

## Tıbbi Önemi Olan *Hyoscyamus niger* L.: Fenolik Madde İçeriği ve *in vitro* Antiproliferatif Aktiviteleri

Yusuf ALAN<sup>1</sup>, Murat KÜRŞAT<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Muş Alparslan Üniversitesi

<sup>2</sup>Biyoloji Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Bitlis Eren Üniversitesi  
(ORCID: [0000-0003-0007-0212](https://orcid.org/0000-0003-0007-0212)) (ORCID: [0000-0002-0861-4213](https://orcid.org/0000-0002-0861-4213))



**Keywords:** *Hyoscyamus niger*, Antiproliferatif, Fenolik madde, *in vitro*.

### Abstract

Tıbbi önemi olan bitkiler, zengin bileşenleri nedeniyle kanser de dahil çeşitli hastalıkların tedavisinde en önemli ilaç kaynaklarından birini temsil etmektedirler. Bu çalışmanın amacı, *Hyoscyamus niger* bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanol (HNM) ve su (HNS) ekstraktlarının 17 farklı fenolik madde içeriğini araştırmak, *in vitro* antiproliferatif aktivitesini değerlendirmektir. Bu amaçla ekstraktların 17 farklı fenolik madde içeriği HPLC ile belirlendi. Antiproliferatif aktivite ise, karaciğer kanseri hücre hattı (Hep G2), osteosarkoma hücre hattı (U-2 OS) ve sağlıklı fare fibroblast (L-929) hücre hatlarına karşı MTT testi ile tayin edildi. Ekstraktlarda en fazla miktarda askorbik asit belirlendi. HNM ekstraktı içerik yönünden HNS ekstraktından daha zengindi. Antiproliferatif aktivite sonuçlarına göre en güçlü etkiyi HNM ekstraktı, özellikle Hep G2'ye karşı gösterdi. Genel olarak değerlendirildiğinde HNM ekstraktının fenolik madde içeriği ve antiproliferatif aktivite bakımından daha iyi olduğu belirlendi. Bitki ekstraktlarının aktif bileşenlerinin izole edilerek daha fazla *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların yapılması önem arz etmektedir.

## *Hyoscyamus niger* L. of Medical Importance: Phenolic Substance Content and *in vitro* Antiproliferative Activities

**Keywords:** *Hyoscyamus niger*, Antiproliferative, Phenolic substance, *in vitro*.

### Abstract

Medically important plants represent one of the most important sources of drugs in the treatment of various diseases, including cancer, due to their rich components. The aim of this study was to investigate the content of 17 different phenolic substances of methanol (HNM) and water (HNS) extracts of the aerial parts of the *Hyoscyamus niger* plant and to evaluate the *in vitro* antiproliferative activity. For this purpose, the content of 17 different phenolic substances of the extracts was determined by HPLC. Antiproliferative activity was determined by MTT assay against osteosarcoma cell line (U-2 OS), liver cancer cell line (Hep G2) and healthy mouse fibroblast cell (L-929) cell lines. The highest amount of ascorbic acid was determined in the extracts. HNM extract was richer in content than HNS extract. According to the antiproliferative activity results, HNM extract showed the strongest effect, especially against Hep G2. When evaluated in general, it was determined that HNM extract was better in terms of phenolic content and antiproliferative activity. By isolating the active components of plant extracts. It is important to conduct more *in vivo* and *in vitro* studies.

