça güçlü antisitafilakok etki gösterdiği saptanmıştır. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak yapılan analizlerde, uçucu yağın hücre membranı üzerinde yarattığı belirgin hasarın ise; membran permeabilitesini azaltarak sağladığı belirlenmiştir (Stojanović-Radić ve ark., 2012).

Hindistan'da yapılan bir çalışmada *I. racemosa*'nın köklerinden izole edilen alantolakton, izoalantolaktonun ve bunların sentetik piroazolin türevlerinin *Alternaria brassicae*, *Rhizoctonia solani* ve *Penicillium italicum*'a karşı antifungal aktiviteleri araştırılmıştır. İzoalantolakton ve türevlerinin, diğerlerine kıyasla daha yüksek fungitoksik etki gösterdikleri saptanmıştır (Kataria ve Chahal, 2013).

*I. helenium*, Amerika'da pediatrik orta kulak iltihabı için tamamlayıcı ve alternatif tedavilerin belirlenebilmesi için yapılan literatür taraması sonucu; etki mekanizması tam olarak bilinmeyen fakat genel olarak güvenli kabul edilen doğal sağlık ürünleri

listesinde yer almıştır. 15 ay-6 yaş çocuklarında en sık görülen hastalıklardan olan akut veya kronik seröz orta kulak iltihaplarında tentür şeklinde günde 3 defa 0,5-2 ml kullanılabilmesi bildirilmiştir. Bitkinin bakteriyostatik, antiviral aktiviteler sergilediği ve mukozal yüzeyin direncini arttırabileceği de ortaya konmuştur (Levi ve ark., 2013).

Sırbistan'da yapılan bir çalışmada; anti-sitafilakokal etki gösterdiği bilinen *I. helenium*'un kurutulmuş köklerinden elde edilen uçucu yağ üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu sentezlenen uzun zincirli-3-metil-2-alkanonların antimikrobiyal etkinlikleri in-vitro olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde; 9 sentetik bileşiğin başta *Staphylococcus aureus* olmak üzere *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Aspergillus niger*'e karşı etkili olmadığı belirlenmiştir. Öte yandan bileşiklerin *Candida albicans*'a karşı referans bileşik nistatinin gösterdiği 0,78 µl/mg MIC değerine karşı 3,7mg/mL MIC değeri ile seçicilik gösterdiği ortaya konmuştur (Radulović ve ark., 2014).

#### **1.8.6. Antioksidan Etki**

Japonya'da yapılan bir çalışmada; Özbekistan'dan toplanan, Orta Asya'da halk tıbbında geleneksel olarak kullanılan *Ferula*, *Inula* ve *Rheum* türü 6 bitkiden izole edilen 48 bileşiğin lipit peroksidasyonu ve radikal süpürücü etkilerle sergiledikleri antioksidan aktivite araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, *I. macrophylla*'dan izole edilen 3 bileşiğin, fosfatidilkolin lipozomlarında ADP/Fe<sup>2+</sup> ile indüklenmiş lipit peroksidasyonunu az ve orta derece inhibe ettiği belirlenmiştir. Bileşiklerin sahip oldukları DPPH radikalini süpürücü etkinin ise; orta veya yüksek derecede olduğu bildirilmiştir (Kogure ve ark., 2004).

*I. britannica*'dan izole edilen ana aktif bileşenlerden luteolin, kersetin, 6-metoksiluteolin, spinasetin ve öpatinin oldukça kuvvetli; diosmetin, krizoeriyol ve kemferolün orta düzeyde serbest radikal süpürücü etki gösterdikleri DPPH yöntemiyle belirlenmiştir (Geng ve ark., 2007).

İsrail'de yapılan bir çalışmada; *I. viscosa*'dan elde edilen metanollü ekstreden izole edilen kafeoylkinik asit ve türevlerinin antioksidan kapasiteleri ve serbest radikal süpürücü etkinlikleri DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak ölçülmüştür. Sinarik asit olarak da bilinen 1,3-dikafeoylkinik asit'in, troloks antioksidanından daha güçlü aktivite sergilediği ve oksidatif hasar ile reaktif oksijen türlerinin oluşumuna bağlı hastalıkların tedavisinde potansiyel olabileceği rapor edilmiştir (Danino ve ark., 2009).

Irak'da yapılan bir çalışmada; biyolojik aktivitesine dair oldukça sınırlı bilgi bulunan *I. graveolens* bitkisinden elde edilen metanollü ekstrenin, antioksidan özellikleri araştırılmıştır. Ekstrenin % 64,28 oranıyla güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu; süperoksit anyonu ve hidroksil radikali için oldukça yüksek serbest radikal süpürücü aktivite sergilediği bildirilmiştir. Ayrıca ekstrenin redüksiyon potansiyeli ve demir iyonu şelatlama kapasitesinin, konsantrasyon miktarıyla pozitif korelasyon gösterdiği de belirlenmiştir (Al-fartosy, 2011).

Romanya'da yapılan bir çalışmada; *I. helenium* köklerinden elde edilen kloroformlu ve etil asetatlı ekstraların antioksidan aktiviteleri, DPPH radikal süpürücü kapasite yöntemi ile değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar ile bitkinin kök ekstralarının, literatür verilerini doğrular nitelikte, antioksidan aktivite sergilediği ortaya konmuştur. Ayrıca, ekstraların antioksidan aktivitelerinin; saptanan total fenol ve total flavonoit içerikleriyle de pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (Spiridon ve ark., 2013).

Tayvan'da yapılan bir çalışmada; *Flos Inulae*'nin sulu ekstresinde yer alan fenolik bileşikler olan kersetin, rutin, kemferol, klorojenik asit ve luteolin'in antioksidan etkileri; DPPH, ABTS ve indirgeyici güç yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır.

Sonuçlar, 0,01 mg/ml konsantrasyonda; bileşiklerden kersetinin, en yüksek % redüksiyon oranına sahip olduğunu, luteolinin ise en yüksek DPPH ve ABTS % inhibiyonunu sergilediğini ortaya koymaktadır. Ayrıca veriler bileşiklerin, ekstrenin sahip olduğu antioksidan aktiviteye olumlu katkı sağladığını da göstermektedir (Huang ve ark., 2013).

### 1.8.7. Antifidant Etki

İtalya'da yapılan bir çalışmada; *Dittrichia viscosa* (= *I. viscosa*) hekzanlı ve etanollü ekstralarının bitki koruma aktiviteleri araştırılmış; otçul böcekler *Spodoptera littoralis* ve *Myzus persicae* karşı etkinlikleri *Lactuca sativa* ve *Lolium perenne* bitkileri ve *Meloidogyne javanica* nematod'una karşı test edilmiştir. Ekstrenin biyolojik aktiviteyle yönlendirilmiş çalışmaları sonucunda; yaprak bitleri üzerindeki inhibe edici aktivitesinin bitkilerden izole edilen tomentosin ve inuviskolitten ileri geldiği saptanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; bitki ekstralarının orta derecede fitotoksik aktivite sergilediği ortaya konmuştur (Mamoci ve ark., 2012).

Fas'ta yapılan bir çalışmada; ülkenin güneyinden toplanan 43 farklı bitkinin toz ve kuru ekstralarının, *Citrus* türlerinde hasat sonrası ekşi çürüklüğe neden olan *Geotrichum candidum*'a karşı gösterdikleri antifungal aktivite in-vivo ve in-vitro olarak araştırılmıştır. *I. viscosa* yaprak ve köklerinin de yer aldığı çalışmada, 10 kadar türün etkili olduğu bildirilmiştir. *Citrus reticulata* Blanco türü mandalinaların kullanıldığı çalışmada, *I. viscosa*'nın; kuru tozunun misel büyümesi inhibisyonunda % 87'lerde etkin olduğu, sulu ekstresinin ise spor germinasyonu inhibisyonunda ancak yüksek konsantrasyonlarda etki gösterebildiği belirlenmiştir. Öte yandan ekstrenin MIC ve MFC değerlerinin diğer türlere kıyasla orta düzeyde olduğu; *Citrus* türlerinin hasat sonrası korunmasında kullanılan kimyasal pestisitlere alternatif oluşturabileceği ortaya konmuştur (Talibi ve ark., 2012).

Fas'ta yapılan diğerk bir çalışmada; *Citrus* meyvelerinde hasat sonrası görülen hastalıkların kontrolünde kullanılan kimyasallara alternatif yaratmak amacıyla, 8 tıbbi ve aromatik bitkinin mavi kf hastalığı etmeni *Penicillium italicum*'a karşı gösterdikleri etki değerlendirilmiştir. Aralarında *I. viscosa*'nın da yer aldığı bitkilerin sahip oldukları antifungal etki; petrol eteri, kloroform, etilasetat, metanol gibi zclerle hazırlanan ekstrelerinden hareketle disk difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; numunelerden *I. viscosa*'nın petrol eterli ekstresinin, 1 mg/ml MIC değerı ile oldukça önemli antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Askarne ve ark., 2012).

### 1.8.8. Antidiyabetik Etki

Japonya'da yapılan bir çalışmada; *I. britannica* subsp. *japonica* bitkisinden elde edilen sulu ekstrenin, çoklu düşük doz streptozotosin (MLDSTZ) ile indüklenmiş otoimmün diyabet üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Çalışmada, 7 hafta boyunca bitki ekstresi verilen hasta erkek fareler üzerinde yapılan histolojik araştırmalar ve kan şekeri düzeylerindeki ölçümler sonucunda; bitki ekstresinin inslit ve pankreas ̢ hücrelerindeki yıkımı azalttığı ve kan şekerinde kayda değer bir düşüş meydana getirdiği belirlenmiştir. Ayrıca MLDSTZ ile muamele sonucu; CD4<sup>+</sup> T yardımcı hücrelerce salgılanan sitokin düzeyindeki artışın da, bitki ekstresiyle tedavi sonucu engellendiği ortaya konmuştur ( Kobayashi ve ark., 2002).

Fas'ta yapılan bir çalışmada; *I. viscosa* topraküstü kısımlarından dekoksilyonla hazırlanan sulu ekstrenin normal ve diyabetli sıçanlar üzerindeki hipoglisemik ve hipolipidemik etkileri araştırılmıştır. Normal farelerde, tek doz (20mg/kg) oral uygulamadan 2 saat sonra, kan glukoz seviyesinde önemli bir düşüş görüldüğü; 4 gün boyunca tekrarlanan dozların da benzer bir etki yarattığı vurgulanmıştır. Diyabetli sıçanlarda ise; ekstrenin tek doz oral uygulamadan 1 saat sonra kan glukoz seviyesinde önemli düşüş meydana getirdiği, 4 gün süren tedavide de aynı etkinliği gösterdiği saptanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; bitki ekstresinin plazma insülin sekresyonunda değeriklik yaratmadan, hipoglisemik etki gösterdiği belirlenmiştir.

Öte yandan total plazma kolesterolü ve trigliserit seviyelerinde herhangi bir değişiklik görülmediğinden; ekstrenin normal ve diyabetli sıçanlarda hipolipidemik bir etki göstermediği ortaya konmuştur (Zeggwagh ve ark., 2006).

Çin'de yapılan bir çalışmada; *I. britannica* çiçek ekstresinden izole edilen polisakkaritlerin, diyabeti alloxan ile indüklenmiş fareler üzerindeki antidiyabetik etkinliği değerlendirilmiştir. Polisakkaritler, normal ve diyabetik farelere 14 gün boyunca; 100, 200 ve 400 mg/kg vücut ağırlığı olmak üzere 3 farklı dozda oral olarak uygulanmıştır. Sonuçlar normal ve diyabetik farelerin; vücut ağırlığı, plazma kan şekeri, serum trigliseriti, total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol ve karaciğer glikoz değerleri ölçülerek belirlenmiştir. Polisakkaritlerin, diyabetik farelerde kontrol grubuna kıyasla; vücut ağırlığında doza bağımlı olarak önemli ölçüde arttırdığı, plazma glukoz ve glukojen düzeylerini azalttığı ve kan lipid değerlerinde belirgin bir düşüş yarattığı saptanmıştır. Polisakkaritlerin; diyabetik farelerde önemli hipoglisemik ve hipolipidemik etkilere sahip olması nedeniyle, diyabet tedavisinde umut vaat ettiği bildirilmiştir (Hong ve ark., 2012).

### 1.8.9. Üreme Üzerine Etkileri

Ürdün'de yapılan bir çalışmada; *I. viscosa*'nın gebeliği sonlandırmak amacıyla geleneksel olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Bu bilgiden hareketle; bitkinin gebe sıçanlar üzerindeki abortif ve anti-implantasyonik etkileri araştırılmıştır. Bitki sulu yaprak ekstresinin, sıçanlara gebeliğin 1. ve 6. günlerinde intraperitoneal uygulanması; korpus lutea ve kandaki progesteron seviyelerinde kayda değer bir artışa ve fetal implantasyonda eksilmeye neden olmuştur. Elde edilen sonuçlar; bitkinin halk arasında kullanımıyla örtüşmektedir (Al-dissi ve ark., 2001).

Ürdün'de yapılan başka bir çalışmada ise; bu veriler ışığında  $\beta$ -karyofillen'in yetişkin dişi sıçanlarda endometriozis, kısırlık ve üreme üzerindeki etkileri araştırılmış ve bileşiğin umut verici bir kaynak teşkil ettiği ortaya konmuştur (Abbas ve ark., 2013).



### 1.8.10. Herbisit Etki

İtalya'da yapılan bir çalışmada; *I. viscosa*'nın herbisit özellikleri ve bitki korumada yararlanabilirliğinin belirlenmesi için, bitki ekstresi kimyasal ve spektroskopik yöntemlerle analiz edilmiş; 4 yeni bi- ve tri- siklik seskiterpen laktonunun (inuloksinler A-D) yabancı otlardan *Orobancha crenata* ve *Cuscuta campestris*'e karşı potansiyel herbisit etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca  $\alpha$ -kostik asitin bitkinin herbisit etkisinden sorumlu ana bileşen olduğu da belirlenmiştir (Andolfi ve ark., 2013).

### 1.8.11. Hipolipidemik Etki

Hindistan'da, yüksek yağlı diyet ile ateroskleroz arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada; Geleneksel Çin tıbbında genellikle prekordiyal göğüs ağrısında kullanımıyla bilinen *I. racemosa*'da kullanılmıştır. Bitkinin alkollü ve hekzanlı ekstralarının, 30 gün boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenen kobaylarda gelişen ateroskleroza karşı gösterdiği etkinlik araştırılmıştır. Sonraki 90 gün boyunca, *I. racemosa* ekstresini (100 mg/kg) takviye olarak alan kobaylara ilişkin sonuçlar incelenmiştir. Alkollü ekstrenin pozitif kontrol grubuna kıyasla plazma kolesterolü, TAG ve LDL seviyeleri ile aterojenik indeksi(LDL/HDL) azalttığı; HDL kolesterolü ise arttırdığı saptanmıştır. Kobayların karaciğer lipit peroksidasyon seviyelerindeki azalma ve indirgenmiş glutatyon seviyelerindeki artış TBARS yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca kalpteki süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerde artış sağladığı da ortaya konmuştur. Gözlenen etkilerin oluşumunda bitki ekstresinin bileşiminde yer alan fenolikler ve seskiterpen laktonların aracılık ettiği vurgulanmıştır (Ye ve ark., 2013).

### 1.8.12. Kardiyoprotektif etki

Hindistan'da yapılan bir çalışmada; *I. racemosa* köklerinden elde edilen hidroalkolik ekstrenin, miyokardiyal enfarktüsü isoproterenol ile indüklenmiş ratlarda gösterdiği kardiyoprotektif etki araştırılmıştır. Ratlara 21 gün boyunca 50, 100 or 200 mg/kg dozlarda verilen ekstrenin; kalp hızı, ortalama arter basıncı, kontraktiletiyi arttırarak, kardiyak fonksiyonu güçlendirdiği saptanmıştır. Öte yandan ekstrenin, lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve isoproterenole bağlı azalış gösteren miyokardiyal enzimatik ve non-enzimatik antioksidanların miktarında kayda değer bir artış sağladığı da bildirilmiştir (Ojha ve ark., 2011).

### 1.8.13. Diğer Etkiler

Japonya'da yapılan bir çalışmada; Fransa'dan temin edilen *I. graveolens* uçucu yağının, asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesi mikroplaka ölçüm yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde; uçucu yağın asetilkolinestraz inhibe edici aktivite gösterdiği ve ilk kez bu çalışmada rapor edilen bu etkiye, bileşiminde yer alan terpinen-4-ol ve  $\alpha$ -terpineol'ün olumlu katkı sağladığı ortaya konmuştur (Dohi ve ark., 2009).

Çin'de yapılan bir çalışmada; *I. japonica* çiçeklerinden hazırlanan etanollü ekstrenin anti-alerjik aktivitesi, fare kemik iliği mast hücreleri ve pasif kutanöz hayvan modeli kullanılarak in-vivo ve in-vitro olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar; ekstrenin kök hücre faktörü SCF ile stimule edilmiş fare kemik iliği mast hücrelerinde degranülasyonu inhibe ettiğini ve eikozanoidlerin (PGD2 ve LTC4) üretimini modüle ederek etki gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Fitokimyasal içeriğini seskiterpen türevi 1-O-asetilbritannilakton, britanin ve tomentosinin oluşturduğu ekstrenin; birden fazla sinyalizasyon sürecini inhibe ederek, Ig-E duyarlı farelerde oral alım sonucu, mast hücresi aracılı allerjik reaksiyonları baskıladığı da belirlenmiştir (Lu ve ark., 2012).

Tayvan'da yapılan bir çalışmada *Flos Inulae*'nin sulu ekstresinin in-vitro anti-mutasyon, anti-tirozinaz etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde; ekstrenin indirekt mutajenler, 2-aminoantrasen(2-AA) ve 4-nitrokinolin-N-oksit (4-NQO), ve direkt mutajen *Salmonella typhimurium*'un yarattığı mutajeniteyi inhibe ettiği ortaya konmuştur. Öte yandan lipopolisakkarit ile stimule makrofajlarda; tirozinaz aktivitesi ve NO üretimini inhibe ettiği de saptanmıştır (Huang ve ark., 2013).

### 1.9. *Inula* Türlerinin Kullanılışları

Çalışmamızın bu bölümünde, Dünya'da ve Türkiye'de birçok türle temsil edilen *Inula* L. cinsine ait literatür verileri taranmış; bitkilerin geleneksel tedavi sistemlerinde ve halk arasında kullanılışlarına ilişkin son yıllara ait çalışmalar derlenmiştir. *Inula* cinsine ait bitkilerin kullanılışları, fitokimyasal çalışmalar ve yapı-biyolojik etki ilişkilerinde yol göstericiliği sebebiyle oldukça önemlidir.

#### *Inula helenium*

*Inula helenium*'un kökleri, Avrupa'da antisudorifik, ekspektoran, diüretik ve antihelmintik etkileri nedeniyle; Japonya'da ise, evde yapılan ilaçlarda koku ajanı olarak geleneksel olarak kullanılmaktadır. Çin'in kuzeyinde geniş bir dağılım gösteren bitkinin geleneksel Çin tıbbında; kronik enterogastritte, bronşit, bulantı ve ishal tedavisinde kullanıldığı belirlenmiştir. Öte yandan Amerika'da yerlilerin droğu, infüzyon ve dekoksasyon halinde akciğer hastalıklarının tedavisinde ve tüberküloza karşı kullandıkları bildirilmiştir (Konishi ve ark., 2002; Yan ve ark., 2012).

Cezayirde; *I. helenium*'un; *Glycyrrhiza glabra* L. ve *Marrubium vulgare* L. ile birlikte bronşit, öksürük ve soğuk algınlığının geleneksel tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Boudjelal ve ark., 2012).

1804 yılında *I. helenium* ekstresinden ilk defa izole edilen inülin ise; enerji verici bir madde olup, 1818 yılında Thomson tarafından isimlendirilmiştir. İnülin fruktan

türevi bir madde olup; sindirilemeyen karbonhidratlar sınıfında yer almaktadır. Gıda sanayinde sıklıkla yağ yerine kullanılmaktadır (Zhu ve ark., 2013).

Sırbistan'ın güney batısında yapılan etnobotanik bir çalışmayla, *I. helenium*'un infüzyon halinde ve köklerinden elde edilen tozun balla karıştırılması suretiyle; hemoroit, orta şiddette depresyon, gastrointestinal hastalıklar ve öksürüğün tedavisinde kullanıldığı ortaya konmuştur (Savikin ve ark., 2013).

*I. helenium*, Sırbistan halk tıbbında; solunum rahatsızlıkları, sindirim bozuklukları, üriner enfeksiyonlar ve cilt rahatsızlıkları başta olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde geniş bir kullanım alanına sahip olmuştur. Acı ve aromatik tadı sebebiyle yemeklerde sıklıkla tercih edilen bitkinin; tatlandırıcılarla işlenmiş köklerinin de şekerleme olarak tüketildiği bildirilmiştir. Ayrıca halk tıbbında bitkinin köklerinden elde edilen uçucu yağdan da yararlandığı kaydedilmiştir (Stanojevic ve ark., 2010; Radulović ve ark., 2014).

### ***Inula viscosa***

Başta Akdeniz ülkeleri olmak üzere Avrupa'da yaygın olarak yetişen *Inula viscosa* bitkisinin antienflamatuvar, antipiretik, antiseptik, antidiyabetik etkileri nedeniyle halk tıbbında uzun yıllardır kullanıldığı kaydedilmiştir.

İspanya'da halk arasında gastroduodenal hastalıkların tedavisinde yararlanılan bitkinin; Ürdün'de geleneksel olarak bronşit, tüberküloz, anemi, kısırlık tedavisinde ve antihelmintik, ekspektoran, diüretik, ağrı kesici, abortif etkileri nedeniyle kullanıldığı ortaya konmuştur (Al-Dissi ve ark., 2001).

Topikal olarak boğaz ağrılarının tedavisinde ve uyuza karşı da kullanıldığı belirlenen bitkinin; geleneksel farmakopelerde ise diüretik, topikal antienflamatuvar, antidiyabetik, hemostatik ajan olarak, çeşitli terapötik amaçlarla ve gastroduodenal hastalıkların tedavisinde yararlanılmak üzere yer aldığı bildirilmiştir. Bazı

çalışmalar, bitkinin antiülserojenik aktivitesinin esas olarak flavonoit fraksiyonundan kaynaklandığını; yapısında yer alan resveratrol ve 1,3-dikafeoylkinikasit gibi bileşikler sayesinde ise, antioksidan aktivite sergilediğini ortaya koymaktadır (Miguel ve ark.,2008; Nawafleh ve ark., 2012; Mamoci ve ark., 2012).

Fas'ın güney doğusunda yer alan Tafilalet bölgesinde; Trehla adıyla bilinen *I. viscosa*'nın topraküstü kısımlarından dekoksasyonla hazırlanan ekstrenin geleneksel olarak diyabet, hipertansiyon ve renal hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir. Akdeniz ülkelerinde ise; “sticky fleabane” adıyla bilinen bitkinin; halk arasında hem antienflamatuvar, antipiretik, antiseptik özellikleri sebebiyle hem de diyabetin tedavisinde yıllardır kullanıldığı rapor edilmiştir (Zeggwagh ve ark., 2006; Amin ve ark., 2013).

