

***Hyoscyamus reticulatus* L. Tohum Ekstraktının Antimikrobiyal ve Apoptotik Etkinliğinin Araştırılması**

Perihan AKBAŞ^{*1}, Hamit USLU², Gözde ATİLA USLU³, Hicran ALKAN⁴

¹Kafkas Üniversitesi, Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Teknik Hizmetler Bölümü, 36100, Kars, Türkiye

²Kafkas Üniversitesi, Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Sağlık Bakım Hizmetleri Bölümü, 36100, Kars, Türkiye

³Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Temel Bilimleri Bölümü, 36100, Kars, Türkiye

⁴Kafkas Üniversitesi, Sosyal Bilimler Meslek Yüksekokulu, Çocuk Gelişimi Bölümü, 36100, Kars, Türkiye

(Alınış / Received: 08.10.2019, Kabul / Accepted: 29.05.2020, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2020)

Anahtar Kelimeler

Antimikrobiyal,
Bcl-2,
Hyoscyamus reticulatus
tohum ekstraktı,
TP53

Özet: *Hyoscyamus reticulatus* Solanacea ailesindendir ve ülkemizde altı türü bulunmaktadır. *Hyoscyamus* türleri özellikle halk arasında yaygın olarak kullanılan skopolamin ve hyosiyamin gibi tropan alkaloidleri kaynağıdır. *H. reticulatus* tohumundan soxhlet yöntemi ile elde edilen etil alkol ekstresinin bazı Gram (-) ve Gram (+) bakteri ve mayalara karşı antimikrobiyal aktivitesinin tespit edilmesi ve *H. reticulatus* tohumunun plazma ve beyin numunelerinde TP53 ve Bcl-2 seviyeleri ölçülerek apoptotik etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 40 adet *Wistar albino* cinsi dişi sıçan her grupta 10 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı; Kontrol (K), 125, 250, 500 mg/kg *H. reticulatus* ekstrakt grupları. *H. reticulatus* tohumu ekstraktının *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteridis*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* bakterileri ve *Candida albicans* mayasına karşı antimikrobiyal etkinliğinin bulunmadığı tespit edilmiştir. HR250 ve HR500 gruplarının plazma örneklerinde TP53 seviyelerinin K grubuna göre önemli düzeyde arttığı tespit edildi (sırasıyla $p < 0,01$, $p < 0,001$). Ekstrakt uygulanan tüm gruplarla K grubu karşılaştırıldığında; ekstrakt uygulanan gruplarda plazma Bcl-2 seviyelerinin önemli düzeyde azaldığı belirlendi ($p < 0,001$). Sonuç olarak; *H. reticulatus* tohum ekstraktının antimikrobiyal etkisi olmadığı ve in vivo olarak farklı dozlarda uygulanan ekstraktın beyin dokusunda olmasa da diğer organ ve/veya organlarda apoptozisi uyurabileceğini düşünmekteyiz.

Investigation of the Antimicrobial and Apoptotic Efficacy of *Hyoscyamus reticulatus* L. Seed Extract

Keywords

Antimicrobial,
Bcl-2,
Hyoscyamus reticulatus seed
extract,
TP53

Abstract: *Hyoscyamus reticulatus* is from Solanacea famil and has six species in our country. *Hyoscyamus* species are the source of tropan alkaloids, such as scopolamine and hyoctiamine, which are commonly used in public. The aim of this study was to determine the antimicrobial activity of ethyl alcohol extract obtained from *H. reticulatus* seed by soxhlet method against some Gram (+) and Gram (-) bacteria and yeasts and to determine apoptotic effect of *H. reticulatus* seed by measuring TP53 and Bcl-2 levels in plasma and brain samples. 40 Wistar albino female rats were divided into 4 groups in each group with 10 of them; Control (C), 125, 250, 500 mg / kg *H. reticulatus* extract groups. It was found that *H. reticulatus* seed extract have no antimicrobial activity against *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteridis*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* bacteria and *Candida albicans* yeast. Plasma samples of HR250 and HR500 groups showed significant increase in TP53 levels compared to group C ($p < 0.01$, $p < 0.001$, respectively). Compared to all extract applied groups and group C; Plasma Bcl-2 levels significantly decreased in extract groups ($p < 0.001$). As a result; we suggest that *H. reticulatus* seed extract does not have an antimicrobial effect and extracts applied in different doses in vivo may stimulate apoptosis in other organ and / or organs, although not in brain tissue.

