



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**INULA OCULUS-CHRISTI L. ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Onural ÖZHAN

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Engin ŞARER**

2012- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**INULA OCULUS-CHRISTI L. ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Onural ÖZHAN

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Engin ŞARER**

2012- 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: 12/09/2012

Prof. Dr. Engin ŞARER
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Osman ÜSTÜN
Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Nurgün KÜÇÜKBOYACI
Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Ayşegül GÜVENÇ
Ankara Üniversitesi

Doç. Dr. M. Levent ALTUN
Ankara Üniversitesi
Raportör

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	xi
Çizelgeler	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Asteraceae Familyasının Botanik Özellikleri	5
1.2. <i>Inula</i> L. Cinsinin Botanik Özellikleri	6
1.3. Türkiye’ de Yetişen <i>Inula</i> Türleri	7
1.3.1. <i>Inula oculus-christi</i> L.’ nin Sistematikteki Yeri	8
1.4. <i>Inula</i> Türlerinin Etken Maddeleri	11
1.5. <i>Inula</i> Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	12
1.6. <i>Inula oculus-christi</i> Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	32
1.7. <i>Inula</i> Türlerinin Farmakolojik Aktiviteleri	35
1.7.1. Antiproliferatif ve Sitotoksik Etki	35
1.7.2. Antioksidan Etki	39
1.7.3. Antimikrobiyal Etki	40
1.7.4. Antifeedant Etki	47
1.7.5. Antiinflamatuvar Etki	48
1.7.6. Antipiretik Etki	48
1.7.7. Antidiyabetik Etki	49
1.7.8. Hepatoprotektif Etki	50
1.7.9. Antihelmintik Etki	51
1.7.10. Diğer Etkiler	51
1.8. <i>Inula</i> Türlerinin Kullanılışı	53

2. GEREÇ VE YÖNTEM	59
2.1. Bitkisel Materyal	59
2.2. Fitokimyasal Çalışmalar	59
2.2.1. Ekstraksiyon Yöntemi	59
2.2.2. Total Fenol Miktar Tayini	60
2.2.3. <i>Inula oculus-christi'</i> nin İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi	61
2.2.4. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Fenolik Bileşiklerin Analizi	61
2.2.5. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini	63
2.2.6. LOD ve LOQ Değerlerinin Hesaplanması	65
2.2.7. <i>Inula oculus-christi</i> Üzerinde Yapılan İzolasyon ve Yapı Tayini Çalışmaları	66
2.2.7.1. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi	66
2.2.7.2. Ultraviyole Spektroskopisi	66
2.2.7.3. Kütle Spektroskopisi	66
2.3. Antimikrobiyal Aktivite	67
3. BULGULAR	69
3.1. <i>Inula oculus-christi'</i> den Elde Edilen Ekstreler	69
3.2. Total Fenol Miktar Tayini Bulguları	70
3.3. <i>Inula oculus-christi'</i> nin İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi	72
3.4. <i>Inula oculus-christi'</i> deki Bazı Fenolik Bileşiklerin Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Teşhisi	75
3.5. <i>Inula oculus-christi'</i> deki Bazı Fenolik Bileşiklerin Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Miktar Tayini	80
3.5.1. Standart Bileşiklere Ait Kalibrasyon Eğrileri ve Doğru Denklemleri	81
3.5.2. Standart Bileşiklerin LOQ Konsantrasyonlarındaki Alan Ortalamaları, Standart Sapma (SD) ve Bağıl Yüzde Standart Sapma (% RSD) Değerleri	86
3.6. <i>Inula oculus-christi'</i> de Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi ile İzolasyon Çalışmaları	87

3.7.	İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini Bulguları	90
3.7.1.	İzole edilen Luteolin Bileşiğinin HPLC Kromatogramı ve UV Spektrumu	90
3.7.2.	İzole edilen Apigenin Bileşiğinin HPLC Kromatogramı ve UV Spektrumu	92
3.7.3.	İzole edilen Terpenik Yapıdaki A Bileşiğinin HPLC Kromatogramı, UV ve LC-MS Spektrumu	94
3.8.	Antimikrobiyal Aktivite	96
4.	TARTIŞMA	97
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	100
	ÖZET	103
	SUMMARY	104
	KAYNAKLAR	105
	ÖZGEÇMİŞ	117

ÖNSÖZ

Asteraceae familyasında bulunan, dünyada yaklaşık 100' e yakın türü bulunan *Inula* L. cinsine dahil olan bitkiler, yeryüzünde geniş bir habitat içerisinde yetişmektedir. Yurdumuzda doğal olarak yetişen *Inula oculus-christi* L., halk arasında idrar yolu hastalıklarının ve böbrek taşlarının tedavisinde ve yara iyileştirici etkisi nedeniyle kullanılmaktadır. Sınırlı sayıda yapılan fizyokimyasal araştırmalar ve aktivite çalışmalarında, bitkiden izole edilen bileşiklerin önemli farmakolojik aktivitelere sahip olduğu belirtilmiştir. Bitki üzerinde yapılan yurtiçi ve yurtdışı çalışmaların yetersiz olması, bizi bu tür üzerinde farmakognozik araştırmalar yapmaya yöneltmiştir. Bitki üzerinde ekstraksiyon, miktar tayini, izolasyon, yapı tayini ve antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılarak elde edilen yeni verilerle bilime ve sağlığa katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

Çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen tez danışmanım, Sayın Hocam Prof. Dr. Engin ŞARER' e teşekkürlerimi sunarım.

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarımı yönlendiren İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Selami GÜNAL' a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında Merkez Laboratuvarını kullanmama olanak sağlayan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı' na teşekkürlerimi sunarım.

Anabilim Dalımızın tüm değerli hocalarına ve Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bitkinin teşhis edilmesinde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Zeki AYTAÇ' a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

^{13}C NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance
^1H NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
<i>A. baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>A. castellanii</i>	<i>Acanthamoeba castellanii</i>
ALP	Alkalin Fosfataz
Aort	Absorbans ortalaması
<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
C	Konsantrasyon
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
CFU	Colony-Forming Unit
COSY	Correlation Spectroscopy
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
<i>E. aerogenes</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>E. carotovora</i>	<i>Erwinia carotovora</i>
<i>E. cloacae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>E. faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>

ESI+	Pozitif Elektro Sprey
FAB-MS	Fast Atom Bombardment Mass Spectroscopy
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
<i>G. candidum</i>	<i>Geotrichum candidum</i>
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
GC	Gas Chromatography
GC/MS	Gas Chromatography/Mass Spectrometry
GMK	Green Monkey Kidney
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
DAD	Diode Array Detection
HSV-1	Tip-I <i>Herpes simplex</i> virüs
IC ₅₀	Inhibitory Concentration 50 %
IR	Infrared
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>L. decemlineata</i>	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>
<i>L. infantum</i>	<i>Leishmania infantum</i>
LC	Liquid Chromatography
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantification
LPS	Lipopolisakkarit
<i>M. luteus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
MIC	Minimum Inhibition Concentration
MPLC	Medium Pressure Liquid Chromatography

MS	Mass Spectrometry
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromit
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOE	Nuclear Overhauser Effect
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>P. fluorescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>P. mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>P. vulgaris</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
PS	Protein S
R ²	Korelasyon Katsayısı
Rf	Retention Factor
RI	Retansiyon İndisi
rpm	Revolutions per minute
RSD	Relative Standard Deviation
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. boydii</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>S. brevicaulis</i>	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>
<i>S. dysenteriae</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>S. marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>S. oryzae</i>	<i>Sarocladium oryzae</i>
<i>S. saprophiticus</i>	<i>Staphylococcus saprophiticus</i>
<i>S. typhi</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>S. typhimurium</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>

SD	Standard Deviation
SGOT	Serum Glutamik Oksaloasetik Transaminaz
SGPT	Serum Glutamik Pirüvik Transaminaz
SRB	Sülfürodamin B
<i>T. colubriformis</i>	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>
<i>T. mentagrophytes</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
<i>T. vaginalis</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>T. violaceum</i>	<i>Trichophyton violaceum</i>
TCM	Traditional Chinese medicine
TFA	Trifloroasetik asit
Th	T helper
TLC	Thin Layer Chromatography
UV	Ultraviole

ŞEKİLLER

Şekil 1.	<i>Inula oculus-christi</i> L.	10
Şekil 2.	Gallik asite ait kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi (Total fenol miktar tayini)	71
Şekil 3.	<i>I. oculus-christi'</i> nin topraküstü kısmının metanol ve diklorometanlı total ekstralarının, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde, anisaldehit/H ₂ SO ₄ reaktifi ile muamele sonrası; görünürde, UV 366 nm' de ve UV 254 nm' deki TLC kromatogramları	73
Şekil 4.	<i>I. oculus-christi'</i> nin topraküstü kısmının metanollü total ekstresinin, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde, anisaldehit/H ₂ SO ₄ reaktifi ile muamele sonrası; görünürde, UV 366 nm' de ve UV 254 nm' deki TLC kromatogramları	73
Şekil 5.	<i>I. oculus-christi</i> bitkisinin metanol ile hazırlanmış çiçek ekstresinin 270 nm'deki HPLC kromatogramı	75
Şekil 6.	<i>I. oculus-christi</i> bitkisinin metanol ile hazırlanmış yaprak ekstresinin 270 nm'deki HPLC kromatogramı	76
Şekil 7.	<i>I. oculus-christi</i> bitkisinin metanol ile hazırlanmış kök ekstresinin 270 nm'deki HPLC kromatogramı	76
Şekil 8.	<i>I. oculus-christi</i> ekstralarında bulunan gallik asitin UV spektrumu	77
Şekil 9.	<i>I. oculus-christi</i> ekstralarında bulunan klorojenik asitin UV spektrumu	77
Şekil 10.	<i>I. oculus-christi</i> ekstralarında bulunan ferulik asitin UV spektrumu	78
Şekil 11.	<i>I. oculus-christi</i> ekstralarında bulunan luteolinin UV spektrumu	78
Şekil 12.	<i>I. oculus-christi</i> ekstralarında bulunan apigeninin UV spektrumu	79

Şekil 13.	Gallik asite ait kalibrasyon eğrisi (Gallik asit miktar tayini)	81
Şekil 14.	Klorojenik asite ait kalibrasyon eğrisi	82
Şekil 15.	Ferulik asite ait kalibrasyon eğrisi	83
Şekil 16.	Luteoline ait kalibrasyon eğrisi	84
Şekil 17.	Apigenine ait kalibrasyon eğrisi	85
Şekil 18.	<i>I. oculus-christi'</i> nin topraküstü kısmının metanollü ekstresinin, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde, anisaldehit/H ₂ SO ₄ reaktifi ile muamele sonrası; izolasyondan önce ve sonra elde edilen preparatif TLC kromatogramları	87
Şekil 19.	<i>I. oculus-christi'</i> nin topraküstü kısmının metanollü ekstresi ve izole edilen luteolin ve apigenin tatbik edilmiş plağın, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde, anisaldehit/H ₂ SO ₄ reaktifi ile muamele sonrası elde edilen TLC kromatogramları	89
Şekil 20.	<i>I. oculus-christi'</i> nin topraküstü kısmının metanollü ekstresi ve izole edilen terpenik yapıdaki A bileşiği tatbik edilmiş plağın, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde, anisaldehit/H ₂ SO ₄ reaktifi ile muamele sonrası elde edilen TLC kromatogramları	89
Şekil 21.	İzole edilen luteolin bileşiğinin 340 nm' deki HPLC kromatogramı	90
Şekil 22.	Luteolin standart bileşiğinin 340 nm' deki HPLC kromatogramı	91
Şekil 23.	İzole edilen luteolin bileşiği ile standart olarak kullanılan luteolin bileşiğinin UV spektrumları	91
Şekil 24.	İzole edilen apigenin bileşiğinin 340 nm' deki HPLC kromatogramı	92
Şekil 25.	Apigenin standart bileşiğinin 340 nm' deki HPLC kromatogramı	93
Şekil 26.	İzole edilen apigenin bileşiği ile standart olarak kullanılan apigenin bileşiğinin UV spektrumları	93

Şekil 27.	İzole edilen terpenik yapıdaki A bileşğinin 220 nm' deki HPLC kromatogramı	94
Şekil 28.	İzole edilen terpenik yapıdaki A bileşğinin UV spektrumu	94
Şekil 29.	İzole edilen terpenik yapıdaki A bileşğinin LC-MS spektrumu (1)	95
Şekil 30.	İzole edilen terpenik yapıdaki A bileşğinin LC-MS spektrumu (2)	95

ÇİZELGELER

Çizelge 1.	<i>I. oculus-christi</i> bitkisinin uçucu yağının içerisinde bulunan bileşikler	33
Çizelge 2.	Çeşitli <i>Inula</i> türlerinden elde edilen ekstrelerin <i>in vitro</i> sitotoksik aktivitesi	36
Çizelge 3.	<i>I. oculus-christi'</i> den izole edilen seskiterpen laktonların MDBK, MCF7 ve WHEI164 hücrelerine karşı gösterdikleri IC ₅₀ değerleri	38
Çizelge 4.	<i>I. oculus-christi</i> bitkisinin sulu ekstresinin antimikrobiyal aktivitesi	45
Çizelge 5.	<i>I. oculus-christi</i> sulu ekstresinin <i>A. castellani</i> trofozoitlerinin proliferasyonu üzerine etkisi	46
Çizelge 6.	<i>I. oculus-christi</i> sulu ekstresinin <i>A. castellani</i> kistlerinin proliferasyonu üzerine etkisi	46
Çizelge 7.	HPLC analizinde gradient elüsyon için kullanılan çözücülerin oranları	62
Çizelge 8.	<i>I. oculus-christi'</i> den elde edilen ekstrelerin miktarları ve verimleri	69
Çizelge 9.	Gallik asit çözeltilerinin konsantrasyonları ve absorbands değerleri	70
Çizelge 10.	<i>I. oculus-christi'</i> nin topraküstü ve kök ekstrelerinden hazırlanan çözeltilerin absorbands değerleri	71
Çizelge 11.	<i>I. oculus-christi'</i> nin topraküstü ve kökünün metanollü ekstrelerinin total fenol miktarı	72
Çizelge 12.	HPLC ile analizi gerçekleştirilen fenolik bileşiklerin retansiyon zamanları	75
Çizelge 13.	<i>I. oculus-christi</i> bitkisinin çiçek, yaprak ve köklerinin metanollü ekstrelerindeki fenolik bileşiklerin yüzde (%) miktarları	80
Çizelge 14.	Gallik asite ait konsantrasyon ve pik alanları ortalama değerleri	81

Çizelge 15.	Gallik asite ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri	81
Çizelge 16.	Klorojenik asite ait konsantrasyon ve pik alanları ortalama değerleri	82
Çizelge 17.	Klorojenik asite ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri	82
Çizelge 18.	Ferulik asite ait konsantrasyon ve pik alanları ortalama değerleri	83
Çizelge 19.	Ferulik asite ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri	83
Çizelge 20.	Luteoline ait konsantrasyon ve pik alanları ortalama değerleri	84
Çizelge 21.	Luteoline ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri	84
Çizelge 22.	Apigenine ait konsantrasyon ve pik alanları ortalama değerleri	85
Çizelge 23.	Apigenine ait doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri	85
Çizelge 24.	LOQ konsantrasyonuna göre hazırlanarak standart olarak kullanılan fenolik bileşiklerin piklerinin ortalaması, standart sapma ve bağıl yüzde standart sapma değerleri	86
Çizelge 25.	<i>I. oculus-christi</i> ' nin çiçek, yaprak ve kökünden metanolle hazırlanan ekstrelerin MIC (mg/ml) değerleri	96

1. GİRİŞ

Asteraceae (Compositae) familyası 1 000' den fazla cinse ait; tıbbi ve ekonomik değeri yüksek olan yaklaşık 25 000-30 000 arasında tür ile temsil edilen çok geniş bir taksondur. Familyaya ait; *Aster*, *Inula*, *Xanthium*, *Eupatorium*, *Carpesium*, *Saussurea* ve *Taraxacum* cinsleri çeşitli ilaçların bileşimine giren etken maddeleri içeren; dolayısıyla tıbbi değeri yüksek olan türleri kapsar. Bu familyaya özgü birçok tür; ilaç elde edilğinde, kauçuk kaynağı ve pestisit olarak, yemeklik yağ elde etmek amacıyla, ve sebze olarak kullanılır. Bazı türlerin süs bitkisi olarak kullanımı oldukça yaygındır. Familyanın üyelerinden izole edilen çeşitli etken madde grupları arasında; uçucu yağlar, monoterpenler, seskiterpenler, seskiterpen laktonlar ve diğer seskiterpen türevleri, diterpenler, triterpenler, flavonoidler, fenolik asitler, steroidler, benzofuranlar, glikolipitler, poliasetilenler ve aminoasit türevleri sayılabilir (Ferreira ve ark., 2004, Bai ve ark., 2005, Wu ve ark., 2006, Manez ve ark., 2007, Qin ve ark., 2008).

Asteraceae familyasında bulunan ve dünyada yaklaşık 100'e yakın tür ile temsil edilen *Inula* L. cinsi, Akdeniz Bölgesi başta olmak üzere; Avrupa, Asya ve Afrika kıtalarında naturalize olmuş; kuru, kayalık, dağlık bölgelerden, nemli, gölgeli, alçak alanlara kadar geniş bir habitat gösteren türleri içermektedir. Bu türler, birkaç santimetreden 3 metreye kadar değişebilen çeşitli boylarda, genelde çok yıllık, bazen de tek yıllık olan bitkilerden oluşmaktadır. *Inula* isminin ilk Romalılar tarafından telaffuz edildiği ve Truvalı Helen'in şöhretinden ileri geldiği öne sürülmüştür. Antik çağda, kültüre alınan birçok çiçekli *Inula* türünün bahçelerde süs bitkisi olarak yaygın olarak kullanıldığı belirtilmiştir. Boyu küçük olan çiçekli türler, kayalık alanlardaki bahçelerde süs bitkisi olarak yetiştirilirken; daha yaygın olan iri yapraklı büyük türler ise çeşitli arazilerin sınırlarını belirlemek için kullanılmıştır (Zhao ve ark., 2006, Berk ve ark., 2011, Değerli ve ark., 2012).

Inula L. türlerinden birçoğu, geleneksel halk ilacı olarak kullanılmaktadır. *Inula britannica*, *I. racemosa*, *I. hupahensis*, *I. serrata*, *I. heterolepis* başta olmak üzere, birçok *Inula* türü Türkiye' nin de dahil olduğu pekçok ülkede halk arasında geleneksel olarak kullanılmaktadır. Çeşitli *Inula* türlerinin halk arasında; iskemik kalp rahatsızlıklarını, anjina pektoris, hipoglisemiyi, karaciğer hasarlarını, gastroduodenal rahatsızlıkları, ülseri, bronşiti, romatizmal şikayetleri, migren ve cilt enfeksiyonlarını tedavi etmek amacıyla; ayrıca akciğer toniği, analjezik ve antiproliferatif özellikleri nedeniyle geleneksel olarak kullanımı vardır. Yine geleneksel tıpta *Inula* türleri; tüberküloz, anemi, malarya ve üriner sistem hastalıklarının tedavisinde ve astrenjan özelliği nedeniyle de sıklıkla kullanılmaktadır. Çin' de 20' den fazla türü bulunan *Inula* cinsine ait bitkilerden birçoğu geleneksel Çin Tıbbında; peptik etkileri, balgam söktürücü, detumesans, antiinflamatuvar ve vermifuj özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır (Yang ve ark., 2003, Abdel-Wahhab ve ark., 2008, Abou-Douh, 2008).

Inula türleri üzerinde çeşitli biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır ve bu çalışmalarda; *Inula* türlerinin antifungal, kardiyoprotektif, antianjinal, antidiyabetik ve sitotoksik etkileri rapor edilmiştir. *I. racemosa* ve *I. britannica* türlerinin hepatoprotektif etkileri özellikle vurgulanmıştır. *I. helenium*, *I. racemosa*, *I. viscosa*, *I. britannica* ve *I. japonica* başta olmak üzere, tıbbi değeri yüksek olan türler üzerindeki çalışmalar son yıllarda oldukça artmıştır. *I. helenium* bitkisinin ekspektoran, diyaforetik ve bakterisidal olarak kullanıldığı kaydedilmiştir. *Inula britannica* ve *Inula japonica* bitkilerinin çiçekleri; tümör tedavisinin yanında bakteriyal/viral enfeksiyonların ve inflamasyonların tedavisinde kullanılmaktadır. *Inula viscosa* antispazmodik, sedatif, ekspektoran, antiseptik, yara iyileştirici, antiromatizmal, antihemoroidal, antipiretik, antidiyabetik ve antihelmintik olarak kullanılmaktadır (Saygı ve ark., 2003, Stojakowska ve ark., 2006, Zhao ve ark., 2006).

Inula türlerinin kimyasal içeriğini incelediğimizde; uçucu yağlar, monoterpenler, seskiterpenler, seskiterpen laktonlar ve diğer seskiterpen türevleri, diterpenler,

triterpenler, steroidler, flavonoidler, fenolik asitler, glikolipitler ve aminoasit türevlerinin varlığı göze çarpmaktadır. Seskiterpen laktonlar çeşitli familyalara ait bitkilerin içeriğinde yer almasına rağmen, Asteraceae familyasındaki *Inula* türlerinde oldukça yüksek miktarlarda bulunmaktadır. *Inula* cinsine ait bitkilerden elde edilen özellikle ödesmanolitler, guayanolitler ve germakranolitler başta olmak üzere, seskiterpen lakton yapısındaki bileşik grupları bu cins için karakteristik bileşiklerdir. Seskiterpen lakton yapısındaki bileşiklerin miktar tayini, geleneksel Çin tıbbında (TCM) kullanılan türlerin standardizasyonunda ve kalite kontrolünde önemli yere sahiptir. *Inula* cinsine dahil olan bitkilerin içerdiği seskiterpen laktonlar çeşitli farmakolojik aktiviteler gösterirler. Bu aktiviteler arasında; sitotoksik, antiproliferatif, antitümöral, antibakteriyal, antifungal, antileşmancyal, antifeedant ve bitkinin büyümesini düzenleyen aktiviteler sayılabilir. Ayrıca bu bileşiklerin hipotansif, yüksek dozda hiperglisemik, düşük dozda hipoglisemik, antihelmintik, diüretik, antiinflamatuvar ve antipiretik etki gibi çok çeşitli farmakolojik etkilerinin var olduğu rapor edilmiştir (Gonzalez-Romero ve ark., 2000, Manez ve ark., 2007, Xie ve ark., 2007, Ma ve ark., 2008, Qin ve ark., 2008, Shi ve ark., 2008, Stojakowska ve ark., 2010).

Inula montana L. bitkisinin flavonoid türevlerince zengin olduğu ve bu türevlerin kanserden koruyucu ve antitümör aktivitelerinin var olduğu belirtilmiştir. *Inula britannica*, *I. salicina*, *I. bifrons*, *I. conyza* ve *I. spiraeifolia* gibi bazı *Inula* türlerinin köklerinde ana bileşen olarak timol türevlerini yüksek miktarlarda içerdikleri ve bu türlerden izole edilen timol türevlerinin, kanser hücrelerine karşı *in vitro* sitotoksik aktivite gösterdiği saptanmıştır. *Inula nervosa* köklerinden izole edilen timol türevleri, pisisidal ve antibakteriyal aktivite göstermiştir. Ayrıca timol türevlerinin insektisit etkisinden ve transdermal ilaç taşıyıcı sistemlerdeki rolünden bahsedilmektedir. Son yıllarda seskiterpen laktonlar antineoplastik ve antiinflamatuvar etkilerinden dolayı özellikle dikkat çekmektedirler. Bazı *Inula* türlerinden izole edilen flavonoidlerin önemli antioksidan aktivite ve lenfatik lösemi hücrelerine karşı kuvvetli inhibitör etki gösterdiği vurgulanmıştır. Seskiterpen

laktonların ekspektoran, kolagog ve kan basıncını düşürücü özellikleri nedeniyle terapötik kullanımlarının olduğu vurgulanmıştır (Reynaud ve Lussignol, 1999, Chen ve ark., 2007, Geng ve ark., 2007).

Inula türleri, halk ilacı olarak geleneksel tıpta ve çeşitli farmakolojik aktiviteleri nedeniyle modern tıpta yıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu türler üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonunda izole edilip yapıları aydınlatılan birçok bileşiğin önemli farmakolojik aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. *Inula* türlerinin içerdiği bileşikler nedeniyle gösterdikleri özellikle antitümoral, antiproliferatif, sitotoksik, hepatoprotektif ve antimikrobiyal aktivitelerden ötürü; bu türler üzerinde yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. *Inula* cinsine dahil olan bitkiler arasında henüz hiç çalışılmamış ya da sınırlı sayıda çalışma yapılmış türlerin varlığı, araştırmacıların ilgisini bu yöne çekmektedir. Ülkemizde de *Inula* türleri geniş bir habitat içerisinde doğal olarak yetişmesine karşın; bitkiler üzerinde yapılan kimyasal çalışmalar sınırlı sayıdadır.

Türkiye’ de doğal olarak yetişen *Inula oculus-christi* L. üzerinde ülkemizde yayınlanmış, antioksidan, antimikrobiyal, DNA hasarından koruyucu etki ve amibisidal aktivite konusunda iki çalışma olmasının yanı sıra; bu bitki üzerindeki yurtdışı yayın sayısı da çok sınırlıdır. Bu çalışmada, *I. oculus-christi* bitkisinin etken bileşikleri olan flavonoidlerinin ve terpenik bileşiklerinin incelenmesi ve bitkinin antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bazı etken bileşiklerinin izolasyon ve yapı tayinlerine de gidilmiştir. Yapılan bu çalışmalardan elde edilen veriler ışığında; bilime katkı sağlanırken, gelecek nesillerin yaşam kalitesine sağlık perspektifinden katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

1.1. Asteraceae Familyasının Botanik Özellikleri

Dünyada 1 620 cins ve 22 750' den fazla tür ile temsil edilen Asteraceae familyası üyeleri oldukça geniş habitat göstermekte ve ülkemizde de pek çok takson ile temsil edilmektedir. Türkiye' de Asteraceae familyasına dahil olan bitkiler 130 kadar cins ve yaklaşık 1 100 kadar türü kapsamaktadır. Bu familyadaki türlerin bir kısmı çalı ve ağaç formunda, birçoğu ise otsu bitkilerden oluşmaktadır. Yapraklar alternan ya da oppozit dizilişli veya hepsi tabandadır. Çiçek durumu kapitulum, tabanında braktelerden meydana gelmiş bir involukrum bulunmaktadır. Çiçekler erdişi ya da tek eşeyli, aktinomorf veya zigomorftur. Çiçeklerde kaliks; papus, halka, pul biçiminde veya körelmiştir. Korolla 5 petalli, simpetal, tüp biçiminde veya dil şeklinde uzamıştır. Tüpsü olanlar aktinomorf, dilsil olanlar zigomorftur. Stamenler 5 tane; anterleri birleşik, filamentleri serbesttir. Ovaryum alt durumlu, iki karpelden meydana gelmiş, tek ovullüdür. Meyve tipi aken, bazen tepesinde bir papus ya da kaliks artığı taşıyabilir. Asteraceae familyası bitkileri genellikle Asteraceae tipi salgı tüyü ve örtü tüyü taşır (Davis, 1982, Tanker ve ark., 2004).

Asteraceae familyası iki alt familyaya ayrılır: Tubuliflorae (Asteroideae, Tubiflorae) ve Liguliflorae (Cichorioideae). Tubuliflorae alt familyasındaki bitkilerde kapitulumdaki çiçeklerin hepsi ya da ortadakilerin bir kısmı tüp şeklinde, etrafındakiler dilsidir. Genellikle süt borusu taşımazlar. Eczacılıkta kullanılan bitkiler genelde bu taksonda bulunmaktadır. Liguliflorae alt familyasında yer alan bitkilerin kapitulumlarındaki çiçeklerin tamamı dilsidir ve bitkiler süt borusu taşır. Bu alt familyadaki bitkiler, nadir olarak uçucu yağ taşımaktadırlar (Tanker ve ark., 2004).

1.2. *Inula* L. Cinsinin Botanik Özellikleri

Dünyada yaklaşık 100 tür ile temsil edilen *Inula* cinsi, Avrupa, Asya ve Afrika' da doğal olarak yetişen bitkilerden oluşmaktadır. *Inula* cinsi, çoğunlukla çok yıllık veya yarı çalı fakat bazen tek yıllık veya iki yıllık bitkileri içerir. Gövde, dik veya yükselici, genellikle dallanmış, nadiren gövde bulunmamaktadır. Yaprak kenarları düz, testere şeklinde olabilir; yapraklar tabanda ya da sıklıkla gövde üzerinde saplıdır. Kapitulum tek veya birçok, heterogam, ışınsal ya da diskiform bazen homogam ve diskoittir. İnvolutkrum, yarı küre şeklinde veya kampanulat, involukrumu oluşturan brakteler çok sıralı, imbrikat, otsu, nadiren zarımsıdır. Reseptakulum, çıplak, düz, nadiren konvekstir. Dişi çiçekler, birkaç tane ya da çok, 1-2 sıra halinde, tüpsü, eğik, uçları 3 dişli ya da apaçık ligulat, sarı veya turuncu, nadiren dişi çiçek bulunmamaktadır. Disk şeklindeki tüpsü çiçeklerin uçları 5 loblu ve sarıdır. Akenler, kolon şeklinde veya uca doğru daralmış, köşeli veya boyuna yolludur. Papus, tabanda birleşik veya serbest, kalıcı, kaba tüylü, dikencikli veya kuş tüyümsüdür (Davis, 1982).

1.3. Türkiye' de Yetişen *Inula* Türleri

Türkiye' de toplam 27 tür ile temsil edilen *Inula* L. cinsinin, 7 taksonu endemiktir (*). Tez konusu olan *Inula oculus-christi* L. türü yurdumuzda doğal olarak yetişmektedir (Davis, 1982). TÜBİTAK Taksonomik Tür Veritabanına göre ölkemizde yetişen *Inula* türleri;

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 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 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 vulgaris (Lam.) Trevisan

1.3.1. *Inula oculus-christi* L.' nin Sistematikteki Yeri

Inula oculus-christi L.' nin TÜBİVES' e (Türkiye Bitkileri Veri Servisi) göre sistematik olarak sınıflandırılması:

Alem	: Plantae
Alt Alem	: Tracheobionta
Bölüm	: Magnoliophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Altsınıf	: Asteridae
Takım	: Asterales
Familya	: Asteraceae Giseke
Cins	: <i>Inula</i> L.
Tür	: <i>Inula oculus-christi</i> L.

Inula oculus-christi, Arnavutluk, Avusturya, Bulgaristan, Çek Cumhuriyeti, Yunanistan, Macaristan, Romanya, Sırbistan ve Türkiye başta olmak üzere; Orta Avrupa' nın doğusu, Balkan Yarımadası, Kuzey Irak, İran ve Kafkasya' da geniş bir habitat içerisinde doğal olarak yetişir (Davis, 1982).

Inula oculus-christi, 900-2300 metre yükseklikte; kumlu ve yarı nemli toprakların bulunduğu çayır ve meralar, yamaçlar, temizlenmiş orman açıklıklarında yetişen ve Haziran-Ağustos aylarında çiçek açan, rizomlu, otsu bir bitkidir. Bitkinin gövdesi 15-50 cm boyunda, sadece tepede dallanmış, ince veya kıvrıkcık tüylerle kaplıdır. 7-15 x 1-3 cm boyutundaki alt yapraklar oblanceolat, tepesi akut, tabana doğru daralmış ve bazen saplı (petiyoller 7 cm' ye kadar uzayabilir), kenarlar tam veya küçük dişli, her iki yüzeyi az çok yoğun pubesent veya yatık yumuşak tüylüdür. 3-10 x 1-2 cm boyutundaki üst yapraklar ovat, sapsız, yarı amplexikaul, tabanda kordat ve kulakçıklı ve bazen kısa dekurentdir. Kapitulular ışınsal, (1-)3-5(-12) gevşek korimboslar halindedir. İnvolutrum 1,5-2,5 cm genişliğinde; brakteler 4-5 sıralı; az çok dik veya yatık; dıştakiler eliptik veya oblanceolat, 4-8 x 1,5-2 mm boyutlarında, alt kısmı kalınlaşmış, üst kısmı otsu, yatık yumuşak tüylü, içtekiler linear lanseolat, 8-10 x 1 mm boyutlarında, sert zarımsı ve siliattır. Işınsal çiçekler çok sayıda, ligula 7-15 mm, tabanda genelde aralıklı yumuşak tüylerle örtülüdür. Disk çiçekleri 5,5-7,5 mm boyutundadır. Akenler linear, 10 çıkıntılı, 1,5-2 mm, kısa pubesenttir. Papus beyazımsı, 6-7,5 mm tüyler yaklaşık 20-25 adet, skabroz ve hafifçe tabandan birleşiktir (Davis, 1982).



Şekil 1. *Inula oculus-christi* L.

Inula oculus-christi L., Flora of Turkey' de; *Inula montana* Bieb., *Inula auriculata* Boiss. & Bal. in Boiss. ve *Inula oculus-christi* L. var. *lanigera* Boiss. olmak üzere 3 sinonimle anılmaktadır (Davis, 1982).

Inula oculus-christi, Eski Yunanca kökenli bir kelime olan ve "Kutsanmış Kişi" ya da "Tanrı' nın Oğlu" anlamına gelen "Christos" kelimesinden türemiş olup; çiçek durumunun İsa peygamberin gözünü çağrıştırmışından dolayı İngilizce' de "Christ's Eye" ismiyle tanınır. Ayrıca *Inula* cinsinin bir diğer türü olan *I. helenium* için kullanılan "Elecampane" ismiyle de anılmaktadır (Baytop, 1999).

Bitki ülkemizde "Sümenit, Şekerli ot, Yol otu, İsa gözü, Andız-pire otu ve Yünlü pirekiran" gibi çeşitli isimlerle tanınmaktadır ve Ağrı, Amasya, Ankara, Antalya, Bolu, Erzincan, Erzurum, Gümüşhane, Hakkari, Isparta, İçel, İzmir, Kars, Kastamonu, Kayseri, Konya, Malatya ve Tunceli illerinde doğal olarak yetişmektedir (Doğan, 2008, Öztürk ve Ölçücü, 2011).

