

Türkiye'nin Bazı *Equisetum* Türleri (*E. palustre*, *E. ramosissimum*, *E. telmateia*) Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar

Pharmacognostical Investigations on Some of the *Equisetum* Species
(*E. palustre*, *E. ramosissimum*, *E. telmateia*) of Turkey

Turhan BAYTOP ve Elçin GÜRKAN *

GİRİŞ

Bazı *Equisetum* türlerinden elde edilen bir drog (Herba Equiseti), pek eski devirlerden beri kan kesici (tüberküloz, ülser, hemoroit vs. de) olarak kullanılmaktadır(1). Bu drog Türkiye'de bilhassa idrar söktürücü ve taş düşürücü olarak tanınır.

Dünya üzerinde bilinen 26 *Equisetum* türünden 7 tanesi Anadolu'da yetiştirilmektedir (2). Bu türlerden 3 tanesi, *E. palustre* L., *E. ramosissimum* Desf. ve *E. telmateia* Ehrh.), gövdelerinin histolojik dokusu ve alkaloidleri yönünden, bu çalışmada tetkik konusu olmuştur.

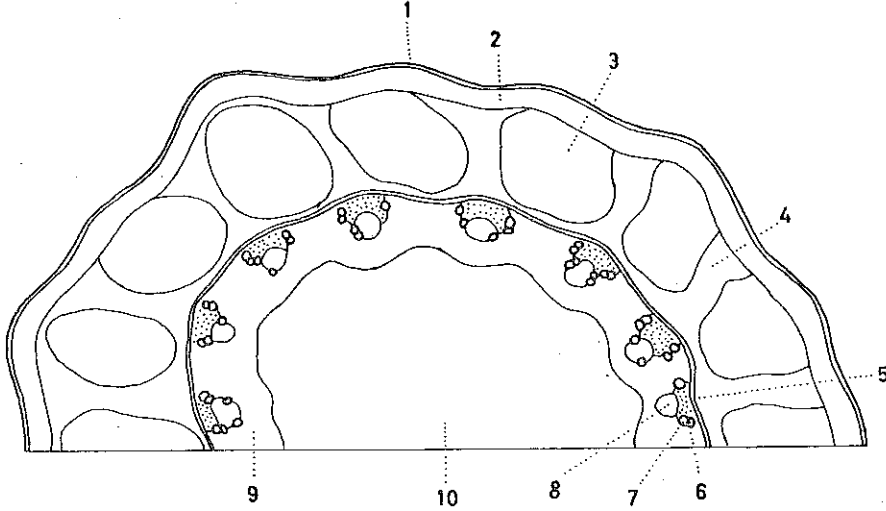
BOTANİK BÖLÜM

Equisetum türlerinin anatomik incelemesinde, gövdeden alınan enine kesitlerde, kabuk parankimasi ve merkezi silindir olmak üzere, iki kısım tefrik edilir.

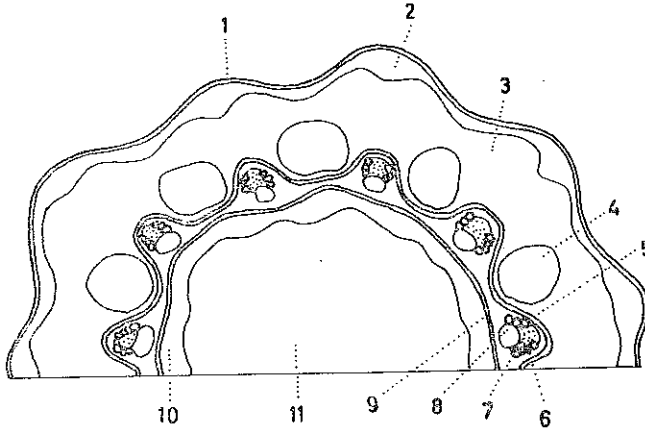
Kabuk parankimasının en dışında silisleşmiş bir epiderma tabakası, onun altında, devamlı veya yalnız kostalarda yer almış olan, silisleşmiş kollenkimatik bir hipoderma, daha sonra, büyüklük ve sayısı türden türe farklı olan ve bir sıra üzerine dizilmiş bulunan lisigen hava boşlukları, hücre cidarı odunlaşmamış, radyal cidarlarda Caspary şeridi bariz olarak görülen endoderma tabakası bulunmaktadır. Bazı türlerde ikinci bir endoderma tabakasına da rastlanılır.