1. Giriş

Hyoscyamus cinsi Solanacea ailesindendir ve ülkemizde Dağdağan, Gavur haşhaşı, Banotu, Bengildek, Deli bat bat, Berç, Benk, gibi isimlerle tanınır. *Hyoscyamus* cinsinin 6 türü mevcuttur (*H. albus* L., *H. aureus* L., *H. leptocalyx* Stapf., *H. niger* L., *H. pusillus* L. ve *H. reticulatus* L.). *H. reticulatus* bitkisinin tadı acı olup kötü kokar, tüylü yaprakları vardır ve kenarları derin dişli mor çiçeklere sahiptir [1].

Hyoscyamus reticulatus L. Güneybatı Asya, Mısır, İran ve Türkiye'deki en önemli şifalı bitkilerden biridir [2]. *Hyoscyamus* türleri özellikle halk arasında yaygın olarak kullanılan skopolamin ve hiyosiyamin gibi tropan alkaloidleri kaynağıdır, Hiyosiyamin ve skopolaminin karmaşık kimyasal formülasyonu nedeniyle, sentetik üretimi çok pahalıdır ve bu yüzden Solanaceae bitkilerinden elde edilir [3]. Tropane alkaloidleri, Solanaceae'nin sekonder metabolitlerinin ayırt edici gruplarından birini oluşturur ve bunları içeren birçok bitki, tıbbi, halüsinojenik ve zehirli özellikleri için uzun süredir kullanılmaktadır [4].

İran'da yapılan bir araştırmada *Hyoscyamus reticulatus* tohumlarının diğer bitki kısımlarından daha yüksek miktarlarda hiyosiyamin içerdiği tespit edilmiştir [5]. *Hyoscyamus reticulatus* atropin, hiyosiyamin, skopolamin gibi tropan alkaloidleri bulundurmaktadır ve bu alkaloidlerin antikolinergik etkisi vardır. Ayrıca flavonoidler, fenolikler, gliseridler, glikozitler, kumarinolignanlar, lignanlar, saponinler, ve vitanolidler gibi alkaloid olmayan sekonder metabolitler de içerir. İçerdikleri bu alkaloidlerin analjezik, antikolinergik, antispazmodik, midriyatik, ve sedatif özelliklerinden dolayı yaygın olarak kullanıldığı ileri sürülmektedir [4].

Son yıllarda sağlığı destekleyici ve bütünleştirici alternatif bitkisel ürünler ve bunlardan elde edilen etken maddelerine karşı insanların ilgileri gün geçtikçe artmaktadır. Bu ilgi hızlı artmasına rağmen, alternatif/geleneksel tıbbın etkinliği, toksisitesi ve mekanizmaları hakkında sınırlı sayıda çalışma vardır. İnsanlarda zaman zaman bitkilerle zehirlenme vakaları görülmektedir. Kırsal kesimde insanlar bazen taze sebze bulma açısından zorluk çektiklerinden çoğu zaman doğadan topladıkları bitkileri yerler.

