



Two henbane as alkaloid sources: *Hyoscyamus niger* L. & *Hyoscyamus reticulatus* L.

Kevser TABAN AKÇA^{*1}, Nuraniye ERUYGUR²
ORCID: 0000-0001-8620-6402; 0000-0002-4674-7009

¹ Gazi University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, 06330, Ankara, Turkey

² Selçuk University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, 42130, Konya, Turkey

Abstract

Hyoscyamus species known as “Banotu” carry tropane alkaloids. Tropane alkaloids, including atropine, hyoscyamine and scopolamine, have medically important pharmacological activities. In the pharmaceutical industry, medicinal plants can be used as a source of alkaloids. In order to obtain tropane alkaloids in the pharmaceutical industry, the total amount of alkaloids contained in *Hyoscyamus* species must be known.

In this study, the total content of alkaloids in fruit, leaf, stem, and flower parts of *Hyoscyamus niger* L. and *Hyoscyamus reticulatus* L., which grows in Sivas province of Turkey were investigated by spectrophotometric method. In the spectrophotometric analysis, bromocresol green, which forms a complex with alkaloids, was used as a coloring agent, and atropine was used as a standard. As a result of the study, it was determined that all parts of *H. niger* and *H. reticulatus* species contained tropane alkaloids. Except for the flower part, all other parts of *H. niger* contain more alkaloids than *H. reticulatus*. The highest alkaloid content was determined as 3.04 mg/g in *H. niger* leaf and 2.80 mg/g in *H. reticulatus* flower and leaf.

Key words: *Hyoscyamus niger*, *Hyoscyamus reticulatus*, total alkaloids, bromocresol green, atropine

----- * -----

Alkaloit kaynağı olarak iki banotu: *Hyoscyamus niger* L. & *Hyoscyamus reticulatus* L.

Özet

“Banotu” olarak bilinen *Hyoscyamus* türleri tropan alkaloitleri taşımaktadır. Atropin, hiyosiyamin ve skopolamin gibi tropan alkaloitleri tıbbi açıdan önemli farmakolojik aktivitelere sahiptir. İlaç endüstrisinde tıbbi bitkiler alkaloit kaynağı olarak kullanılabilir. *Hyoscyamus* türlerinin ilaç endüstrisinde tropan alkaloit eldesinde kullanılabilmesi amacıyla içerdiği total alkaloit miktarının bilinmesi gerekmektedir. Bu çalışmada ülkemizde Sivas ilinde yetişen banotu türlerinden *Hyoscyamus niger* L. ve *Hyoscyamus reticulatus* L. meyve, yaprak, gövde ve çiçek kısımlarının taşıdığı total alkaloit miktarı spektrofotometrik yöntemle araştırılmıştır. Spektrofotometrik analizde renklendirici ajan olarak alkaloitler ile kompleks oluşturan bromkrezol yeşili, standart olarak ise atropin kullanılmıştır. Çalışma sonucunda *H. niger* ve *H. reticulatus* türlerinin araştırılan tüm kısımlarının tropan alkaloitleri içerdiği belirlenmiştir. Çiçek kısmı dışında *H. niger*'in diğer tüm kısımları *H. reticulatus*'tan daha fazla alkaloit taşımaktadır. En yüksek alkaloit miktarı *H. niger* yaprağında 3.04 mg/g ve *H. reticulatus* çiçek ve yaprağında 2.80 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Hyoscyamus niger*, *Hyoscyamus reticulatus*, total alkaloit, bromkrezol yeşili, atropin

1. Giriş

Tıbbi bitkilerin hastalıkların tedavisinde ve profilaksisinde kullanılması antik çağlara kadar uzanmaktadır. Tıbbi bitkiler 18. yüzyıla kadar infüzyon ve dekoksiyon gibi basit uygulama şekilleri ile hazırlanırken, etken maddelerin

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +903122023178; Fax.: +903122235018; E-mail: kevsertabann@gmail.com

bitkilerden izole edilmesiyle birlikte aktif bileşikler içeren ilaçlar hazırlanmaya başlanmıştır. 20. yüzyıla gelindiğinde sentez kimyasındaki gelişmelerle birlikte ilaçlarda sentetik bileşikler de yer almaya başlamıştır. Ancak bitkisel ilaçlarla tedavi günümüzde halen önemini korumaktadır. Bazı tıbbi bitkiler doğal florada geniş yayılış göstermektedir ve bu bitkiler ilaç hammaddesi için ucuz kaynak sağlamaktadır. İlaç hammaddesi ihtiyacındaki artış ve bazı bileşiklerin sentezinin izolasyona kıyasla daha zor olması nedeniyle kaynak sağlayabilecek tıbbi bitkilerin kültüre alınarak yetiştirilmesi önem arz etmektedir [1-3].