* Farmakognozi Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Üniversite, İstanbul.

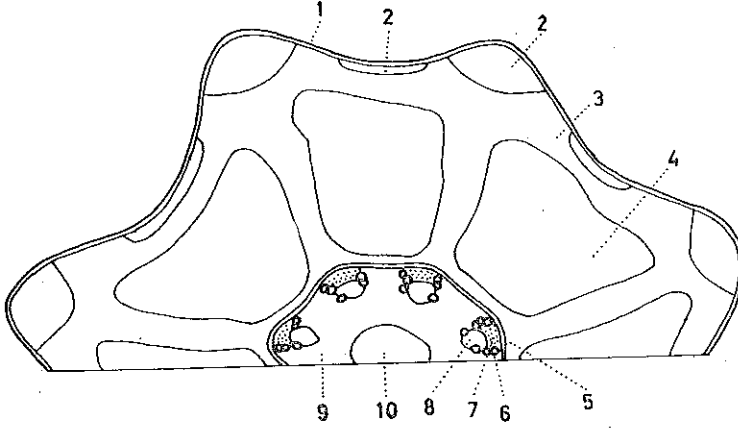
İletme demetleri çok sayıda olup bir sıra halinde dizilmiştir. İletme demetinin dış kısmında floem ve iç kısmında da su alışverişini sağlayan birer küçük boşluğa rastlanır. Ksilemi meydana getiren küçük odun boruları floemin ve bazen de boşluğun iki yanında yer almıştır (3).



Şek. 1. *E. palustre*'nin gövdesinden enine kesitin şeması. 1. Epiderma, 2. Hipoderma, 3. Hava boşluğu, 4. Kabuk parenkiması, 5. Endoderma, 6. Floem, 7. Ksilem, 8. Boşluk, 9. Öz parenkiması, 10. Orta boşluk. (x 35).



Şek. 2. *E. ramosissimum*'un gövdesinden enine kesitin şeması. 1. Epiderma, 2. Hipoderma, 3. Kabuk parenkiması, 4. Hava boşluğu, 5. Dış endoderma, 6. Floem, 7. Ksilem, 8. Boşluk, 9. İç endoderma, 10. Öz parenkiması, 11. Orta boşluk. (x 35).



Şek. 3. *E. telmateia*'nın gövdesinden enine kesitin şeması. 1. Epiderma, 2. Hipoderma, 3. Kabuk parenkiması, 4. Hava boşluğu, 5. Endoderma, 6. Flo-em, 7. Ksilem, 8. Boşluk, 9. Öz parenkiması, 10. Orta boşluk. (x 35).

Tetkik konusu olan 3 türün gövde kesitleri, yukarıdaki genel karakterleri göstermekle beraber, birbirlerinden ayrılmalarını temin eden bir yapıya da sahiptirler (Şekil 1, 2, 3).

1. *E. palustre* türünde kollenkima devamlı olmayıp gövdenin yalnız çıkıntı kısımlarında veya aynı zamanda girintilerde, epidermanın altında birer küme halinde görülmektedir. *E. ramosissimum* ve *E. telmateia* türlerinde ise kollenkima devamlı bir şerit halindedir. Bununla beraber *E. ramosissimum* türünde bu şerit çıkıntı kısımlarında daha kuvvetli, *E. telmateia* türünde ise bu şerit bütün çevre altında aynı genişliktedir.

2. Korteksteki hava boşlukları *E. palustre* ve *E. telmateia* türlerinde iletme demetlerinin dışında, *E. ramosissimum* türünde ise iletme demetlerinin aralarında görülmektedir. Bu hava boşlukları *E. telmateia* türünde çok sayıda, *E. ramosissimum* türünde daha az sayıda ve daha küçüktür. *E. palustre* türünde ise bunlar büyük olup sayıları 6-8 arasında değişmektedir.

3. *E. palustre* ve *E. telmateia* türlerinde bir endoderma tabakası vardır. *E. ramosissimum* türünde ise iletme demetlerini dıştan ve içten içine alan iki endoderma tabakasına rastlanır.

4. *E. ramosissimum* ve *E. telmateia* türlerinde büyük olan orta boşluk, *E. palustre* türünde diğerlerine nazaran daha küçük olarak görülmektedir.

K İ M Y A S A L B Ö L Ü M

Equisetum türlerinde şimdiye kadar alkaloit olarak palustrin, palustridin ve nikotin bulunduğu gösterilmiştir (1, 4-13). Bu alkaloitlerin bazı türlerdeki bulunuşu şüphelidir (14).