Tunceli' nin Hanuşağı Köyü' nde bitkinin iekli kısımlarından hazırlanan dekoksiyon halk arasında idrar yolları hastalıklarını tedavi etmek ve böbrek taşlarını düşürmek amacıyla kullanılmaktadır. Hakkari' nin Geliřen Köyü, Yeřilova Köyü ve Derecik beldesinde 'Andız' ismiyle bilinen bitkinin çiçekleri kaynatılarak yaraların tedavisinde kullanılmaktadır. Kastamonu köylerinde, bitkinin topraküstü kısmının su ile kaynatılmasıyla elde edilen sulu ekstre, taşıdığı inulinden dolayı tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır (Doğan, 2008, ztrk ve lc, 2011).

1.4. *Inula* Türlerinin Etken Maddeleri

Inula türlerinin kimyasal içeriğini incelediğimizde; uçucu yağ, monoterpenler, seskiterpenler, seskiterpen laktonlar ve diğer seskiterpen türevleri, diterpenler, triterpenler, steroidler, flavonoidler, fenolik asitler, benzofuranlar, steroidler, glikolipitler, poliasetilenler ve aminoasit türevlerinin varlığı göze çarpmaktadır (Zhao ve ark., 2006, Qin ve ark., 2008, Manez ve ark., 2007, Stojakowska ve ark., 2010).

1.5. *Inula* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Yapılan fitokimyasal çalışmalarda aşağıda adı geçen *Inula* türlerinden izole edilen pek çok bileşiğin kimyasal yapıları, spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır.

Inula helenium

Yugoslavya' dan toplanan *I. helenium*' un topraküstü kısmından elde edilen kloroformlu ekstrenin, silikajel kolon kromatografisine uygulanması sonucu toplanan fraksiyonlardaki bileşiklerin kristallendirilmesiyle, seskiterpen lakton yapısında bileşikler izole edilmiştir. Bu bileşiklerin yapıları, NMR ve IR spektrum analiz verileri değerlendirilerek aydınlatılmıştır (Vajs ve ark., 1989).

Inula helenium bitkisinden hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağ üzerinde yapılan gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi (GC/MS) analizleri sonucu ana bileşenlerin; alantolakton (%52,4) ve izoalantolakton (%33,0) olduğu tespit edilmiştir (Bourrel ve ark., 1993).

Türkiye' de toplanan *I. helenium* subsp. *turcoracemosa* bitkisinin köklerinden su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ GC/MS ile analiz edilmiştir. Bu bitkinin uçucu yağının ana bileşenlerinin; alantolakton (% 59,16), 1-deoksiivangustin (% 8,42) ve izoalantolakton (% 7,03) olduğu belirtilmiştir (Karamenderes ve Zeybek, 2000).

Tibet' ten toplanan *I. helenium*' un köklerinin metanolle ekstraksiyonu sonucu oluşan ekstre, su ile süspand edilmiş ve sırasıyla n-hekzan, kloroform, etil asetat ve n-butanol ile fraksiyonlandırılmıştır. n-hekzan fraksiyonunun silikajel kolonda gradient elüsyonu sonucu toplanan fraksiyonlar, tekrar silikajel ve ters faz silikajel kolona uygulanmıştır. İzole edilen bileşiklerden; alantolakton, izoalantolakton,

11 α ,13-dihidroalantolakton, 11 α ,13-dihidroizoalantolakton, 5-epoksialantolakton' un kimyasal yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT, HMQC, HMBC, NOE, COSY yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Konishi ve ark., 2002).

Tayvan' da *I. helenium*' un kökleri metanol ile masere edilip, yoğunlaştırıldıktan sonra su ile süspande edilip; n-hekzan, etil asetat, kloroform ve n-butanol ile tekrar ekstre edilmiştir. Bu ekstre, silikajel kolon kromatografisine uygulanmış ve gradient elüsyon sonucu toplanan fraksiyonlardan uygun olanı, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile saflaştırılmıştır. İzole edilen seskiterpen lakton yapısındaki izokostunolit bileşiğinin kimyasal yapısı, NMR ve FAB-MS yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Chen ve ark., 2007).

Inula helenium' un metanollü kök ekstresi kloroform ile tüketildikten sonra silikajel kolona uygulanmış ve gradient elüsyon sağlanmıştır. İzole edilen ödesmanolit iskeletine sahip seskiterpen lakton bileşiklerinin yapıları, spektral yöntemlerle tayin edilmiştir (Ma ve ark., 2008).

Çin' de toplanan *I. helenium*' dan ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen ekstrenin HPLC' ye uygulanması sonucu teşhis edilen; igalan, izoalantolakton ve alantolaktonun eşzamanlı miktar tayini gerçekleştirilmiştir. *I. helenium* köklerinin alantolakton ve izoalantolakton gibi ödesmanolit yapısında seskiterpen laktonları yüksek miktarlarda ihtiva ettiği gösterilmiştir. Kromatogram üzerinde pikleri birbiriyle çakışan dugesialakton ve alloantolakton isimli iki bileşiğin ayrımı, HPLC koşulları (kolon, çözücü sistemi, sıcaklık ve akış hızı) değiştirilse bile, mümkün olmamıştır. Semipreparatif HPLC ile bu iki bileşiğin izolasyonu sağlanmıştır. Bu bileşiklerin yapı tayinleri çeşitli NMR yöntemleri ile mümkün olmuştur (Huo ve ark., 2010).

Çin' de ticari ürün olan *I. helenium*' un köklerinin etanollü ekstresi, çeşitli çözücülerle tüketildikten sonra petrol eterinde çözünen faz, silikajel kolona

uygulanarak gradient elüsyon sağlanmıştır. İzole edilen seskiterpen yapısındaki 16 bileşikten seko-guayen iskeletine sahip yeni bir bileşik olan 7S,1(10)Z-4,5-seko-guaya-1(10),11-dien-4,5-diokso' nun yapısı, spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Jiang ve ark., 2011).

Sırbistan' da ticari ürün olan *I. helenium* bitkisinin köklerinden hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağdan izole edilen ödesmanik seskiterpen laktonlardan; alantolakton, izoalantolakton ve diplofillin bileşiklerinin yapıları, çeşitli spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Stojanovic-Radic ve ark., 2012).

Rusya' dan toplanan *I. helenium* bitkisinin toprakaltı kısımlarının etanollü ekstresinin çeşitli çözücülerle tüketilmesi sonucu elde edilen etil asetatlı faz, Sefadeks LH-20 kolona uygulanarak gradient elüsyon sağlanmıştır. Toplanan fraksiyonlarda bulunan bileşikler preparatif TLC' ye uygulanarak saflaştırılmıştır. İzole edilen fenilpropanoit türevi bileşiklerin yapıları, çeşitli spektral yöntemler kullanılarak yapılmıştır (Olennikov ve Tankhaeva, 2012).

Inula viscosa

İspanya' da toplanan *I. viscosa'* nın topraküstü kısmının, Soxhlet apareyinde aseton ile ekstraksiyonu sonucu % 4,8 verimle elde edilen ekstre; bir dizi işlemin ardından kolon kromatografisine uygulanmış, toplanan fraksiyonlar içerisinde bulunan bileşiklerin kimyasal yapısı NMR ve UV spektrumları alınarak aydınlatılmıştır. Flavonoit yapısındaki bu bileşiklerin; apigenin, genkvanin, hispidulin, ramnositrin, 3-O-metilkemferol, naringenin, sakuranetin, 7-O-metilaromadendrin, 3-O-asetilaromadendrin, 3-O-asetiltaksifolin, padmatin ve 3-O-asetilpadmatin olduğu belirtilmiştir (Grande ve ark., 1985).

İstanbul çevresinden toplanan *I. viscosa'* nın topraküstü kısımlarından petrol eteri-dietil eter ile elde edilen ekstre, silikajel kolona uygulanmış ve gradient elüsyon

sonucu toplanan fraksiyonlardan preparatif TLC ile izolasyon gerçekleştirilmiştir. İzole edilen seskiterpen lakton türevi bileşiklerden; visik asit ve viskozik asitin yapıları, çeşitli spektral yöntemler ile tayin edilmiştir (Ulubelen ve ark., 1987).

Fransa' dan toplanan *I. viscosa* bitkisinin topraküstü kısımlarının asetonlu ekstresinde; flavonoit yapısındaki apigenin, hispidulin, luteolin, nepetin, ramnositrin, kersetin, aksilarin, spinasetin, sakuranetin, eriyodiktiyol, eriyodiktiyol 7-metil eter, taksifolin 3-asetat, taksifolin 7-metil eter, aromadendrin, taksifolin, izokemferit, kemferol 7-metil eter, ramnetin ve izoramnetin bileşikleri tanımlanmıştır (Wollenweber ve ark., 1991).

İspanya' dan toplanarak kurutulup toz edilmiş *I. viscosa* bitkisinin topraküstü kısımlarının, metanolde maserasyonu ile hazırlanan ekstre, silikajel kolon kromatografisine uygulanmış ve elüsyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen fraksiyonlardan herbiri ayrı ayrı orta basınçlı sıvı kromatografisi (MPLC), preparatif TLC ve preparatif HPLC' ya uygulanmıştır. Bu işlemler sonucu, seskiterpen lakton yapısında; 4 β -hidroksi-5 α -ödesma-2,11(13)-dien-12-oik asit ve 2 α -metoksi-5 α -ödesma-3,11(13)-dien-12-oik asit bileşikleriyle birlikte çeşitli alifatik seskiterpen bileşikleri izole edilmiştir. İzole edilen bu bileşiklerin kimyasal yapıları spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Sanz ve ark., 1991).

İspanya kaynaklı *I. viscosa* bitkisinin topraküstü kısımlarının asetonlu ekstresinin hekzanda çözünen fazı, silikajel kolona uygulanıp hekzan ve etil asetat karışımı ile elüe edilmiştir. Triterpenik bileşiklerden; taraksasterol, taraksasteril asetat, fridelin, 3-epifridelinol ve 3 β -asetoksidamara-20,25-dien-24-ol bileşikleri izole edilmiştir (Grande ve ark., 1992).

Türkiye' den toplanan *I. viscosa* bitkisinden su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ üzerinde yapılan GC ve GC/MS analizleri ile yağın ana bileşenlerinin;

borneol (% 25,2), izobornil asetat (% 22,5) ve bornil asetat (% 19,5) olduğu belirtilmiştir (Perez-Alonso ve ark., 1996).

Ürdün kaynaklı *I. viscosa* bitkisinden çeşitli ekstralarının sulu metanolde çözünen fraksiyonu, kolon kromatografisine ve TLC'ye uygulanmıştır. İzole edilen seskiterpen yapısındaki bu bileşikler; 11(13)-ödesmen-12-oik asit, 3 β -hidroksiilisik asit, 3 α -hidroksi-epi-ilisik asit, 2 α -hidroksiilisik asit ve 9 β -hidroksi-2-oksoizokostik asittir (Zarga ve ark., 2002).

İspanya' dan toplanan *I. viscosa* bitkisinin topraküstü kısımları, n-hekzan ile temizlendikten sonra, metanol ile masere edilmiştir. Elde edilen ekstre, diklorometan ve etil asetat çözücülerini ile partisyona uğratılmıştır. Diklorometan fazı kolon kromatografisine uygulanmış ve gradient elüsyon gerçekleştirilmiştir. Toplanan fraksiyonlar sefadeks kolona uygulanmış ve elüsyon sonucu seskiterpen lakton yapısındaki inuviskolit bileşiği, flavonoit yapısında; ramnositrin, 7-O-metilaromadendrin, 3-O-asetilpadmatin bileşikleri ve glikolipit türevi bir bileşik olan inugalaktolipit A bileşiği izole edilerek yapısı aydınlatılmıştır (Manez ve ark., 1999).

Inula viscosa yapraklarının borat tamponu ile hazırlanan ekstresi, vakum sıvı kromatografisi ile fraksiyonlandırılmıştır. İzole edilen seskiterpen lakton yapısındaki tayunin bileşiğinin yapısı, çeşitli spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Maoz ve ark., 1999).

Türkiye kaynaklı *I. viscosa*'nın topraküstü kısımlarından su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ GC/MS ile analiz edilmiştir. *I. viscosa* uçucu yağının ana bileşenlerinin; karvakrol (% 18,6), L-borneol (% 7,53) olduğu belirtilmiştir (Karamenderes ve Zeybek, 2000).

Ürdün' den toplanan *I. viscosa*, oda sıcaklığında etanolla ekstre edildikten sonra yoğunlaştırılıp, kloroform ve su ile partisyona uğratılmıştır. Kloroformlu faz

yoğunlaştırılıp metanol ve n-hekzan ile tekrar partisyona uğratılmıştır. Sulu metanollü faz kolon kromatografisine uygulanmış ve toplanan fraksiyonlara uygulanan bir dizi işlem sonucu izole edilen seskiterpen lakton iskeletine sahip ilisik asit türevlerinin yapıları çeşitli spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Zarga ve ark., 2002).

Sardinya Adası' nda toplanan *I. viscosa* bitkisinden süperkritik CO₂ ekstraksiyonu ve fraksiyonlu distilasyon ile elde edilen ekstrelerin GC/MS analizleri sonucu; ana bileşenlerin, globulol (% 15,0), 8-izobutiriloksi-izobornil izobutirat (% 13,1), viridiflorol (% 8,3), karyofillen oksit (% 8,2) olduğu belirtilmiştir (Marongiu ve ark., 2003).

Korsika' dan toplanan *Dittrichia viscosa* subsp. *viscosa* bitkisinden su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın GC analizi sonucu teşhis edilen 71 bileşikten, ana bileşenlerin; fokienol (% 21,1), (E)-nerolidol (% 8,6) ve ödesm-6-en-4 α -ol (% 6,2) olduğu belirtilmiştir (Blanc ve ark., 2006).

Inula viscosa' nın topraküstü kısımlarından elde edilen asetonlu ekstrenin, petrol eteri ile temizlenmesinden sonra, silikajel kolonda elüsyonu sonucu izole edilen seskiterpen lakton yapısındaki bileşiklerden; 2,5-dihidroizokostik asit ve 2,3-dihidroizokostik asitin yapısı, NMR tekniği kullanılarak aydınlatılmıştır (Fontana ve ark., 2007).

İsrail' de kültüre alınmış *I. viscosa*'nın taze yapraklarından elde edilen metanollü ekstrenin preparatif HPLC' ye uygulanması sonucu izole edilen kafeoilkinik asit ve türevlerin yapısı NMR ile aydınlatılmıştır (Danino ve ark., 2009).

Ürdün kaynaklı *I. viscosa* bitkisinin etanollü ekstresi, çeşitli çözücülerde partisyona uğratıldıktan sonra, sulu metanollü faz, silikajel kolona uygulanmış ve nepetin, 3,3'-

di-*O*-metilkersetin, hispidulin, 3-*O*-metilkersetin flavonoitleri başta olmak üzere, 13 yeni bileşik izole edilmiştir (Talib ve ark., 2012).

Inula britannica

Batı Anadolu' dan toplanan *I. britannica*' nın topraküstü kısımlarının petrol eteri-dietil eter karışımı ile elde edilen ekstresi, silikajel kolona uygulanıp triterpenik yapıda 3 β ,16 β -dihidroksilupeol-3-palmitat, 3 β -16 β -dihidroksilupeol-3-miristat, epifridelinol, β -amirin palmitat ve olean-13(18)-en-3-asetat bileşikleri izole edilerek yapıları tayin edilmiştir (Öksüz ve Topçu, 1987).

Batı Anadolu' dan toplanan *I. britannica* bitkisinin topraküstü kısımları % 80' lik etanol ile ekstre edilip, su ile süspande edildikten sonra, n-hekzan, kloroform ve etil asetat ile tüketilmiştir. Etil asetatlı fraksiyondan izole edilen flavonoitlerden; kersetin-3-glukozit, 6-metoksikersetin-7-glukozit, kersetin-7-glukozit, 6-metoksiluteolin-7-glukozit, kersetin-3-sülfat ve 6-hidroksikemferol-3-sülfat bileşiklerinin yapı tayinleri çeşitli NMR yöntemleri kullanılarak yapılmıştır (Öksüz ve Topçu, 1987).

Çin' de toplanan *I. britannica* var. *chinensis*' in çiçeklerinin % 95' lik etanollü ekstresinin kloroformda çözünen kısmının, silikajel kolon kromatografisinde elüsyonu sonucu; britanilakton, 1-*O*-asetilbritanilakton ve 1,6-*O*-*O*-diasetilbritanilakton bileşikleri izole edilmiş ve bu bileşiklerin yapı tayini gerçekleştirilmiştir (Zhao ve ark., 1993).

Çin'in kuzeybatısından toplanan *I. britannica* var. *chinensis* bitkisinin çiçeklerinin etanollü ekstresi, su ile süspande edilip petrol eteri, kloroform, etil asetat ve n-butanol ile tüketilmiştir. n-butanollu fraksiyon, silikajel ve sefadeks kolon kromatografisine uygulanarak saflaştırılmıştır. İzole edilen diterpenik bileşiklerden; (16*R*)-17-[(β -*D*-glukopiranozil)oksi]-ent-kauran-19-oik asit ve (16*R*)-17-[(β -*D*-

glukopiranozil)oksi]-ent-kauran-19-oik asit-19- β -D-glukopiranozit bileşiklerinin yapıları NMR yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Shao ve ark., 1996).

Inula britannica' nın çiçeklerinin metanollü ekstresi, su ile süspande edilip, n-hekzan kloroform ve n-butanol ile fraksiyonlandırılmıştır. n-butanollu fraksiyon, silikajel kolona uygulanmış ve gradient elüsyon gerçekleştirilmiştir. Toplanan eluentler jel permasyon kromatografisi, sefadeks kolon kromatografisi, preparatif TLC ve HPLC ile saflaştırılmıştır. İzole edilen flavonoit bileşiklerinden; patuletin 7-O-(6"-izobutiril)glukozit, patuletin 7-O-[6"-(2-metilbutiril)]glukozit, patuletin 7-O-(6"-izovaleril)glukozit, kemferol 3-glukozit, izoramnetin 3-glukozit, hispidulin 7-glukozit, patulitrin, nepitrin, kemferol, aksilarin, patuletin ve luteolin' in yapıları çeşitli spektral yöntemlerle aydınlatılmıştır (Park ve ark., 2000).

Kore kaynaklı *I. britannica* bitkisinin çiçeklerinden elde edilen n-butanollü ekstrenin, kolon kromatografisine uygulanmasının ardından toplanan fraksiyonların preparatif TLC ile saflaştırılmasıyla izole edilen bileşikler, ters faz HPLC ile analiz edilmiştir. Buna göre bitkinin çiçeklerinden elde edilen n-butanol ekstresinin; asetilenmiş flavonoit glikozitlerinden; patuletin 7-O-(6-izobutiril)glukozit, patuletin 7-O-[6-(2-metilbutiril)]glukozit, patuletin 7-O-(6-izovaleril)glukozit içerdiği ve bunun yanında flavonoitlerden; patuletin, patulitrin, nepetin, nepitrin, kemferol, kemferol 3-glukozit, aksilarin, hispidulin 7-glukozit ve izoramnetin 3-glukozit bileşiklerini içerdiği belirtilmiştir. Bu bileşiklerin kimyasal yapıları spektral analiz yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Park ve ark., 2000).

Inula britannica var. *chinensis* bitkisinin çiçeklerinin % 95' lik etanollü ekstresi, etil asetat ile muamele edilip önce silikajel kolona, daha sonra sefadeks kolona uygulanmıştır. İzole edilen flavonoit bileşiklerinden; luteolin, diosmetin, krizoeriyol, kemferol, kersetin, 6-hidroksiluteolin-6-metil eter, spinasetin ve öpatin' in yapıları NMR yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Bai ve ark., 2005).

Inula britannica bitkisinin topraküstü kısımları kloroform ile ekstre edilmiş ve triterpenik yapıda, taraksasteril asetat, β -amiren ve lupeol bileşikleri izole edilmiştir (Wu ve ark., 2006).

Çin’ de yerel marketlerden temin edilen *I. britannica* bitkisinin çiçeklerinin, Soxhlet apareyinde % 80’ lik etanolla ekstraksiyonu sonucu % 4’lük verimle elde edilen total flavonoit ekstresindeki flavonoitler, ters faz HPLC ile teşhis edilmiştir. Bu flavonoitler ve ekstre içerisindeki verim yüzdeleri şöyledir; % 45,5 kersitrin, % 25,85 luteolin, % 12,96 6-metoksiluteolin, % 4,33 spinasetin ve % 1,85 izoramnetin (Geng ve ark., 2007).

Çin’de yerel marketlerden alınan *I. britannica* bitkisinin çiçeklerinin ekstraksiyonu sonucu elde edilen metanollü fraksiyonun ters faz HPLC ile analizi sonucu, bitkinin seskiterpen lakton yapısında; 1-*O*-asetilbritannilakton, hidroksilantolakton, 8-epi-ivangustin, 6-izobutilbritannilakton ve 1,6-*O,O*-diasetilbritannilakton içerdiği belirtilmiştir (Shi ve ark., 2008).

Inula britannica bitkisinin çiçeklerinin etanollü ekstresi su ile süspande edilip petrol eteri, etil asetat ve n-butanol ile tüketilmiştir. Silikajel kolon kromatografisi ile izole edilen seskiterpen bileşiklerden; britanlin A, B ve C bileşiklerinin yapıları çeşitli spektral analiz verileri dikkate alınarak aydınlatılmıştır (Yang ve ark., 2009).

Inula graveolens

İstanbul çevresinden toplanan *I. graveolens*’ in topraküstü kısımları petrol eteri-dietil eter-metanol ile ekstre edilmiş ve silikajel kolona uygulanmıştır. Gradient elüsyon sonucu toplanan fraksiyonların sefadeks kolona uygulanması sonucu; seskiterpen lakton yapısına sahip; 3 α -hidroksi-ödesm-4-en-12,6 β -olit, ivalin ve 11,13-dihidroivalin bileşikleri izole edilerek yapıları, ¹H NMR ve ¹³C NMR yöntemleri kullanılarak tayin edilmiştir (Topçu ve ark., 1993).

İran' dan toplanan *I. graveolens* bitkisinden su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın içeriği GC/MS ile aydınlatılmış ve yağdaki ana bileşenlerin; borneol (% 60,7), β -karyofillen (% 8,3), bornil asetat (% 6,8), τ -kadinol (% 5,2) ve karyofillen epoksit (% 4,3) olduğu belirtilmiştir (Mirza ve Ahmadi, 2000).

Türkiye kaynaklı *I. graveolens* bitkisinin topraküstü kısımlarından su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ GC/MS ile analiz edilmiştir. *I. graveolens* uçucu yağının ana bileşenlerinin *L*-borneol (% 63,96) ve bornil asetat (% 23,04) olduğu belirtilmiştir (Karamenderes ve Zeybek, 2000).

Korsika' dan toplanan *I. graveolens* bitkisinin topraküstü kısımlarından buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ, asidik ve nötral fraksiyonlara ayrıldıktan sonra bu fraksiyonların kimyasal içeriği, GC ile analiz edilmiş ve yağda bulunan bileşiklerin yapıları GC-MS ve NMR spektroskopik yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Buna göre toplam uçucu yağın % 94' ünü oluşturan 86 bileşik (37 monoterpen, 34 seskiterpen ve 15 asiklik terpenik yapıda olmayan bileşik) tanımlanmıştır. Nötral fraksiyonu oluşturan bu 86 bileşik içerisinde, yüksek miktarda bulunan oksijenli ana bileşikler; bornil asetat (% 56,8), borneol (% 7,6) ve τ -kadinol (% 7,8)' dur. Bunun yanında uçucu yağ içerisinde; kamfen, β -pinen, limonen, ρ -menta-1,5-dien-8-ol, borneol, ρ -menta-1(7),2-dien-8-ol, α -terpineol, bornil asetat, (*E*)-karyofillen, τ -kadinen, karyofillen epoksit, karyofilla-4(14),8(15)-dien-5 α -ol bileşikleri GC ve NMR yöntemleri ile teşhis edilip yapıları aydınlatılan diğer bileşiklerdir (Blanc ve ark., 2006).

Yunanistan' dan toplanan *Dittrichia graveolens* (= *Inula graveolens*)' in topraküstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın GC/MS analizi sonucunda; yağın ana bileşenlerinin; epi- α -kadinol (% 30,2) ve bornil asetat (% 25,4) olduğu belirtilmiştir (Petropoulou ve ark, 2004).

Tunus' tan toplanan *I. graveolens* bitkisinin çiçek, yaprak ve köklerinden elde edilen uçucu yağlar GC ve GC/MS ile analiz edilmiştir. Bitkinin yapraklarından elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri; bornil asetat (% 33,4), borneol (% 19,3), τ -kadinol (% 9,2), çiçeklerinden elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri; bornil asetat (% 39,6), borneol (% 19,3), τ -kadinol (% 11,3), kamfen (% 5,5), köklerinden elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri; β -selinen (% 11,5), bornil asetat (% 5,3), karvon (% 5,0) olarak belirlenmiştir (Skhiri ve ark., 2005).

Mısır kaynaklı *I. graveolens'* in topraküstü kısımları, diklorometan-metanol (1:1) karışımı ile ekstre edildikten sonra, kolon kromatografisine uygulanmış ve elüsyon sonucu elde edilen fraksiyon, preparatif ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile saflaştırılmıştır. İzole edilen seskiterpen lakton bileşiklerinden; 3α -hidroksiilistik asit metil ester ve 2α -hidroksi-4-epilisik asit' in kimyasal yapısı çeşitli yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Abou-Douh, 2008).

Inula japonica

Moğolistan' dan toplanan *I. japonica* bitkisi, petrol eteri-dietil eter-metanol ile ekstre edilip kolon kromatografisi ve preparatif HPLC' ye uygulanmıştır. İzole edilen seskiterpen lakton yapısındaki bileşiklerden; tomentosin (ksantalengin), $4H$ -tomentosin, 8-epidentatin, 8β -hidroksisantamarin, deasetilulisin ve inulisinin yapı tayini NMR yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir (Jeske ve ark., 1993).

Çin' de toplanan *I. japonica'* nın topraküstü kısımlarından, petrol eteri-dietileter-metanol (1:1:1) ile elde edilen ekstre silikajel kolon kromatografisine uygulanmış ve gradient elüsyon sonucu toplanan fraksiyonlar, kolon kromatografisi ve TLC' ye uygulanmıştır. İzole edilen 17 bileşikten 3 yeni bileşiğin yapıları, çeşitli spektral yöntemler ile aydınlatılmıştır. Seskiterpen lakton yapısındaki bu 3 bileşik; 1β -hidroksi- 8β -asetoksikostik asit metil eter, 1β -hidroksi- 8β -asetoksizokostik asit metil eter ve 1β -hidroksi- $4\alpha,11\alpha$ -ödesma-5-en-12, 8β -olittir (Yang ve ark., 2003).

Çin' de *I. japonica*' nın çiçeklerini içeren ticari ürünün etanollü ekstresi, su ile süspande edilip petrol eteri ile tüketilmiştir. Suda çözünen kısım, silikajel ve poliamit kolona uygulanmıştır. Japonisin A, Japonisin B, onpordin, 3'-*O*-metilorobol, nepetin, apigenin, kersetin, izokersitrin, patuletin ve luteolin flavonoitleri izole edilmiştir (Yu ve ark., 2006).

Çin' den toplanan *I. japonica* bitkisinin topraküstü kısımları etanol ile ekstre edilip petrol eteri, kloroform, etil asetat ve n-butanol ile tüketilmiştir. Petrol eterli fraksiyonu silikajel kolona uygulanmış ve gradient elüsyon gerçekleştirilmiştir. İzole edilen antranilik asit türevi bileşiklerden; *N*-araşidil antranilik asit, *N*-heneikozanoil antranilik asit, *N*-dokozanoil antranilik asit, *N*-trikozanoil antranilik asit ve *N*-tetrakozanoil antranilik asit' in yapıları spektral yöntemler ile aydınlatılmıştır (Qin ve ark., 2008).

Inula japonica' nın topraküstü kısımlarından elde edilen etanollü ekstre; petrol eteri, diklorometan, etil asetat ve n-butanol ile fraksiyonlandırılmıştır. Diklorometan ekstresi önce silikajel kolon, ardından sefadeks kolon, daha sonra ise preparatif HPLC ile saflaştırılmıştır. İzole edilen seskiterpen lakton yapısındaki Japonikon A, B, C ve D bileşiklerinin yanı sıra diterpen iskeletine sahip kauranoik asit türevlerinin yapı tayini, çeşitli spektral analiz verileri değerlendirilerek yapılmıştır (Qin ve ark., 2009a).

Çin' den toplanan *I. japonica* bitkisinin topraküstü kısımlarının etanollü ekstresi çeşitli çözücülerle partisyona uğratıldıktan sonra etil asetat fazı silikajel kolona uygulanmış ve gradient elüsyon sonucu monoterpen türevi çeşitli bileşikler izole edilmiş ve yapıları spektral yöntemler ile aydınlatılmıştır (Zhu ve ark., 2011).

Çin' de ticari ürün olan *I. japonica*' nın topraküstü kısımları, etanolla ekstre edildikten sonra, çeşitli çözücüler kullanılarak tüketilmiştir. Petrol eterli faz SiO₂ kolona uygulanarak gradient elüsyon ile saflaştırılmıştır. İzole edilen seskiterpen

yapısındaki 14 bileşikten yeni olan; (1 β ,5 α ,7 β ,8 β ,11 β)-5-hidroperoksi-1-hidroksiödesm-4(15)-eno-12,8-lakton, (1 β ,5 α ,7 β ,8 β)-8-(asetiloksi)-5-hidroperoksi-1-hidroksikostik asit metil ester, (1 β ,3 β ,4 β ,7 β ,8 β)-1,3-dihidroksiödesma-5,11(13)-dieno-12,8-lakton ve (1 β ,3 β ,4 β ,7 β ,8 β ,11 β)-1,3-dihidroksiödesm-5-eno-12,8-lakton bileşiklerinin yapısı, spektral yöntemlerle aydınlatılmıştır (Gong ve ark., 2011).

Inula macrophylla

Inula macrophylla bitkisinin metanollü yaprak ekstresi, suda süspande edilip partisyona uğratılmıştır. Kloroform fraksiyonu, silikajel kolona uygulanıp toplanan fraksiyonlar HPLC ve jel permasyon kromatografi teknikleri ile saflaştırılmıştır. İzole edilen siklik seskiterpen yapısındaki makrofilol A ve B bileşikleri ile birlikte makrofilik asit türevlerinden; makrofilik asit A, B, C, D ve E bileşiklerinin yapı tayini çeşitli spektral yöntemler ile gerçekleştirilmiştir (Su ve ark., 2000).

Inula macrophylla'nın kabuklarının metanollü ekstresi, su ile süspande edildikten sonra kloroform ve n-butanol ile tüketilmiştir. Kloroformlu ekstre, silikajel kolona uygulanmış ve gradient elüsyon sonucu toplanan fraksiyonlardan izole edilen timol türevi bileşiklerden; 8-hidroksi-9-izobutiriloksi-10(2)-metilbutiril timol ve 8,9-dehidro-9,10-izobutiriloksi timol' un yapıları, çeşitli spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Su ve ark., 2001).

Özbekistan' da *I. macrophylla* kabuklarını içeren ticari üründen, siklik seskiterpen yapısında makrofililakton A, B, C ve D bileşikleri izole edilmiştir (Fu ve ark., 2001).

Özbekistan' da toplanan *I. macrophylla* kabuklarının metanollü ekstresi, suda süspande edilip partisyona uğratılmıştır. Bu kloroform fraksiyonu, silikajel kolona uygulanmış ve toplanan fraksiyonlardan ilgili fraksiyon önce silikajel kolona ardından sefadeks kolona uygulanmıştır. Toplanan fraksiyonların preparatif HPLC' ye uygulanması ile seskiterpen lakton yapısındaki; makrofilidimer C, makrofililakton E,

makrofililakton F ve makrofililakton G bileşikleri izole edilmiştir. Bu bileşiklerin yapı tayini, çeşitli spektral yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Fu ve ark., 2001).

Inula thapsoides

Sivas' dan toplanan *I. thapsoides* subsp. *thapsoides* bitkisinden, oda sıcaklığında petrol eteri-dietil eter-etanol ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstrenin silikajel kolonda elüsyonu sağlanmıştır. İzole edilen guyanolit iskeletine sahip seskiterpen lakton bileşiklerinin yapısı, spektral yöntemler ile aydınlatılmıştır (Topçu ve ark., 1995).

Sivas' dan toplanan *I. thapsoides* subsp. *thapsoides* bitkisinden, oda sıcaklığında petrol eteri-dietil eter-etanol ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstrenin silikajel kolonda elüsyonu sağlanmıştır. Toplanan fraksiyonlardan izole edilen seskiterpen lakton yapısına sahip bileşiklerden; $11\alpha,13$ -dihidro- 1β -hidroksialantolakton, $11\alpha,13$ -dihidro- 1α -hidroksialantolakton ve $11\alpha,13$ -dihidro- $1\beta,4\alpha$ -dihidroksialantolakton' un yapıları, çeşitli spektral yöntemler ile tayin edilmiştir (Öksüz ve ark., 1997).

Inula thapsoides subsp. *thapsoides*' in topraküstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın GC/MS analizi sonucu; yağın ana bileşenlerinin; dihidroedulan (%12,4), β -selinen (% 9,9), karyofillen oksit (% 9,0), pentakozan (% 8,3), epi- α -kadinol olduğu belirtilmiştir (Üçüncü ve ark., 2008).

Inula verbascifolia

Yunanistan' dan toplanan *I. verbascifolia* subsp. *parnassica* ve *I. verbascifolia* subsp. *methanea* bitkilerinden su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların GC/MS analizi sonucu, her bir uçucu yağın 90 kadar bileşik içerdiği teşhis edilmiştir. *I. verbascifolia* subsp. *parnassica* uçucu yağının ana bileşenleri, metil salisilat (% 23,4), cis-krizantenol (% 17,3); *I. verbascifolia* subsp. *methanea* uçucu yağının ana

bileşenleri ise τ -kadinol (% 19,5), (Z)-nusiferol (% 16,6) olarak belirlenmiştir (Tzakou ve ark., 2001).