\*Sorumlu yazar: [botanikkursat@gmail.com](mailto:botanikkursat@gmail.com)

Geliş Tarihi: 28.10.2021, Kabul Tarihi: 23.03.2022

## 1. Giriş

Tıbbi amaçla kullanılan bitkiler tarih boyunca birçok hastalığın tedavisinde önemli bir role sahip olmuşlardır. Birçok önemli tıbbi bitkiyi bünyesinde bulunduran, tabiatta 85 cins ve 2200 den fazla türü barındıran Solanaceae familyasıdır. Bu familyanın ülkemizde doğal olarak yayılış gösteren 9 cins ve 31 türü bulunmaktadır. Eczacılıkta kullanım alanı olan ve zehir etkisi yapan tropan alkaloitleri bu familyaya ait türlerde bulunmaktadır. Sebze olarak kullanılan bitkiler (Domates, Biber, Patlıcan vs.) yönünden de önemli bir familyadır [1]. Bu familyaya ait olan *Hyoscyamus* cinsinin Türkiye florasında *H. niger*, *H. albus*, *H. reticulatus*, *H. aureus*, *H. pusillus* ve *H. leptoclyx* olmak üzere altı türü bulunmaktadır [2]. *Hyoscyamus niger* yaygın olarak henbane, siyah henbane veya kokuşmuş it üzümü olarak bilinen zehirli bir bitkidir [3].

Kanser, modern çağın en yaygın ve ölümcül hastalığıdır [4]. Bitki bazlı ilaçlar, kemoterapötik ilaçlar için birincil kaynak olarak iyi bir etki potansiyeline sahiptir. Kolorektal, lösemi ve göğüs kanseri gibi hastalıkların tedavisinde şu anda kullanılan kemoterapötik ajanlardan bazıları başlangıçta bitkilerden türetilmiştir [5,6]. Bu nedenle, bitkiler antitümör bileşikleri bulundukları için iyi kaynaklardır. Bazı *Hyoscyamus* türlerinden elde edilen tropan alkaloidleri hyoscyamine ve scopolamine'nin analjezik olduğunu göstermiştir [7,8]. *H. niger*, sentezlediği alkaloidlerin dışında, canlılarda son derece etkili rollere sahip saponinler, lignanlar, kumarinolignanlar ve fenolik bileşikleri bünyesinde sentezlemektedir [9]. Bitkisel kaynaklı fenolik bileşikler insan vücudunda kanser ve önemli kalp hastalıklarına karşı koruyucu aktivite göstermelerinin yanı sıra, antioksidan, antiinflamatuvar, anti-allerjik, antimikrobiyal aktiviteleri de bulunmaktadır [10]. Ayrıca önemli bir fenolik bileşik grubu olan flavonoidlerin antioksidan özellikleri sayesinde insan bünyesinde çeşitli kalp rahatsızlıkları ve kanser gibi tehlikeli hastalıklara karşı koruyucu rolleri bulunmaktadır [11]. Tibet Tıbbı'nda *H. niger* antihelmintik, antitümöral ve antipiretik olarak kullanılmaktadır [12].

Literatürde birçok bitki türünün kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri bilinmesine rağmen, bileşiklerin seviyesi ve kalitesi ile biyolojik aktiviteleri coğrafi köken ve yetiştirme koşullarına göre önemli ölçüde değişebilmektedir [13]. Bu nedenle bu araştırma, 1600 m rakıma sahip Ağrı'nın Patnos ilçesinde toplanan *H. niger* bitkisinin fenolik bileşik miktarı ve antikanser aktivitelerini değerlendiren ilk çalışmadır. Bu bitkiden elde edilen

metanol ve su ekstraktlarının 17 fenolik madde miktar tayini Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile yapıldı. Ayrıca ekstraktların karaciğer kanseri hücre hattı (Hep G2), osteosarkoma hücre hattı (U-2 OS) ve sağlıklı fare fibroblast hücre (L-929) hatları üzerindeki antiproliferatif aktiviteleri araştırıldı.

## 2. Material and Metot

### 2.1. Bitki Örneklerinin Toplanması ve Ekstraksiyonu

*H. niger* bitkisi Ağrı ili Patnos ilçesinde toplandı. Toplanan bitki örneklerinin Türkiye Florasına göre tanımlanması yapıldı [2]. Bitki örnekleri herbaryum materyali haline getirilerek Muş Alparslan Üniversitesi, Araştırma Laboratuvarlarında saklanmaktadır. Bitkinin toprak üstü kısımları gölgede kurutulmaya bırakıldı. *H. niger* metanol (HNM) ve su (HNS) ekstraktları daha önce tarafımızca yapılan çalışmada olduğu gibi hazırlandı [14].