Alkaloitler doğal kaynaklardan elde edilen, düşük dozlarda bile güçlü fizyolojik ve farmakodinamik aktiviteye sahip olan, bazik özellikteki bileşiklerdir. Alkaloitler botanik ve biyokimyasal kökenleri, kimyasal yapıları ve farmakolojik etkileri yönünden oldukça fazla çeşitlilik göstermektedir [4]. Tropan alkaloitleri azot ihtiva eden bisiklik halka sistemine sahiptir ve 8-metil-8-azabisiklo [3.2.1] oktan yapısındadır. Atropin, hiyosiyamin ve skopolamin önemli tropan alkaloitleridir. Farmakolojik açıdan bu bileşikler parasempatolitik özelliktedir ve özellikle antikolinerjik bileşiklerin başlangıç maddesidir [5,6]. Tropan alkaloitlerinin tıbbi bitkilerden ekstraksiyon ile elde edilmeleri sentetik olarak elde edilmelerine göre daha pratik ve ekonomiktir. Bu bileşikler çoğunlukla Solanaceae familyasına ait bitkilerde bulunmakla birlikte tıbbi amaçla kullanılan türlerin sayısı sınırlıdır. Tropan alkaloiti elde etmek amacıyla *Hyoscyamus*, *Atropa* ve *Duboisia* türleri kullanılmaktadır [4,7].

Hyoscyamus (Solanaceae) cinsi ülkemizde “banotu, bengildek, benk, berç, gavur haşhaşı” gibi isimlerle bilinmektedir ve altı tür ile temsil edilmektedir. Bu türler *Hyoscyamus albus* L., *Hyoscyamus aureus* L., *Hyoscyamus leptocalyx* Stapf., *Hyoscyamus niger* L., *Hyoscyamus pusillus* L. ve *Hyoscyamus reticulatus* L.’dur. *Hyoscyamus* türleri alkaloitler, flavonoidler, lignanlar, saponinler, fenolik bileşikler ve gliseridler ihtiva etmektedir. *Hyoscyamus* cinsi tropan alkaloitleri için önemli bir kaynaktır [8].

Alkaloit sentezi ışık, rakım, ısı, toprağın cinsi ve pH’sı ve herbisit uygulamaları gibi çevresel etkenlere göre değişebilmektedir. Alkaloit miktarı aynı cinse ait bitkilerde türe göre değişkenlik göstermektedir. Ayrıca bir türün kök, gövde, kabuk, yaprak, çiçek, meyve ve tohumlarında değişen miktarlarda alkaloit bulunabilmektedir. Alkaloit miktar tayininde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), florimetri, iyon kromatografisi, kulometri, gaz kromatografi ve elektrokromatografi gibi yöntemler kullanılabilir [9-14]. Bu yöntemlerden başka spektrofotometrik yöntem de alkaloitlerin miktar tayininde sıklıkla tercih edilmektedir. Spektrofotometrik yöntem basitliği, hassasiyeti ve hızlı analize imkan vermesi ile öne çıkmaktadır. Bu yöntemin esası alkaloitin bromkrezol yeşili ile reaksiyonuna dayanmaktadır ve reaksiyon sonucunda sarı renkli katım bileşiği oluşmaktadır [15].

Tropan alkaloitlerinin tıbbi bitkilerden ekstraksiyon ile elde edilmeleri sentetik olarak elde edilmelerine göre daha uygulanabilir bir yöntemdir. Ancak tıbbi bitkilerin ilaç endüstrisinde kullanılabilmesi için bitkinin içerdiği total alkaloit miktarının araştırılması gerekmektedir. Çalışmada Sivas ilinde yetişen banotu türlerinden *Hyoscyamus niger* L. ve *Hyoscyamus reticulatus* L. bitkilerinin çiçek, gövde, meyve ve yaprak kısımlarının taşıdığı total alkaloit miktarı spektrofotometrik yöntemle araştırılmıştır.