İsrail’de yapılan kapsamlı bir derlemede; son 24 yılda yayımlanan çalışmalar taranmış; ülseratif kolit ve peptik ülser tedavisinde kullanılabilecek doğal kaynaklı ürünler listesinde, bu hastalıklara karşı geleneksel kullanımı da bulunan, *I. viscosa*'nın da yer aldığı bildirilmiştir (Awaad ev ark., 2013).

### ***Inula racemosa***

Avrupa, Çin ve Hindistan'da geleneksel kullanımı bulunan *Inula racemosa* bitkisinin; Himalayaların ılıman bölgelerinden Alplerin yüksek yerlerine kadar yayılış gösterdiği ve bölgede “Pushkarmoola” adıyla da bilindiği kaydedilmiştir. Bitkinin köklerinin yer aldığı bileşimlerin bazı bölgelerde cilt hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı ve bazı bölgelerde ise kardiyovasküler hastalıklar, astım, bronşit gibi akciğer hastalıkları, hazımsızlık, kronik enterogastrit ve helmantik hastalıkların tedavisinde yararlandığı belirlenmiştir. Bitkinin; Amerikan yerlileri tarafından tüberküloz tedavisinde kullanıldığı kaydedilmiştir. Köklerinden tonik ve ekspektoran amaçlı yararlanılan bitki tohumlarının ise; afrodisyak amaçlı kullandığı bildirilmiştir (Pal ve ark., 2010; Amin ve ark., 2013).

### ***Inula japonica***

Çin, Japonya ve Kore'de yaygın olarak yetişen *Inula japonica*'nın kurutulmuş çiçeklerinin; karminatif, antihelmintik ve vermifüj özellikleri nedeniyle, sindirim bozukluklarının tedavisinde sıkça kullanıldığı bildirilmiştir. Ayrıca yüksek besin değeri sebebiyle bitkiden gıda olarak yararlanıldığı da kaydedilmiştir. Çin Halk Cumhuriyeti Farmakopesinde de yer alan bitkinin ekspektoran, antitüssif etkilerinin olduğu; ayrıca Tayvan ve Çin'de marketlerde tek başına ya da karışım halinde bitki çayı olarak satıldığı bildirilmiştir. Öte yandan Çin tıbbında, *I. japonica*'nın kurutulmuş yaprak ve köklerinin; kesici alet yaralanmalarında, çıban ve öksürük tedavisinde, çiçeklerinin ise; astım, bronşit, kabakulak ve enflamasyon tedavisinde geleneksel olarak kullanıldığı da kaydedilmiştir. Modern farmakolojik çalışmalar da bitkinin; antidiyabetik, hipolipidemik, antitümör, antifungal, antibakteriyal, hepatoprotektif ve antihepatik etkiler sergilediğini ortaya koymuştur (Qin ve ark., 2009; Lu ve ark., 2012; Yang ve ark., 2012; Amin ve ark., 2013; Huang ve ark., 2013; Zhu ve ark., 2013).

### ***Inula cappa***

Subtropik ve tropik bölgelerde doğal olarak yetişen *Inula cappa*; yapısında yer alan fenolikler, triterpenler, flavonoidler ve seramidler sayesinde sahip olduğu etkilerle, Çin halk tıbbında geleneksel olarak kullanılmaktadır. Çin'de halk arasında romatoid artrit, malarya, dizanteri ve hepatit tedavisinde yararlanan bitkinin ayrıca burun akıntısı, karın ağrısı ve laringotrakeite karşı geleneksel olarak kullanıldığı da bildirilmiştir. Öte yandan, bitki köklerinin yine Çin'de ateş, abdominal şişkinlik ve adet düzensizliğine karşı kullanılan preparatlarda kombine halde yer aldığı da belirlenmiştir (Zou ve ark., 2008; Wang ve ark., 2012; Wu ve ark., 2013).

### ***Inula britannica***

Kore, Japonya, Çin gibi ülkelerde doğal olarak yetişen *Inula britannica*'nın çiçeklerinin Geleneksel Çin Tıbbı'nda; sindirim hastalıkları, bronşit, astım, tümör ve enflamasyonun tedavisinde kullanılan formülasyonların bileşiminde yer aldığı bildirilmiştir (Geng ve ark., 2007; Zhang ve ark., 2009; Amin ve ark., 2013).

### ***Inula helianthus-aquatica***

*Inula helianthus-aquatica*'nın Çin'de, başta Yunnan bölgesi olmak üzere, geleneksel olarak kanser ve süt bezi tıkanıklığının tedavisinde kullanıldığı rapor edilmiştir (Amin ve ark., 2013; Yue ve ark., 2013).

### ***Inula royleana***

Himalayaların batısına özgü çok yıllık bir bitki olan *Inula royleana*'nın, bölgede "Gugi Phool" adıyla bilindiği ve 2800-3400 metre yükseklikte nadir rastlanan bir tür olduğu kaydedilmiştir. Sürgünlerinin dermatit ve alerji tedavisinde; kurutulmuş çiçeklerinin ise, dekoksasyon halinde toynak iltihaplanmaları ve yaralarında kullanıldığı bildirilmiştir. Boğaz yaralarında ve baş ağrısı tedavisinde de kullanılan bitkiden Pakistan'da; bağırsak problemlerinin çözülmesinde yararlanıldığı kaydedilmiştir. Bitkinin tansiyonu düşürmede etkili olduğu bilinen köklerinden elde edilen macun formunun ise; Hindistan'ın Kangra bölgesi'nde antiseptik amaçlı ve burkulmalara bağlı oluşan şişliklerde yapraklarla birlikte kullanıldığı ortaya konmuştur. Bitkinin gösterdiği insektisit, antimikrobiyal, antienflamatuvar ve çeşitli kanser hücre serilerine karşı antiproliferatif etkilerin; sahip olduğu ödesman tip seskiterpen laktonlar, abietan diterpenleri ve diterpenik alkaloidlerden kaynaklandığı bildirilmiştir. Bitkinin köklerinin nöromusküler bloke edici özelliği oluşunun ağrı kesici etkisini kanıtlar nitelikte olduğu kaydedilmiştir (Amin ve ark., 2013).

### ***Inula rhizocephala* var. *rhizocephaloides***

Pakistan için endemik bir tür olan ve bölgede “Riamko” adıyla bilinen *Inula rhizocephala* var. *rhizocephaloides*'e yaklaşık 5000 metre yükseklikte nemli yerlerde nadiren rastlandığı kaydedilmiştir. Bitkinin kurutulmuş köklerinin; soğuk algınlığı, öksürük ve göğüs ağrısının tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Amin ve ark., 2013).

### ***Inula obtusifolia***

Himalayaların kuzeybatısında yayılış gösteren ve bölgede “Rupmak” adıyla bilinen *I. obtusifolia*'nın; evcil hayvanların difteriden korunmasında, tüberküloz, göğüs ağrıları, öksürük tedavisinde ve antiseptik olarak kullanıldığı kaydedilmiştir (Amin ve ark., 2013).

### ***Inula grantioides***

Pakistan'ın Sind bölgesinde geniş bir yayılış gösteren ve "Naro" ve "Kolmur" adlarıyla da bilinen *Inula grantioides*'in; antibiyotik aktiviteye sahip bir yağ içerdiği ve Lasbela'da astım hastalarının şikayetlerini gidermede yerel olarak kullanıldığı rapor edilmiştir (Amin ve ark., 2013).

### ***Inula graveolens***

*Dittrichia graveolens* (= *I. graveolens*) uçucu yağının; mukusun sulandırılmasında oldukça etkili olduğu, ayrıca öksürük, soğuk algınlığı, sinüzit, larinks iltihabı ve bronşit gibi akut kronik solunum yolları hastalıklarında ve akneli cilt enflamasyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Abou-Douh, 2008).



***Inula macrophylla***

*Inula macrophylla* Özbekistan halk tıbbında; intestinal ülser, bronşit, akciğer hastalıkları ve diyabetin tedavisinde geleneksel olarak kullanıldığı kaydedilmiştir (Fu ve ark., 2001).

***Inula heterolepis***

Türkiye dahil bir çok ülkede; *I. britannica*, *I. racemosa*, *I. hupehensis*, *I. serrata* ve *I. heterolepis*'in halk arasında kullanımı bulunmaktadır (Saygı ve ark., 2003). Türkiye'de yapılan bir çalışmada; Batı Anadolu'da yetişen 40 farklı familyaya ait 91 bitki türü ve 2 hayvan türünden Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın illerinde hazırlanan 201 halk ilacının geleneksel kullanımları ve hazırlanış yöntemleri araştırılmıştır. Çalışmada; bölgede sarıot adıyla bilinen *I. heterolepis*'in karın ağrısı, öksürük ve bronşite karşı dahilen dekoksiyon şeklinde kullanıldığı bildirilmiştir (Honda ve ark., 1996).

Türkiye'de yapılan diğer bir etnobotanik bir çalışmada; Akdeniz bölgesinin batısında halk arasında geleneksel olarak kullanılan bitkiler ve kullanım amaçları belirlenmiştir. Bu çalışmada; *I. heterolepis*'in yaprak ve sürgünlerinin infüzyon şeklinde iştah açıcı olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Fakir ve ark., 2009)

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Bitkisel Materyal

Çalışma materyali olarak kullanılan *I. heterolepis* bitkisi, 1 Ağustos 2012 tarihinde Karaman İli Ermenek İlçesi'nden 1200-1300 metre yükseklikten toplanmıştır. Bitki toplanırken, herbaryum için hazırlanan örnekler uygun şekilde preslenerek, kurutulmuştur. Herbaryum örnekleri Prof. Dr. Zeki Aytaç tarafından teşhis edilmiş; muhafaza edilmek üzere, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na AEF 26359 numarasıyla kaydedilmiştir. Bitki uygun şekilde kurutulduktan sonra, çiçek yaprak ve köklerine ayrılmış; değirmende ayrı ayrı toz edilmiştir. Toz edilmiş bitki kısımlarından metanol ile hazırlanan ekstratlar; bu tez kapsamında gerçekleştirilen fitokimyasal analizler ve aktivite testlerinde kullanılmıştır.

### 2.2. Fitokimyasal Analizler

Tez kapsamında yapılan fitokimyasal analizler için, öncelikle literatür verileri incelenmiş, seçilen ekstraksiyon yöntemine uygun olarak bitkinin yaprak, çiçek ve köklerinden hareketle ekstratlar hazırlanmıştır. Ekstratların içeriğinin belirlenmesi ve miktar tayinlerinin yapılması için; çeşitli kromatografik ve spektroskopik yöntemler kullanılmıştır.

#### 2.2.1. Ekstraksiyon ve Kalitatif Analizler

##### 2.2.1.1. Ekstraksiyon Yöntemi

*I. heterolepis*'in uygun şekilde kurutulup toz edilmiş yaprak, çiçek ve köklerinden tam tartım alınmış; manyetik karıştırıcı yardımıyla 6 saat 50 °C'de 250 rpm'de metanol ile ekstrat edilmiştir. Elde edilen metanollü ekstratlar, pileli süzgeç kağıdından süzöldükten sonra; rotavapor yardımıyla çözücüsünden kurtarılmıştır.

Hazırlanan ekstrelerin uygun miktarları, fitokimyasal analizler ve aktivite testlerinde kullanılmıştır (Gökbulut, 2011).

### 2.2.1.2. İnce Tabaka Kromatografisi

Bitkinin yaprak, çiçek ve köklerinden, ekstraksiyon yöntemine uygun olarak hazırlanan ekstreler; fitokimyasal içeriklerinin belirlenebilmesi için Kieselgel 60 F<sub>254</sub> adsorbanla kaplanmış hazır plaklara (10x10 ve 20x20cm) tatbik edilmiştir. Ekstrelerin bileşiminde yer alan etkili bileşiklerin belirlenebilmesi için; plaklar farklı çözücü sistemlerinde sürüklenmiş, uygun revelatörler ile muamele edilmiştir. Bu amaçla flavonoidler için, UV 365 nm’de gösterdiği karakteristik yoğun floresans (turuncu-sarı, sarı-yeşil) sebebiyle NP/PEG 4000 tercih edilirken; terpenik bileşikler için görünür alanda belirgin kırmızı-mor renk veren Vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve Anisaldehit/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> revelatörleri tercih edilmiştir (Wagner ve Bladt, 2001). Analizler sırasında kullanılan çözücüler (Merck, Riedel-de Hæn) ve revelatörler **Çizelge 2.**'de verilmiştir.

**Çizelge 2.** TLC’de Kullanılan Çözücü Sistemleri ve Revelatörler

Çözücü Sistemi	Çözücü Bileşimi	Çözücü Oranları	Kullanılan Revelatörler
Çözücü Sistemi-I	Etil asetat:Glasiyel asetik asit:Formik asit:Su	(100:11:11:26)	Vanilin/H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> NP/PEG 4000
Çözücü Sistemi-II	Hekzan:Etil asetat	(8:2)	Anisaldehit/ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Vanilin/ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Çözücü Sistemi-III	Hekzan:Etil asetat	(7:3)	Anisaldehit/ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Vanilin/ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Çözücü Sistemi-IV	Hekzan:Etil asetat	(6:4)	Vanilin/ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Anisaldehit/ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>

### 2.2.1.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

HPLC'den yararlanarak yapılan analizlerde; bitkinin fitokimyasal içeriğinin belirlenebilmesi için geliştirdiğimiz yöntem kullanılmıştır. Bitkinin yaprak, çiçek ve köklerinden ayrı ayrı, tam tartım alınan 200 mg, ekstraksiyon yöntemine uygun şekilde, 10 ml HPLC saflığında metanol ile ekstre edilmiştir. Süzülen ekstre, metanol ile balon jodede 10 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra stok çözeltiden enjektör yardımıyla çekilen uygun miktar metanollü ekstre 0,45 µ filtreden süzölmüş ve HPLC sistemine enjekte edilmek üzere viallere aktarılmıştır. Hazırlanan metanollü ekstratlar; içeriğinin belirlenebilmesi amacıyla HPLC sistemine **Çizelge 3**'de belirtilen analiz koşullarında verilmiştir.

**Çizelge 3.** HPLC Analiz Koşulları

<b>Cihaz</b>	HP Agilent 1100 series LC sistemi
<b>Pompa</b>	HP Agilent 1100 series 4 (quaternary pump) LC pompa
<b>Kolon</b>	Phenomenex Luna 5 µm C18 (250 mm x 4,6 mm)
<b>Sıcaklık</b>	30° C (sıcaklık kontrollü)
<b>Akış hızı</b>	1 ml/dk
<b>Enjeksiyon ünitesi:</b>	HP Agilent 1100 series autosampler
<b>Enjeksiyon miktarı</b>	10 µl
<b>Elüsyon</b>	Gradient
<b>Çözücü sistemi</b>	% 0,1 oranında TFA içeren H <sub>2</sub> O (Çözücü A) % 0,1 oranında TFA içeren MeOH (Çözücü B) % 0,1 oranında TFA içeren ACN (Çözücü C)

HPLC analizlerinde; çözücü olarak uygun saflıkta bidistile su, metanol (Carlo Erba, 412722) ve asetonitril (Loba Chemie, 00017) kullanılmıştır. Çözücüler belirlenen miktar TFA (Trifluoroasetik asit, Sigma Aldrich, 302031) ilavesinden sonra, sonikatörde degaze edilerek sisteme verilmiştir. HPLC'de ekstratların uygun ayırımının gerçekleşebilmesi için; farklı çözücü sistemleri denenmiştir.

Analiz koşulları sabit tutularak denenen çözücü sistemleri arasında; çözücü sistemi-5'in en uygun ayırımı sağladığına karar verilmiştir. Çözücü sistemi-5'in çözücü kompozisyonu **Çizelge 4**'de verilmiştir.

Çözücü sistemi-1'de, çözücü kompozisyonu (A:B:C); 50:25:25 (35 dakika) olarak denenmiştir.

Çözücü sistemi-2'de, çözücü kompozisyonu (A:B:C); 80:10:10 (0. dakika), 60:25:15 (5. dakika), 50:30:20 (10. dakika), 40:40:20 (15. dakika), 0:75:25 (20. dakika) olarak denenmiştir.

Çözücü sistemi-3'de, çözücü kompozisyonu (A:B:C); 70:15:15 (0. dakika), 45:40:15 (20. dakika), 20:60:20 (25. dakika), 0:80:20 (30. dakika), 70:15:15 (35. dakika) olarak denenmiştir.

Çözücü sistemi-4'de, çözücü kompozisyonu (A:B:C); 90:5:5 (0. dakika), 85:10:5 (5. dakika), 75:15:10 (10. dakika), 65:20:15 (15. dakika), 50:30:20 (20. dakika), 20:60:20 (35. dakika), 90:5:5 (40. dakika) olarak denenmiştir.

**Çizelge 4.** HPLC'de Kullanılan Çözücü Sistemi-5

Zaman(dk)	Çözücü A % 0,1 TFA içeren H <sub>2</sub> O	Çözücü B % 0,1 TFA içeren MeOH	Çözücü C % 0,1 TFA içeren ACN
0	90	5	5
5	80	10	10
10	60	25	15
20	50	30	20
30	40	40	20
35	20	60	20
40	90	5	5

*Inula* türlerine ait literatür verileri incelenmiş; *I. heterolepis*'de olması muhtemel 28 fenolik bileşik standart olarak kullanılmıştır. Bitkiden hazırlanan metanollü ekstratlar ve standartlar; aynı koşullarda ard arda 3'er kez sisteme enjekte edilmiştir. Söz konusu analizler sonucu kaydedilen retansiyon zamanları ve UV spektrumları kıyaslanarak bitkinin fitokimyasal içeriği kalitatif olarak tayin edilmiştir.

## 2.2.2. Kantitatif Analizler

### 2.2.2.1. Total Fenol Miktar Tayini

*Inula heterolepis* bitkisinden hazırlanan ekstratların, total fenol miktarının belirlenmesi için; modifiye edilmiş bir Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Miktar tayini, bir ekstre için 3 seri halinde olacak şekilde yapılmıştır. Bitkinin yaprak, çiçek ve köklerinden ekstraksiyon yöntemine uygun hazırlanan ekstratlerden; ayrı ayrı tam tartım 20 mg alınmıştır. Etanol ile balon jodede 10 ml'ye tamamlanan 2 mg/ml konsantrasyondaki ekstratlar, sonikatör yardımıyla çözünmüştür.

Ayrı ayrı erlenlere 100'er µl alınan yaprak, çiçek ve kök ekstratlarına; 7900 µl distile su ve 500 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiş, vortekste karıştırılarak 30 saniye ile 8 dakika arası bekletilmiştir. Daha sonra karışıma, önceden hazırlanıp buzdolabında muhafaza edilmiş, 1500 µl % 20'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinden ilave edilmiş; final karışımı karanlıkta 2 saat bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda, test çözeltilerinin UV spektrofotometresinde 765 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri ölçülmüş; her bir test çözeltisi için ortalama değerler hesaplanarak sonuçlar kaydedilmiştir.

Sonuçların, referans bileşik gallik asit eşdeğeri olarak verilebilmesi için; öncelikle gallik asitin konsantrasyonu bilinen etanollü çözeltisinden hareket edilmiştir. Beş farklı konsantrasyonda gallik asit çözeltisinin hazırlanabilmesi için, belirlenen miktarlar mikropipet yardımıyla çekilip; 10 ml'lik balon jodelerde etanolla

tamamlanmıştır. Erlene aktarılan 100 µl karışım üzerine, 7900 µl su ve 500 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiş; vortekste karıştırılarak 8 dakika bekletilmiştir. Daha sonra karışıma, önceden hazırlanıp buzdolabında muhafaza edilmiş, % 20'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinden 1500 µl ilave edilmiş ve karanlıkta 2 saat bekletilmiştir. Sonra 5 farklı gallik asit çözeltisinin; UV spektrofotometresinde 765 nm dalga boyunda verdiği absorbans değerleri, dilüsyon derecelerine kıyaslanarak bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve bu eğriden hareketle bir doğru denklemi elde edilmiştir.

Test çözeltilerine ait absorbans değerleri; elde edilen doğru denkleminde yerine yazılarak, *I. heterolepis* yaprak, çiçek ve köklerinin içerdiği fenolik bileşiklerin total miktarı, mg gallik asit ekivalanı (GAE)/g kuru ekstre cinsinden tayin edilmiştir (Spiridon ve ark., 2011).

#### **2.2.2.2. Fenolik bileşiklerin HPLC ile Miktar Tayini**

Yapılan kalitatif analizler doğrultusunda, *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve kök ekstralarının bileşiminde yer aldığı belirlenen; çikoric asit, klorojenik asit, luteolin, kafeik asit, gallik asit, kemferol ve kersetinin miktar tayinleri yapılmıştır.

Eksternal standart yöntemi ile gerçekleştirilen analizler için; standartların uygun miktarları tam tartım alınarak, balon jojede HPLC saflığında metanol ile 10 ml'ye tamamlanmıştır. Stok çözeltilerden hareketle hazırlanan farklı 5 konsantrasyondaki standart çözeltiler, sisteme ardarda 3'er kez enjekte edilmiştir. Belli bir dalga boyunda kaydedilen, standartlara ait pik alanlarının ortalama değerleri hesaplanmıştır. Pik alanlarının, konsantrasyon değerleriyle kıyaslanması sonucu bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş; bu eğriden hareketle bir doğru denklemi elde edilmiştir.

Ekstrelerdeki piklere ait alan değerleri, elde edilen doğru denkleminde yerine yazılarak *I. heterolepis* yaprak, çiçek ve köklerinin içerdiği fenolik bileşiklerin miktarları tayin edilmiştir.

### **Çikoric Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi**

Çikoric asitten 1,1 mg tam tartım alınmış; balonjojede metanol ile 10 ml'ye tamamlanarak 0,11 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözülden hareketle; konsantrasyonları 0,00275 mg/ml, 0,0055 mg/ml, 0,011 mg/ml, 0,055 mg/ml ve 0,11 mg/ml olan farklı 5 çikoric asit çözeltisi hazırlanmıştır. Sisteme ardarda 3 kez 10 µl hacimde enjekte edilen çözümlerin konsantrasyon dereceleri (x) ile 330 nm dalga boyunda verdikleri pik alanlarının ortalaması (y) kullanılarak, bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden hareketle bir doğru denklemi ( $y=mx+n$ ) ve korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) elde edilmiştir. Değerler denklemde yerine konularak; *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinin içerdiği çikoric asit miktarı tayin edilmiştir.