Banotunun kök ve yapraklarının tadı salatalığa benzemektedir ve bu çocukları cezbeder. Van ve Erzincan'da banotunun taze sürgünlerini marula benzettiği için yiyen iki kişinin zehirlenmesi buna bir örnektir. Ayrıca Doğu Anadolu bölgesinde banotu zehirlenmelerine sık rastlanmaktadır [6, 7]. Başka bir türü olan *Hyoscyamus niger*'in taze sürgünlerinin, kök ve tohumlarının yenilmesi sonucu halisülasyon görme, bulanık görme, kalp ritminde artış gibi belirtiler görülmekte olup ölümle de sonuçlanabildiği

bildirilmektedir [5, 8-10]. Yine aynı şekilde, 71 yaşında bronşiyal astım hastası bir kişi, banotu yapraklarının astıma iyi geldiğini duyduğundan banotu yaprağı çayı içmiş; iki saat sonra ağız kuruluğu, çarpıntı, görme ve konuşma bozukluğu gibi belirtiler ortaya çıktığından hastaneye başvurmuştur [11]. *Hyoscyamus* bitkileri hiposiyamin (atropin) ve skopolamin için doğal bir kaynaktır. Her iki alkaloid de parasempatik sinir sistemi üzerindeki baskılayıcı aktiviteleri nedeniyle tıbbi öneme sahiptir [12].

Ayrıca Anadolu köylerinde bazı köy gençleri tarafından *H. niger* ve *H. reticulatus* tohum ve yapraklarının halüsinojik etkileri nedeniyle kullanıldığı; bu nedenle özellikle tohumlarının, zehirlenmelere neden olduğunu bildirilmiştir [13, 14]. Zehirlenmeler çoğu doku ve organda apoptozu tetiklemekte olup, apoptozis intrinsik mekanizmalarında karışımına Bcl-2 ve TP53 parametreleri çıkmaktadır. Bcl-2 ailesinin proapoptotik (Bax, Bak, Bid, BclXs, Bim, Puma, Noxa) ve antiapoptotik (Bcl-XL, Bcl-w, Bcl-2, BFL-1/A1, Mcl-1) üyelerden oluştuğu belirtilmektedir [15, 16]. Proapoptotik üyelerin sitokrom-c ve apoptoz indükleyici faktör salınımını arttırarak apoptozu indüklediği, antiapoptotik üyelerin ise özellikle kalsiyum iyon transportunu düzenlediği ve sitokrom-c ile apoptoz indükleyici faktör salınımını inhibe ederek apoptozu engellediği ifade edilmektedir [17, 18]. P53'ün ya da diğer adıyla tümör protein 53'ün (TP53) ise transkripsiyonel bir faktör olduğu hücrel stres ve DNA'nın tamir edilemeyecek kadar zarar gördüğü durumlarda apoptozu uyardığı ileri sürülmektedir [19].

Günümüzde hem zehirlenmelere sebep olan hem de tedavi amacıyla kullanılan bu bitkinin yaprak ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal etkileri incelenmiştir, fakat etken maddelerinin daha yoğun olmasının beklediği tohumların antimikrobiyal ve in vivo çalışmaları yeteri kadar mevcut değildir. Bu çalışma ile ülkemizde bol oranda yetişen ve toksik etkileri de olduğu belirtilen *H. reticulatus* tohumundan soxhlet yöntemi ile elde edilen etil alkol ekstresinin mikroorganizmalar üzerinde de bir etkisi olup olmadığını anlamak amacı ile; bazı Gram (+) ve Gram (-) bakteri ve mayalara karşı antimikrobiyal aktivitesinin tespit edilmesi ve *H. reticulatus* bitkisinin sinir sistemi üzerindeki etkisini gözlemleyebilmek için plazma ve beyin numunelerinde TP53 ve Bcl-2 seviyeleri ölçülerek apoptotik etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal ve metot alt başlığı

Deneylerde kullanılan *H. reticulatus* tohumları Kars ilinden temin edilmiş olup, tohumlar gölgede kurutulduktan sonra öğütülerek analizde kullanılmak için ince toz haline getirilmiştir. 25 gram tohum 500

mL etanolde 2 saat boyunca Soxhlet cihazında ekstre edildi. Elde edilen ekstre 50°C'de indirgenmiş basınç altında etanol buharlaştırılarak 2,66 gr ekstrakt elde edildi.

