



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



INULA ANATOLICA BOISS. ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Ozan BIYIKLI

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Alper GÖKBULUT**

**ANKARA
2025**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**INULA ANATOLICA BOISS. ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Ozan BIYIKLI

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Alper GÖKBULUT**

**ANKARA
2025**

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

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

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ozan BIYIKLI

Tarih: .../.../2025

İmza:

KABUL ve ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalında

Ozan BIYIKLI tarafından hazırlanan

“*INULA ANATOLICA* BOISS. ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

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

İmza

Prof. Dr. Mehmet Levent ALTUN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza

Doç. Dr. Alper GÖKBULUT
Ankara Üniversitesi
Raportör

İmza

Dr. Öğr. Üyesi Tuğba GÜNBATAN
Gazi Üniversitesi
Üye

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

Prof. Dr. Fügen AKTAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

***Inula anatolica* Boiss. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar**

Çalışma kapsamında, Türkiye florasında doğal olarak yetişen ve Asteraceae familyasının endemik üyelerinden olan *Inula anatolica* Boiss. türünün farmakognozik incelemeler yapılması amaçlanmaktadır. Çalışma numunemiz olan *I. anatolica* bitkisinin toprak üstü ve altının iki farklı yöntem (soxhlet ve ultrasonik) ile hazırlan etil asetatlı, metanollü ve % 70 etanollü ekstrelerde fenolik bileşiklerin belirlenmesi amacıyla, laboratuvarımızda geliştirilen ters faz HPLC yöntemi kullanılarak hem kalitatif hem de kantitatif analizler yapılmıştır. Analizler sonucunda ekstrelerde başlıca klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit ve luteolin bulunmuş ve miktarları belirlenmiştir. Hazırlanan ekstrelerin çeşitli çözücü sistemlerinde İTK analizleri yapılmış ve etkin madde grupları belirlenmiştir. İTK analizinde en uygun çözücü sistemi seçilmiş ve sonuçlar YPSK analizi ile desteklenmiştir. Hazırlanan ekstrelerin tripsin ve kimotripsin enzimlerini inhibe edici aktiviteleri *in vitro* deneylerle test edilmiştir. Ekstrelerin uygulanan konsantrasyonlarına bağlı olarak enzimleri farklı oranlarda inhibe ettiği tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Fenolik bileşikler, *Inula anatolica*, İTK, kimotripsin, tripsin, YPSK.

SUMMARY

Pharmacognostic Investigations on *Inula anatolica* Boiss.

In the current study, pharmacognostic examinations were conducted on *Inula anatolica* Boiss., a plant species belonging to the *Asteraceae* family and recognized as endemic to the flora of Turkey. The primary goal was to investigate the phenolic composition of extracts derived from the aerial and underground parts of the plant by employing two extraction approaches, namely Soxhlet and ultrasonic methods. Extracts prepared with ethyl acetate, methanol, and 70% ethanol were characterized both qualitatively and quantitatively using a reverse-phase HPLC procedure optimized within our laboratory. Chromatographic evaluation indicated that chlorogenic acid was the major compound, accompanied by caffeic acid, ferulic acid, and luteolin, whose respective concentrations were determined. Furthermore, thin-layer chromatography (TLC) analyses were performed using various solvent systems to classify the principal groups of secondary metabolites, and the optimal solvent system was established based on these profiles. The results obtained were further validated through RP-HPLC analysis. In addition, the inhibitory potential of the prepared extracts against trypsin and chymotrypsin enzymes was examined *in vitro*, revealing that the inhibition rate varied according to the concentration applied.

Keywords: Chymotrypsin, HPLC, *Inula anatolica*, phenolic compounds, TLC, trypsin.

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xi
Çizelgeler	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Asteraceae (Compositae) Familyası	1
1.2. <i>Inula</i> L. Cinsinin Botanik Özellikleri	2
1.2.1. <i>Inula anatolica</i> Boiss.'in Botanik Özellikleri	2
1.2.2. Türkiye Florasında Bulunan <i>Inula</i> Türleri	2
1.2.3. <i>Inula anatolica</i> Boiss.'in Taksonomik Konumu	4
1.3. <i>Inula</i> Türlerinin Fitokimyasal İçeriği	4
1.3.1. Seskiterpenler	4
1.3.1.1. Siklik Seskiterpenler	4
1.3.1.1.1. Ödesmanolitler	4
1.3.1.1.2. Makrofilik Asitler	5
1.3.1.1.3. Elemanlar	6
1.3.1.1.4. Guayanolitler	6
1.3.1.1.5. Psödoguayanolitler	7
1.3.1.1.6. Germakranolitler	7
1.3.2. Ksantanolitler	7
1.3.3. Seskiterpen-Monoterpen Dimerleri	8
1.3.4. Alifatik Seskiterpenler	8
1.3.5. Uçucu Yağlar	8
1.3.6. Diterpenler	9
1.3.7. Triterpenler	9
1.3.8. Flavonoitler	9
1.3.9. Glukolipitler	10
1.3.10. Misel Oluşturabilen Bileşikler	10
1.4. <i>Inula anatolica</i> Boiss. Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	10
1.4.1. Guayanolitler	10
1.4.2. Psödoguayanolitler	11
1.4.3. Ödesmanolitler	11
1.4.4. Aromatik Bileşikler	11
1.4.5. Fenolik Bileşikler	12
1.4.6. Flavonoitler	12
1.5. <i>Inula</i> Türlerinin Geleneksel Kullanımı	13
1.6. <i>Inula</i> Türlerinin Biyoaktivite İncelemeleri	14
1.6.1. Farmakolojik Etki Çalışmalar	14
1.6.1.1. Antimikrobiyal Etki	14
1.6.1.2. Antioksidan Etki	15
1.6.1.3. Antinosiseptif Etki	16
1.6.1.4. Antienflamatuvar	16
1.6.1.5. Sitotoksik Etki	17
1.6.1.6. İmmunomodülatör Etki	18
1.6.1.7. Nöroprotektif Etki	18
1.6.1.8. Antidiyabetik Etki	18

2. GEREÇ VE YÖNTEM	20
2.1. Araştırmada Kullanılan Bitki Numunesi	20
2.2. Biyoaktif Bileşiklerin Fitokimyasal Değerlendirmesi	21
2.2.1. Ekstraksiyon İşleminin Gerçekleştirilmesi	21
2.2.2. <i>Inula anatolica</i> 'nın İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi	22
2.2.3. <i>Inula anatolica</i> Boiss. Türünde Fenolik ve Flavonoit İçeriğinin YPSK (RP-HPLC) ile Belirlenmesi	23
2.2.3.1. HPLC Uygulama Koşulları	23
2.2.3.2. Fenolik Bileşiklerin ve Flavonoitlerin Miktar Tayinleri	24
2.2.3.3. Standart Maddeler için Doğru Denklemlerinin Hesaplanması	24
2.2.3.4. LOD- LOQ Değerlendirilmesi	25
2.3. Aktivite Testleri	26
2.3.1. Kimotripsin Enzim İnhibitör Aktivite	26
2.3.2. Tripsin Enzim İnhibitör Aktivite	26
3. BULGULAR	27
3.1. <i>Inula anatolica</i> Boiss. Ekstreleri	27
3.1.1. Soxhlet Ekstraksiyonu	27
3.1.2. Ultrasonik Ekstraksiyon	27
3.2. <i>I. anatolica</i> 'nın İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile İncelenmesi	28
3.3. <i>I. anatolica</i> 'nın Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) Analizleri	31
3.3.1. Standart Bileşiklerin Doğru Denklemleri	32
3.3.2. <i>I. anatolica</i> Boiss.'in YPSK Analizinden Elde Edilen Kromatogramlar	33
3.4. Enzim İnhibitör Etki Deneyleri	38
3.4.1. Kimotripsin Enzim İnhibitör Etki Deneyi	38
3.4.2. Tripsin Enzim İnhibitör Etki Deneyi	39
4. TARTIŞMA	41
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	

Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ÖNSÖZ

Dünya çapında geniş dağılımı olan *Inula* L. türleri antimikrobiyal, analjezik ve antienflamatuvar etkilerinden dolayı özellikle sindirimde, solunum rahatsızlıklarında ve diyabette halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Al-Dissi vd., 2001; de La Lustra vd., 1993; Haoui vd., 2015; Zeggwagh vd., 2006). *Inula* türlerinden fitokimyasal analizlerle elde edilen bileşiklerin pek çok biyolojik aktiviteden sorumlu olduğu görülmüştür. Ülkemizde de yetişen *Inula anatolica* BOISS. türü ile ilgili fitokimyasal analizler ve aktivite çalışmalarının azlığı bizi bitki üzerinde çalışmaya yönlendirmiştir. *I. anatolica*'nın tripsin ve kimotripsin enzimlerini inhibe edici özelliğinin test edilmesi ilk kez bu tez çalışmasında gerçekleştirilmiştir. Ulaşılan bulgular ile bilim dünyasına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

Bilgi ve tecrübesiyle, destekleyici cümleleriyle, anlayışı ve sabrı ile beni tez çalışmamın her anında destekleyen değerli tez danışmanı Hocam Doç. Dr. Alper GÖKBULUT'a, her yaptığım deneyi anlattığım, akademik kariyerimde ve her kararında beni destekleyen değerli aileme ve özellikle annem, babam ve kardeşime, ilkokuldan bu günlere gelmemi sağlayan çok sevdiğim hocalarıma, görev yaptığım Süleyman Demirel Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde beni destekleyen, laboratuvar imkanlarını kullanmamı sağlayan hocalarıma, çalışma arkadaşlarıma ve benimle aynı heyecanı yaşayan mezun ve şu an öğrenim gören değerli öğrencilerime, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nin değerli tüm akademik ve idari personeline, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde enzim deneylerinde bana yol gösteren değerli Dr. Öğr. Üyesi Tuğba GÜNBATAN hocama, akademik yolculuğumda son iki yılı paylaştığım, Yoga öğretmenim ve aslında hayatı beraber yeniden tanımladığım değerli Merve Seda ÖZTÜRK'e, arkadaşlarıma teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

1D-2D NMR	Tek Boyutlu-İki Boyutlu Nükleer Manyetik Rezonans
A549	Akciğer Karsinomu Hücre Hattı
ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
AEF	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
α	Alfa
BAPNA	α -N-benzoyl-D,L-arginin- <i>p</i> -nitroanilid
BHA	Bütil Hidroksianisol
BV2	Mikroglia Hücre Hattı
β	Beta
^{13}C -NMR	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
Caco-2	İnsan Kolon Adenokarsinomu Hücre Hattı
COSY	Correlation Spectroscopy
COX	Cyclooxygenase
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ESIMS	ElectroSpray Ionization Mass Spectrometry
EIMS	Electron Impact Mass Spectroscopy
FABMS	Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry
FMSF	Fenilmetansülfonil Florür
GC-MS	Gas Chromatography/Mass Spectroscopy
gHMBC	gradient Heteronuclear Multiple Bond Correlation
^1H - ^1H COSY	Proton-Proton Korelasyon Spektroskopisi
^1H -NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
HL-60	Human Leukemia Cell Line – 60
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation Spectroscopy
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence Spectroscopy
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
HREIMS	High-Resolution Electron Impact Mass Spectrometry
HRESIMS	High-Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy
Huh-7	Hepatosellüler Karsinomu Hücre Hattı
IC_{50}	Inhibitory Concentration 50 %
ID	Inhibition Diameter

IFN	İnterferon
IL-2	İnterlökin-2
IR	İnfrared
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
LC-MS/MS	Liquid Chromatography- Tandem Mass Spectrometry
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantification
LPS	Lipopolisakkarit
MCF-7	Meme Kanseri Hücre Hattı
MPLC	Medium Pressure Liquid Chromatography
MTT	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
μ	Mikro
μM	Mikromolar
nm	Nanometre
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
O	Orto
PC-12	Nöroendokrin Tümör Hücre Hattı
PC-3	Prostat Adenokarsinomu Hücre Hattı
PMA	Phorbol 12-Miristat 13-Asetat
ROESY	Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy
RSD	Relative Standard Deviation
SMMC-7721	Hepatosellüler Karsinom Hücre Hattı
sn	Saniye
SW-480	Kolorektal Adenokarsinom Hücre Hattı
TE	Torolox Ekvivalanı
TFA	Trifloroasetik Asit
TÜBİVES	Türkiye Bitkileri Veri Servisi
UV-VIS	Ultraviyole-Visible
UHPLC/ESI-	Ultra High-Performance Liquid Chromatography/ Electrospray
QTOF-MSMS	Ionization- Quadrupole Time-Of-Flight- Tandem Mass Spectrometry
YPSK	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
ZOI	Zone of Inhibition

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. İnviskolit (1), 4 α ,5 α -epoksi-10 α ,14H-inviskolit (2)	11
Şekil 1.2. 2-desoksi-4-epi-pulçelin	11
Şekil 1.3. İvalin	11
Şekil 1.4. Tereftalik asit dimetil ester	12
Şekil 1.5. Klorojenik asit (1), kinik asit (2), vanilik asit (3)	12
Şekil 1.6. Apigenin (1), luteolin (2), kersetin (3), hesperidin (4), kemferol (5)	13
Şekil 2.1. <i>Inula anatolica</i>	20
Şekil 2.2. Soxhlet ekstraksiyonu	21
Şekil 2.3. Ultrasonik su banyosu ekstraksiyonu	22
Şekil 2.4. <i>I. anatolica</i> 'nın toprak üstü ve toprak altı kısımlarından hazırlanan % 70 etanollü, etil asetatlı ve metanollü ekstraktlar	22
Şekil 3.1. <i>I. anatolica</i> 'nın toprak üstü ve altının farklı çözücülerdeki ekstraktları ve standart bileşiklerin Toluen: Etil asetat: Formik asit: Metanol (40:32:8:1) çözücü sisteminde 366 nm'de Natural Product Reaktif püskürtmeden önceki İTK kromatogramı	28
Şekil 3.2. <i>I. anatolica</i> 'nın toprak üstü ve altının farklı çözücülerdeki ekstraktları ve standart bileşiklerin Toluen: Etil asetat: Formik asit: Metanol (40:32:8:1) çözücü sisteminde 366 nm'de Natural Product Reaktif püskürttükten sonraki İTK kromatogramı	29
Şekil 3.3. <i>I. anatolica</i> 'nın toprak üstü ve altının farklı çözücülerdeki ekstraktları ve standart bileşiklerin Hekzan: Etil asetat (48:32) çözücü sisteminde 366 nm'de Natural Product Reaktif püskürtmeden önceki İTK kromatogramı	29
Şekil 3.4. <i>I. anatolica</i> 'nın toprak üstü ve altının farklı çözücülerdeki ekstraktları ve standart bileşiklerin Hekzan: Etil asetat (48:32) çözücü sisteminde 366 nm'de Natural Product Reaktif püskürttükten sonraki İTK kromatogramı	30
Şekil 3.5. <i>I. anatolica</i> 'nın toprak üstü ve altının farklı çözücülerdeki ekstraktları ve standart bileşiklerin Etil asetat: Metanol: Formik asit: Su (64,5:3,9:3,9:7,7) çözücü sisteminde 366 nm'de Natural Product Reaktif püskürtmeden önceki İTK kromatogramı	30
Şekil 3.6. <i>I. anatolica</i> 'nın toprak üstü ve altının farklı çözücülerdeki ekstraktları ve standart bileşiklerin Etil asetat: Metanol: Formik asit: Su (64,5:3,9:3,9:7,7) çözücü sisteminde 366 nm'de Natural Product Reaktif püskürttükten sonraki İTK kromatogramı	31
Şekil 3.7. Bazı standart bileşiklerin 330 nm'de YPSK kromatogramı	34
Şekil 3.8. <i>I. anatolica</i> toprak altı metanollü soxhlet ekstresinin 330 nanometrede YPSK kromatogramı	34
Şekil 3.9. <i>I. anatolica</i> toprak altı metanollü ultrasonik ekstresinin 330 nanometrede YPSK kromatogramı	34
Şekil 3.10. <i>I. anatolica</i> toprak altı % 70 etanollü ultrasonik ekstresinin 330 nanometrede YPSK kromatogramı	35
Şekil 3.11. <i>I. anatolica</i> toprak üstü metanollü ultrasonik ekstresinin 330 nanometrede YPSK kromatogramı	35
Şekil 3.12. <i>I. anatolica</i> toprak üstü % 70 etanollü soxhlet ekstresinin 330 nanometrede YPSK kromatogramı	35
Şekil 3.13. Bazı standart bileşiklerin 360 nm'de YPSK kromatogramı	35
Şekil 3.14. <i>I. anatolica</i> toprak üstü metanollü ultrasonik ekstresinin 360 nanometrede YPSK kromatogramı	36
Şekil 3.15. Standart klorojenik asit ve <i>I. anatolica</i> toprak altı metanollü ultrasonik ekstresindeki klorojenik asitin karşılaştırılmış UV spektrumları	36
Şekil 3.16. Standart kafeik asit ve <i>I. anatolica</i> toprak altı metanollü ultrasonik ekstresindeki kafeik asitin karşılaştırılmış UV spektrumları	37
Şekil 3.17. Standart ferulik asit ve <i>I. anatolica</i> toprak altı metanollü ultrasonik ekstresindeki ferulik asitin karşılaştırılmış UV spektrumları	37
Şekil 3.18. Standart luteolin ve <i>I. anatolica</i> toprak üstü metanollü ultrasonik ekstresindeki luteolinin karşılaştırılmış UV spektrumları	38

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. YPSK analizinde uygulanan gradyan sistemi	24
Çizelge 3.1. <i>I. anatolica</i> bitkisinin soxhlet ekstraksiyonu verimleri	27
Çizelge 3.2. <i>I. anatolica</i> bitkisinin ultrasonik ekstraksiyon verimleri	27
Çizelge 3.3. Klorojenik asit kalibrasyon ölçüm sonuçları	32
Çizelge 3.4. Klorojenik asit standardına ilişkin doğrusal regresyon denklemi ve istatistiksel parametreler	32
Çizelge 3.5. Kafeik asit kalibrasyon ölçüm sonuçları	32
Çizelge 3.6. Kafeik asit standardına ilişkin doğrusal regresyon denklemi ve istatistiksel parametreler	32
Çizelge 3.7. Luteolin kalibrasyon ölçüm sonuçları	33
Çizelge 3.8. Luteolin standardına ilişkin doğrusal regresyon denklemi ve istatistiksel parametreler	33
Çizelge 3.9. Ferulik asit kalibrasyon ölçüm sonuçları	33
Çizelge 3.10. Ferulik asit standardına ilişkin doğrusal regresyon denklemi ve istatistiksel parametreler	33
Çizelge 3.11. Standartlara ilişkin istatistiksel parametreler	33
Çizelge 3.12. Ekstrelerde Flavonoidlerin ve Fenolik Bileşiklerin Miktarları	33
Çizelge 3.13. <i>I. anatolica</i> için Kimotripsin Enzim İnhibitör Aktivite Testi	38
Çizelge 3.14. <i>I. anatolica</i> için Kimotripsin Enzim İnhibitör Aktivite Testi	39
Çizelge 3.15. <i>I. anatolica</i> için Tripsin Enzim İnhibitör Aktivite Testi	39
Çizelge 3.16. <i>I. anatolica</i> için Tripsin Enzim İnhibitör Aktivite Testi	40

1. GİRİŞ

1.1. Asteraceae (Compositae) Familyası

Asteraceae'nin (Compositae) orijinal adı ilk olarak 1792 yılında Alman botanikçi Paul Dietrich Giseke tarafından tanımlanmıştır (Easmin vd., 2021). Dünya genelinde yaklaşık 1000 cins ve 20.000 kadar tür, ülkemizde ise yaklaşık 130 cins ve 1100'ü aşkın türle temsil edilen bu familya, çiçekli bitkiler arasında tür çeşitliliği bakımından en zengin gruplardan biridir. Bu familyada yer alan bitkiler genellikle otsu formda olup bazı türleri çalı veya ağaçsı yapıdadır. Yaprakları almaşık dizilişli, karşılıklı ya da tabanda toplanmış biçimdedir. Çiçek durumu "kapitulum" tipindedir ve taban kısmında braktelerden oluşmuş bir involukrum ile çevrilidir. Çiçekler tek ya da iki eşeylidir; aktinomorf veya zigomorf yapı gösterebilir. Kaliks kısmında halka veya papus biçimli yapılar bulunabilir ya da tamamen yok olabilir. Korolla genellikle simpetal yapıdadır ve beş petalli tüp veya dil biçiminde uzanır. Stamen sayısı beştir ve singenezik yapı sergiler. Ovaryum alt konumlu olup, iki karpelli ve tek tohum taslağı içerir. Aken tipi meyve taşır. Dikenli taksonlar arasında zehirsiz türlerin en yoğun bulunduğu familyalardan biridir (DAVIS, 1982; Tanker vd., 2023).