### **Klorojenik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi**

Klorojenik asitten 10,3 mg tam tartım alınmış; balonjojede metanol ile 10 ml'ye tamamlanarak 1,03 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözülden hareketle; konsantrasyonları 0,00515 mg/ml, 0,02575 mg/ml, 0,05150 mg/ml, 0,1030 mg/ml ve 0,5150 mg/ml olan farklı 5 klorojenik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Sisteme ardarda 3 kez 10 µl hacimde enjekte edilen çözümlerin konsantrasyon dereceleri (x) ile 330 nm dalga boyunda verdikleri pik alanlarının ortalaması (y) kullanılarak, bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden hareketle bir doğru denklemi ( $y=mx+n$ ) ve korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) elde edilmiştir. Değerler denklemde yerine konularak; *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinin içerdiği klorojenik asit miktarı tayin edilmiştir.

### **Luteoline ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi**

Luteolinden 1 mg tam tartım alınmış; balonjojede metanol ile 10 ml'ye tamamlanarak 0,1 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözülden hareketle; konsantrasyonları 0,0025 mg/ml, 0,005 mg/ml, 0,01 mg/ml,



0,05 mg/ml ve 0,1 mg/ml olan farklı 5 luteolin çözeltisi hazırlanmıştır. Sisteme ardarda 3 kez 10 µl hacimde enjekte edilen çözeltilerin konsantrasyon dereceleri (x) ile 340 nm dalga boyunda verdikleri pik alanlarının ortalaması (y) kullanılarak, bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden hareketle bir doğru denklemi ( $y=mx+n$ ) ve korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) elde edilmiştir. Değerler denklemde yerine konularak; *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinin içerdiği luteolin miktarı tayin edilmiştir.

### **Kafeik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi**

Kafeik asitten 10,6 mg tam tartım alınmış; balonjojede metanol ile 10 ml'ye tamamlanarak 1,06 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden hareketle; konsantrasyonları 0,00106 mg/ml, 0,0106 mg/ml, 0,0265 mg/ml, 0,053 mg/ml ve 0,106 mg/ml olan farklı 5 kafeik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Sisteme ardarda 3 kez 10 µl hacimde enjekte edilen çözeltilerin konsantrasyon dereceleri (x) ile 330 nm dalga boyunda verdikleri pik alanlarının ortalaması (y) kullanılarak, bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden hareketle bir doğru denklemi ( $y=mx+n$ ) ve korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) elde edilmiştir. Değerler denklemde yerine konularak; *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinin içerdiği kafeik asit miktarı tayin edilmiştir.

### **Gallik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi**

Gallik asitten 10 mg tam tartım alınmış; balonjojede metanol ile 10 ml'ye tamamlanarak 1 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden hareketle; konsantrasyonları 0,001 mg/ml, 0,01 mg/ml, 0,025 mg/ml, 0,05 mg/ml ve 0,1 mg/ml olan farklı 5 gallik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Sisteme ardarda 3 kez 10 µl hacimde enjekte edilen çözeltilerin konsantrasyon dereceleri (x) ile 270 nm dalga boyunda verdikleri pik alanlarının ortalaması (y) kullanılarak, bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden hareketle bir doğru denklemi ( $y=mx+n$ ) ve korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) elde edilmiştir. Değerler denklemde

yerine konularak; *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinin içerdiği gallik asit miktarı tayin edilmiştir.

### **Kemferole ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi**

Kemferolden 1 mg tam tartım alınmış; balonjojede metanol ile 10 ml'ye tamamlanarak 0,1 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözülden hareketle; konsantrasyonları 0,0025 mg/ml, 0,005 mg/ml, 0,01 mg/ml, 0,05 mg/ml ve 0,1 mg/ml olan farklı 5 kemferol çözeltisi hazırlanmıştır. Sisteme ardarda 3 kez 10 µl hacimde enjekte edilen çözeltilerin konsantrasyon dereceleri (x) ile 360 nm dalga boyunda verdikleri pik alanlarının ortalaması (y) kullanılarak, bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden hareketle bir doğru denklemi ( $y=mx+n$ ) ve korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) elde edilmiştir. Değerler denklemde yerine konularak; *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinin içerdiği kemferol miktarı tayin edilmiştir.

### **Kersetine ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi**

Kersetinden 10 mg tam tartım alınmış; balonjojede metanol ile 10 ml'ye tamamlanarak 1 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözülden hareketle; konsantrasyonları 0,01 mg/ml, 0,025 mg/ml, 0,05 mg/ml, 0,1 mg/ml ve 0,4 mg/ml olan farklı 5 kersetin çözeltisi hazırlanmıştır. Sisteme ardarda 3 kez 10 µl hacimde enjekte edilen çözeltilerin konsantrasyon dereceleri (x) ile 360 nm dalga boyunda verdikleri pik alanlarının ortalaması (y) kullanılarak, bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden hareketle bir doğru denklemi ( $y=mx+n$ ) ve korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) elde edilmiştir. Değerler denklemde yerine konularak; *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinin içerdiği kersetin miktarı tayin edilmiştir.

### 2.2.2.3. LOQ ve LOD Değerlerinin Hesaplanması

LOD değeri hesaplanırken; miktar tayini yapılan tüm bileşikler için, S/N oranı 3 olarak hesaplanmıştır. LOQ değeri hesaplanırken ise; S/N oranı 10 olarak alınmıştır. Miktar tayini yapılan her bir bileşik için; LOD ve LOQ değerleri hesaplandıktan sonra, LOQ konsantrasyonlarında ardarda 9 kez enjeksiyon yapılmış ve LOQ konsantrasyonlarına karşılık gelen alanların % RSD değerleri de deneysel olarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ RSD} = (\text{SD}/\text{Mean}) \times 100$$

### 2.2.3. İzolasyon ve Yapı Tayini Çalışmaları

#### 2.2.3.1. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

İnce tabaka kromatografisi ile varlığı saptanan terpenik bileşiklerin izolasyonu için; preparatif ince tabaka kromatografisi tercih edilmiştir. 20x20 cm boyutunda cam plaklar; kalınlıkları 0,75 mm olacak şekilde silikajel GF<sub>254</sub> ile kaplanmış; 105 °C'lik etüvde 2 saat süreyle aktive edilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir. *I. heterolepis*'in topraküstü kısımlarından ekstraksiyon yöntemine uygun hazırlanan metanollü ekstre, kılcal boru yardımıyla plak üzerine bant şekilde uygunlanmıştır. Developman mesafesi 13 cm'e ayarlanmış; hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde sürüklenen plaklar tanktan çıkarılıp kurutulmuştur. Plakların üzerindeki lekeler, 254 nm ve 366 nm'de UV altında kontrol edilip; bileşiğin yeri işaretlenmiştir. Daha sonra plaklar, sol taraflarında 1cm'lik bir şerit açık kalacak şekilde kapatılmıştır. Açıkta kalan kısma, terpenikler bileşiklerin saptanabilmesi amacıyla kullanılan vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reaktifi püskürtülmüş; 110 °C'lik etüvde 5 dakika bekletilerek renkler belirginleştirilmiştir. Kuvvetli renk oluşumu gözlenen ve saf olduğundan şüphelenilen kırmızı renkli bir bant, bir spatül yardımıyla plaktan kazınmış; erlene

alınarak metanolde bir süre beletildikten sonra, pileli süzgeç kağıdından süzülerek silikajelinden arındırılmıştır. Metanollü kısmı çeker ocak altında uzaklaştırılan X bileşiği renkli şişede buzdolabında muhafaza edilmiştir.

### **2.2.3.2. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi**

Preparatif ince tabaka kromatografisiyle izole edilen ve saf olduğundan şüphelenilen X bileşiği, uygun saflıkta metanolde çözünerek Çözücü sistemi-5'de HPLC'ye uygulanmıştır. Analiz sonucunda bileşiğin retansiyon zamanı, standart olarak kullanılan bileşiklerle kıyaslanmıştır.

### **2.2.3.3. Ultraviyole Spektroskopisi**

İzolasyon çalışmalarıyla elde edilen X bileşiğinin yapı tayini için; HPLC-DAD kullanılarak belirlenen retansiyon zamanında, maksimum absorpsiyon gösterdiği dalga boyundaki UV spektrumundan yararlanılmıştır.

### **2.2.3.4 Infrared Spektroskopisi**

İzole edilen X bileşiğinin sahip olduğu fonksiyonel grupların; IR spektrumunda verdikleri karakteristik pikler yardımıyla saptanması planlanmıştır. Bu amaçla bileşiğin IR spektrumu, Agilent 4500 DialPath FTIR sisteminde alınmıştır. Bileşiğin karbontetraklorür ile hazırlanan çözeltisi, bir enjektör yardımıyla aletin sıvı numune ile çalışmak için hazırlanmış özel yüzeyine aktarılmış ve spektrumu alınmıştır.

## 2.3. Aktivite Testleri

### 2.3.1. Antioksidan Aktivite

*Inula heterolepis* bitkisinin antioksidan aktivitesi; DPPH radikal süpürücü aktivite ve ABTS yöntemleri kullanılarak in-vitro olarak test edilmiştir.

#### 2.3.1.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi

*Inula heterolepis* yaprak, çiçek ve köklerinden; ekstraksiyon yöntemine uygun olarak hazırlanan her bir metanollü ekstre için DPPH radikal süpürücü aktivite yöntemi 3 seri halinde uygulanmıştır. Bitki ekstratlarından, ayrı ayrı tam tartım 20 mg alınmış; balon jode metanol ile 10 ml'ye tamamlanmıştır. Ekstreler sonikatör yardımıyla çözünerek, 2 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltiler elde edilmiştir. Stok çözeltilerden hareketle; her bir ekstre için konsantrasyonları 2 mg/ml, 1,5 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml ve 0,25 mg/ml olan 5 farklı çözelti elde edilmiştir.

Pembe-mor renkli bir bileşik olan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazin) radikalinden 15 mg tam tartım alınmış; amber renkli bir şişede, 500 ml HPLC saflığında metanol ile muamele edilmiştir. Sonikatör yardımıyla iyice karıştırılan DPPH çözeltisi, buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Hazırlanan çözeltinin UV spektrofotometresinde 517 nm'de verdiği absorbans; 0,7 ile 0,8 arasında bir değer almaya kadar sistem metanol ile dilue edilmiştir. DPPH final çözeltisinin verdiği absorbans değeri  $A_0$  olarak kaydedilmiştir.

Daha sonra her bir ekstre için; 250  $\mu$ l örneğe 2750  $\mu$ l DPPH final çözeltisi ilave edilmiş; uygun büyüklükte bir tüpte hafifçe çalkanarak karıştırılmıştır. Reaksiyonun gerçekleşmesi için; tüpler 10 dakika boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra her bir karışımın, UV spektrofotometresinde 517 nm'de verdiği absorbans değeri kaydedilmiştir.

Reaksiyon sonucunda, DPPH radikali antioksidandan bir proton alarak renksiz  $\alpha,\alpha$ -difenil- $\beta$ -pikrilhidrazin molekülüne dönüşürken; pembe-mor renk açılır. Rengin şiddetindeki azalmaya bağlı olarak DPPH radikali % inhibisyon derecesi belirlenmiştir.

$$\text{DPPH Radikal \% İnhibisyon} = [ ( A_0 - A_1 ) / A_0 ] \times 100$$

**A0:** DPPH çözeltisinin reaksiyon öncesi 517 nm'de okunan absorbans değeri

**A1:** DPPH çözeltisinin reaksiyon sonrası 517 nm'de okunan absorbans değeri

Ekstrelerin, her bir konsantrasyon derecesi için; DPPH radikali % inhibisyon derecesi ve IC<sub>50</sub> değeri hesaplanmış; sonuçlar referans çözeltiden elde edilen verilerle kıyaslanarak yorumlanmıştır.

Referans bileşik olarak seçilen kafeik asitten hazırlanan stok çözeltiden hareketle 0,125 mg/ml, 0,075 mg/ml, 0,025 mg/ml ve 0,01 mg/ml konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmıştır. Çözeltilerin; UV spektrofotometresinde 517 nm'de verdiği absorbans değeri kullanılarak, % inhibisyon ve IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır.

### 2.3.1.2. TEAC/ABTS Yöntemi

*Inula heterolepis* yaprak, çiçek ve köklerinden ekstraksiyon yöntemine uygun olarak hazırlanan her bir metanollü ekstre için; ABTS yöntemi 3 seri halinde uygulanmıştır. Bitki ekstratlarından, ayrı ayrı tam tartım 15 mg alınmış; balon jode metanol ile 10 ml'ye tamamlanmıştır. Ekstreler sonikatör yardımıyla çözünerek, 1,5 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltiler elde edilmiştir. Stok çözeltiden hareketle; her bir ekstre için konsantrasyonları 1,5 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml ve 0,125 mg/ml olan 5 farklı çözelti elde edilmiştir.

Yöntemde 7mM ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonikasit)'nin mavi-yeşil renkli  $ABTS^+$  radikaline oksitlenebilmesi için; bileşiğin distile sudaki çözeltisine 2,45 mM  $K_2S_2O_8$  (potasyum persülfat) ilave edilmiştir. Bu amaçla, ABTS bileşiğinden tam tartım 20 mg alınmış; 3,67 mg  $K_2S_2O_8$  ve 5,55 ml distile su ile sonikatörde iyice karıştırılmıştır. Amber renkli bir şişede muhafaza edilen çözelti; reaksiyonun gerçekleşebilmesi için karanlıkta, oda sıcaklığında, 16 saat süreyle bekletilmiştir.

Hazırlanan çözeltinin UV spektrofotometresinde 734 nm'de verdiği absorbans; 0,7 ile 0,8 arasında bir değer almaya kadar sistem metanol ile dilue edilmiştir. ABTS final çözeltisinin verdiği absorbans değeri  $A_0$  olarak kaydedilmiştir.

Daha sonra her bir ekstre için, 250  $\mu$ l örneğe 2750  $\mu$ l ABTS final çözeltisi ilave edilmiş; uygun büyüklükte bir tüpte hafifçe çalkanarak karıştırılmıştır. Reaksiyonun gerçekleşmesi için; tüpler 6 dakika boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra her bir karışımın, UV spektrofotometresinde 734 nm'de verdiği absorbans değeri kaydedilmiştir.

Reaksiyon sonucunda oluşan  $ABTS^+$  radikal kationunun; antioksidan ile reaksiyona girmesi sonucu mavi-yeşil renk açılır. Rengin şiddetindeki azalmaya bağlı olarak; ABTS radikali % inhibisyon derecesi belirlenmiştir.

$$ABTS \text{ Radikal } \% \text{ İnhibisyon} = [ ( A_0 - A_1 ) / A_0 ] \times 100$$

**A0:** ABTS çözeltisinin reaksiyon öncesi 734 nm'de okunan absorbans değeri

**A1:** ABTS çözeltisinin reaksiyon sonrası 734 nm'de okunan absorbans değeri

Ekstrelerin her bir konsantrasyon derecesi için, ABTS radikali % inhibisyon derecesi ve IC<sub>50</sub> değeri hesaplanmış; sonuçlar referans çözeltilerden elde edilen verilerle kıyaslanarak yorumlanmıştır.

Referans bileşik olarak seçilen kafeik asit ve trolokstan hareketle stok çözeltiler hazırlanmıştır. Kafeik asitten hazırlanan stok çözeltiden hareketle; 0,05 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,02 mg/ml, 0,01 mg/ml ve 0,04 mg/ml konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmıştır. Çözeltilerin, UV spektrofotometresinde 734 nm’de verdiği absorbans değeri kullanılarak, % inhibisyon ve IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır.

Trolokstan hazırlanan stok çözeltiden hareketle; 0,05 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,025 mg/ml, 0,0125 mg/ml ve 0,00625 mg/ml konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmıştır. Çözeltilerin; UV spektrofotometresinde 734 nm’de verdiği absorbans değeri kullanılarak, % inhibisyon ve IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır.

### 2.3.2. Antimikrobiyal Aktivite

*I. heterolepis*’in yaprak, çiçek ve köklerinden ekstraksiyon yöntemine uygun olarak hazırlanan metanollü ekstrelerin antimikrobiyal aktivite tayinleri; “Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)” tarafından tavsiye edilen agar dilüsyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir (CLSI, 2002, CLSI, 2006). Antimikrobiyal aktivite tayininde; American Type Culture Collection (ATCC) Rockville, MD tarafından elde edilen bakteri ve mantar suşlarından yararlanılmıştır. Kullanılan mikroorganizmalar aşağıda verilmiştir.

Antibakteriyel aktivite için;

#### Gram-pozitif bakteriler

*Staphylococcus aureus* ATCC 29213,

*Enterococcus faecalis* ATCC 29212

#### Gram-negatif bakteriler

*Escherichia coli* ATCC 25922,

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



Antifungal aktivite için;

*Candida albicans* ATCC 10231,

*Candida tropicalis* ATCC 13803

Her bir ekstre, standart bakteri ve maya suşlarına karşı test edilerek; minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerleri elde edilmiştir. Bakteri suşları, Muller Hinton Broth (Merck) besiyerinde; mantar suşları ise, RPMI 1640 Broth (Sigma-Aldrich Chemie GmbH Taufkirchen, Germany) besiyerinde üretilmiştir. Standart inokulum elde etmek için; bakteri ve mantarların bulanıklığı Mcfarland 0,5 standardına göre hazırlanmıştır (Hindler, 1992).

Bütün ekstrelerin çözeltileri DMSO (dimetil sülfoksit) kullanılarak hazırlanmış; seyreltmeler için distile su kullanılmıştır. Bitkinin çeşitli kısımlarından hazırlanan ekstrelerin konsantrasyon dereceleri; 800 µg/mL, 400 µg/mL, 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL ve 6,25 µg/mL olarak belirlenmiştir.

Flukonazol mantarlar için, Ampisilin, Siprofloksasin ve Amikasin bakteriler için standart bileşik olarak kullanılmıştır. Bakteri ve mantarların ( $10^6$  CFUs/mL) standart inokulumları; steril plastik halka uçlu öze ile (0,01 ml) agar plaklarına ekilmiştir. Ekim yapılan tüm plaklar; 35 °C'lik etüvde bakteriler için 16-20 saat, mantarlar için 48 saat bekletildikten sonra sonuçlar değerlendirilmiştir. Bakteri ve mantarların çoğalmasını önleyen en düşük derişimleri minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) olarak belirlenmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. *Inula heterolepis*'den Elde Edilen Ekstreler

*Inula heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinden ekstraksiyon yöntemine uygun olarak hazırlanan metanollü ekstreler; yüksek basınçlı sıvı kromatografisi analizleri, total fenol miktarının tayini, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerin tayininde kullanılmıştır. Ayrıca ince tabaka kromatografisinde kullanılmak üzere bitkinin topraküstü kısımlarından da metanollü bir ekstre hazırlanmıştır. *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek, kök ve topraküstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrelerin miktarları ve yüzde verimleri **Çizelge 5**'de verilmiştir.

**Çizelge 5.** *I. heterolepis*'den elde edilen ekstrelerin verimleri ve miktarları

	Bitki Kısımları	Kuru Bitki Miktarı (g)	Ekstre Miktarı (g)	Verim(%)
<i>I. heterolepis</i> (MeOH)	Yaprak	5	0,4146	8,292
	Çiçek	5	0,1948	8,466
	Kök	20	0,6795	3,3975
	Toprak Üstü	5	0,4517	9,034

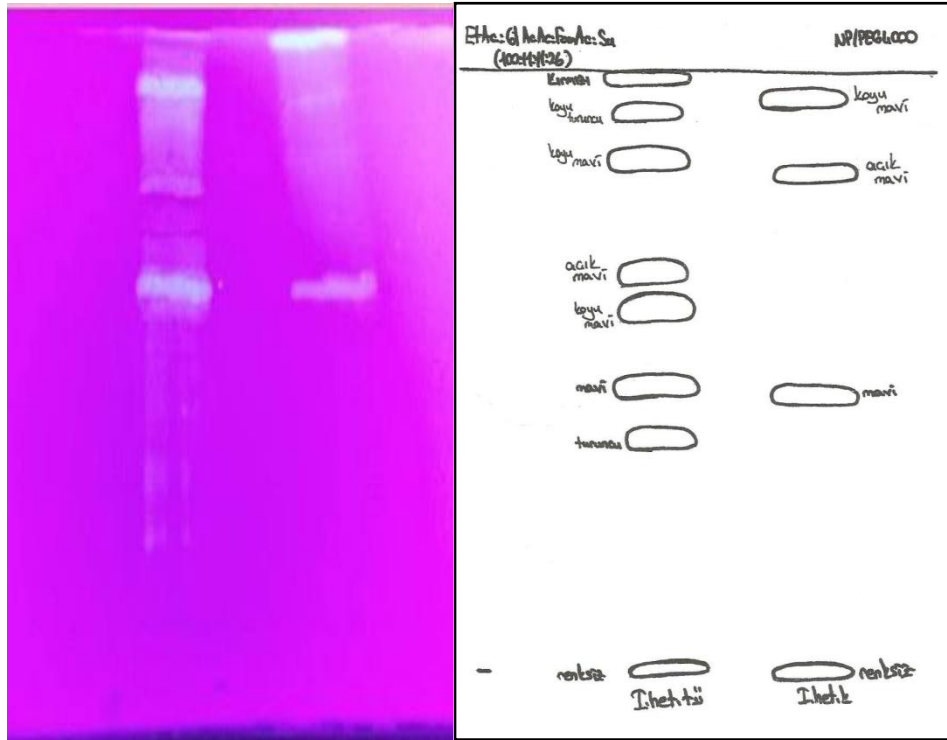
#### 3.2. *Inula heterolepis*'in İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi

Literatür verilerine göre *Inula* türlerinin fitokimyasal bileşimi genel olarak terpenik bileşikler ve flavonoidlerden oluşmaktadır. Bu bilgiler ışığında; tez kapsamında çalışılan *I. heterolepis* bitkisinin ince tabaka kromatografisiyle incelenmesinde, biyolojik açıdan etkili olan terpenik bileşikler ve flavonoidler üzerinde durulmuştur.

*I. heterolepis*'in çeşitli kısımlarından ekstraksiyon yöntemine uygun olarak hazırlanan metanollü ekstraktların terpenik bileşik ve flavonoid içeriklerinin belirlenebilmesi için, farklı çözücü sistemleri ve revelatörler denenmiştir.