2.2. Deney protokolü

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2017-64 revizyonu 2019-058 sayılı onayı ile Kafkas Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 40 adet Wistar albino cinsi dişi sıçan her grupta 10 adet olacak şekilde aşağıdaki gibi 4 gruba ayrıldı.

1. Kontrol Grubu-K (n:10): Oral olarak serum fizyolojik,
2. 125 mg/kg *H. reticulatus* ekstrakt grubu-HR125 (n:10): Oral olarak 125 mg/kg *H. reticulatus* tohum ekstraktı,
3. 250 mg/kg *H. reticulatus* ekstrakt grubu-HR250 (n:10): Oral olarak 250 mg/kg *H. reticulatus* tohum ekstraktı,
4. 500 mg/kg *H. reticulatus* ekstrat grubu-HR500 (n:10): Oral olarak 500 mg/kg *H. reticulatus* tohum ekstraktı uygulandı.

Kontrol grubu ile ekstrakt uygulanan gruplar arasında oral uygulamaya bağlı oluşabilecek stresi minimize edebilmek için kontrol grubuna da oral yolla serum fizyolojik uygulandı. Yedi gün sonunda 0,4 ml/kg sodyum pentobarbital anestezisi altındaki hayvanlardan intrakardiyak olarak antikoagülanlı tüplere kan, servikal dislokasyonu takiben de beyin doku örnekleri alındı. Alınan doku örnekleri serum fizyolojikte yıkandıktan sonra analizlere kadar -20 °C'de saklandı. Beyin ve plazma numunelerinde ticari ELİZA kitleri kullanılarak Bcl-2 ve TP53 seviyeleri belirlendi (Elabscience, USA).

2.3. Antimikrobiyal analizler

H. reticulatus tohum ekstraktının antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi amacıyla *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) *Escherichia coli* (ATCC-25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC-4352), *Pasteurella multocida* (ATCC-12945), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853), *Salmonella enteridis* (ATCC 13076), *Staphylococcus aureus* (ATCC-6538), *Yersinia enterocolitica* (ATCC-27729) bakterileri standart suşları *Candida albicans* (ATCC 10231) mayası kullanılmıştır.

2.4. Antimikrobiyal analizler

Antibakteriyel aktivite tayini için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır [20, 21]. Bakteri suşları stok kültürlerden ayrı ayrı 5 ml nutrient brothda süspansiyon edilerek, 2-5 saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır.

Bu süre sonunda bakteri maya süspansiyonu 0,5 McFarland standardına göre ayarlandıktan sonra içinde Mueller Hinton agarlı ortama 100'er µL ekim yapılmıştır. Steril eküvyon, petri kabına 3 ayrı yönde sürülerek sık aralıklarla tarama şeklinde inoküle edilmiş ve tüm petri plakları bundan sonra 5-20 dakika süre ile oda ısısında kurumaya bırakılmıştır. Süre sonunda agar üzerine *H. reticulatus* tohum ekstraktından 50 µL emdirilmiş 5 mm çapındaki antibiyotik diskleri yerleştirilmiş ve bakteriler 36°C'de 24 saat, maya ise 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda inhibisyon zon çapları değerlendirilmiştir. Aynı zamanda çözücümüz olan su ve alkol de aynı besiyerine ekim yapılarak inhibisyon olup olmadığına bakılmıştır.