Asteraceae familyası, Tubuliflorae ve Liguliflorae olarak iki ana alt gruba ayrılmaktadır. Tubuliflorae alt familyasına dâhil türlerde kapitulum yapısındaki tüm çiçekler veya merkezde yer alanlar tüp biçiminde olup, çevredekiler dilsli formdadır. Farmakognozi alanında kullanılan pek çok bitki bu grupta yer almakta ve çoğunlukla süt borusu içermemektedir. Buna karşın, Liguliflorae alt familyasına ait türlerde süt borusu bulunur ve kapitulumdaki çiçeklerin tamamı dilsli yapıdadır. Bu taksonun bitkilerinde uçucu yağlara ender olarak rastlanmaktadır (Tanker vd., 2023).

Bu familyada en sık rastlanan bileşikler uçucu yağ, inülin ve latekstir. Ayrıca laktonlar, seskiterpenler, esterler, alkaloidler, kumarinler, saponozitler ve flavonoller de bulunmaktadır. İçeriklerinde bulunan maddelerden dolayı eczacılıkta, gıda sanayisinde ve lateksi kaynaklı diğer sanayi alanlarında kullanılmaktadır (Tanker vd., 2023). Süs bitkisi olarak kullanımları da bulunmaktadır (Süslü vd., 2010).

1.2. *Inula L. Cinsinin Botanik Özellikleri*

Genellikle çok bazen tek veya iki yıllık bitkilerden oluşmaktadır. Gövde dik, yükselici ve dallanmış yapıdadır. Bitkinin belirgin bir gövdesi bulunmaz. Yaprak kenarları kimi zaman dişli, kimi zaman ise düz yapıdadır. Yapraklar genellikle saplı olup çoğunlukla gövde üzerinde veya tabanda yer alır. Çiçek başı (kapitulum) tek veya çok sayıda olabilir; ışımsal simetri gösterir, heterogam ve diskoid tiptedir. İnvolukrumu oluşturan brakte yaprakları genellikle sık dizili, otsu dokulu, çok sıralı ve nadiren zarımsı özellik taşır. Reseptakulum genellikle düz, çıplak ve seyrek olarak dışbükeydir. Dişi çiçekler az ya da çok sayıda olabilir; 1–2 sıra hâlinde dizilmiş, tüp biçimli veya hafif eğik formda, uçları üç dişli ya da açık ligulat yapıdadır. Çiçekler çoğunlukla turuncu veya sarı renklidir, nadiren dişi çiçekler görülmez. Disk tipi tüpsü çiçeklerin uç kısmı beş loblu ve sarı renktedir. Meyveler (akenler) sütun biçimli ya da uca doğru incelen, köşeli veya boyuna çizgilidir. Papus kısmı serbest ya da birleşik olabilir; kalıcıdır, genellikle kaba tüylü, dikenimsi veya kuş tüyünü andıran bir yapıdadır (DAVIS, 1982).

1.2.1. *Inula anatolica Boiss.'in Botanik Özellikleri*

Türkiye’de endemik birçok yıllık, kazık köklü bir bitkidir. Taban yaprakları kalıcı ve saplıdır. Kapitulumlar rasem çiçek durumundadır. Orta ve Güneybatı Anadolu’da; 400-1700 m arası yüksekliklerdeki uçurumlarda ve kireçtaşı kaya yarıklarında yetişmektedir. Çiçeklenme dönemi Haziran-Eylül ayları arasındadır. Gövde çok sayıda, tüylüdür; kısa dallanmalar 10-20 cm yukarıdan başlamaktadır. Boyu 1 metreye kadar uzayabilen, genellikle 30-60 cm arasında değişen bir bitkidir. Yaprak yapısı oval ya da lanseloattır. Aken tipi meyve taşır. Kapitulası hafif yassı veya yuvarlak şekillidir (DAVIS, 1982; Paksoy, 2011).

1.2.2. Türkiye Florasında Bulunan *Inula* Türleri

Inula acaulis Schott et Kotschy ex Boiss.

I. acaulis var *acaulis*

I. acaulis var *caulescens*

Inula anatolica Boiss.*

Inula aschersoniana Janka

Inula aucherana DC.

Inula britannica L.

Inula conyzae (Griess.) Meikle
Inula crithmoides L.
Inula discoidea Boiss.*
Inula ensifolia L.
Inula fragilis Boiss. & Hausskn.*
Inula germanica L.
Inula graveolens (Linnaeus) Desf.
Inula helenium L.
 I. helenium L. subsp. *orgyalis* (Boiss.) Grierson
 I. helenium L. subsp. *pseudohelenium*
 I. helenium L. subsp. *turcoracemosa*
 I. helenium L. subsp. *vanensis* Grierson*
Inula heterolepis Boiss.
Inula inuloides (Fenzl) Grierson
Inula macrocephala Boiss. & Kotschy ex Boiss.*
Inula mariae Bordz.
Inula montbretiana DC.
Inula oculus-christi L.
Inula orientalis Lam.
Inula peacockiana (Aitch. & Hemsl.) Krovín
Inula salicina L.
Inula sarana Boiss.*
Inula sechmenii Hartvig & Strid*
Inula spiraeifolia L.
Inula thapsoides (Bieb. ex Willd.) Sprengel
 I. thapsoides (Bieb. ex Willd.) Sprengel subsp. *australis*
 I. thapsoides (Bieb. ex Willd.) Sprengel subsp. *thapsoides*
Inula tuzgoluensis M.Öztürk & Ö.Çetin
Inula viscidula Boiss. & Kotschy
Inula viscosa (L.) Aiton

* Endemik türleri ifade etmektedir (DAVIS, 1982).

1.2.3. *Inula anatolica* Boiss.'in Taksonomik Konumu

Inula anatolica türünün TUBİVES'e göre sınıflandırmadaki yeri aşağıda verilmiştir:

Alem	: Plantae
Alt Alem	: Tracheobionta
Bölüm	: Magnoliophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Alt Sınıf	: Asteridae
Takım	: Asterales
Familya	: Asteraceae
Cins	: <i>Inula</i>
Tür	: <i>Inula anatolica</i> BOISS.

1.3. *Inula* Türlerinin Fitokimyasal İçeriği

Inula cinsine ait türler üzerinde gerçekleştirilen fitokimyasal çalışmalar, bu bitkilerde terpen türevli bileşiklerin baskın olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle siklik yapıya sahip seskiterpenlerin en yoğun bulunan bileşik grubu olduğu ve uçucu yağların, flavonoidlerin, misel oluşturan bileşiklerin ve glikolipitlerin de varlığı tespit edilmiştir.

1.3.1. Seskiterpenler

1.3.1.1. Siklik Seskiterpenler

Bu bileşik grubunda ödesmanolitler, makrofilik asitler, elemanlar, guayanolitler, psödoguayanolitler ve germakranolitler bulunmaktadır.

1.3.1.1.1. Ödesmanolitler

Inula japonica Thunb. bitkisinin köklerinden izole edilen 12-asetoksi-1 β ,2 α -dihidroksiödesma-4(15),11(13)-dien bileşiğinin yapısı ¹H ve ¹³C NMR, HSQC, COSY ve NOESY spektroskopik analizleri kullanılarak tespit edilmiştir (Zhou vd., 2022).

Sırbistan'dan satın alınan *Inula helenium* L. bitkisinin kurutulmuş köklerinden clevenger aparatı ile uçucu yağ distilasyonu yapılmış; elde edilen yağın bileşimi GC–MS ve MPLC analiz teknikleriyle incelenmiş ve diplofilin isimli bileşiğin varlığı tespit edilmiştir (Stojanović-Radić vd., 2012).

2009 yılında Çin'den satın alınan *Inula helenium* kökleri ile hazırlanan petrol eteri ekstresinden izoalantolakton, 11 α ,13-dihidroizoalantolakton, ödesm-4,11(13)-dien-12,8b-olıt, 4 α ,5 α -epoksialantolakton, 4 α ,15-epoksialantolakton, makrofililakton, 11 α -hidroksiödesm-5-en-12,8b-olıt, telekin, 3 α -hidroksiödesm-4,11-dien-12,8b-olıt, 4,5-seko-ödesm-11 (13)-en-4,5-diokso-12,8b-olıt bileşiklerindeki bileşikler izole edildikten sonra, kimyasal yapıları NMR, COSY ve gHMBC spektroskopik teknikleri yardımıyla tespit edilmiştir (Jiang vd., 2011).

Ağustos 2007'de Çin'de toplanan *Inula hupehensis* L. bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanollü ekstresinden 4 α ,6 α -dihidroksi5 α ,11 α H-ödesm-12,8 β -olıt, 3-okso-6 α -hidroksi-ödesm-4(5),11(13)-dien-12,8 β -olıt bileşikler izole edilmiş ve bileşiklerin yapısı ESIMS ve HRESIMS yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Qin vd., 2012).

Inula racemosa Hook. f. köklerinin ekstresinden elde edilen (4S,8S,10R)-12-hidroksiödesm-5(6),7(11)-dien-12,8-olıt ve 2 α -hidroksiödesm-4,11(13)-dien-12,8 β -olıt bileşiklerinin yapısı UV ve IR spektrometreleri ve de ESIMS, HRESIMS yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır (Zhang vd., 2012).

Inula falconeri Hook. f. bitkisinin toprak üstü kısımlarından granilin bileşiği, HPLC ve kolon kromatografisi teknikleri uygulanarak saflaştırılmış ve yapısal özellikleri spektroskopik analizler aracılığıyla belirlenmiştir (Cheng vd., 2011).

Inula britannica var. *chinensis* türüne ait çiçeklerin etanol ekstresi silika jel kolon kromatografisine tabi tutulması ile izole edilen 1,6-O-O-diasetilbritanilakton ve 1-O-asetilbritanilakton bileşiklerinin yapıları NMR ile aydınlatılmıştır (Rafi vd., 2005).

1.3.1.1.2. Makrofilik Asitler

Inula macrophylla Kar. & Kir. bitkisinin kabuklarından izole edilen makrofilik asit A, B, C, D bileşiklerinin yapısal karakterizasyonu; HREIMS, ¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT ve

COSY spektroskopik analiz teknikleri kullanılarak tespit edilmiştir (Su, Takaishi, Yabuuchi, vd., 2000).

1.3.1.1.3. Elemanlar

1999 yılında Tibet'ten toplanan *Inula helenium* bitkisinin köklerinden 1,3,11(13)-elematrien8,12-olit ve 12-olitan bileşikler izole edilip ^1H NMR, ^{13}C NMR yöntemleri ile yapıları aydınlatılmıştır (Konishi vd., 2002).

Özbekistan'dan satın alınan *Inula macrophylla* bitkisinin kabuklarından makrofililakton A, B, C, D bileşikler elde edilmiştir (Fu vd., 2001).

Inula macrophylla kabuklarından izole edilen 3,4-epoksi-5-epielemasteriraktinolit, 3,4-epoksi-5,10-epielemasteriraktinolit, (11S)-3,4-epoksielem-1-en-12,8 β -olit, 3,4-epoksi-13-hidroksielem-1,7(11)-dien-12,8 β -olit UV, IR, EIMS, HREIMS, NMR analiz teknikleri kullanılarak tanımlanmıştır (Su vd., 2001).

1.3.1.1.4. Guayanolitler

2010 yılında Çin'den toplanan *Inula hookeri* C. B. Clarke ile yapılan çalışmada kolon kromatografisi kullanılarak izole edilen 5 α ,6 α -epoksi-2 α -asetoksi-4 α -hidroksi-1 β ,7 α -guay-11(13)-en-12,8 α -olit, 14-asetoksi-1 β ,5 α ,7 α H-4 β -hidroksi-guay-9(10),11(13)-dien-12,8 α -olit, gaylardin, 2 α -asetoksi-inuviskolit bileşiklerinin yapıları HPLC, ^{13}C NMR ve Kütle spektrumları kullanılarak aydınlatılmıştır (Cheng, Li, vd., 2012).

Inula hupehensis bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen 2 α -asetoksi-4 α ,6 α -dihidroksi-1 β ,5 α H-guay-9(10),11(13)-dien-12,8 α -olit, 8-epiinuviskolit, 4-epi-izoinuviskolit bileşiklerinin yapıları ^1H ve ^{13}C NMR, HRESIMS ile aydınlatılmıştır (Qin vd., 2011).

Denizli, Honaz Dağı'ndan toplanan *Inula anatolica* Boiss. bitkisindeki 4 α ,5 α -epoksi-inuviskolit ve 10 α ,14H-1-epiinuviskolit bileşiklerinin yapıları ^1H ve ^{13}C NMR, IR ile aydınlatılmıştır (Topcu ve Öksüz, 1990).

1.3.1.1.5. Psödoguayanolitler

Inula sericophylla Franch. bitkisinden izole edilen ergolit ve aromatisin bileşiklerinin yapıları IR, ESIMS, ^1H NMR, ^{13}C NMR yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır (Cheng, Ye, vd., 2012).

Inula helianthus-aquatica C. Y. Wu bitkisinin yaprakları ve çiçeklerinden izole edilen bigelovin bileşiğinin kimyasal yapısı; ^1H NMR, ^{13}C NMR ve HRESIMS spektroskopik analizleri yardımıyla tespit edilmiştir (Zeng vd., 2009).

1.3.1.1.6. Germakranolitler

Inula hupehensis bitkisinden izole edilen 9β -hidroksiöpatolit, 9β -asetoksiöpatolit bileşiklerinin kimyasal yapıları; ^1H NMR, ^{13}C NMR, ESIMS ve HRESIMS spektroskopik analizleriyle tespit edilmiştir (Qin vd., 2012).

Inula cappa (Buch.-Ham.) DC'daki inulakapolit, inupatolit A, B ve C bileşiklerinin yapıları 1D, 2D NMR, HMQC, HMBC, ^1H - ^1H COSY ve ROESY yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır (Wang vd., 2012).

Ankara, İdris Dağından toplanan *Inula montbretiana* DC. bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen 9β -{[(2'R)-2'-Metil-3'-oksobutanol]oksi} partenolit, 9β -[(3'-hidroksi-2'-metilbutanol)oksi]partenolit, 9β -[(3'-Hidroksisovaleril)oksi]partenolit, 9β -{[(3'R,4'S)-3',4'-epoksi-3'-metilpentanol]oksi}-partenolit, 9β -{[(3'S,4'R)-3',4'-epoksi-3'-metilpentanol]oksi}-partenolit bileşiklerinin yapıları UHPLC/ESI-QTOF-MSMS yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır (Gökbulut vd., 2012).

Inula salsoloides (Turcz.) Ostenf. bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen öpatolit, $4\alpha,5\beta$ -epoksi-öpatolit, inulasalsolit, inulasalsolit B bileşiklerinin yapıları EIMS, ESIMS ve HR-ESIMS yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Hu vd., 2011).

1.3.2. Ksantanolitler

Ağustos 2007'de Çin Halk Cumhuriyeti'nden toplanan *Inula hupehensis* bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen tomentosin, 6α -hidroksi-tomentosin, 6β -hidroksi-

tomentosin ve inusonyolit bileşiklerinin yapıları ^1H NMR, ^{13}C NMR yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Qin vd., 2012).

1.3.3. Seskiterpen-Monoterpen Dimerleri

Inula japonica'daki japonikon A, B, C, D bileşiklerinin yapıları HRESIMS, 2D NMR ve X-ışınları yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır (Qin vd., 2009).

Inula macrophylla bitkisinin kabuklarından elde edilen makrofilidimer A, B bileşiklerinin yapıları ^1H NMR, ^{13}C NMR, COSY, NOESY ve X-ışınları kullanılarak aydınlatılmıştır (Su, Takaishi, vd., 2000a).

Inula macrophylla bitkisinin kabuklarından elde edilen makrofilol A, B bileşiklerinin yapıları HREIMS, 2D NMR ve X-ışınları kullanılarak aydınlatılmıştır (Su, Takaishi, vd., 2000b).

1.3.4. Alifatik Seskiterpenler

Inula salsoloides bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen 5-asetoksi-12-hidroksifarnesol ve 5-hidroksi-12-oksofarnesol bileşiklerinin yapıları MS ve ^1H NMR yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Jeske vd., 1996).

İspanya'dan toplanan *Inula viscosa* (L.) Aiton bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen (3E)-7-hidroksi-3,7-dimetil-1-(2-metilprop-1-en-1-il)nona-3,8-dien-1-il-2 metilpropanoat, (3E)-7-hidroksi-3,7-dimetil-1-(2-metilprop-1-en-1-il)nona-3,8-dien 1-il-2-metilbütanoat ve (3E)-7-hidroksi-3,7-dimetil-1-(2-metilprop-1-en-1-il)nona-3,8 dien-1-il-propanoat bileşiklerinin yapıları IR, EIMS, ^1H NMR ve ^{13}C NMR yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Sanz vd., 1991).