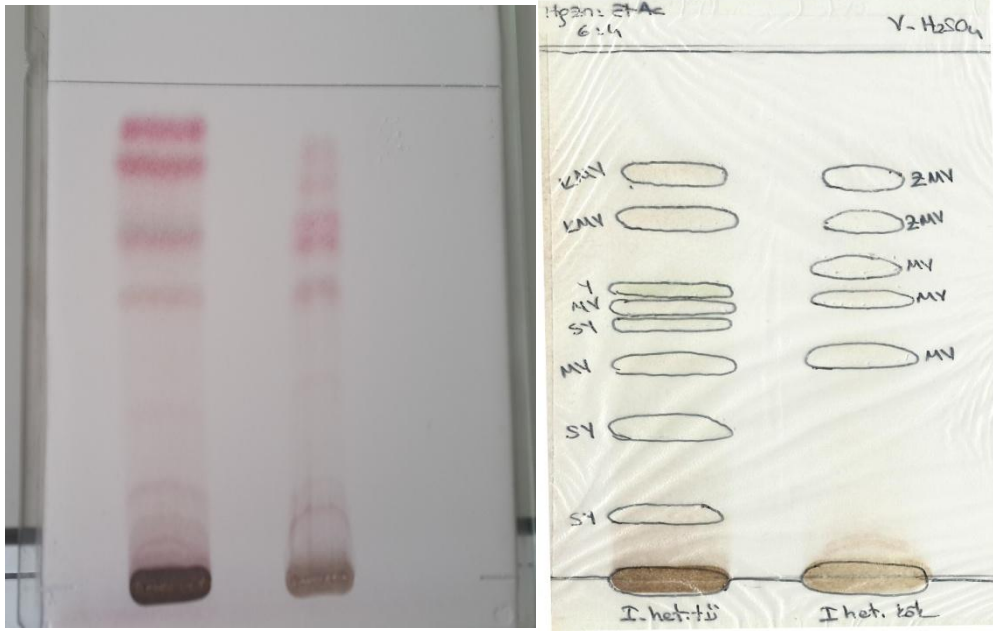
Bitkinin topraküstü kısmı ve köklerinden elde edilen metanollü ekstraktların tatbik edildiği plak, etil asetat:glasiyel asetik asit:formik asit:su (100:11:11:26) çözücü sisteminde sürüklenmiştir. Plâğın, Vanilin/H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> revelatörüyle iyi bir renklenme göstermediği belirlenmiştir.

Aynı çözücü sisteminde sürüklenen plaklar için, revelatör olarak bu kez NP/PEG 4000 kullanılmıştır; sonuçlar Şekil 4'de görülmektedir. Oluşan ayırımındaki renklerin belirginleşmesi sonucu ekstraktların flavonoid içeriğinin sınırlı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bitki kök ekstresinin flavonoid içeriğinin topraküstü ekstresine kıyasla daha zayıf olduğu ortaya çıkmıştır.



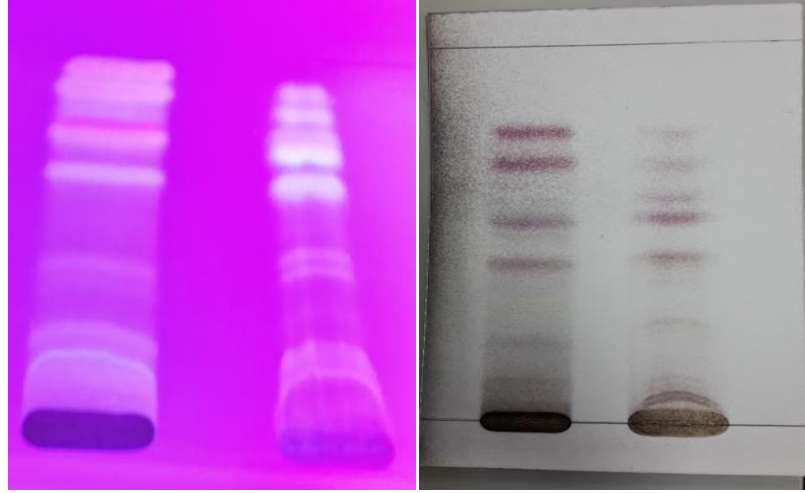
Şekil 4. Bitkinin topraküstü ve kök ekstraktlarının, NP/PEG 4000 ile muamelesi sonucunda UV 365nm'de TLC kromatogramı

Bitkinin topraküstü kısmı ve köklerinden elde edilen metanollü ekstrelerin tatbik edildiği plak, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde de sürüklenmiştir; sonuçlar **Şekil 5**'de görülmektedir. Plağın, revelatör olarak seçilen Vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> muamele edilmesi sonucunda; oluşan ayırımdaki renklerin belirginleşmesi sonucu, ekstrelerin terpenik bileşikler açısından oldukça zengin olduğu belirlenmiştir.



**Şekil 5.** Bitkinin topraküstü ve kök ekstrelerinin, Vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile muamelesi sonucunda görüntü alanda TLC kromatogramı

Aynı çözücü sisteminde sürüklenen plaklar için, revelatör olarak bu kez Anisaldehit/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kullanılmış; UV 365 nm'de incelenen analiz sonuçları **Şekil 6**'da verilmiştir. Oluşan ayırımdaki renklerin belirginleşmesi sonucu kök ekstresinin terpenik bileşik içeriğinin, topraküstü ekstresine benzer olduğu ve ekstrelerin terpenik bileşikler açısından zengin olduğu sonucuna varılmıştır.



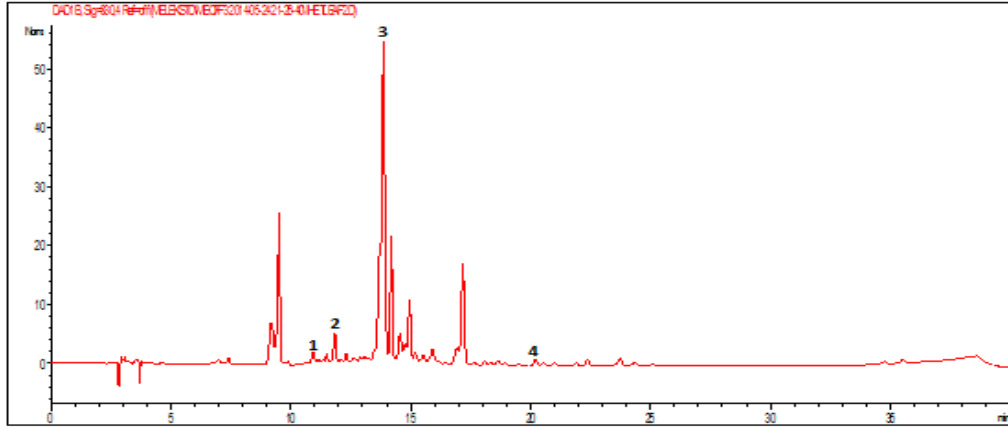
**Şekil 6.** Bitkinin topraküstü ve kök ekstralarının, Anisaldehit/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile muamelesi sonucunda UV 365nm'de ve görünür alanda TLC kromatogramı

### **3.3. *Inula heterolepis*'deki Bazı Fenolik Bileşiklerin Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Teşhisi**

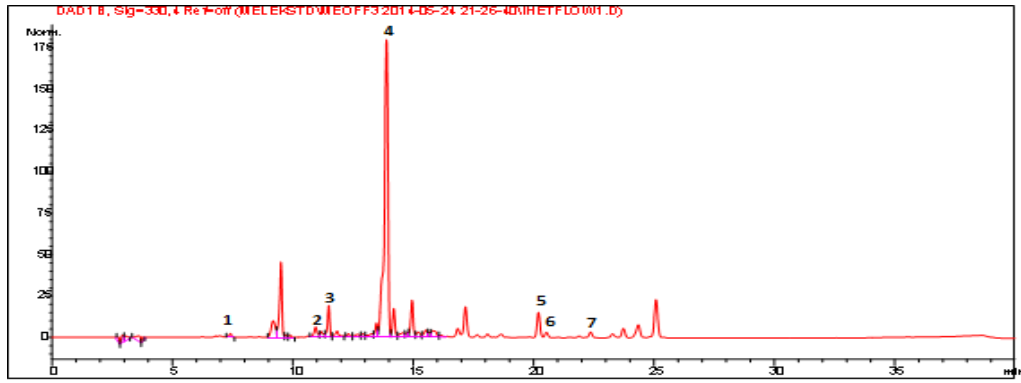
*Inula heterolepis*'in yaprak, çiçek ve kök ekstraları ile bitkide bulunması muhtemel fenolik bileşikler aynı koşullarda HPLC'de incelenmiştir. Ekstreler ve standart bileşiklere ait elde edilen retansiyon zamanları ve UV spektrumları kıyaslanmıştır; bitkinin fenolik içerik profili ortaya çıkarılmıştır.

Yapılan kalitatif analizler sonucunda, *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinin; çikoric asit, klorojenik asit, luteolin, kafeik asit, gallik asit, kemferol, kersetin bileşiklerini içerdiği ortaya konmuştur. *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve kök ekstralarının HPLC kromatogramları **Şekil 7**, **Şekil 8** ve **Şekil 9**'da verilmiştir.

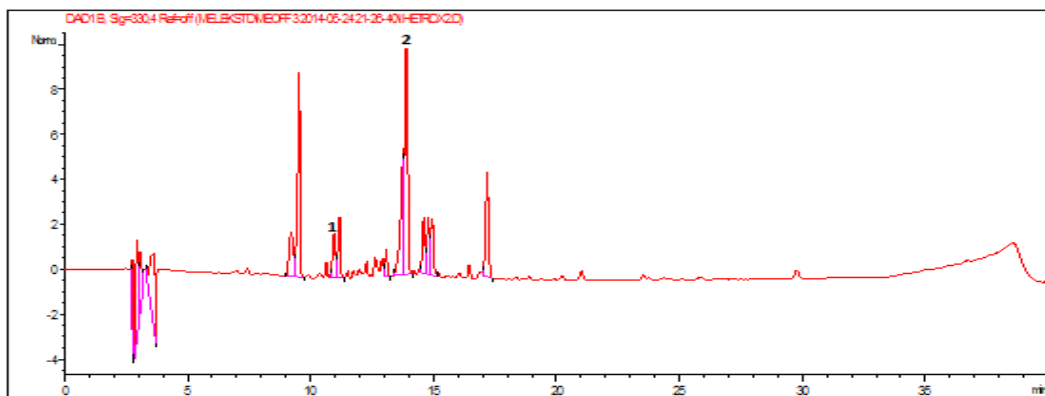
Miktar tayini yapılan fenolik bileşiklerin molekül formülleri ise **Şekil 10**'da yer almaktadır.



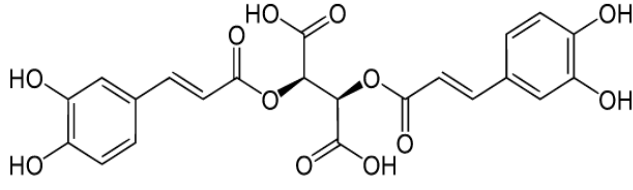
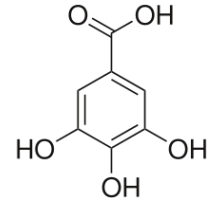
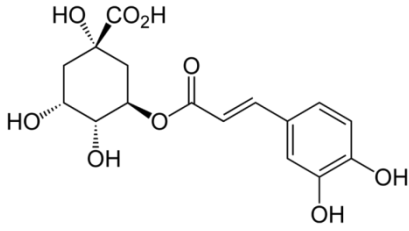
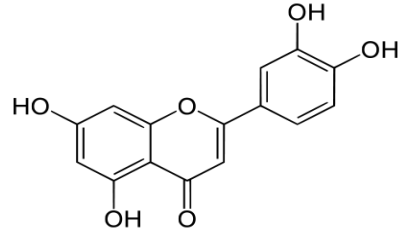
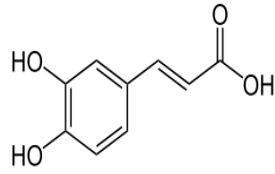
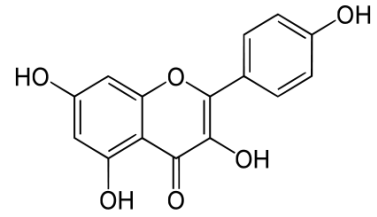
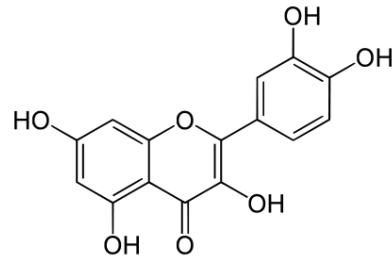
Şekil 7. *I. heterolepis* bitkisinin metanol ile hazırlanmış yaprak ekstresinin 330 nm'deki HPLC kromatogramı. Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2), Çikoric asit (3), Luteolin (4)



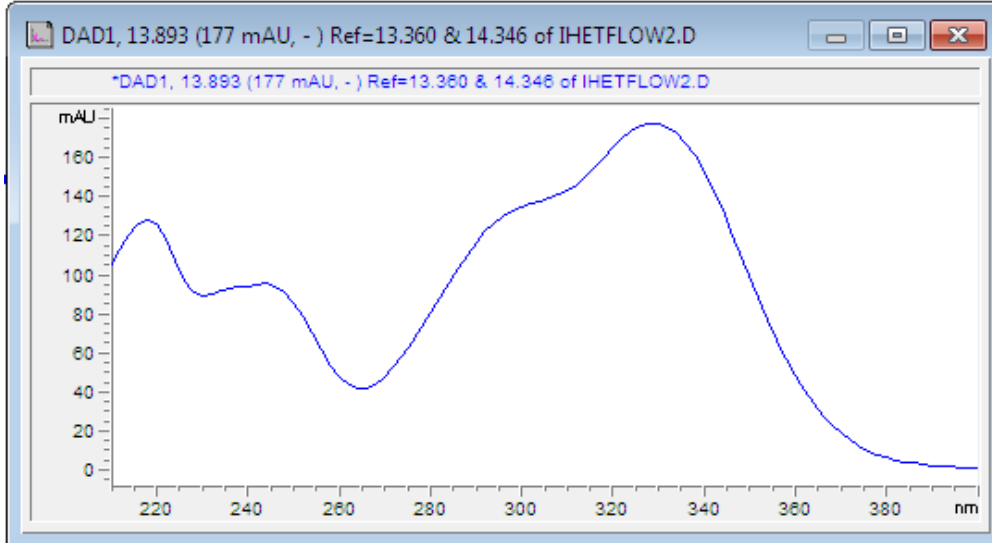
Şekil 8. *I. heterolepis* bitkisinin metanol ile hazırlanmış çiçek ekstresinin 330 nm'deki HPLC kromatogramı. Gallik asit (1), Klorojenik asit (2), Kafeik asit (3), Çikoric asit (4), Luteolin (5), Kersetin (6), Kemferol (7)



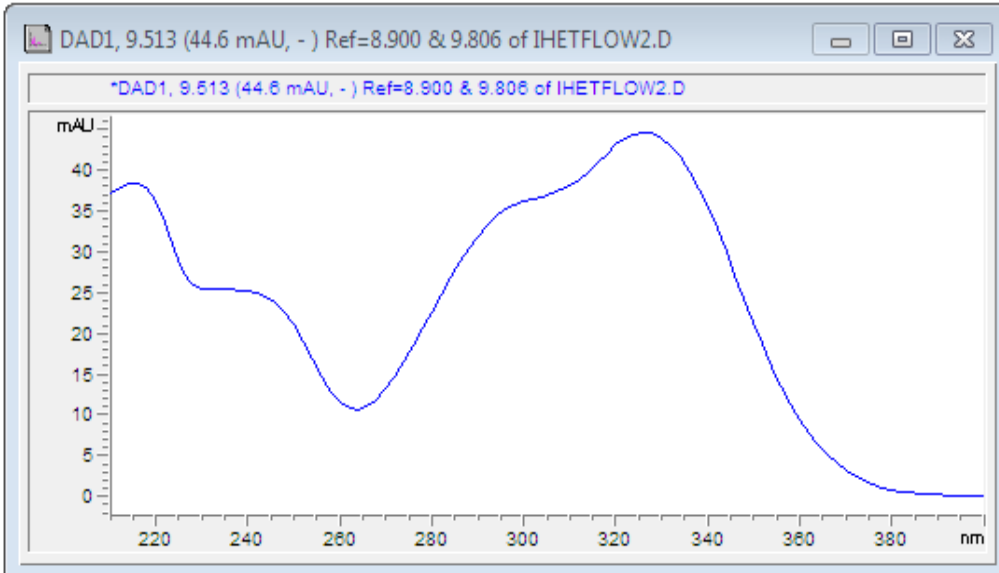
Şekil 9. *I. heterolepis* bitkisinin metanol ile hazırlanmış kök ekstresinin 270 nm'deki HPLC kromatogramı. Klorojenik asit (1), Çikoric asit (2)

**Çikoric asit****Gallik asit****Klorojenik asit****Luteolin****Kafeik asit****Kemferol****Kersetin****Şekil 10.** HPLC ile % miktar tayini yapılan fenolik bileşiklerin molekül formülleri

*I. heterolepis* ekstrlerinde, kalitatif olarak analiz edilen bileşiklerin, UV spektrumları aşağıda verilmiştir.

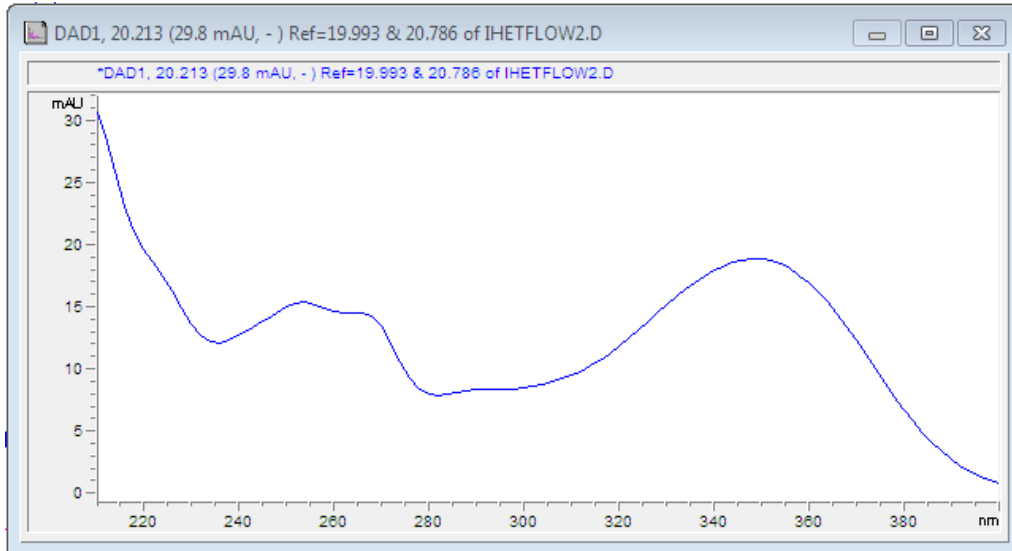


Şekil 11. *I. heterolepis* ekstrlerinde bulunan çikoric asitin UV spektrumu

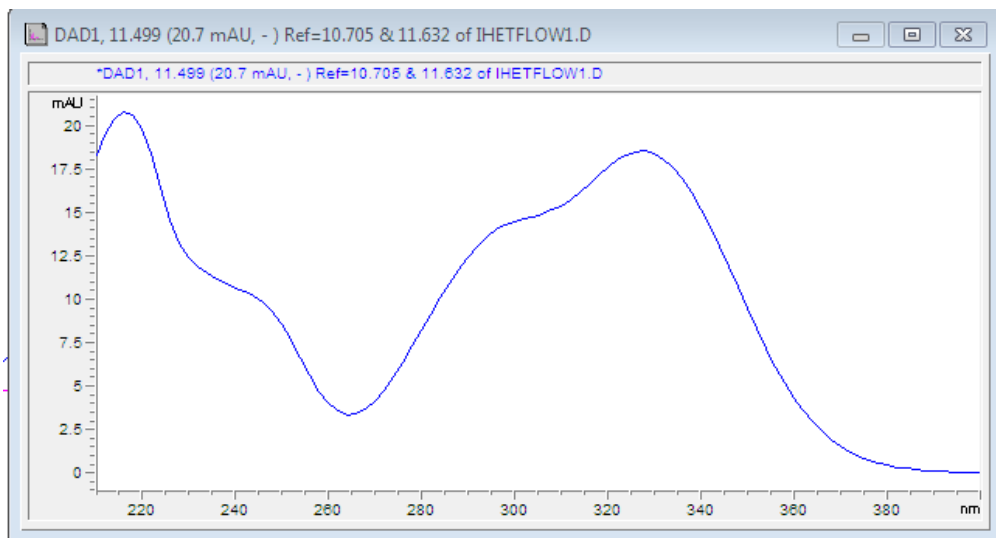


Şekil 12. *I. heterolepis* ekstrlerinde bulunan klorojenik asitin UV spektrumu

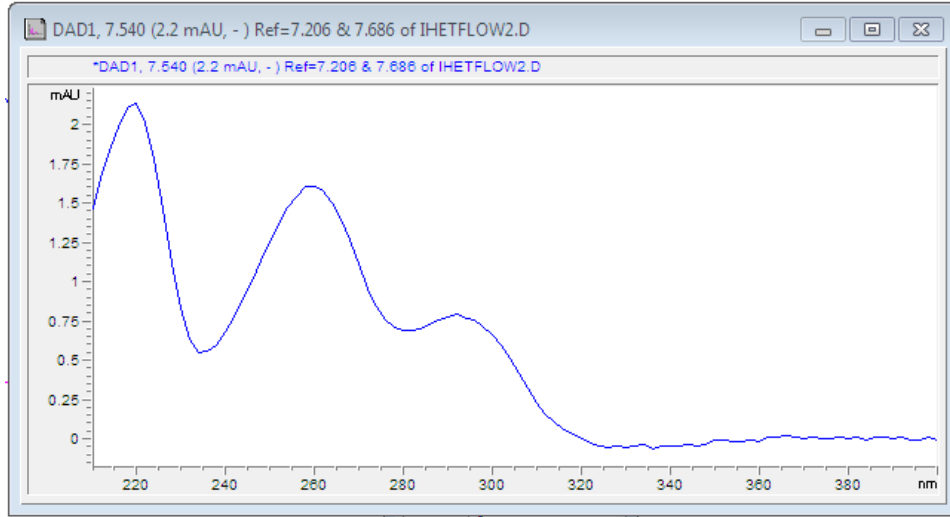




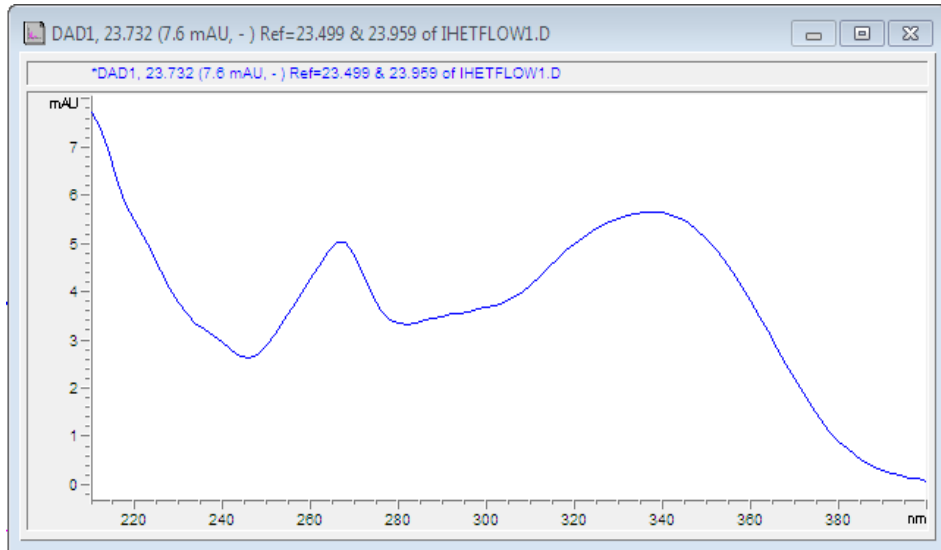
Şekil 13. *I. heterolepis* ekstrelerinde bulunan luteolinin UV spektrumu



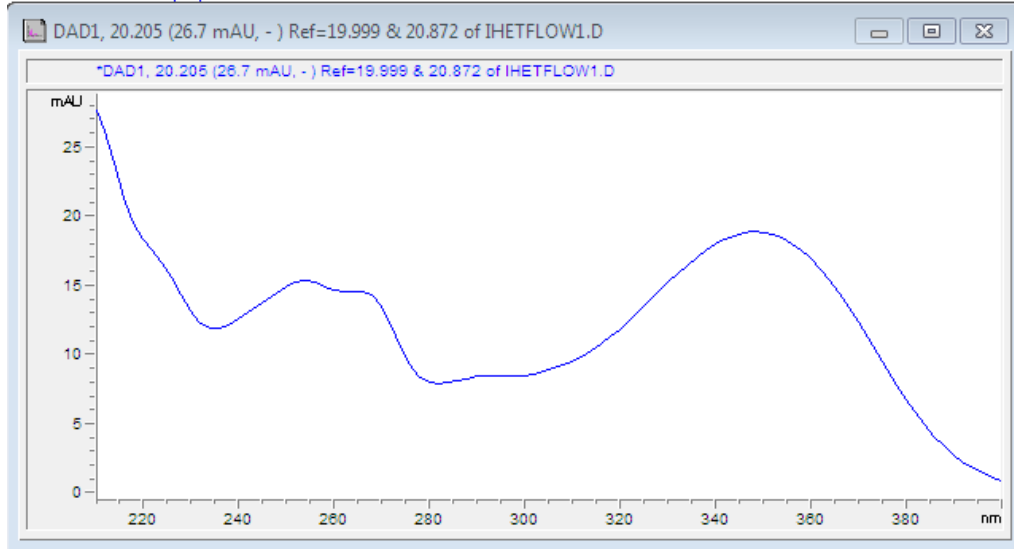
Şekil 14. *I. heterolepis* ekstrelerinde bulunan kafeik asitin UV spektrumu



Şekil 15. *I. heterolepis* ekstrlerinde bulunan gallik asitin UV spektrumu



Şekil 16. *I. heterolepis* ekstrlerinde bulunan kemferolün UV spektrumu



Şekil 17. *I. heterolepis* ekstrlerinde bulunan kersetinin UV spektrumu

### 3.4. Total Fenol Miktar Tayini Bulguları

*I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstrlerin, fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi amacıyla; total fenol miktar tayinleri yapılmıştır. Bitkinin yaprak, çiçek ve kök ekstrleri kullanılarak hazırlanan çözeltilerin; UV spektrofotometresinde 765 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri Çizelge 6'da verilmiştir.