Yunanistan' dan toplanan *I. verbascifolia* subsp. *methanea*' nın topraküstü kısımları sikloheksan, diklorometan ve metanol ile ekstre edildikten sonra silikajel vakum-likit kromatografisine uygulanmış ve gradient elüsyon sağlanmıştır. Toplanan fraksiyonlardan uygun olanlar, silikajel flash kromatografisine uygulanmıştır. İzole edilen epoksigermakronilit iskeletine sahip 4 seskiterpen lakton bileşiğinin yapıları, çeşitli NMR yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Harvala ve ark., 2002).

Yunanistan' dan toplanan *I. verbascifolia* subsp. *methanea* bitkisinin topraküstü kısımları metanol-diklorometan (1:1) ile ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstre, silikajel flash kromatografisi ve sefadeks kolon kromatografisine uygulanmıştır. İzole edilen seskiterpen lakton yapısındaki inusonyolit, 4-O-dihidroinusuonyolit, 6 α -asetil-4-O-oksobedfordiaik asit ve 6 α -asetil-4-O-oksobedfordiaik asit bileşiklerinin yapıları, NMR yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Ahmed ve ark., 2003).

Inula racemosa

Hindistan' da yerel marketlerden temin edilen *I. racemosa*'nın köklerine uygulanan buhar distilasyonu sonucu % 0,05 verimle elde edilen koyu kahverengi uçucu yağın; % 60' ını seskiterpenlerin, % 22' sini heptadeka-1,8,11,14-tetraen (aplotaksen)' in ve % 2' sini fenolasetonitrilin oluşturduğu, yapılan GC ve GC/MS analizleri sonucunda belirlenmiştir (Bokadia ve ark., 1986).

Inula racemosa' nın köklerinden elde edilen petrol eterli ekstre, silikajel-AgNO₃ kolona uygulanmış ve elüsyon sağlanmıştır. İzole edilen seskiterpen laktonlardan; alantodien ve izoalantodien' in yapıları, spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Kalsi ve ark., 1989).

Hindistan' dan ticari ürün olarak sağlanan *I. racemosa* bitkisinin kökleri kurutulup toz edildikten sonra, etanol ile ekstre edilmiştir. Bu ekstre içerisindeki total lakton miktarının % $2,12 \pm 0,47$ olduğu, Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FT-IR) metodu ile belirlenmiştir (Shivali ve ark., 2012).

Çin' de toplanan *I. racemosa*' nın köklerinin etanollü ekstresi, çeşitli çözücülerle tüketildikten sonra, petrol eteri ve etil asetatta çözünen fazı silikajel kolona uygulanarak gradient elüsyonla saflaştırılmıştır. İzole edilen seskiterpen yapısındaki 9 bileşikten ilk defa izole edilen 11,12,13-trinorödesm-5-en-7 β ,8 α -diol bileşiğinin yapısı, spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Xu ve Shi, 2011).

Çin' den toplanan *I. racemosa* bitkisinin köklerinden elde edilen etanollü ekstre, suda süspande edildikten sonra; petrol eteri, etil asetat ve n-butanol ile ekstraksiyon tamamlanmıştır. Etil asetatlı fazın, silikajel kolona ve ters faz HPLC' ye uygulanmasıyla izole edilen 8 bileşikten 2' sinin yeni ödesmanolit türevi bileşikler olduğu belirlenmiştir. İzole edilen seskiterpen lakton yapısındaki bu bileşiklerden; 1-one-4-epi-alantolakton ve 4 α ,13-dihidroksi-5,7(11)-ödesmadien-12,8-olit' in yapısı çeşitli spektral yöntemler ile aydınlatılmıştır (Zhang ve ark., 2012).

Inula crithmoides

Inula crithmoides bitkisinin topraküstü kısımlarının metanolle maserasyonu sonucu elde edilen ekstre, kolon kromatografisi ve orta basınçlı sıvı kromatografisine uygulanmış ve toplanan fraksiyonlardan izole edilen timol türevlerinin yapıları spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır. İzole edilen bu bileşiklerden; Z-3-kloro-2-(2-hidroksi-4-metil-5-metoksifenil)-prop-2-en-1-il asetat ve Z-3-kloro-2-(2-hidroksi-4-metil-5-metoksifenil)-prop-2-en-1-ol, izole edilen ilk klorlu timol türevleridir (Marco ve ark., 1993).

Yunanistan, Malta ve İspanya' dan toplanan *I. crithmoides* örneklerinden elde edilen uçucu yağlar üzerinde yapılan GC ve GC/MS analizleri sonucunda üç yağın içeriğinin de monoterpenik hidrokarbonlar yönünden zengin olduğu tespit edilmiştir. Uçucu yağ içerisindeki bu monoterpenik hidrokarbonlar; α -fellandren (% 11-26,2), β -fellandren (% 0-30,7) ve *p*-simen (% 0-53,8)' dir (Tsoukatou ve Roussis, 1999).

Mısır' dan toplanan *I. crithmoides* bitkisinin köklerinden elde edilen etil asetat ve butanollü ekstratlar ayrı ayrı SiO₂ kolona uygulanıp, ilgili fraksiyonların TLC ile saflaştırılması sağlanmıştır. İzole edilen 3 yeni kinik asit türevinin yapıları, spektral yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Ela ve ark., 2012).

Inula salsaloides

Batı Tayvan' dan toplanan *I. salsaloides* bitkisinin etanollü ekstresinin kloroformda çözünen fraksiyonu, silikajel kolona uygulanmış ve seskiterpen lakton yapısındaki; öpatolit, budlein B, inulasalsolin ve inulasalsolit bileşikleri izole edilmiştir. Bu bileşiklerin yapı tayini, NMR yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir (Zhao ve ark., 1994).

Moğolistan' dan toplanan *I. salsaloides*' in topraküstü kısımları petrol eteri-dietil eter-metanol ile ekstre edilmiş ve silikajel kolona uygulanıp gradient elüsyon sağlanarak toplanan fraksiyonlar içerisindeki bileşikler, MPLC ve preparatif HPLC ile saflaştırılmıştır. İzole edilen alifatik seskiterpen ve seskiterpen lakton bileşiklerinin yapıları, spektral yöntemler ile aydınlatılmıştır (Jeske ve ark., 1996).

Çin' den toplanan *I. salsaloides*' in topraküstü kısımları etanolla ekstre edildikten sonra, çeşitli çözücüler kullanılarak partisyona uğratılmıştır. Etil asetatlı faz SiO₂ ve Sefadex LH-20 kolon kromatografileri ile birlikte preparatif HPLC kullanılarak saflaştırılmıştır. İzole edilen 2 yeni seskiterpenin (inulasalen ve inulasalsolit B) yapıları, spektral yöntemlerle aydınlatılmıştır (Hu ve ark., 2011).

Inula anatolica

Denizli' den toplanan *I. anatolica* bitkisi, petrol eteri-dietil eter-metanol karışımı ile ekstre edilmiş, elde edilen ekstre, silikajel kolona uygulanmış ve elüsyon sonrası toplanan fraksiyon içerisindeki bileşikler, preparatif TLC ile saflaştırılmıştır. İzole edilen $4\alpha,5\alpha$ -epoksiinuviskolit ve $10\alpha,14H-1$ -epiinuviskolitin yapı tayini, NMR yöntemleri ile mümkün olmuştur (Topçu ve Öksüz, 1990).

Inula grantioides

Pakistan' dan toplanan *I. grantioides* bitkisinin topraküstü kısımlarının n-hekzan' lı ekstresi, silikajel kolona uygulanmış ve n-hekzan-kloroform ile elüsyon gerçekleştirilmiştir. Triterpenik bileşiklerden; lupeol, taraksasterol ve taraksasteril asetat bileşikleri ve flavonoit yapısındaki grantioidin bileşiğinin yapıları, çeşitli yöntemler yardımıyla aydınlatılmıştır (Ahmad ve İsmail, 1991).

Inula montana L.

Fransa' dan toplanan *I. montana L.*' nin topraküstü kısımları toz edilip, oda sıcaklığında 24 saat metanol-su (7:3) ile ekstre edilmiştir. Klorofil uzaklaştırılıp serbest flavonoit aglikonları asetilaseton ile tüketilip, yoğunlaştırıldıktan sonra, elde edilen kuru ekstre toluen-etilmetilketon-asetilaseton (4:3:3) çözücü sistemi ile TLC' ye uygulanmıştır. İzole edilen bileşikler UV ve MS spektrumları kullanılarak teşhis edilmişlerdir. Bu bileşikler; luteolin, hispidulin, nepetin ve sirsimaritindir (Reynaud ve Lussignol, 1999).

Inula royleana

Asya' da doğal olarak yetişen bir tür olan *I. royleana* bitkisinin köklerinin ana bileşen olarak seskiterpen lakton yapısında alantolakton ve izoalantolakton bileşiklerini içerdiği rapor edilmiştir (Stojakowska ve ark., 2006).

Inula cappa

Çin' de toplanan *I. cappa* bitkisinin etanollü ekstresi, su ile süspande edildikten sonra partisyona uğratılmıştır. Petrol eter fazı, silikajel kolon kromatografisine uygulanmış ve toplanan fraksiyonlar içerisindeki bileşikler, preparatif TLC ile saflaştırılmıştır. İzole edilen 17 bileşikten ilk defa keşfedilen inulakappolit bileşiğinin germakranolit iskeletine sahip seskiterpen yapısı, çeşitli spektral yöntemler ile aydınlatılmıştır (Xie ve ark., 2007).

Inula helianthus-aquatica

Inula helianthus-aquatica bitkisinin çiçek ve yaprakları petrol eteri ile ekstre edilip etanol ile tüketildikten sonra, preparatif HPLC ile saflaştırılmıştır. İzole edilen seskiterpen lakton yapısındaki bigelovin bileşiğinin yapı aydınlatması NMR yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir (Zeng ve ark., 2009).

Inula ensifolia

Polonya' dan toplanan *I. ensifolia'* nın köklerinden elde edilen kloroformlu ekstrenin preparatif TLC ve semipreparatif HPLC' ye uygulanması sonucu, izole edilen timol türevi bileşikler ve flavonoidlerden; izokersitrin, hiperin ve kersetin-3-O- β -(6''-kafeoilgalaktopiranozit) bileşiklerinin yapıları, spektral yöntemler ile aydınlatılmıştır (Stojakowska ve ark., 2010).

Inula nervosa

Çin' den toplanan *I. nervosa* bitkisinin topraküstü kısımları etanolle ekstre edildikten sonra çeşitli çözücüler kullanılarak partisyona uğratılmıştır. Etil asetatlı faz, silikajel kolona uygulanıp gradient elüsyon sağlanarak, izole edilen 6 diterpen türevi bileşikten 3 yeni bileşiğin yapılarının tayini spektral yöntemler ile yapılmıştır (Yan ve ark., 2011).

Inula falconeri

Çin' de toplanan *I. falconeri* bitkisinin topraküstü kısımlarından elde edilen etanollü ekstrenin çeşitli çözücülerle partisyona uğratılmasının ardından silikajel kolon, TLC, preparatif HPLC ve Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi teknikleri kullanılarak izole edilen bileşiklerden seskiterpen iskeletine sahip 10 yeni bileşiğin yapıları çeşitli spektral yöntemler ile tayin edilmiştir (Cheng ve ark., 2011).

Inula linearifolia

Çin' de yaygın olarak bulunan *I. linearifolia* bitkisinden seskiterpen dimeri yapısındaki 4 yeni bileşik olan, linearifolianoit A-D bileşikleri izole edilmiştir (Qin ve ark., 2012).

Inula sericophylla

Çin' den toplanan *Inula sericophylla* bitkisi etanolle ekstre edildikten sonra petrol eteri, etil asetat ve n-butanol ile partisyona uğratılmıştır. Etil asetatlı faz sırasıyla; silikajel, MCI jel ve sefadeks kolonlara uygulandıktan sonra, preparatif HPLC ile saflaştırılmıştır. Başta timol türevi bileşikler olmak üzere, psödoguayanolitler ve ksantanolitlerden oluşan 23 terpenik bileşik izole edilmiştir (Cheng ve ark., 2012).

1.6. *Inula oculus-christi* Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Azerbaycan' dan toplanan *Inula oculus-christi* bitkisinin topraküstü kısımlarının etanollü ekstresinden % 0,1 verimle seskiterpen lakton yapısında gaylardin bileşiği izole edilmiştir. Gaylardinin yapısı NMR ve IR spektrum verileri değerlendirilerek aydınlatılmıştır (Kiseleva ve ark., 1969).

I. oculus-christi bitkisinin topraküstü kısımlarından elde edilen metanollü ekstre yoğunlaştırılıp, silikajel kolona uygulanarak, elüsyon sağlanmıştır. Toplanan kloroform:metanol (23:2) fraksiyonundan kristallendirilen *N*-dokosanoylantranilik asitin yapısı, ¹H NMR tekniği ile aydınlatılmıştır (Malakov ve ark., 1982).

Karadağ' dan toplanan *I. oculus-christi* bitkisinin topraküstü kısımlarından seskiterpen lakton yapısında pulçelin E (% 0,021) ve gaylardin (% 0,083) bileşikleri ve flavon yapısında 5,7,4'-trihidroksi-6-metilflavon (hispidulin) bileşiği izole edilmiştir. Bu bileşiklerin yapıları ¹³C NMR tekniği kullanılarak aydınlatılmıştır (Vajs ve ark., 2003).

İran' dan toplanan *I. oculus-christi* bitkisinin topraküstü kısımlarından hidrodistilasyon ile % 0,07 verimle elde edilen sarı renkli uçucu yağda yapılan GC ve GC/MS analizleri sonucunda, uçucu yağın % 90,6' sını oluşturan 60 bileşik teşhis edilmiştir. Uçucu yağ içerisindeki majör bileşiklerin pentakozan (% 13,7), palmitik asit (% 13,6), dill apiol (% 11,4), metil öjenol (% 9,6) ve viridiflorol (% 5,7) olduğu belirtilmiştir (Javidnia ve ark., 2006). Çizelge 1' de bu uçucu yağın içerdiği bileşikler ve yüzde miktarları (%) görülmektedir.

İran' dan toplanan *I. oculus-christi* bitkisinin topraküstü kısımlarının etanollü ekstresinin kloroformda çözünen fraksiyonunun flash kromatografisine uygulanması ve etil asetat, petrol eteri ve metanol çözücüleriyle hazırlanan karışımlar ile gradient elüsyonu sonucu toplanan fraksiyonlardan, seskiterpen lakton yapısında 3 bileşik

izole edilmiştir. Etil asetat:petrol eteri (1:1) fraksiyonundan ergolit bileşiği, etil asetat:petrol eteri (2:1) fraksiyonundan gaylardin, etil asetat:metanol (1:1) ve metanol fraksiyonlarından pulçelin C bileşikleri saflaştırılmıştır. İzole edilen bu bileşiklerin yapıları NMR spektral verileri ve X ışını kristallografik analiz verileri beraber değerlendirilerek tayin edilmiştir (Mosaddegh ve ark., 2010).

Çizelge 1. *I. oculus-christi* bitkisinin uçucu yağının içerisinde bulunan bileşikler

Bileşik ismi	RI*	%	Bileşik ismi	RI*	%
α-pinen	936	t	Dodekanoik asit	1570	0,6
Benzaldehit	960	t	Karyofilen oksit	1580	2,1
ρ-simen	1024	t	β-kopaene-4α-ol	1588	0,2
Limonen	1027	t	Viridiflorol	1597	5,7
1,8-sineol	1030	0,1	Kopaborneol	1601	5,6
Fenilasetaldehit	1041	0,1	Dill apiol	1624	11,4
Linalol	1100	0,1	τ-kadinol	1639	0,8
trans-verbenol	1143	t	α-muurolol	1649	0,8
Terpinen-4-ol	1175	0,1	14-hidroksi 9-epi-β-karyofilen	1668	0,6
Oktanoik asit	1183	0,3	Kadalen	1674	0,3
α-terpineol	1189	0,1	α-bisabolol	1682	1,4
Verbenon	1207	t	Heptadekan	1698	0,2
Geraniol	1253	0,1	Tetradekanoik asit	1775	2,7
Timol	1294	0,1	6,10,14-trimetil-2-pentadekanon	1844	3,1
Karvakrol	1303	0,1	Pentadekanoik asit	1870	0,4
(E,E)-2,4-dekadienal	1313	0,1	Nonadekan	1898	0,2
Öjenol	1356	0,1	Farnesil aseton	1915	1,3
Siklosativen	1366	0,8	Palmitik asit	1978	13,6
α-kopaen	1374	0,3	Eikozan	1998	0,4

(E)-β-damassenon	1382	0,4	Metil linoleat	2093	0,2
Metil öjenol	1406	9,6	Fitol	2110	0,8
2,5-dimetoksi-ρ-simen	1425	t	Linoleik asit	2135	2,6
Geranil aseton	1451	0,2	Oktadekanoik asit	2165	0,4
Allo-aromadendren	1457	0,1	Dokozan	2199	0,1
Timol izobutirat	1482	1,1	Trikozan	2298	1,8
γ-amorfen	1497	0,1	Tetrakoza	2397	0,5
β-bisabolen	1506	0,1	Pentakoza	2501	13,7
α-kalakoren	1542	0,3	Hekzakoza	2598	0,4
Elemol	1548	0,1	Heptakoza	2701	3,0
Elemisin	1557	0,7	Nonakoza	2900	0,5

*RI: Retansiyon İndisi t: eser miktar (<% 0,05)

1.7. *Inula* Türlerinin Farmakolojik Aktiviteleri

1.7.1. Antiproliferatif ve Sitotoksik Etki

İstanbul’ da toplanan *I. graveolens*’ in topraküstü kısımlarından izole edilen seskiterpen lakton yapısındaki bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir. İzole edilen bileşiklerden; ivalin ve ivalin asetat’ ın P-388 (murin lenfositik lösemi), KB-3 (nazofaringeal karsinomu) ve KB-V1 (vinblastine dirençli nazofaringeal karsinomu) hücrelerine karşı sitotoksik aktivite gösterdikleri saptanmıştır (Topçu ve ark., 1993).

Japonya’ dan toplanan *I. helenium* bitkisinin köklerinden hazırlanan ekstrenin ve bitkiden izole edilen seskiterpen lakton yapısındaki bileşiklerin antiproliferatif aktivitesi incelenmiştir. Bitki ekstresi, insan gastrik adenokarsinoma hücresi (MK-1), insan uterus karsinoma hücresi (HeLa) ve fare melanoma hücresi (B16F10) üzerinde antiproliferatif etkinlik göstermiştir. Metanollü ekstrenin çeşitli çözücülerle partisyona uğratılması sonucu; n-hekzan fraksiyonunun bu 3 tümör hücresine karşı kuvvetli antiproliferatif aktivite gösterdiği; kloroform, etil asetat ve n-butanollü fraksiyonların ise çok düşük aktivite gösterdiği MTT kullanılarak ve % 50 büyüme inhibisyon değerleri göz önünde bulundurularak saptanmıştır. En belirgin aktivitenin n-hekzan fraksiyonunda olması alifatik bileşiklerin antiproliferatif etkiden sorumlu olabileceğini göstermiştir. Ayrıca bitki ekstresinin n-hekzanda çözünen fraksiyonundan izole edilen seskiterpen lakton yapısındaki 7 bileşiğin de oldukça yüksek aktivite gösterdiği vurgulanmıştır (Konishi ve ark., 2002).

Rusya’ da geleneksel tıpta kullanılan 61 tür üzerinde yapılan sitotoksik aktivite çalışmasında; *I. helenium* bitkisinin köklerinden elde edilen etanollü ekstrenin ve bitkiden izole edilen seskiterpen lakton yapısındaki helenin bileşiğinin aktiviteleri incelenmiştir. DMEM ortamındaki insan lenfoblastosit Raji hücreleri üzerinde gerçekleştirilen testlerde *I. helenium* kök ekstresinin 10-50 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarda hücrelerin gelişmesini baskılayarak belirgin sitotoksik aktivite

gösterdiği belirtilmiştir. Yine bitkiden izole edilen helenin bileşiğinin 1-2 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarda antineoplastik amaçla kullanımı olan birçok farmasötik madde ile benzer sitotoksik aktivite gösterdiği kaydedilmiştir (Spiridonov ve ark., 2005).

I. cappa bitkisinden elde edilen germakranolit yapısındaki bileşiğin insan servikal kanser hücrelerine, lösemi hücrelerine ve nazofaringeal kanser hücrelerine karşı *in vitro* sitotoksik etkili olduğu belirtilmiştir (Xie ve ark., 2007).

İran' dan toplanan ve topraküstü kısımlarının etanollü ekstresinin, kloroformda çözünen fraksiyonlarının sitotoksik etkisi araştırılan 5 farklı *Inula* türü üzerinde çalışma yapılmıştır. Bu aktivite çalışmasında; *I. oculus-christi*, *I. thapsoides*, *I. salicina*, *I. vulgare* ve *I. granitoides* bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin CACO2 (insan kolon adenokarsinomu), MCF7 (insan göğüs adenokarsinomu), HEPG2 (insan hepatoselüler karsinomu) VERO (yeşil Afrika maymun böbreği) ve WEHI164 (balb c fare fibrosarkomu)' ı içeren 5 farklı hücre dizisi üzerindeki sitotoksik etkisi MTT kullanılarak araştırılmıştır. Bitki ekstrelerinin kloroformda çözünen fraksiyonlarının farklı hücre dizileri üzerinde gösterdikleri sitotoksik etkiler aşağıdaki tabloda gösterilmiştir. 5 *Inula* türünün 5 hücre dizisi üzerindeki etkinliği IC₅₀ değerleri göz önünde bulundurularak karşılaştırıldığında *I. oculus-christi* ekstresinin en yüksek sitotoksik aktivite gösterdiği gözlenmiştir (Mossadegh ve ark., 2010).

Çizelge 2.Çeşitli *Inula* türlerinden elde edilen ekstrelerin *in vitro* sitotoksik aktivitesi

	IC ₅₀ (µg/ml)				
	VERO	WEHI	CACO2	MCF7	HEPG2
<i>I. oculus-christi</i>	17,96±1,09	49,31±1,11	66,06±1,08	67,37±1,15	31,27±1,1
<i>I. thapsoides</i>	-	470,6±1,48	62,37±1,04	221,51±1,24	-
<i>I. salicina</i>	-	-	74,30±1,08	285,94±1,43	41,51±1,11
<i>I. vulgare</i>	306,71±1,28	-	79,83±1,34	103,78±1,16	-
<i>I. granitoides</i>	860,04±1,65	-	70,80±1,19	79,15±1,13	92,41±1,20

Inula helenium bitkisinin köklerinden aseton-metanol karışımı ile ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ekstrenin antineoplastik aktivitesi incelenmiştir. Bitki ekstresinin 4 farklı tümör hücrelerinden; HT-29 (kolon kanser hücresi), MCF-7 (göğüs kanser hücresi), Capan-2 (pankreas kanser hücresi) ve G1 (astrocitoma) hücre dizilerine karşı yüksek derecede seçici toksisite gösterdikleri belirtilmiştir. Bitki ekstresinin iki donörden sağlanan insan periferik kan lenfositleri üzerinde oldukça düşük toksisite gösterdiği MTT ile belirlenmiştir (Dorn ve ark., 2006).

Çin’de toplanan *I. cappa* bitkisinin etanollü ekstresinden izole edilen germakranolit seskiterpen yapısındaki inulakappolit bileşiğinin insan servikal kanser hücresi HeLa, insan lösemi hücresi K562 ve insan nazofaringeal karsinoma hücresi KB’ye karşı belirgin *in vitro* antiproliferatif etki gösterdiği belirtilmiştir (Xie ve ark., 2007).

Çin’de yapılan bir çalışmada *I. japonica* bitkisinin topraküstü kısımlarının etanollü ekstresinden izole edilen seskiterpen lakton yapısındaki bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri araştırılmıştır. İzole edilen japonikon A, B, C ve D bileşiklerinin A549, LOVO, CEM ve MDA-MB-435 tümör hücrelerine karşı etkinliği MTT kullanılarak tayin edilmiştir. Bu 4 bileşik içerisinde japonikon A bileşiğinin 4 tümör hücresine karşı da kuvvetli sitotoksik aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Qin ve ark., 2009a).

Çin’den toplanan *I. helianthus-aquatica* bitkisinin yaprakları ve çiçeklerinin petrol eterli ekstresinden izole edilen seskiterpen lakton yapısındaki bigelovin bileşiğinin 8 dizi kanser hücrelerinden; A549 (akciğer kanser hücresi), SGC-1901 (mide kanser hücresi), BEL-7402 (karaciğer kanser hücresi), U251 (beyin tümör hücresi), B16 (murin melanoma hücresi), K562 (lösemi hücresi), 293T (böbrek karsinoma hücresi) ve U937 (lösemi hücresi) üzerindeki antiproliferatif aktivitesi araştırılmıştır. Bigelovin bileşiğinin; U937 insan monoblastik lösemi hücresi üzerinde önemli sitotoksik aktivite gösterdiği MTT ve SRB kullanılarak tayin edilmiştir (Zeng ve ark., 2009).

Tıbbi değeri olan birçok bitki ile yapılan sitostatik aktivite çalışmasında; *I. helenium*, *Chelidonium majus*, *Equisetum arvense* ve *Inonotus obliquus* bitkilerini içeren bir karışımın peptid ekstresinin; A549 (akciğer karsinoma hücresi), H1299 (akciğer kanser hücresi) ve HeLa (servikal kanser hücresi) üzerinde antiproliferatif aktivite göstererek tümör hücrelerinin gelişimini engellediği saptanmıştır (Tepkeeva ve ark., 2009).

İran' dan toplanan *I. oculus-christi* bitkisinin topraküstü kısımlarının etanollü ekstresinin kloroformda çözünen fraksiyonunun flash kromatografisine uygulanması sonucu toplanan fraksiyonlardan seskiterpen lakton yapısında ergolit, gaylardin ve pulçelin C bileşikleri izole edilmiştir. İzole edilen bu bileşiklerin MDBK (bovin böbrek hücresi), MCF7 (insan göğüs adenokarsinomu) ve WEHI164 (fare fibrosarkomu) üzerindeki *in vitro* sitotoksik aktivitesi MTT kullanılarak tayin edilmiştir. Elde edilen bulgular ışığında ergolit ve gaylardin bileşiklerinin pulçelin C bileşiğinden oldukça farklı ve düşük IC₅₀ değeri göstererek kuvvetli sitotoksik aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Mossadegh ve ark., 2010).

Çizelge 3. *I. oculus-christi'* den izole edilen seskiterpen laktonların MDBK, MCF7 ve WHEI164 hücrelerine karşı gösterdikleri IC₅₀ değerleri

	IC ₅₀ µg/ml		
	MDBK hücreleri	MCF7 hücreleri	WHEI164 hücreleri
Ergolit	8,6	5,3	6,1
Gaylardin	11,0	8,0	15,28
Pulçelin C	53,7	12,0	75,2

Ürdün' den toplanan *I. viscosa* bitkisinden izole edilen flavonoit yapısındaki 4 bileşiğin 3 farklı hücre dizisinden MCF-7, Hep-2, ve Vero hücrelerine karşı yüksek antiproliferatif aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Talibi ve ark., 2012).

Çin' den toplanan *I. racemosa* bitkisinin köklerinden izole edilen seskiterpen lakton yapısındaki bileşiklerin, A549 (akciğer kanseri), Bel 7402 (karaciğer kanseri), BGC 823 (mide kanseri), HCT-8 (kolon kanseri) ve A2780 (ovaryum kanseri)' ni içeren 5 tip insan kanser hücrelerine karşı orta derecede sitotoksik aktivite gösterdiği gözlenmiştir (Zhang ve ark., 2012).

1.7.2. Antioksidan Etki

Akdeniz' de ve geleneksel Çin Tıbbında yaygın olarak kullanılan 20 tür İspanya' dan toplanmış ve bitkilerin ilgili kısımları çeşitli çözücülerle ekstre edildikten sonra antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. *I. viscosa* bitkisinin topraküstü kısımlarının metanollü ekstresinin serbest radikal üretimini ve enzimatik/enzimatik olmayan lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkisi ve serbest radikal süpürücü özellikleri nedeniyle antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Schinella ve ark., 2002).

Özbekistan' dan toplanan 6 türden izole edilen 48 bileşiğin antioksidan aktivitesinin olup olmadığının araştırıldığı bir çalışmada; *I. macrophylla* bitkisinden izole edilen bileşiklerden biri orta düzeyde lipid peroksidasyonunu inhibe ederken yüksek düzeyde radikal süpürücü aktivite göstermiştir. Bir diğer bileşik düşük düzeyde lipid peroksidasyonunu inhibe ederken orta düzeyde radikal süpürücü aktivite göstermiştir (Kogure ve ark., 2004).

Mısır' ın kuzeybatısından toplanan *I. crithmoides* bitkisinin topraküstü kısımlarından elde edilen sulu ekstrenin, erkek sıçanlarda okratoksin A tarafından indüklenmiş oksidatif stres, klastojenik ve mutajenik başkalaşımlara karşı koruyucu etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. 40 erkek Sprague-Dawley sıçanları 4 gruba ayrılarak gruplardan biri kontrol grubu olarak tayin edildikten sonra kalan 3 gruba okratoksin A, bitki ekstresi ve okratoksin A ile birlikte bitki ekstresi 15 gün boyunca verilerek çeşitli biyokimyasal analizler için kan ve doku örnekleri toplanmıştır. Yapılan analizler sonucunda; ekstrenin tek başına güvenli olduğu, oksidatif strese karşı

başarı sağlandığı ve okratoksin A' nın sebep olduğu sitotoksositeye karşı koruyucu etkinliğinin bulunduğu saptanmıştır (Abdel-Wahhab ve ark., 2008).

Çin' de yapılan bir çalışmada *I. britannica* bitkisinin çiçeklerinin sulu ekstresinden elde edilen total flavonoit ekstresinin sıçanlardaki damar düz kas hücreleri (VSMCs) üzerindeki p47phox' ın salınımını ve fosforilasyonunu inhibe ederek oksidatif strese karşı etkinlik gösterdiği belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2011).

Türkiye' de yapılan çalışmada; Sivas çevresinden toplanan *I. oculus-christi* bitkisinin topraküstü kısımlarının sulu ekstresinin *in vitro* antioksidan aktivitesi tayin edilirken; β -karoten-linoleik asit metodu, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) metodu, redüksiyon gücü, şelasyon etkisi ve fosfomolibden metodu gibi 5 farklı metot karşılaştırmalı olarak kullanılmıştır. Elde edilen bulgular ışığında; DPPH metodu kullanılarak yapılan antioksidan aktivite çalışmasında bitki ekstresinin önemli ölçüde serbest radikal süpürücü etkinlik gösterdiği belirtilmiştir (Berk ve ark., 2011).

1.7.3. Antimikrobiyal Etki

İstanbul' da toplanan *I. graveolens'* in topraküstü kısımlarından izole edilen seskiterpen lakton yapısındaki bileşiklerin *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. mirabilis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Ps. aeruginosa*, *Enterococcus*, β -hemolytic *Streptococcus* ve *C. albicans'* a karşı antibakteriyal etkinlikleri test edilmiştir. Bunun sonucunda; 7-O-metilaromadendrin, karabron ve inuiskolit bileşiklerinin *S. epidermidis'* e karşı zayıf aktivite gösterdiği; ivalin bileşiğinin *B. subtilis'* e karşı zayıf aktivite gösterdiği gözlenmiştir. İzole edilen bileşiklerden hiçbirinin *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* ve *Enterococcus* hücre kültürlerine karşı aktivite göstermediği belirtilmiştir (Topçu ve ark., 1993).

İspanya' da geleneksel olarak kullanılan 7 familyaya dahil olan 12 türden hazırlanan 60 ekstrenin *L. infantum* ve *T. vaginalis* mikroorganizmalarına karşı gösterdikleri

antiparazit aktivite araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada İspanya' dan toplanan *I. montana* L. bitkisinin topraküstü kısımları ve yapraklarından metanol, kloroform ve metanol:su (50:50) kullanılarak hazırlanan ekstrelerin protozoosidal aktivitesi tayin edilmiştir. Elde edilen bulgular ışığında; bitkinin topraküstü kısımlarının metanollü ekstresinin *T. vaginalis* türüne karşı oldukça yüksek trikomonasidal aktivite gösterdiği; bitkinin topraküstü kısımlarının kloroformlu ekstresinin ise en yüksek leşmanisidal aktiviteyi gösterdiği göze çarpmıştır. Hazırlanan 60 ekstre içerisinde yalnızca 9 ekstrenin her iki parazite karşı aktivite gösterdiği ve *I. montana* bitkisinin topraküstü kısımlarından hazırlanan kloroformlu ekstrenin de bu ekstreler arasında bulunduğu belirtilmiştir (Martin ve ark., 1998).

Filistin' de halk arasında dermatomukozal enfeksiyonların tedavisinde kullanılan 17 familyaya ait 20 tür üzerinde yapılan antifungal aktivite çalışmasında; bölgeden toplanan bitkilerin topraküstü kısımlarının sulu ekstrelerinin dermatofit türlerinden izole edilen bileşiklere karşı gösterdikleri antifungal aktivite araştırılmıştır. *I. viscosa* bitkisinin topraküstü kısımlarının sulu ekstresinin; *T. mentagrophytes* ve *T. violaceum* dermatofitlerine karşı kuvvetli antifungal aktivite gösterdikleri agar dilüsyon metoduyla, minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri hesaplanarak kanıtlanmıştır (Ali-Shtayeh ve Ghdeib, 1999).

İspanya' dan toplanan *I. montana* L. bitkisinin topraküstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrenin *L. infantum* türüne karşı antileşmanial aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Rocha ve ark., 2005).

Rusya' da kültüre alınmış *I. helenium* ve Belçika' da kültüre alınmış *I. royleana* bitkisinin köklerinden izole edilen timol türevi bileşiğin *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* türlerine karşı orta şiddette antimikrobiyal aktivite gösterdiği yapılan çalışmayla kanıtlanmıştır (Stojakowska ve ark., 2005).