1.3.5. Uçucu Yağlar

2017 yılında Bulgaristan'dan toplanan *Inula germanica* L. bitkisinden mikro hidrodistilasyon ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen 1,8-sineol, cis-karvil asetat bileşiklerinin yapıları GC-MS ile aydınlatılmıştır (Trendafilova vd., 2020).

Kastamonu'nun Hanönü ilçesinden toplanan *Inula ensifolia* L. bitkisinin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon yöntemi ile izole edilen hegzadekonik asit, β -borbonen, muurola-4, 10(14)-dien-1-ol bileşiklerinin GC-MS yöntemleri ile yapıları aydınlatılmıştır (Sen vd., 2019).

2013 yılında Sicilya'dan toplanan *Inula crithmoides* L. ve Hırvatistan'dan toplanan *Inula verbascifolia* (Willd.) Hausskn. bitkilerindeki α -pinen, β -fellandren, germakren D, hegzadekanoik asit bileşiklerinin yapıları GC-MS yöntemleri ile analiz edilmiştir (Fontana vd., 2014).

1.3.6. Diterpenler

2020 yılında Çin'den toplanan *Inula nervosa* Wall. bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen maoksiokaosid A'nın yapısı NMR, HRESIMS spektroskopik analizleriyle tespit edilmiştir (Li vd., 2023).

Inula britannica bitkisinin çiçeklerinden elde edilen (16R)-17-[(β -D-glukopiranosil)oksi]-ent-kauran 19-oik asit ve (16R)-17-[(β -D-glukopiranosil)oksi]-ent-kauran-19-oik asit-19- β -D-glukopiranozit bileşiklerinin yapıları IR, FABMS, ^1H , ^{13}C NMR ile aydınlatılmıştır (Shao vd., 1996).

1.3.7. Triterpenler

Inula britannica'dan izole edilen $3\beta,16\beta$ -dihidroksilupeol-3-palmitat, $3\beta,16\beta$ -dihidroksilupeol-3 miristat, epi-fridelinol, β -amirin palmitat ve olean-13(18)-en-3-asetat bileşikleri UV, IR, ^1H NMR yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Öksüz ve Topcu, 1987).

1.3.8. Flavonoidler

2018'de Muğla'dan toplanan *Inula anatolica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen apigenin, luteolin, kersetin, hesperidin, kemferol bileşiklerinin yapıları LC-MS/MS yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Ceylan vd., 2021).

Inula viscosa bitkisinin çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstreden elde edilen 7-O metilaromadendrin, sakuranetin bileşiklerinin yapıları ^1H , ^{13}C NMR spektroskopik analizleriyle tespit edilmiştir (Hernández vd., 2007).

Inula britannica bitkisinin çiçekleri ile hazırlanan ekstreden spinasetin, kersetin, luteolin, 6-metoksiluteolin ve izorhamnetin izole edilmiş yapı aydınlatmaları ise UV, IR, NMR, MS yöntemlerinin literatür araştırılması ile yapılmıştır (Geng vd., 2007).

Inula britannica bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan butanollü ekstreden patuletin, luteolin, patulitrin, patuletin 7-O-(6"-izovaleril)glukozit, patuletin 7-O-(6"-izobutiril) glukozit, nepitrin, kemferol, kemferol 3-glukozit, aksilarin, hispidulin 7-glukozit, izoramnetin 3-glukozit bileşiklerinin yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR, IR yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Park vd., 2000).

1.3.9. Glukolipitler

Inula viscosa bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen inugalaktolipit A bileşiğinin yapısı ¹H NMR, ¹³C NMR yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Manez vd., 1999).

1.3.10. Misel Oluşturabilen Bileşikler

Çin'den toplanan *Inula cappa* bitkisinin köklerinden izole edilen klorojenik asit bileşiğinin yapısı NMR ve kütle spektroskopisi yöntemleri ile analiz edilmiştir (Wu vd., 2010).

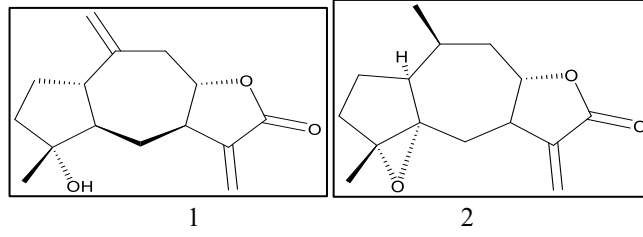
Almanya'da toplanan *Inula helenium* bitkisinin yapraklarından izole edilen 1-kafeolkinik asit, 3-kafeolkinik asit ve 4-kafeolkinik asit bileşiklerinin yapıları LC-MS yöntemleri ile analiz edilmiştir (Jaiswal vd., 2011).

Romanya'dan toplanan *Inula helenium* bitkisinden izole edilen rozmarinik asit bileşiğinin yapısı UV-VIS spektroskopisi yöntemleri ile analiz edilmiştir (Spiridon vd., 2011).

1.4. *Inula anatolica* Boiss. Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

1.4.1. Guayanolitler

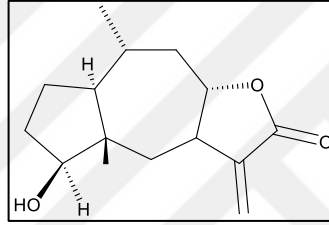
Inula anatolica bitkisinden inuviskolit ve 4 α ,5 α -epoksi-10 α ,14H-inuviskolit bileşiklerini izole edilmiştir (TOPCU vd., 1992).



Şekil 1.1. İnuviskolit (1), 4α,5α-epoksi-10α,14H-inuviskolit (2)

1.4.2. Psödoguayanolitler

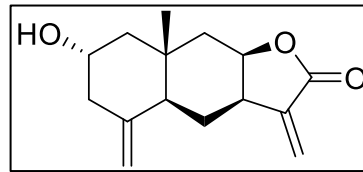
Inula anatolica bitkisinden 2-desoksi-4-epi-pulçelin bileşikleri izole edilmiştir (TOPCU vd., 1992).



Şekil 1.2. 2-desoksi-4-epi-pulçelin

1.4.3. Ödesmanolitler

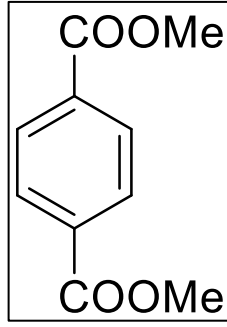
Inula anatolica bitkisinden ivalin bileşiği izole edilmiştir (TOPCU vd., 1992).



Şekil 1.3. İvalin

1.4.4. Aromatik Bileşikler

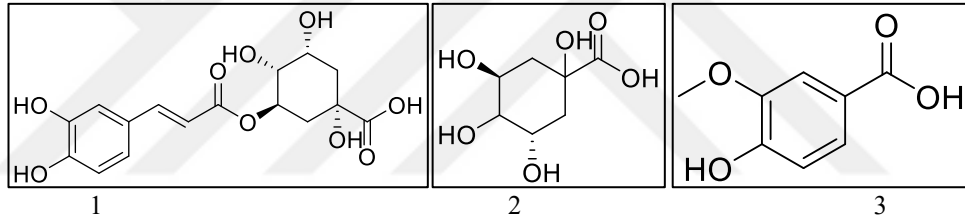
Inula anatolica bitkisinden tereftalik asit dimetil ester bileşiği izole edilmiştir (TOPCU vd., 1992).



Şekil 1.4. Tereftalik asit dimetil ester

1.4.5. Fenolik Bileşikler

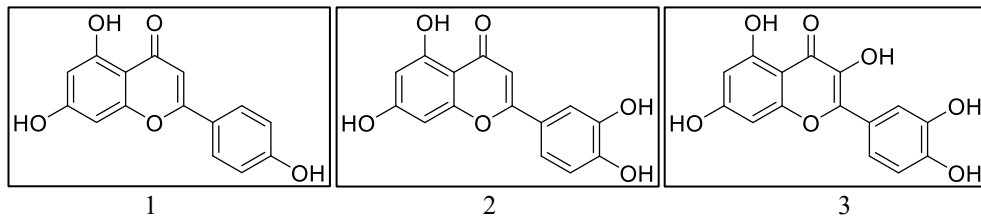
2018’de Muğla’da toplanan *Inula anatolica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen klorojenik asit, kinik asit, vanilik asit bileşiklerinin yapıları LC-MS/MS yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Ceylan vd., 2021).

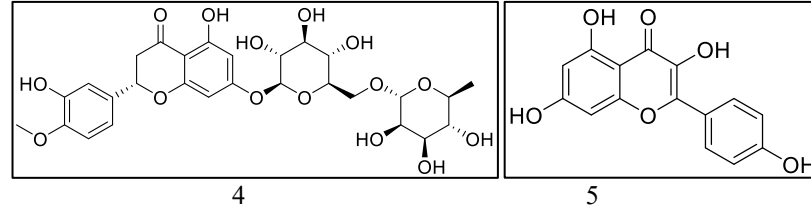


Şekil 1.5. Klorojenik asit (1), kinik asit (2), vanilik asit (3)

1.4.6. Flavonoidler

2018’de Muğla’da toplanan *Inula anatolica* bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen apigenin, luteolin, kersetin, hesperidin, kemferol bileşiklerinin yapıları LC-MS/MS yöntemleri ile aydınlatılmıştır (Ceylan vd., 2021).





Şekil 1.6. Apigenin (1), luteolin (2), kersetin (3), hesperidin (4), kemferol (5)

1.5. *Inula* Türlerinin Geleneksel Kullanımı

Inula cappa bitkisi Çin’de geleneksel tıpta detoksifikasyon, ödem giderici, soğuk algınlığı ve ateş, boğaz ağrısı ve şişliği ile romatizmal kaynaklı ağrı ve şişliklerin tedavisinde kullanılmaktadır (Wu vd., 2025).

Inula japonica bitkisinin toprak üstü kısımları ve çiçekleri Çin geleneksel tıbbında öksürüğü hafifletmek, bronşit, inflamasyon, mikrobiyal enfeksiyonların tedavisinde, biriken balgamı gidermek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Liu vd., 2018; Wu vd., 2016).

Çin’de *Inula britannica* ve *Inula japonica* bitkilerinin kurutulmuş çiçekleri “Xuanfuhua” olarak bilinmektedir ve Çin geleneksel tıbbında bronşit, sindirim bozuklukları ve inflamasyon tedavileri için uzun süredir kullanılmaktadır (Tang vd., 2021).

Inula viscosa bitkisi İspanya geleneksel tıbbında gastroduodenal rahatsızlıkların tedavisinde, Türkiye’de taze yaprakları halk arasında yara iyi edici olarak, Ürdün geleneksel tıbbında diüretik, ekspektoran, antihelmintik etkileri ile, bronşit, tüberküloz ve anemi tedavilerinde, Fas’ta halk arasında toprak üstü kısımlarının dekoksiyonu diyabet, hipertansiyon ve böbrek hastalıklarının tedavisinde, Cezayir’de geleneksel tıpta diyabet ve bronşit gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Al-Dissi vd., 2001; de La Lustra vd., 1993; Haoui vd., 2015; Zeggwagh vd., 2006).

Hindistan’da geleneksel kullanımda olan *Inula racemosa* bitkisi Ayurveda metinlerinde dispne, göğüs ağrısı ve öksürük tedavileri için kullanıldığı belirtilmiştir (Kalachaveedu vd., 2018). Bu bitkinin kökleri geleneksel Çin tıbbında mide fonksiyonlarının düzenlenmesi, boyun-omuz ağrılarını hafifletmek, düşüğü önlemek amaçları ile kullanılmaktadır (Liu vd., 2006).

Inula britannica bitkisinin çiçekleri Hindistan geleneksel tıbbında bronşit, inflamasyon, intestinal rahatsızlıklar ve balgam tedavisinde kullanılmaktadır. İran geleneksel tıbbında ise yaprak ve çiçekleri kaynatılarak ekspektoran etki, astım ve artrit tedavisi için kullanılmaktadır (Zarei vd., 2018).

Türkiye’de halk arasında andızotu kökü olarak bilinen *Inula helenium* safra söktürücü, idrar arttırıcı, öksürük kesici, göğüs yumuşatıcı, kuvvet verici ve kurt düşürücü etkileri ile; *Inula heterolepis* ise basura karşı ve iştah açıcı olarak kullanılmaktadır (Baytop, 2021).

1.6. *Inula* Türlerinin Biyoaktivite İncelemeleri

1.6.1. Farmakolojik Etki Çalışmalar

Inula cinsine ait türlerin farmakolojik etkileri ve biyolojik aktiviteleri genellikle ihtiva ettikleri seskiterpen laktonları, uçucu yağlar ve flavonoidlere dayandırılmaktadır (Merah vd., 2025; Sen vd., 2019)

1.6.1.1. Antimikrobiyal Etki

Ekim 2023’te Cezayir’den toplanan *Inula viscosa* bitkisinin köklerinden elde edilen uçucu yağ ekstresinin *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* suşlarına karşı ID değerleri sırasıyla $9 \pm 0,5$ mm ve $10,5 \pm 0,5$ mm; standart madde levofloksasinin ID değerleri de sırası ile $25 \pm 0,4$ mm ve $35 \pm 1,5$ mm olarak ölçülerek uçucu yağ ekstrenin antimikrobiyal etkisinin olduğu gözlemlenmiştir (Merah vd., 2025).

Fas’tan toplanan *Inula viscosa* bitkisinin etanollü yaprak ekstresinin *Leishmania amazonensis* suşuna uygulanması sonucu IC_{50} değeri $0,64 - 2,13$ μM aralığında; referans ilaç miltefosinin IC_{50} değeri ise $3,11$ μM olarak bulunmuştur (Zeouk vd., 2020).

Suriye’den toplanan *Inula* cinsine ait bitkinin etanollü ekstresinin hidroksiapatit nanopartiküllerine yüklenmesi ile yapılan bir çalışmada; dış çürüklerine sebep olan *S. mutans*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* suşlarına uygulanması sonucu inhibisyon zon çapları sırasıyla 28 mm, 50 mm, 22 mm, 25 mm; kullanılan referans antibiyotiklerin inhibisyon zon çapları ise 0 ile 32 mm aralığında bulunmuştur (Hammal vd., 2024).

2021 Mart ayında Etiyopya'dan toplanan *Inula confertiflora* A. Rich. bitkisinin yapraklarından izole edilen bileşiklerin disk difüzyon yöntemi ile ZOI değerleri milimetre cinsinden ölçülmüş ve *Escherichia coli* için minimum 16 mm, maksimum 30 mm, *Staphylococcus aureus* için minimum 14 mm, maksimum 37 mm olarak bulunmuştur. Standart madde olarak kullanılan gentamisin ve siproflaksasin için ZOI minimum değerleri sırası ile 26 mm ve 30 mm olarak bulunmuştur (Ahmed vd., 2024).

1.6.1.2. Antioksidan Etki

Cezayir'den toplanan *Inula conyza* DC bitkisinin kloroformlu, etil asetatlı ve n-bütanolü ekstralarının antioksidan etkilerinin DPPH, ABTS ve β -Karoten testleri ile araştırıldığı bir çalışmada, etil asetatlı ekstrenin sırası ile IC₅₀ değerleri $19,74 \pm 0,39$; $5,94 \pm 0,03$; $1,17 \pm 0,01$ $\mu\text{g/mL}$ bulunarak diğer ekstralara göre çok yüksek aktivite göstermiştir. Diğer ekstraların ise IC₅₀ değerleri $180,53 \pm 0,82$ $\mu\text{g/mL}$ – $2,45 \pm 0,08$ $\mu\text{g/mL}$ aralığında bulunmuştur (Selma vd., 2025).

2019 Temmuz ayında Filistin'den toplanan *Inula viscosa* bitkisinin yapraklarından elde edilen uçucu yağın DPPH testi ile yapılan araştırmasında, elde edilen uçucu yağın IC₅₀ değeri $13,5 \pm 0,44$ $\mu\text{g/mL}$ ve referans madde Trolox'un IC₅₀ değeri $3,23 \pm 0,92$ $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur (Qneibi vd., 2021).

2018 yaz mevsiminde Türkiye'den toplanan 11 farklı *Inula* türü ile hazırlanan metanollü ekstraların antioksidan aktiviteleri DPPH testi ile ölçülmüş ve en yüksek aktivitenin $188,22 \pm 2,94$ mg TE/g ile *Inula viscidula* ekstresine ait olduğu gösterilmiştir (Ceylan vd., 2021).

Bingöl Karlıova'dan 2017 yılı temmuz ayında toplanan *Inula discoidea* bitkisinin sulu ve metanollü ekstralarının ABTS yöntemi ile bulunan IC₅₀ değerleri sırası ile $50,6 \pm 7,5$ $\mu\text{g/mL}$ ve $51,5 \pm 8,8$ $\mu\text{g/mL}$ 'dir. Referans madde olarak kullanılan BHA'nın IC₅₀ değeri ise $69,4 \pm 10,5$ $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur (Bursal vd., 2021).

Türkiye'den toplanan *Inula viscosa*, *Inula helenium* ssp. *turcoracemosa* ve *Inula montbretiana* bitkilerinin sulu, metanollü ve etil asetatlı ekstraları arasında DPPH testi ile yapılan antioksidan testinde *Inula viscosa* sulu çiçek ekstraları ve *Inula helenium* metanollü çiçek ekstraları en yüksek antioksidan aktivite gösteren ekstralar olarak belirlenmiştir. Bütün

ekstrelerin IC₅₀ değeri, referans madde olan Trolox'un IC₅₀ değerinden yüksek olarak bulunmuştur (Gökbulut vd., 2013).

1.6.1.3. Antinosiseptif Etki

Ekim 2023'te Cezayir'den toplanan *Inula viscosa* bitkisinin köklerinden hazırlanan sulu metanollü ekstresinin 400 ve 800 mg/kg dozlarında sırasıyla % 79,90 ve % 88,35; uçucu yağının 10 mg/kg dozunda % 75,55; referans madde olarak kullanılan parasetamolün ise 100 mg/kg dozunda % 70,25 antalgik etkilerinin gözlemlenmesi ile bitkinin taşıdığı polifenoller, flavonoidler ve terpenoidler gibi maddeler ile antalgik etki gösterdiği düşünülmüştür (Merah vd., 2025).

İran'dan 2016 Eylül ayında toplanan *Inula britannica* bitkisinin çiçeklerinden elde edilen uçucu yağın hayvanlarda ağrı eşiğini ölçmek için kullanılan kuyruk vuruşu testi (Tail flick test) ile araştırıldığı bir çalışmada, 100 mg/kg dozunda uygulanan uçucu yağ kuyruk çekilme gecikme süresini (Tail Flick Latency – TFL) $2,3 \pm 0,58$ saniyeden $6,1 \pm 0,58$ saniyeye yükselterek antinosiseptif etki göstermiştir (Zarei vd., 2018).