Çizelge 6. *I. heterolepis*'in çeşitli kısımlarından elde edilen ekstrlerden hazırlanan çözeltilerin absorbans (Abs) değerleri

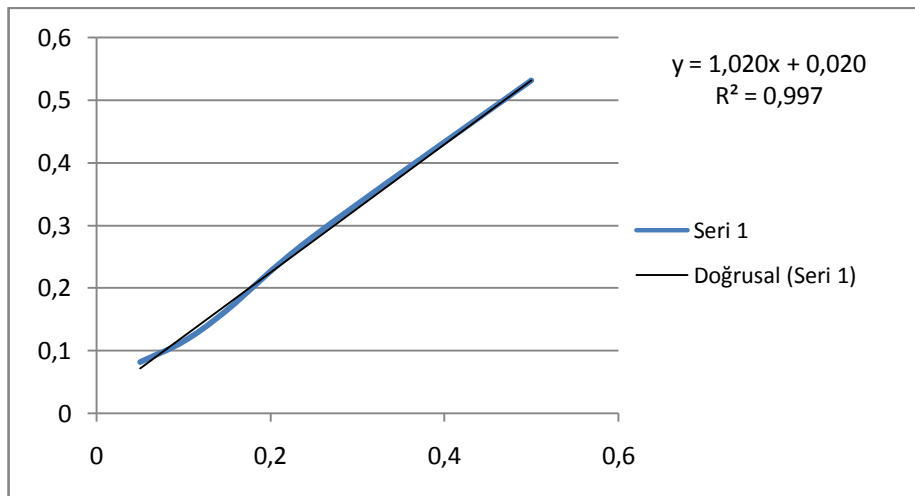
Ekstre	Abs. <sub>1</sub>	Abs. <sub>2</sub>	Abs. <sub>3</sub>	Abs. <sub>Ort</sub>
Yaprak (MeOH)	0,185	0,183	0,184	0,184
Çiçek (MeOH)	0,181	0,181	0,185	0,182333
Kök (MeOH)	0,086	0,082	0,092	0,086667

Analizde referans olarak kullanılan gallik asit stok çözeltisinden hazırlanan 5 farklı konsantrasyon değeri ve UV spektrofotometresinde 765 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri **Çizelge 7**'de verilmiştir.

Gallik asit çözeltilerinin, UV spektrofotometresinde 765 nm dalga boyunda verdiği absorbans değerleri; dilüsyon derecelerine kıyaslanarak bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve bu eğriden hareketle elde edilen doğru denklemi **Şekil 18**'de verilmiştir.

**Çizelge 7.** Gallik asit çözeltilerin absorbans (Abs) ve konsantrasyon (C) değerleri

C <sub>(mg/ml)</sub>	Abs. <sub>1</sub>	Abs. <sub>2</sub>	Abs. <sub>Ort</sub>
0,05	0,059	0,105	0,082
0,1	0,095	0,135	0,115
0,15	0,156	0,174	0,165
0,25	0,288	0,278	0,283
0,5	0,521	0,541	0,531



**Şekil 18.** Gallik asite ait kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi

Ekstre çözeltilerine ait absorpsan değerleri; elde edilen doğru denkleminde yerine yazılarak, mg gallik asit ekivalanı (GAE)/g kuru ekstre cinsinden tayin edilen *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinin total fenol miktarları **Çizelge 8**'de verilmiştir.

**Çizelge 8.** *I. heterolepis*'in kısımlarından elde edilen ekstrelerin total fenol miktarları

Ekstreler	C <sub>1</sub> (mg/ml)	C <sub>2</sub> (mg/ml)	C <sub>3</sub> (mg/ml)	C <sub>ort</sub> (mg/ml)	mgGAE/g ekstre
<b>Yaprak</b>	0,160822	0,158863	0,159842	0,159842	79,10 ± 1,13
<b>Çiçek</b>	0,156903	0,156903	0,160822	0,15821	79,92 ± 0,49
<b>Kök</b>	0,063838	0,059919	0,069716	0,064491	32,25 ± 2,47

### 3.5. *Inula heterolepis*'deki Bazı Fenolik Bileşiklerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Miktar Tayini

*I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve kök ekstrelerinde kalitatif analizi yapılan; çikoric asit, klorojenik asit, luteolin, kafeik asit, gallik asit, kemferol, kersetin bileşiklerinin miktarları tayin edilmiştir. Bileşiklerin kantitatif analizinde de; kalitatif analizde kullanılan parametrelerden yararlanılarak en uygun yöntem geliştirilmiştir. Bileşikler kolona sahip ters faz-HPLC ile analiz edilmiş; polaritelerinin yüksek oluşu nedeniyle daha iyi bir ayırım sağlayan çözücü sistemi-V tercih edilmiştir. Gradient elüsyon uygulanan mobil faz çözücülerine daha iyi bir rezolüsyon sağlamak için % 0,1 oranında TFA ilave edilmiştir. akış hızı 1 ml/dk olarak belirlenirken, kolon sıcaklığı analiz boyunca sabit kalacak şekilde 30 °C'ye ayarlanmıştır.

Bitkinin yaprak, çiçek ve kök ekstrelerindeki; çikoric asit, klorojenik asit, luteolin, kafeik asit, gallik asit, kemferol, kersetin bileşiklerinin belirlenen % miktarları **Çizelge 9**'da verilmiştir.

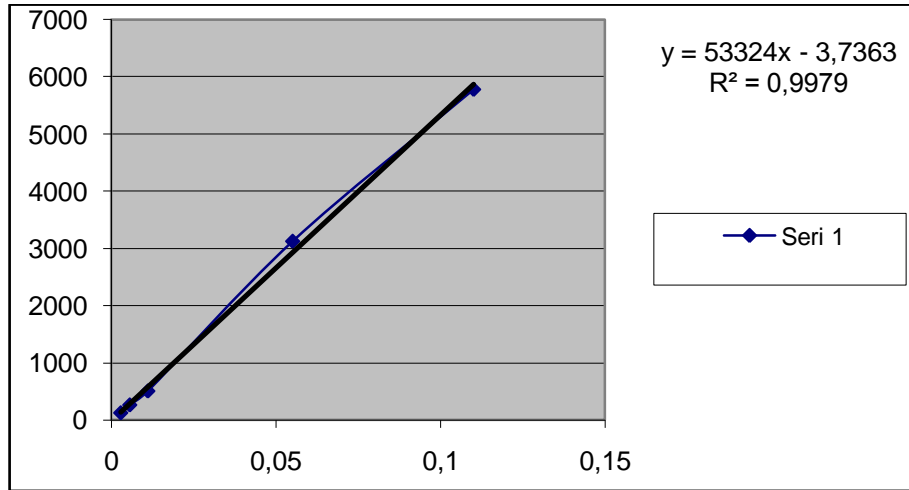
**Çizelge 9.** *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve kök ekstralarında saptanan fenolik bileşiklerin % miktarları

Ekstreler	Çikorik asit	Klorojenik asit	Luteolin	Kafeik asit	Gallik asit	Kemferol	Kersetin
<i>Inula heterolepis</i> yaprak	0,044± 0,0012	0,081± 0,0009	0,004± 0,0001	0,008± 0,0001	-	-	-
<i>Inula heterolepis</i> çiçek	0,158± 0,0012	0,131± 0,0001	0,022± 0,0003	0,012± 0,0002	0,012± 0,0001	0,006± 0,0002	0,001± 0,001
<i>Inula heterolepis</i> kök	0,007± 0,0001	0,007± 0,0008	-	-	-	-	-

### 3.5.1. Standartlara ait Kalibrasyon Eğrileri ve Doğru Denklemleri

#### Çikorik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Çikorik asite ait kalibrasyon eğrisi **Şekil 19**'da; konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması **Çizelge 10**'da; doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri ise **Çizelge 11**'de verilmiştir.



**Şekil 19.** Çikorik asite ait kalibrasyon eğrisi

**Çizelge 10.** Çikoric asite ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması

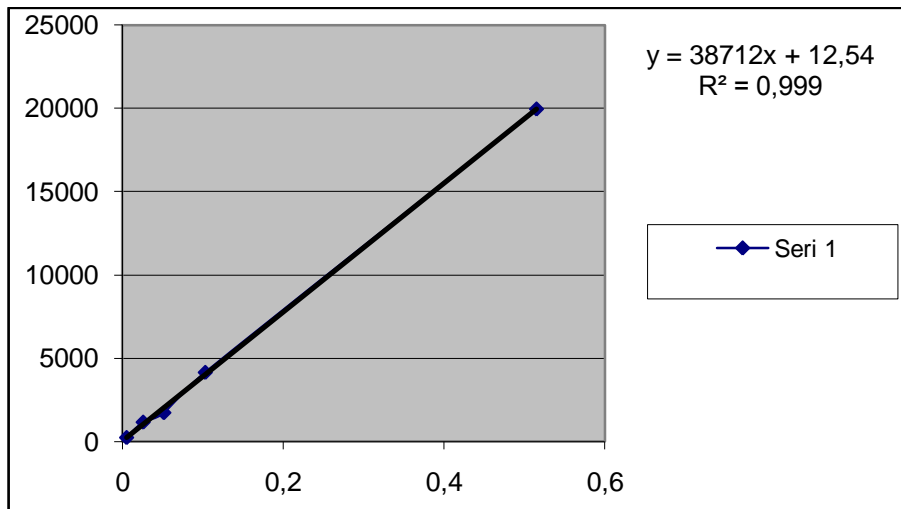
X (konsantrasyon mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,00275	101,5
0,0055	250,4
0,011	560,4
0,055	3124,5
0,11	5769,4

**Çizelge 11.** Çikoric asite ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri

Bileşik	Doğru Denklemi	$R^2$	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
Çikoric asit	$y=53324,11x-3,7363$	0,9979	0,000069	<b>0,000229</b>

### Klorojenik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Klorojenik asite ait kalibrasyon eğrisi **Şekil 20**'de; konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması **Çizelge 12**'de; doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri **Çizelge 13**'de verilmiştir.

**Şekil 20.** Klorojenik asite ait kalibrasyon eğrisi

**Çizelge 12.** Klorojenik asite ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması

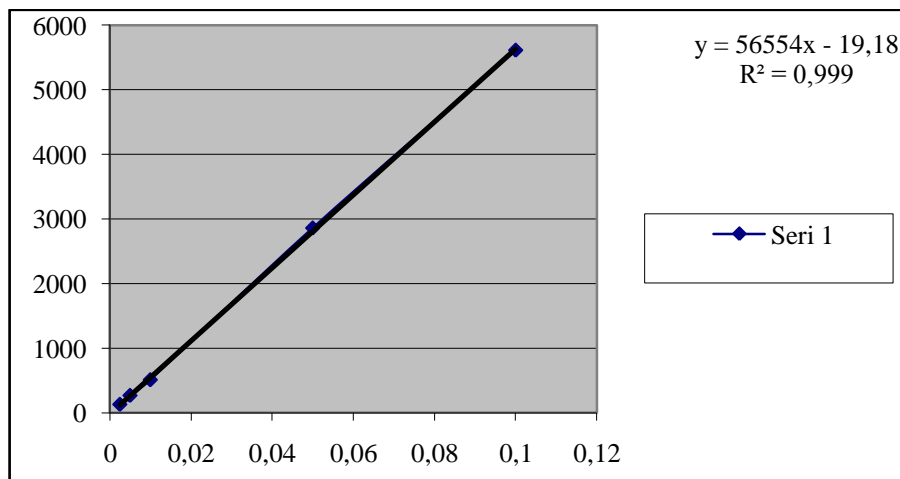
<b>X</b> (konsantrasyon mg/ml)	<b>Y</b> (pik alanları ortalaması, n=3)
0,00515	227,09
0,02575	1150,77
0,0515	1719,19
0,103	4136
0,515	19943,27

**Çizelge 13.** Klorojenik asite ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri

<b>Bileşik</b>	<b>Doğru Denklemi</b>	<b><math>R^2</math></b>	<b>LOD (mg/ml)</b>	<b>LOQ (mg/ml)</b>
<b>Klorojenik asit</b>	$y=38712x+12,54$	0,9996	0,000041	<b>0,000135</b>

### Luteoline ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Luteoline ait kalibrasyon eğrisi **Şekil 21**'de; konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması **Çizelge 14**'de; doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri **Çizelge 15**'de verilmiştir.

**Şekil 21.** Luteoline ait kalibrasyon eğrisi



**Çizelge 14.** Luteoline ait konsantrasyon değerleri ve pik alanları ortalaması

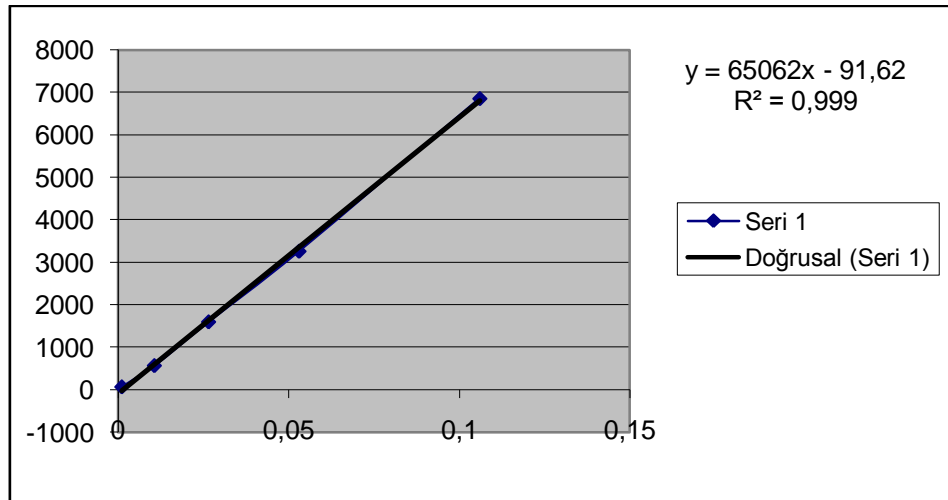
X (konsantrasyon mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,0025	128,13
0,005	266,18
0,01	508,74
0,05	2859,72
0,1	5614,05

**Çizelge 15.** Luteoline ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri

Bileşik	Doğru Denklemi	$R^2$	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
Luteolin	$y=56554x-19,181$	0,9998	0,000069	<b>0,000229</b>

### Kafeik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Kafeik asite ait kalibrasyon eğrisi **Şekil 22**'de; konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması **Çizelge 16**'da; doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri **Çizelge 17**'de verilmiştir.

**Şekil 22.** Kafeik asite ait kalibrasyon eğrisi

**Çizelge 16.** Kafeik asite ait konsantrasyon değerleri ve pik alanları ortalamaları

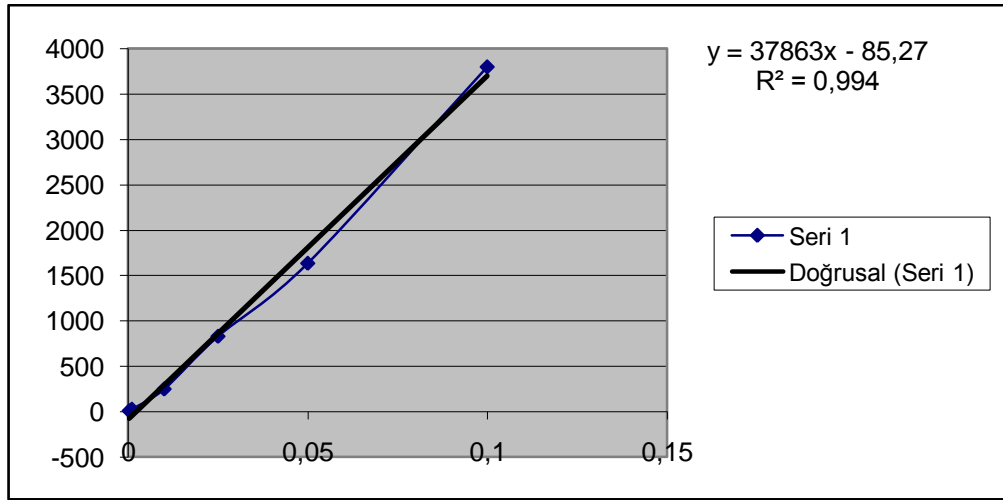
X (konsantrasyon mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,00106	71
0,0106	571,64
0,0265	1601,91
0,053	3264,61
0,106	6860,3

**Çizelge 17.** Kafeik asite ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri

Bileşik	Doğru Denklemi	$R^2$	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
<b>Kafeik asit</b>	$y=65062x-91,625$	0,9993	0,000017	<b>0,000057</b>

### Gallik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Gallik ait kalibrasyon eğrisi **Şekil 23**'de; konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması **Çizelge 18**'de; doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri **Çizelge 19**'da verilmiştir.

**Şekil 23.** Gallik asite ait kalibrasyon eğrisi

**Çizelge 18.** Gallik asite ait konsantrasyon değerleri ve pik alanları ortalaması

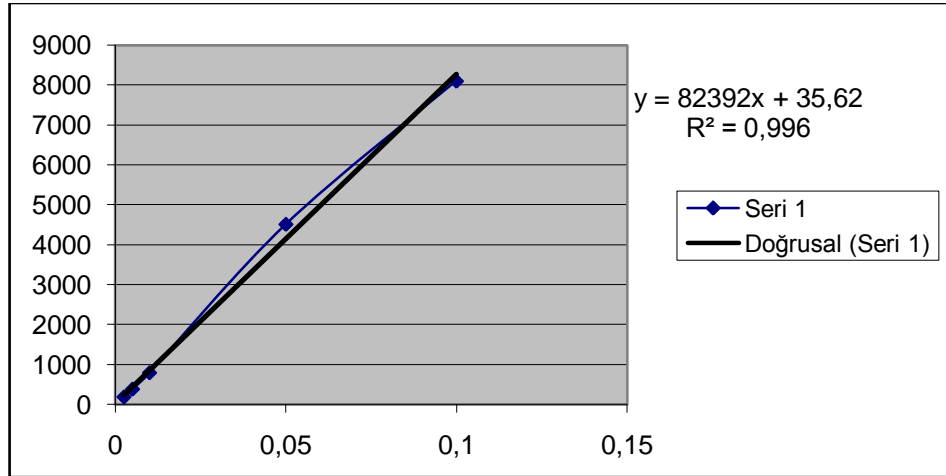
X (konsantrasyon mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,00024	6,7
0,001	24,37
0,01	246,73
0,025	828,35
0,05	1633,8
0,1	3800,1

**Çizelge 19.** Gallik asite ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri

Bileşik	Doğru Denklemi	$R^2$	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
Gallik asit	$y=37863x-85,27$	0,9948	0,000072	<b>0,00024</b>

### Kemferole ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Kemferole ait kalibrasyon eğrisi **Şekil 24**'de; konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması **Çizelge 20**'de; doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri **Çizelge 21**'de verilmiştir.

**Şekil 24.** Kemferole ait kalibrasyon eğrisi

**Çizelge 20.** Kemferole ait konsantrasyon değerleri ve pik alanları ortalaması

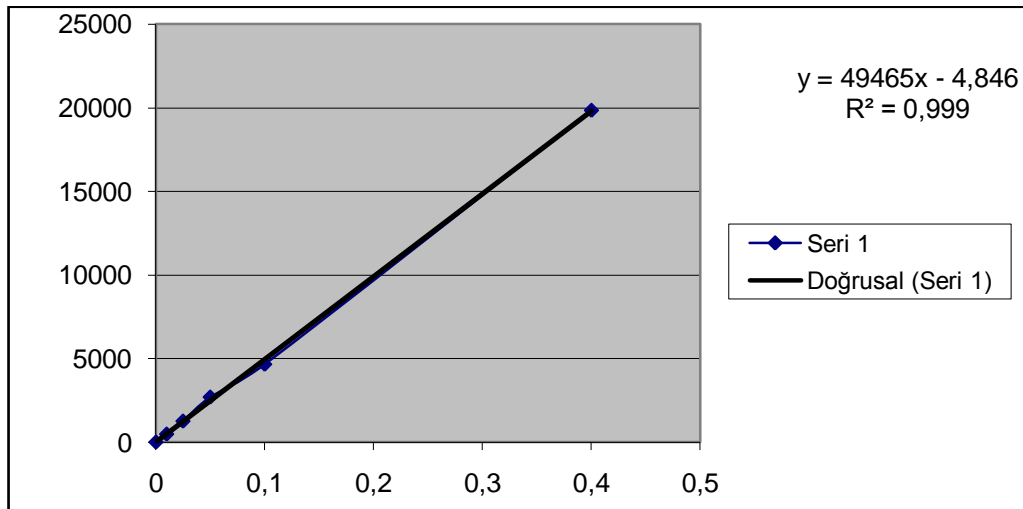
X (konsantrasyon mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,0025	184,97
0,005	380,51
0,01	791,68
0,05	4515,25
0,1	8106,32

**Çizelge 21.** Kemferole ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri

Bileşik	Doğru Denklemi	$R^2$	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
<b>Kemferol</b>	$y=82392x+35,628$	0,9964	0,000005	<b>0,000015</b>

### Kersetine ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Kersetine ait kalibrasyon eğrisi **Şekil 25**'de; konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması **Çizelge 22**'de; doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri **Çizelge 23**'de verilmiştir.