Etiyopya' da çeşitli cilt hastalıklarının tedavisinde geleneksel olarak kullanılan bitkilerin antiviral aktiviteleri araştırılmıştır. Etiyopya' dan toplanan *I. confertiflora* bitkisinin yapraklarından elde edilen metanollü ekstrenin Tip-I *Herpes simplex* virüsünün (HSV-1) GMK hücrelerindeki replikasyonunu inhibe ederek antiviral etki gösterdiği belirtilmiştir. Bitki ekstresinin *influenza A* virüsüne karşı belirgin antiviral aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Antiviral etkiden öncelikle *I. confertiflora* bitkisinin içerisinde bulunan flavonoidler, saponinler ve seskiterpenlerin sorumlu olduğu belirtilmiştir (Gebre-Mariam ve ark., 2006).

Tunus' ta halk arasında yaygın olarak kullanılan 12 familyaya ait 23 bitkiden çeşitli çözücüler kullanılarak maserasyon yoluyla elde edilen 72 ekstre üzerinde antimikrobiyal aktivite çalışması yapılmıştır. Disk difüzyon ve mikrodilüsyon metodu kullanılarak *I. viscosa'* nın hekzan, aseton ve metanolla hazırlanan ekstrelerinin *Staphylococcus* türlerinden; *S. aureus*, *S. saprophiticus* ve *S. epidermidis* türleri üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi ispatlanmıştır (Sassi ve ark., 2007).

Türkiye' de halk arasında yaygın olarak kullanılan 19 tür Manisa dolaylarından toplanıp bitkinin ilgili kısmı etanol ile ekstre edilip bu ekstrelerin antimikrobiyal etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Agar difüzyon metodu kullanılarak yapılan aktivite tayininde *I. viscosa* yaprak ekstresinin diğer türlere kıyasla belirgin antikandidal aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Bitki ekstrelerinin çeşitli mikroorganizmaları içeren agarlar üzerinde oluşturdukları inhibisyon zonlarının çapı ölçülerek antimikrobiyal aktivitenin şiddeti tayin edilmiştir. Buna göre *I. viscosa'* nın yaprak ekstresi; *S. aureus* (18), Metisiline dirençli *S. aureus* (14), *E. coli* (0), *M. luteus* (12), *B. cereus* (20), *B. subtilis* (10), *S. typhimurium* (20), *P. fluorescens* (10), *P. vulgaris* (28), *S. marcescens* (6), *S. epidermidis* (10), *E. faecalis* (10), *E. cloaceae* (11), *E. aerogenes* (10), *C. albicans* (14) mikroorganizmalarının ekim yapıldığı agarlarda 0-24 mm arasında değişen çaplarda inhibisyon zonları ölçülmüştür (Oskay ve Sarı, 2007).

Mısır'ın kuzeybatısından toplanan *Dittrichia graveolens* (*I. graveolens*) bitkisinin topraküstü kısımlarından elde edilen kaba ekstreden, kromatografik yöntemlerle ayrılan çeşitli fraksiyonların ve bitkiden izole edilen seskiterpen yapıdaki bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Pozitif kontrol olarak kloramfenikolün kullanıldığı disk difüzyon metodunda, bitkinin topraküstü kısımlarından elde edilen diklorometan-metanol ekstresinin ve kromatografik yöntemler sonucu ayrılan çeşitli fraksiyonların gram-pozitif bir bakteri olan *B. cereus* türüne karşı yüksek antibakteriyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Yine pozitif kontrol olarak tiyokonazolün kullanıldığı disk difüzyon metoduyla antifungal aktivite testinde bitkinin topraküstü kısımlarından elde edilen diklorometan-metanol ekstresinin ve kromatografik yöntemler sonucu ayrılan çeşitli fraksiyonların insanlar için patojenik bir fungus türü olan *S. brevicaulis*' e karşı yüksek antifungal aktivite gösterdiği anlaşılmıştır. Gözlenen antimikrobiyal aktivitenin bitkinin içerdiği seskiterpen laktonlar ve seskiterpen asitler nedeniyle olduğu düşünülmektedir (Abou-Douh, 2008).

Tunus' tan toplanan *I. viscosa* bitkisinin topraküstü kısımlarından hekzan, metanol ve aseton kullanılarak elde edilen ekstrelerin antiviral etkinliği incelenmiş ve orta derecede antiherpetik aktivite gösterdikleri kaydedilmiştir. Asetonlu ekstrenin HSV-1'e karşı düşük aktivite gösterdiği vurgulanmıştır. *I. viscosa*' dan izole edilen flavonoidler ve seskiterpen bileşiklerin, anti-herpes virüs aktivitesi olduğu gözlenmiştir (Sassi ve ark., 2008).

İtalya' dan temin edilen *I. helenium*' un kurutulmuş köklerinden, süperkritik sıvı ekstraksiyonu ve hidrodistilasyon gibi iki ayrı yöntem kullanılarak elde edilen uçucu yağların, gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Süperkritik yöntemle elde edilen uçucu yağın veriminin (% 1,7) hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağ veriminden (% 1,0) daha yüksek olduğu belirtilirken; yağlar içerisindeki temel bileşenlerin alantolakton, izoalantolakton ve β -elemen bileşikleri olduğu belirtilmiştir. Uçucu yağın içerisinde bulunan farklı

kimyasal bileşik gruplarının sinerjik etki göstererek uçucu yağın antimikrobiyal etkinliğini artırdığı bildirilmiştir. Her iki uçucu yağ da *B. cereus*, *S. aureus*, *E. faecium*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* suşları ve *Candida* suşlarına karşı belirgin antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağ içerisinde bulunan alantolakton ve izoalantolakton bileşiklerinin miktarı, süperkritik yöntemle elde edilen uçucu yağda bulunan miktarlardan daha yüksek olduğu için, hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağın gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Nho ve ark., 2008).

Sırbistan' da ticari ürün olan *I. helenium* bitkisinin köklerinden hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağın içerdiği ödesmanik seskiterpen laktonlardan; alantolakton, izoalantolakton ve diplofillin bileşiklerinin *S. aureus* hücre membranlarının geçirgenliğini artırarak, antistafilokokal aktivite gösterdiği belirtilmiştir. (Stojanovic-Radic ve ark., 2012).

Çin' de ticari ürün olan *I. helenium'* un köklerinden izole edilen seskiterpen yapısındaki bileşiklerin; *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus*, *E. carotovora*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı, antibakteriyal aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (Jiang ve ark., 2011).

Türkiye' de yapılan çalışmada; Sivas çevresinden toplanan *I. oculus-christi* bitkisinin topraküstü kısımlarının sulu ekstresinin *in vitro* antimikrobiyal aktivitesi tayin edilirken; gentamisin ve nistatin antibiyotiklerinin pozitif kontrol olarak kullanıldığı agar difüzyon metodu ve minimum inhibisyon konsantrasyonunun tespiti olmak üzere farklı 2 metot karşılaştırmalı olarak kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar çizelge 6' da verilmiştir. *S. typhi*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *P. vulgaris* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı aktivite gözlenmemiştir. Test edilen mikroorganizmalardan; 18,00 µg/ml MIC değeri ile *S. dysenteriae* en duyarlı olan tür

iken 36,00 µg/ml MIC değeri ile *S. boydii*, *B. subtilis* ve *S. aureus* türleri de duyarlı olan mikroorganizmalar arasındadır (Berk ve ark., 2011).

Çizelge 4. *I. oculus-christi* bitkisinin sulu ekstresinin antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizmalar	<i>I. oculus-christi</i>		Antibiyotik	
	Agar difüzyon metodu	Minimum inhibisyon konsantrasyonu	Gentamisin	Nistatin
<i>S. typhi</i>	-	> 72,00	10,00±0,45	n.t.
<i>P. aeruginosa</i>	-	> 72,00	20,00±1,06	n.t.
<i>S. boydii</i>	15,00±0,50	36,00	12,6±0,20	n.t.
<i>S. dysantheriae</i>	25,00±1,10	18,00	13,5±0,00	n.t.
<i>B. subtilis</i>	14,00±0,74	36,00	29,00±1,15	n.t.
<i>K. pneumoniae</i>	7,00±0,28	72,00	20,00±0,70	n.t.
<i>S. aureus</i>	15,00±1,14	36,00	23,00±0,76	n.t.
<i>E. coli</i>	-	> 72,00	16,00±0,96	n.t.
<i>P. vulgaris</i>	-	> 72,00	22,00±1,40	n.t.
<i>C. diptheriae</i>	13,00±0,82	72,00	23,00±0,10	n.t.
<i>C. albicans</i>	-	> 72,00	n.t.	25,00±0,90

n.t.: test edilmemiş

Türkiye’ de yapılan bir çalışmada, ülkemizden toplanan *I. oculus-christi* bitkisinin Soxhlet apareyinde 100°C’ de 6 saat süreyle devamlı ekstraksiyonu sonucu elde edilen sulu ekstrenin *in vitro* amibisidal aktivitesinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bu çalışmada; 1,0 mg/ml’ den 32 mg/ml’ ye kadar, farklı konsantrasyonlardaki sulu bitki ekstresinin *A. castellanii* trofozoit ve kistlerine karşı, zamana ve doza bağlı olarak kuvvetli amibisidal etkinlik gösterdiği belirtilmiştir. *I. oculus-christi* bitkisinin sulu ekstresinin *A. castellanii* trofozoit ve kistlerine karşı gösterdiği amibisidal etki aşağıdaki tablolarda verilmiştir (Değerli ve ark., 2012).

Çizelge 5. *I. oculus-christi* sulu ekstresinin *A. castellani* trofozoitlerinin proliferasyonu üzerine etkisi

Doz mg/ml	Deney Periyotları						
	1 s	3 s	6 s	8 s	24 s	48 s	72 s
32,0	73,7±2,1	62,3±2,5	49,0±3,0	28,0±4,6	0	0	0
16,0	81,7±1,5	72,3±1,5	68,7±3,5	52,7±3,1	37,3±1,2	19,7±2,5	0
8,0	92,3±2,5	86,7±2,1	72,3±2,1	70,3±1,5	58,3±4,0	45,3±2,5	28,0±2,6
4,0	92,7±2,5	87,3±3,5	76,3±2,1	72,7±2,5	63,7±1,5	51,3±3,8	35,3±2,5
2,0	94,3±1,2	90,3±4,7	82,3±1,5	77,3±2,1	72,7±3,1	67,0±2,0	55,3±5,0
1,0	95,7±0,6	94,0±1,7	84,3±4,5	78,0±2,6	76,7±3,1	70,7±4,0	64,7±2,5
Kontrol	97,7±2,5	69,7±1,5	96,3±1,5	69,0±0,0	95,7±0,6	94,3±0,6	94,3±0,6

32 mg/ml konsantrasyonunda bitki ekstresinin bulunduğu ortamda, 24 saatin sonunda, trofozoitlerin varlığından söz edilememektedir. 8 saatin sonunda, ortamda bulunan trofozoitlerin % 72,0' sinin öldüğü belirtilmiştir. Ayrıca; 16 mg/ml konsantrasyonunda bitki ekstresinin mevcudiyetinde ise, 72 saatin sonunda ortamda trofozoit varlığı gözlenmemiştir. Aynı konsantrasyonda, 48 saatin sonunda ortamda bulunan trofozoitlerin % 80,3' ünün öldüğü gözlenmiştir (Değerli ve ark., 2012).

Çizelge 6. *I. oculus-christi* sulu ekstresinin *A. castellani* kistlerinin proliferasyonu üzerine etkisi

Doz mg/ml	Deney Periyotları						
	1 s	3 s	6 s	8 s	24 s	48 s	72 s
32,0	93,7±1,2	89,0±1,7	86,3±1,5	84,7±4,5	83,0±1,0	78,0±2,6	74,7±2,5
16,0	94,7±2,3	94,0±1,7	93,7±1,2	91,0±1,7	88,7±1,5	88,3±3,1	87,3±2,5
8,0	98,0±2,0	96,7±1,2	94,0±1,0	93,7±1,5	93,0±1,0	91,3±1,2	90,3±2,3
4,0	98,3±1,5	97,0±1,0	95,3±0,6	94,7±0,6	94,0±1,0	92,0±2,0	91,7±2,1
2,0	98,0±2,0	98,0±1,7	97,7±0,6	96,3±1,2	96,3±0,6	94,3±1,2	93,3±1,5
1,0	100,0±0,0	98,7±1,2	98,0±2,0	97,7±0,6	96,0±1,0	94,7±1,5	94,0±2,0
Kontrol	99,3±1,2	98,3±1,5	98,3±1,5	98,0±1,7	95,7±0,6	95,7±1,5	95,0±1,0

32 mg/ml bitki ekstresi ile, ortamda bulunan toplam kistlerin sadece % 25,3' ünün öldüğü; dolayısıyla bitkinin sulu ekstresinin, ortamda bulunan kistlere karşı orta şiddette etkinlik gösterdiği belirtilmiştir. Yapılan çalışmada, bitki ekstresinin kistlere karşı aktivite gösterdiği konsantrasyonu daha iyi tayin edebilmek için, yüksek konsantrasyonda daha fazla analizin gerekli olduğu vurgulanmıştır (Değerli ve ark., 2012).

Fas' da 43 bitki üzerinde yapılan bir çalışmada; bitkilerin toz ve sulu ekstrelerinin, *G. candidum* türüne karşı antifungal aktivite gösterip göstermediği araştırılmıştır. Elde edilen bulgular ışığında; *I. viscosa'* nın yaprak ve köklerinden elde edilen toz ekstrelerin *G. candidum* türünün gelişimini % 80' den fazla inhibe ettiği vurgulanmıştır (Talibi ve ark., 2012).

Ürdün' den toplanan *I. viscosa* bitkisinden izole edilen flavonoit yapısındaki bileşiklerin, 2 gram pozitif, 2 gram negatif bakteri türü ve 1 fungus türüne karşı kuvvetli antimikrobiyal aktivite gösterdiği, mikrodilüsyon metodu kullanılarak tayin edilmiştir (Talibi ve ark., 2012).

1.7.4. Antifeedant Etki

Çin kaynaklı *I. racemosa* bitkisinin köklerinden izole edilen izoalantolakton bileşiğinin, buğdaybiti olarak da isimlendirilen *S. oryzae* türüne karşı, belirgin repellent ve insektisit aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Liu ve ark., 2006).

Rusya' dan toplanan *I. auriculata* bitkisinin köklerinin metanollü ekstresinin *L. decemlineata* larvalarına karşı oldukça yüksek antifeedant aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Pavela, 2010).

1.7.5. Antiinflamatuvar Etki

İspanya' nın Valencia kenti çevresinden toplanan *I. viscosa* bitkisinden izole edilen seskiterpen lakton yapısındaki bileşiğin, antiinflamatuvar aktivitesi araştırılmıştır. Elde edilen bulgular ışığında, bitkiden izole edilen inuviskolit bileşiğinin; elastaz, siklooksijenaz 1 enzimlerini ve fosfolipaz A2 enziminin sekresyonunu inhibe ederek etkinlik gösterdiği belirtilmiştir. Bunun yanı sıra, bu bileşiğin dermatitli murinlerde cilt lökosit infiltrasyonunu azaltarak da, antiinflamatuvar aktivite gösterdiği vurgulanmıştır (Manez ve ark., 2007).

Mısır' ın kuzeybatısından toplanan *Dittrichia graveolens* (*I. graveolens*) bitkisinin topraküstü kısımlarından elde edilen diklorometan-metanol ekstresinin ve bitkiden kromatografik yöntemlerle ayrılan çeşitli fraksiyonların, referans ilaç olarak indometazin kullanıldığı antiinflamatuvar aktivite testlerinde, belirgin aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Gözlenen bu antiinflamatuvar aktivitenin; bitki içerisinde bulunan seskiterpen laktonlar, seskiterpen asitler, triterpenler, steroller ve flavonoidler nedeniyle olduğu düşünülmektedir (Abou-Douh, 2008).

Çin' den toplanan *I. racemosa* bitkisinin köklerinden izole edilen seskiterpen lakton yapısındaki bileşiklerin, sıçanlarda platelet aktive edici faktörün (PAF) indüklediği polimorfonükleer lökositlerden (PMNs) β -glukuronidaz enzimine karşı, *in vitro* inhibitör etki gösterdiği belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2012).

1.7.6. Antipiretik Etki

Mısır' ın kuzeybatısından toplanan *Dittrichia graveolens* (*I. graveolens*) bitkisinin topraküstü kısımlarından elde edilen diklorometan-metanol ekstresinin ve bitkiden kromatografik yöntemlerle ayrılan çeşitli fraksiyonların, referans ilaç olarak indometazin kullanıldığı antipiretik aktivite testlerinde, belirgin aktivite gösterdiği

belirtilmiştir. Gözlenen bu antipiretik aktivitenin bitki içerisinde bulunan seskiterpen laktonlar ve flavonoidler nedeniyle olduğu düşünülmektedir (Abou-Douh, 2008).

1.7.7. Antidiyabetik Etki

Japonya' dan toplanan *I. britannica* subsp. *japonica* bitkisinin liyofilize edilmiş sulu ekstresinin, çoklu düşük doz streptozotosin (MLDSTZ) ile indüklenmiş erkek fareler üzerindeki antidiyabetik etkisi araştırılmıştır. Oral olarak bitki ekstresi verilen erkek farelerin, kan glukoz düzeylerinin belirgin olarak düştüğü gözlenmiştir. Farelerin pankreas hücreleri üzerinde yapılan histolojik incelemelerde, β hücrelerindeki hasarın en aza indirildiği gözlenmiştir. Bitki ekstresinin sitokin üretimini düzenleyerek, otoimmün kaynaklı diyabetin tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Kobayashi ve ark., 2002).

Çin' den toplanan *I. japonica* bitkisinin çiçeklerinden elde edilen sulu ekstre ve bu ekstreten elde edilen etanol ve polisakkarit fraksiyonlarının, alloxan ile diyabeti indüklenmiş fareler üzerinde antidiyabetik aktiviteleri incelenmiştir. Fareler normal ve diyabetik olarak iki gruba ayrılarak, bitki ekstresinin bu gruplar üzerindeki antidiyabetik etkisi, oral glukoz tolerans testi (OGTT) ile araştırılmıştır. Elde edilen bulgular ışığında; ekstrenin ve her iki fraksiyonun, diyabetik farelere oral uygulamasını takiben, farelerin kan glukoz düzeylerinde önemli derecede azalma olduğu belirtilmiştir. Ekstre ve fraksiyonların etkinliği gliklazit ve metforminin etkinliği ile kıyaslandığında, ekstre ve fraksiyonların daha kuvvetli etki gösterdikleri belirtilmiştir. Ekstrenin diyabetik farelerde, plazma insülin seviyesini artırdığı belirtilmiştir. Ekstre ve fraksiyonların diyabetik farelerde su ve besin tüketimini önemli miktarda azaltarak, etki gösterdiği rapor edilmiştir. Bitki ekstresi normal farelerde kan glukoz düzeyini kısmen düşürürken; diyabetik farelerde glukoz yüklemesini takiben yaklaşık 60-150 dakika içerisinde, kan glukoz düzeyini önemli miktarda düşürdüğü OGTT ile belirlenmiştir (Shan ve ark., 2006).

Fas' tan toplanan *I. viscosa* bitkisinin topraküstü kısımlarının sulu ekstresinin normal ve diyabetik sıçanların kan glukoz seviyesini önemli miktarda düşürdüğü gözlenmiştir. Bu hipoglisemik etkinin, insülün sekresyonundan bağımsız olarak; hepatik glukoz üretiminin inhibisyonu, intestinal glukoz absorpsiyonunun inhibisyonu ve insülin direncinin düzenlenmesi ile mümkün olabileceği belirtilmiştir (Zeggwagh ve ark., 2006).

I. racemosa köklerinden elde edilen ekstrelerin sıçanlarda kan glukoz seviyesini düşürüp, karaciğer glikojenezini ve insulin duyarlılığını artırarak, diabetes mellitus' da etkili olduğu rapor edilmiştir (Shan ve ark., 2006).

1.7.8. Hepatoprotektif Etki

Japonya kaynaklı *I. britannica* bitkisinin distile su ile kaynatılması ile elde edilen ekstrenin, LPS/PS' nin neden olduğu karaciğeri hasarlı farelerin yaşam sürelerini artırdığı gözlenmiştir. Karaciğeri hasara uğratılmış farelerin dalaklarındaki sitokin seviyelerindeki dalgalanmaları, önemli derecede azalttığı tespit edilmiştir. Yapılan *in vitro* testler sonucunda; *I. britannica* sulu ekstresinin, Th1 değişimini azaltıp, Th2 değişimini artırarak, karaciğer hasarına karşı olumlu etki gösterdiği düşünülmektedir. Ayrıca bitkiden izole edilen taraksasteril asetat bileşiğinin, kaydadeğer hepatoprotektif etkisinin bulunduğu belirtilmiştir (Song ve ark., 2000).

Ülkemizde Konya' dan toplanan *I. heterolepis* bitkisinin sulu kök ekstresinin karaciğeri hasara uğratılmış sıçanlar üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Kronik alkol uygulaması nedeniyle karaciğer, testis ve böbrekleri hasara uğratılmış sıçanlar, iki gruba ayrılmış ve gruplardan ilkinde, bitkinin sulu kök ekstresi verilirken; ikinci grup kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Sıçanların serum SGOT, SGPT, alkalın fosfataz ve albumin düzeyleri ölçülerek, gruplar karşılaştırılmıştır. Deneklerin karaciğerleri, testisleri, böbrekleri, mide ve barsakları, kalpleri ve akciğerleri histopatolojik olarak incelenmiş ve elde edilen veriler ışığında; ekstrelerin uygulandığı sıçanların

karaciğer, böbrek ve testislerindeki hasarın kısmen giderildiği gözlenmiştir (Saygı ve ark., 2003).

Mısır' dan toplanan *I. crithmoides* bitkisinin köklerinden izole edilen kinik asit türevi bileşiklerin, deney hayvanlarının serumlarında bulunan SGOT, SGPT, ALP ve bilirubin seviyelerini düşürerek, hepatoprotektif aktivite gösterdikleri saptanmıştır (Ela ve ark., 2012).

1.7.9. Antihelmintik Etki

Çek Cumhuriyeti' nin farklı bölgelerinden toplanan 16 bitkiden % 80' lik etanol ile 5 gün maserasyonu sonucu elde edilen ekstrelerin, antihelmintik aktiviteleri incelenmiştir. *I. helenium* ekstresinin, *T. colubriformis* türünün larvalarına karşı belirgin antihelmintik aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Urban ve ark., 2008).

1.7.10. Diğer Etkiler

Ürdün' den toplanan *I. viscosa* bitkisinin yapraklarının sırasıyla; petrol eteri, diklorometan, metanol ve su ile tüketilmesiyle elde edilen fraksiyonların, sıçanlar üzerindeki anti-implantasyon ve orta dönemdeki abortif etkileri araştırılmıştır. Bitkinin sulu ekstresinin, hamileliğin 1-6 günleri içerisinde dişi sıçanlara intraperitoneal uygulanması sonucunda; fetal implantasyonun azaldığı ve corpus luteum ve kandaki progesteron seviyesinin önemli miktarda azaldığı kaydedilmiştir. Ekstrenin uygulanması ile orta dönemde aborsiyon olduğu gösterilmiştir. Hazırlanan ekstrelerden petrol eteri ve diklorometanlı ekstrelerin, hamileliğin 13-15. günleri arasında, dişi sıçanlara uygulanması ile orta dönemde abortif etkiler gözlenirken; metanollü ekstrede bu etki gözlenmemiştir. Yapılan bu çalışmayla; bitkinin abortif etkisinin yanında; antiimplantasyonel ve luteolitik etkilerinin de var olduğu ispatlanmıştır (Al-Dissi ve ark., 2001).

Türkiye’ de yapılan bir çalışmada; Sivas çevresinden toplanan *I. oculus-christi* bitkisinin topraküstü kısımlarının sulu ekstresinin, *in vitro* DNA hasarından koruyucu etkinliğinin olup olmadığı araştırılmıştır. Sulu bitki ekstresinin 14,28 mg/ml ve üzerindeki konsantrasyonlarda H₂O₂ ve UV ışınları uygulanarak hasara uğratılan pBR322 DNA plazmiti üzerine, koruyucu etki gösterdiği gözlenmiştir (Berk ve ark., 2011).

Çin’ den toplanan *I. japonica* bitkisinin çiçeklerinin etanollü ekstresinin, astımı tetiklenmiş murinler üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Elde edilen bulgular ışığında bu ekstrenin bronkoalveolar lavaj sıvısında; Th2 sitokinlerin ve eozinofillerin miktarını azaltarak, astıma karşı terapötik etkinliğinin olduğu vurgulanmıştır (Park ve ark., 2011).

Çin’ den toplanan *I. salsoides*’ in topraküstü kısımlarından izole edilen seskiterpen yapısındaki bileşiklerin, lipopolisakkarit ile uyarılmış RAW264.7 hücrelerinden nitrik oksit (NO) üretimini inhibe edici etkisinin olduğu kanıtlanmıştır (Hu ve ark., 2011).

1.8. *Inula* Türlerinin Kullanılışı

Inula cinsi *I. helenium*, *I. racemosa*, *I. viscosa*, *I. britannica* ve *I. japonica* başta olmak üzere, tıbbi değeri yüksek olan birçok türden oluşmaktadır. Orta Asya' da doğal olarak yetişen *I. helenium* (andız otu) bazı Avrupa Farmakopelerinde adı sıklıkla geçen ve oldukça yaygın olarak kullanılan tıbbi bir bitkidir. *I. helenium* halk arasında ekspektoran, antitussif, diyaforetik ve bakterisidal özelliklerinden dolayı geleneksel olarak kullanılır. *I. helenium'* un kökleri Avrupa' da diyaforetik, diüretik ve ekspektoran ajan olarak, Japonya' da ev içlerine hoş koku vermek amacıyla, Çin' de ise tüberküloz, kronik enterogastrit ve bronşit tedavisinde kullanılır. Amerika yerlileri, bitkinin köklerinden hazırladıkları infüzyon ve dekoksionları, akciğer hastalıklarının tedavisinde ve tüberküloza karşı kullanmışlardır. Bitkinin kökleri geleneksel tıpta; astım, öksürük, akciğer rahatsızlıkları, hazımsızlık, enfeksiyon ve helmantik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Konishi ve ark., 2002, Ahmed ve ark., 2003, Stojakowska ve ark., 2006, Huo ve ark., 2010).

Inula racemosa, uzun yıllar boyunca geleneksel Çin Tıbbında antimikrobiyal ajan olarak kullanılan bir bitkidir. *I. racemosa'* nın kökleri geleneksel Çin Tıbbında; dalağın rejenerasyonunda, mide fonksiyonlarının düzenlenmesinde, karaciğer hasarının giderilmesinde, boyun ile omuz arasındaki ağrının hafifletilmesinde kullanılır. *I. racemosa* kökleri halk arasında ayrıca ekspektoran olarak ve veterinerlikte tonik olarak da yaygın şekilde kullanılır. Yapılan antifungal aktivite çalışmalarında, bitkinin köklerinin içerdiği bileşikler nedeniyle, antifungal aktivitesinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (Bokadia ve ark., 1986, Liu ve ark., 2006).

Inula viscosa bitkisi Akdeniz Bölgesi' nde halk arasında; antiinflamatuvar, antipiretik, antiseptik, antiflojistik aktivitelerinden dolayı ve diyabetin tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır. İspanya' da halk arasında duedonal rahatsızlıkların giderilmesinde kullanılmıştır. *I. viscosa'* nın Ürdün' de halk arasında; antihelmantik, ekspektoran, diüretik kullanımı ile birlikte bronşit, tüberküloz ve aneminin

tedavisinde ve romatizma ağrılarının giderilmesinde de kullanılmaktadır. Ayrıca kısırlığın ve abortusun uyarılmasında destekleyici ajan olarak da kullanılmıştır. Fas'ın güneydoğusunda yöresel olarak 'Trehla' ismiyle anılan *I. viscosa* bitkisinin topraküstü kısımları ile hazırlanan dekoksiyon; diyabet, hipertansiyon ve renal hastalıkların tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır (Al-Dissi ve ark., 2001, Zeggwagh ve ark., 2006, Manez ve ark., 2007, Danino ve ark., 2009).

Yapılmış olan çalışmalarda bitkinin çeşitli ekstrelerinin antiinflamatuvar, antiülserojenik ve akut antiinflamatuvar etki gösterdiği belirtilmiştir. *I. viscosa* bitkisinden elde edilen uçucu yağın ve bitkinin çeşitli kısımlarıyla hazırlanan ekstrelerin, patojenik funguslara karşı antifungal aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu türden izole edilen çeşitli bileşiklerin, antioksidan ve antikanser aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Yapılan aktivite çalışmalarında, bitkinin topraküstü kısımlarıyla hazırlanan sulu ekstrenin ise; sıçanlarda hipoglisemik ve hipolipidemik etkilerinin olduğu gösterilmiştir. *I. viscosa* bitkisinin yapraklarından elde edilen çeşitli ekstrelerin; antiimplant ve abortif etkileri gözlenmiştir (Ali-Shtayeh ve Ghdeib, 1999, Manez ve ark., 1999, Al-Dissi ve ark., 2001, Javidnia ve ark., 2006, Zeggwagh ve ark., 2006, Danino ve ark., 2009).

I. japonica ve *I. britannica* bitkilerinin çiçeklerinin, Çin Tıbbında çeşitli birleşimlerin içerisine girerek geleneksel olarak kullanımı vardır. Geleneksel Çin Tıbbında *I. britannica* ve *I. japonica*'nın her ikisi de 'Xuanfuhua' olarak adlandırılır. Bu türlerin çiçekleri, dijestif rahatsızlıkların, bronşitin ve inflamasyonun tedavisinde kullanılır. *Inula britannica* subsp. *japonica* bitkisinin çiçeklerinden elde edilen sulu ekstrenin Japonya'da halk arasında; mide bulantısı, hıçkırık ve aşırı balgam sekresyonunu gidermek amacıyla kullanımı vardır (Kobayashi ve ark., 2002, Liu ve ark., 2004, Shan ve ark., 2006).

I. britannica ve *I. japonica* bitkilerinin çiçeklerinden elde edilen ekstrelerin antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, antihepatik, antitümör ve sitotoksik

aktivite gösterdikleri rapor edilmiştir. *I. britannica* çiçek ekstresinin, antioksidan aktivitesi yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir. Bu ekstreten izole edilen bileşiklerin bir kısmının ise önemli antioksidan aktivite ve lenfatik lösemi hücrelerine karşı kuvvetli inhibitör etki gösterdiği vurgulanmıştır. Modern farmakolojik çalışmalar *I. japonica* ve *I. britannica* bitkilerinin çiçeklerinin nitrik oksit (NO) ve Prostaglandin E2 (PEG2) sentezini inhibe ettiği, immunomodülatör, hepatoprotektif, antihepatik ve anti-HSV-II aktivitelerinin bulunduğunu göstermiştir (Park ve ark., 2000, Kobayashi ve ark., 2002, Liu ve ark., 2004, Shan ve ark., 2006, Zhao ve ark., 2006, Geng ve ark., 2007).

Geleneksel Çin Tıbbında halk arasında yaygın olarak kullanılan bir tür olan *I. japonica* bitkisi, Uzak Doğu' da 'Jinfeicao' adıyla anılır ve midevi rahatsızlıkların, bronşitin ve inflamasyonların tedavisinde kullanılan kombine bitki preparatlarının içerisinde yer alır. *I. japonica*'nın kurutulmuş kökleri ve yaprakları, geleneksel Çin Tıbbında bıçak yaralanmalarının, çibanın ve öksürüğün tedavisinde kullanılır. Bitkinin çiçekleri stomaşik, ekspektoran, detümesans, antiinflamatuvar ve vermifüj özellikleri nedeniyle kullanılır. *I. japonica* bitkisinin çiçekleri, geleneksel Çin Tıbbında trake iltihabı, bronşit, hepatit ve gastrointestinal sistem karsinomu gibi, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılır (Yang ve ark., 2003, Yu ve ark., 2006, Qin ve ark., 2008, Qin ve ark., 2009a).

Modern farmakolojik çalışmalar bu bitkinin; antidiyabetik, hipolipidemik, antitümör, antifungal, hepatoprotektif ve antihepatik etki gibi farklı ve önemli birçok etkisinin varolduğunu göstermiştir. Bitkinin çiçeklerinden elde edilen ekstrenin önemli derecede antidepresan etkinlik gösterdiği belirtilmiştir. *I. japonica* bitkisinin topraküstü kısımları ve köklerinin antifungal ve antibakteriyal aktivite gösterdiği; ayrıca *I. japonica*'nın topraküstü kısmından elde edilen bileşiklerin, sitotoksik aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Yang ve ark., 2003, Yu ve ark., 2006, Shan ve ark., 2006, Qin ve ark., 2009b).

Inula britannica, *I. racemosa*, *I. hupahensis*, *I. serrata*, *I. heterolepis* başta olmak üzere birçok *Inula* türü, Türkiye'nin de dahil olduğu pek çok ülkede halk arasında geleneksel olarak kullanılır. Yapılan çalışmalarda, bu türlerin antifungal, kardiyoprotektif, antianjinal, antidiyabetik ve sitotoksik etkileri rapor edilmiştir. *I. racemosa* ve *I. britannica* türlerinin hepatoprotektif etkileri özellikle vurgulanmıştır (Saygı ve ark., 2003).

Inula graveolens bitkisinden elde edilen uçucu yağ, mukusun sulandırılmasında, öksürük, soğuk algınlığı, sinüzit, larinks iltihabı ve bronşit gibi, kronik solunum yolları hastalıklarında ve akneli cilt inflamasyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Yapılan aktivite çalışmalarında; bitkinin antibakteriyal ve antifungal özelliklerinin olduğu gösterilmiştir. Yapılan *in vivo* laboratuvar testlerinde; bitkinin antiinflamatuvar ve antipiretik aktivitelerinin bulunduğu saptanmıştır. Ayrıca *I. graveolens* türünün, içerdiği bileşikler nedeniyle antibakteriyal, sitotoksik ve ihtiyotoksik etkili olduğu rapor edilmiştir (Blanc ve ark., 2006, Abou-Douh, 2008).