2.5. Tüp dilüsyon yöntemi

H. reticulatus tohum ekstraktı sıvı besiyerinde iki kat azalan oranlarda (1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16) sulandırılmaları yapılmış ve mikroorganizmaların standart bir inokulumu (1×10^6 CFU / ml) hazırlanıp her bir tüpe 100'er µL ekim yapılmıştır. Üremenin kontrolü olarak ekstrakt içermeyen bir tüpe de mikroorganizmalar aynı miktarda inoküle edilmiştir. Besiyerleri 36°C'de 24 saatlik inkübasyon sonunda tüp besiyerleri bulanıklık yönünden incelenmiştir. Gözle görünür bir bulanıklığın olmadığı mikroorganizmaların üremesini önleyen en düşük ekstrakt konsantrasyonu araştırılmıştır [22].

2.6. Biyokimyasal Analizler İçin Numunelerin Hazırlanması

Beyin ve plazma numunelerinde ticari ELİZA kitlerindeki prosedüre uygun olarak Bcl-2 ve TP53 seviyeleri belirlendi. Kan numuneleri antikoagülanlı (EDTA'lı) tüplere alındıktan sonra 30 dakika içinde 1000 x g'de 4°C'de 15 dakika boyunca santrifüj edilerek plazma numuneleri elde edildi. Beyin doku homojenizatları hazırlanırken öncelikle doku üzerinde kalabilen hemolize kan sonuçları etkileyebileceği için soğuk PBS (0.01 M, pH = 7.4) ile durulandı. Beyin dokusu çalışılırken spesifik bir bölge çalışılmamış olup bütün beyin dokuları tartılıp PBS ile 1:9 oranında sulandırılarak homojenize edildi. Homojenizatlar daha sonra süpernatantı elde etmek için 5000 x g'de 5 dakika santrifüj edildi. Daha sonra hem plazma numuneleri hem de süpernatantlarda kit prosedürüne uygun olarak analizler gerçekleştirildi.

2.7. İstatistiksel analizler

Antimikrobiyal aktivite denemeleri en az 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir ve her bir bulgu 2 tekrardan oluşmuştur. Tek-Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA) ile veriler değerlendirilmiştir. İstatistiksel açıdan p < 0,05 olan değerler anlamlı kabul edilir. SPSS programı (standart versiyon 18) ile istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir.

3. Bulgular

H. reticulatus tohum ekstraktının disk difüzyon tekniği ile elde edilen antimikrobiyal test sonuçları Tablo 1'de ve tüp dilüsyon yöntemi ile farklı konsantrasyonlardaki antimikrobiyal etkinliği Tablo 2'de verilmiştir.

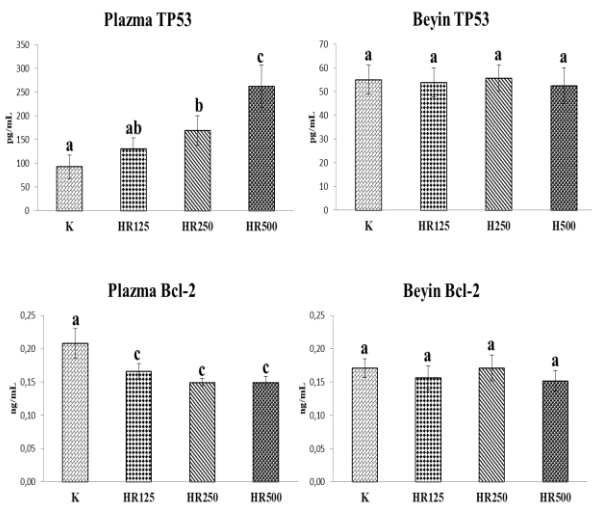
Tablo 1. *H. reticulatus* tohum ekstraktının katı besiyerinde test mikroorganizmaları çevresinde oluşturduğu zon çapları.

Test mikroorganizmaları	Katı besiyerinde İnhibisyon Zonları (mm)	
	Ekstrakt	Etanol
<i>Escherichia coli</i>	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-
<i>Pasteurella multocida</i>	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-
<i>Salmonella enteridis</i>	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-

Tablo 2. *H. reticulatus* tohum ekstraktının tüp dilüsyon yöntemiyle antimikrobiyal etkinliği.