### 2.2. HPLC ile Fenolik Madde Analizi

Fenolik madde miktarının belirlenmesi amacıyla, vanilin, gallik asit, askorbik asit, 3,4-dihidroksibenzoik asit, kafeik asit, mirisetin, absisik asit, kersetin, apigenin, kaempferol, kurkumin, katekol, trans-p-kumarik asit, sinamik asit, 4-hidroksibenzoik asit, rosmarinik asit ve salisilik asit standartları kullanıldı. Standartların son konsantrasyonları 10 mg/ml olacak şekilde tartılıp 50 ml'lik balon jöjeler içine konuldu. Hazırlanan standartlar %1'lik asetik asit ile 1/9 oranında asetonitril ilave edilerek çözelti hazırlandı. Çözeltiye 1/1 oranında metanol ilave edilerek standartları çözmek için gerekli olan stok çözelti hazırlandı. Stok çözeltilerden 5 farklı oranda (100 mM, 75 mM, 50 mM, 25 mM ve 10 mM) olacak şekilde numuneler hazırlandı [15]. *H. niger* bitkisinden elde edilen su ve metanol ekstraktları HPLC'ye yüklemek için 20 mg/ml olacak şekilde stok çözeltiyle seyreltilerek, 0,45 µm'lik membran filtreden geçirilerek filtre edildi. Bileşiklerin miktarlarının tespit edilmesinde bileşiklere ait HPLC kromatogramlarından elde edilen entegre alanlar ve standart maddelerin ara stok çözeltileri ile hazırlanan kalibrasyon eğrilerinden yararlanıldı. Fenolik madde analizinde Agilent Technologies 1260 Infinity II HPLC cihazı (Agilent, USA) kullanıldı. Mobil faz olarak solvent A için; %1 asetik asit, B için ise; asetonitril kullanıldı. HPLC konfüğürasyonu 1260 DAD WR dedektör (272, 280 ve 310 nm) , 1260 Quat Pump

VL pompa (1 ml/dk akış hızı), 1260 Vialsampler (20 µl enjekte) ve G7130A kolon fırınından (28 °C) oluşmaktadır. Analiz için kullanılan analitik kolon ACE 5 C18 (250x4.6 mm id)'dir.

### 2.3. Ekstraktların Antiproliferatif Aktivitesi

Çalışmamızda, karaciğer kanseri hücre hattı (Hep G2), osteosarkoma hücre hattı (U-2 OS) ve sağlıklı fare fibroblast hücre (L-929) hatları kullanıldı. Hücre hatları Muş Alparslan Üniversitesi Araştırma Laboratuvarlarından temin edildi. Bu hücre hatları için besiyeri ortamı olarak RPMI (Sigma) kullanıldı. *H. niger* ekstraktları RPMI'da 25, 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarda hazırlanarak sitotoksitelerinin belirlenmesinde 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) testi uygulandı [16]. Hücre hatlı besi ortamı ve ekstrakt içermeyen kuyucuklar kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu kuyucukların mikroplate okuyucuyla (Thermo scientific MULTISKAN GO,

Finland) okutulduktan sonra alınan absorbans sonuçları %100 canlı hücre olarak değerlendirildi. Hücrelerin % inhibisyon oranları aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = 1 - \left( \frac{OD_{\text{Örnek}}}{OD_{\text{Kontrol}}} \right) \times 100$$

### 2.4. İstatistiksel Analiz

Verilerimiz % ortalama ve ortalamanın standart sapması (Mean +- SEM) olarak verildi. Hücre kültürü ve fenolik madde miktarları kendi aralarında One Way ANOVA'yı takiben t testi kullanılarak kıyaslandı. p<0.05 olanlar istatistiksel yönden önemli kabul edildi ve istatistiki önemlilik dereceleri "\*" sembolü ile belirtildi. Buna göre PP<0.05 \*(önemli); P<0.01 \*\*(çok önemli); P<0.001\*\*\* ve P<0.0001\*\*\*\* (yüksek derecede önemli); P>0.05 ns (önemsiz) gösterildi.