Nikotin tespiti için, kurutulmuş olan materyelden etanol ile elde edilen hülâsa, sellüloz sütundan geçirilerek temizlendikten sonra, kâğıt kromatografisi, kâğıt elektroforezi ve ince tabaka kromatografisi teknikleri ile incelendi.

Palustrin tespiti için, materyel %3 HCl ile tüketildi (13). Asitli hülâsa kloroforma çekildi. Elde edilen alkaloit hülâsası alüminyum oksit (15) sütununda temizlendikten sonra kâğıt kromatografisi ve kâğıt elektroforezi ile tetkik edildi.

Çalışmalarda kullanılan materyel aşağıda gösterilen tarihlerde ve adı geçen yerlerden toplanmıştır.

E.palustre - Ekim 1969 da İstanbul - Çorlu yolu üzerindeki Değirmenköy.

E.ramosissimum - Ağustos 1968 ve Ekim 1969 da İstanbul - Çorlu yolu üzerindeki Değirmenköy.

E.telmateia - Ekim 1967 de Belgrat Ormanları, Ağustos 1968 ve Eylül 1969 da İstanbul - Çorlu yolu üzerindeki Değirmenköy.

Numunelerde su ve kül miktarı tayinlerini yaptıktan sonra, saponosit, flavonosit, antrasenosit, tanen, kateşin ve alkaloit araştırılmıştır (16). Bu araştırmalardan elde edilen neticeler Cetvel 1 ve 2 de gösterilmiştir.

Cetvel 1. Su ve kül miktarları.

Tür	Su %	Bütün Kül %	Asitte erimiyen kül %
<i>E. palustre</i>	9	27.3	22.5
<i>E. ramosissimum</i>	10	18.6	16.1
<i>E. telmateia</i>	9	21.8	16.2

Cetvel 2. Glikozit, tanen ve alkaloid aranması.

Tür	G l i k o z i t			Tanen		Kateşin	Alkaloid
	Saponosit	Flavonosit	Antrasenosit	Gallik	Kateşik		
			Bağlı-Serbest				
<i>E. palustre</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>E. ramosissimum</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>E. telmateia</i>	+	+	-	-	-	+	+

Ayrıca glikoz ve fruktoz aranmış (16) ve bu şekerlerin her üç türde de bulunduğu tespit edilmiştir.

Alkaloidlerin tüketilmesi etanol veya asitli su ile yapıldı. Yan maddelerin ayrılmasından sonra, alkaloidlerin teşhisi için kâğıt elektroforezi, kâğıt kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi kullanılmıştır.

1. Nikotin tespiti için yapılan deneyler

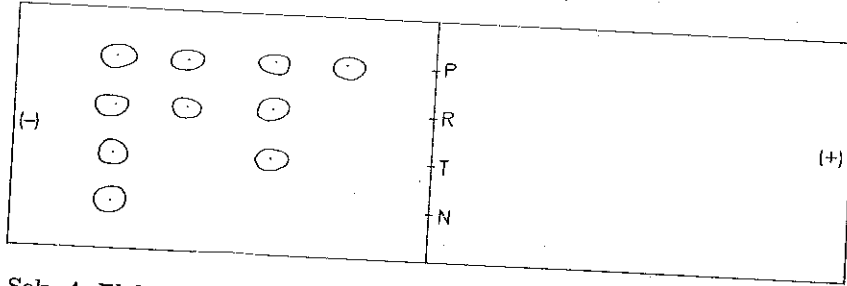
Tüketme: Materiyel % 95 lik kâfi miktar etanol ile kapalı kaplarda 4 gün perkolasyona bırakıldı. Perkolalar 55° C de uçuruldu. Alkaloid taşımayan kısımlar % 1 lik HCl ile çöktürüldü. Süzüntü alkalilendirildikten sonra eter ile ekstraksiyonu yapıldı. Eterli faz çok az kalmaya kadar uçuruldu (1).