Hindistan'da 2013 yılında toplanan *Inula cuspidata* C.B Clarke bitkisinin kök ve gövde ekstrelerinin araştırıldığı bir çalışmada, Erkek Swiss Albino farelerine hot plate yöntemi (Sıcak plaka testi) ile bitkinin metanollü ve kloroformlu ekstrelerinin uygulanması sonucunda, bu ekstrelerin 200 mg/kg dozlarında 90. dakikada sırası ile 7,5 sn, 7,85 sn, 8,01 sn ve 8,39 saniyelik gecikme süreleri (latency period) ve referans madde tramadolun 10 mg/kg dozunda 0. dakikada gecikme süresini 10,69 saniyeye çıkardığı, 90. dakikada 9,97 saniyeye düşürdüğü gözlenmiştir. Bitkinin kloroformlu ekstrelerinin sadece 200 mg/kg dozunda 90. dakikada anlamlı etkileri gözlenmiştir (Paliwal vd., 2017).

1.6.1.4. Antienflamatuvar Etki

2021'de Kore'den toplanan *Inula japonica* yapraklarının % 30 etanollü ekstresinden izole edilen inulajaponik asit C bileşiğinin iNOS ve COX-2 ekspresyonunu baskılayarak cilt yaşlanmasıyla ilişkili iltihabi yanıtları azalttığı gösterilmiştir (Son vd., 2025).

2019'da Çin'den toplanan *Inula helenium* bitkisinin köklerinden hazırlanan metanollü ekstresinden izole edilen 3 seskiterpen bileşiğinin antienflamatuvar etkileri için yapılan

deneyde IC₅₀ değerleri 4 µM'ın altında; referans madde olan indometazin ise 57,21 µM olarak bulunmuştur. Bu durumda seskiterpen bileşiklerinin referans maddeye göre daha etkili olduğu düşünülmüştür (Zheng vd., 2021).

1999 yılında İspanya'dan temin edilen *Inula viscosa* türünün toprak üstü kısımlarından elde edilen diklorometan ekstresinden üç farklı flavanon bileşiği (sakuranetin, 3-asetil-7-O-metilaromadendrin ve 7-O-metilaromadendrin) izole edilmiştir. Lökotrien B₄ üzerine yapılan analizlerde, sakuranetin için IC₅₀ değeri 9 µM, 3-asetil-7-O-metilaromadendrin için 15 µM, 7-O-metilaromadendrin için 62 µM, referans bileşik apigenin için ise 14 µM olarak belirlenmiştir (Hernández vd., 2007).

1.6.1.5. Sitotoksik Etki

Muğla ilinden toplanan *Inula viscosa* ve *Inula graveolens* bitkileri ile hazırlanan asetonlu, sulu ve metanollü ekstraktların sitotoksik etkileri PC-3, Huh-7 ve Caco-2 kanser hücre hatlarında incelenmiştir. Araştırmanın sonucunda *Inula viscosa* 'nın bütün ekstraktları 10,8 ± 0,1 µg/mL, 41,8 ± 2,6 µg/mL, 20,9 ± 0,5 µg/mL IC₅₀ değerleri ile Caco-2 hücre hattında diğer kanser hücre hatlarına göre daha etkili bulunmuştur. *Inula graveolens* 'in asetonlu ve metanollü ekstraktları sırasıyla 10,3 ± 0,1 µg/mL ve 20,6 ± 0,3 µg/mL IC₅₀ değerleri ile Caco-2 hücre hattında; 67,2 ± 7,7 µg/mL değeri ile Huh-7 hücre hattında diğer kanser hücre hatlarına göre daha etkili bulunmuştur (Anara vd., 2025).

Türkiye'nin Manisa ilinden 2016'da toplanan *Inula viscosa* bitkisinin kaynatılarak ve infüzyon ile hazırlanan ekstraktlarının MCF-7 hücrelerinde IC₅₀ değerleri sırası ile 25,76 ± 1,83 µg/ml, 18,76 ± 1,64 µg/ml ve referans madde cis-platinin IC₅₀ değeri 8,34 ± 0,54 µg/ml olarak bulunmuştur. İnfüzyon ile hazırlanan ekstrenin, kaynatma ile hazırlanan ekstreye göre daha iyi sitotoksik etki gösterdiği düşünülmüştür (Hepokur vd., 2019).

Mayıs 2011'de Çin'den satın alınan *Inula japonica* çiçeklerinden elde edilen bileşiklerin HL-60, SMMC-7721, A-549, MCF-7, SW-480 kanser hücre hatlarındaki sitotoksik etkileri MTT testi ile kullanılarak araştırılmış elde edilen bileşiklerin IC₅₀ değerleri 1,57 – 10,34 µM değer aralıklarında; referans madde cisplatinin ise 1,22 – 15,23 µM değer aralıklarında bulunmuştur (Wu vd., 2016).

1.6.1.6. İmmunomodülatör Etki

2018 yılında Çin'den toplanan *Inula britannica* bitkisinden izole edilen bileşiklerin PMA ve ionomisin ile uyarılmış jurkat lösemik T hücrelerinde 10 µM konsantrasyonda IL-2 ve IFN-γ ekspresyonlarını inhibe edici etkileri gözlenmiştir (Zhang vd., 2025).

Escherichia coli'nin farelerde % 100 ölüm oluşturacak şekilde standartlaştırıldığı bir çalışmada *Inula cappa* metanollü kök ekstresinin 300 mg/kg oral uygulanması ile 24 saat içinde ölüm oranı % 33,33; kontrol grubunda ise bu oran % 100 olarak bulunmuştur. Bu durum, ekstrenin monosit-makrofaj sisteminin etkinliğini arttırdığını göstermiştir (Kalola vd., 2017).

1.6.1.7. Nöroprotektif Etki

2021 yılında Özbekistan'dan toplanan *Inula macrophylla* bitkisinden hazırlanan etanollü ekstredeki seskiterpen bileşiklerinin LPS ile indüklenmiş BV2 hücrelerinde 7,21 µM ile 18,03 µM arasında farklı IC₅₀ değerlerine sahip olduğu ve referans madde O-diasetilbritannilakton'un IC₅₀ değerinin 3,98 µM olduğu bulunmuştur (Ma vd., 2024).

2017 Ekim ayında Çin'den toplanan *Inula britannica* bitkisinin çiçeklerinin etanollü ekstresinden izole edilen bazı seskiterpenoitler 5 µM konsantrasyonda H₂O₂ ile hasar oluşturulmuş PC-12 hücrelerinde önemli derecede koruyucu etki göstermiştir (Tang vd., 2021).

2002 yılında yapılan bir çalışmada, *Inula britannica* bitkisinin çiçeklerinden izole edilen patuletin, nepetin ve axillarin bileşiklerinin glutamat ile zarar verilmiş kortikal nöron hücrelerine 1 µM, 10 µM, 50 µM dozlarında anlamlı düzeyde nöroprotektif etkiler göstermişlerdir (Kim vd., 2002).

1.6.1.8. Antidiyabetik Etki

Bingöl Karlıova'dan 2017 yılı temmuz ayında toplanan *Inula discoidea* bitkisinin metanollü ekstresinin α-glukozidaz enzim inhibisyonu için IC₅₀ değeri 40,76 mg/mL olarak bulunmuştur (Bursal vd., 2021).

2018 yılında Fas'tan toplanan *Inula viscosa* bitkisinin metanollü yaprak ekstresi kloroformlu ve etil asetatlı yaprak ekstrelerine göre en yüksek α -glukozidaz inhibitör etkiyi 22,3 $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} değeri ile göstermiştir. Standart madde olan akarbozun ise IC_{50} değeri 33 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur (Asraoui vd., 2021).

Türkiye'de çeşitli illerden toplanan 5 farklı *Inula* cinsinin (*I. helenium*, *I. montbretiana*, *I. peacockiana*, *I. thapsoides*, *I. viscosa*) metanollü ekstrelerinin 3000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonu % 32,36 ile % 88,69 arasında ve referans madde olan akarbozun 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonu % 98,67 oranında α -glukozidaz enzim inhibisyonu göstermiştir (Orhan vd., 2017).

Bu tez çalışmasında ise *Inula anatolica*'nın farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstrelerinin ters faz YPSK ve İTK yöntemleri ile analizlerinin gerçekleştirilmesi, kimotripsin ve tripsin enzim inhibitör aktivitelerinin ölçülmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Araştırmada Kullanılan Bitki Numunesi

20 Haziran 2024 Tarihinde Isparta ili Merkez ilçesi Çünür Mahallesi'nden, 1005 m rakımdan toplanan *Inula anatolica* örnekleri çalışma materyali olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bitki örnekleri herbaryum örneği halinde AÜEF Herbaryumu'nda (AEF: 31159) kayıt altına alınmıştır. Kurutma işleminin ardından bitkinin toprak üstü ve toprak altı kısımları öğütölerek toz haline getirilmiş; bu materyal enzim aktivitesi ve kromatografik analizlerde kullanılmıştır.



Şekil 2.1. *Inula anatolica* (Isparta ili, Çünür Mahallesi)

2.2. Biyoaktif Bileşiklerin Fitokimyasal Değerlendirmesi

2.2.1. Ekstraksiyon İşleminin Gerçekleştirilmesi

I. anatolica bitkisinin uygun koşullarda kurutulup toz edilen toprak üstü ve toprak altı kısımları ayrı ayrı tam tartılmıştır. Tartılan kısımların metanol, etil asetat, % 70 etanol çözücülerini ile soxhlet apareyi ve ultrasonik su banyosu kullanılarak ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemleri sonunda her ekstre beherlere süzgeç kağıdı ile süzölmüş ve kurumaya bırakılmıştır.



Şekil 2.2. Soxhlet ekstraksiyonu



Şekil 2.3. Ultrasonik su banyosu ekstraksiyonu



Şekil 2.4. *I. anatolica*'nın toprak üstü ve toprak altı kısımlarından hazırlanan % 70 etanolü, etil asetatlı ve metanolü ekstreler

2.2.2. *Inula anatolica*'nın İnce Tabaka Kromatografisi ile İncelenmesi

İTK'da Silikagel 60 F₂₅₄ (Merck, 1.05554 20x20) kullanılmıştır. *I. anatolica* bitkisinin toprak altı ve üstünün metanolü, etil asetatlı, % 70 etanolü 5 farklı ekstresi belirtilen İTK plaklarına tatbik edilmiştir. Ekstrelerin içeriğindeki bileşik gruplarının incelemesi farklı çözücü sistemleri kullanılarak UV lamba altında farklı nm'lerde ve Natural Product Reaktifi (NP reagent) püskürtülerek yapılmıştır.

Çözücü Sistemi 1 : Toluen: Etil asetat: Formik asit: Metanol (40:32:8:1)

Çözücü Sistemi 2 : Hekzan: Etil asetat (48:32)

Çözücü Sistemi 3 : Etil asetat: Metanol: Formik asit: Su (64,5:3,9:3,9:7,7)

2.2.3. *Inula anatolica* Boiss. Türünde Fenolik ve Flavonoit İçeriğinin YPSK (RP-HPLC) ile Belirlenmesi

I. anatolica bitkisinin toprak altı ve üstünün metanollü ve % 70 etanollü 5 farklı ekstre YPSK'ya uygulanarak içeriklerindeki bileşikler teşhis edilmiştir. Analiz koşulları 2.2.3.1.'de verilmiştir.

YPSK analizlerinde mobil faz olarak yüksek saflıkta su, metanol ve asetonitril çözücüler kullanılmış; çözeltiler degaz işleminden geçirildikten sonra cihaza yüklenmiştir. Numuneler enjeksiyon öncesinde 0,45 µm gözenek çapına sahip mikro filtrelerle süzülerek viallere aktarılmıştır.

Analiz sürecinde, bitkinin kök ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü, % 70 etanollü beş farklı ekstre, referans olarak seçilen fenolik standartlarla karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma, bileşiklerin retansiyon zamanları ve UV spektral özellikleri dikkate alınarak yapılmış; böylece örneklerde bulunan fenolik bileşenlerin tanımlanması sağlanmıştır. Tüm enjeksiyon işlemleri, analiz güvenilirliğini artırmak amacıyla üç kez tekrarlanmıştır.

Fenolik bileşiklerin YPSK yöntemiyle nitel ve nicel olarak incelenmesi amacıyla, bitkide bulunma olasılığı yüksek bazı fenolik standartlar referans olarak değerlendirilmiştir. Bu kapsamda rutin, kersetin, luteolin, kemferol, kafeik asit, ferulik asit, klorojenik asit, apigenin, rosmarinik asit standartları analizde kullanılmıştır.

2.2.3.1. HPLC Uygulama Koşulları

YPSK Sistemi: Agilent 1260 serisi

Kolon Tipi: ACE C18 (150 X 4,60 mm id; 5 µ)

Dedektör Tipi: Fotodiyot Dizisi Dedektör (PDA) UV/VIS (200-400 nm)

Akış Hızı: Dakikada 1 mL

Enjeksiyon Hacmi: 10 µl

Dalga Boyu: 330 nm ve 360 nm

Çözücü Sistemi:

Çözücü A: su: % 0,1 trifloroasetik asit

Çözücü B: asetonitril: % 0,1 trifloroasetik asit

Çizelge 2.1. YPSK analizinde uygulanan gradyan sistemi

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

2.2.3.2. Fenolik Bileşiklerin ve Flavonoidlerin Miktar Tayinleri

Fenolik bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda yapılan enjeksiyonlarından elde edilen pik alanları, oluşturulan doğrusal denklemde kullanılarak konsantrasyon değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen bu veriler doğrultusunda, *I. anatolica* bitkisinin toprak üstü ve altı bölümlerinden hazırlanan metanollü, % 70 etanollü ekstraktlarda belirlenen bileşiklerin oranları tespit edilmiştir.

2.2.3.3. Standart Maddeler için Doğru Denklemlerinin Hesaplanması

Klorojenik Asit için Kalibrasyon Denkleminin Belirlenmesi

0,5 mg/mL derişimde klorojenik asit (Sigma-C3878) çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stoktan yararlanılarak farklı derişimlerde çözeltiler elde edilmiş ve her birinden 10 µL'lik örnekler üçer kez sisteme enjekte edilmiştir. Cihazdan alınan ortalama pik alan değerleri, ilgili konsantrasyonlarla ilişkilendirilerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Böylece, analizi yapılacak bileşik için doğrusal denklem ve R^2 katsayısı belirlenmiştir. Elde edilen doğrusal denklem yardımıyla örneklerdeki klorojenik asit miktarı hesaplanmış, analizler 330 nanometrede yürütülmüştür.

Kafeik Asit için Kalibrasyon Denkleminin Belirlenmesi

0,52 mg/mL derişimde kafeik asit (Sigma-C0625) çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stoktan yararlanılarak farklı derişimlerde çözeltiler elde edilmiş ve her birinden 10 µL'lik örnekler üçer kez sisteme enjekte edilmiştir. Cihazdan alınan ortalama pik alan değerleri, ilgili

konsantrasyonlarla ilişkilendirilerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Böylece, analizi yapılacak bileşik için doğrusal denklem ve R^2 katsayısı belirlenmiştir. Elde edilen doğrusal denklem yardımıyla örneklerdeki kafeik asit miktarı hesaplanmış, analizler 330 nanometrede yürütülmüştür.

Ferulik Asit için Kalibrasyon Denkleminin Belirlenmesi

0,4 mg/mL derişimde ferulik asit (Sigma-128708) çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stoktan yararlanılarak farklı derişimlerde çözeltiler elde edilmiş ve her birinden 10 µL'lik örnekler üçer kez sisteme enjekte edilmiştir. Cihazdan alınan ortalama pik alan değerleri, ilgili konsantrasyonlarla ilişkilendirilerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Böylece, analizi yapılacak bileşik için doğrusal denklem ve R^2 katsayısı belirlenmiştir. Elde edilen doğrusal denklem yardımıyla örneklerdeki ferulik asit miktarı hesaplanmış, analizler 330 nanometrede yürütülmüştür.

Luteolin için Kalibrasyon Denkleminin Belirlenmesi

0,15 mg/mL derişimde luteolin (Sigma-L9283) çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stoktan yararlanılarak farklı derişimlerde çözeltiler elde edilmiş ve her birinden 10 µL'lik örnekler üçer kez sisteme enjekte edilmiştir. Cihazdan alınan ortalama pik alan değerleri, ilgili konsantrasyonlarla ilişkilendirilerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Böylece, analizi yapılacak bileşik için doğrusal denklem ve R^2 katsayısı belirlenmiştir. Elde edilen doğrusal denklem ($y=mx+n$) yardımıyla örneklerdeki luteolin miktarı hesaplanmış, analizler 360 nm dalga boyunda yürütülmüştür.

2.2.3.4. LOD- LOQ Değerlendirilmesi

Klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit, luteolin standartlarının LOD hesaplamasında sinyal/gürültü oranı (S/N) 3, LOQ hesaplamasında ise 10 olarak belirlenmiştir. Her bir standart için LOQ düzeyinde dokuz tekrarlı enjeksiyon gerçekleştirilmiş ve bu enjeksiyonlardan elde edilen pik alanlarının % RSD değerleri belirlenmiştir. % RSD, standart sapmanın ortalama değere oranının yüzdesi olarak ifade edilmiştir, $\% RSD = (SD/Mean) \times 100$.

2.3. Aktivite Testleri

2.3.1. Kimotripsin Enzim İnhibitör Aktivite

I. anatolica'nın toprak üstü ve altı kısımlarından ultrasonik su banyosu ve soxhlet apareyi kullanılarak hazırlanan etil asetatlı, metanollü ve % 70 etanollü ekstreleri kimotripsin enzim inhibitör aktivite testinde kullanılmıştır.

96 kuyucuklu bir mikropalak kuyucuklarına sırası ile 60 µL Tris-HCl tamponu (pH 7,6 50 Mm), 10 µL numune çözeltileri (Etil asetatlı, metanollü ve % 70 etanollü ekstreler), kimotripsin çözeltilisi (Tip II, sığır pankreasından, Sigma-Aldrich, 36 U/mL) eklenmiştir. 15 dakika 37°C ön inkübasyondan sonra, tüm kuyucuklara 30 µL, 1,3 mM substrat çözeltilisi (N-süksinil fenilalanin-*p*-nitroanilid) eklenmiştir. 60 dakika 37°C'de inkübasyondan sonra, 410 nm'de absorbans ölçülmüştür. FMSF standart inhibitör olarak kullanılmıştır. Tüm deneyler üç tekrar halinde yapılmıştır. IC₅₀ değerleri GraphPad Prism 6 yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır. İnhibisyon yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır: İnhibisyon yüzdesi (%), İnhibisyon yüzdesi (%) = $(A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}) / A_{\text{Kontrol}} \times 100$ denklemi ile hesaplanmıştır.