Inula montana L. Fransa' da halk arasında *Arnica montana*' nın yerine, yara iyileştirici etkisi nedeniyle kullanılır ve "arnica" ismiyle anılır. Yapılan çalışmalarda, bitkiden izole edilen bileşiklerin, kanserden koruyucu ve antitümör aktivitelerinin var olduğu belirtilmiştir. *I. montana*' nin topraküstü kısımlarından elde edilen ekstrenin içerdiği bileşikler nedeniyle, antileşmanyal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. İspanya' da halk arasında *I. montana* bitkisinin taze veya kuru yaprakları kaynatılarak, yemeklerden sonra dijestif özelliği nedeniyle tizan olarak tüketilir (Reynaud ve Lussignol, 1999, Gonzalez-Romero ve ark., 2000, Santayana ve ark., 2005).

Inula macrophylla bitkisinin Özbekistan' da intestinal ülserlerin, bronşitin, akciğer hastalıklarının ve diyabetin tedavisinde geleneksel olarak kullanımı yaygındır (Su ve ark., 2001).

Inula verbascifolia bitkisinin topraküstü kısımlarından elde edilen lipofilik ekstre içerisindeki bileşiklerin, sitotoksik etkili olduğu belirtilmiştir (Harvala ve ark., 2002).

Asya’ da doğal olarak yetişen bir tür olan *I. royleana* bitkisinin köklerinden izole edilen çeşitli bileşiklerin; antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antihelmintik aktivite ile birlikte, insan kanser hücrelerine karşı sitotoksik ve antiproliferatif aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (Stojakowska ve ark., 2005).

Inula nervosa köklerinden izole edilen bileşik grupları pisisidal ve antibakteriyal aktivite göstermiştir. Ayrıca bu bileşiklerin insektisit etkisi ve transdermal ilaç taşıyıcı sistemlerdeki rolü üzerinde durulmuştur (Stojakowska ve ark., 2005).

Inula cuspidata’ dan elde edilen uçucu yağın, patojenik funguslara karşı antifungal aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Javidnia ve ark., 2006).

Inula salicina’ nın ise tonik, diüretik, bakterisidal ve antiseptik etkileri üzerinde durulmuştur (Zhao ve ark., 2006).

Inula crithmoides ile yapılan aktivite çalışmalarında, bitkiden elde edilen sulu ekstrenin, oksidatif strese karşı etkili olduğu ve sitotoksik etkili bileşiklerin zararlı etkilerine karşı koruyucu özellik gösterdiği belirtilmiştir (Abdel-Wahhab ve ark., 2008).

Inula cappa tüm bitki ya da kökleri halinde; romatoit artrit, malarya, dizanteri ve hepatitin tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır. *I. cappa* bitkisinin kökleri, ayrıca Çin’ de halk arasında ateş, abdominal şişkinlik ve adet düzensizliğinin tedavisinde kullanılan kombine preparatların birleşimine girmektedir (Xie ve ark., 2007, Zou ve ark., 2008).

Inula helianthus-aquatica bitkisi, Yunanistan ve Çin' de halk arasında bazı kanserleri tedavi etmek için kullanılmaktadır. Bitkiden izole edilen bileşiklerin sitotoksik aktivitelerinden ötürü, başta insan monoblastik lösemi hücreleri olmak üzere çeşitli kanser hücrelerinin büyümesini durdurmak amacıyla kullanıldığı gözlenmiştir (Zeng ve ark., 2009).

Inula ensifolia bitkisi ile yapılan çalışmalarda; bitkiden elde edilen ekstrenin kanser hücrelerine karşı gösterdiği antiproliferatif etki *in vitro* olarak kanıtlanmıştır (Stojakowska ve ark., 2010).

Tez kapsamında, Türkiye' de doğal olarak yetişen ve üzerinde sınırlı sayıda çalışma bulunan Anadolu kaynaklı *I. oculus christi*' nin terpenik bileşikleri ve flavonoidleri ile antimikrobiyal etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Bitkisel Materyal

30 Haziran 2010 tarihinde Malatya' nın Doğanşehir ilçesine bağlı Eskiköy' den 2 300-2 400 m yükseklikten toplanan *Inula oculus-christi* L. bitkisi çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Herbaryum örneği için; bitki uygun şekilde preslenip kurutulduktan sonra, derin dondurucuda yeterli süre bekletilip hazır hale getirilmiştir. Örnekler Prof. Dr. Zeki Aytaç tarafından teşhis edildikten sonra Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu' nda muhafaza edilmiştir (AEF 26010). Bitki uygun koşullarda kurutulduktan sonra; topraküstü (tüm), çiçek, yaprak ve kökleri ayrı ayrı değirmende toz edilmiştir. Bitkinin topraküstünden elde edilen total ekstre ile çiçek, yaprak ve köklerinden hazırlanan ekstratlar; total fenol miktar tayini, fenolik bileşiklerin miktar tayini, izolasyon çalışmaları ve antimikrobiyal aktivite testlerinde ayrı ayrı kullanılmıştır.

2.2. Fitokimyasal Çalışmalar

2.2.1. Ekstraksiyon Yöntemi

Inula oculus-christi' nin topraküstü kısımları uygun şartlar altında kurutulup toz edildikten sonra, tam tartım alınıp diklorometan ile Soxhlet apareyinde 3 gün süreyle devamlı ekstraksiyon sağlanmıştır. Elde edilen total ekstre rotavaporda porsiyonlar halinde yoğunlaştırılarak çözücüsünden kurtarılmıştır (Nour ve ark., 2009).

Bitkinin topraküstü (tüm), çiçek, yaprak ve kökleri uygun şartlar altında kurutulup toz edildikten sonra, tam tartım alınıp magnetik karıştırıcıda 50 °C ve 300 rpm' de

metanol ile 6 saat süreyle ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstreler süzöldükten sonra, çeker ocak altında yoğunlaştırılarak çözücüsünden kurtarılmıştır (Gökbulut, 2011).

2.2.2. Total Fenol Miktar Tayini

Total fenol miktar tayini için referans bileşik olarak kullanılan gallik asitin etanolde hazırlanan farklı 5 konsantrasyondaki çözeltilerinin dilüsyon değerleri ile bu çözeltilerin UV spektrofotometresinde 765 nm dalga boyundaki absorbans değerleri göz önünde bulundurularak, bir kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi elde edilmiştir. Bunun için konsantrasyonu bilinen gallik asit çözeltisinin, farklı 5 dilüsyon değerine sahip çözeltileri, balon jojelerde etanolle 10 ml' ye tamamlanmıştır. Elde edilen çözeltilerden 100 µl erlene alınıp, 7900 µl su ve 500 µl Folin-Ciocalteau reaktifi eklendikten sonra, vortekste bir süre karıştırılıp 30 saniye ile 8 dakika arasında bekletilmiştir. Daha önce hazırlanmış olan % 20' lik Na₂CO₃ çözeltisinden 1500 µl ilave edilip, karanlıkta 20° C' de 2 saat süre ile bekletildikten sonra, UV spektrofotometresinde 765 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri kaydedilerek oluşturulan kalibrasyon eğrisinden, bir doğru denklemi elde edilmiştir.

Inula oculus-christi' nin topraküstü ve kök kısımlarının metanollü ekstrelerinden 20 mg tam tartım alınarak, balon jojelerde etanolle 10 ml' ye tamamlanmıştır. Elde edilen 2 mg/ml konsantrasyonundaki ekstrelerden 100 µl erlene alınıp, 7900 µl su ve 500 µl Folin-Ciocalteau reaktifi eklenip vortekste bir süre karıştırıldıktan sonra, 30 saniye ile 8 dakika arasında bekletilmiştir. Daha önce hazırlanmış % 20' lik Na₂CO₃ çözeltisinden 1500 µl ilave edilip, karanlıkta 20° C' de 2 saat süre ile bekletildikten sonra, UV spektrumunda 765 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri kaydedilmiştir. Absorbans değerleri, kalibrasyon eğrisinden elde edilen doğru denklemindeki yerlerine yazılarak, topraküstü ve kök kısımların içerdiği fenolik bileşiklerin total miktarı, gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden tayin edilmiştir (Spiridon ve ark., 2011).

2.2.3. *Inula oculus-christi'* nin İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi

Inula oculus-christi' nin topraküstü kısmının diklorometan ve metanollü total ekstreleri aşağıda belirtilen adsorbanla kaplı plaklara tatbik edilmiştir. Total ekstreler içerisindeki bileşik gruplarının teşhisi için; plaklar çeşitli çözücü sistemlerinde sürüklendikten sonra, revelatör ile muamele edilmiştir.

Adsorban	: Silikajel 60 F ₂₅₄
Çözücü sistemi 1	: Hekzan:Etil asetat (2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4 , 7:3, 8:2)
Çözücü sistemi 2	: Kloroform:Asetonitril (86:14)
Çözücü sistemi 3	: Toluen:Etil asetat (6:4)
Çözücü sistemi 4	: Toluen:Etil asetat:Formik asit (60:35:5)
Çözücü sistemi 5	: Etil asetat:Formik asit:Glasiyel asetik asit:Su (100:11:11:26)
Çözücü sistemi 6	: Kloroform:Metanol (9:1, 8:2)
Çözücü sistemi 7	: Kloroform:Toluen (3:1)
Çözücü sistemi 8	: Etil asetat:Formik asit:Su (65:15:20)
Revelatörler	: Anisaldehit/H ₂ SO ₄ , Vanilin/H ₂ SO ₄ , FeCl ₃ , NH ₃ buharı

2.2.4. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Fenolik Bileşiklerin Analizi

Inula oculus-christi' nin çiçek, yaprak ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstreler HPLC' ye uygulanarak, ekstrenin içerdiği bileşikler teşhis edilmiştir. Analizin gerçekleştirildiği koşullar aşağıdaki gibidir:

Cihaz: HP Agilent 1100 series LC sistemi

Pompa: HP Agilent 1100 series 4 (quaternary pump) LC pompa

Kolon: Phenomenex Luna C18 (5 µm, 250 mm x 4,6 mm)

Kolon sıcaklığı: 30° C (sıcaklık kontrollü)

Dedektör: DAD

Enjeksiyon ünitesi: HP Agilent 1100 series autosampler

Akış hızı: 1 ml/dk

Enjeksiyon miktarı: 10 µl

Çözücü sistemi: % 0,1 trifloroasetik asit içeren H₂O (Çözücü A)

% 0,1 trifloroasetik asit içeren metanol (Çözücü B)

% 0,1 trifloroasetik asit içeren asetonitril (Çözücü C)

Çizelge 7. HPLC analizinde gradient elüsyon için kullanılan çözücülerin oranları

Zaman (dk)	Çözücü A (% 0,1 TFA içeren H ₂ O)	Çözücü B (% 0,1 TFA içeren MeOH)	Çözücü C (% 0,1 TFA içeren CH ₃ CN)
0	80	10	10
5	60	25	15
10	50	30	20
15	40	40	20
20	0	75	25

HPLC analizi için yüksek saflıkta su, metanol ve asetonitril çözücüleri degaze edilerek sisteme uygulanmıştır. Hazırlanan ekstreler, enjeksiyondan önce vialerle aktarılırken 0,45 µm por genişliğine sahip mikrofiltrelerden süzölmüştür (Gökbulut, 2011).

HPLC analizinde; bitkinin çiçek, yaprak ve kökünden hazırlanan metanollü ekstreler ile standart olarak kullanılan fenolik bileşiklerin retansiyon zamanları ve UV spektrumları kıyaslanarak bitkinin hangi fenolik bileşikleri içerdiği teşhis edilmiştir. Hazırlanan çiçek, yaprak ve kök ekstreleri ile birlikte standart bileşiklerin enjeksiyonu 3' er defa yapılmıştır.

Fenolik bileşiklerin HPLC ile kalitatif analizi için; bitkide bulunması muhtemel birçok fenolik bileşik standart olarak kullanılmıştır. Bu bileşikler; rutin, kemferol, kersetin, luteolin, apigenin, naringenin, mirisetin, kateşin, şiringik asit, gallik asit, klorojenik asit, ferulik asit, kafeik asit ve rosmarinik asittir.

2.2.5. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini

Bitkinin çiçek, yaprak ve kökleri içerisindeki; gallik asit, klorojenik asit, ferulik asit, luteolin ve apigenin bileşiklerinin miktar tayini için eksternal standart yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle göre; miktarı tayin edilecek bileşiklere ait standartlardan tam tartım alınarak, balon jode metanol ile 10 ml' ye tamamlanmıştır. Bu çözülden çeşitli dilüsyon değerlerinde 5 adet çözelti hazırlanarak 3'er defa enjeksiyon yapılarak, sabit bir dalga boyunda elde edilen piklerin alanlarından, bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinin doğru denkleminde hareketle; çiçek, yaprak ve köklerin içerisindeki fenolik bileşiklerin miktar tayini gerçekleştirilmiştir.

Gallik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

14,5 mg gallik asit tam olarak tartılıp 1,45 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözülden hareketle; 0,03625 mg/ml, 0,0725 mg/ml, 0,145 mg/ml, 0,29 mg/ml ve 0,725 mg/ml konsantrasyonlarında gallik asit çözeltileri hazırlanıp, 10 µl' lik miktarlarda 3' er defa sisteme enjekte edilmiştir. Belirli bir dalga boyundaki (270 nm) pik alanlarının ortalaması (y) ile çözeltilerin dilüsyon konsantrasyonları kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden hareketle bir doğru denklemi ($y=mx+n$) ve korelasyon katsayısı (R^2) elde edilmiştir. Bitkinin çiçek, yaprak ve köklerinin içerdiği gallik asit miktarı, bu değerler ile tayin edilmiştir.

Klorojenik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

10,2 mg klorojenik asit tam olarak tartılıp, 1,02 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözülden hareketle; 0,0051 mg/ml, 0,0255 mg/ml, 0,051 mg/ml, 0,102 mg/ml ve 0,51 mg/ml konsantrasyonlarında klorojenik asit çözeltileri hazırlanıp, 10 µl' lik miktarlarda 3' er defa sisteme enjekte edilmiştir. Belirli bir dalga

boyundaki (330 nm) pik alanlarının ortalaması (y) ile çözeltilerin dilüsyon konsantrasyonları kullanılarak, bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden hareketle bir doğru denklemi ($y=mx+n$) ve korelasyon katsayısı (R^2) elde edilmiştir. Bitkinin çiçek, yaprak ve köklerinin içerdiği klorojenik asit miktarı, bu değerler ile tayin edilmiştir.

Ferulik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

10,3 mg ferulik asit tam olarak tartılıp, 10,3 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözülden hareketle; 0,00515 mg/ml, 0,02575 mg/ml, 0,0515 mg/ml, 0,103 mg/ml ve 0,515 mg/ml konsantrasyonlarında ferulik asit çözeltileri hazırlanıp, 10 μ l' lik miktarlarda 3' er defa sisteme enjekte edilmiştir. Belirli bir dalga boyundaki (330 nm) pik alanlarının ortalaması (y) ile çözeltilerin dilüsyon konsantrasyonları kullanılarak, bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden hareketle bir doğru denklemi ($y=mx+n$) ve korelasyon katsayısı (R^2) elde edilmiştir. Bitkinin çiçek, yaprak ve köklerinin içerdiği ferulik asit miktarı, bu değerler ile tayin edilmiştir.

Luteoline ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

1,7 mg luteolin tam olarak tartılıp, 0,17 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözülden hareketle 0,00425 mg/ml, 0,0085 mg/ml, 0,017 mg/ml, 0,085 mg/ml ve 0,17 mg/ml konsantrasyonlarında luteolin çözeltileri hazırlanıp, 10 μ l' lik miktarlarda 3' er defa sisteme enjekte edilmiştir. Belirli bir dalga boyundaki (340 nm) pik alanlarının ortalaması (y) ile çözeltilerin dilüsyon konsantrasyonları kullanılarak, bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden hareketle bir doğru denklemi ($y=mx+n$) ve korelasyon katsayısı (R^2) elde edilmiştir. Bitkinin çiçek, yaprak ve köklerinin içerdiği luteolin miktarı, bu değerler ile tayin edilmiştir.

Apigenine ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

1,5 mg apigenin tam olarak tartılıp, 0,15 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözülden hareketle 0,00375 mg/ml, 0,0075 mg/ml, 0,015 mg/ml, 0,075 mg/ml ve 0,15 mg/ml konsantrasyonlarında apigenin çözeltileri hazırlanıp, 10 µl' lik miktarlarda 3' er defa sisteme enjekte edilmiştir. Belirli bir dalga boyundaki (340 nm) pik alanlarının ortalaması (y) ile çözeltilerin dilüsyon konsantrasyonları kullanılarak, bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden hareketle bir doğru denklemi ($y=mx+n$) ve korelasyon katsayısı (R^2) elde edilmiştir. Bitkinin çiçek, yaprak ve köklerinin içerdiği apigenin miktarı, bu değerler ile tayin edilmiştir.

2.2.6. LOD ve LOQ Değerlerinin Hesaplanması

Miktar tayini yapılan tüm bileşikler için LOD değeri hesaplanırken S/N oranı 3 olarak, LOQ değeri hesaplanırken S/N oranı 10 olarak alınmıştır. Her bir bileşik için LOD ve LOQ değerleri hesaplandıktan sonra, LOQ konsantrasyonlarında ardarda 9' ar enjeksiyon yapılarak, LOQ konsantrasyonlarına karşılık gelen alanların % RSD değerleri hesaplanmıştır.

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

2.2.7. *Inula oculus-christi* Üzerinde Yapılan İzolasyon ve Yapı Tayini Çalışmaları

Tez projesi kapsamında; bitkinin içerdiği flavonoit ve seskiterpen lakton yapısındaki bileşiklerle ilgili izolasyon çalışmaları yapılmıştır.

2.2.7.1. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

1 kısım silikajel, 2 kısım su ile süspande edilip, kuvvetle çalkalanarak hazırlanan süspansiyon 20x20 cm boyutunda cam plaklar üzerine 0,75 mm kalınlıkta çekilmiştir. Plaklar, 105 °C' lik etüvde 2 saat süreyle aktive edilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir. *I. oculus-christi'* nin topraküstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstre, plak üzerine bant şekilde tatbik edilmiştir. Hekzan:etil asetat (6:4) ve hekzan:etil asetat (7:3) çözücü sistemleri ile sürüklenen plaklar üzerindeki lekeler, UV altında 254 nm ve 366 nm dalga boylarında belirlenmiştir. Plağın bir kısmı, anisaldehit/H₂SO₄ reaktifi ile muamele edilip etüvde bekletilerek renkler belirginleştirilmiştir. Plaktan kazınan kısım, metanolde bir süre bekletildikten sonra, silikajelinden arındırılmıştır. Metanolün çeker ocak altında uzaklaştırılmasıyla bileşikler saf olarak izole edilmiştir.

2.2.7.2. Ultraviyole Spektroskopisi

HPLC-DAD analizi sonucunda; izole edilen bileşikler ile standart olarak kullanılan fenolik bileşiklerin retansiyon zamanları ve en yüksek absorpsiyon verdikleri dalga boyundaki UV spektrumları karşılaştırılarak, kimyasal yapıları tayin edilmiştir.

2.2.7.3. Kütle Spektroskopisi

İzole edilen terpenik yapıdaki bileşiğin molekül ağırlığını tayin etmek için; LC-MS ile kombine edilmiş pozitif Elektro Sprey (ESI+) metodu kullanılmıştır. LC sisteminde XTerra MS C-18 (4.6x250 mm, 5 µm) kolon kullanılmıştır. Mobil faz olarak: % 0,1

trifloroasetik asit içeren H₂O: % 0,1 trifloroasetik asit içeren metanol: % 0,1 trifloroasetik asit içeren asetonitril (50:25:25) çözücü sistemi kullanılmıştır. 0,7 ml/dk akış hızındaki izokratik elüsyon, 40 dakika süreyle devam etmiştir.

2.3. Antimikrobiyal Aktivite

Inula oculus-christi' nin çiçek, yaprak ve köklerinden elde edilen metanollü ekstrelerin gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteler, agar dilüsyon yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. Metanollü ekstrelerin antimikrobiyal aktivite testleri, Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) tarafından tavsiye edilen agar dilüsyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (CLSI, 2002; CLSI, 2006).

Antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan mikroorganizmalar;

Antibakteriyal aktivite için seçilen bakteri suşları;

Gram-pozitif bakteriler

a) *Staphylococcus aureus*

b) *Enterococcus faecalis*

Gram-negatif bakteriler

a) *Acinetobacter baumannii*

b) *Klebsiella pneumoniae*

c) *Pseudomonas aeruginosa*

d) *Proteus vulgaris*

e) *Enterobacter aerogenes*

f) *Escherichia coli*

Antifungal aktivite için seçilen maya suşları;

a) *Candida albicans*

b) *Candida tropicalis*

Her bir ekstre, standart bakteri ve maya suşlarına karşı test edilmiştir. Bakteri suşları, Mueller Hinton Broth (HiMedia Laboratories Mumbai-India) besiyerinde, maya suşları ise RPMI-1640 Broth (Sigma Aldrich Germany) besiyerinde üretilmiştir. Standart inokulum elde etmek için bakteri ve mayaların bulanıklığı Mc Farland 0,5 standartına göre ayarlanmıştır (Hindler, 1992). Bakteri ve mayaların (10^6 CFUs/ml) standart inokulumları, steril plastik halka uçlu öze ile (0,01 ml) agar kuyucuklarına ekilmiştir. Ekim yapılan tüm plaklar 35° C' lik etüvde; bakteriler için 16-20 saat, mayalar için 48 saat bekletilerek değerlendirilmiştir. Bakteri ve mayaların üremesini engelleyen en düşük konsantrasyonlar, minimum inhibisyon konsantrasyonları olarak belirlenmiştir. Bütün numuneler için çözeltiler DMSO' da çözümlenerek hazırlanmış ve sulandırmalar için distile su kullanılmıştır. Bitki ekstratlarından hazırlanan numunelerin dilüsyon dereceleri; 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 ve 1/128 olarak belirlenmiştir. Bakteriler için Ampisilin ve Siprofloksazin, mayalar için Flukonazol referans ilaç olarak kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. *Inula oculus-christi*' den Elde Edilen Ekstreler

Inula oculus-christi' nin topraküstü kısmının diklorometan ve metanollü total ekstreleri ile bitkinin çiçek, yaprak ve köklerinin metanollü ekstreleri ayrı ayrı hazırlanmıştır. Bitkinin topraküstü kısmı ve kökünün metanolle hazırlanan ekstreleri, bitkinin içerdiği fenolik bileşiklerin total miktarını tayin etmek amacıyla kullanılmıştır. Bitkinin topraküstü kısmının diklorometan ve metanollü total ekstrelerinin TLC ile kalitatif analizi sonucu; terpenik bileşikler ve flavonoidler teşhis edilmiştir. Bitkinin çiçek, yaprak ve köklerinin metanollü ekstreleri ile standart olarak kullanılan ve bitkinin içerisinde bulunması muhtemel birçok fenolik bileşiğin kalitatif analizi, HPLC ile gerçekleştirilmiştir. Bitkinin çiçek, yaprak ve köklerinin metanollü ekstrelerindeki fenolik bileşiklerin dağılımı, HPLC ile incelenmiştir. Antimikrobiyal aktivite için; bitkinin çiçek, yaprak ve kökünden hazırlanan metanollü ekstreler kullanılmıştır.

Bitkinin topraküstü kısmının diklorometan ve metanollü total ekstreleri ile bitkinin çiçek, yaprak ve köklerinden hazırlanan metanollü ekstrelerin miktarları ve yüzde verimleri çizelgede verilmiştir.

Çizelge 8. 1. *I. oculus-christi*' den elde edilen ekstrelerin miktarları ve verimleri

	Kuru bitki miktarı (g)	Ekstre miktarı (g)	Verim (%)
Topraküstü(DCM)	298	10,09	3,386
Topraküstü(MeOH)	5	0,21	4,20
Çiçek (MeOH)	5	0,60	12,0
Yaprak (MeOH)	5	0,52	10,4
Kök (MeOH)	5	0,29	5,8

3.2. Total Fenol Miktar Tayini Bulguları

Inula oculus-christi' nin topraküstü kısmı ve kökünden metanol ile hazırlanan ekstreler içerisindeki fenolik bileşiklerin total miktarı tayin edilmiştir.

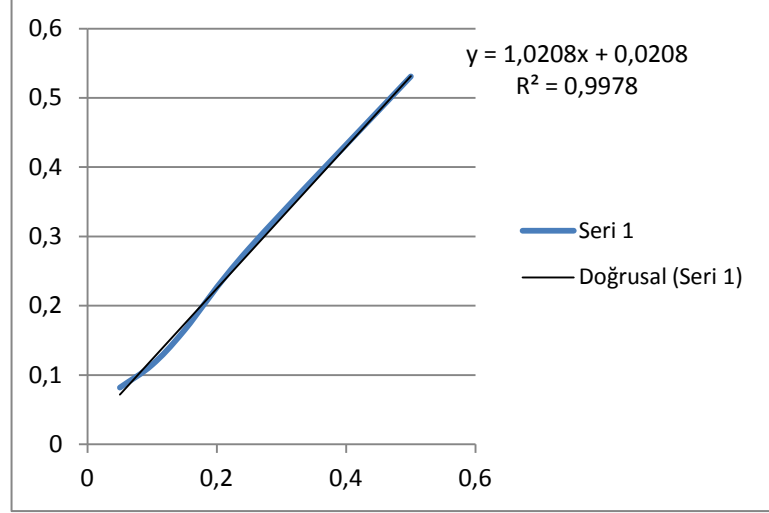
Belirli konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltilerinin, UV spektrofotometresinde 765 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 9. Gallik asit çözeltilerinin konsantrasyonları ve absorbans değerleri

Absorbans 1	Absorbans 2	Absorbans (ort)	C (mg/ml)
0,059	0,105	0,082	0,05
0,095	0,135	0,115	0,1
0,156	0,174	0,165	0,15
0,288	0,278	0,283	0,25
0,521	0,541	0,531	0,5

C: konsantrasyon

Belirli konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltilerinin, 765 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri dikkate alınarak oluşturulan kalibrasyon eğrisi ve bu eğriye ait doğru denklemi aşağıda verilmiştir.



Şekil 2. Gallik asite ait kalibrasyon eğrisi ve doğru denklemi

I. oculus-christi' nin topraküstü kısmının ve kökünün metanollü ekstreleri kullanılarak hazırlanan çözeltilerin, UV spektrofotometresinde 765 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri aşağıda verilmiştir.

Çizelge 10. *I. oculus-christi'* nin topraküstü ve kök ekstrelerinden hazırlanan çözeltilerin absorbans değerleri

	Absorbans 1	Absorbans 2	Absorbans 3	Absorbans (ort)
Topraküstü	0,267	0,268	0,271	0,268
Kök	0,160	0,165	0,165	0,163

I. oculus-christi' nin topraküstü kısmı ve kökünün metanollü ekstreleri kullanılarak hazırlanan çözeltilerin, UV spektrofotometresinde 765 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerlerine karşılık gelen konsantrasyonları ve 1 g ekstre içerisindeki total fenol miktarlarının gallik asit (GAE) cinsinden değerleri aşağıda verilmiştir.

Çizelge 11. *I. oculus-christi'* nin topraküstü ve kökünün metanollü ekstrelerinin total fenol miktarı

	C(1)	C(2)	C(3)	C (ort)	mg GAE/ g ekstre
Topraküstü	0,241	0,242	0,245	0,243	121,40 ± 1,096
Kök	0,136	0,141	0,141	0,140	69,80 ± 1,414

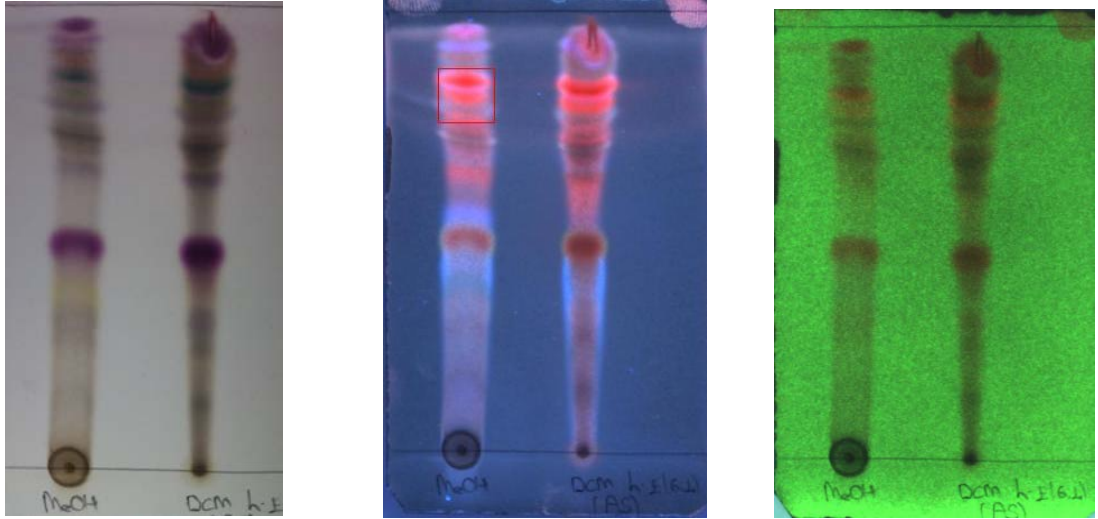
C: konsantrasyon

3.3. *Inula oculus-christi'* nin İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi

Inula oculus-christi ve *Inula* cinsine dahil olan diğer türler üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalarda, bitkinin terpenik bileşikler ve flavonoidler yönünden zengin olduğu rapor edilmiştir. Mevcut literatür verileri dikkate alındığında farmakolojik aktiviteden sorumlu bileşiklerin, terpenik bileşikler ve flavonoidler olduğu gözlemlendiğinden, yapılan çalışmalarda bu bileşik grupları üzerinde yoğunlaşmıştır.

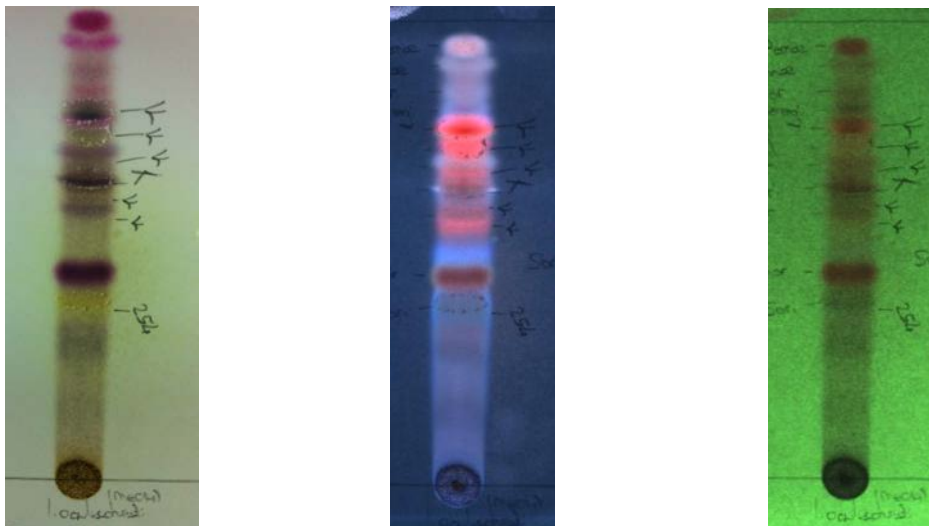
I. oculus-christi' nin topraküstü kısmının diklorometan ve metanollü total ekstreleri, TLC hazır plaklarına tatbik edildikten sonra, birbirini 10' a tamamlayan oranlarda hazırlanan hekzan:etil asetat çözücü sistemlerinde sürüklenmiştir. Ayrılan bileşik gruplarının UV 254 nm ve 366 nm dalga boylarında verdikleri absorbansla birlikte, lekelerin revelatör ile belirginleştirilmesi sonucu, bitkinin içerdiği bileşiklerin genel profili çıkarılmıştır. Yapılan bu kalitatif analiz sonucunda; bitkinin terpenik bileşikler ve flavonoidler yönünden zengin olduğu belirlenmiştir.

Bitkinin topraküstü kısmının diklorometan ve metanollü total ekstreleri, plakta yana yana tatbik edildikten sonra, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sistemi ile sürüklenmiş ve lekeler anisaldehit/H₂SO₄ reaktifi ile belirginleştirilmiştir. Lekelerin aynı sürüklenme mesafesinde ve aynı renkte olmaları; her iki ekstrenin kimyasal içeriğinin çok benzer olduğunu göstermiştir.



Şekil 3. *I. oculus-christi*' nin topraküstü kısmının metanol ve diklorometanlı total ekstralarının, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde, anisaldehit/H₂SO₄ reaktifi ile muamele sonrası; görünürde, UV 366 nm' de ve UV 254 nm' deki TLC kromatogramları

Bitkinin topraküstü kısmının metanollü total ekstresi tatbik edilen plak, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde sürüklenmiştir. Anisaldehit/H₂SO₄ reaktifi ile muamele sonucunda; fenolik bileşikler sarı renk ve terpenik bileşikler mor/viyole renk vermiştir.



Şekil 4. *I. oculus-christi*' nin topraküstü kısmının metanollü total ekstresinin, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde, anisaldehit/H₂SO₄ reaktifi ile muamele sonrası; görünürde, UV 366 nm' de ve UV 254 nm' deki TLC kromatogramları

Bitkinin topraküstü kısmının diklorometanlı total ekstresi tatbik edilmiş plak, çözücü sistemi 2' de sürüklenmiştir. Reaktif ile muamele edilmeden önce, UV 366 nm dalga boyunda mavi absorban veren bileşikler, vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile muamele edilmesi sonrasında mor renkte lekeler vermiştir. Mor renkte lekelerin varlığı, bitkinin terpenik bileşiklerce zengin olduğunu göstermiştir.