**Şekil 25.** Kersetine ait kalibrasyon eğrisi

**Çizelge 22.** Kersetine ait konsantrasyon değerleri ve pik alanları ortalaması

<b>X</b> <b>(konsantrasyon mg/ml)</b>	<b>Y</b> <b>(pik alanları ortalaması, n=3)</b>
0,000171	5,48
0,01	482,6
0,025	1257,06
0,05	2693,68
0,1	4654,01
0,4	19823,3

**Çizelge 23.** Kersetine ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı ( $R^2$ ), LOD ve LOQ değerleri

<b>Bileşik</b>	<b>Doğru denklemi</b>	<b><math>R^2</math></b>	<b>LOD (mg/ml)</b>	<b>LOQ (mg/ml)</b>
<b>Kersetin</b>	$y=49465x-4,8462$	0,9995	0,000051	<b>0,000171</b>

### 3.5.2. Standart Bileşiklerin LOQ Konsantrasyonlarındaki Alan Ortalamaları, Standart Sapma (SD) ve Bağıl Yüzde Standart Sapma (% RSD) Değerleri

*I. heterolepis*'in ekstrelerinin kantitatif analizi yapılırken kullanılan standartların LOQ konsantrasyonları belirlenmiş; bu değerlerde hazırlanan çözeltiler ardarda 9 kez HPLC'ye enjekte edilmiştir. Analiz sonucu elde edilen piklerin alanlarının ortalamaları, standart sapma değerleri ve bağıl yüzde standart sapma değerleri **Çizelge 24**'de verilmiştir.

**Çizelge 24.** Standartların LOQ konsantrasyonuna göre hazırlanan çözeltilerinin pik alanlarının ortalamaları, standart sapma değerleri ve bağıl yüzde standart sapma değerleri

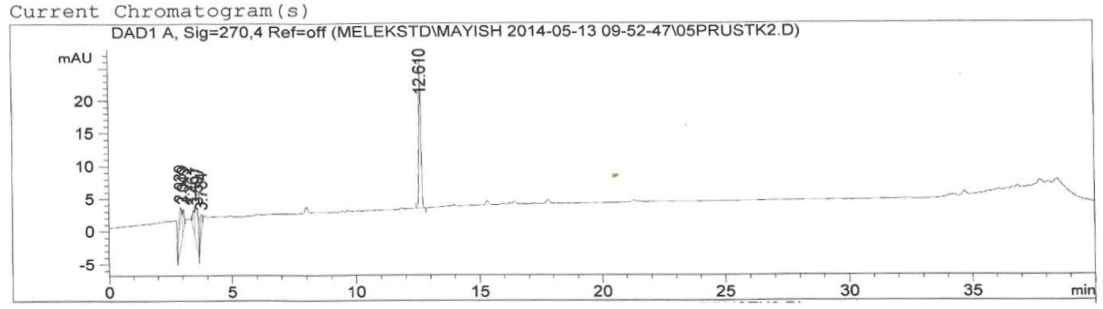
	<b>Çikoric asit</b>	<b>Klorojenik asit</b>	<b>Luteolin</b>	<b>Kafeik asit</b>	<b>Gallik asit</b>	<b>Kemferol</b>	<b>Kersetin</b>
<b>A<sub>ort</sub> (n=9)</b>	1,334444	3,598889	2,92	3,607778	6,703333	1,412222	5,482222
<b>SD</b>	0,122282	0,124844	0,039051	0,049694	0,112916	0,051424	0,105567
<b>% RSD</b>	9,16348	3,468969	1,337372	1,377399	1,684474	3,641365	1,925629

### 3.6. İzolasyon ve Yapı Tayini Çalışmalarına İlişkin Bulgular

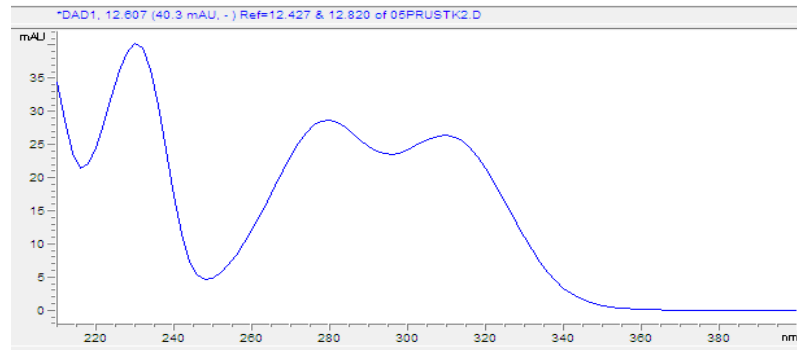
Preparatif ince tabaka kromatografisi kullanılarak; vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reaktifiyle yoğun kırmızı renk veren bant izole edilmiştir. İzole edilen maddenin yapısının aydınlatılabilmesi amacıyla; kromatografik ve spektroskopik yöntemlere başvurulmuştur. Preparatif ince tabaka kromatografisiyle izole edilen bileşik HPLC'ye uygulanmış; saf olduğu belirlenmiştir. Bu maddeye X bileşiği adı verilmiştir.

#### 3.6.1. İzole edilen X bileşiğinin HPLC Kromatogramı, UV ve IR Spektrumları

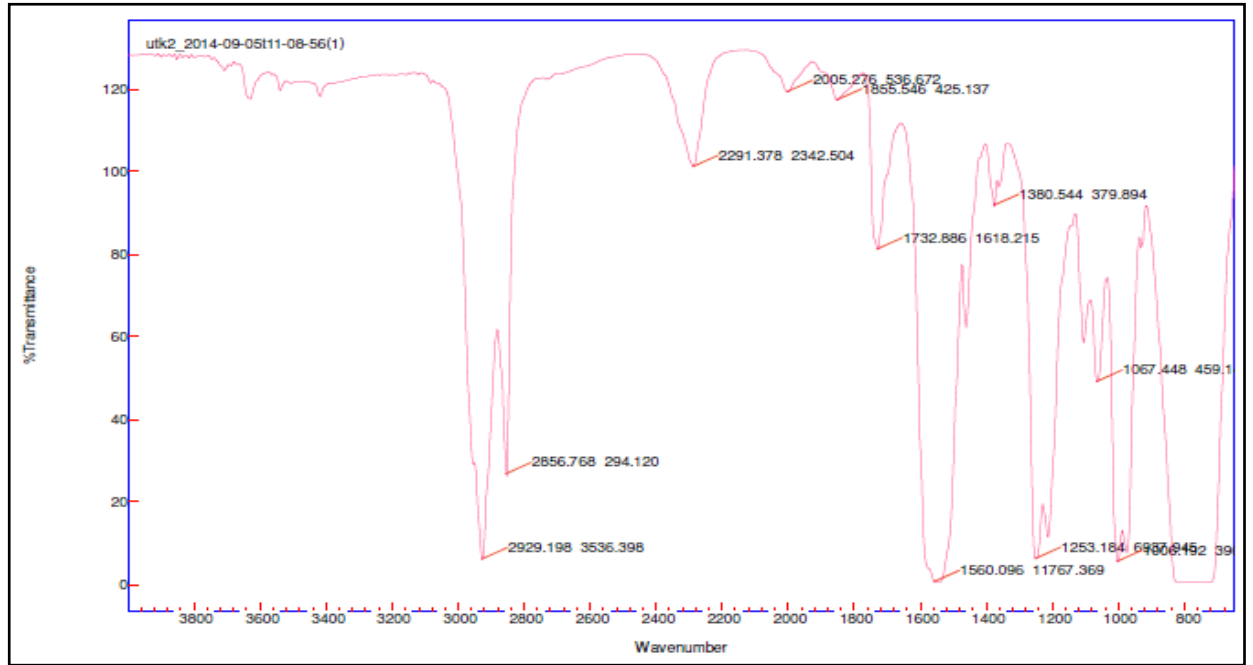
*I. heterolepis* bitkisinin topraküstü kısımlarının metanollü ekstresinden preparatif ince tabaka kromatografisiyle izole edilen X bileşiğinin; HPLC kromatogramı **Şekil 26**'da, UV spektrumu **Şekil 27**'de, IR spektrumu **Şekil 28**'de verilmiştir.



Şekil 26. İzole edilen X bileşiğin 270 nm'deki HPLC kromatogramı



Şekil 27. İzole edilen X bileşiğinin UV spektrumu



Şekil 28. İzole edilen X bileşiğinin IR spektrumu

### 3.7. Aktivite Testleri

#### 3.7.1. Antioksidan Aktivite

##### 3.7.1.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi

*I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinden elde edilen metanollü ekstrelerin; DPPH radikal süpürücü aktivite yöntemiyle elde edilen antioksidan aktivitelerine ait sonuçlar **Çizelge 25**'de verilmiştir.

**Çizelge 25.** *I. heterolepis* ekstrelerinin DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite bulguları

Ekstreler	Konsantrasyon (mg/ml)	% İnhibisyon	IC <sub>50</sub>
<i>I. heterolepis</i> yaprak	1	73,62205	0,615± 0,021
	0,5	44,007	
	0,25	26,50919	
<i>I. heterolepis</i> çiçek	1	85,52056	0,547± 0,024
	0,5	45,71304	
	0,25	27,16535	
<i>I. heterolepis</i> kök	1	32,97635	1,853± 0,015
	0,5	23,1593	
	0,25	15,5734	

Referans bileşik olarak seçilen kafeik asite ait bulgular **Çizelge 26**'da verilmiştir. Kafeik asit için IC<sub>50</sub> değeri 0,052 mg/ml bulunmuştur.

**Çizelge 26.** Kafeik asit için konsantrasyon ve % inhibisyon değerleri

Konsantrasyon (mg/ml)	% İnhibisyon	IC <sub>50</sub>
0,125	91,98056	0,051591± 0,00016
0,075	65,65411	
0,025	39,12515	
0,01	20,25111	



### 3.7.1.2. TEAC/ABTS Yöntemi

*I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinden elde edilen metanollü ekstrelerin TEAC/ABTS radikal süpürücü aktivite yöntemiyle elde edilen antioksidan aktivitelerine ait sonuçlar **Çizelge 27**'de verilmiştir.

**Çizelge 27.** *I. heterolepis* ekstrelerinin TEAC/ABTS yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite bulguları

Ekstreler	Konsantrasyon (mg/ml)	% İnhibisyon	IC <sub>50</sub>
<i>I. heterolepis</i> yaprak	0,5	74,6988	0,294± 0,007
	0,25	46,06426	
	0,125	28,31325	
<i>I. heterolepis</i> çiçek	0,5	87,89981	0,237± 0,010
	0,25	53,52601	
	0,125	32,44701	
<i>I. heterolepis</i> kök	1	82,98654	0,521± 0,022
	0,5	48,47001	
	0,25	31,45655	

Referans bileşik olarak seçilen kafeik asit ve troloks'a ait bulgular **Çizelge 28**'de verilmiştir. Kafeik asit için IC<sub>50</sub> değeri 0,031 mg/ml iken; troloks için 0,027 mg/ml bulunmuştur.

**Çizelge 28.** Kafeik asit ve Troloks için konsantrasyon ve % inhibisyon değerleri

	Konsantrasyon (mg/ml)	% İnhibisyon	IC <sub>50</sub>
<b>Kafeik asit</b>	0,05	73,86122	0,030578± 0,00087
	0,02	38,48446	
	0,01	22,86079	
<b>Troloks</b>	0,05	86,03661	0,02706± 0,00098
	0,025	47,63729	
	0,0125	27,07535	
	0,00625	16,04938	

### 3.7.2. Antimikrobiyal Aktivite

*I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinden elde edilen metanollü ekstraların test edilen Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler ve mayalara karşı sergiledikleri antimikrobiyal aktivite ve elde edilen minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) değerleri **Çizelge 29**'da verilmiştir.

**Çizelge 29.** *I. heterolepis* ekstralarının ve standart bileşiklerin MIC değerleri ( $\mu\text{g/ml}$ )

	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>
<b><i>I. heterolepis</i> Yaprak</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	200	<b>50</b>	<b>50</b>
<b><i>I. heterolepis</i> Çiçek</b>	200	200	<b>100</b>	200	<b>50</b>	<b>50</b>
<b><i>I. heterolepis</i> Kök</b>	400	400	800	800	400	400
<b>Ampisilin</b>	0,39	0,78	3,12	-	-	-
<b>Siprofloksazin</b>	-	-	-	3,12	-	-
<b>Flukanazol</b>	-	-	-	-	1,25	1,25
<b>Amikasin</b>	-	-	-	0,78	-	-

## TARTIŞMA

Geleneksel kullanımı çok eski tarihlere dayanan *Inula* türleri, başta Akdeniz ülkeleri olmak üzere Dünya'nın birçok yerinde geniş bir dağılım göstermektedir. Geleneksel tıp sistemleri ve farmakopelerde de yer aldığı belirlenen türlerin sahip oldukları antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuvar, antikanser, hepatoprotektif, sitotoksik ve benzeri etkiler sebebiyle halk arasında; hepatit, alerji, tümör, ülser, tüberküloz, öksürük, soğukalgınlığı, diyabet gibi çok çeşitli hastalıkların tedavisinde sıklıkla kullanıldıkları bilinmektedir. Yapılan farmakolojik çalışmalar da; türlerin geleneksel kullanımını destekler nitelikte olup; araştırmacıların *Inula* türlerine olan ilgisi gün geçtikçe artmaktadır. Asteraceae familyasında yer alan *Inula* cinsi ülkemizde 8'i endemik olmak üzere 34 takson ile temsil edilmektedir.

Tez konusunu oluşturan *Inula heterolepis* üzerinde yurtiçinde ve yurtdışında yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Bitki üzerinde yapılan kısıtlı çalışmalarla; halk arasında baş ağrısı, hemoroit, kısırlık tedavisinde ve iştah açıcı olarak kullanıldığı, topraküstü kısımlarında yer alan terpenik bileşiklerin germakronolit ve ödesmanolit tip seskiterpen laktonlar olduğu ve sulu ekstresinin farelerde alkolik hepatik hasara karşı kayda değer bir etki gösterdiği ortaya konmuştur (Bohlmann ve ark., 1982; Baytop, 1999; Saygı ve ark., 2003; Altundağ ve Öztürk., 2011; Polat ve Satıl, 2012).

Bu tez kapsamında; başta *I. heterolepis* olmak üzere *Inula* türlerine ilişkin son yıllara ait çalışmalar üzerinde durulmuş; bu amaçla bitkinin botanik özelliklerinin yanı sıra türlerin kullanılışları, fitokimyasal içerikleri ve biyolojik etkilerine dair literatür verileri kapsamlı bir şekilde derlenmiştir. Daha sonra, İç Anadolu bölgesinden toplanan *I. heterolepis*'in yaprak, çiçek ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstrelerin kalitatif ve kantitatif analizleri yapılmış; izole edilen bir bileşiğin de yapı aydınlatma çalışmalarına gidilmiştir. Bitkinin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri in-vitro yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Türkiye'de özellikle Akdeniz bölgesinde doğal olarak yetişen bu bitki türü üzerinde yaptığımız fitokimyasal içerik ve biyolojik etki çalışmalarının orijinallik teşkil ettiği açıktır.

*I. heterolepis*'in topraküstü kısmı ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstralar ince tabaka kromatografisi ile kalitatif olarak analiz edilmiştir. Analiz sonuçları bitkimizin başta monoterpenler, seskiterpenler olmak üzere terpenik bileşikler ve flavonoidleri içerdiğini ortaya koymuştur.

Bitkiden elde edilen ekstraların, modifiye Folin-Ciocalteu yöntemiyle saptanan total fenol miktarlarına göz atıldığında; bitkinin topraküstü kısımlarının total fenol içeriğinin köklerine kıyasla çok daha yüksek oranda olduğu belirlenmiştir. Topraküstü kısımlara ait ekstralarda ise; yaprak ve çiçek ekstralarının total fenol içeriğinin birbirine çok yakın olduğu ortaya çıkmıştır. Sonuçlar; Türkiye kaynaklı bazı *Inula* türlerinin çeşitli kısımlarından elde edilen metanollü ekstralarla aynı modifiye yöntem kullanılarak saptanan sonuçlarla kıyaslanmıştır. Sonuçlar **Çizelge 30**'da verilmiştir.

**Çizelge 30.** Türkiye Kaynaklı Bazı *Inula* Türlerinin Total Fenol Miktarları

Tür Adı	İncelenen Kısımlar (Metanollü Ekstre)	Total Fenol İçeriği (mgGAE/g ekstre)
<i>I. heterolepis</i>	Yaprak	79,92 ± 0,49
	Çiçek	79,10 ± 1,13
	Kök	32,25 ± 2,47
<i>I. viscosa</i>	Topraküstü	176,9 ± 7,8
	Kök	177,1 ± 3,6
<i>I. montbretiana</i>	Topraküstü	119,4 ± 7,4
	Kök	190,9 ± 6,1
<i>I. helenium subsp. turc.</i>	Topraküstü	189,6 ± 3,9
	Kök	21,1 ± 0,8

*I. heterolepis*'in total fenol içeriğinin; *I. viscosa*, *I. montbretiana*, *I. helenium subsp. turcoracemosa*'dan daha düşük miktarda olduğu kaydedilmiştir. Bu duruma; *I. helenium subsp. turcoracemosa* kök ekstresinin total fenol içeriğinin, *I. heterolepis* kök ekstresinden düşük oluşu istisnai bir durum oluşturmaktadır (Gökbulut ve ark., 2013).

*Inula* türlerine ait literatür verileri doğrultusunda, bitkide bulunması muhtemel 30'a yakın standart bileşik belirlenmiş; bitki yaprak, çiçek ve kök ekstraları geliştirilen yöntemle HPLC'ye uygulanmıştır. Ekstre ve standartlarla aynı gün ard arda yapılan kalitatif analizler sonucunda, retansiyon zamanları ve UV spektrumları kıyaslanmış; bitkinin çikoric asit, klorojenik asit, luteolin, kafeik asit, gallik asit, kemferol, kersetin bileşiklerini taşıdığı ortaya konmuştur. Önceki çalışmalarda Türkiye kaynaklı *Inula* türlerinde rastlanan apigenin, ferulik asit ve rutin'e *I. heterolepis*'in çeşitli kısımlarından elde edilen ekstralarda rastlanmamıştır.

En kısa sürede en iyi ayırımı yapmak amacıyla tarafımızdan geliştirilen ters faz-HPLC yöntemi ile söz konusu bileşiklerin yaprak, çiçek ve kök ekstralarındaki miktarları tayin edilmiştir. *I. heterolepis*'de yer alan fenolik bileşiklerin yaprak ve çiçek ekstralarındaki oranlarının, kök ekstrelerine kıyasla daha yüksek oluşu; total fenol miktar tayini sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Elde edilen sonuçlara göre; bitkinin tüm kısımlarında çikoric asit ve klorojenik asit yer almaktadır. Luteolin ve kafeik asite yaprak ve çiçek ekstralarında; gallik asit, kemferol ve kersetine ise sadece çiçek ekstralarında rastlanmıştır. Bitkinin çeşitli kısımlarında diğer bileşiklere kıyasla en yüksek oranda bulunan çikoric asit, *Inula* türlerinde ilk kez rapor edilmiştir. Çikoric asite dair literatür verileri incelendiğinde; aralarında *Inula* türlerinin de yer aldığı birkaç cins dışında, tüm Asteraceae familyası bitkilerinde yer aldığı belirlenmiştir (Lee ve ark., 2013).

İnce tabaka kromatogramlarında vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile yoğun kırmızı bant veren bileşiğin izolasyonu için preparatif ince tabaka kromatografisi kullanılmış; HPLC, UV ve IR gibi kromatografik ve spektroskopik yöntemler kullanılarak da yapısı araştırılmıştır. Saf olduğu belirlenen, C-C, C=O, C-H bağları taşıdığı saptanan beyaz, yağimsı formda X bileşiğinin yapı aydınlatması için yapılan çalışmalar, bu tezle sınırla kalmayıp devam edecektir.

*I. heterolepis* yaprak, çiçek ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstraların antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde; son yıllara ait çalışmalarda sıklıkla başvurulan DPPH radikal süpürücü aktivite ve ABTS testlerinden yararlanılmıştır.

DPPH radikal süpürücü aktivite yöntemiyle elde edilen sonuçlar; bitkinin topraküstü kısımlarının köklerine kıyasla çok daha fazla olmak üzere, kuvvetli antioksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Toprak üstü kısımlara ait sonuçlarla da, çiçek ekstresinin, yaprak ekstresine kıyasla daha düşük IC<sub>50</sub> değerine sahip olduğu belirlenmiştir. TEAC/ABTS yöntemi sonuçları ile; bitkinin çeşitli kısımlarından elde edilen ekstraların sahip oldukları antioksidan aktivite bakımından, IC<sub>50</sub> değerleri küçükten büyüğe olacak şekilde; çiçek ekstresi, yaprak ekstresi ve kök ekstresi olarak sıralandığı saptanmıştır. Bitkinin topraküstü kısımlarından elde edilen ekstraların daha düşük IC<sub>50</sub> değerleriyle, kök ekstresine kıyasla yüksek oranda antioksidan aktivite göstermesinin, sahip olduğu total fenol içeriğinin miktarıyla uyum gösterdiği göze çarpmaktadır.

Bitkinin çeşitli kısımlarının sahip olduğu antioksidan aktivite değerleri; önceden araştırılan Türkiye kaynaklı *I. viscosa*, *I. montbretiana* ve *I. helenium* subsp. *turcoracemosa*'nın çeşitli kısımlarından elde edilen metanollü ekstralara ait verilerle kıyaslanmıştır (Gökbulut ve ark., 2013). Sonuçlar **Çizelge 31**'de yer almaktadır.