2. Materyal ve yöntem

2.1. Bitki Materyali

H. reticulatus ve *H. niger* Temmuz ayında Sivas ilinden toplanmıştır. Bitkiler Doç. Dr. Mehmet Tekin tarafından teşhis edilerek Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi herbaryumunda muhafaza edilmiştir. Örneklerin çiçek, gövde, meyve ve yaprak kısımları ayrılarak oda sıcaklığında gölgede kurutulmuştur.

2.2. Ekstraksiyon

Kurutulan örnekler laboratuvar tipi değirmen ile toz edilmiştir. Bitki örnekleri (10 g) kloroform: etilasetat (18:3) içinde süspansiyon edilmiş ve 30 dakika süresince maserasyona bırakılarak ekstreler hazırlanmıştır. Elde edilen ekstreler alçak basınç altında 40°C’de rotavaporda yoğunlaştırılıp kurutulmuştur.

2.3. Numune Çözeltilisinin Hazırlanması

Kurutulan ekstre 2 N HCl ile çözülmüş ve çözeltilinin 1 mL’si ayırma hunisine aktarılmıştır. 10 mL kloroform ile 3 kez yıkanarak çözeltilinin pH’sı 0.1 N NaOH ile nötr olacak şekilde ayarlanmıştır. Ardından çözeltiye 5 mL bromkrezol yeşili solüsyonu ve 5 mL fosfat tamponu ilave edilerek karıştırılmıştır. Oluşan alkaloit-bromkrezol yeşili kompleksi 1, 2, 3 ve 4 mL kloroform ile kuvvetlice çalkalanarak ekstre edilmiş ve kompleksin kloroformlu fazda çözünmesi sağlanmıştır. Kloroformlu faz 10 mL’lik bir balon jöje içinde toplanmıştır. Gerekli seyreltme işlemlerinden sonra kloroform içinde çözünmüş halde bulunan kompleksin absorbansı 470 nm’de ölçülmüştür [16].

2.4. Reaktiflerin Hazırlanması

-Bromkrezol yeşili çözeltisi

Bromkrezol yeşili Shamsa vd. tarafından rapor edilen protokole göre hazırlanmıştır [15]. 69,8 mg bromkrezol yeşili 3 mL 2 N NaOH ve 5 mL distile suda tamamen çözülmüş ve distile su ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır.

-Fosfat tamponu (pH =4.7)

71.6 g Na₂HPO₄ 1 L distile suda çözülerek 2 M Na₂HPO₄ çözeltisi hazırlanmıştır. Ardından 0.2 M sitrik asit ile pH 4.7'ye ayarlanmıştır.

2.5. Atropin standart çözeltisinin hazırlanması

Atropin standart çözeltisi için 10 mg saf atropinin (Sigma, ABD) 10 mL distile suda çözülmüş ve çözeltiden 1 mL alınarak hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır.

2.6. Kalibrasyon grafiğinin hazırlanması

Atropin standart çözeltisinden 0.4, 0.6, 0.8, 1 ve 1.2 mL alınarak farklı ayırma hunilerine aktarılmıştır. 5 mL fosfat tampon (Ph=4.7) ve 5 mL bromkrezol yeşili çözeltisi eklenerek 1, 2, 3 ve 4 mL kloroform ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Kloroformlu fazlar 10 mL'lik balon jöjede toplanmıştır. Ardından koroformda çözülmüş halde bulunan atropin-bromkrezol kompleksinin absorbanası köre karşı 470 nm'de UV spektrofotometresinde (Shimadzu UV-1700) ölçülmüştür.

3. Bulgular

Deneyde kullanılan ekstraksiyon yöntemi ile diğer organik bileşiklerin nihai çözeltide bulunmadığı yalnızca alkaloidleri ihtiva eden bir ekstre elde edilmiştir. Bu sayede bromkrezol yeşili ile alkaloidler bire bir reaksiyona girmekte ve sarı renkli katım bileşiği oluşmaktadır.

Tablo 1'de *H. reticulatus* ve *H. niger* çiçek, gövde, meyve ve yaprak kısımlarında bulunan total alkaloid miktarı mg/g cinsinden ifade edilmiştir. Total alkaloid miktarı en fazla *H. niger* yaprağında 3.04 mg/g ve *H. reticulatus* çiçek ve yaprağında 2.80 mg/g olarak kaydedilmiştir.