Test mikroorganizmaları	Tüp Dilüsyon Yöntemi (Konsantrasyon Oranları - Üreme Durumu)					
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella enteridis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-

Plazma ve beyin dokularındaki TP53 ve Bcl-2 seviyelerindeki değişimler ise Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Farklı dozlarda uygulanan *H. reticulatus* etanol ekstraktının plazma ve beyin TP53 ve Bcl-2 düzeyleri üzerine etkileri, ortalama $\pm$ SD, n:10, a-b, a-c, ab-c p<0,001, b-c p<0,01

Tablolardaki sonuçlar çalışmada kullanılan *Hyoscyamus reticulatus* tohumunun etanol ekstraktının tüp dilüsyon ve disk difüzyon tekniğine göre antimikrobiyal etkisinin bulunmadığını göstermektedir.

Plazma TP53 seviyelerinde HR250 ve HR500 gruplarında K grubuna göre önemli düzeyde artış olduğu belirlendi (sırasıyla p<0,01, p<0,001). Hem HR125 hem de HR250 grupları ile HR500 grubu kıyaslandığında ise bu parametre seviyelerinin HR500 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edildi (sırasıyla p<0,001, p<0,01). Ayrıca HR125 grubunda plazma TP53 seviyelerinin hem K grubuna hem de HR250 grubuna benzer olduğu aralarında istatistiksel önemlilik olmadığı gözlemlendi. Plazma Bcl-2 seviyeleri değerlendirildiğinde ise ekstrakt uygulanan tüm gruplarda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalışların olduğu tespit edildi (p<0,001). K ve farklı dozlarda ekstrakt uygulanan grupların beyin dokusu homojenizatlarında TP53 ve Bcl-2 seviyelerindeki değişimler değerlendirildiğinde ise aralarında istatistiksel anlamlılığın olmadığı tespit edildi.

4. Tartışma ve Sonuç

Elde edilen sonuçlar, çalışmada kullanılan *H. reticulatus* tohumunun etanol ekstraktının antibakteriyel etkisinin bulunmadığını göstermektedir. Ancak Chalabian ve arkadaşları *H. reticulatus* ve *H. niger*'in çiçek gövde ve köklerinden elde ettikleri alkaloid ekstraktların güçlü antimikrobiyal etkisi olduğunu rapor etmişlerdir [23]. Bazzaz ve Haririzadeh yaptıkları çalışmada, *H. reticulatus* bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanol ekstraktının antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu belirtmiştir [24]. Çalışmalar arasındaki bu değişkenliğin uygulanan ekstraksiyon yöntemlerinin farklı olması, çözücülerin hatta bitkinin yetiştiği ortamdaki toprağın yapısı, ısı, ışık, rakım ve topraktaki azot içeriği gibi dış etkenlerin farklı olmasından veya etil alkolün bu bitki için uygun bir çözücü olmamasından dolayı olduğu düşünülmektedir. Yücel ve Yılmaz'da yaptıkları çalışmada; bir bölgedeki farklı arazilerde yetişen *Hyoscyamus* türlerindeki alkaloid düzeylerinin farklı olabileceğini belirtmişlerdir [25]. Toprağın yapısı, rakım, ışık, ısı, herbisit uygulamaları ve topraktaki azot içeriği gibi dış etkenlere bağlı olarak alkaloidlerin sentezi değişebilir. Tropan alkaloidlerinin sentezlenmesi ve toprağın pH'sı arasında negatif bir etkileşim olduğu, fosfor, azot, kalsiyum ve potasyum gibi elementlerin varlığında ise bu alkaloidlerin sentezin arttığı bildirilmiştir [26-28].