2.3.2. Tripsin Enzim İnhibitör Aktivite

I. anatolica'nın toprak üstü ve altı kısımlarından ultrasonik su banyosu, soxhlet apareyi kullanılarak hazırlanan etil asetatlı, metanollü ve % 70 etanollü ekstreleri tripsin enzim inhibitör aktivite testinde kullanılmıştır.

96 kuyucuklu bir mikropalağın kuyucuklarına sırası ile 65 µL 50 mM Tris-HCl tamponu (pH 7,6), 15 µL su, 10 µL numune çözeltileri (Etil asetatlı, metanollü ve % 70 etanollü ekstreler) ve 10 µL tripsin enzim çözeltilisi (Tip-I, sığır pankreasından, Sigma-Aldrich, 1 mM HCl içinde) eklenmiştir. 15 dakika 37°C'de inkübe edilmiştir. Ardından tüm kuyucuklara 50 µL 1 mg/mL substrat çözeltilisi [BAPNA, % 10 DMSO içinde] eklenmiştir. Açığa çıkan *p*-nitroanilin'in absorbansı 405 nm'de ölçülmüştür. FMSF referans inhibitör olarak kullanılmıştır. Tüm deneyler üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir. IC₅₀ değerleri GraphPad Prism 6 yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır. İnhibisyon yüzdesi (%), İnhibisyon yüzdesi (%) = $(A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}) / A_{\text{Kontrol}} \times 100$ denklemi ile hesaplanmıştır.

3. BULGULAR

3.1. *Inula anatolica* Boiss. Ekstreleri

I. anatolica bitkisinin farklı çözücüler, farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktlarının verimleri 3.1.1 ve 3.1.2’de verilmiştir.

3.1.1. Soxhlet Ekstraksiyonu

I. anatolica bitkisinin toprak üstü ve altı kısımlarının farklı çözücülerdeki soxhlet ekstraksiyonu verimleri yüzde (%) şeklinde Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. *I. anatolica* bitkisinin soxhlet ekstraksiyonu verimleri

Bitki Ekstreleri	% Verim (% a/a)
<i>Inula anatolica</i> toprak altı % 70 etanol	% 5,5538
<i>Inula anatolica</i> toprak altı etil asetat	% 4,5940
<i>Inula anatolica</i> toprak altı metanol	% 11,3515
<i>Inula anatolica</i> toprak üstü % 70 etanol	% 17,8552
<i>Inula anatolica</i> toprak üstü etil asetat	% 8,5642
<i>Inula anatolica</i> toprak üstü metanol	% 17,7458

3.1.2. Ultrasonik Ekstraksiyon

I. anatolica bitkisinin toprak üstü ve altı kısımlarının farklı çözücülerdeki ultrasonik ekstraksiyon verimleri yüzde (%) şeklinde Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. *I. anatolica* bitkisinin ultrasonik ekstraksiyon verimleri

Bitki Ekstreleri	% Verim (% a/a)
<i>Inula anatolica</i> toprak altı % 70 etanol	% 5,9255
<i>Inula anatolica</i> toprak altı etil asetat	% 3,4575
<i>Inula anatolica</i> toprak altı metanol	% 4,7447
<i>Inula anatolica</i> toprak üstü % 70 etanol	% 12,4087
<i>Inula anatolica</i> toprak üstü etil asetat	% 5,9676
<i>Inula anatolica</i> toprak üstü metanol	% 10,8342

3.2. *I. anatolica*'nın İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile İncelenmesi

Hazırlanan ekstre örneğinden 2,19 mg alınarak bir vial içerisine aktarılmış ve 1 mL metanolde çözündürülmüştür. Numune ile standart çözeltiler, 2.2.2 numaralı bölümde tanımlanan farklı çözücü sistemlerinde İTK analizine tabi tutulmuş, elde edilen kromatogramlar Şekil 3.1–3.6'da gösterilmiştir.



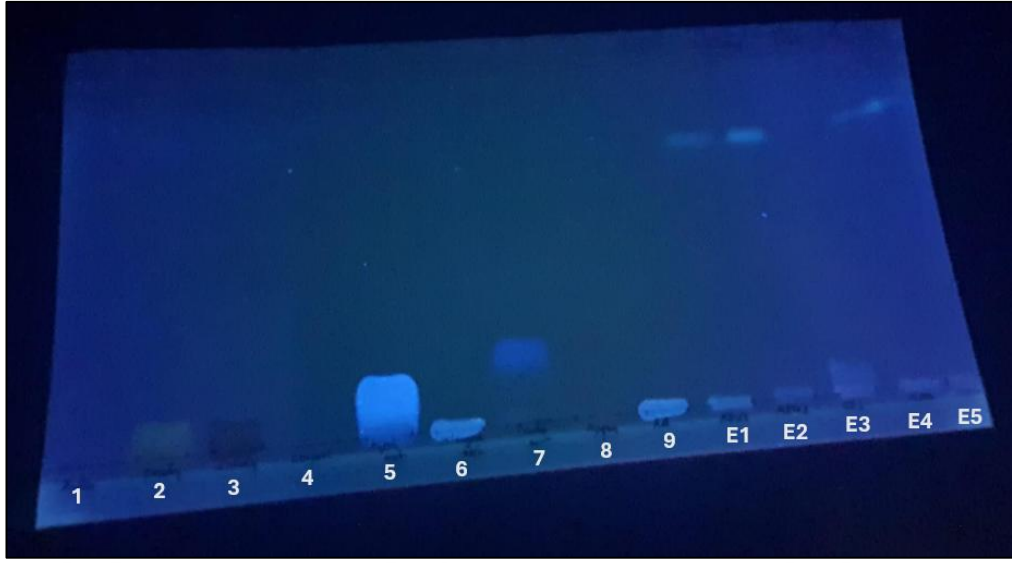
Şekil 3.1. *I. anatolica*'nın toprak üstü ve altının farklı çözücülerdeki ekstreleri ve standart bileşiklerin Toluen: Etil asetat: Formik asit: Metanol (40:32:8:1) çözücü sisteminde 366 nm'de Natural Product Reaktifi püskürtmeden önceki İTK kromatogramı - (1: Rutin, 2: Kersetin, 3: Luteolin, 4: Kemferol, 5: Kafeik asit, 6: Klorojenik asit, 7: Ferulik asit, 8: Apigenin, 9 : Rozmarinik asit E1: Toprak altı % 70 etanolü ultrasonik ekstre, E2: Toprak altı etil asetatlı ultrasonik ekstre, E3: Toprak üstü etil asetatlı soxhlet ekstresi, E4: Toprak altı metanolü soxhlet ekstresi, E5: Toprak altı metanolü ultrasonik ekstre)



Şekil 3.2. *I. anatolica*'nın toprak üstü ve altının farklı çözücülerdeki ekstraktları ve standart bileşiklerin Toluen: Etil asetat: Formik asit: Metanol (40:32:8:1) çözücü sisteminde 366 nm'de Natural Product Reaktif püskürttükten sonraki İTK kromatogramı - (1: Rutin, 2: Kersetin, 3: Luteolin, 4: Kemferol, 5: Kafeik asit, 6: Klorojenik asit, 7: Ferulik asit, 8: Apigenin, 9 : Rozmarinik asit E1: Toprak altı % 70 etanollü ultrasonik ekstre, E2: Toprak altı etil asetatlı ultrasonik ekstre, E3: Toprak üstü etil asetatlı soxhlet ekstresi, E4: Toprak altı metanollü soxhlet ekstresi, E5: Toprak altı metanollü ultrasonik ekstre)



Şekil 3.3. *I. anatolica*'nın toprak üstü ve altının farklı çözücülerdeki ekstraktları ve standart bileşiklerin Hekzan: Etil asetat (48:32) çözücü sisteminde 366 nm'de Natural Product Reaktif püskürtmeden önceki İTK kromatogramı - (1: Rutin, 2: Kersetin, 3: Luteolin, 4: Kemferol, 5: Kafeik asit, 6: Klorojenik asit, 7: Ferulik asit, 8: Apigenin, 9 : Rozmarinik asit E1: Toprak altı % 70 etanollü ultrasonik ekstre, E2: Toprak altı etil asetatlı ultrasonik ekstre, E3: Toprak üstü etil asetatlı soxhlet ekstresi, E4: Toprak altı metanollü soxhlet ekstresi, E5: Toprak altı metanollü ultrasonik ekstre)



Şekil 3.4. *I. anatolica*'nın toprak üstü ve altının farklı çözücülerdeki ekstraktları ve standart bileşiklerin Heksan: Etil asetat (48:32) çözücü sisteminde 366 nm'de Natural Product Reaktif püskürttükten sonraki İTK kromatogramı - (1: Rutin, 2: Kersetin, 3: Luteolin, 4: Kemferol, 5: Kafeik asit, 6: Klorojenik asit, 7: Ferulik asit, 8: Apigenin, 9 : Rozmarinik asit E1: Toprak altı % 70 etanolü ultrasonik ekstre, E2: Toprak altı etil asetatlı ultrasonik ekstre, E3: Toprak üstü etil asetatlı soxhlet ekstresi, E4: Toprak altı metanolü soxhlet ekstresi, E5: Toprak altı metanolü ultrasonik ekstre)



Şekil 3.5. *I. anatolica*'nın toprak üstü ve altının farklı çözücülerdeki ekstraktları ve standart bileşiklerin Etil asetat: Metanol: Formik asit: Su (64,5:3,9:3,9:7,7) çözücü sisteminde 366 nm'de Natural Product Reaktif püskürtmeden önceki İTK kromatogramı - (1: Rutin, 2: Kersetin, 3: Luteolin, 4: Kemferol, 5: Kafeik asit, 6: Klorojenik asit, 7: Ferulik asit, 8: Apigenin, 9 : Rozmarinik asit E1: Toprak altı % 70 etanolü ultrasonik ekstre, E2: Toprak altı etil asetatlı ultrasonik ekstre, E3: Toprak üstü etil asetatlı soxhlet ekstresi, E4: Toprak altı metanolü soxhlet ekstresi, E5: Toprak altı metanolü ultrasonik ekstre)



Şekil 3.6. *I. anatolica*'nın toprak üstü ve altının farklı çözücülerdeki ekstreleri ve standart bileşiklerin Etil asetat: Metanol: Formik asit: Su (64,5:3,9:3,9:7,7) çözücü sisteminde 366 nm'de Natural Product Reaktifi püskürttükten sonraki İTK kromatogramı - (1: Rutin, 2: Kersetin, 3: Luteolin, 4: Kemferol, 5: Kafeik asit, 6: Klorojenik asit, 7: Ferulik asit, 8: Apigenin, 9 : Rozmarinik asit E1: Toprak altı % 70 etanolü ultrasonik ekstre, E2: Toprak altı etil asetatlı ultrasonik ekstre, E3: Toprak üstü etil asetatlı soxhlet ekstresi, E4: Toprak altı metanollü soxhlet ekstresi, E5: Toprak altı metanollü ultrasonik ekstre)

3.3. *I. anatolica*'nın Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) Analizleri

Fenolik bileşiklerin analizi genellikle ters fazlı YPSK yöntemiyle gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemde, farklı tipteki kolonlarda polar karakterli çözücüler (örneğin asetonitril, su, metanol) içeren sistemler kullanılmaktadır. Piklerin daha belirgin ve kararlı şekilde elde edilebilmesi için, sisteme *o*-fosforik asit, TFA gibi asidik bileşikler eklenmekte veya uygun tampon çözeltiler tercih edilmektedir.

Bu çalışmada, *I. anatolica* bitkisinin toprak üstü ve altının metanollü, % 70 etanolü ekstreleri, fenolik bileşiklerin varlığını belirlemek amacıyla YPSK ile analiz edilmiştir. Analizlerde ekstrelerin ve standart referans maddelerin retansiyon süreleri ile UV spektrumları karşılaştırılarak bitkideki fenolik bileşikler tanımlanmıştır. Ekstrelerde majör bileşikler olarak saptanan klorojenik asit, ferulik asit, luteolin ve kafeik asit için analizler gerçekleştirilmiştir.

3.3.1. Standart Bileşiklerin Doğru Denklemleri

Klorojenik asit kalibrasyonuna ait veriler Çizelge 3.3'te, bu verilerden elde edilen doğrusal denklem ve istatistiksel parametreler (R^2 , LOD, LOQ) Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Klorojenik asit kalibrasyon ölçüm sonuçları

x (mg/ml)	y (pik alanı ortalaması, n=3)
0,005	97,67
0,0125	248,59
0,025	557,12
0,05	1146,62
0,25	5446,42
0,5	11064,33

Çizelge 3.4. Klorojenik asit standardına ilişkin doğrusal regresyon denklemi ve istatistiksel parametreler

Bileşik	Doğru Denklemi	R^2	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
Klorojenik asit	$y=22083x-6,4807$	0,9999	0,00011212	0,00037

Kafeik asit kalibrasyonuna ait veriler Çizelge 3.5'te, bu verilerden elde edilen doğrusal denklem ve istatistiksel parametreler (R^2 , LOD, LOQ) Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.5. Kafeik asit kalibrasyon ölçüm sonuçları

x (mg/ml)	y (pik alanı ortalaması, n=3)
0,0052	285,36
0,013	707,31
0,026	1413,94
0,052	2955,06
0,26	15330,2
0,52	29370,4

Çizelge 3.6. Kafeik asit standardına ilişkin doğrusal regresyon denklemi ve istatistiksel parametreler

Bileşik	Doğru Denklemi	R^2	LOD (mg/ml)	LOQ(mg/ml)
Kafeik asit	$y=56891x+30,81$	0,9996	0,00002091	0,000069

Luteolin kalibrasyonuna ait veriler Çizelge 3.7'de, bu verilerden elde edilen doğrusal denklem ve istatistiksel parametreler (R^2 , LOD, LOQ) Çizelge 3.8'de verilmiştir.

Çizelge 3.7. Luteolin kalibrasyon ölçüm sonuçları

x (mg/ml)	y (pik alanı ortalaması, n=3)
0,0015	31,1
0,0075	204,83
0,015	406,5
0,075	1960,57
0,15	3731,33

Çizelge 3.8. Luteolin standardına ilişkin doğrusal regresyon denklemi ve istatistiksel parametreler

Bileşik	Doğru Denklemi	R ²	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
Luteolin	y=26111x+4,4994	0,9999	0,00001048	0,0000346

Ferulik asit kalibrasyonuna ait veriler Çizelge 3.9’da, bu verilerden elde edilen doğrusal denklem ve istatistiksel parametreler (R², LOD, LOQ) Çizelge 3.10’da verilmiştir.

Çizelge 3.9. Ferulik asit kalibrasyon ölçüm sonuçları

x (mg/ml)	y (pik alanı ortalaması, n=3)
0,004	292
0,01	740
0,02	1458
0,04	2904
0,2	14561
0,4	28900

Çizelge 3.10. Ferulik asit standardına ilişkin doğrusal regresyon denklemi ve istatistiksel parametreler

Bileşik	Doğru Denklemi	R ²	LOD(mg/ml)	LOQ(mg/ml)
Ferulik asit	y=72293x+21.616	0,9999	0,00003303	0,000109

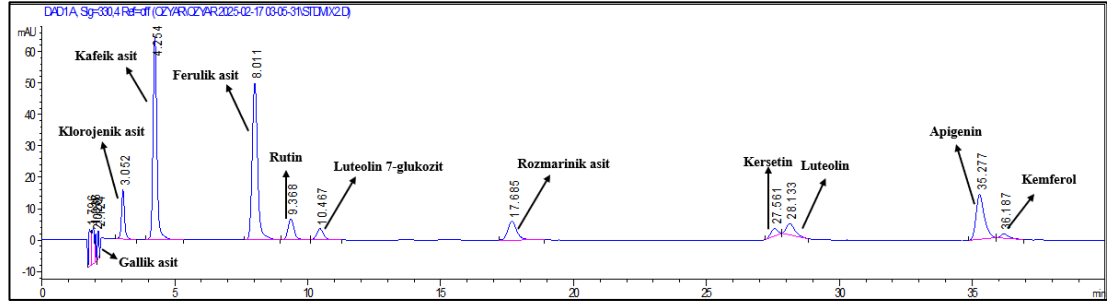
Çizelge 3.11. Standartlara ilişkin istatistiksel parametreler

	Klorojenik asit	Kafeik asit	Luteolin	Ferulik asit
Alan ortalaması, n=9	7,35	5,13	7,34	8,35
SD	0,1309	0,0997	0,0758	0,034197
% RSD	1,7809	1,9409	1,0326	0,409498

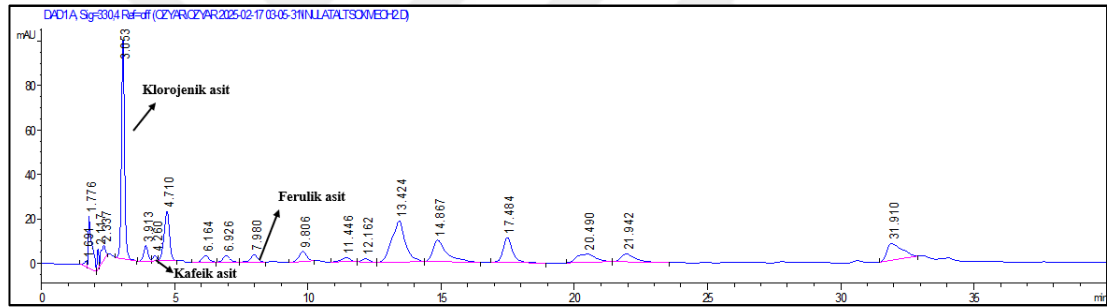
Çizelge 3.12. Ekstrelerde Flavonoidlerin ve Fenolik Bileşiklerin Miktarları (%)

Bitki Ekstreleri	Klorojenik Asit	Ferulik Asit	Kafeik Asit	Luteolin
Toprak altı metanollü soxhlet ekstresi	1,4813	0,0239	-	-
Toprak üstü metanollü ultrasonik ekstre	0,6389	-	-	0,4603
Toprak altı % 70 etanollü ultrasonik ekstre	2,3695	0,1515	0,0002	-
Toprak altı metanollü ultrasonik ekstre	0,8690	0,0124	-	-
Toprak üstü etanollü soxhlet ekstresi	1,2526	0,0068	0,0386	-