Tablo 1. *H. reticulatus* ve *H. niger* çiçek, gövde, meyve ve yaprak kısımlarında tespit edilen total alkaloid miktarı

Bitki adı	Bitki kısımları	Total alkaloid (mg/g)
<i>H. reticulatus</i>	Çiçek	2.80
	Gövde	2.34
	Meyve	2.40
	Yaprak	2.80
<i>H. niger</i>	Çiçek	2.70
	Gövde	2.94
	Meyve	2.74
	Yaprak	3.04

4. Sonuçlar ve tartışma

Bitki materyallerinde alkaloidlerin belirlenmesi için farklı hassasiyetlere sahip gravimetrik ve ya titrimetrik yöntemler kullanılabilir. Ancak bu yöntemlerin bazı eksiklikleri bulunmaktadır. Gravimetrik yöntemde elde edilen kalıntının safsızlıklar içerdiği gözlenmiştir. Titrimetrik yöntemlerde ise son noktanın ekstrenin rengiyle maskelenmesi gibi dezavantajlar bulunmaktadır. Öte yandan tüm alkaloidler için geçerli sabit bir yöntem yoktur. HPLC gibi yüksek duyarlılığa sahip yöntemler total alkaloidlerin belirlenmesi için rutin yöntemler değildir ve bu yöntemler oldukça maliyetlidir ve özel ekipman gerektirmektedir.

Tropan alkaloidlerinin bromkrezol yeşili ile spektrofotometrik tayini basit ve hassas bir yöntemdir ve çok fazla özel ekipman gerektirmez. Ayrıca kullanılan yöntemin analiz süresi kısadır, hızlı analize imkan vermektedir.

Tropan alkaloidleri (atropin, hiyosiyamin ve skopolamin) tıbbi açıdan önemli farmakolojik aktivitelere sahiptir. Bu bileşiklerin *Hyoscyamus* türlerinden ekstraksiyon ile elde edilmeleri ve ilaç endüstrisinde kullanılmaları türlerin içerdiği total alkaloid miktarının belirlenmesi ile mümkündür. Aynı il içerisindeki farklı yörelerde çevresel etkenlerin farklılaşması nedeniyle bitkinin sentezlediği alkaloid miktarı değişebilmektedir. Ülkemizde yetişen *H. niger* örnekleri ortalama % 0.107 alkaloid içermektedir [17]. Bitkinin içerdiği total alkaloid miktarı % 0.05 ile 0.10 arasında değişebilmekte ve total alkaloid miktarının %50'sini skopolamin oluşturmaktadır [18]. Literatürde Gümüşhane'den toplanan *H. niger* örneklerinde %0.068, Erzurum'dan toplananlarda %0.084, Eskişehir'den toplanan örneklerde %0.071 ve Aydın-Osmanbükü Yöresi'nden toplanan örneklerde ise % 0.214 oranında alkaloid tespit edildiği bildirilmiştir [19,20]. Bursa Yöresi'nden toplanan *H. niger* yaprak örneklerinde ise total alkaloid oranı % 0.251 ve % 0.195 olarak

hesaplanmıştır [21]. Baytop ve Tanker tarafından yapılan çalışmada *H. reticulatus* yapraklarının % 0.011 ile 0.027 oranında alkaloid içerdiği belirtilmektedir [22]. Van yöresinde 3 farklı alandan toplanan örneklerde ise % 0.058, % 0.116 ve %0.231 oranında alkaloid saptanmıştır [8].

Çalışmamız ile Sivas bölgesinde doğal olarak yetişen *H. niger* ve *H. reticulatus*'un çiçek, gövde, meyve ve yaprak kısımlarının tümünün tropan alkaloidlerini içerdiği gösterilmiştir. Çiçek kısmı dışında *H. niger*'in diğer tüm kısımları *H. reticulatus*'tan daha fazla alkaloid taşımaktadır. İki türde de total alkaloid miktarı yaprak kısımlarında daha fazladır. Elde edilen bulgular ışığında Sivas yöresinde yetişen *H. niger* ve *H. reticulatus* ilaç endüstrisinde tropan alkaloidlerinin elde edilmesi amacıyla kullanılabilir. Bu sayede ülkemiz zengin florası değerlendirilerek tropan alkaloidleri için hammadde kaynağı sağlanabilir.