## 3. Bulgular ve Tartışma

### 3.1. HPLC Analizi ile Fenoliklerin Miktarları

*H. niger* HNM ve HNS ekstraktlarının fenolik madde miktarları Tablo 1'de verildi. HPLC ile fenolik madde miktarlarına bakıldığında en fazla miktarda askorbik asitin HNS'de (8.13±0,57 µg/ml), en az miktarda sinamik asitin HNM ekstraktında (0.75±0.01 µg/ml) olduğu tespit edildi. HNM ve HNS karşılaştırıldığında 4-hidroksibenzoik asit, trans-p-kumarik asit, mirisetin, absisik asit ve sinamik asit miktarlarında yüksek derecede anlamlı fark tespit edildi. Her iki ekstraktta askorbik asit, 4-hidroksibenzoik asit, trans-p-kumarik asit ve katekol var iken, HNM ekstraktında ayrıca mirisetin, absisik asit ve sinamik asit'in olduğu belirlendi. Toplam fenolik miktarı HNM ekstraktında (15.03±0,05 µg/ml) daha fazla miktarda olup, HNS ekstraktına karşı yüksek derecede anlamlı farkın olduğu gözlemlendi.

*H. niger* yaprak, kök ve tohumlarında hiyosiyamin, atropin, tropan ve skopolamin gibi alkaloidler bulunmuştur [17-19]. Ma ve ark., (2002) alkaloid olmayan birleşiklerin varlığını tespit etmişlerdir [20]. Ayrıca *H. niger* bitkisinin alkaloidlere ek olarak, witanolidler, flavonoidler, lignanlar, kumarinolignanlar, saponinler, gliseritler, glikozitler ve fenolikler içerdikleri bildirilmiştir [12]. Aynı bitkinin fenolik içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir [21]. Yapılan başka bir çalışmada ise, klorojenik asit, rutin ve kuersetin miktarları

belirlenmiştir. Çalışmada, Klorojenik asit 0.4±0.0 mg/g, rutin 9.2±0.5 mg/g ve kuersetin ise 1.1±0.1 mg/g olarak kaydedilmiştir [22]. Çalışmamızda ise, kuersetin varlığı tespit edilmedi. HNM ekstraktının HNS ekstraktından daha fazla fenolik madde içerdiği belirlendi. Bu çalışmaya benzer şekilde *H. niger* bitkisinden elde edilen ekstraktların fenolik içerikleri ile ilgili çalışmalar yok denecek kadar azdır.

### 3.2. Ekstraktların Hücre Hatlarına Karşı Antiproliferatif Aktivitesi

Ekstraktların üç farklı konsantrasyona sahip çözeltileri (25, 50 ve 100 µg/ml) bir gün boyunca Hep G2, U 2 OS ve L-929 hücreleri ile muamele edildi ve absorbansları ölçüldü. Elde edilen absorbans sonuçları ile hücre hatlarının % inhibisyon ve IC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı. Hücre hatlarına ait IC<sub>50</sub> değerleri Tablo 2'de, % inhibisyon grafikleri ise Şekil 1'de verildi.

MTT testi ile ekstraktların %50 gelişme inhibisyonu gösteren IC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı. MTT testi sonuçlarına göre Hep G2 (66.76 µg/ml), U 2 OS (532,59 µg/ml) ve L-929 (201.76 µg/ml) hücreleri ile en düşük IC<sub>50</sub> değeri HNM ekstraktına ait olarak belirlendi. Hep G2 ve L-929 hücre hatlarına karşı farklı konsantrasyonlardaki (25, 50 ve 100 µg/ml) HNM ekstraktı, HNS'ye göre yüksek derecede anlamlı fark gösterdi. Ayrıca HNM ekstraktı U