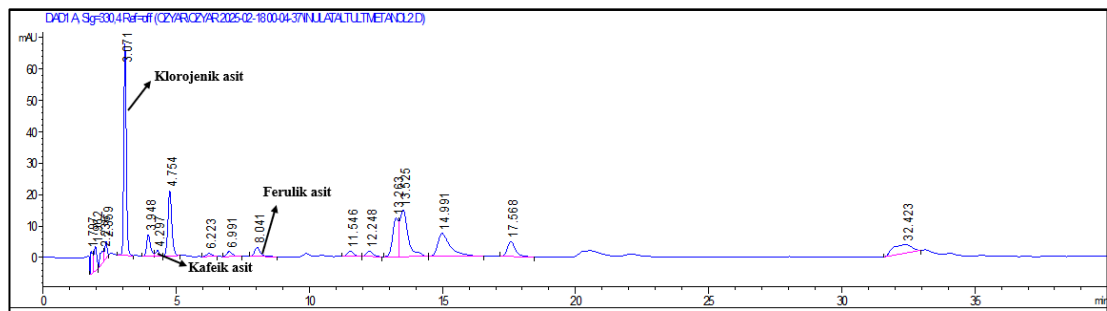
3.3.2. *I. anatolica* Boiss.'in YPSK Analizinden Elde Edilen Kromatogramlar



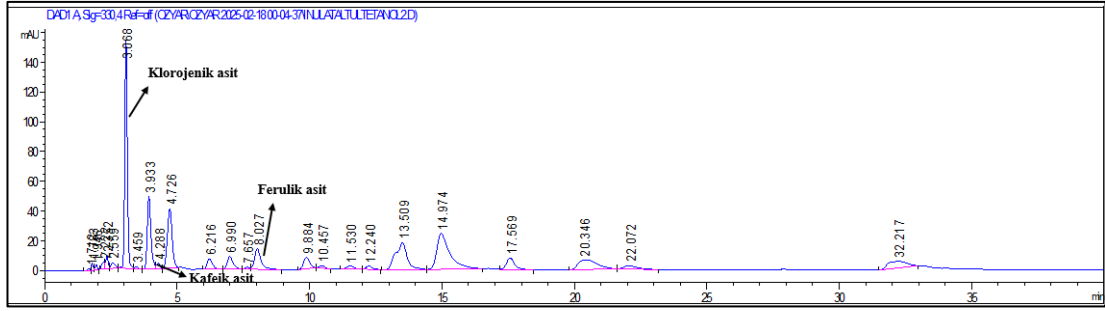
Şekil 3.7. Bazı standart bileşiklerin 330 nm’de YPSK kromatogramı (Sol taraftan sağ tarafa sırasıyla gallik asit, klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit, rutin, luteolin 7-glukozit, rozmarinik asit, kersetin, luteolin, apigenin, kemferol)



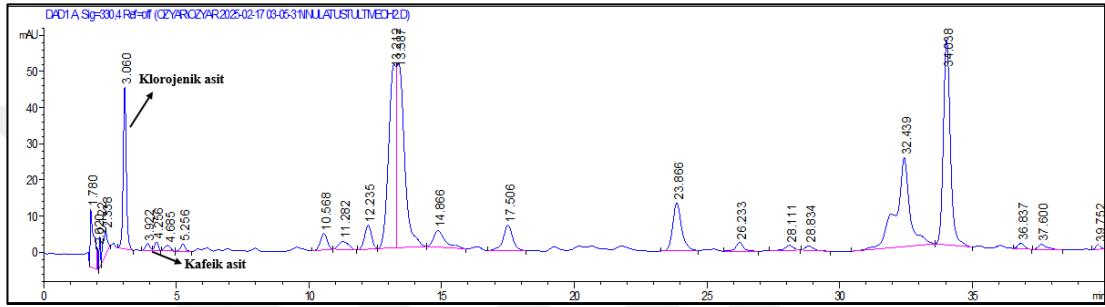
Şekil 3.8. *I. anatolica* toprak altı metanollü soxhlet ekstresinin 330 nanometrede YPSK kromatogramı



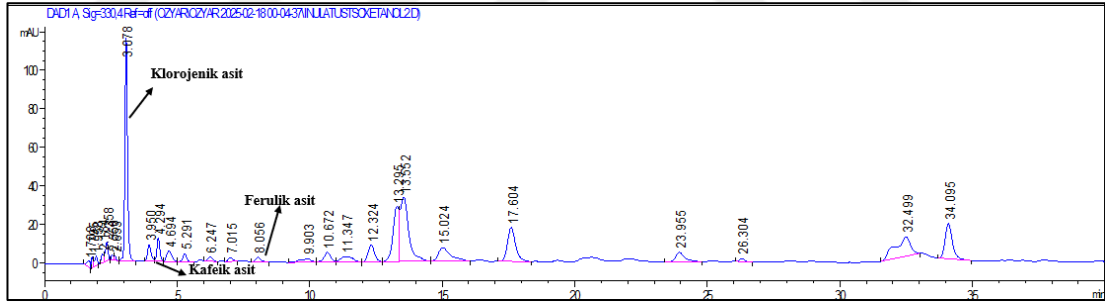
Şekil 3.9. *I. anatolica* toprak altı metanollü ultrasonik ekstresinin 330 nanometrede YPSK kromatogramı



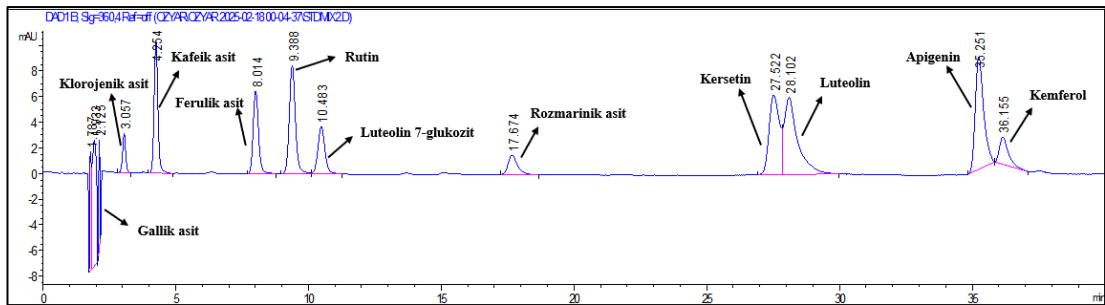
Şekil 3.10. *I. anatolica* toprak altı % 70 etanollü ultrasonik ekstresinin 330 nanometrede YPSK kromatogramı



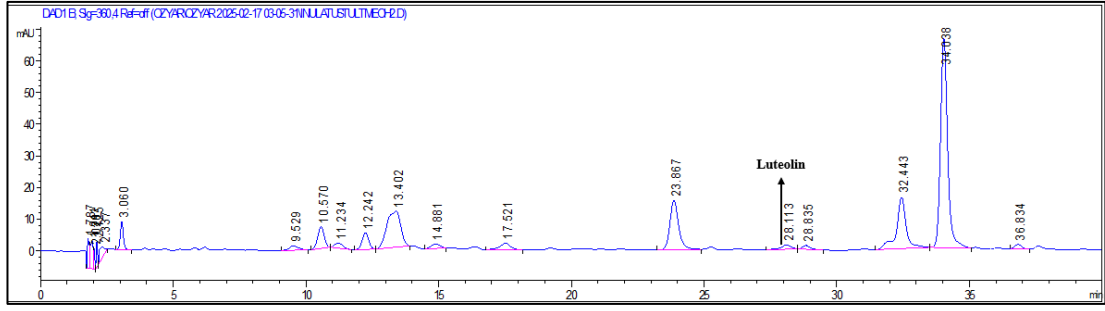
Şekil 3.11. *I. anatolica* toprak üstü metanollü ultrasonik ekstresinin 330 nanometrede YPSK kromatogramı



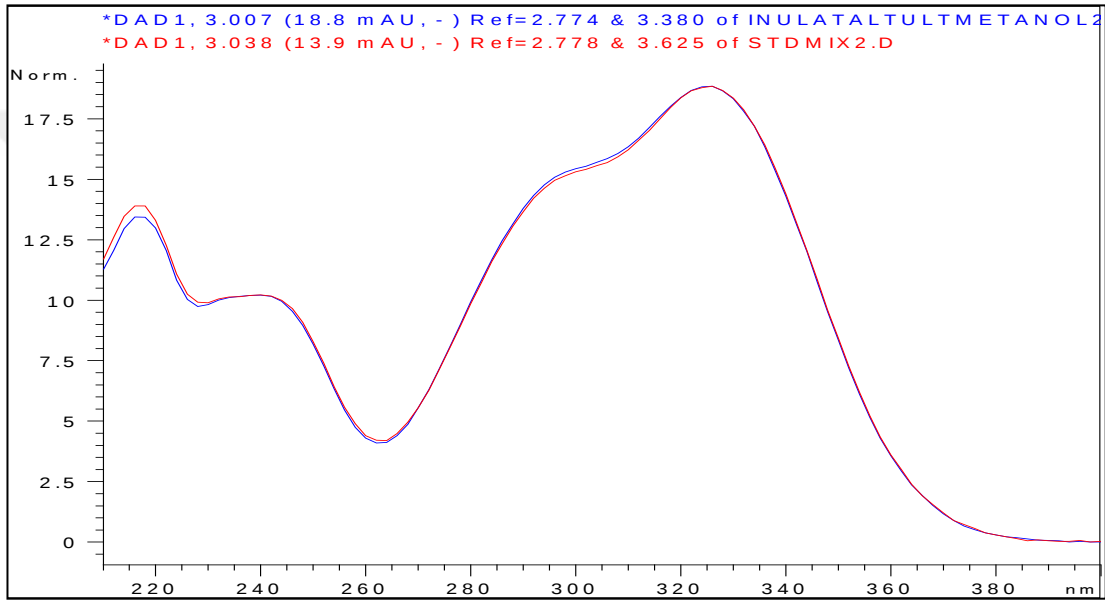
Şekil 3.12. *I. anatolica* toprak üstü % 70 etanollü soxhlet ekstresinin 330 nanometrede YPSK kromatogramı



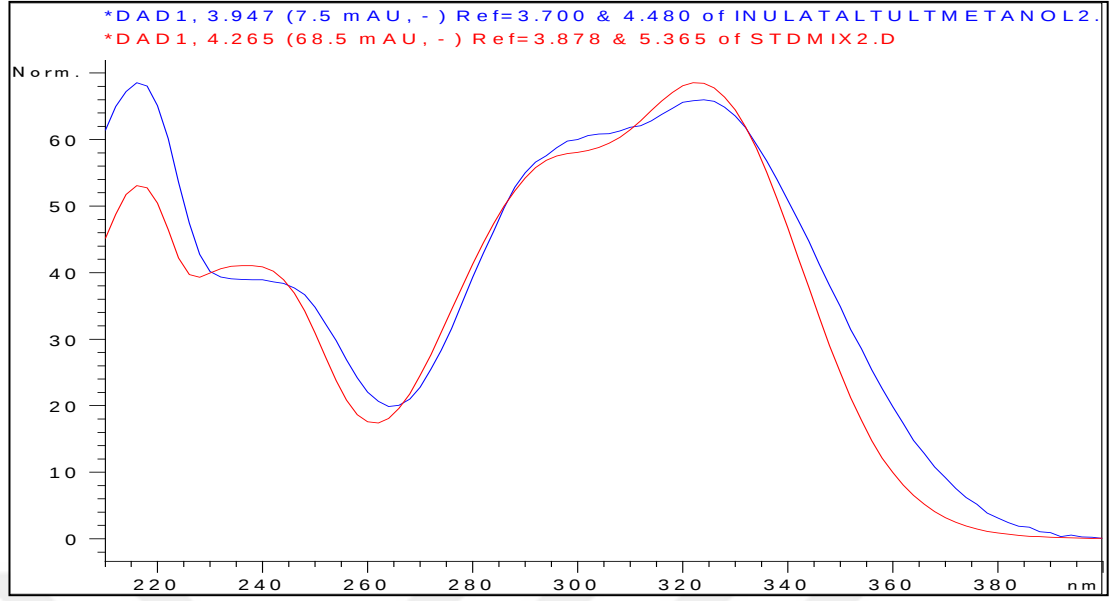
Şekil 3.13. Bazı standart bileşiklerin 360 nm’de YPSK kromatogramı (Sol taraftan sağ tarafa sırasıyla gallik asit, klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit, rutin, luteolin 7-glukozit, rozmarinik asit, kersetin, luteolin, apigenin, kemferol)



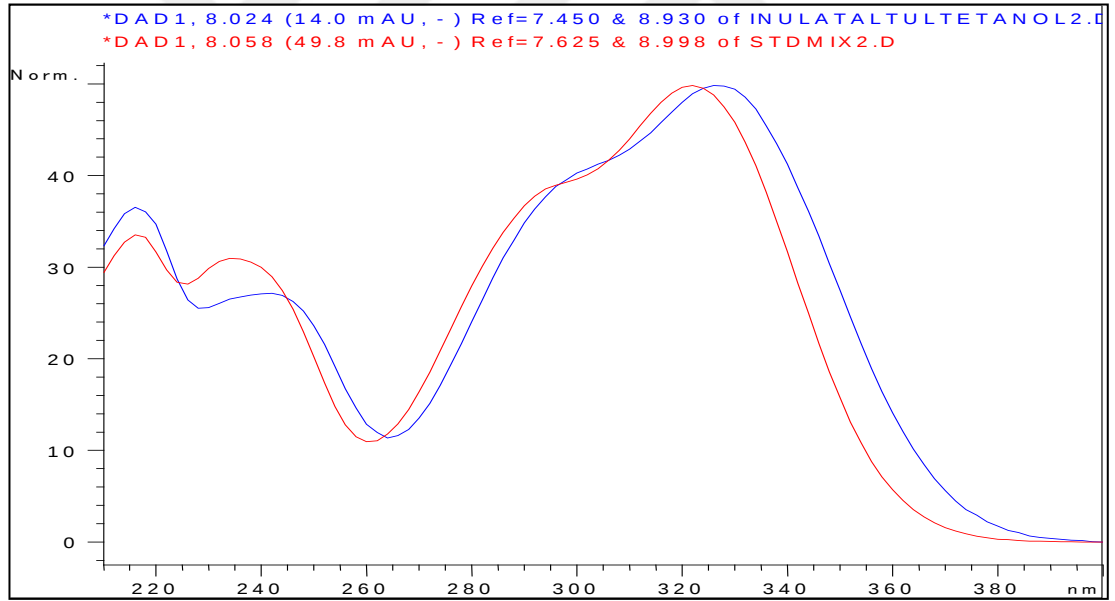
Şekil 3.14. *I. anatolica* toprak üstü metanollü ultrasonik ekstresinin 360 nanometrede YPSK kromatogramı



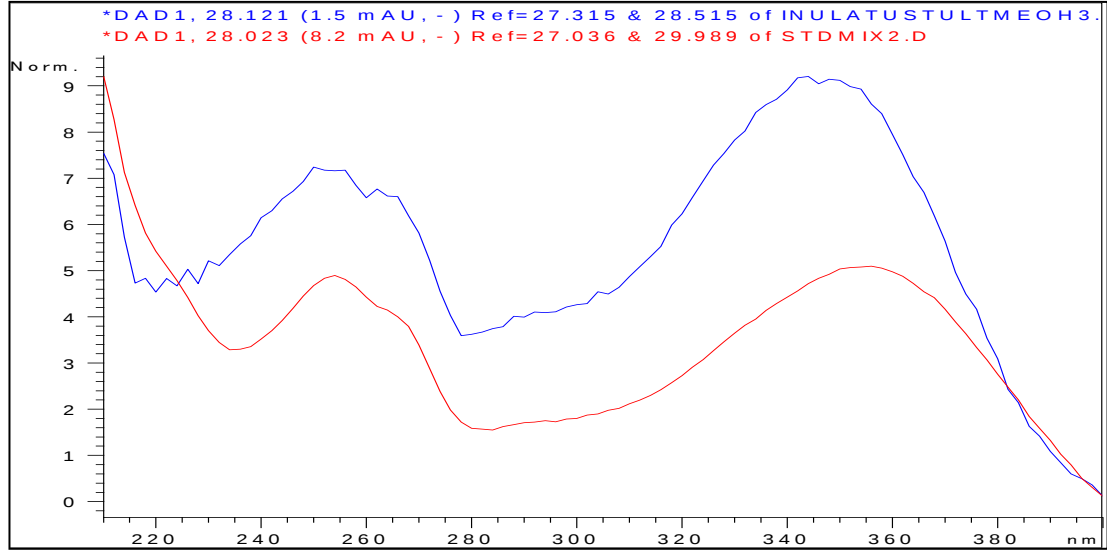
Şekil 3.15. Standart klorojenik asit ve *I. anatolica* toprak altı metanollü ultrasonik ekstresindeki klorojenik asitin karşılaştırılmış UV spektrumları



Şekil 3.16. Standart kafeik asit ve *I. anatolica* toprak altı metanollü ultrasonik ekstresindeki kafeik asitin çakıştırılmış UV spektrumları



Şekil 3.17. Standart ferulik asit ve *I. anatolica* toprak altı metanollü ultrasonik ekstresindeki ferulik asitin çakıştırılmış UV spektrumları



Şekil 3.18. Standart luteolin ve *I. anatolica* toprak üstü metanollü ultrasonik ekstresindeki luteolinin çakıştırılmış UV spektrumları

3.4. Enzim İnhibitör Etki Deneyleri

3.4.1. Kimotripsin Enzim İnhibitör Etki Deneyi

Inula anatolica'nın toprak üstü ve altının iki farklı yöntem (soxhlet ve ultrasonik) ile hazırlanan etil asetatlı, metanollü ve % 70 etanollü ekstraktları 2 farklı konsantrasyonda (200 µg/mL ve 400 µg/mL) test edilmiş ve aktivite, inhibitör madde FMSF ile karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.12 ve Çizelge 3.13). Referans madde olarak FMSF kullanılmıştır.