**Çizelge 31.** Türkiye Kaynaklı Bazı *Inula* Türlerinin DPPH ve ABTS yöntemleri ile saptanan IC<sub>50</sub> değerleri

Türler	İncelenen Kısımlar (Metanollü Ekstre)	DPPH IC <sub>50</sub> (mg/ml)	ABTS IC <sub>50</sub> (mg/ml)
<i>I. heterolepis</i>	Yaprak	0,615 ± 0,021	0,294± 0,007
	Çiçek	0,547 ± 0,024	0,237± 0,010
	Kök	1,853 ± 0,015	0,521± 0,022
<i>I. viscosa</i>	Yaprak	0,42 ± 0,02	0,50 ± 0,09
	Çiçek	0,36 ± 0,04	0,47 ± 0,07
	Kök	0,40 ± 0,08	0,50 ± 0,01
<i>I. montbretiana</i>	Yaprak	0,50 ± 0,02	0,95 ± 0,11
	Çiçek	0,40 ± 0,01	0,80 ± 0,05
	Kök	0,23 ± 0,03	0,62 ± 0,08
<i>I. helenium</i> ssp. <i>turc.</i>	Yaprak	0,23 ± 0,03	0,39 ± 0,06
	Çiçek	0,14 ± 0,06	0,15 ± 0,04
	Kök	2,98 ± 0,08	1,52 ± 0,08

*I. heterolepis* ve diğer türlerin yaprak ve çiçek ekstralarının IC<sub>50</sub> değerleri kıyaslandığında; *I. heterolepis* yaprak ve çiçek ekstresinin oldukça kuvvetli antioksidan aktiviteye sahip olduğu ortaya çıkmaktadır. Kök ekstresinin antioksidan aktivitesinin ise; bazı türlere ait kök ekstralarına yakın olmakla birlikte, genel olarak incelenen diğer türlerden daha zayıf bir etki gösterdiği saptanmıştır

*I. heterolepis* ekstralarının, incelenen mikroorganizmalara karşı sergilediği antimikrobiyal aktivite; agar dilüsyon yöntemi kullanılarak in-vitro olarak değerlendirilmiştir. Bitkinin yaprak ekstresinin *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* üzerinde, çiçek ekstresinin ise *E. coli* üzerinde dikkati çekecek antibakteriyal etkiye sahip olduğu; bu iki ekstrenin test edilen *C. albicans* ve *C. tropicalis*'e karşı da çok güçlü antifungal etki gösterdikleri göze çarpmaktadır. *I. heterolepis*'in kök ekstresi ise, yaprak ve çiçek ekstresine kıyasla daha zayıf etkilidir. Bitkinin çeşitli kısımlarının sahip olduğu antimikrobiyal aktivite değerleri; *I. viscosa*, *I. montbretiana* ve *I. helenium* çeşitli kısımlarından elde edilen metanollü ekstralar ile kıyaslanmıştır (Gökbulut ve ark., 2013). Sonuçlar **Çizelge 32**'de yer almaktadır.

**Çizelge 32.** Türkiye Kaynaklı Bazı *Inula* Türlerine Ait Ekstrelerin MIC Değerleri

Türler	Bitkinin Kısımları	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginos</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>
<i>Inula heterolepis</i>	<b>Yaprak</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	200	<b>50</b>	<b>50</b>
	<b>Çiçek</b>	200	200	<b>100</b>	200	<b>50</b>	<b>50</b>
	<b>Kök</b>	400	400	800	800	400	400
<i>Inula viscosa</i>	<b>Yaprak</b>	200	200	400	400	200	200
	<b>Çiçek</b>	200	200	800	400	200	200
	<b>Kök</b>	50	50	100	200	100	50
<i>Inula montbretiana</i>	<b>Yaprak</b>	100	200	400	400	200	100
	<b>Çiçek</b>	100	50	200	200	100	50
	<b>Kök</b>	100	100	400	400	200	100
<i>Inula helenium ssp. turc.</i>	<b>Yaprak</b>	100	200	400	400	200	100
	<b>Çiçek</b>	200	400	800	800	400	200
	<b>Kök</b>	100	100	200	400	100	50

Tablo incelendiğinde; *I. heterolepis*'in yaprak ekstresinin Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı diğer üç türe kıyasla çok daha etkili olduğu; çiçek ekstresinin *I. viscosa* ve *I. helenium* subsp. *turcoracemosa*'dan daha güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduğu anlaşılmaktadır. Bitkinin kök ekstresi ise; kıyaslanan türlerden daha zayıf etkilidir. *I. heterolepis* yaprak ve çiçek ekstresinin *C. albicans* ve *C. tropicalis*'e gösterdikleri antifungal etkileri kıyaslanan türlerden çok daha güçlüdür. Kök ekstresinin antifungal etkisi ise; diğer türlere oranla daha zayıftır.



## SONUÇ ve ÖNERİLER

*Inula* türleri, Türkiye’de ve Dünya’nın birçok yerinde doğal olarak yetişen ve çok uzun yıllardan beri halk hekimliğinde, çeşitli hastalıkların tedavisinde başvurulan bitkilerden oluşmaktadır. Son yıllarda yapılan farmakolojik çalışmalar; türlerin geleneksel tıp sistemlerinde kullanılışlarını destekler niteliktedir. Fakat hala üzerinde çalışılmamış birçok *Inula* türü bulunmaktadır. *I. heterolepis*’in tez konusu olarak seçilmesinin öncelikli nedeni, halk arasında infüzyon halinde iştah açıcı olarak, baş ağrısı, hemoroit ve kısırlığa karşı kullanılan bitkinin üzerinde yapılan çalışmaların kısıtlı oluşudur.

Deney çalışmaları kapsamında; öncelikle *I. heterolepis*’in topraküstü kısımları ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstreler ince tabaka kromatografisine uygulanmıştır. Sonuçlar; bitkinin fenolik bileşikleri içerdiği, terpenler yönünden ise zengin olduğu yönündedir. *I. heterolepis*’in yaprak, çiçek ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstrelerin ters faz-HPLC ile yapılan kalitatif ve kantitatif analizleri ile bitkinin çikoric asit, klorojenik asit, luteolin, kafeik asit, gallik asit, kemferol, kersetin bileşiklerini içerdiği saptanmış ve bileşiklerin yüzde miktarları belirlenmiştir.

Tüm sonuçlar; yaprak ve çiçek ekstrelerinin, kök ekstresine kıyasla fenolik bileşikler açısından daha zengin olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca ekstrelerin total fenol miktarları ve bitkinin çeşitli kısımlarındaki dağılımları HPLC analizi ile elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Bitkinin topraküstü ekstresinden preparatif ince tabaka kromatografisiyle izole edilen bileşiğin saf olduğu HPLC sonuçlarıyla kanıtlanmış, UV ve IR gibi spektroskopik yöntemlerle yapı aydınlatma çalışmalarına gidilmiştir. Elde edilen sonuçlar bitkide bulunan ve bulunması muhtemel bileşiklere ait literatürlerle kıyaslanmıştır; ileri spektroskopik teknikler kullanılarak yapı aydınlatma çalışmalarına devam edilecektir.

Antioksidan aktivite çalışmaları kapsamında, bitki kısımlarının metanollü ekstreleri DPPH radikal süpürücü aktivite ve ABTS testi ile incelenmiş; referans bileşik olarak kafeik asit ve troloks tercih edilmiştir. Sonuçlar, Türkiye kaynaklı bazı *Inula* türlerinden elde edilen ekstrele ait verilerle kıyaslanmış; bitkinin yaprak ve çiçek ekstrelerinin oldukça kuvvetli antioksidan aktivite sergilediği belirlenmiştir. Ayrıca kök ekstresinin diğerlerine kıyasla düşük antioksidan aktiviteye sahip oluşu, içerdiği fenolik bileşiklerin bitkideki dağılımı ile uyum içerisinde.

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları kapsamında; bitki kısımlarının metanollü ekstreleri agar dilüsyon yöntemi ile in-vitro olarak test edilmiştir. Sonuçlar, referans bileşik olarak seçilen ampisilin, siprofloksazin, flukonazol ve amikasin ile ayrı ayrı kıyaslanmıştır. Bitki kısımlarının, test edilen mikroorganizmalara karşı güçlü antimikrobiyal aktivite sergilediği; özellikle yaprak ekstresinin etkisinin test edilen mikroorganizmalara karşı çiçek ve kök ekstrelerine kıyasla dikkati çekecek ölçüde kuvvetli olduğu belirlenmiştir. Bitkinin yaprak ve çiçek ekstrelerinin; incelenen *Candida* türlerine karşı da çok güçlü antifungal aktivite gösterdiği saptanmıştır.

*I. heterolepis* üzerinde yurtiçi ve yurtdışında yapılan çalışmaların birkaç tane ile kısıtlı kaldığı, gerçekleştirilen kapsamlı literatür taramasıyla belirlenmiştir. Bitkinin halk arasında geniş bir kullanım alanına sahip oluşu; yeni çalışmalara öncülük edebilmesi açısından oldukça önemlidir.

*I. heterolepis* üzerinde yapılan fitokimyasal ve aktivite çalışmalarıyla elde edilen çarpıcı sonuçlar, halk arasında kullanımıyla paralellik göstermektedir. Ayrıca araştırmacıların *Inula* türleri üzerinde gün geçtikçe artan ilgisinin haklılığını da bir kez daha ortaya koymaktadır. Bitki üzerinde fitokimyasal ve biyolojik etki çalışmaları devam etmekte olup; sahip olduğu potansiyelin hem bilimsel hem de ekonomik anlamda değerlendirilmesini sağlayacaktır.

## ÖZET

### ***Inula heterolepis* Boiss. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar**

Asteraceae familyasında yer alan *Inula* cinsi, Türkiye’de 8’i endemik 34 takson ile temsil edilmekte olup; Avrupa, Asya ve Afrika’da geniş bir alanda dağılım göstermektedir. Tez konusunu oluşturan *I. heterolepis*, Doğu Akdeniz ülkelerinde yetişen çok yıllık bir bitkidir. *I. heterolepis*’in, Anadolu’da halk arasında infüzyon halinde iştah açıcı olarak, baş ağrısı, hemoroit ve kısırlık tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir. Literatür verileri incelendiğinde; türe ilişkin fitokimyasal ve biyolojik etki çalışmalarının yetersiz olduğu görülmektedir. Bu tez çalışması kapsamında; *I. heterolepis* kalitatif ve kantitatif analizlerle incelenmiştir. Ayrıca antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteler açısından etkinliği in-vitro testlerle değerlendirilmiştir.

Öncelikle, *I. heterolepis*’in topraküstü kısımları ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstratlar ince tabaka kromatografisine uygulanmış; ekstratların aktif bileşiklerinin terpenler ve fenolik bileşikler olduğu saptanmıştır. Bitki ekstratlarının total fenol miktarı modifiye Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir. Bitkinin topraküstü kısımlarının total fenol miktarının köklerine kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. *I. heterolepis*’in topraküstü kısımlarından preparatif TLC ile terpenik olduğu düşünülen bir bileşik izole edilmiştir.

Bitkinin yaprak, çiçek ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstratlar, ters faz HPLC kullanılarak kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilmiştir. Ekstratlerde; çikoric asit, klorojenik asit, luteolin, kafeik asit, gallik asit, kemferol, kersetin bileşikler saptanmış ve % miktarları belirlenmiştir. Yaprak ve çiçek ekstratlarının fenolik bileşiklerce köklerden daha zengin olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar bitkinin total fenol miktarı ile paralellik göstermiştir.

Bitkinin çeşitli kısımlarının antioksidan potansiyeli, DPPH radikal süpürücü ve ABTS ölçüm yöntemleriyle değerlendirilmiştir. Yaprak ve çiçek ekstratlarının güçlü antioksidan aktivite sergilediği bulunmuştur.

Bitki kısımlarının metanollü ekstratlarının antimikrobiyal kapasitesi; *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* ve *Candida tropicalis*’e karşı agar dilüsyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bitkinin yaprak ekstratının antimikrobiyal aktivitesinin, incelenen bakterilere karşı diğer ekstratlardan çok daha güçlü olduğu bulunmuştur. Yaprak ve çiçek ekstratları incelenen maya türlerine karşı belirgin bir antifungal aktivite sergilemiştir.

**Anahtar Sözcükler:** *Inula heterolepis* Boiss., HPLC-DAD, fenolik bileşikler, antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite.

## SUMMARY

### **Pharmacognostical investigations on *Inula heterolepis* Boiss.**

*Inula* genus that belongs to Asteraceae family is represented by 34 taxa in Turkey, and 8 of them are endemic. The plants of the genus *Inula* (Asteraceae) are widely distributed throughout Europe, Africa and Asia. This subject, *Inula heterolepis* Boiss. is a perennial herb that ranges in East Mediterranean countries. It has been reported that *I. heterolepis* is used for appetizing and treatment of headache, hemorrhoid and infertility. With the current literature, it is seen that there is no sufficient phytochemical and biological activity studies. Within this thesis study; the active compounds of *I. heterolepis* Boiss was investigated by qualitative and quantitative analyses. Additionally, antioxidant and antimicrobial activities were evaluated by in vitro tests.

First of all, the methanolic extracts of the aerial parts and roots of *Inula heterolepis* were applied to TLC and the active compounds of the extracts were found to be as terpenes and phenolics. The total phenolic content of the plant extracts was determined by a modified Folin-Ciocalteu method. The aerial parts of the plant was seemed to contain higher amount of total phenolics compared to roots. An unknown compound, which is suspected to be a terpene, was isolated via preparative TLC from the aerial parts of *Inula heterolepis*.

The methanol extracts of flowers, leaves and roots of the plant were analyzed qualitatively and quantitatively by reverse phase HPLC. Chicoric acid, chlorogenic acid, luteolin, caffeic acid, gallic acid, kaempferol and quercetin were identified and quantified in the extracts. The leaf and flower extracts are richer in phenolics than the root extract. The results were seen to correlate with total phenolic content of the plant.

Antioxidant potential of different parts of the plant were evaluated by DPPH radical scavenging and ABTS assays. Leaf and flower extracts exhibited significant antioxidant activity.

Antimicrobial capacity of methanol extracts of the plant parts was evaluated using the agar dilution method against *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. The leaf extract of the plant was found to be more active against bacteria than other extracts. The leaf and flower extracts exhibited significant antifungal activity against yeast species investigated.

**Key Words:** *Inula heterolepis* Boiss., HPLC-DAD, phenolic compounds, antioxidant activity, antimicrobial activity.

## KAYNAKLAR

- ABBAS, M. A., TAHA, M.O., ZIHLIF, M.A., DISI, A. M. (2013).  $\beta$ -Caryophyllene causes regression of endometrial implants in a rat model of endometriosis with out affecting fertility. *European Journal of Pharmacology*, **702**: 12–19.
- ABDEL-WAHHAB, M.A., ABDEL-AZIM, S.H., EL-NEKEETY, A.A. (2008). *Inula crithmoides* extract protect against ochratoxin A-induced oxidative stress, clastogenic and mutagenic alterations in male rats. *Toxicon*, **52**: 566-573.
- ABID, R., QAISER, M. (2002). Genus *Inula* L. (s. str.) (Compositae-Inuleae) in Pakistan and Kashmir. *Candollea*, **56**: 315-325.
- ABOU-DOUH, A.M. (2008). New eudesmane derivatives and other sesquiterpenes from the epigeal parts of *Dittrichia graveolens*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **56**: 1535-1545.
- AHMED, A.A., MOHAMMED, A.E.H., TZAKOU, O., PETROPOULOU, A., HASSAN, M.E., EL-MAGRHRABY, M.A., ZELLER, K-P. (2003). Terpenes from *Inula verbascifolia*. *Phytochemistry*, **62**: 1191-1194.
- AL-DISSI, N. M., SALHAB, A. S., AL-HAJJ H. A. (2001). Effects of *Inula viscosa* leaf extracts on abortion and implantation in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **77**: 117-121.
- AL-FARTOSY, A. J. M. (2011). Antioxidant properties of methanolic extract from *Inula graveolens* L., *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **35**: 591-596.
- ALTUNDAĞ, E., ÖZTÜRK, M., (2011). Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia Social and Behavioral Sciences*, **19**: 756–777.
- ALOMARY, A., EL JAMAL, E., AL-MOMANI, I., ATTIYAT, A., OBEIDAT, S. (2013). Pb in medicinal plants from Jordan. *Environmental Chemistry Letters*, **11**: 55-63.
- ALVARENGA, S.A.V., FERREIRA, M.J.P., EMERENCIANO, V.P., CABROL-BASS, D. (2001). Chemosystematic studies of natural compounds isolated from Asteraceae: characterization of tribes by principal component analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **56**: 27–37.
- AMIN, S., KALOO, Z. A., SINGH, S., ALTAF, T. (2013). Medicinal Importance of Genus *Inula*-A Review. *International Journal of Current Research and Review*, **05**(02): 20-26.

- ANDOLFI, A., ZERMANE, N., CIMMINO, A., AVOLIO, F., BOARI, A., VURRO, M., EVIDENTE A. (2013). Inuloxins A–D, phytotoxic bi- and tri-cyclic sesquiterpene lactones produced by *Inula viscosa*: Potential for broomrapes and field dodder management. *Phytochemistry*, **86**: 112-120.
- ASKARNE, L., TALIBI, I., BOUBAKER, H., BOUDYACH, E.H., MSANDA, F., SAADI, B., AIT BEN AOUMAR, A. (2012). Use of Moroccan medicinal plant extracts as botanical fungicide against citrus blue mould. *Letters in Applied Microbiology*, **56**: 37-43.
- AWAAD, A. S., EL-MELIGY, R. M., SOLIMAN, G.A. (2013). Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. *Journal of Saudi Chemical Society*, **17**: 101-124.
- BARRERO, A.F., ROSALES, A., CUERVA, J. M., OLTRA, J. E. (2003). Unified Synthesis of Eudesmanolides, Combining Biomimetic Strategies with Homogeneous Catalysis and Free-Radical Chemistry. *Organic Letters*, **5**(11): 1935-1938.
- BAYTOP, T., (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara.
- BOHLMANN, F., ATEŞ, (GÖREN) N., GRENZ, M. (1982). New Germacranolides From *Inula heterolepis*. *Phytochemistry*, **21**(5): 1166-1168.
- BOUDJELAL, A., HENCHIRI, C., SIRACUSA, L., SARI, M., RUBERTO, G. (2012). Compositional analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian *Marrubium vulgare* L. infusion. *Fitoterapia* **83**: 286-292.
- BRUNO, M., BANCHEVA, S., ROSSELLI, S., MAGGIO, A. (2013). Sesquiterpenoids in subtribe Centaureinae (Cass.) Dumort (tribe Cardueae, Asteraceae): Distribution, <sup>13</sup>C NMR spectral data and biological properties. *Phytochemistry*, **95**: 19-93.
- CANTRELL, C. L., PRIDGEON, J. W., FRONCZEK, F. R., BECNEL, J. J. (2010). Structure–Activity Relationship Studies on Derivatives of Eudesmanolides from *Inula helenium* as Toxicants against *Aedes aegypti* Larvae and Adults. *Chemistry&Biodiversity*, **7**: 1681-1697.
- CHENG, X., YEB, J., REN, J., ZENG, Q., ZHANG, F., QIN, J., SHEN, Y., ZHANG, W., JIN, H. (2012). Terpenoids from *Inula sericophylla* Franch. and their chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, **42**: 75-78.
- CHENG, X.R., REN, J., WANG, C. H., GUAN, B., QIN, J. J., YAN, S. K., JIN, H.Z., ZHANG, W.D. (2013). Hookerolides A–D, the first naturally occurring C17-pseudoguaianolides from *Inula hookeri*. *Tetrahedron Letters*, **54**(15): 1943-1946.
- CHENG, X., ZENG, Q., REN, J., QIN, J., ZHANG, S., SHEN, Y., ZHU, J., ZHANG, F., CHANG, R., ZHU, Y., ZHANG, W., JIN, H. (2011). Sesquiterpene lactones from *Inula falconeri* a plant endemic to the Himalayas, as potential anti-inflammatory agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **46**: 5408-5415.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Approved Standard-Seventh Edition, CLSI Document M7-A7, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA, 2006.

- Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard-Second Edition, NCCLS Document M27-A2 (ISBN 1-56238-469-4), NCCLS, Wayne, PA, USA, 2002.
- DANINO, O., GOTTLIEB, H.E., GROSSMAN, S., BERGMAN, M. (2009). Antioxidant activity of 1,3 dicaffeoylquinic acid isolated from *Inula viscosa*. *Food Research International*, **42**: 1273-1280.
- DAVIS P. H. (1982). Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol 5, University Press, Edinburgh.
- DOHI, S., TERASAKI, M., MAKINO, M. (2009). Acetylcholinesterase Inhibitory Activity and Chemical Composition of Essential Oils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **57**(10): 4313-4318.
- DZOYEM, J. P., TSHIKALAMGE, E., KUETE, V., (KUETE V.), (2013). Medicinal Plant Research in Africa: Pharmacology and Chemistry, 1. Baskı, Bölüm 24, Elsevier, 859-890.
- FAKİR, H., KORKMAZ, M., GÜLLER, B., (2009). Medicinal Plant Diversity of Western Mediterrenean Region in Turkey, *Journal of Applied Biological Sciences* **3**(2): 33-43.
- FISCHEDICK, J. T., PESIC, M., PODOLSKI-RENIC, A., BANKOVIC, J., DE VOS, R. C.H., PERIC, M., TODOROVIC, S., TANIC, N. (2013). Cytotoxic activity of sesquiterpene lactones from *Inula britannica* on human cancer cell lines. *Phytochemistry Letters* **6**:246-252.
- FU, B., SU, B-N., TAKAISHI, Y., HONDA, G., ITO, M., TAKEDA, Y., KODZHIMATOV, O. K., ASHURMETOV, O. (2001). A bis-sesquiterpene and sesquiterpenolides from *Inula macrophylla*. *Phytochemistry*, **58**: 1121-1128.
- FUNK, V.A., SUSANNA, A., STEUSSY, T. F., ROBINSON, H. E., Funk V. A., Susana A., Stuessy T. F., Bayer R. J. (2009). *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae, Classification of Compositae*, Vienna, Austria: International Association for Plant Taxonomy (IAPT), Bölüm 11, 171-189.
- GENG, H-M., ZHANG, D-Q., ZHA, J-P., QI, J-L. (2007). Simultaneous HPLC determination of five flavonoids in Flos Inulae. *Chromatographia*, **66**: 271-275.
- GIAMPERI, L., BUCCHINI, A., FRATERNALE, D., GENOVESE, S., CURINI, M., RICCI, D., (2010). Composition and Antioxidant Activity of *Inula crithmoides* Essential Oil Grown in Central Italy (Marche Region). *Natural Product Communications*, **5**(2): 315-318.
- GÖKBULUT, A. (2011). Türkiye’de Yetişen Bazı *Inula* L. Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- GÖKBULUT, A., ÖZHAN O., SATILMIŞ B., BATÇIOĞLU K., GÜNAL S., ŞARER E. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities, and phenolic compounds of selected *Inula* species from Turkey. *Natural Product Communications*, **8**(4): 475-478.