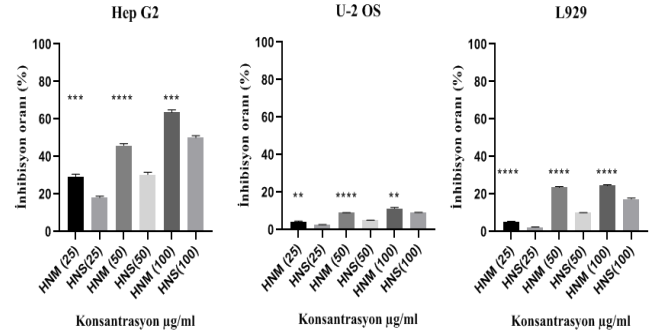
2 OS hücre hattına karşı 50 µg/ml konsantrasyonda uygulandığında, antiproliferatif özelliğinin HNS ekstraktından yüksek derecede anlamlı fark sergilediği tespit edildi. 25 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarda ise HNM ekstraktı HNS'ye karşı çok önemli fark gösterdi.

**Tablo. 1.** *H. niger* ekstraktlarının fenolik madde miktarları (µg/ml)

Fenolikler	Miktarlar (µg/ml)	
	HNS	HNM
Asorbik asit	8.13±0,57 <sup>c</sup>	6.10±0,31
Gallik asit	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00
3,4-Dihidroksibenzoik asit	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00
4-Hidroksibenzoik asit	2.12±0.03 <sup>e</sup>	2.38±0.01
Trans-p-kumarik asit	1.36±0.01 <sup>e</sup>	1.70±0.03
Mirisetin	0.00±0.00 <sup>e</sup>	1.85±0.01
Absisik asit	0.00±0.00 <sup>e</sup>	1.28±0.01
Kuersetin	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00
Apigenin	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00
Kaempferol	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00
Kurkumin	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00
Katekol	1.20±0.08 <sup>a</sup>	0.97±0.02
Vanilin	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00
Kafeik asit	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00
Sinnamik asit	0.00±0.00 <sup>e</sup>	0.75±0.01
Rosmarinik asit	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00
Salisilik asit	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00
Toplam fenolik	12.80±0.04 <sup>e</sup>	15.03±0.05

**Tablo.2.** *H. niger* ekstraktlarının hücre hatları üzerindeki IC<sub>50</sub> değerleri

Hücreler	HNM (IC <sub>50</sub> µg/ml)	HNS (IC <sub>50</sub> µg/ml)
Hep G2	66,76	98,00
U- 2 OS	532,59	576,52
L929	201,76	253,62



**Şekil. 1.** *H. niger* ekstraktlarının % inhibisyon grafikleri.

Polifenolik bileşikler açısından zengin olan tıbbi bitkiler, antioksidan ve antitumör aktiviteyi nedeniyle kanser tedavisinde kullanılan en önemli ilaç kaynaklarından birini temsil etmektedir. Bu nedenlerle, kanser tedavisi ve onkolojik araştırmalar için çok önemli bir portal oluşturan bitkilerden yeni antikanser ajanlar ve bileşikler elde edilmeye çalışılmaktadır. Bitki kaynaklı tümör inhibitörleri, kanser hücrelerinin tipine ve bitki türlerinin yanı sıra kullanılan ekstraktta da bağlıdır. Çoğu kemo önleyici bileşik ve bunların analogları veya türevleri başlangıçta bitki kökenlidir ve çeşitli *in vitro* ve *in vivo* test sistemlerinde kendiliğinden ve kimyasal mutajenezi inhibe eder [23]. Hyoscyamus cinsine ait bitki ekstraktının Hep G2 hücreleri üzerindeki antikanser aktivitesi incelenmiş ve hücre proliferasyonunun inhibisyon yüzdesinin %97 olduğu belirlenmiştir [24]. *H. albus* yapraklarından hazırlanan MeOH ekstresinin farklı hücre dizileri üzerinde güçlü sitotoksik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [25]. *H. niger* ekstraktı, tüm zaman dilimlerinde Hep G2 kanser hücre dizisine karşı sitotoksik aktivite sergilemiştir. Aynı ekstrakt, RD ve AMN-3