Yapılan çalışmada beyin dokusunda TP53 ve Bcl-2 seviyelerinde değişim meydana gelmemiş olup ancak plazma seviyelerinde ekstrakt gruplarında doza bağlı olarak TP53 seviyelerinde artış, Bcl-2 seviyelerinde

ise azalma olduğu tespit edildi. P53'ün iki ana apoptotik yoldan geniş bir sinyal ağını uyardığı bilinmekte olup, ekstrinsik yolda kaspaz kaskadının aktivasyonunu tetiklediği, intrinsik mitokondriyal yolda ise Bcl-2 ailesindeki proapoptotik üyelerin (Bax, Apaf-1, Fas) üretimini arttırdığı, antiapoptotik üyelerin üretimini (Bcl-2, Bcl-xL) ise baskılayarak ve apoptozun oluşumunu desteklediği ileri sürülmektedir [18, 29]. Yapılan çalışmada *H. reticulatus* tohum ekstraktının beyin dokusunu etkilememesinin sebepleri arasında verilen ekstraktın dozlarının ve uygulama sürenin etkili olabileceğini, plazma seviyelerinde meydana gelen bu değişimler değerlendirildiğinde ise diğer organ ve/veya organlarda apoptozisi uyardığını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak yapılan çalışmada *H. reticulatus* tohumunun etanol ekstraktının antimikrobiyal etkinliğinin olmadığı çalışmanın in vivo basamağında ise farklı dozlarda uygulanan bitki ekstraktının beyin dokusunda olmasa da diğer organ ve/veya organlarda apoptozisi uyurabileceği plazma numunelerindeki değişimlerle belirlenmiştir. Ancak daha sonraki çalışmalarda bitki ekstraktının farklı organ ve/veya organlar üzerinde etkinliğinin daha detaylı araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Teşekkür

Bu çalışmayı maddi olarak destekleyen Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğüne teşekkür ederiz (2018-TS-07).

Kaynakça

- [1] Baytop, T. 1999. Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. 2.baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 480s.
- [2] Madani, H., Hosseini, B., Dehghan, E., Rezaei-chiyaneh, E. 2015. Enhanced production of scopolamine in induced autotetraploid plants of *Hyoscyamus reticulatus* L. Acta Physiologiae Plantarum, 37(3), 55.
- [3] Ghorbanpour, M., Hatami, M., Hatami, M. 2015. Activating antioxidant enzymes, hyoscyamine and scopolamine biosynthesis of *Hyoscyamus niger* L. plants with nano-sized titanium dioxide and bulk application. Acta Agriculturae Slovenica, 105, 23-32.
- [4] Evans, W. C., Ramsey, K. P. A. 1983. Alkaloids of the Solanaceae tribe Anthocercideae. Phytochemistry, 22(10), 2219-2225.
- [5] Bahmanzadegan, A., Sefidkon, F., Sonboli, A. 2010. Determination of hyoscyamine and scopolamine in four *Hyoscyamus* species from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 65-70.
- [6] Karadaş, S., Güler, A., Şahin, M., Behçet, L. 2012. 32 haftalık gebede banotu zehirlenmesi. Van Tıp Dergisi, 19(1), 36-38.
- [7] Kürkcüoğlu, M. 1970. Henbane (*Hyoscyamus niger*) poisoning in the vicinity of Erzurum. The Turkish Journal of Pediatrics, 12(1), 48-56.
- [8] Güler, G. Ö. 2012. Studies on antioxidant properties of the different solvent extracts and fatty acid composition of *Hyoscyamus reticulatus* L. Journal Food Biochemistry, 36(5), 532-538.
- [9] Singh, S. K., Pandey, V. D., Evaluation of *Hyoscyamus niger* L. extracts for antibacterial activity. Plant Archives, 9(1), 97-100.
- [10] Dulger, B., Goncu, B. S., Gucin, F. 2010. Antibacterial activity of the seeds of *Hyoscyamus niger* L. (Henbane). Asian Journal of Chemistry, 22(9), 6879-6883.
- [11] Erkal, H., Özyurt, Y., Arkan, Z. 2006. Yaşlı hastada henbane (*Hyoscyamus niger*) sonrası antikolinerjik sendrom. Turkish Journal of Geriatrics, 9(3), 188-191.
- [12] Straus, A. 1989. *Hyoscyamus* spp: In vitro culture and production of tropane alkaloids. ss 286-314. In Medicinal and Aromatic Plants II, Springer, Berlin Heidelberg New York, 538s.
- [13] Yılmaz, O. 1990. Bursa yöresinde yetişen önemli zehirli bitkilerin toksikolojik özellikleri. Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 93s, Bursa.
- [14] Kartal, M., Kurucu, S., Altun, L., Ceyhan, T., Sayar, E., Cevheroğlu, S., Yetkin, Y. 2003. Quantitative analysis of l-hyoscyamine in *Hyoscyamus reticulatus* L. By GC-MS. Turkish Journal of Chemistry, 27(5), 565-569.
- [15] Gross, A., McDonnell, J. M., Korsmeyer, S. J. 1999. BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis. Genes & Development, 13(15), 1899-1911.
- [16] Certo, M., Moore, V. D. G., Nishino, M., Wei, G., Korsmeyer S., Armstrong S. A., Letai A. 2006. Mitochondria primed by death signals determine cellular addiction to antiapoptotic BCL-2 family members. Cancer Cell, 9(5), 351-365.
- [17] Martinou, J. C., Youle, R. J. 2011. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics. Developmental Cell, 21(1), 92-101.
- [18] Coşkun, G., Özgür, H. 2014. Apoptoz ve nekrozun moleküler mekanizması. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 20(3), 145-158.
- [19] Fridman, J. S., Lowe, S. W. 2003. Control of apoptosis by p53. Oncogene, 22(56), 9030-9040.