Temizleme: Elde edilen alkaloid hülâsası sellüloz sütünden geçirilerek temizlemeye tâbi tutuldu. Sütunların hazırlanması için 8 g Whatman külsüz sellüloz 2 ml sitrat-fosfat tamponu (pH 3.0) ile karıştırılmış ve kuru olarak, 1 cm çapında 30 cm uzunlukta bir cam tüpe yerleştirilmiştir. Kloroform veya etanol hülâsası sütuna konmadan evvel 0.3 g sellüloz ile karıştırılmış, karışımın suyu uçurulmuştur. Bu karışım % 40 su taşıyan eşit hacimde sellüloz ile karıştırılmış, üzerine de bir tabaka halinde temizlenmiş kum ilâve edilmiştir. Sütundan su ile doyurulmuş eter geçirilmiştir. Fakat nikotin ancak dietilamin ilâvesi ile alınabilmiştir (17).

a. Kâğıt elektroforezi ile yapılan deneyler:

Kullanılan usul: Çözücü 0.1 M tartarik asit, Kâğıt Whatman No. 1 veya Schl. Schüll 2043 a, sürüklenme zamanı 1 saat (450 Volt). Şahit madde olarak % 50 lik aseton gözeltisindeki nikotin (%₀₀ 1 lik) ve revelatör olarak da Dragendorff reaktifi kullanıldı (1).

Elektroforezin neticesi Şekil 4 de gösterilmiştir.



Şek. 4. Elektrokromatogram I. P = *E. palustre*, R = *E. ramosissimum*, T = *E. telmateia*, N = Nikotin.

b. Kâğıt kromatografisi ile yapılan deneyler:

Kullanılan usul: Çözücü butanol-glasyal asetik asit-su (4 : 1 : 5), kâğıt Whatman No. 1, sürüklenme zamanı 16 saat ve inen usul, revelatör olarak Dragendorff reaktifi kullanılmıştır (1).

c. İnce tabaka kromatografisi ile yapılan deneyler:

Kullanılan usuller:

1. Silikajel plâkaları butanol-glasyal asetik asit-kesif HCl-su (100 : 5 : 5 : 22) çözücüsünde kromatografiye tâbi tutuldu.
2. 0.5 N KOH ile hazırlanmış silikajel plâkları toluol-metanol-kloroform (90 : 30 : 10) ile yürütüldü (18).
3. İki dimensiyonlu ince tabaka kromatografisi: Burada silikajel plâkları kloroform-metanol-amonyak (60 : 10 : 1) çözücüsünde yürütüldü. 45 dakika kurutuldu. Sonra plâklar 90° çevrilerek kloroform-metanol-asetik asit (60 : 10 : 1) çözücüsünde yürütüldü. 45 dakika kurutulduktan sonra p-amino benzoik asidin etanoldeki % 2 lik eriyiği ve 0.1 M fosfat tamponunun (pH 7) birbiriyle karıştırılması ile elde edilen reaktif püskürtüldü ve 15 dakika kurutulduktan sonra BrCN buharına tutuldu (19).

d. Sonuç:

Kâğıt elektroforezi (Şek. 4) ve çift dimensiyonlu ince tabaka kromatografisi ile yapılan incelemelerde, tetkik edilen her üç türde de, nikotin ile aynı özellikte lekeler elde edilmiştir.

2. Palustrin tespiti için yapılan deneyler

Tüketme: Materyelden palustrin'i elde etmek için aşağıdaki teknik kullanıldı (13).

«1 kg materyel 10 litre % 3 lük HCl ile 18-24 saat 40-50 derecede tutuldu. Asitli çözelti sulp kısımdan prese edildi. Süzülüp 4-5 defa kloroform ile çalkalandı (Kloroform ekstresi A). HCl li çözeltiliye, bâriz alkali reaksiyon verinceye kadar, sulp Na_2CO_3 ve bir parça NaOH ilâve edildi. Çöken kısım süzüldü. Çökelti su ile yıkandı. Alkali çözeltiden alkaloitler 7-8 defa kloroform ile çalkalanarak çekildi (Kloroform ekstresi B). Meydana gelen emülsiyon santrifüje edilerek ayrıldı. Kloroformlu kısım susuz Na_2SO_4 ile kurutuldu. Süzülüp kloroform distile edildi. Teksif edilmiş olan çözelti birkaç kere az miktar HCl ile çalkalandı. HCl li çözelti sulp NaHCO_3 ile nötralleştirildi. Çöken kısımdan sulu kısım ayrıldı. Birkaç defa eterle çalkalandı (Eter ekstresi C). Sulu çözelti 2N NaOH ile kuvvetli alkali yapıldı. 8-9 defa eterle çalkalandı (Eter ekstresi D). Sonra 4-5 defa kloroformla çalkalandı (Kloroform ekstresi E). Na_2SO_4 üzerinden kurutulan eter ekstresi E eterden kurtarıldı. Bakiye seyreltik HCl ile alındı. İcap ettiği taktirde, temizlemeye nötralizasyon, çalkalama vs. ile devam edildi. Kloroform ekstresi E palustrin dihidroklorür kristalizasyon artığı ile beraber yeni bir temizlemeye tâbi tutuldu. Hemen tamamen renksiz olan palustrinin HCl deki çözeltisi vakumda kuruyuncaya kadar buharlaştırıldı ve palustrin hidroklorür etil alkol veya daha iyisi etil ve isopropil alkol karışımından billürlandırıldı.»