Bitkinin topraküstü kısmının diklorometanlı total ekstresi tatbik edilmiş plak, çözücü sistemi 3' de sürüklenmiştir. Plağın vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile muamele edilmesi sonucu, viyole renginde lekelerin varlığı, bitkinin terpenik bileşikler içerdiğini göstermiştir. Çözücü sistemi 3 ile iyi bir ayırım sağlanamamıştır.

Bitkinin topraküstü kısmının diklorometanlı total ekstresi tatbik edilmiş plak, çözücü sistemi 4' de sürüklenmiştir. Plağın NH₃ buharı ile muamele edilmesi sonucu oluşan sarı renkte lekelerin varlığı, bitkinin flavonoidler içerdiğini göstermiştir.

Bitkinin topraküstü kısmının diklorometanlı total ekstresi tatbik edilmiş plak, çözücü sistemi 5' de sürüklenmiştir. Plağın, FeCl₃ reaktifi ile muamele edilmesi sonucu oluşan sarı renkte lekenin varlığı, bitkinin fenolik bileşikler içerdiğini göstermiştir. Fakat bu sarı renkteki lekenin fronta kadar taşınmış olması, ayırımın iyi olmadığını göstermiştir.

Bitkinin topraküstü kısmının diklorometanlı total ekstresi tatbik edilmiş plaklar, ayrı ayrı çözücü sistemi 6, çözücü sistemi 7 ve çözücü sistemi 8' de sürüklenmiştir. Plaklar reaktif ile muamele edilmeden önce, UV 254 nm ve 366 nm dalga boylarında herhangi bir absorban vermemişlerdir. Vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile muamele edilen plaklarda herhangi bir renkte leke gözlenmemiştir.

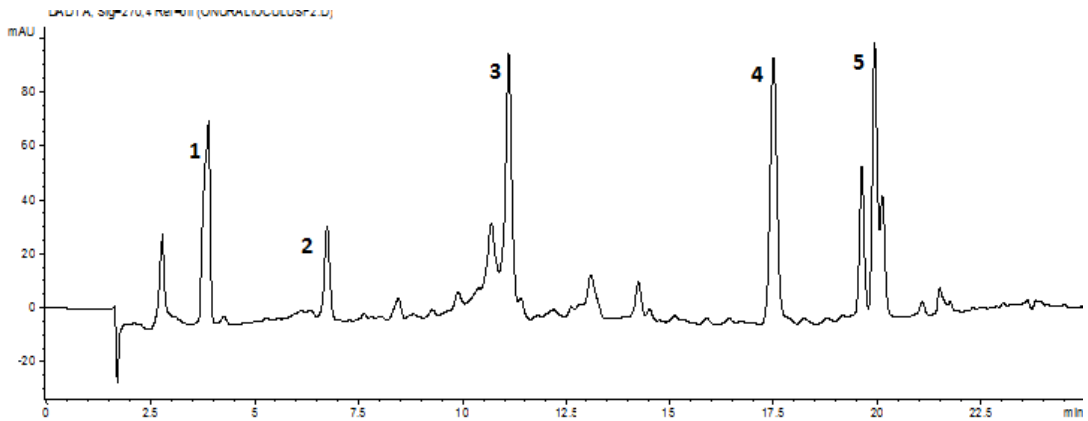
3.4. *Inula oculus-christi*' deki Bazı Fenolik Bileşiklerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Teşhisi

Inula oculus-christi' nin çiçek, yaprak ve kökünden hazırlanan metanollü ekstrerele ile standart olarak kullanılan ve bitkide bulunması muhtemel olan fenolik bileşikler, HPLC' ye uygulanmıştır. HPLC analizinde; bitki ekstrerele ve standart bileşiklerin retansiyon zamanları ve UV spektrumları kıyaslanmış ve bitkinin içerdiği fenolik bileşikler teşhis edilmiştir. Yapılan HPLC analizi ile bitkinin, gallik asit, klorojenik asit, ferulik asit, luteolin ve apigenin bileşiklerini içerdiği belirlenmiştir.

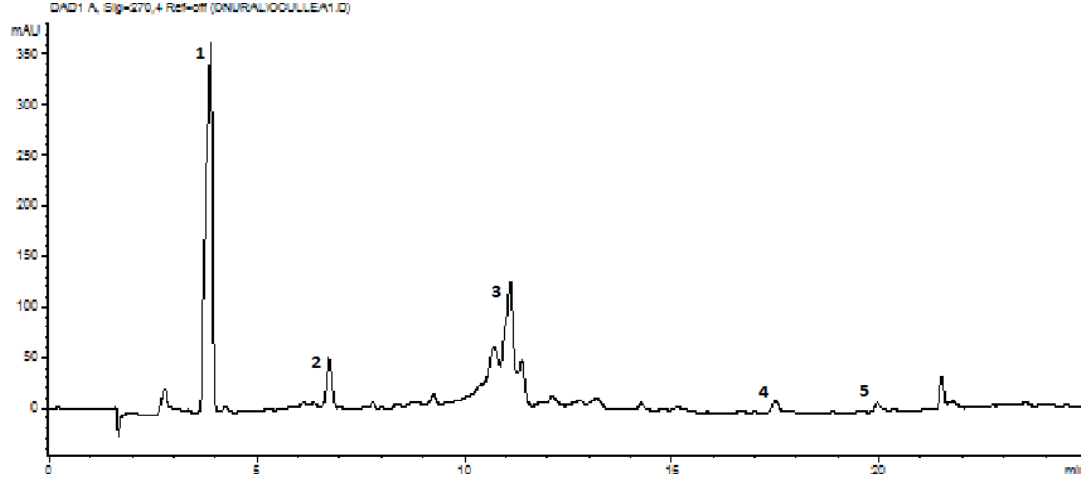
Çizelge 12. HPLC ile analizi gerçekleştirilen fenolik bileşiklerin retansiyon zamanları

	Gallik asit	Klorojenik asit	Ferulik asit	Luteolin	Apigenin
Retansiyon zamanları (dk)	4,1	6,69	10,98	17,43	20,03

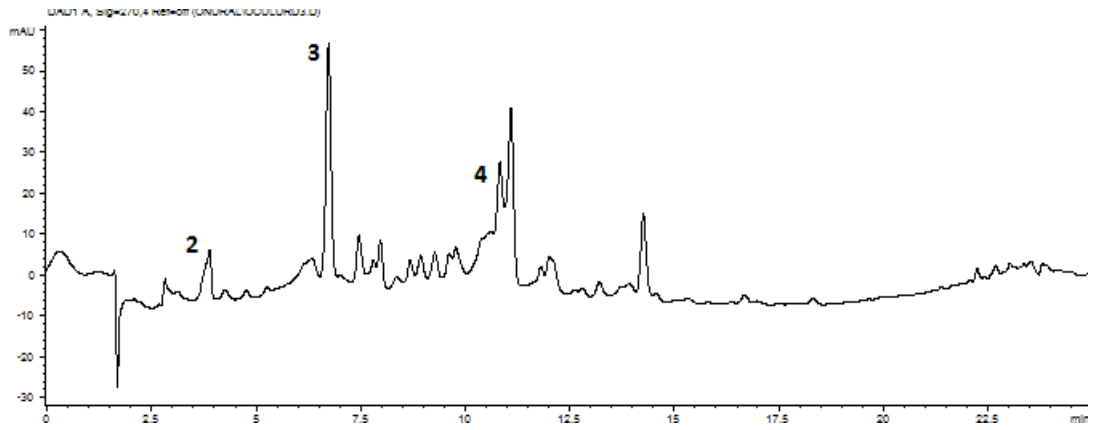
Bitkinin çiçek, yaprak ve kökünün metanollü ekstrerelelerinin 270 nm dalga boyundaki HPLC kromatogramlarında; gallik asit (1), klorojenik asit (2), ferulik asit (3), luteolin (4) ve apigenin (5) bileşiklerine ait pikler aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir.



Şekil 5. *I. oculus-christi* bitkisinin metanol ile hazırlanmış çiçek ekstreresinin 270 nm'deki HPLC kromatogramı

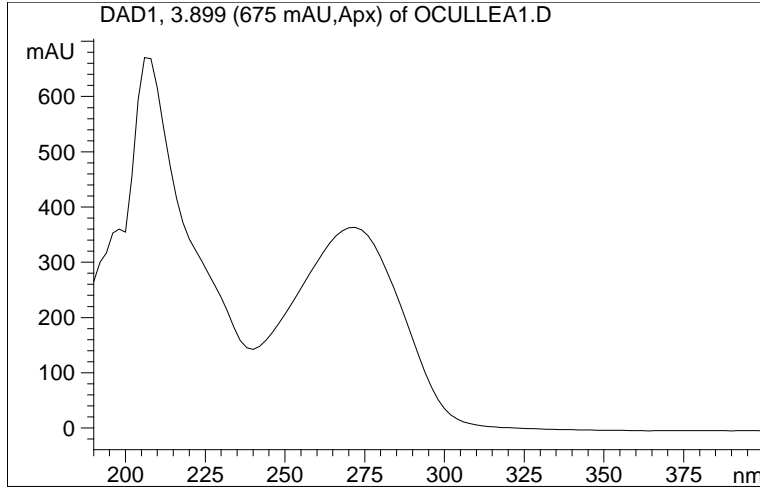


Şekil 6. *I. oculus-christi* bitkisinin metanol ile hazırlanmış yaprak ekstresinin 270 nm'deki HPLC kromatogramı

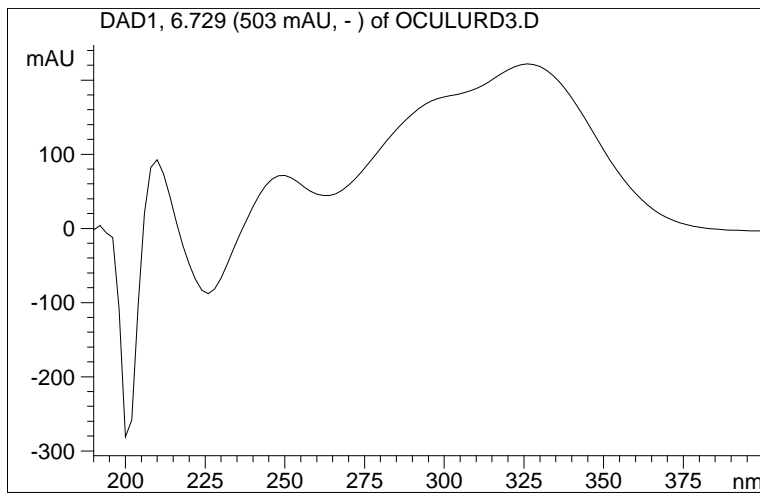


Şekil 7. *I. oculus-christi* bitkisinin metanol ile hazırlanmış kök ekstresinin 270 nm'deki HPLC kromatogramı

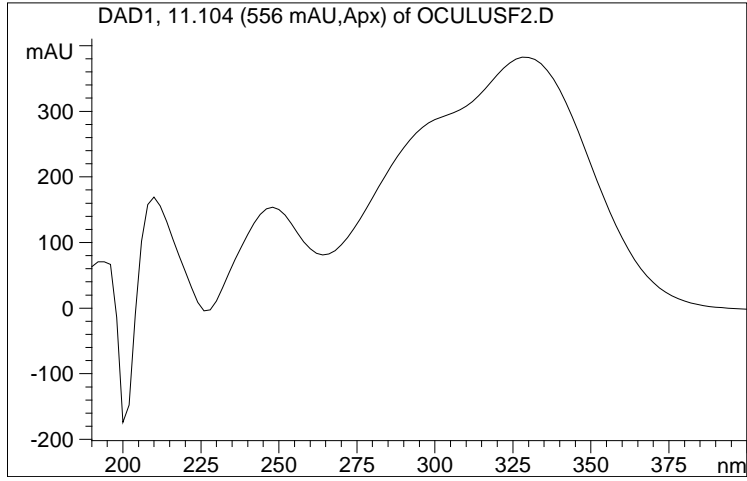
Bitki ekstreleri içerisinde bulunan; gallik asit, klorojenik asit, ferulik asit, luteolin ve apigenin bileşiklerinin UV spektrumları aşağıdaki şekillerde verilmiştir.



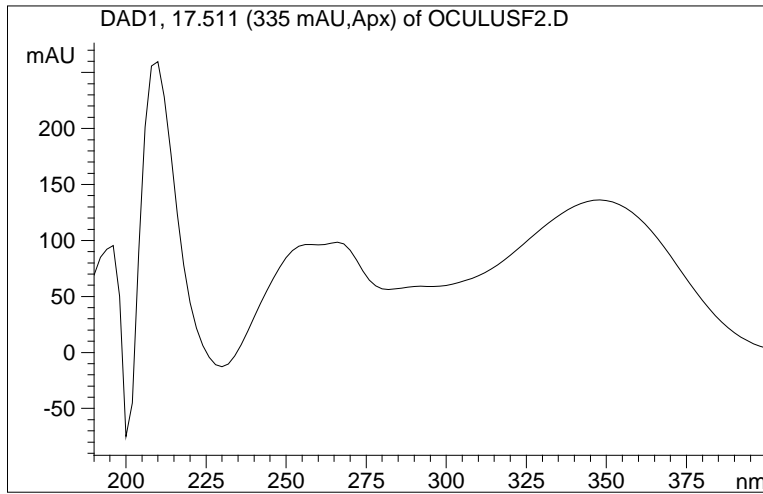
Şekil 8. *I. oculus-christi* ekstrelerinde bulunan gallik asitin UV spektrumu



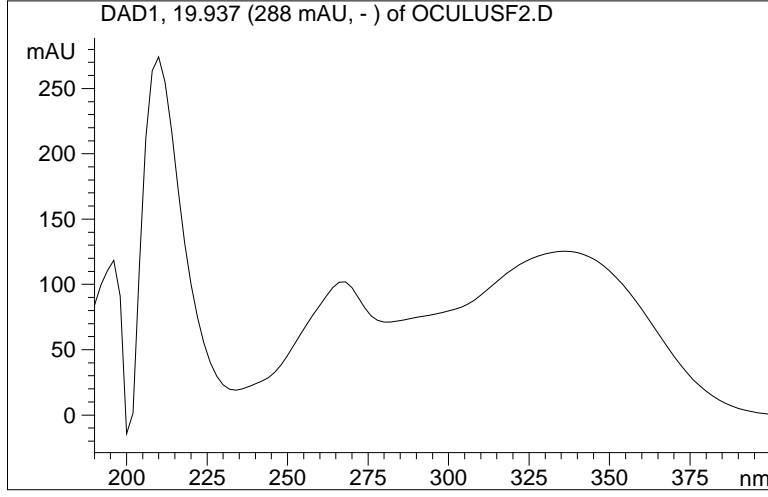
Şekil 9. *I. oculus-christi* ekstrelerinde bulunan klorojenik asitin UV spektrumu



Şekil 10. *I. oculus-christi* ekstrlerinde bulunan ferulik asitin UV spektrumu



Şekil 11. *I. oculus-christi* ekstrlerinde bulunan luteolinin UV spektrumu



Şekil 12. *I. oculus-christi* ekstrelerinde bulunan apigeninin UV spektrumu

3.5. *Inula oculus-christi*' deki Bazı Fenolik Bileşiklerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Miktar Tayini

Bitkinin içerisinde kalitatif olarak tayini gerçekleştirilen; gallik asit, klorojenik asit, ferulik asit, luteolin ve apigenin fenolik bileşiklerinin miktar tayini yapılırken; birçok parametre bir arada değerlendirilerek en uygun yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır. Geliştirilen bu yöntemde; fenolik bileşiklerin analizi için C18 kolona sahip ters faz HPLC uygulamasının uygun olacağı düşünülmüştür. Mobil faz olarak kullanılan çözücüler arasında polaritelerinin yüksek oluşu nedeniyle ayırımın daha keskin olacağı düşünüldüğünden; su, metanol ve asetonitril çözücüleri ile gradient elüsyon tercih edilmiş ve bu çözücüler % 0,1' lik TFA ile asitlendirilerek daha iyi rezolüsyon sağlanmıştır. Analiz için uygun akış hızı 1 ml/dk ve kolon sıcaklığı 30°C olarak belirlenmiş ve analiz süresince sıcaklık sabit değerinde tutulmuştur.

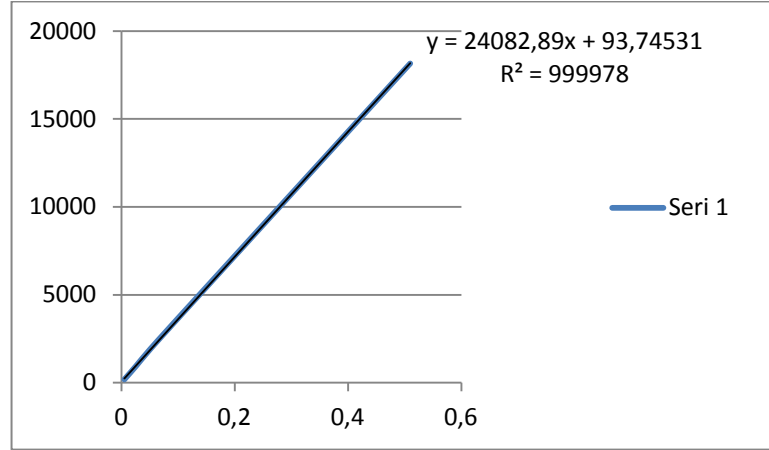
Çizelge 13. *I. oculus-christi* bitkisinin çiçek, yaprak ve köklerinin metanollü ekstraterindeki fenolik bileşiklerin yüzde (%) miktarları

	Gallik asit	Klorojenik asit	Ferulik asit	Luteolin	Apigenin
Çiçek	0,0841	0,1579	0,2300	0,1318	0,0671
	±0,0035	±0,0041	±0,0106	±0,0012	±0,0004
Yaprak	0,4435	0,2280	0,3727	0,0275	0,0060
	±0,0128	±0,0184	±0,0210	±0,0038	±0,0001
Kök	-	0,3323	0,0893	-	-
		±0,0300	±0,0087		

3.5.1. Standart Bileşiklere Ait Kalibrasyon Eğrileri ve Doğru Denklemleri

Gallik Asite Ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Gallik asite ait kalibrasyon eğrisi, konsantrasyon ve pik alanlarının ortalaması, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 13. Gallik asite ait kalibrasyon eğrisi

Çizelge 14. Gallik asite ait konsantrasyon ve pik alanları ortalama değerleri

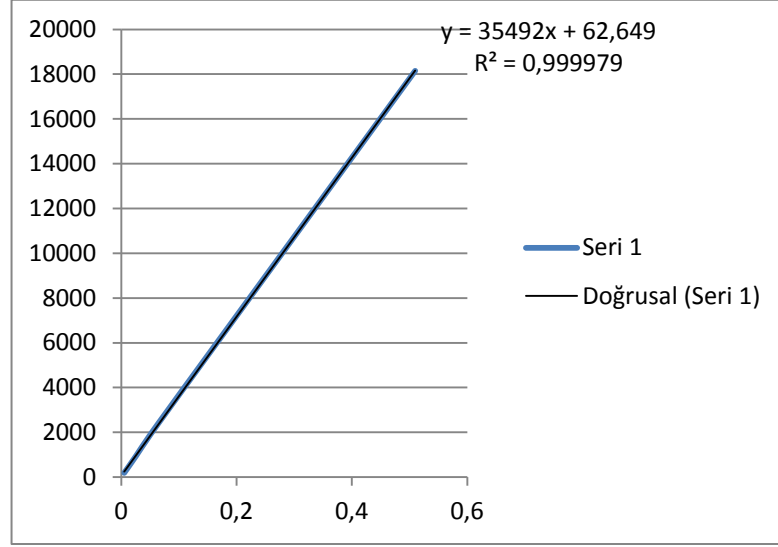
X (konsantrasyon mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,03625	914,59
0,0725	1827,58
0,145	3656,3
0,29	7084,587
0,725	17540,84

Çizelge 15. 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	$y=24082,89x+93,74531$	0,999978	0,00001726	0,00005753

Klorojenik Asite Ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Klorojenik asite ait kalibrasyon eğrisi, konsantrasyon ve pik alanlarının ortalaması, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 14. Klorojenik asite ait kalibrasyon eğrisi

Çizelge 16. Klorojenik asite ait konsantrasyon ve pik alanları ortalama değerleri

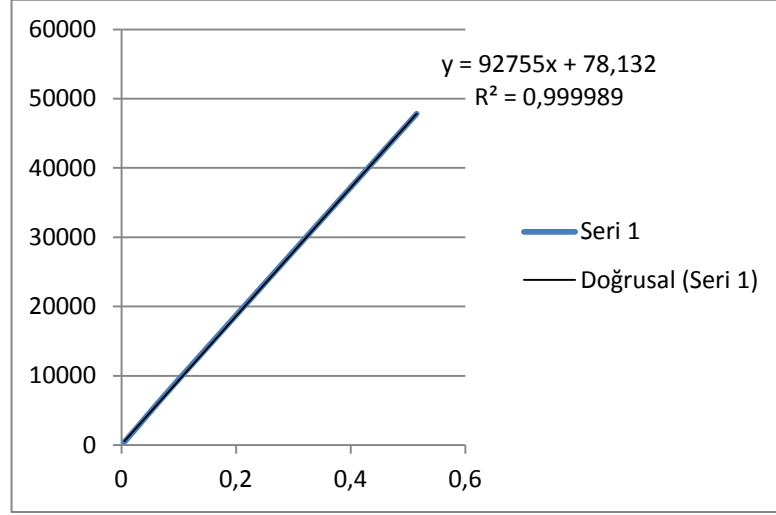
X (konsantrasyon mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,0051	185,3067
0,0255	939,43
0,051	1917,15
0,102	3738,68
0,51	18150,04

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

Bileşik	Doğru Denklemi	R^2	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
Klorojenik asit	$y=35492x+62,649$	0,999979	0,00000399	0,0000133

Ferulik Asite Ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Ferulik asite ait kalibrasyon eğrisi, konsantrasyon ve pik alanlarının ortalaması, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 15. Ferulik asite ait kalibrasyon eğrisi

Çizelge 18. Ferulik asite ait konsantrasyon ve pik alanları ortalama değerleri

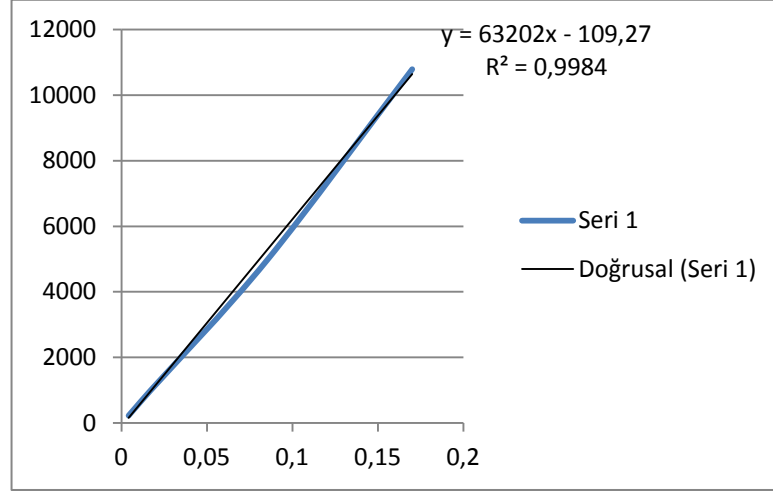
X (konsantrasyon mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,00515	454,47
0,02575	2408
0,0515	4907,433
0,103	9767,817
0,515	47818,24

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

Bileşik	Doğru Denklemi	R^2	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
Ferulik asit	$y=92755x+78,132$	0,999989	0,0000054	0,000018

Luteoline Ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Luteoline ait kalibrasyon eğrisi, konsantrasyon ve pik alanlarının ortalaması, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 16. Luteoline ait kalibrasyon eğrisi

Çizelge 20. Luteoline ait konsantrasyon ve pik alanları ortalama değerleri

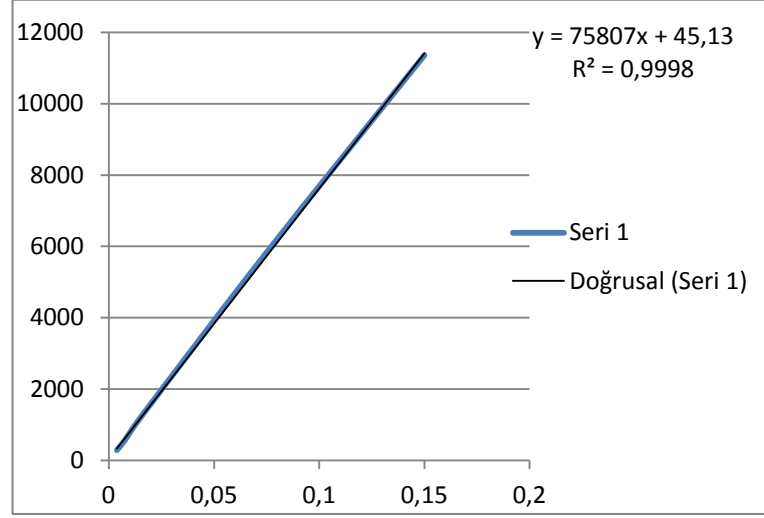
X (konsantrasyon mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,00425	231,8667
0,0085	487,87
0,017	994,9233
0,085	4954,06
0,17	10781,71

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

Bileşik	Doğru Denklemi	R^2	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
Luteolin	$y = 63202x - 109,27$	0,9984	0,000006	0,00002

Apigenine Ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Apigenine ait kalibrasyon eğrisi, konsantrasyon ve pik alanlarının ortalaması, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 17. Apigenine ait kalibrasyon eğrisi

Çizelge 22. Apigenine ait konsantrasyon ve pik alanları ortalama değerleri

X (konsantrasyon mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,00375	292,9767
0,0075	568,8
0,015	1209,067
0,075	5838,64
0,15	11362,61

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

Bileşik	Doğru Denklemi	R^2	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
Apigenin	$y=75807x+45,13$	0,9998	0,000003	0,00001

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

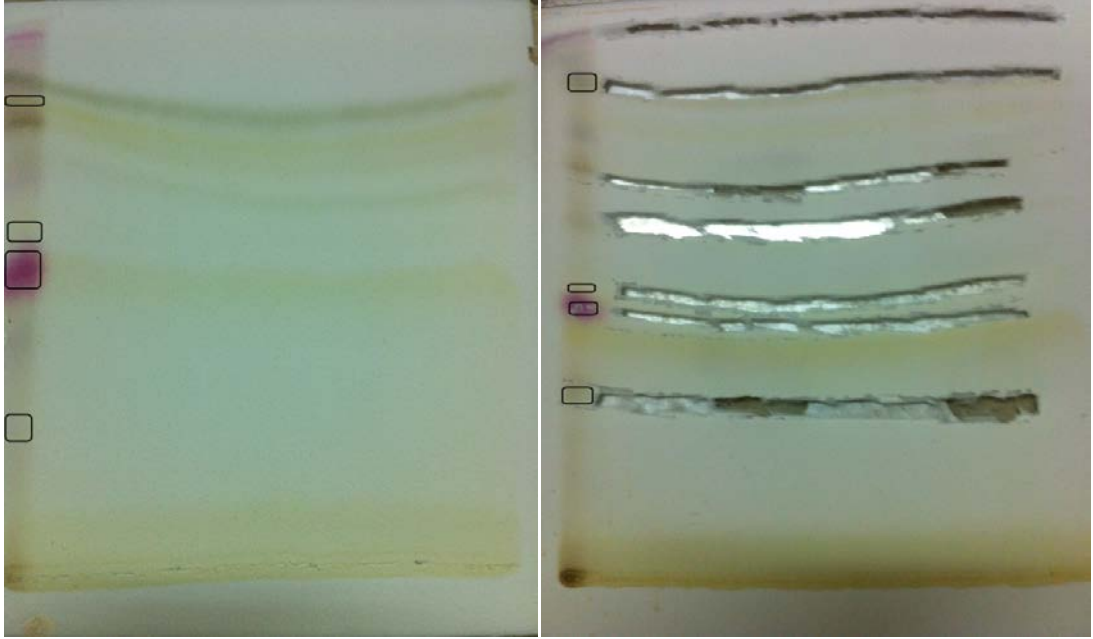
I. oculus-christi' nin içerdiği bileşiklerin miktar tayini yapılırken standart olarak kullanılan fenolik bileşiklerin LOQ konsantrasyonlarına göre hazırlanan çözeltilerinin 9' ar defa enjeksiyonu sonucu elde edilen piklerin alanlarının ortalama değerleri, standart sapma değerleri ve bağıl yüzde standart sapma değerleri çizelgede verilmiştir.

Çizelge 24. LOQ konsantrasyonuna göre hazırlanarak standart olarak kullanılan fenolik bileşiklerin piklerinin ortalaması, standart sapma ve bağıl yüzde standart sapma değerleri

	Gallik asit	Klorojenik asit	Ferulik asit	Luteolin	Apigenin
Aort (n=9)	13,1869	3,011238	1,700159	0,559822	1,026793
SD	0,063068	0,053231	0,069213	0,043605	0,024334
% RSD	0,478266	1,767733	4,070991	7,789036	2,369884

3.6. *Inula oculus-christi*' de Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi ile İzolasyon Çalışmaları

Bitkinin topraküstü kısmının metanollü ekstresi plak üzerine bant şeklinde tatbik edilip hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sistemi ile sürüklendikten sonra, plağın bir kısmı anisaldehit/H₂SO₄ ile muamele edilerek, izolasyonun yapılacağı bantın sürüklenme mesafesi tespit edilmiştir. Daha sonra, reaktif ile muamele edilmemiş R_{f1}=0,3; R_{f2}=0,44 ve R_{f3}=0,46 sürüklenme mesafesindeki bileşikler; sırasıyla luteolin, terpenik yapıdaki A bileşiği ve apigenin bant şeklinde kazınıp, metanolde bir süre bekletildikten sonra, silikajelinden arındırılıp, saf şekilde izole edilmiştir.



Şekil 18. *I. oculus-christi*' nin topraküstü kısmının metanollü ekstresinin, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde, anisaldehit/H₂SO₄ reaktifi ile muamele sonrası; izolasyondan önce ve sonra elde edilen preparatif TLC kromatogramları

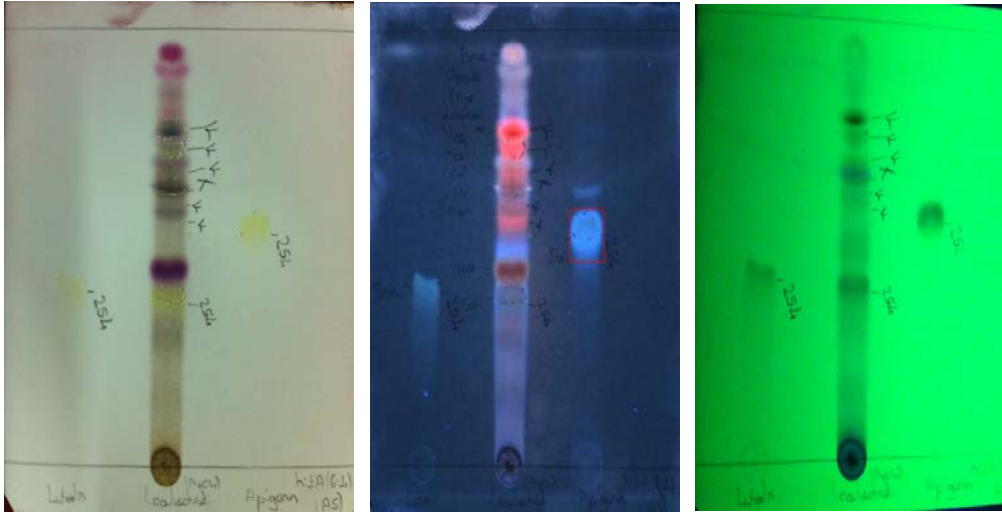
Hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde; R_{f2}=0,44 ve R_{f3}=0,46 sürüklenme mesafesindeki bileşiklerin ayrımının keskin olmadığı gözlenmiştir. Kullanılan çözücülerin oranları değiştirilerek; bu iki bileşik arasındaki ayrımın daha net olduğu çözücü sistemi araştırılmıştır. Hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde, R_{f2}=0,44

deki bileşimin; hekzan:etil asetat (7:3) çözücü sisteminde, $R_{f_2}'=0,72$ sürüklenme mesafesine kadar taşındığı; dolayısıyla ayırımın daha net olduğu gözlenmiştir.

Bitkinin topraküstü kısmının metanollü ekstresi, plak üzerine bant şeklinde tatbik edilip hekzan:etil asetat (7:3) çözücü sistemi ile sürüklendikten sonra, plağın bir kısmı anisaldehit/ H_2SO_4 ile muamele edilerek, izolasyonun yapılacağı bantın sürüklenme mesafesi tespit edilmiştir. Daha sonra, reaktif ile muamele edilmemiş $R_{f_2}'=0,72$ sürüklenme mesafesindeki terpenik yapıdaki A bileşiği bant şeklinde kazınıp, metanolde bir süre bekletildikten sonra, silikajelinden arındırılıp, saf şekilde elde edilmiştir.

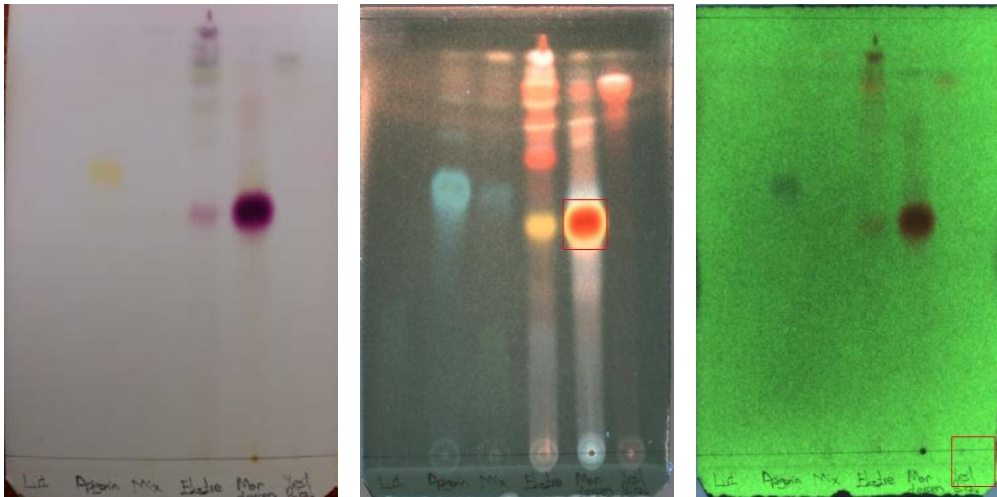
Bitkinin topraküstü kısmının metanollü ekstresi ve izole edilen bileşikler hazır TLC plaklarına tatbik edilip, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde sürüklenmiştir. Daha sonra plaklar, anisaldehit/ H_2SO_4 reaktifi ile muamele edilip, lekeler belirginleştirilmiştir. İzole edilen bileşiklerin; görünürde, 254 nm ve 366 nm dalga boylarında tek renk vermeleri bileşiklerin saflığı hakkında ön fikir vermiştir.