Çizelge 3.13. *I. anatolica* için Kimotripsin Enzim İnhibitör Aktivite Testi (200 µg/mL)

<i>Inula anatolica</i> Toprak Altı Kısım		
Bitki Ekstreleri	Ekstraksiyon Yöntemi	% İnhibisyon ± Standart Sapma
% 70 etanollü	Ultrasonik	32,76 ± 0,44
% 70 etanollü	Soxhlet	21,14 ± 0,84
Etil asetatlı	Ultrasonik	19,58 ± 0,99
Etil asetatlı	Soxhlet	10,35 ± 1,50
Metanollü	Ultrasonik	34,71 ± 0,39
Metanollü	Soxhlet	16,99 ± 1,10
<i>Inula anatolica</i> Toprak Üstü Kısım		
% 70 etanollü	Ultrasonik	29,91 ± 1,05
% 70 etanollü	Soxhlet	22,29 ± 1,54
Etil asetatlı	Ultrasonik	27,60 ± 1,05
Etil asetatlı	Soxhlet	31,38 ± 0,93
Metanollü	Ultrasonik	30,81 ± 0,75
Metanollü	Soxhlet	27,27 ± 1,56
FMSF	-	99,31 ± 0,02
		(IC ₅₀ : 16.33 ± 0.31 µM)

Çizelge 3.14. *I. anatolica* için Kimotripsin Enzim İnhibitör Aktivite Testi (400 µg/mL)

<i>Inula anatolica</i> Toprak Altı Kısım		
Bitki Ekstreleri	Ekstraksiyon Yöntemi	% İnhibisyon ± Standart Sapma
% 70 etanollü	Ultrasonik	48,16 ± 1,87
% 70 etanollü	Soxhlet	34,96 ± 0,29
Etil asetatlı	Ultrasonik	36,74 ± 0,36
Etil asetatlı	Soxhlet	34,91 ± 1,84
Metanollü	Ultrasonik	46,38 ± 1,84
Metanollü	Soxhlet	30,81 ± 1,65
<i>Inula anatolica</i> Toprak Üstü Kısım		
% 70 etanollü	Ultrasonik	36,15 ± 1,33
% 70 etanollü	Soxhlet	44,01 ± 1,64
Etil asetatlı	Ultrasonik	49,03 ± 1,65
Etil asetatlı	Soxhlet	46,99 ± 1,28
Metanollü	Ultrasonik	41,35 ± 1
Metanollü	Soxhlet	48,03 ± 0,20
FMSF	-	99,31 ± 0,02 (IC ₅₀ : 16.33 ± 0.31 µM)

3.4.2. Tripsin Enzim İnhibitör Etki Deneyi

Inula anatolica'nın toprak üstü ve altının iki farklı yöntem (soxhlet ve ultrasonik) ile hazırlanan etil asetatlı, metanollü ve % 70 etanollü ekstraktları 2 farklı konsantrasyonda (200 µg/mL ve 400 µg/mL) test edilmiş ve aktivite, inhibitör madde FMSF ile karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.14 ve Çizelge 3.15). Referans madde olarak FMSF kullanılmıştır.

Çizelge 3.15. *I. anatolica* için Tripsin Enzim İnhibitör Aktivite Testi (200 µg/mL)

<i>Inula anatolica</i> Toprak Altı Kısım		
Bitki Ekstreleri	Ekstraksiyon Yöntemi	% İnhibisyon ± Standart Sapma
% 70 etanollü	Ultrasonik	11,27 ± 1,11
% 70 etanollü	Soxhlet	32,54 ± 0,08
Etil asetatlı	Ultrasonik	54,62 ± 0,34
Etil asetatlı	Soxhlet	33,38 ± 0,41
Metanollü	Ultrasonik	40,31 ± 0,28
Metanollü	Soxhlet	42,26 ± 0,29
<i>Inula anatolica</i> Toprak Üstü Kısım		
% 70 etanollü	Ultrasonik	14,38 ± 1,09
% 70 etanollü	Soxhlet	36,96 ± 0,29
Etil asetatlı	Ultrasonik	24,26 ± 0,21
Etil asetatlı	Soxhlet	18,54 ± 1,72
Metanollü	Ultrasonik	10,78 ± 1,56
Metanollü	Soxhlet	5,29 ± 0,18
FMSF	-	98,67 ± 0,64 (IC ₅₀ : 67.56 ± 2.82 µM)

Çizelge 3.16. *I. anatolica* için Tripsin Enzim İnhibitör Aktivite Testi (400 µg/mL)

<i>Inula anatolica</i> Toprak Altı Kısım		
Bitki Ekstreleri	Ekstraksiyon Yöntemi	% İnhibisyon ± Standart Sapma
% 70 etanollü	Ultrasonik	31,32 ± 1,41
% 70 etanollü	Soxhlet	42,17 ± 1,42
Etil asetatlı	Ultrasonik	65,93 ± 0,27
Etil asetatlı	Soxhlet	45,12 ± 1,64
Metanollü	Ultrasonik	50,61 ± 0,21
Metanollü	Soxhlet	51,64 ± 0,53
<i>Inula anatolica</i> Toprak Üstü Kısım		
% 70 etanollü	Ultrasonik	23,01 ± 0,58
% 70 etanollü	Soxhlet	45,23 ± 0,89
Etil asetatlı	Ultrasonik	32,22 ± 0,16
Etil asetatlı	Soxhlet	26,36 ± 1,13
Metanollü	Ultrasonik	18,21 ± 0,29
Metanollü	Soxhlet	20,84 ± 1,14
FMSF	-	98,67 ± 0,64
		(IC ₅₀ : 67.56 ± 2.82 µM)

4. TARTIŞMA

Inula cinsine ait türler Akdeniz havzası ve Avrupa, Asya, Afrika kıtalarına yayılmıştır. *Inula* türleri, halk hekimliğinde soğuk algınlığı, diyabet, mikrobiyal enfeksiyonlar, hipertansiyon gibi çeşitli hastalıkların tedavilerinde kullanılmaktadır. Günümüze kadar yapılan çalışmalar da geleneksel kullanımı destekler niteliktedir ve *Inula* türleri üzerine yapılan çalışmalar gün geçtikçe daha da artmaktadır. *Inula* türleri üzerine yapılan fitokimyasal araştırmalarda da ana bileşik grubunun siklik seskiterpenler, flavonoidler ve uçucu yağlar olduğu gösterilmiştir. *Asteraceae* familyasına dâhil olan *Inula* cinsi, Türkiye florasında 34 taksonla yer alır ve 8'i endemiktir.

Bu çalışmada, Anadolu'nun endemik bitki türlerinden *Inula anatolica*'ya ait örnekler üzerinde, kimyasal bileşenlerin belirlenmesine yönelik İTK ve YPSK analizleri ile tripsin ve kimotripsin enzim inhibitör aktiviteleri incelenmiştir. *I. anatolica* bitkisinin toprak üstü ve altından hazırlanan etil asetatlı, metanollü, % 70 etanollü ekstrelerin ters faz YPSK yöntemi, İTK ile yapısındaki fenolik bileşiklerin analizlerinin ve görüntüleme çalışmalarının gerçekleştirilmesi, kimotripsin ve tripsin enzim inhibitör aktivite testleri yapılması amaçlanmıştır. Bitki örneğimizin klorojenik asit başta olmak üzere önemli flavonoidler ve fenolik asitler için kalitatif ve kantitatif olarak incelenecek olması çalışmamızın özgünlüğünü belirlemektedir. *I. anatolica*'nın kimotripsin ve tripsin enzim inhibitör aktivite testleri için bugüne kadar yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada Isparta ilinden toplanan bitki örneğimizin toprak üstü ve toprak altı kısımlarının etil asetatlı, metanollü ve % 70 etanollü ekstreleri iki farklı yöntem (soxhlet ve ultrasonik) ile hazırlanarak bu ekstrelerin yüzde verimleri hesaplanmıştır. Hesaplanan bu verimlere göre en yüksek verimin % 17,8552 ile *I. anatolica* toprak üstü % 70 etanollü soxhlet ekstraksiyonunda; en düşük verimin ise % 3,4575 ile *I. anatolica* toprak altı etil asetatlı ultrasonik ekstraksiyonunda olduğu gösterilmiştir. Yapmış olduğumuz literatür araştırmalarında *I. viscosa*'da ultrasonik ve soxhlet ekstraksiyonlarının verimlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada soxhlet ekstraksiyonunda % 26.05, ultrasonik ekstraksiyonunda ise % 24.72 verim elde edildiği gösterilmiştir (Çavdar ve Avşar, 2024). Yapmış olduğumuz literatür araştırmalarında *I. anatolica* bitkisine ait farklı çözücü ve ekstraksiyon yöntemleri ile verimlerin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada *I. anatolica* bitkisinden hazırlanan ekstrelerin İTK'da farklı çözücü sistemleri kullanarak içeriklerindeki bazı fenolik bileşiklerin tespiti yapılmıştır. Kullanılan çözücü sistemleri içerisinde Etil asetat: Metanol: Formik asit: Su (64,5:3,9:3,9:7,7) çözücü sisteminde bileşikler daha iyi gözlenmiştir. Elde edilen kromatogramlarda klorojenik asit, kafeik asit, luteolin ve ferulik asitin varlığı da gözlenmiştir. Hazırlanan bu ekstreler arasında metanollü ve % 70 etanollü ekstrelerinde gallik asit, klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit, rutin, rosmarinik asit, kemferol, kersetin, luteolin, luteolin 7-glukozit, apigenin bileşiklerinin analizleri geliştirdiğimiz ters faz YPSK yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem ile klorojenik asit, kafeik asit, luteolin ve ferulik asitin ekstrelerde bulunduğu ve klorojenik asitin majör bileşik olduğu gözlenmiştir. Çalışmamız *I. anatolica*'da bulunan majör bileşikleri ve diğer fenolik bileşiklerin de varlığını doğrulamaktadır (Ceylan vd., 2021). Çalışmamızda bugüne kadar yayınlanmış çalışmalardakine benzer olarak majör fenolik bileşik klorojenik asit olarak bulunmuştur (Jung vd., 2025; Silinsin ve Bursal, 2018).

Memelilerde pankreasta üretilen tripsin ve kimotripsin enzimleri, proteinlerin polipeptitlere ve ardından amino asitlere parçalayan enzimlerdir (Gunbatan vd., 2024). Tripsin ve Kimotripsin gibi serin proteaz enzimlerinin aşırı salgılanması tümör oluşumuna, inflamasyona, kistik fibroze, pankreatite ve insülin direncine sebep olabilir (Famutimi vd., 2024). Bu enzimlerin inhibe edilmesi bazı hastalıkların tedavisi için önemlidir. Bu çalışmada *I. anatolica*'nın tripsin ve kimotripsin enzimlerini inhibe edici etkisi araştırılmış ve bu amaçla *I. anatolica* bitkisinin ekstrelerinden 200 µg/mL ve 400 µg/mL konsantrasyonlar hazırlanmış ve % inhibisyon değerleri bulunmuştur. Kimotripsin enzim inhibisyon aktivite testinde en yüksek % inhibisyon değeri % 49,03 ± 1,65 ile *I. anatolica* toprak üstü etil asetatlı ultrasonik ekstrenin 400 µg/mL konsantrasyonunda; en düşük % inhibisyon değeri % 10,35 ± 1,50 ile *I. anatolica* toprak altı etil asetatlı soxhlet ekstresinin 200 µg/mL konsantrasyonunda bulunmuştur. Tripsin enzim inhibisyon aktivite testinde en yüksek % inhibisyon değeri % 65,93 ± 0,27 ile *I. anatolica* toprak altı etil asetatlı ultrasonik ekstresinin 400 µg/mL konsantrasyonunda; en düşük % inhibisyon değeri % 5,29 ± 0,18 ile *I. anatolica* toprak üstü metanollü soxhlet ekstresinin 200 µg/mL konsantrasyonunda bulunmuştur. Kafeik asit ve ferulik asitin tripsin inhibisyon etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, % inhibisyon değerleri sırasıyla % 84 ± 2,3 ve % 60 ± 1,3 olarak bulunmuştur. Referans madde FMSF'nin ise % 87 ± 1,2 olarak bulunmuştur (Shahwar vd., 2012). Kersetin, luteolin, kemferol ve apigenin ile yapılan bir çalışmada ise, tripsin inhibitör değerleri sırasıyla % 46,4, % 32,6, % 26,8 ve % 17,7 olarak bulunmuştur (Li vd., 2014). *I. anatolica*'ya ait bugüne kadar tripsin ve kimotripsin enzim inhibitör aktivite deneylerine rastlanmamıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Literatür araştırmamıza göre fitokimyasal ve aktivite çalışmalarının *Inula anatolica* dışında diğer *Inula* türleri üzerinde çoğunlukla yapıldığı saptanmıştır. Özellikle ülkemiz için endemik olan bu bitki üzerinde hem yurt içinde hem de yurt dışında az sayıda çalışmanın yapılmış olması bizi bu bitki ile çalışmaya yönlendirmiştir.

Bu çalışmada *I. anatolica* ve diğer *Inula* türlerine ait fitokimyasal ve aktivite çalışmaları, derleme makaleleri kapsamlı olarak araştırılmış ve elde edilen veriler özetlenmiştir.

Çalışmamızda ilk olarak Isparta ilinden toplanan *I. anatolica* bitkisinin toprak üstü ve altının etil asetatlı, metanollü, % 70 etanollü ekstraktları Soxhlet ve ultrasonik yöntem ile hazırlanmış ve verimleri en yüksek % 17,8552 ve en düşük % 3,4575 olarak hesaplanmıştır.

Fitokimyasal çalışmalar kapsamında; *I. anatolica* toprak üstü ve altının etil asetatlı, metanollü, % 70 etanollü ekstraktlarının YPSK ile kalitatif ve kantitatif analizleri yapılmıştır. Fenolik maddelerin varlığı değerlendirilerek; ekstraktlarda YPSK analizi sonucu klorojenik asit % 2,3695 ile toprak altı % 70 etanollü ultrasonik ekstrakte en yüksek değerde bulunmuş olup, kafeik asit ve ferulik asit ise sırasıyla % 0,0002 ve % 0,1515 değerlerinde bulunmuştur. Luteolin varlığı ise sadece toprak üstü metanollü ultrasonik ekstrakte % 0,4603 olarak bulunmuş, diğer ekstraktlarda gözlenmemiştir. İTK ile bu maddelerin görüntüleme (screening) çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarımız sonucunda literatür ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir.

I. anatolica'nın kimotripsin ve tripsin enzim inhibitör aktivite testleri değerlendirilmiştir. Bitkinin toprak üstü ve altının etil asetatlı, metanollü ve % 70 etanollü ekstraktları ile *in vitro* aktivite testleri gerçekleştirilmiştir. % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlarımıza göre kimotripsin için % inhibisyon değerleri $10,35 \pm 1,50$ ve $49,03 \pm 1,65$ arasında; tripsin için % inhibisyon değerleri $65,93 \pm 0,27$ ve $5,29 \pm 0,18$ arasında bulunmuştur. Bugüne kadar *I. anatolica* ile çalışılmış tripsin ve kimotripsin enzim inhibisyonu ile ilgili bir veri olmaması, çalışmamızın özgünlüğünü ortaya koymakta; elde edilen % inhibisyon değerleri ise *I. anatolica*'nın bu enzimler için potansiyel inhibitör etkisini

göstererek, kimotripsin ve tripsin gibi serin proteaz enzimleriyle ilişkili metabolik hastalıkların tedavisinde doğal inhibitör kaynağı olabileceğini düşündürmektedir.

Anadolu'nun endemik bitkisi *I. anatolica* türüne yönelik literatür taramasında, bu bitki üzerine yapılan çalışmaların oldukça sınırlı olduğu; ancak içerdiği sekonder metabolitlerin antioksidan, antienflamatuvar, antimikrobiyal, sitotoksik ve antidiyabetik etkileriyle araştırmacıların ilgisini çektiği görülmektedir. Halk arasında da çeşitli amaçlarla kullanımı bilinen bu bitki üzerine yapılacak kapsamlı çalışmaların artırılması, henüz ortaya çıkarılmamış yeni farmakolojik etkilerinin aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır. Bu tez kapsamında elde edilen verilerin ise gelecekte yürütülecek araştırmalara bilimsel bir temel oluşturacağı düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Ahmed, B. H., Desta, M. A., Wami, A. A., Beyene, G. T., & Bedane, K. G. (2024). Sesquiterpene acids and lactones from *Inula confertiflora* with their antibacterial activities. *Chemistry & Biodiversity*, 21(5), e202400265. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202400265>
- Al-Dissi, N. M., Salhab, A. S., & Al-Hajj, H. A. (2001). Effects of *Inula viscosa* leaf extracts on abortion and implantation in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 77(1), 117-121. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(01\)00261-6](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(01)00261-6)
- Anara, B., Mammadov, R., Atay, M. Ö., & Çöl, B. (2025). Cytotoxic, antioxidant, and antimicrobial activities of *Inula graveolens* and *Inula viscosa*: Solvent-dependent bioactivity and therapeutic potential. *Biology Bulletin*, 52(5). <https://doi.org/10.1134/s1062359025601983>
- Asraoui, F., Kounoun, A., Cacciola, F., El Mansouri, F., Kabach, I., Oulad El Majdoub, Y., Alibrando, F., Arena, K., Trovato, E., & Mondello, L. (2021). Phytochemical profile, antioxidant capacity, α -amylase and α -glucosidase inhibitory potential of wild Moroccan inula viscosa (L.) aiton leaves. *Molecules*, 26(11), 3134. <https://doi.org/10.3390/molecules26113134>
- Baytop, T. (2021). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. Ankara Nobel Tıp Kitabevleri.
- Bursal, E., Yılmaz, M. A., İzol, E., Türkan, F., Atalar, M. N., Murahari, M., Aras, A., & Ahmad, M. (2021). Enzyme inhibitory function and phytochemical profile of *Inula discoidea* using in vitro and in silico methods. *Biophysical Chemistry*, 277, 106629. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2021.106629>
- Ceylan, R., Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Sinan, K. I., Ak, G., Jugreet, S., Cakır, O., Ouelbani, R., Paksoy, M. Y., & Yılmaz, M. A. (2021). Enzyme inhibition and antioxidant functionality of eleven *Inula* species based on chemical components and chemometric insights. *Biochemical Systematics and Ecology*, 95(1), 104225. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2021.104225>
- Cheng, X., Zeng, Q., Ren, J., Qin, J., Zhang, S., Shen, Y., Zhu, J., Zhang, F., Chang, R., & Zhu, Y. (2011). Sesquiterpene lactones from *Inula falconeri*, a plant endemic to the Himalayas, as potential anti-inflammatory agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(11), 5408-5415. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.08.047>
- Cheng, X.-R., Li, W.-W., Ren, J., Zeng, Q., Zhang, S.-D., Shen, Y.-H., Yan, S.-K., Ye, J., Jin, H.-Z., & Zhang, W.-D. (2012a). Sesquiterpene lactones from *Inula hookeri*. *Planta Medica*, 78(5), 465-471. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1298147>
- Cheng, X.-R., Ye, J., Ren, J., Zeng, Q., Zhang, F., Qin, J.-J., Shen, Y.-H., Zhang, W.-D., & Jin, H.-Z. (2012b). Terpenoids from *Inula sericophylla* Franch. and their chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 42, 75-78. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.02.016>
- Çavdar, H. K., & Avşar, S. (2024). Ultrasonic extraction of *Inula viscosa*: Enhancing antioxidant bioactivity and its application in sunflower oil as an antioxidant. *Ultrasonics Sonochemistry*, 109, 106992. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.106992>