hücre hatları üzerinde orta derecede sitotoksik etkiye sahip iken, normal hücre hatları üzerinde hiçbir etki göstermemiştir [26]. Ayrıca *H. niger* ekstraktı LNCaP insan prostat kanseri hücrelerinde orta derecede sitotoksikite sergilemiştir [20]. Başka bir çalışmada ise, *H. niger* yaprak ve tohum ekstraktlarının kanser hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri değişkenlik göstermiştir. Bazı hücre dizilerinde sitotoksik reaksiyona neden olurken, diğerlerinde hücre proliferasyonunu indüklemiştir. *H. niger* ekstraktlarının sitotoksikite aralığının, çeşitli kanser hücre hatlarında %7 ile %30 arasında değiştiği ve bu bitkinin antikanser bileşikleri içermediğini düşündürmüştür [13]. Kaempferol, kuersetin, antosiyanlar, kumarik asit ve ellagik asit gibi bazı bileşiklerin meme hattı hücreleri (MCF-7), oral (KB,CAL-27), kolon (HT-29, HCT-116) ve prostat (LNCaP, DU-145) gibi insan kanser hücrelerinin büyümesini engelleyebileceği bildirilmiştir [27,28].

Bu çalışmada, özellikle metanol ekstraktı konsantrasyon artışına bağlı olarak en iyi antiproliferatif aktiviteyi Hep G2 hücre hattına karşı gösterdi. Ayrıca ekstraktların U 2 OS ve L929'a karşı düşük antiproliferatif aktivite gösterdiği belirlendi. Bu durum konsantrasyon, kullanılan çözücü ve hücre hatlarına bağlı olarak antiproliferatif aktivitenin değişkenlik gösterebileceği bilgisini doğrulamaktadır. Aynı zamanda ekstraktların kaempferol ve kuersetin gibi fenolikleri içermemelerinden dolayı U 2 OS hücre hattına karşı iyi antiproliferatif aktivite göstermediği düşünülmektedir. Bununla birlikte metanol ekstraktında daha fazla miktarda kumarik asit bulunmasından dolayı, daha iyi antiproliferatif aktivite sergilemesi literatürdeki bilgileri doğrulama niteliğindedir. Ayrıca, toprak yapısı, ekolojik faktörler, genotipler ve iklim koşullarının bitki türlerindeki biyokimyasal içeriklerde farklılıklara yol açtığı bilinmektedir [29]. Bu nedenle bu çalışma ile önceki çalışmaların antiproliferatif aktivite

sonuçlarının değişkenlik göstermesinin nedeni bitkilerin toplandığı bölgedeki farklılıklardan kaynaklanabilir. Elde edilen sonuçlar, farklı bölgelerdeki bitkilerin biyolojik aktiviteler üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalara katkı sunmaktadır.

#### 4. Sonuç ve Öneriler

Kanser, yüksek morbidite ve mortalitesi nedeniyle tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Doğal olarak elde edilen antikanser bileşikler nispeten daha az yan etkiye sahiptir, bu nedenle araştırma için ana odak noktası olmaya devam etmektedir. *H. niger* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen saf su ve metanol ekstraktlarının fenolik madde içerikleri ve antiproliferatif aktivitesi araştırıldı. HPLC analiz sonuçlarına göre, en fazla oranda askorbik asit varlığı belirlendi. HNM ekstraktı içerik bakımından HNS ekstraktından daha zengindi. Ekstraktların antikanser aktivite sonuçlarına göre en güçlü etkiyi HNM ekstraktı, özellikle Hep G2'ye karşı gösterdi. Bu durumun nedeninin, ekstraktların içerdiği bileşiklerin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Gelecekteki çalışmalar, aktif bileşenleri izole etmeyi ve saflaştırmayı ve bunların daha farklı kanser hücreleri üzerindeki etkisini araştırmayı amaçlayacaktır. Bununla birlikte, aktif bileşenlerin tam etki modunu keşfetmek için daha fazla *in vivo* ve *in vitro* çalışmaya ihtiyaç vardır.