- HONDA, G., YEŞİLADA, E., TABATA, M., SEZİK, E., FUJITA, T., TAKEDA, Y., TAKAISHI, Y., TANAKA, T. (1996). Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. *Journal of Ethnopharmacology*, **53**(2): 75-87.
- HAOUI, I. E., DERRICHE, R., MADANI, L., OUKALI, Z. (2011). Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry*, baskıda.
- HERNÁNDEZ, V., RECIO, M.C., MÁÑEZ, S., GINER, R. M., RIOS, J. L. (2007). Effects of naturally occurring dihydroflavonols from *Inula viscosa* on inflammation and enzymes involved in the arachidonic acid metabolism. *Life Sciences*, **81**: 480-488.
- HINDLER, J., HOCHSTEIN, L., HOWELL, A. (1992). Preparation of Routine Media and Reagents Used in Antimicrobial Susceptibility Testing. Part 1. Mc Farland Standards. In *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, Isenberg, H.D., Ed., American Society for Microbiology: Washington, DC, USA, Vol 1, p.:5.19.1-5.19.6.
- HONG, T., ZHAO, J., DONG, M., MENG, Y., MU, J., YANG, Z. (2012). Composition and bioactivity of polysaccharides from *Inula britannica* flower. *International Journal of Biological Macromolecules*, **51**: 550-554.
- <http://www.tubives.com/> Haziran, 2014
- HUA, Z., QIN, J., ZHANG, H., WANG, D., HUA, Y., DING, J., SHAN, L., JIN, H., ZHANG, J., ZHANG, W., (2012). Japonicone A antagonizes the activity of TNF- $\alpha$  by directly targeting this cytokine and selectively disrupting its interaction with TNF receptor-1. *Biochemical Pharmacology*, **84**: 1482–1491.
- HUANG, M. H. , TAI, H.-M. A, WANG, B.-S., CHANG, L.-W., (2013). Inhibitory effects of water extract of Flos Inulae on mutation and tyrosinase. *Food Chemistry*, **139**:1015-1020.
- HUO, Y., SHI, H., LI, W., WANG, M., LI, X. (2010). HPLC determination and NMR structural elucidation of sesquiterpene lactones in *Inula helenium*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **51**: 942-946.
- INTA, A., TRISONTHI, P., TRISONTHI, C. (2013). Analysis of traditional knowledge in medicinal plants used by Yuan in Thailand. *Journal of Ethnopharmacology*, **149**: 344-351.
- JALLALI, I., ZAOUALI, Y., MISSAOUI, I., SMEOUI, A., ABDELLEY, C., KSOURI, R., (2014). Variability of antioxidant and antibacterial effects of essential oils and acetonic extracts of two edible halophytes: *Crithmum maritimum* L. and *Inula crithmoides* L. *Food Chemistry*, **145**: 1031-1038.
- KATARIA, D., CHAHAL, K. K., (2013). Chemistry and antifungal potential of Alantolides from *Inula racemosa* H. *The Journal of Chemical Sciences*, **125**(1): 187-191.
- KOBAYASHI, T., SONG, Q.-H., HONG, T., KITAMURA, H., CYONG, J.-C., (2002). Preventative Effects of the Flowers of *Inula britannica* on Autoimmune Diabetes in C57BL/ KsJ Mice Induced by Multiple Low Doses of Streptozotocin. *Phytotherapy Research*, **16**: 377-382.



- KOGURE, K., YAMAUCHI, I., TOKUMURA, A., KONDOU, K., TANAKA, N., TAKAISHI, Y., FUKUZAWA K. (2004). Novel antioxidants isolated from plants of the genera *Ferula*, *Inula*, *Prangos* and *Rheum* collected in Uzbekistan. *Phytomedicine*, **11**: 645-651.
- KONISHI, T., SHIMADA, Y., NAGAO, T., OKABE, H., KONOSHIMA, T. (2002). Antiproliferative Sesquiterpene Lactones from the Roots of *Inula helenium*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* **25**(10): 1370-1372.
- KWON, C.S., KIM, J.H., SON, K. H., KIM, Y.K., LEE, J.S., LIM, J.K., KIM, J. S. (2002). Induction of Quinone Reductase, an Anticarcinogenic Marker Enzyme, by Medicinal Herb Extracts. *Nutraceuticals and Food*, **7**(4): 358-366.
- LEE, J., SCAGEL, C. F. (2013). Chicoric acid: chemistry, distribution, and production. *Frontiers in Chemistry* **1**(40): 1-17.
- LEI, J., YU, J., YIN, Y., LIU, Y., ZOU, G. (2012). Alantolactone induces activation of apoptosis in human hepatoma cells. *Food and Chemical Toxicology* **50**: 3313-3319.
- LEVI, J. R., BRODY, R. M., MCKEE-COLE, K., PRIBITKIN, E., O'REILLY, R. (2013). Complementary and alternative medicine for pediatric otitis media. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, **77**: 926-931.
- LI, Y., NI, Z.-Y., ZHU, M.-C., DONG, M., WANG, S.-M., SHI, Q.-W., ZHANG, M.-L., WANG, Y.-F., HUO, C.-H., KIYOTA, H., CONG, B., (2012). Antitumour Activities of Sesquiterpene Lactones from *Inula helenium* and *Inula japonica*. *Zeitschrift für Naturforschung*, **67**: 375-380.
- LIM, S. S., KIM, J. R., LIM, H. A., JANG, C. H., KIM, Y. K., KONISHI, T., KIM, E. J., PARK, J. H. Y., KIM, J. S. (2007). Induction of Detoxifying Enzyme by Sesquiterpenes Present in *Inula helenium*. *Journal of Medicinal Food*, **10**(3): 503-510.
- LU, Y., LI, Y., JIN, M., YANG, J. H., LI, X., CHAO, G. H., PARK, H., PARK, Y. N., SON, J. K., LEE, E., CHANG, H. W. (2012). *Inula japonica* extract inhibits mast cell-mediated allergic reaction and mast cell activation. *Journal of Ethnopharmacology*. **143**:151-157.
- MA, Y.Y., ZHAO, D.G., GAO, K. (2013). Structural Investigation and Biological Activity of Sesquiterpene Lactones from the Traditional Chinese Herb *Inula racemosa*. *Journal of Natural Products*, **76**: 564-570.
- MABONA, U., VAN VUUREN, S.F. (2013). Southern African medicinal plants used to treat skin diseases. *South African Journal of Botany*, **87**: 175-193.
- MANEZ, S., HERNANDEZ, V., GINER, R.-M., RIOS, J.-L., RECIO, M.C. (2007). Inhibition of pro-inflammatory enzymes by inuviscolide, a sesquiterpene lactone from *Inula viscosa*. *Fitoterapia*, **78**: 329-331.
- MAMOCI, E., CAVOSKI, I., ANDRES, M. F., DIAZ, C. E., GONZALEZ-COLOMA, A. (2012). Chemical characterization of the aphid antifeedant extracts from *Dittrichia viscosa* and *Ferula communis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **43**: 101-107.

- MIGUEL, G., FALEIRO, L., CAVALEIRO, C., SALGUEIRO, L., CASANOVA, J. (2008). Susceptibility of *Helicobacter pylori* to Essential Oil of *Dittrichia viscosa* subsp. *Revoluta*. *Phytotherapy Research*, **22**: 259-263.
- MOSADDEGHA, M., OSTADB, S. N., NAGHIBIA, F., MOGHADAMA, M. H. (2006). Cytotoxic Effects of Five Species of *Inula* Against Some Tumor Cell Lines. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2**(4): 203-208.
- NAN, M., PINTEA, A., BUNEA, A., EȘIANU, S., TĂMAȘ, M. (2012). Hplc Analysis Of Carotenoids From *Inula Helenium* L. Flowers And Leaves. *Farmacia*, **60**(4): 501-509.
- NAWAFLEH, E., IRSHEDAT, M., BATAINEH, T., MUHAIDAT, R., AL-QUDAH, M., ALOMARY, A. (2012). The Effects of *Inula viscosa* Extract on Corrosion of Copper in NaOH Solution. *Research Journal of Chemical Sciences*, **2**(9): 37-41.
- NHO, S.O., JIN, J. S., KIM, J.W., OH, J. Y., KIM, J., LEE, Y. C., SEOL, S. Y., CHO, D. T., LEE, J. C. (2008). Antimicrobial activity of *Inula helenium* L. essential oil against Gram-positive and Gram-negative bacteria and *Candida* spp.. *Letters to the Editor/International Journal of Antimicrobial Agents*, **31**: 581-592.
- OJHA, S., BHARTI, S., SHARMA, A. K., RANI, N., BHATIA, J., KUMARI, S., ARYA, D. S. (2011). Effect of *Inula racemosa* root extract on cardiac function and oxidative stress against isoproterenol-induced myocardial infarction. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, **48**: 22-28.
- ÖZTÜRK, M., ÇETİN, Ö. (2013). *Inula tuzgoluensis* (Asteraceae), a new species from Central Anatolia, Turkey. *Turkish Journal of Botany*, **37**: 825-835.
- PAL, H. C., SEHAR, I., BHUSHAN, S., GUPTA, B. D., SAXENA, A. K. (2010). Activation of caspases and poly (ADP-ribose) polymerase cleavage to induce apoptosis in leukemia HL-60 cells by *Inula racemosa*, *Toxicology in Vitro*, **24**: 1599-1609.
- PARK, E. J., KIM, Y. M., PARK, S. W., KIM, H. J., LEE, J. H., LEE, D.U., CHANG, K. C. (2013). Induction of HO-1 through p38 MAPK/Nrf2 signaling pathway by ethanol extract of *Inula helenium* L. reduces inflammation in LPS-activated RAW 264,7 cells and CLP-induced septic mice. *Food and Chemical Toxicology*, **55**: 386-395.
- POLAT, R., SATIL, F. (2012). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Edremit Gulf (Balıkesir-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, **139**: 626-641.
- QIN, J., JIN, H., HUANG, Y., ZHANG, S., SHAN, L., VORUGANTI, S., NAG, S., WANG, W., ZHANG, W.D., ZHANG, R. (2013). Selective cytotoxicity, inhibition of cell cycle progression, and induction of apoptosis in human breast cancer cells by sesquiterpenoids from *Inula lineariifolia* Turcz.. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **68**: 473-481.
- QIN, J. J., JIN, H. Z., FU, J. J., HU, X. J., WANG, Y., YAN, S. K., ZHANG, W. D. (2009). Japonicones A-D, bioactive dimeric sesquiterpenes from *Inula japonica* Thunb. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **19**: 710-713.
- QIN, J.J., JIN, H. Z., FU, J. J., HU, X. J., ZHU, Y., SHEN, Y.H., YAN, S.K., ZHANG, W.D. (2008). Antranilic acid derivatives from *Inula japonica*. *Chinese Chemical Letters*, **19**: 556-558.

- RADULOVIĆ, N. S., DENIĆ, M. S., STOJANOVIĆ-RADIĆ, Z. Z. (2014). Synthesis of Small Combinatorial Libraries of Natural Products: Identification and Quantification of New Long-chain 3-Methyl-2-alkanones from the Root Essential Oil of *Inula helenium* L. (Asteraceae), *Phytochemical Analysis* 2014, **25**: 75-80.
- RASUL, A., KHAN, M., ALI, M., LI, J., LI, X. (2013). Targeting Apoptosis Pathways in Cancer with Alantolactone and Isoalantolactone Hindawi Publishing Corporation. *The Scientific World Journal*, **2013**: 1-9.
- ROZENBLAT, S., GROSSMAN, S., BERGMAN, M., GOTTLIEB, H., COHEN, Y., DOVRAT, S. (2008). Induction of G2/M arrest and apoptosis by sesquiterpene lactones in human melanoma cell lines. *Biochemical Pharmacology*, **75**(2): 369-82.
- SAAD, M. M. G., ABDELGALEIL, S. A. M., SUGANUMA, T. (2012). Herbicidal potential of pseudoguaninolide sesquiterpenes on wild oat, *Avena fatua* L.. *Biochemical Systematics and Ecology*, **44**: 333-337.
- SALIL, S., BHUPINDER, A., BASHEER, A. (2012). Antioxidant Properties Of *Inula racemosa*, A Traditional Herbal Medicine. *The Internet Journal of Pharmacology*, **10**(1):1.
- SAVIKIN, K., ZDUNIC, G., MENKOVIC, N., ZIVKOVIC, J., C'UJIC', N., TERESCENKO, M., BIGOVIC, D. (2013). Ethnobotanical study on traditional use of medicinal plants in South-Western Serbia, Zlatibor district. *Journal of Ethnopharmacology*, **146**(3): 803-810.
- SAYGI, S., KONUKLUGİL, B., KUTSAL, O., UZBAY, I. T., DENİZ, G., GÖREN, Z. (2003). Assessment of therapeutic effect of *Inula heterolepsis* Boiss in alcoholic rats. *Phytotherapy Research*, **17**(6): 683-687.
- SHI, X., ZHANG, K., XUE, N., SU, L., MA, G., QI, J., WU, Y., WANG, Q., SHI, Q. (2013). Differentiation of genuine *Inula britannica* L. and substitute specimens based on the determination of 15 components using LC-MS/MS and principal components analysis. *Food Chemistry*, **141**: 4019-4025.
- SHIVALI, G., PRAFUL, L., VIJAY, G. 2012. A Validated Fourier Transform Infrared Spectroscopy Method for Quantification of Total Lactones in *Inula racemosa* and *Andrographis paniculata*. *Phytochemical Analysis*, **23**: 171-176.
- SONG, Q.-H., KOBAYASHI, T., HONG, T., CYONG, J.-C., (2002). Effects of *Inula Britannica* on the Production of Antibodies and Cytokines and on T Cell Differentiation in C57BL/6 Mice Immunized by Ovalbumin. *The American Journal of Chinese Medicine*, **30**( 2&3): 297-305.
- SPIRIDON, I., BODIRLAU, R., TEACA, C-A. (2011). Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Central European Journal of Biology*, **6**: 388-396.
- SPIRIDON, L., NECHITA, C. B., NICULAU, M., SILION, M., ARMATU, A., TEACĂ, C., BODIRLĂU, R., (2013). Antioxidant and chemical properties of *Inula helenium* root extracts. *Central European Journal of Chemistry*, **11**(10): 1699-1709.

- SPIRIDONOV, N. A., KONOVALOV, D. A., ARKHIPOV, V. V. (2005). Cytotoxicity of Some Russian Ethnomedicinal Plants and Plant Compounds. *Phytotherapy Research*, **19**: 428-432.
- STAMATIS, G., KYRIAZOPOULOS, P., GOLEGOU, S., BASAYIANNIS, A., SKALTSAS, S., SKAL TSA, H. (2003). In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of Greek herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology*, **88**: 175-179.
- STANOJEVIC, D., COMIC, L. J., STEFANOVIC, O., SUKDOLAK, S. S. (2010). In Vitro Synergistic Antibacterial Activity Of *Helichrysum Arenarium*, *Inula helenium*, *Cichorium Intybus* and Some Preservatives. *Italian Journal of Food Science*, **22**(2): 210-216.
- STOJAKOWSKA, A., MALARZ, J., KISIEL, W. (2004). Thymol Derivatives from a Root Culture of *Inula helenium*. *Z. Naturforsch*, **59c**: 606-608.
- STOJAKOWSKA, A., MALARZ, J., ZUBEK, S., TURNAU, K., KISIEL, W. (2010). Terpenoids and phenolics from *Inula ensifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **38**: 232-235.
- STOJANOVIĆ-RADIĆ, Z., ČOMIĆ, L., RADULOVIĆ, N., BLAGOJEVIĆ, P., DENIĆ, M., MILTOJEVIĆ, A., RAJKOVIĆ, J., MIHAJILOV-KRSTEV, T. (2012). Antistaphylococcal activity of *Inula helenium* L. Root essential oil: eudesmane sesquiterpene lactones induce cell membrane damage. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, **31**: 1015-1025.
- TALIB, W. H., ABU ZARGA, M. H., MAHASNEH, A.M. (2012). Antiproliferative, Antimicrobial and Apoptosis Inducing Effects of Compounds Isolated from *Inula viscosa*. *Molecules*, **17**: 3291-3303.
- TALIBI I., ASKARNE L., BOUBAKER, H., BOUDYACH, E.H., MSANDA, F., SAADI, B., AIT BEN AOUMAR A., (2012). Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum*, the causal agent of postharvest citrus sour rot. *Crop Protection*, **35**: 41-46.
- TOMA, C., GRIGORE, M. N., AFEMEI, M., STĂNESCU, I. E. (2010). Histo-anatomical considerations on some romanian *Inula* l. species, with pharmacological action. *Analele științifice ale Universității "Al. I. Cuza" Iași Tomul LVI, fasc. 1, s. II a. Biologie vegetală*.
- VAHER, M., BORISSOVA, M., SEIMAN, A., AID, T, KOLDE, H., KAZARJAN, J., KALJURAND, M. (2014). Automatic spot preparation and image processing of paper microzone-based assays for analysis of bioactive compounds in plant extracts. *Food Chemistry*, **143**: 465-471.
- VINHOLES J., RUDNITSKAYA A., GONÇALVES P., MARTEL F., COIMBRA M. A., ROCHA S. M., (2014). Hepatoprotection of sesquiterpenoids: A quantitative structure-activity relationship (QSAR) approach. *Food Chemistry*, **146**: 78-84.
- WAGNER H., BLADT S., (2001). *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography atlas*. Berlin:Springer.

- WANG F., LI X., SUN Q., YAO S., KE C., TANG C., LIU H., GENG M., YE Y., (2012). Sesquiterpene lactones from *Inula cappa*. *Phytochemistry Letters*, **5**: 639-642.
- WU M., ZHANGH., HU J., WENG Z., LI C., LI H., ZHAO Y., MEI X., REN F., LI L., (2013). Isoalantolactone Inhibits UM-SCC-10A Cell Growth via Cell Cycle Arrest and Apoptosis Induction. *PIOs One*, **8**(9): e76000.
- WU Z., SHEN Y., ZHANG W., 2013. Two new phenolic glycosides from *Inula cappa* DC. *Natural Product Research*, **27**(8): 719-722.
- YAN H., HAIMING S., CHENG G., XIAOBO L., (2012). Chemical Constituents Of The Roots Of *Inula helenium*. *Chemistry of Natural Compounds*, **48**(3): 522-524.
- YANG X., SU J., HE Y., LIU H., LI H., ZHANG W., (2012). Simultaneous determination of three sesquiterpene lactones from Herba *Inula* extract in rat plasma by LC/MS/MS and its application to pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B*, **903**: 40-45.
- YE P., CHEAH I. K., HALLIWELL B., (2013). High fat diets and pathology in the guinea pig. Atherosclerosis or liver damage? *Biochimica et Biophysica Acta*, **1832**: 355-364.
- YE Y., LI X. Q., TANG C. P., YAO S., (2012). Natural products chemistry research 2010's progress in China. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **10**(1): 1-12.
- YE Y. LI X. Q., TANG C.P., YAO S., (2013). Natural products chemistry research: progress in China in 2011. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **11**(2): 97-109.
- YU N-J., ZHAO Y-M., ZHANG Y-Z., LI Y-F. (2006). Japonicins A and B from the flowers of *Inula japonica*. *Journal of Asian Natural Products Research*, **8**: 385-390.
- YUE G. G. L., CHAN B. C. L., KWOK H. F., WONG Y. L., LEUNG H. W., JI C. J., K. P. FUNG, LEUNG P. C., TAN N. H., LAU C. B. S., (2013). Anti-angiogenesis and immunomodulatory activities of an anti-tumor sesquiterpene bigelovin isolated from *Inula helianthus-aquatica*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **59**: 243-252.
- ZEGGWAGH N-A., OUAHIDI M-L., LEMHADRI A., EDDOUKS M. (2006). Study of hypoglycaemic and hypolipidemic effects of *Inula viscosa* L. aqueous extract in normal and diabetic rats. *The Journal of Ethnopharmacology*, **108**: 223-227.
- ZHANG H. B., WEN J. K., WANGA Y. Y., ZHENG B., HAN M., (2009). Flavonoids from *Inula britannica* L. inhibit injury-induced neointimal formation by suppressing oxidative-stress generation. *Journal of Ethnopharmacology*, **126**:176-183.
- ZHANG T., GONG T., CHEN R. Y., YU D. Q., (2013). Two new tri-nor-eudesmanolides from *Inula racemosa*. *Journal of Asian Natural Products Research*, **15**(4): 368-372.
- ZHANG T., GONG T., YANG Y., CHEN R. Y., YU D. Q., (2012). Two new eudesmanolides from *Inula racemosa* and their bioactivities. *Phytochemistry Letters*, **5**: 229-232.
- ZHAO J., LI Y., LIU Q., GAO K., (2010). Antimicrobial activities of some thymol derivatives from the roots of *Inula hupehensis*. *Food Chemistry*, **120**: 512-516.
- ZHAO Y.M., ZHANG M.L., SHI Q.W., KIYOTA H., (2006). Chemical constituents of plants from the Genus *Inula*. *Chemistry and Biodiversity*, **3**(4), 371-384.

- ZHU Z., LUO J., DING L., BALS O., JAFFRIN M. Y., VOROBIEV E., (2013). Chicory juice clarification by membrane filtration using rotating disk module. *Journal of Food Engineering*, **115**: 264–271.
- ZHU J., QIN J., JIN H., ZHANG W., (2013). Japonicones Q–T, four new dimeric sesquiterpene lactones from *Inula japonica* Thunb., *Fitoterapia*, **84**: 40-46.
- ZOU Z.-M., XIE H.-G., ZHANG H.-W., XU L.-Z. (2008). Inositol angelates from the whole herb of *Inula cappa*. *Fitoterapia*, **79**: 393-394.

## ÖZGEÇMİŞ

### I- BİREYSEL BİLGİLER

**Adı:** Melek  
**Soyadı:** KARACAOĞLU  
**Doğum Yeri:** ADANA  
**Doğum Tarihi:** 23.07.1987  
**Medeni Hal:** Bekar  
**İletişim Adresi:** Mebusevleri Mah. Ergin Sok. 27/8 Tandoğan/ANKARA  
**Telefon:** 0 312 203 30 97

### II- EĞİTİM

- Yüksek Lisans: **Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 2011-**
- Lisans: **Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 2011**
- Lise: **Ayşe Atıl Anadolu Öğretmen Lisesi, 2005**
- Ortaokul: **Sıtkı Kulak İlköğretim Okulu, 2001**
- İlkokul: **Emine Sapmaz İlkokulu, 1998**

### III- ÜNVANI

Eczacı

#### **IV- YABANCI DİL**

İngilizce

#### **V- YAYINLAR**

GÖKBULUT, A., ÖZHAN, O., KARACAOĞLU, M., ŞARER, E., (2012). Radical scavenging activity and vitexin content of *Vitex agnus-castus* leaves and fruits. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 35: 85-91.

#### **VI- POSTER BİLDİRİLER**

**1-5 Eylül 2013**, 61th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research, Münster, ALMANYA.  
“In vitro antioxidant activity, total phenolic content and phenolic composition of *Inula heterolepis*” Karacaoğlu, M., Gökbulut, A., Özhan, O., Şarer, E.