Bitkinin topraküstü kısmının metanollü ekstresi ve izole edilen luteolin ve apigenin bileşikleri tatbik edilmiş plağın, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde sürüklendikten sonra, anisaldehit/ H_2SO_4 reaktifi ile muamele edilmiş kromatogramları aşağıda verilmiştir.



Şekil 19. *I. oculus-christi'* nin topraküstü kısmının metanollü ekstresi ve izole edilen luteolin ve apigenin tatbik edilmiş plağın, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde, anisaldehit/H₂SO₄ reaktifi ile muamele sonrası elde edilen TLC kromatogramları

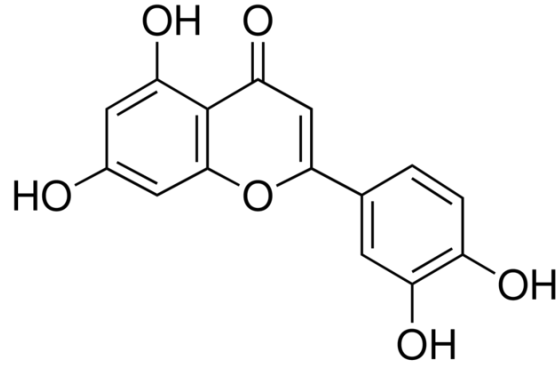
Bitkinin topraküstü kısmının metanollü ekstresi ve izole edilen terpenik yapıdaki A bileşiği tatbik edilmiş plağın, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde sürüklendikten sonra, anisaldehit/H₂SO₄ reaktifi ile muamele edilmiş kromatogramları aşağıda verilmiştir.



Şekil 20. *I. oculus-christi'* nin topraküstü kısmının metanollü ekstresi ve izole edilen terpenik yapıdaki A bileşiği tatbik edilmiş plağın, hekzan:etil asetat (6:4) çözücü sisteminde, anisaldehit/H₂SO₄ reaktifi ile muamele sonrası elde edilen TLC kromatogramları

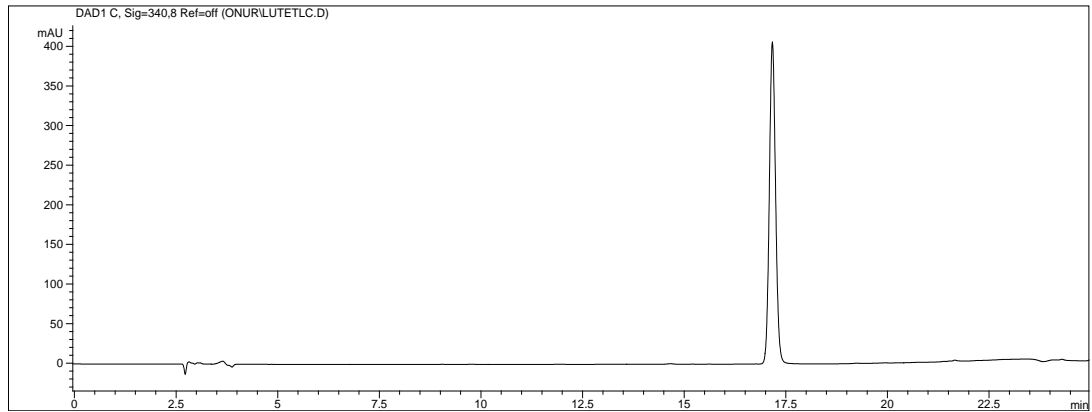
3.7. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini Bulguları

3.7.1. İzole edilen Luteolin Bileşiğinin HPLC Kromatogramı ve UV Spektrumu

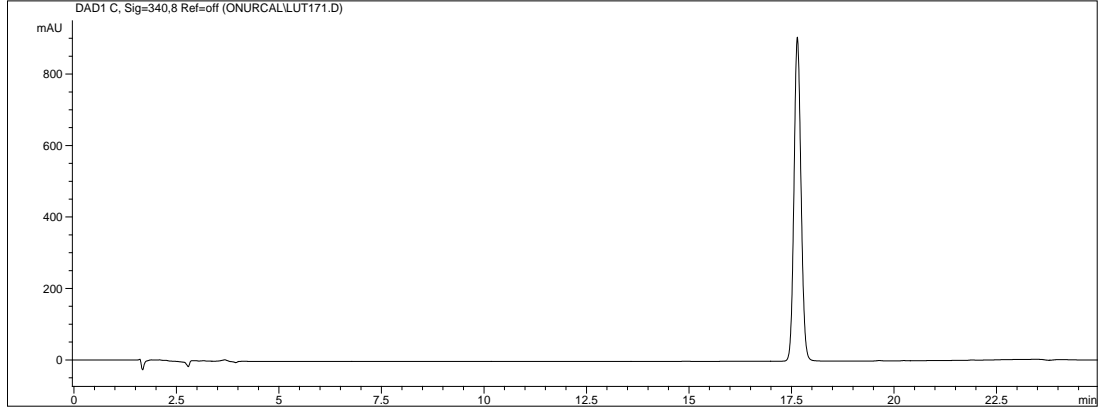


Luteolin

Inula oculus-christi' nin topraküstü kısmının metanollü ekstresinden, preparatif TLC ile izole edilen luteolin bileşiğinin ve standart olarak kullanılan luteolin bileşiğinin, HPLC analizi sonucunda 340 nm dalga boyundaki kromatogramları aşağıda verilmiştir.

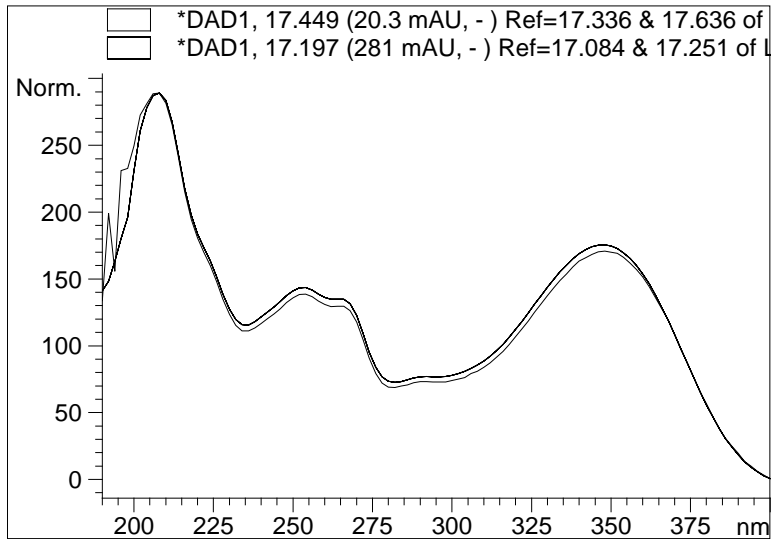


Şekil 21. İzole edilen luteolin bileşiğinin 340 nm' deki HPLC kromatogramı



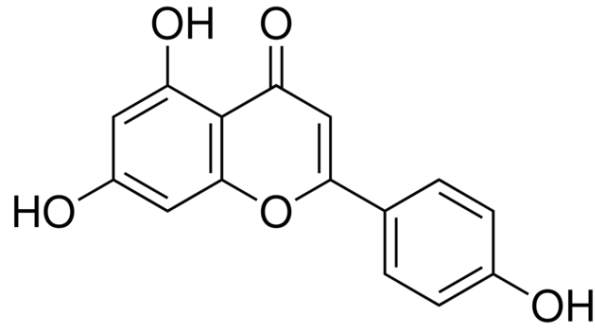
Şekil 22. Luteolin standart bileşiğinin 340 nm’deki HPLC kromatogramı

İzole edilen luteolin bileşiği ile standart olarak kullanılan luteolin bileşiğinin UV spektrumları aynı düzlem üzerinde aşağıda verilmiştir.



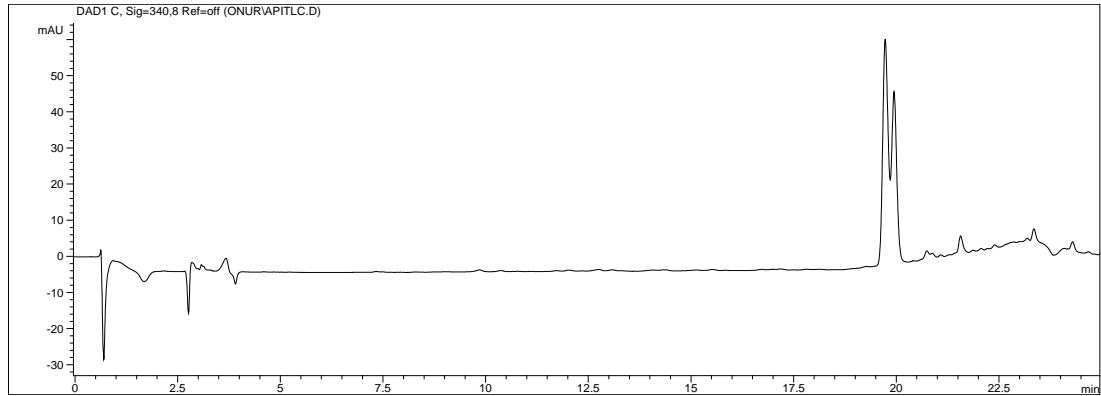
Şekil 23. İzole edilen luteolin bileşiği ile standart olarak kullanılan luteolin bileşiğinin UV spektrumları

3.7.2 İzole edilen Apigenin Bileşiğinin HPLC Kromatogramı ve UV Spektrumu

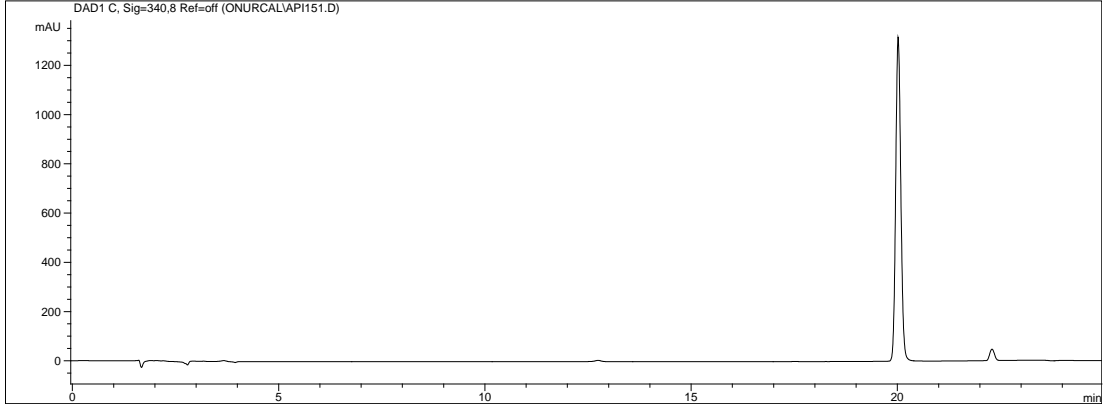


Apigenin

I. oculus-christi' nin topraküstü kısmının metanollü ekstresinden, preparatif TLC ile izole edilen apigenin bileşiğinin ve standart olarak kullanılan apigenin bileşiğinin, HPLC analizi sonucunda 340 nm dalga boyundaki kromatogramları aşağıda verilmiştir.

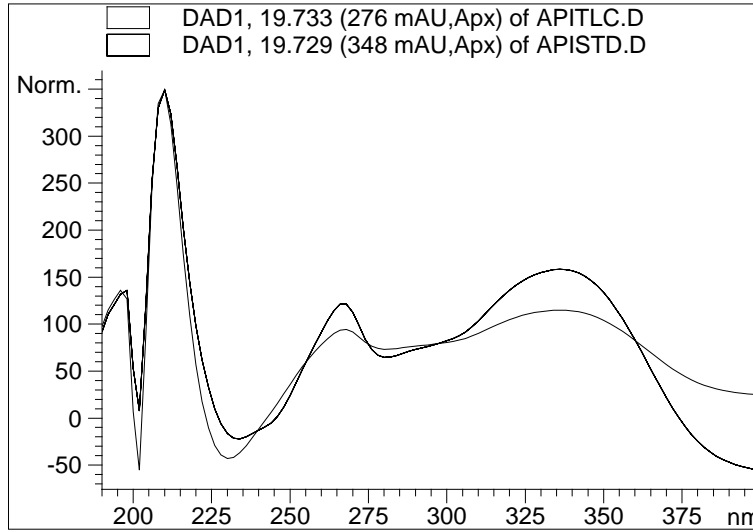


Şekil 24. İzole edilen apigenin bileşiğinin 340 nm' deki HPLC kromatogramı



Şekil 25. Apigenin standart bileşiğinin 340 nm’deki HPLC kromatogramı

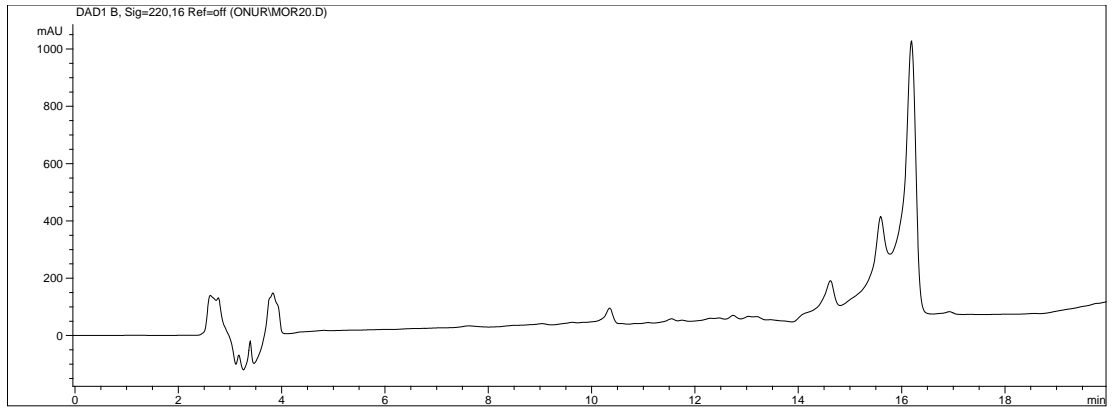
İzole edilen apigenin bileşiği ile standart olarak kullanılan apigenin bileşiğinin UV spektrumları aynı düzlem üzerinde aşağıda verilmiştir.



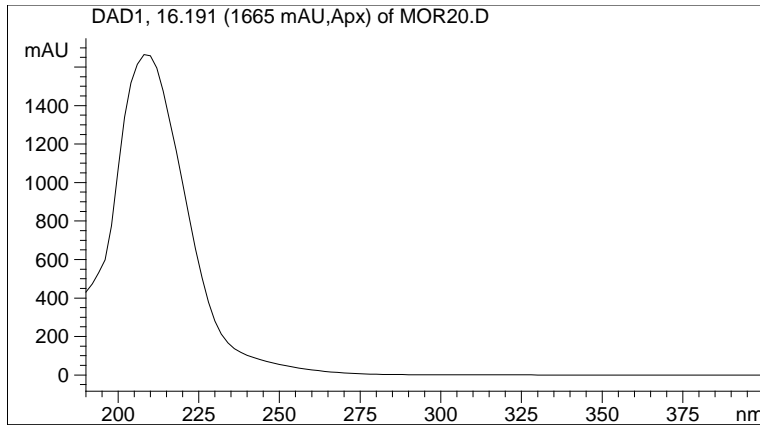
Şekil 26. İzole edilen apigenin bileşiği ile standart olarak kullanılan apigenin bileşiğinin UV spektrumları

3.7.3. İzole edilen Terpenik Yapıdaki A Bileşiğinin HPLC Kromatogramı, UV ve LC-MS Spektrumu

I. oculus-christi' nin topraküstü kısmının metanol ile hazırlanan ekstresinden preparatif TLC ile izole edilen terpenik yapıdaki A bileşiğinin HPLC analizi sonucunda 220 nm dalga boyundaki kromatogramı ve UV spektrumu aşağıda verilmiştir.

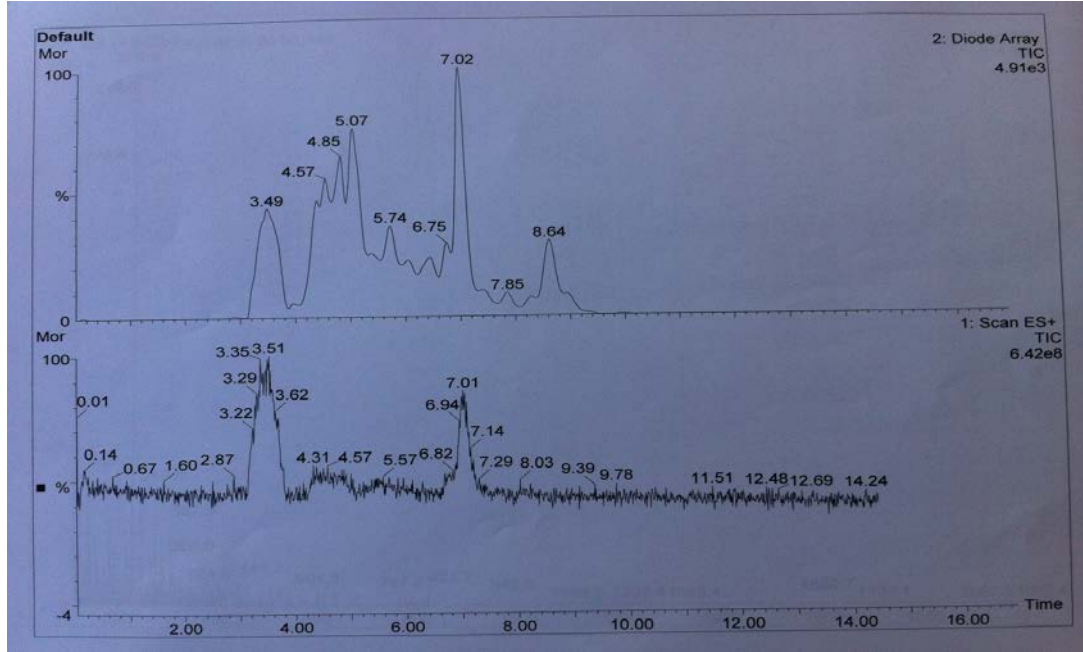


Şekil 27. İzole edilen terpenik yapıdaki A bileşiğinin 220 nm' deki HPLC kromatogramı



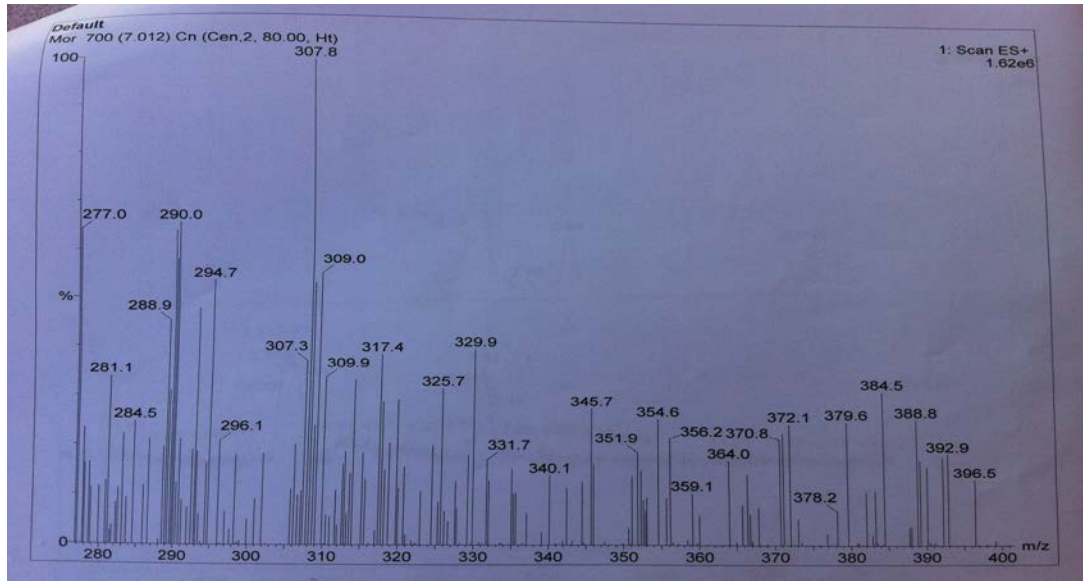
Şekil 28. İzole edilen terpenik yapıdaki A bileşiğinin UV spektrumu

Yapılan LC-MS analizine göre; retansiyon zamanı 7,02 dk olan terpenik yapıdaki A bileşiminin LC-MS kromatogramı aşağıda verilmiştir.



Şekil 29. İzole edilen terpenik yapıdaki A bileşinin LC-MS spektrumu (1)

Yapılan LC-MS analizine göre; spektrumda yer alan, 7,02. dakikadaki moleküler iyon piki esas alındığında, terpenik yapıdaki A bileşiminin $[M+H]^+$ değerinin 307,8 olduğu saptanmıştır.



Şekil 30. İzole edilen terpenik yapıdaki A bileşinin LC-MS spektrumu (2)

3.8. Antimikrobiyal Aktivite

Inula oculus-christi' nin çiçek, yaprak ve kökünden metanol ile hazırlanan ekstrelerin, gram pozitif bakteri, gram negatif bakteri ve maya suşlarına karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivite bulguları aşağıda verilmiştir.

Çizelge 25. *I. oculus-christi'* nin çiçek, yaprak ve kökünden metanolla hazırlanan ekstrelerin MIC (mg/ml) değerleri

	Çiçek	Yaprak	Kök	Ampisilin	Siprofloksazin	Flukonazol
<i>S. aureus</i>	4,7	33,8	9.1	0,00312	0,00039	-
<i>E. faecalis</i>	9,4	67,5	9.1	0,00156	0,00078	-
<i>A. baumannii</i>	4,7	33,7	18,1	0,00624	0,00156	-
<i>K. pneumoniae</i>	37,5	67,5	36,3	0,00312	0,00078	-
<i>P. aeruginosa</i>	150	67,5	36,3	-	0,00312	-
<i>P. vulgaris</i>	75	33,8	18,1	0,00156	0,00156	-
<i>E. aerogenes</i>	75	67,5	36,3	0,00624	0,00312	-
<i>E. coli</i>	37,5	4,2	18,1	0,00312	0,00156	-
<i>C. albicans</i>	37,5	16,9	36,3	-	-	0,00312
<i>C. tropicalis</i>	37,5	16,9	36,3	-	-	0,00312

Çiçek ekstresinin *S. aureus* ve *A. baumannii'* ye, yaprak ekstresinin *E. coli'* ye, kök ekstresinin *S. aureus* ve *E. faecalis* türlerine karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivitenin, diğer mikroorganizmalara gösterdiklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bitkinin çiçek ve kök ekstrelerinin özellikle gram pozitif bakteri suşlarına karşı; diğer bakteri ve mayalara oranla daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdikleri saptanmıştır.

4. TARTIŞMA

Asteraceae familyasında bulunan *Inula* cinsi Akdeniz ülkeleri başta olmak üzere; Avrupa, Asya ve Afrika' da geniş yayılış göstermektedir. *Inula* türleri, halk ilacı olarak geleneksel tıpta ve çeşitli farmakolojik aktiviteleri nedeniyle modern tıpta yıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. *Inula* türleri halk arasında antiinflamatuvar, antipiretik, antiseptik, antitussif, ekspektoran ve hepatoprotektif özelliklerinden dolayı; tüberküloz, bronşit, diyabet, hipertansiyon, gastroduodenal rahatsızlıklar ve karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. *Inula* cinsine dahil olan bitkiler, antitümoral, antiproliferatif, sitotoksik, hepatoprotektif ve antimikrobiyal aktiviteleri nedeniyle, araştırmacıların dikkatini çekmekte ve bu türler üzerinde yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Türkiye' de doğal olarak yetişen 27 *Inula* türünden biri olan *Inula oculus-christi* L. üzerinde ülkemizde yayınlanmış, antioksidan, antimikrobiyal, DNA hasarından koruyucu etki ve amibisidal aktivite konularında iki çalışma olmasının yanı sıra; bu bitki üzerindeki yurtdışı yayın sayısı oldukça sınırlıdır.

Tez kapsamında Malatya' dan toplanan *I. oculus-christi'* nin topraküstü kısmı ve kökünden metanolla hazırlanan total ekstreleri üzerinde total fenol miktar tayini yapılmıştır. Bitkinin topraküstü kısmının total fenol miktarı, $121,40 \pm 1,096$ mg GAE/g ekstre; kökünün total fenol miktarı, $69,80 \pm 1,414$ mg GAE/g ekstre olarak saptanmıştır. Berk ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, bitkinin topraküstü kısmının sulu ekstresinin total fenol miktarı $33,17 \pm 0,34$ µg GAE/mg ekstre olarak saptanmıştır. Bu çalışma sonucu elde edilen veri, çalışmamız sonucu elde ettiğimiz *I. oculus-christi'* nin topraküstü kısmının total fenol miktarı ile kıyaslandığı zaman, daha düşük miktar olarak göze çarpmıştır (Berk ve ark., 2011).

I. oculus-christi' nin topraküstü kısmının diklorometan ve metanollü total ekstreleri içerisindeki bileşik grupları TLC yöntemi ile teşhis edilmiş ve bitkinin terpenik

bileşikler ve flavonoitler yönünden zengin olduğu belirlenmiştir. *Inula oculus-christi* ve *Inula* cinsine dahil olan diğer türlere ait literatür verilerinde, bitkinin terpenik bileşikler ve flavonoitler taşıdığı rapor edilmiştir. *I. oculus-christi* bitkisinin çiçek, yaprak ve kökünden hazırlanan metanollü ekstraler ile standart olarak kullanılan ve bitkide bulunması muhtemel olan fenolik bileşikler, HPLC' ye uygulanmıştır. HPLC analizinde; bitki ekstraleri ve standart bileşiklerin retansiyon zamanları ve UV spektrumları kıyaslanmış ve bitkinin içerdiği fenolik bileşikler teşhis edilmiştir. Yapılan HPLC analizi ile bitkinin, gallik asit, klorojenik asit, ferulik asit, luteolin ve apigenin bileşiklerini içerdiği belirlenmiştir. Mevcut literatür verileri dikkate alındığında; fenolik karakterli bu 5 bileşiğin, bitkide bulunduğu dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

I. oculus-christi' nin çiçek, yaprak ve kökünden hazırlanan metanollü ekstrelerde gallik asit, klorojenik asit, ferulik asit, luteolin ve apigenin bileşiklerinin miktarları ters faz HPLC kullanılarak tayin edilmiştir. Bitkinin çiçek ve yaprağındaki fenolik bileşiklerin miktarlarının, köküne kıyasla daha yüksek miktarda olması, total fenol miktar tayini sonuçlarını desteklemiştir. Miktar tayini sonuçlarına göre; bitkinin tüm kısımlarında, klorojenik asit ve ferulik asit mevcutken; bitkinin kökünde gallik asit, luteolin ve apigenin varlığına rastlanmamıştır. Bitkinin çiçeğinde; ferulik asit % $0,2300 \pm 0,0106$ değeriyle diğer bileşiklerden daha yüksek miktarda bulunmuştur. Bitkinin yaprağında; gallik asit % $0,4435 \pm 0,0128$ ve ferulik asit % $0,3727 \pm 0,0210$ değerleriyle diğer fenolik bileşiklerden daha yüksek miktarlarda bulunmuştur. Klorojenik asit % $0,3323 \pm 0,0300$ yüzdesiyle; bitkinin kökünde, diğer kısımlarına kıyasla daha yüksek miktarda bulunmuştur. Yapılan literatür taramalarında fenolik karakterli bu bileşiklerin miktar tayiniyle ilgili herhangi bir veriye rastlanmamıştır.

Yapılan izolasyon çalışmalarında bitkinin topraküstü kısmının metanolla hazırlanmış ekstresinin preparatif TLC' ye uygulanması sonucu flavonoit yapısında luteolin ve apigenin ile terpenik yapıdaki A bileşiği izole edilmiştir. İzole edilen luteolin ve apigenin bileşiklerinin teşhisi, HPLC' de standart olarak kullanılan bileşiklerin

retansiyon zamanları ve UV spektrumları kıyaslanarak yapılmıştır. TLC ile kalitatif analiz sonucu, terpenik yapıda olduğu düşünölen A bileşiminin moleköler ağırlığı, LC-MS spektral analiz verileri dikkate alınarak tayin edilmiştir. Bitki üzerinde, daha önce yapılan çalışmalarda; seskiterpen lakton yapısında bileşikler izole edilmiştir; fakat flavonoit yapısında bir bileşimin izolasyonu ile ilgili herhangi bir fitokimyasal çalışma bulunmamaktadır.

I. oculus-christi' nin çiçek, yaprak ve kökünden hazırlanan metanollü ekstrelerin, *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *E. aerogenes*, *C. albicans* ve *C. tropicalis* bakteri ve maya suşlarına karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivite agar dilüsyon yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. Çiçek ekstresinin *S. aureus* ve *A. baumannii'* ye, yaprak ekstresinin *E. coli'* ye, kök ekstresinin *S. aureus* ve *E. faecalis* türlerine karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivitenin, diğör mikroorganizmalara gösterdiklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Elde edilen MIC değerleri kıyaslandığında; bitkinin çiçek ve kök ekstrelerinin, gram pozitif bakterilere karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivitenin, gram negatif bakterilere ve mayalara karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteden daha yüksek miktarda olduğu saptanmıştır. Bitkinin yaprağının mikroorganizmalara karşı gösterdiği aktivite, diğör kısımlara nazaran daha düşük miktarda bulunmuş olsa da; *E. coli* bakterisine karşı 4,2 mg/ml MIC değeri ile yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Berk ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, *I. oculus-christi'* nin sulu ekstresi, agar difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivite açısından incelenmiş, ekstrenin, *K. pneumoniae* ve *S. aureus'* a karşı etkili olduğu; ancak *P. aeruginosa*, *E. coli*, *P. vulgaris* ve *C. albicans'* a karşı etkili olmadığı yayınlanmıştır (Berk ve ark., 2011).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Asteraceae familyasında bulunan, dünyada yaklaşık 100' e yakın tür ile temsil edilen *Inula L.* cinsi, geniş bir habitat içerisinde doğal olarak yetişen bitkilerden oluşmaktadır. *Inula L.* türlerinden birçoğu, dünyada geleneksel halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda özellikle bakterisidal, hepatoprotektif ve antitümöral etki gibi farklı biyolojik aktivitelerinden dolayı *Inula* türleri çok dikkat çekmektedir. Türkiye' de doğal olarak yetişen *Inula oculus-christi* bitkisinin çiçekleri, idrar yolu hastalıklarının ve böbrek taşlarının tedavisinde ve yara iyileştirici etkisi nedeniyle geleneksel olarak kullanılmaktadır. Türkiye' de bitkinin, taşıdığı inulinden dolayı halk arasında tatlandırıcı olarak kullanımının yanı sıra; çeşitli balların üretimine kaynak oluşturduğu da bilinmektedir.

Tez çalışmasının başında; *I. oculus-christi* ve *Inula* cinsine dahil olan diğer türlerin taşıdıkları etken maddeler ve gösterdikleri farmakolojik aktivitelerle ilgili kapsamlı literatür taraması yapılmıştır. Literatür verilerine göre; bitki üzerinde yapılmış fizyokimyasal araştırmaların ve aktivite çalışmalarının oldukça sınırlı sayıda olduğu saptanmıştır.

Fitokimyasal çalışmalar kapsamında; *Inula oculus-christi'* nin topraküstü ve kökünün metanollü ekstralarının total fenol miktarı tayin edilmiştir. Bitkinin topraküstü kısmının diklorometanlı ve metanollü total ekstralarının TLC' ye uygulanması ile bitkinin terpenik bileşikler ve flavonoidler yönünden zengin olduğu gözlenmiştir. Bitkinin içerdiği bileşik gruplarının teşhisi HPLC analiz verileri ile desteklenmiştir. Bu veriler ışığında; bitkinin gallik asit, klorojenik asit, ferulik asit, luteolin ve apigenin bileşiklerini içerdiği belirlenmiştir.

Bitkinin çiçek, yaprak ve kökü içerisindeki; gallik asit, klorojenik asit, ferulik asit, luteolin ve apigenin bileşiklerinin yüzde miktarları HPLC ile tayin edilmiştir. Bitkinin

içerisinde bulunan fenolik bileşiklerin dağılımının, total fenol miktar tayin bulgularını destekler nitelikte olduğu gözlenmiştir. Özellikle fenolik bileşiklerin gösterdikleri kuvvetli antioksidan aktivite dikkate alınır; bitkinin yaprağındaki gallik asit ve ferulik asit miktarı ile kökündeki klorojenik asit miktarı önem teşkil etmektedir.

Tez kapsamında; saflaştırmayı planladığımız terpenik bileşikler ve flavonoidlerin izolasyonu için en uygun yöntemi geliştirmek amaçlanmıştır. Bunun için; izolasyon için en uygun yöntem olarak preparatif TLC yöntemi seçilip, terpen ve flavonoid yapısında bileşiklerin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen luteolin ve apigenin bileşiklerinin yapıları, standart olarak kullanılan bileşiklerin HPLC analiz verileri ve UV spektrumları kıyaslanarak aydınlatılmıştır. Flavonoid yapısındaki bu bileşiklerin izolasyonu, çalışmanın orijinalliği bakımından özellikle kayda değerdir. TLC yöntemi ile kalitatif olarak tayin edilen A bileşiğinin terpenik yapısı, LC-MS spektral analiz verileri ile desteklenmiştir. Bu bileşikle ilgili yapı tayini çalışmaları devam etmektedir.