- [20] Murray, P. R., Baron, E., Pfaller, M., Tenover, F. C., Tenover, R. H. 1995. Manual Clinical Microbiology. ASM, Washington DC, 1356s.
- [21] Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food Chemistry, 91(4), 621-632.
- [22] Kumar, A., Gupta, R. S. 1984. A note on the sensitivity of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* for garlic extract (*Allium sativum* Linn). Indian Veterinary Journal, 61(1), 718-719.
- [23] Chalabian, F., Majd, A., Mehrabian, S., Falahian, F. 2002. A study of growth inhibitory effect of alkaloids of two species of genus *hyoscyamus* on some kinds of microbes of skin. Journal of Sciences, 12(43), 3371-3378.
- [24] Bazzaz, B., Haririzadeh, G. 2003. Screening of Iranian plants for antimicrobial activity. Pharmaceutical Biology, 41(8), 573-583.
- [25] Yücel Mercan, U., Yılmaz, O. 2014. Van Yöresinde Yetişen İki *Hyoscyamus* (Banotu) Türünün Total Alkaloid Miktarları. Van Veterinary Journal, 25(3), 77-80.
- [26] Chatterjee, S. K., Nandi, R. P., Baharati, P., Yonjan, M. K. 1988. Improvement studies on some alkaloid yielding medicinal plants. Medicinal and Aromatic Spice Plants, 180(1), 39-46.
- [27] Poutaraud, A., Girardin, P. 2005. Influence of chemical characteristics of soil on mineral and alkaloid seed contents of *Colchicum autumnale* L. Environmental and Experimental Botany, 54(2), 101-108.
- [28] Nejadhabibvash, F., Rahmani, F., Heidari, R., Jamei, R., Azimi, F. 2012. Study of inheritance and environment on tropane alkaloids within *Hyoscyamus* species. Australian Journal of Crop Science, 6(10), 1428-1434.
- [29] Haupt, S., Berger, M., Goldberg, Z., Haupt, Y. 2003. Apoptosis-the p53 network. Journal of Cell Science, 116(20), 4077-4085.