Kaynaklar

- [1] Düzenli, A., & Topaktaş, M. (1986, 16-19 Mayıs). Doğal tıbbi bitkilerin tanınması ve kültüre alınması. Bildiri VI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Ankara'da sunulmuştur.
- [2] Kan, Y., & Arslan, N. (2001). *Datura stramonium* L. 'nin botanik varyetelerinin farklı organlarının total alkaloid miktarları ve verimi yönünden karşılaştırılması. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 30(3), 1-12.
- [3] Aslan, S., Akan, H. & Pekmez, H. (2020). Yaslıca beldesi ve Arıkök mahallesi (Şanlıurfa)'nin etnobotanik açıdan araştırılması. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 13(1), 44-61. <https://doi.org/10.46309/biodicon.2020.730293>
- [4] Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2008). Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. Chichester, UK: John Wiley & Sons.
- [5] Drager, B. (2002). Analysis of tropane and related alkaloids. *Journal of Chromatography A*, 978, 1-35. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01387-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01387-0)
- [6] Maldoni, B. (1991). Alkaloids: isolation and purification. *Journal of Chemical Education*, 68(8), 700-703.
- [7] Dewick, P.M. (2009). Medicinal natural products, a biosynthetic approach (3rd ed). Chichester, UK: John Wiley & Sons.
- [8] Yücel, U.M. & Yılmaz, O. (2014). Van yöresinde yetişen iki *Hyoscyamus* (banotu) türünün total alkaloid miktarları. *Van Veterinary Journal*, 25(3), 77-80.
- [9] Qi, M., Wang, P., Lang, Y.X., Lang, J.L., Fu, R.N. (2002). Simultaneous determination of caffeine, theophylline, and theobromine by HPLC. *Journal of Chromatographic Science*, 40, 45-48. <https://doi.org/10.1093/chromsci/40.1.45>
- [10] Masatoki, K. & Hirokazu, T. (2000). Fluorometric reactions of purines and determination of caffeine. *Talanta*, 36, 1171-1175. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(89\)80047-5](https://doi.org/10.1016/0039-9140(89)80047-5)
- [11] Qing-Chun, C., Wang, J. (2001). Simultaneous determination of artificial sweeteners, preservatives, caffeine, theobromine, and theophylline in food and pharmaceutical preparations by ion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 937, 57-64. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)01306-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01306-1)
- [12] Chernyseva, N.N., Abdullin, I.F., Bundikov, G.K. (2002). Coulometric determination of purine alkaloids series with electrogenerated chlorine. *Journal of Analytical Chemistry*, 56, 663-665.
- [13] Cai, J., Liu, B., Lin, P., Su, Q. (2003). Fast analysis of nicotine related alkaloids in tobacco and cigarette smoke by megabore capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1017, 187-193. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.07.003>
- [14] Pagliariussi, R.S., Frietas, A.P., Bastos, J.K. (2002). A quantitative method for the analysis of xanthine alkaloids in Paulliniacupana (guarana) by capillary gas chromatography. *Journal of Separation Science*, 25, 371-374. <https://doi.org/10.1002/1615-9314>
- [15] Shamsa, F., Monsef, H., Ghamooshi, R., Verdianrizi, M. (2008). Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32, 17-20.
- [16] Ajanal, M., Gundkalle, M.B., Nayak, S.U. (2012). Estimation of total alkaloid in Chitrakadivati by UV-Spectrophotometer. *Ancient Science of Life*, 31(4), 198-201. <https://doi.org/10.4103/0257-7941.107361>
- [17] Baytop, T. (1963). Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri, İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları.
- [18] Tanker, M. & Tanker, N. (1990). Farmakognazi cilt II, Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.
- [19] Akman, M.Ş. (1952). Aydın ve Muğla illerinde yetişen tıbbi ve zehirli bitkilerin en önemlilerinin farmakolojik toksikolojik etkileriyle, bunlardan hazırlanacak galenik preparatların yabancı memleket müstahzarları ile mukayeseleri, Doçentlik Tezi.
- [20] Baytop, T. & Güner, N. (1983). Une étude sur la teneur en atropine et en scopolamine des Solanacées de Turquie. *İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Mecmuası*, 19, 47-55.
- [21] Yılmaz, O. (1990). Bursa yöresinde yetişen önemli zehirli bitkilerin toksikolojik özellikleri, Doktora Tezi.
- [22] Baytop, A. & Tanker, M. (1962). Anadolu *Hyosyamus*'ları üzerinde araştırmalar. *İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası*, 25, 259-68.