#### Yazarların Katkısı

Bu çalışmada tüm katkı yazarlara aittir.

#### Çıkar Çatışması Beyanı

Bu çalışmada yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

#### Araştırma ve Yayın Etiği Beyanı

Yapılan çalışmada araştırma ve yayın etiğine uyulmuştur.

## Kaynaklar

- [1] N. Tanker, M. Koyuncu and M. Coşkun, *Solanaceae*, Farmasötik Botanik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 2007.
- [2] P. H. Davis, *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh University Press, Edinburgh, 1975.
- [3] O. Kennedy David, *The Delirians-The Nightshade (Solanaceae) Family. Plants and the Human Brain*, Oxford University Press, New York,, 2014.
- [4] R. Siegel, D. Naishadham and A. Jemal, “Cancer statistics” *CA: A Can. J. for Clin.*, vol. 62, pp. 10-29, 2012.
- [5] T. Huang, W. H. Gong, X. C. Li, C. P. Zou, G. J. Jiang, X. H. Li and D. P. Feng, “Induction of apoptosis by a combination of paclitaxel and carboplatin in the presence of hyperthermia”, *Asian Pac. J. of Can. Prev.*, vol. 13, pp. 81-85, (2012).
- [6] H. J. Park, M. J. Kim, E. Ha and J. H. Chung, “Apoptotic effect of hesperidin through caspase3 activation in human colon cancer cells”, *SNU-C4. Phytomedi.*, vol. 15, pp. 147-151, 2008.
- [7] M. Uzun and A. Kaya, “Traditional medicinal plants used for oral and dental diseases in Turkey”, *Bio. Divers. and Con.*, vol.12, no. 1, pp. 138-148, 2019.
- [8] L. Mateus, S. Cherkaoui, P. Christen and J. L. Veuthey, “Capillary electrophoresis for the analysis of tropane alkaloids: Pharmaceutical and phytochemical applications”, *J. of Pharmac. and Biome. Analy.*, vol. 18, pp. 815-825, 1998.
- [9] A. M. J. Aljibouri, K. W. Al-samarraei, A. S. Abd, D. M. Magee and A. J. A. Ali, “Alkaloids production from callus of *Hyoscyamus niger* L. in vitro”, *J. of Life Scien.*, vol. 6, no. 8, pp. 874, 2012.
- [10] N. B. Tuncel and N. Yılmaz, “Kaz Dağları’ndan toplanan bazı bitkilerin fenolik asit kompozisyonlarının yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile belirlenmesi”, *Akad. Gıda*, vol. 8, no. 3, pp. 18-23, 2010.
- [11] B. Stavric, “Role of chemopreventers in human diet”, *Clinic. Bioch.*, vol. 27, no. 5, pp. 319-332. (1994).
- [12] A. S. Begum, “Bioactive non-alkaloidal secondary metabolites of *Hyoscyamus niger* Linn. seeds: A review”, *Res. Jour. of Seed Scien.*, vol. 3, pp. 210–217, 2010.
- [13] D. Uğur, H. Güneş, F. Güneş and R.Mammadov, “Cytotoxic activities of certain medicinal plants on different cancer cell lines”, *Turk. J. of Pharmac. Sci.*, vol. 14, no. 3, pp. 222-230, 2017.
- [14] Y. Alan and N. Yılmaz, “Phenolic substance contents and biological activities of *Verbascum Insulare* Boiss. & Heldr”, *Extrac., Farmacia*, vol. 67, no. 4, pp. 641-647, 2019.
- [15] S. Tapan, “Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, *Sonchus Arvensis* and *Oenanthe Linearis* of north-eastern region in India”, *J. Appl. Pharm. Sci.*, vol. 6, pp. 157-166, 2016.
- [16] E. Alkış, Ü. Keleştemür, Y. Alan, N. Turan and Buldurun, “Cobalt and ruthenium complexes with pyrimidine based schiff.base: Synthesis, characterization, anticancer activities and electrochemotherapy efficiency”, *Jour. of Mol. Struct.*, vol. 1226, pp. 129402, 2021.
- [17] D. Frohne and H. J. Pfander, *A Colour Atlas of Poisonous Plants*, Wolfe Publishing, London, UK., 1983.
- [18] M. Ghorbanpour, M. Hatami and M. Hatami, “Activating antioxidant enzymes, hyoscyamine and scopolamine biosynthesis of *Hyoscyamus niger* L. plants with nano-sized titanium dioxide and bulk application”, *Acta agricul. Slove.*, vol. 105, pp. 23-32, 2015.
- [19] E. K. Akkol, M. Ilhan, E. Kozan, F. Tuğçe, G. Dereli, M. Sak, “Sobarzo-Sánchez EInsecticidal Activity of *Hyoscyamus niger* L. On *Lucilia sericata* Causing Myiasis”, *Plants*, vol. 9, pp. 655, 2020.
- [20] C. Y. Ma, W. K. Liu and C. T. Che, “Lignanamides and nonalkaloidal components of *Hyoscyamus niger* seeds”, *Jour. of Nat. Prod.*, vol. 65, no. 2, pp. 206-209, 2002.
- [21] K. Hajipoor, A. M. Sani and A. Mohammad, “In vitro antioxidant activity and phenolic profile of *Hyoscyamus niger*”, *IJBPAŞ*, vol. 4, no. 7, pp. 4882-4890, 2015.
- [22] A. R. Jassbi, R. Miri, M. Masroorbabanari, M. Asadollahi, M. Attarroshan and I. T. Baldwin, “HPLC-DAD-ESIMS analyses of *Hyoscyamus niger* and *H. reticulatus* for their antioxidant constituents”. *Austin Chromatogr*, vol. 1, no. 5, pp. 1022, 2014.