- Davis, P. H. (1982). *Flora of Turkey and the East Aegean islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- De La Lustra, C. A., Lopez, A., & Motilva, V. (1993). Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. *Planta Medica*, 59(06), 497-501. <https://doi.org/10.1055/s-2006-959747>
- Easmin, F., Al Faria, L., Rani, R., & Rahman, A. M. (2021). Asteraceae: A taxonomically and medicinally important sunflower family. *American International Journal of Biology and Life Sciences*, 3(1), 1-17. <https://doi.org/10.46545/aijbls.v3i1.307>
- Famutimi, O. G., Adebiyi, V. G., Akinmolu, B. G., Dada, O. V., & Adewale, I. O. (2024). Trypsin, chymotrypsin and elastase in health and disease. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 126. <https://doi.org/10.1186/s43094-024-00709-y>
- Fontana, G., Bruno, M., Senatore, F., & Formisano, C. (2014). Volatile constituents of aerial parts of two Mediterranean species of *Inula*: *Inula crithmoides* L. and *I. verbascifolia* (Willd.) Hausskn.(Asteraceae). *Natural Product Research*, 28(13), 984-993. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.902821>
- 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(7), 1121-1128. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(01\)00334-x](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(01)00334-x)
- 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. <https://doi.org/10.1365/s10337-007-0285-8>
- Gökbulut, A., Kaiser, M., Brun, R., Sarer, E., & Schmidt, T. J. (2012). 9 β -hydroxyparthenolide esters from *Inula montbretiana* and their antiprotozoal activity. *Planta Medica*, 78(3), 225-229. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1280371>
- Gökbulut, A., Özhana, O., Satılmış, B., Batçioğlu, K., Günal, S., & Şarer, E. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities, and phenolic compounds of selected *Inula* species from Turkey. *Natural Product Communications*, 8(4), 1934578X1300800417. <https://doi.org/10.1177/1934578X1300800417>
- Gunbatan, T., Sucu, M., Gokbulut, A., Dilmac, E., & Gurbuz, I. (2024). Chymotrypsin and trypsin inhibitory activity of some medicinal plants collected from Rize (Türkiye). *Chemistry & Biodiversity*, 21(3), e202301879. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202301879>
- Hammal, A., Al-Duihi, H. A.-H., & Alchab, L. (2024). Preparation of nano hydroxyapatite loaded with syrian inula extract against dental caries. *Materials Chemistry and Physics*, 327, 129872. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2024.129872>
- Haoui, I. E., Derriche, R., Madani, L., & Oukali, Z. (2015). Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(4), 587-590. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.05.005>

- Hepokur, C., Budak, Y., Karayel, H. B., Selvi, B., & Yaylım, İ. (2019). Investigation of cytotoxic effects of *Inula viscosa* extract. *Cumhuriyet Science Journal*, 40(3), 578-582. <https://doi.org/10.17776/csj.437993>
- Hernández, V., Recio, M. C., Máñez, S., Giner, R. M., & Ríos, J.-L. (2007). Effects of naturally occurring dihydroflavonols from *Inula viscosa* on inflammation and enzymes involved in the arachidonic acid metabolism. *Life Sciences*, 81(6), 480-488. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.06.006>
- 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. *Helvetica Chimica Acta*, 94(2), 306-312. <https://doi.org/10.1002/hlca.201000195>
- Jaiswal, R., Kiprotich, J., & Kuhnert, N. (2011). Determination of the hydroxycinnamate profile of 12 members of the Asteraceae family. *Phytochemistry*, 72(8), 781-790. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.02.027>
- Jeske, F., Huneck, S., & Jakupovic, J. (1996). Further sesquiterpene lactones from *Inula salsoloides*. *Phytochemistry*, 41(6), 1539-1542. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00807-1](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00807-1)
- 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(47), 9193-9198. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2011.09.070>
- Jung, M.-A., Lee, J. Y., Kim, Y. J., Ji, K.-Y., Le, M. H., Jung, D. H., Kim, Y. H., Kim, W. J., Moon, B. C., & Kim, B.-Y. (2025). *Inula japonica* Thunb. and its active compounds ameliorate airway inflammation by suppressing JAK-STAT signaling. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 183, 117852. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2025.117852>
- Kalachaveedu, M., Raghavan, D., Telapolu, S., Kuruvilla, S., & Kedike, B. (2018). Phytoestrogenic effect of *Inula racemosa* Hook f—A cardioprotective root drug in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 210, 408-416. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.09.001>
- Kalola, J., Shah, R., Patel, A., Lahiri, S. K., & Shah, M. B. (2017). Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of *Inula cappa* roots (Compositae). *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 14(3), 20160083. <https://doi.org/10.1515/jcim-2016-0083>
- Kim, S. R., Park, M. J., Lee, M. K., Sung, S. H., Park, E. J., Kim, J., Kim, S. Y., Oh, T. H., Markelonis, G. J., & Kim, Y. C. (2002). Flavonoids of *Inula britannica* protect cultured cortical cells from necrotic cell death induced by glutamate. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(7), 596-604. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(02\)00751-7](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(02)00751-7)
- Konishi, T., Shimada, Y., Nagao, T., Okabe, H., & Konoshima, T. (2002). Antiproliferative sesquiterpene lactones from the roots of *Inula helenium*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(10), 1370-1372. <https://doi.org/10.1248/bpb.25.1370>
- Li, Q., Wei, Q., Yuan, E., Yang, J., & Ning, Z. (2014). Interaction between four flavonoids and trypsin: effect on the characteristics of trypsin and antioxidant activity of flavonoids. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(4), 1063-1069. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12401>

- Li, W., Yang, Y., Wu, J., Jiang, S., Yang, Y., Guo, T., Wang, W., & Jian, Y. (2023). A new labdane diterpenoid glycoside and other constituents from *Inula nervosa* (Asteraceae) and their chemotaxonomic importance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 109, 104662. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2023.104662>
- Liu, C., Mishra, A., & Tan, R. (2006). Repellent, insecticidal and phytotoxic activities of isoalantolactone from *Inula racemosa*. *Crop Protection*, 25(5), 508-511. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.05.008>
- Liu, F., Dong, B., Yang, X., Yang, Y., Zhang, J., Jin, D.-Q., Ohizumi, Y., Lee, D., Xu, J., & Guo, Y. (2018). NO inhibitors function as potential anti-neuroinflammatory agents for AD from the flowers of *Inula japonica*. *Bioorganic Chemistry*, 77, 168-175. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.01.009>
- Ma, R., Komilov, B., Wang, C.-B., Eshbakova, K. A., Yang, J.-L., Ha, W., & Shi, Y.-P. (2024). Sesquiterpenes from *Inula macrophylla* and their anti-neuroinflammatory activity. *Phytochemistry Letters*, 60(4), 257-263. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2024.02.003>
- Manez, S., del Carmen Recio, M., Gil, I., Gómez, C., Giner, R.-M., Waterman, P. G., & Ríos, J.-L. (1999). A glycosyl analogue of diacylglycerol and other antiinflammatory constituents from *Inula viscosa*. *Journal of Natural Products*, 62(4), 601-604. <https://doi.org/10.1021/np980132u>
- Merah, S., Neggad, A., Metidji, H., Nouasri, A., Missoum, A., Ainouz, L., Dahmane, D., Dob, T., & Krimat, S. (2025). Chromatographic analysis, antioxidant, antimicrobial, cytotoxic, and antalgic activities of hydromethanolic extract and essential oil from *Inula viscosa* L. roots. *Chemistry & Biodiversity*, 22(8), e202402804. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202402804>
- Orhan, N., Gökbulut, A., & Orhan, D. D. (2017). Antioxidant potential and carbohydrate digestive enzyme inhibitory effects of five *Inula* species and their major compounds. *South African Journal of Botany*, 111, 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.03.040>
- Öksüz, S., & Topcu, G. (1987). Triterpene fatty acid esters and flavonoids from *Inula britannica*. *Phytochemistry*, 26(11), 3082-3084. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)84603-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84603-8)
- Paksoy, Y. (2011). *Türkiye Inula L. (Asteraceae) türlerinin taksonomik revizyonu* [Doktora tezi]. Erciyes Üniversitesi.
- Paliwal, S. K., Sati, B., Faujdar, S., & Sharma, S. (2017). Studies on analgesic, anti-inflammatory activities of stem and roots of *Inula cuspidata* CB Clarke. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(4), 532-537. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.08.005>
- Park, E. J., Kim, Y., & Kim, J. (2000). Acylated flavonol glycosides from the flower of *Inula britannica*. *Journal of Natural Products*, 63(1), 34-36. <https://doi.org/10.1021/np990271r>
- Qin, J. J., Jin, H. Z., Fu, J. J., Hu, X. J., Wang, Y., Yan, S. K., & Zhang, W. D. (2009). Japonicones A–D, bioactive dimeric sesquiterpenes from *Inula japonica* Thunb. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19(3), 710-713. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.12.043>
- Qin, J.-J., Zhu, J.-X., Zeng, Q., Cheng, X.-R., Zhang, S.-D., Jin, H.-Z., & Zhang, W.-D. (2012). Sesquiterpene lactones from *Inula hupehensis* inhibit nitric oxide production in RAW264. 7 macrophages. *Planta Medica*, 78(10), 1002-1009. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1298621>

- Qin, J.-J., Zhu, J.-X., Zeng, Q., Cheng, X.-R., Zhu, Y., Zhang, S.-D., Shan, L., Jin, H.-Z., & Zhang, W.-D. (2011). Pseudoguaianolides and guaianolides from *Inula hupehensis* as potential anti-inflammatory agents. *Journal of Natural Products*, 74(9), 1881-1887. <https://doi.org/10.1021/np200319x>
- Qneibi, M., Hanania, M., Jaradat, N., Emwas, N., & Radwan, S. (2021). *Inula viscosa* (L.) Greuter, phytochemical composition, antioxidant, total phenolic content, total flavonoids content and neuroprotective effects. *European Journal of Integrative Medicine*, 42, 101291. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2021.101291>
- Rafi, M. M., Bai, N.-S., Ho, C.-T., Rosen, R. T., White, E., Perez, D., & Dipaola, R. S. (2005). A sesquiterpenelactone from *Inula britannica* induces anti-tumor effects dependent on Bcl-2 phosphorylation. *Anticancer Research*, 25(1A), 313-318. <https://ar.iarjournals.org/content/anticancer/25/1A/313.full.pdf>
- Sanz, J. F., Ferrando, C., & Marco, J. A. (1991). Oxygenated nerolidol esters and eudesmane acids from *Inula viscosa*. *Phytochemistry*, 30(11), 3653-3655. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)80086-G](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)80086-G)
- Selma, D., Sabrina, B., Faten, A., Valentina, P., De Tommasi, N., Chaouki, B., & Ali, B. (2025). Chemical composition, antioxidant and anticholinesterase activities of Algerian *Inula conyza* DC. *Natural Product Research*, 1-7. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.28424242.v1>
- Sen, A., Kurkcuglu, M., Senkardes, I., Bitis, L., & Baser, K. H. C. (2019). Chemical composition, antidiabetic, anti-inflammatory and antioxidant activity of *Inula ensifolia* L. essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(4), 1048-1057. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1662333>
- Shahwar, D., Raza, M. A., Shafiq-Ur-Rehman, Abbasi, M. A., & Atta-Ur-Rahman. (2012). An investigation of phenolic compounds from plant sources as trypsin inhibitors. *Natural Product Research*, 26(12), 1087-1093. <https://doi.org/10.1080/14786419.2011.559637>
- Shao, Y., Bai, N.-S., & Zhou, B.-N. (1996). Kaurane glycosides from *Inula britannica*. *Phytochemistry*, 42(3), 783-786. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00878-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00878-0)
- Silinsin, M., & Bursal, E. (2018). UHPLC-MS/MS phenolic profiling and in vitro antioxidant activities of *Inula graveolens* (L.) Desf. *Natural Product Research*, 32(12), 1467-1471. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1350673>
- Son, S. R., Kim, K. S., Jang, D. S., & Lee, S. (2025). Caffeoylglucaric and caffeoylquinic acids from *Inula japonica* leaves and their anti-skin aging effects in TNF-alpha-Induced normal human fibroblast damage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 73(22), 13471-13487. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c13160>
- Spiridon, I., Bodirlau, R., & Teaca, C.-A. (2011). Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Central European Journal of Biology*, 6, 388-396. <https://doi.org/10.2478/s11535-011-0028-6>

- Stojanović-Radić, Z., Čomić, L., Radulović, N., Blagojević, P., Denić, M., Miltojević, A., Rajković, J., & Mihajilov-Krstev, T. (2012). Antistaphylococcal activity of *Inula helenium* L. root essential oil: eudesmane sesquiterpene lactones induce cell membrane damage. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 31(6), 1015-1025. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1400-1>
- Su, B.N., Takaishi, Y., Yabuuchi, T., Kusumi, T., Tori, M., & Takaoka, S. (2000a). The structures and absolute configurations of macrophyllidic acids A–E, five new rearranged eudesmane sesquiterpene acids from the bark of *Inula macrophylla*. *Tetrahedron Letters*, 41(14), 2395-2400. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)00172-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)00172-6)
- Su, B.N., Takaishi, Y., Tori, M., Takaoka, S., Honda, G., Itoh, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, O. K., & Ashurmetov, O. (2000b). Macrophyllidimers A and B, two novel sesquiterpene dimers from the bark of *Inula macrophylla*. *Tetrahedron Letters*, 41(9), 1475-1479. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(99\)02321-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(99)02321-7)
- Su, B.N., Takaishi, Y., Tori, M., Takaoka, S., Honda, G., Itoh, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, O. K., & Ashurmetov, O. (2000c). Macrophyllols A and B, two unusual novel sesquiterpene and monoterpene dimers from the bark of *Inula macrophylla*. *Organic Letters*, 2(4), 493-496. <https://doi.org/10.1021/ol990401n>
- Su, B.N., Takaishi, Y., Yabuuchi, T., Kusumi, T., Tori, M., Takaoka, S., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., & Kodzhimatov, O. K. (2001). Sesquiterpenes and monoterpenes from the bark of *Inula macrophylla*. *Journal of Natural Products*, 64(4), 466-471. <https://doi.org/10.1021/np000211h>
- Süslü, İ., Pehlivan, S., Ekni, M., & Şenel, E. (2010). Türkiye'nin çeşitli ballarına kaynak oluşturan Compositae (Asteraceae) familyasında *Inula* türlerinin polen morfolojilerine istatistiksel bir yaklaşım. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 3(2), 182-187. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/200879>
- Tang, J.-J., Guo, C., Peng, X.-N., Guo, X.-C., Zhang, Q., Tian, J.-M., & Gao, J.-M. (2021). Chemical characterization and multifunctional neuroprotective effects of sesquiterpenoid-enriched *Inula britannica* flowers extract. *Bioorganic Chemistry*, 116, 105389. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105389>
- Tanker, N., Koyuncu, M., & Coşkun, M. (2023). *Farmasötik botanik* (8. Baskı). Artvin: Dikyamaçder Kültür Yayınları.
- Topcu, G., & Öksüz, S. (1990). Guaianolides from *Inula anatolica*. *Phytochemistry*, 29(11), 3666-3667. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)85299-U](https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)85299-U)
- Topcu, G., Öksüz, S., Johansson, C. B., Shieh, H.-L., Cordell, G. A., & Pezzuto, J. M. (1992). *Active constituents of Turkish inula species* [Poster Presentation]. Advances in Natural Product Chemistry: Proceedings of the Fifth International Symposium and Pakistan-US Binational Workshop on Natural Product Chemistry, Karachi, Pakistan.
- Trendafilova, A., Todorova, M., Ozek, T., Ozek, G., & Aneva, I. (2020). Volatile constituents of four *Inula* species of Bulgarian origin. *Biochemical Systematics and Ecology*, 90, 104035. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104035>

- Wang, F.-Y., Li, X.-Q., Sun, Q., Yao, S., Ke, C.-Q., Tang, C.-P., Liu, H.-C., Geng, M.-Y., & Ye, Y. (2012). Sesquiterpene lactones from *Inula cappa*. *Phytochemistry Letters*, 5(3), 639-642. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2012.06.012>
- Wu, N., Wang, S., Zhang, Y., & Wang, S. (2025). Research progress on anti-inflammatory mechanism of *Inula cappa*. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(5), 1911. <https://doi.org/10.3390/ijms26051911>
- Wu, X.-D., Ding, L.-F., Tu, W.-C., Yang, H., Su, J., Peng, L.-Y., Li, Y., & Zhao, Q.-S. (2016). Bioactive sesquiterpenoids from the flowers of *Inula japonica*. *Phytochemistry*, 129, 68-76. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.07.008>
- Wu, Z.-J., Shan, L., Lu, M., Shen, Y.-H., Tang, J., & Zhang, W.-D. (2010). Chemical constituents from *Inula cappa*. *Chemistry of Natural Compounds*, 46(2), 298-300. <https://doi.org/10.1007/s10600-010-9595-4>
- Zarei, M., Mohammadi, S., & Komaki, A. (2018). Antinociceptive activity of *Inula britannica* L. and patuletin: In vivo and possible mechanisms studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 219, 351-358. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.03.021>
- 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. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(2), 223-227. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.05.005>
- Zeng, G. Z., Tan, N. H., Ji, C. J., 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. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 23(6), 885-891. <https://doi.org/10.1002/ptr.2671>
- Zeouk, I., Sifaoui, I., López-Arencibia, A., Reyes-Batlle, M., Bethencourt-Estrella, C. J., Bazzocchi, I. L., Bekhti, K., Lorenzo-Morales, J., Jiménez, I. A., & Piñero, J. E. (2020). Sesquiterpenoids and flavonoids from *Inula viscosa* induce programmed cell death in kinetoplastids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 110518. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110518>
- Zhang, H.-L., Wang, N., Shi, X.-L., Wang, M.-M., Zhu, Q.-M., Chang, J., Feng, Y.-L., Zhang, J., Qiu, F., & Sun, C.-P. (2025). Sesquiterpenoids from *Inula britannica* and their potential mechanism for immunomodulation. *Phytochemistry*, 231, 114343. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2024.114343>
- Zhang, S.-D., Qin, J.-J., Jin, H.-Z., Yin, Y.-H., Li, H.-L., Yang, X.-W., Li, X., Shan, L., & Zhang, W.-D. (2012). Sesquiterpenoids from *Inula racemosa* Hook. f. inhibit nitric oxide production. *Planta Medica*, 78(2), 166-171. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1280294>
- Zheng, X., Wu, Z., Xu, J., Zhang, X., Tu, Y., Lei, J., Yuan, R., Cheng, H., Wang, Q., & Yu, J. (2021). Bioactive sesquiterpenes from *Inula helenium*. *Bioorganic Chemistry*, 114, 105066. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105066>
- Zhou, Y.-Y., Jin, C.-Z., Ma, Y.-Q., Zhang, X.-J., Liu, X., & Xiao, S.-L. (2022). A new phytotoxic sesquiterpene from *Inula japonica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 58(1), 47-49. <https://doi.org/10.1007/s10600-022-03594-0>