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları sonucunda; bitkinin çiçek, yaprak ve kök ekstraktlarının, 2 gram pozitif, 6 gram negatif ve 2 maya türüne karşı gösterdikleri aktiviteyi ölçmek için agar dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Bitkinin her üç kısmının da; *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *E. aerogenes*, *C. albicans* ve *C. tropicalis* mikroorganizmalarına karşı değişen MIC değerlerinde etkinlik gösterdikleri belirlenmiştir. Bitkinin çiçek ve kök ekstraktlarının özellikle gram pozitif bakteri suşlarına karşı, diğer bakteri ve mayalardan daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdikleri saptanmıştır.

Inula oculus-christi üzerinde yapılan veri taramalarında; bu tür ile ilgili yurtiçi ve yurtdışı çalışmaların yetersiz olduğu anlaşılmaktadır. Bitkinin içerdiği terpenik bileşikler ve flavonoidler nedeniyle gösterdiği; antioksidan, sitotoksik, antimikrobiyal, amibisidal ve antifeedant aktiviteler, araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Halk arasında da kullanılan bu tür ile ilgili araştırmaların devamının

sağlanmasıyla çok çarpıcı sonuçların alınabileceği düşünülmektedir. Yapılacak yeni çalışmalar, bilim dünyasında yeni veriler kazandırılmasına olanak sağlayacaktır. Bu amaçla; *I. oculus-christi* üzerinde fitokimyasal ve etki çalışmaları devam etmektedir.

ÖZET

***Inula oculus-christi* L. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar**

Ülkemizde doğal olarak yetişen 27 *Inula* türünden biri olan *Inula oculus-christi*, dünyada geniş bir habitat içerisinde yetişen, çok yıllık bir bitkidir. Ülkemizde bitkinin çiçekli kısımlarından hazırlanan dekoksasyon, halk arasında idrar yolları hastalıklarını tedavi etmek ve böbrek taşlarını düşürmek amacıyla ve yara iyileştirici etkisi nedeniyle kullanılmaktadır. Mevcut literatür verileri dikkate alındığında; bitki üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmaların ve biyolojik etki araştırmalarının oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Bu doğrultuda, tez kapsamında, *Inula oculus-christi*' nin terpenik bileşikleri ve flavonoidleri ile antimikrobiyal etkisi incelenmiştir.

Malatya' dan toplanan *I. oculus-christi*' nin topraküstü kısmı ve kökünden metanol ile hazırlanan total ekstrelerin total fenol miktarı tayin edilmiştir. Total fenol miktarı yüksek olan topraküstü kısım, TLC' ye uygulanarak içerdiği bileşik grupları teşhis edilmiştir. Bitkinin çiçek, yaprak ve kök ekstraktları içerisindeki fenolik bileşiklerin HPLC ile kalitatif ve kantitatif olarak analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda; bitkinin tüm kısımlarının, klorojenik asit ve ferulik asit içerdiği; gallik asit, luteolin ve apigeninin ise bitkinin, çiçek ve yaprağında bulunduğu belirlenmiştir. Bitkinin yaprak ekstresindeki, gallik asit ve ferulik asit miktarı ile kök ekstresindeki klorojenik asit miktarının yüksek olduğu saptanmıştır.

I. oculus-christi' nin topraküstü kısmından, preparatif TLC ile 3 bileşik izole edilmiştir. Bunlardan ikisi flavonoid yapısında olan luteolin ve apigenin diğeri ise terpenik yapıda olduğu belirlenen bileşiktir.

Bitkinin çiçek, yaprak ve kök ekstraktlarının, *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *E. aerogenes*, *C. albicans* ve *C. tropicalis* mikroorganizmalarına karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivite, agar dilüsyon yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. Çiçek ve kök ekstraktlarının, gram pozitif bakterilere karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivitenin, gram negatif bakterilere ve mayalara karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteden daha yüksek miktarda olduğu saptanmıştır. Çiçek ekstresinin, *S. aureus* ve *A. baumannii* bakterilerine, yaprak ekstresinin ise *E. coli* bakterisine karşı belirgin antimikrobiyal aktivite gösterdikleri saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Antimikrobiyal aktivite, flavonoidler, HPLC, *Inula oculus-christi* L., terpenik bileşikler.

SUMMARY

Pharmacognostical investigations on *Inula oculus-christi* L.

Inula oculus-christi is an annual plant which is naturally growing in Turkey as one of the 27 species of *Inula* genus with a wide distribution profile in the world. In Turkey, decoction prepared from the flowering parts of the plant is used in folk medicine for passing kidney stones and for healing wounds. According to the literature findings, the phytochemical and biological activity studies performed on the plant were found in quite restricted number. Thus, terpenic compounds and flavonoid profile, antimicrobial activity of *Inula oculus-christi* were investigated within this study.

Total phenolic content of the methanolic extracts of the aerial parts and roots of *Inula oculus-christi* collected from Malatya was determined. The aerial parts with highest total phenolic content was applied to TLC and the compound profile of the plant was determined. The qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds in the flowers, leaves and roots of the plant were performed by HPLC. Our results revealed that while all the investigated parts of the plant contain chlorogenic and ferulic acids; the flowers and leaves contain gallic acid, luteolin and apigenin. While gallic and ferulic acids were found in high amount in the leaves, chlorogenic acid amount was found high in the root.

Three compounds were isolated with preparative TLC from the aerial parts of *Inula oculus-christi*. Two of these are apigenin and luteolin which have flavonoid structure and the other one is a compound determined as structure of terpene.

Antimicrobial activity of the flower, leaf and root extracts of the plant was determined against *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *E. aerogenes*, *C. albicans* and *C. tropicalis* by using agar dilution method. The flower and root extracts were found to be more active against Gram positive bacteria compared to Gram negative bacteria and yeasts. The flower extract exhibited significant activity against *S. aureus* and *A. baumannii*, while the leaf extract is more active against *E. coli*.

Key Words: Antimicrobial activity, flavonoids, HPLC, *Inula oculus-christi* L., terpenic compounds.

KAYNAKLAR

- 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. *Toxicol*, **52**: 566-573.
- ABOU-DOUH, A.M. (2008). New eudesmane derivatives and other sesquiterpenes from the epigeal parts of *Dittrichia graveolens*. *Cherm. Pharm. Bull.*, **56**: 1535-1545.
- AHMAD, V.U., ISMAIL, N. (1991). 5-hydroxy-3,6,7,2',5'-pentamethoxyflavone from *Inula grantioides*. *Phytochemistry*, **30**: 1040-1041.
- 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. *J. Ethnopharmacol.*, **77**: 117-121.
- ALI-SHTAYEH, M., ABU GHDEIB, S.I. (1999). Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses*, **42**: 665-672.
- BAI, N., ZHOU, Z., ZHU, N., ZHANG, L., QUAN, Z., HE, K., ZHENG, Q.Y., HO, C-T. (2005). Antioxidative flavonoids from the flower of *Inula britannica*. *J. Food Lipids*, **12**: 141-149.
- BAYTOP, T. (1999). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara.
- BERK, S., TEPE, B., ARSLAN, S. (2011). Screening of the antioxidant, antimicrobial and DNA damage protection potentials of the aqueous extract of *Inula oculus-christi*. *African J. Pharmacy and Pharmacology*, **5**: 1695-1702.
- BLANC, M-C., BRADESI, P., GONCALVES, M.J., SALGUEIRO, L., CASANOVA, J. (2006). Essential oil of *Dittrichia viscosa* ssp. *viscosa*: analysis by ¹³C NMR and antimicrobial activity. *Flavour. Fragr. J.*, **21**:324-332.
- BOKADIA, M.M., MACLEOD, A.J., MEHTA, S.C., MEHTA, B.K., PATEL, H. (1986). The essential oil of *Inula racemosa*. *Phytochemistry*, **25**: 2887-2888.

- BOURREL, C., VILAREM, G., PERINEAU, F. (1993). Chemical analysis, bacterostatic and fungistatic properties of the essential oil of Elecampane (*Inula helenium* L.). *J. Essent. Oil Res.*, **5**: 411-417.
- CHEN, C-N., HUANG, H-H., WU, C-L., LIN, C.P.C., HSU, J.T.A., HSIEH, H.P., CHUANG, S-E., LAI, G-M. (2007). Isocostunolide, a sesquiterpene lactone, induces mitochondrial membrane depolarization and caspase-dependent apoptosis in human melanoma cells. *Cancer Letters*, **246**: 237-252.
- 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. *Eur. J. Med. Chem.*, **46**: 5408-5415.
- CHENG, X.R., YE, J., REN, J., ZENG, Q., ZHANG, F., QIN, J.J., SHEN, Y.H., ZHANG, W.D., JIN, H.Z., (2012). Terpenoids from *Inula sericophylla* Franch. and their chemotaxonomic significance. *Biochem. Syst. Ecol.*, **42**: 75-78.
- 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 Res. Int.*, **42**: 1273-1280.
- DAVIS, P.H. (1982). Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol 5, University Press, Edinburgh.
- DEĞERLİ, S., BERK, S., MALATYALI, E., TEPE, B. (2012). Screening of the *in vitro* amoebicidal activities of *Pastinaca armena* (Fisch. & C.A.Mey.) and *Inula oculus-christi* (L.) on *Acanthamoeba castellanii* cysts and trophozoites. *Parasitol Res.*, **110**: 565-570.
- DOĞAN, A., (2008). Ovacık (Tunceli) yöresinin geleneksel halk ilacı olarak kullanılan bitkileri. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- DORN, D.C., ALEXENIZER, M., HENGSTLER, J.G., DORN, A. (2006). Tumor cell specific toxicity of *Inula helenium* extracts. *Phytoter. Res.*, **20**: 970-980.

- ELA, M.A.A., EL-LAKANY, A.M., ABDEL-KADER, M.S., ALQASOUMI, S.I., SHAMS-ELDIN, S.M., HAMMODA, H.M., (2012). New quinic acid derivatives from hepatoprotective *Inula crithmoides* root extract. *Helv. Chim. Acta.*, **95**: 61-66.
- FERREIRA, M.J.P., BRANT, A.J.C., RUFINO, A.R., ALVARENGA, S.A.V., MAGRI, F.M.M., EMERENCIANO, V.P. (2004). Prediction of occurrences of diverse chemical classes in the Asteraceae through artificial neural networks. *Phytochem. Anal.*, **15**: 389-396.
- FONTANA, G., LA ROCCA, S., PASSANNANTI, S., PATERNOSTRO, M.P. (2007). Sesquiterpene compounds from *Inula viscosa*. *Nat. Prod. Res.* **21**: 824-827.
- 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.
- GEBRE-MARIAM, T., NEUBERT, R., SCHMIDT, P.C., WUTZLER, P., SCHMIDTKE, M. (2006). Antiviral activities of some Ethiopian medicinal plants used for the treatment of dermatological disorders. *J. Ethnopharmacol.*, **104**: 182-187.
- 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.
- GONG, H.Q., WU, Q.X., LIU, L.L., YANG, J.L., WANG, R., SHI, Y.Y. (2011). Sesquiterpenoids from the aerial parts of *Inula japonica*. *Helv. Chim. Acta.*, **94**: 1269-1276.
- GONZALEZ-ROMERO, M.A., VILLAESCUSA-CASTILLO, L., DIAZ-LANZA, A.M. (2000). Sesquiterpene lactones from *Inula montana*. *Zeitschrift für Naturforschung*, **55**: 697-700.
- GÖKBULUT, A. (2011). Türkiye’ de yetişen bazı *Inula* L. türleri üzerinde farmakognozik araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- GRANDE, M., PIERA, F., CUENCA, A., TORRES, P., BELLIDO, I.S. (1985). Flavonoids from *Inula viscosa*. *Planta Med.*, **51**: 414-419.
- GRANDE, M., TORRES, P., PIERA, F., BELLIDO, I.S. (1992). Triterpenoids from *Dittrichia viscosa*. *Phytochemistry*, **31**:1826-1828.
- HARVALA, E., ALIGANNIS, N., SKALTSOUNIS, A-L., PRATSINIS, H., LAMBRIDINIS, G., HARVALA, C., CHINOOU, I. (2002). Cytotoxic germacranolides from *Inula verbascifolia* subsp. *methanea*. *J. Nat. Prod.*, **65**: 1045-1048.

- 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.
- HU, X.J., JIN, H.Z., LIU, X.H., ZHANG, W.D. (2011). Two new sesquiterpenes from *Inula salsoloides* and their inhibitory activities against NO production. *Helv. Chim. Acta.*, **94**: 306-312.
- HUO, Y., SHI, H., LI, W., WANG, M., LI, X. (2010). HPLC determination and NMR structural elucidation of sesquiterpene lactones in *Inula helenium*. *J. Pharmaceut. Biomed.*, **51**: 942-946.
- JAVIDNIA, K., BANANI, A., MIRI, R., KAMALINEJAD, M., JAVIDNIA, A. (2006). Constituents of the volatile oil of *Inula oculus-christi* L. from Iran. *J. Essent. Oil Res.*, **18**: 676-678.
- JESKE, F., HUNECK, S., JAKUPOVIC, J. (1993). Secoeudesmanolides from *Inula japonica*. *Phytochemistry*, **34**: 1647-1649.
- JESKE, F., HUNECK, S., JAKUPOVIC, J. (1996). Further sesquiterpenes from *Inula salsoloides*. *Phytochemistry*, **41**: 1539-1542.
- JIANG, H.L., CHEN, J., JIN, X.J., YANG, J.L., LI, Y., YAO, X.J., WU, Q.X., (2011). Sesquiterpenoids, alantolactone analogues, and seco-guaiene from the roots of *Inula helenium*. *Tetrahedron*, **67**: 9193-9198.
- KALSI, P.S., GOYAL, R., TALWAR, K.K., CHHABRA, B.R. (1989). Stereostructures of two biologically active sesquiterpene lactones from *Inula racemosa*. *Phytochemistry*, **28**: 2093-2096.
- KARAMENDERES, C., ZEYBEK, U. (2000). Composition of the essential oils of *Inula viscosa*, *I. graveolens* and *I. helenium* ssp. *turcoracemosa*. *J. Fac. Pharm. Istanbul*, **33**: 1-5.
- KISELEVA, E.Y., SCHEICHENKO, V.I., RYBALKO, K.S., SHRETER, A.I., PAKALN, D.A. (1969). Isolation of gaillardin from *Inula oculus-christi*. *Khim. Prir. Soedin.*, **5**: 444.
- 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. *Phytother. Res.*, **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., AKABE, H., KONOSHIMA, T. (2002). Antiproliferative sesquiterpene lactones from the roots of *Inula helenium*. *Biol. Pharm. Bull.* **25**: 1370-1372.
- LIU, C.H., MISHRA, A.K., TAN, R.X. (2006). Repellent, insecticidal and phytotoxic activities of isoalantolactone from *Inula racemosa*. *Crop. Prot.*, **25**: 508-511.
- LIU, S., LIU, H., YAN, W., ZHANG, L., BAI, N., HO, C-T. (2004). Studies on 1-O-acetylbritannilactone and its derivative, (2-O-butyloxime-3-phenyl)-propionyl-1-O-acetylbritannilactone ester. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**: 1101-1104.
- MA, X-C., LIU, K-X., ZHANG B-J., XIN, X-L., HUANG, J. (2008). Structural determination of three new eudesmanolides from *Inula helenium*. *Magn. Reson. Chem.*, **46**: 1084-1088.
- MALAKOV, P.Y., PAPANOV, G.Y., ZIESCHE, J. (1982). N-docosanoylanthranilic acid from *Inula oculus-christi*. *Phytochemistry*, **21**: 2589-2590.
- 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.
- MANEZ, S., RECIO, M.C., GIL, I., GOMEZ, C., GINER, R-M., WATERMAN, P.G., RIOS, J-L. (1999). A glycosyl analogue of diacylglycerol and other antiinflammatory constituents from *Inula viscosa*. *J. Nat. Prod.*, **62**: 601-604.
- MAOZ, M., KASHMAN, Y., NEEMAN, I. (1999). Isolation and identification of a new antifungal sesquiterpene lactone from *Inula viscosa*. *Planta Med.*, **65**: 281-282.
- MARCO, J.A., SANZ-CERVERA, J.F., MANGLANO, E. (1993). Chlorinated thymol derivatives from *Inula crithmoides*. *Phytochemistry*, **33**: 875-878.
- MARONGIU, B., PIRAS, A., PANI, F., PORCEDDA, S., BALLERO, M. (2003). Extraction, separation and isolation of essential oils from natural matrices by supercritical CO₂. *Flavour Fragr. J.*, **18**: 505-508.
- MARTIN, T., VILLAESCUSA, L., GASQUET, M., DELMAS, F., BORTOLOME, C., DIAZ-LANZA, A.M., DIAZ-LANZA, E., OLLIVIER, E., BALANSARD, G. (1998). Screening for protozoocidal activity of Spanish plants. *Pharm. Biol.*, **36**: 56-62.

- MIRZA, M., AHMADI, L. (2000). Composition of the essential oil of *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter. *J. Essent. Oil Res.*, **12**: 507-508.
- MOSADDEGH, M., MOGDAHAM, M.H., GHAFARI, S., NAGHIBI, F., OSTAD, S.N. (2010). Sesquiterpene lactones from *Inula oculus-christi*. *Nat. Prod. Commun.*, **5**: 511-514.
- 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. *Int. J. Antimicrob. Ag.*, **31**: 581-592.
- NOUR, A.M.M., KHALID, S.A., KAISER, M., BRUN, R., ABDALLAH, W.E., SCHMIDT, T.J. (2009). The antiprotozoal activity of sixteen Asteraceae species native to Sudan and bioactivity-guided isolation of xanthanolides from *Xanthium brasiliicum*. *Planta Med.*, **75**: 1-6.
- OLENNIKOV, D.N., TANKHAEVA, L.M., (2012). Phenylpropanoids from subterranean organs of *Inula helenium*. *Chem. Nat. Compd.*, **48**: 283-284.
- OSKAY, M., SARI, D. (2007). Antimicrobial screening of some Turkish medicinal plants. *Pharm. Biol.*, **45**: 176-181.
- ÖKSÜZ, S., TOPÇU, G. (1987). Triterpene fatty acid esters and flavonoids from *Inula britannica*. *Phytochemistry*, **26**: 3082-3084.
- ÖKSÜZ, S., TOPÇU, G., KRAWIEC, M., WATSON, W.H. (1997). Eudesmanolides and other constituents of *Inula thapsoides*. *Phytochemistry*, **46**: 1131-1134.
- ÖZTÜRK, F., ÖLÇÜCÜ, C. (2011). Ethnobotanical features of some plants in the district of Şemdinli (Hakkari-Turkey). *International Journal of Academic Research*, **3**: 117-121.
- PARK, E.J., KIM, Y., KIM, J. (2000). Acylated flavonol glycosides from the flower of *Inula britannica*. *J. Nat. Prod.*, **63**: 34-36.
- PARK, Y.N., LEE, Y.J., CHOI, J.H., JIN, M., YANG, J.H., LI, Y., LEE, J., LI, X., KIM, K-J., SON, J.K., CHANG, H.W., KIM, J.Y., LEE, E. (2011). Alleviation of OVA-induced airway inflammation by flowers of *Inula japonica* in a murine model of asthma. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **75**: 871-876.
- PAVELA, R. (2010). Antifeedant activity of plant extracts on *Leptinotarsa decemlineata* Say. and *Spodoptera littoralis* Bois. larvae. *Ind. Crop. Prod.*, **32**: 213-219.

- PEREZ-ALONSO, M.J., VELASCO-NEGUERUELA, A., DURU, M. E., HARMANDAR, M., GARCIA-VALLEJO, M.C. (1996). Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Inula viscosa* L. *Aiton. Flav. Fragr. J.*, **11**: 349–351.
- PETROPOULOU, A., TZAKOU, O., VERYKOKIDOU, E. (2004). Volatile constituents of *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter from Greece. *J. Essent. Oil Res.*, **16**:400-401.
- QIN, J.J., HUANG, Y., WANG, D., CHENG, X.R., ZENG, Q., ZHANG, S.D., HU, Z.L., JIN, H.Z., ZHANG, W.D. (2012). Lineariifolians A–D, rare unsymmetrical sesquiterpenoid dimers comprised of xanthane and guaiane framework units from *Inula lineariifolia*. *RSC Advances*, **2**: 1307-1309.
- QIN, J.J., JIN, H.Z., FU, J.J., HU, X.J., WANG, Y., YAN, S.K., ZHANG, W.D. (2009a). Japonicones A-D, bioactive dimeric sesquiterpenes from *Inula japonica* Thunb. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **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 Chem. Lett.*, **19**: 556-558.
- QIN, J.J., ZHU, J.X., ZHANG, W.D., ZHU, Y., FU, J.J., LIU, X.H., JIN, H.Z. (2009b). A new ent-kaurane type diterpenoid glycoside from *Inula japonica* Thunb. *Arch. Pharm. Res.*, **10**: 1369-1372.
- REYNAUD, J., LUSSIGNOL, M. (1999). Free flavonoid aglycones from *Inula montana*. *Pharm. Biol.*, **37**: 163-164.
- ROCHA, L.G., ALMEIDA, J.R.G.S., MACEDO, R.O., BARBASO-FILHO, J.M. (2005). A review of natural products with antileishmanial activity. *Phytomedicine* **12**: 514-535.
- SANTAYANA, M.P.D., BLANCO, E., MORALES, R. (2005). Plants known as *tê* in Spain: An ethno-pharmaco-botanical review. *J. Ethnopharmacol.*, **98**: 1-19.
- SANZ, J.F., FERRANDO, C., MARCO, J.A. (1991). Oxygenated nerolidol esters and eudesmane acids from *Inula viscosa*. *Phytochemistry*, **30**: 3653-3655.
- SASSI, A.B., HARZALLAH-SKHIRI, F., AOUNI, M. (2007). Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *Pharm. Biol.*, **45**: 421-428.
- SASSI, A.B., HARZALLAH-SKHIRI, F., BOURGOUGNON, N., AOUNI, M. (2008). Antiviral activity of some Tunisian medicinal plants against *Herpes simplex* virus type 1. *Nat. Prod. Res.*, **22**: 53-65.

- SAYGI, Ş., KONUKLUGİL, B., KUTSAL, O., UZBAY, İ.T., DENİZ G., GÖREN, Z. (2003). Assessment of therapeutic effect of *Inula heterolepis* Boiss in alcoholic rats. *Phytother. Res.*, **17**: 683-687.
- SCHINELLA, G.R., TOURNIER, H.A., PRIETO, J.M., MORDUJOVICH DE BUSCHIAZZO, P., RIOS, J.L. (2002). Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sci.*, **70**: 1023-1033.
- SHAN, J-J., YANG, M., REN, J-W. (2006). Anti-diabetic and hypolipidemic effects of aqueous-extract from the flower of *Inula japonica* in alloxan-induced diabetic mice. *Biol. Pharm. Bull.*, **29**: 455-459.
- SHAO, Y., BAI, N-S., ZHOU, B-N. (1996). Kaurane glycosides from *Inula britannica*. *Phytochemistry*, **42**: 783-786.
- SHI, X-W., QI, J-L., WU, Y-B., FU, Y., WANG, Y-Z., ZHANG, D-Q. (2008). Simultaneous quantification of six sesquiterpene lactones in *Inula britannica* L. by RP-LC. *Chromatographia*, **68**: 281-285.
- 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*. *Phytochem Analysis*, **23**: 171-176.
- SKHIRI, F.H., CHERAIF, I., JANNET, H.B., HAMMAMI, M. (2005). Chemical composition of essential oils from leaves-stems, flowers and roots of *Inula graveolens* from Tunisia. *Pak. J. Biol. Sci.*, **8**: 249-254.
- SONG, Q-H., KOBAYASHI, T., IJIMA K., HONG, T., CYONG, J-C. (2000). Hepatoprotective effects of *Inula britannica* on hepatic injury in mice. *Phytother. Res.*, **14**: 180-186.
- SPIRIDON, I., BODIRLAU, R., TEACA, C-A. (2011). Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Cent. Eur. J. Biol.*, **6**: 388-396.
- SPIRIDONOV, N.A., KONOVALOV, D.A., ARKHIPOV, V.V. (2005). Cytotoxicity of some Russian ethnomedicinal plants and plants compounds. *Phytoter. Res.*, **19**: 428-432.
- STOJAKOWSKA, A., KEDZIA, B., KISIEL, W. (2005). Antimicrobial activity of 10-isobutyryloxy-8,9-epoxythymol isobutyrate. *Fitoterapia*, **76**: 687-690.

- STOJAKOWSKA, A., MALARZ, J., ZUBEK, S., TURNAU, K., KISIEL, W. (2010). Terpenoids and phenolics from *Inula ensifolia*. *Biochem. Syst. Ecol.*, **38**: 232-235.
- STOJAKOWSKA, A., MICHALSKA, K., MALARZ, J. (2006). Simultaneous, quantification of eudesmanolides and thymol derivatives from tissues of *Inula helenium* and *I. royleana* by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Phytochem. Anal.*, **17**: 157-161.
- STOJANOVIC-RADIC, Z., COMIC, L.J., RADULOVIC, N., BLAGOJEVIC, P., DENIC, M., MILTOJEVIC, A., RAJKOVIC, J., MIHAJILOV-KRSTEV, T. (2012). Antistaphylococcal activity of *Inula helenium* L. root essential oil: eudesmane sesquiterpene lactones induce cell membrane damage. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **31**: 1015-1025.
- SU, B-N., TAKAISHI, Y., TORI, M., TAKAOKA, S., HONDA, G., ITOH, M., TAKEDA, Y., KODZHIMATOV, O.K., ASHURMETOV, O. (2000). Macrophyllols A and B, two novel sesquiterpene and monoterpene dimers from the bark of *Inula macrophylla*. *Org. Lett.*, **2**: 493-496.
- SU, B-N., TAKAISHI, Y., YAABUCHI, T., KUSUMI, T., TORI, M., TAKAOKA, S., HONDA, G., ITOH, M., TAKEDA, Y., KODZHIMATOV, O.K., ASHURMETOV, O. (2001). Sesquiterpenes and monoterpenes from the bark of *Inula macrophylla*. *Chem. Nat. Prod.* **64**: 466-471.
- TALIB, W.H., ZARGA, M.H.A., 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., AOUMAR, A.A.B. (2012). Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum*, the causal agent of postharvest citrus sour rot. *Crop. Prot.*, **35**: 41-46.
- TANKER, N., KOYUNCU, M., COŞKUN, M. (2004). *Farmasötik Botanik*. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, p.: 319-326.
- TEPKEEVA, I.I., AUSHEV, V.N., ZBOROVSKAYA, I.B., DEMUSHKIN, V.P. (2009). Cytostatic activity of peptide extracts of medicinal plants on transformed A549, H1299 and HeLa cells. *B.Exp. Biol. Med.*, **147**: 50-54.
- TOPÇU, G., ÖKSÜZ, S. (1990). Guaianolides from *Inula anatolica*. *Phytochemistry*, **29**: 3666-3667.

- TOPÇU, G., ÖKSÜZ, S., HERZ, W., DIAZ, J.G. (1995). Structurally related guaianolides from *Inula thapsoides*. *Phytochemistry*, **40**: 1717-1722.
- TOPÇU, G., ÖKSÜZ, S., SHIEH, H-L., CORDELL, G.A., PAZZUTO, J.M., BOZOK-JOHANSSON, C. (1993). Cytotoxic and antibacterial sesquiterpenes from *Inula graveolens*. *Phytochemistry*, **33**: 407-410.
- TSOUKATOU, M., ROUSSIS, V. (1999). Chemical composition and intra mediterranean variation of the *Inula crithmoides*. *J. Essent. Oil Res.*, **11**: 199-202.
- TZAKOU, O., PETROPOULOU, A., HARVALA, C., CONSTANTINDIS, T. (2001). Volatile compounds of two members of *Inula verbascifolia* group: *I. verbascifolia* (Willd.) Hausskn. ssp. *parnassica* (Boiss. Et Heldr.) Tutin and *I. verbascifolia* ssp. *methanea* (Hausskn.) Tutin. *J. Essent. Oil Res.*, **13**:364-366.
- ULUBELEN, A., ÖKSÜZ, S., GÖREN, N. (1987). Sesquiterpene acids from *Inula viscosa*. *Phytochemistry*, **26**: 1223-1224.
- URBAN, J., KOKOSKA, L., LANGROVA, I., MATEJKOVA, J. (2008). *In vitro* anthelmintic effects of medicinal plants used in Czech Republic. *Pharm. Biol.* **46**: 808-813.
- ÜÇÜNCÜ, O., GAYDAN, F., GÜLEÇ, C., COŞKUNÇELEBİ, K., YAYLI, N. (2008). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Inula thapsoides* subsp. *thapsoides* from Turkey. *Asian J. Chem.*, **20**:1049-1054.
- VAJS, V., JEREMIC, D., MILOSAVLJEVIC, S., MACURA, S. (1989). Sesquiterpene lactones from *Inula helenium*. *Phytochemistry*, **28**: 1763.
- VAJS, V., NEVESCANIN, M., MACURA, S., JURANIC, N., MENKOVIC, N., MILOSAVLJEVIC, S. (2003). Sesquiterpene lactones from the aerial parts of *Inula oculus-christi*. *Fitoterapia*, **74**: 508-510.
- WOLLENWEBER, E., MAYER, K., ROITMAN, J.N. (1991). Exudate flavonoids of *Inula viscosa*. *Phytochemistry*, **30**: 2445-2446.
- WU, Q-X., SHI, Y-P., JIA, Z-J. (2006). Eudesmane sesquiterpenoids from the Asteraceae family. *Nat. Prod. Rep.*, **23**: 699-734.
- XIE, H-G., CHEN, H., CAO, B., ZHANG, H-W., ZOU, Z-M. (2007). Cytotoxic germacranolide sesquiterpene from *Inula cappa*. *Chem. Pharm. Bull.*, **55**: 1258-1260.
- XU, L-W., SHI, Y-P. (2011). Sesquiterpenoids from *Inula racemosa*. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **13**: 570-574.

- YAN, L., CHENG, X.R., ZENG, Q., QIN, J.J., ZHANG, W.D., JIN, H.Z. (2011). Phytane and neoclerodane diterpenes from the aerial parts of *Inula nervosa* Wall. *Biochem. Syst. Ecol.*, **39**: 700-703.
- YANG, C., WANG, C-M., JIA, Z-J. (2003). Sesquiterpenes and other constituents from the aerial parts of *Inula japonica*. *Planta Med.*, **69**: 662-666.
- YANG, J-L., LIU, L-L., SHI, Y-P. (2009). Britanlins A-D, four novel sesquiterpenoids from *Inula britannica*. *Tetrahedron Let.*, **50**: 6315-6317.
- YU, N-J., ZHAO, Y-M., ZHANG, Y-Z., LI, Y-F. (2006). Japonicins A and B from the flowers of *Inula japonica*. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **8**: 385-390.
- ZARGA, M.H.A., SABRI, S.S., HAMED, E.M., KHANFAR, M.A., ZELLER, K-P., RAHMAN, A-U. (2002). A new eudesmane type sesquiterpene from *Inula viscosa*. *Nat. Prod. Res.*, **17**: 99-102.
- 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. *J. Ethnopharmacol.*, **108**: 223-227.
- ZENG, G-Z., TAN, N-H., JI, C-H., FAN, J-T., HUANG, H-Q., HAN, H-J., ZHOU, G-B. (2009). Apoptosis inducement of bigelovin from *Inula helianthus-aquatica* on human leukemia U937 cells. *Phytother. Res.*, **23**: 885-891.
- ZHANG, H.B., WEN, J.K., ZHANG, J., MIAO, S.B., MA, G.Y., WANG, Y.Y., ZHENG, B., HAN, M. (2011). Flavonoids from *Inula britannica* reduces oxidative stress through inhibiting expression and phosphorylation of p47^{phox} in VSMCs. *Pharm. Biol.*, **49**: 815-820.
- ZHANG, T., GONG, T., YANG, Y., CHEN, R.Y., YU, D.Q. (2012). Two new eudesmanolides from *Inula racemosa* and their bioactivities. *Phytochem. Lett.*, **5**: 229-232.
- ZHAO, B-N., BAI, N-S., LIN, L-Z., CORDELL, G.A. (1993). Sesquiterpene lactones from *Inula britannica*. *Phytochemistry*, **34**: 249-252.
- ZHAO, B-N., BAI, N-S., LIN, L-Z., CORDELL, G.A. (1994). Sesquiterpene lactones from *Inula salsoloides*. *Phytochemistry*, **36**: 721-724.
- ZHAO, Y.M., ZHANG M-L., SHI, Q-W., KIYOTA, H.K. (2006). Chemical constituents of plants from the Genus *Inula*. *Chemistry and Biodiversity*, **3**: 371-384.

- ZHU, J.X., QIN, J.J., WANG, H.R., ZHU, Y., ZHANG, W.D., JIN, H.Z. (2011). Monoterpenes and other chemical constituents from the aerial parts of *Inula japonica*. *Chem. Nat. Compd.*, **47**: 273-274.
- 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: Onural
Soyadı: ÖZHAN
Doğum Yeri: MALATYA
Doğum Tarihi: 21.07.1986
Medeni Hal: Bekar
Adres: Yukarı Bahçelievler Mah. 75. Sk. 3/12 Çankaya/ANKARA
Cep: 0 535 932 33 44
Ev: 0 312 222 25 23

II- EĞİTİM

- Yüksek Lisans: **Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 2012-**
- Lisans: **İnönü Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 2009**
- Lise: **Malatya Anadolu Lisesi, 2004**
- Ortaokul: **Malatya Anadolu Lisesi, 2001**
- İlkokul: **Malatya Derme İlköğretim Okulu, 1997**

III- ÜNVANLARI

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*, in press.

VI- POSTER BİLDİRİLER

27-30 Ekim 2010, 19. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Mersin.

“*Inula helenium* L. ssp. *turcoracemosa* bitkisinden helenin izolasyonu ve kantitatif analizi” Gökbulut, A., Özhan, O., Şarer, E.