- [23] W. U. Xifeng, G. Jian and M. Spitz, “Mutagen sensitivity; Genetic predisposition factor for cancer”, *Canc. Res.*, vol. 67, pp. 3493–3495, 2007.
- [24] S. E. Bassem, F. Walid, M. Khaled, M. Salwa and E. May, “Screening of natural products for therapeutic activity against solid tumors”, *Ind. J. of Experim. Bio.*, vol. 48, pp. 258-284, 2010.
- [25] M. Yahia, M. Yahia, A. Benhouda and H. Haba, “New Biological Anticancer Activities of Atropine Isolated From Algerian *Hyoscyamus albus*'s Leaves”, *Pharmacologyonline*, vol. 3, pp. 286-296, 2018.
- [26] A. O. Ismeel, “Cytogenetic and cytotoxic studies on the effect of phytoinvestigated active compounds of *Hyoscyamus niger* (in vivo and ex vivo) ”, PhD thesis, Al-Nahrain University- College of Science, Iraq, 2011.
- [27] K. Murota and J. Terao, “Antioxidative flavonoid Q: implication of its intestinal absorption and metabolism”, *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 417, pp. 12–17, 2003.
- [28] Y. Massinissa, Y. Mouloud and A. Benhouda, “Antitumor Activity of Methanolic Fractions Extracted From the Aerial Part of Algerian *Hyoscyamus albus* and apoptotic cell aspect screening”, *Ind. J. of Pharmac. Educa. and Res.*, vol. 52, pp. 1-21, 2018.
- [29] H. Servi, B. Eren Keskin, S. Çelik, U. Budak and B. Kababıyık, “Essential oil and fatty acid composition of endemic *Gypsophila laricina* Schreb. from Turkey”, *Turk J Pharm Sci.*, vol. 16, no. 2, pp. 220-226, 2019.