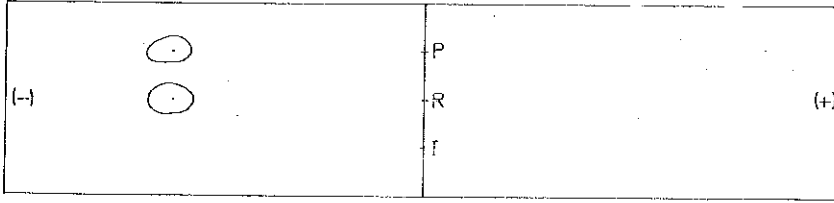
Biz 4.300 kg materyel (*E. palustre*) kullanarak bir tüketme yaptık. Neticede metotta belirtilen kristalize bir alkaloit bakiyesi yerine kuvvetli bir alkaloit reaksiyonu veren koyu sarı renkli bir sıvı elde ettik.

Temizleme: 1 cm çapında, 60 cm uzunlukta musluklu cam borunun içine, adsorban yüksekliği 35 cm olmak üzere, Al_2O_3 (Alumi-

nium oxid Fluka Typ 507 C) kondu. Vakumda buharlaştırılmış olan alkaloit bakiyesi 10 ml kloroform-metanol karışımı (90 : 10) ile alınarak Al_2O_3 sütununa tatbik edildi. Sütundan önce kloroform, sonra kloroform-metanol (90 : 10) geçirildi (15).

a. Kâğıt kromatografisi ile yapılan deneyler:

Kullanılan usul: Çözücü n-butanol-d. HCl-glasyal asetik asit-su (100 : 5 : 5 : 22), kâğıt Whatman No. 1, revelatör heksakloroplatinat reaktifi.



Şek. 5. Elektrokromatogram II : P=*E. palustre*, R=*E. ramosissimum*,
T = *E. telmateia*.

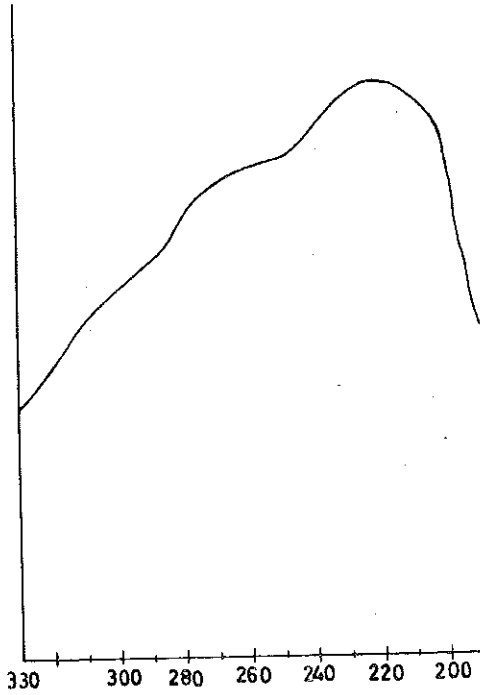
b. Kâğıt elektroforezi ile yapılan deneyler:

Kullanılan usul: Burada nikotin tespiti için kullanılan usul kullanılmıştır. Yalnız reaktif Dragendorff yerine heksakloroplatinattır.

Neticede *E. palustre* ve *E. ramosissimum* türlerinde palustrin'e ait lekeler görüldü. *E. telmateia* türünde böyle bir leke görülmedi.

c. Spektrofotometrik tayin:

Kullanılan usul: 2 nci paragrafta belirtilen metoda göre elde edilen koyu sarı renkli sıvı kuruluğa kadar uçurulduktan sonra bakiye 2 ml etanolde çözüldü. Bu çözeltiden 0.05 μ l alınarak 3.5 ml etanol içinde solusyonu hazırlandı ve Beckman DB 8 spektrofotometrisinde UV-spektrumu alındı. Elde edilen eğri, literatüre (20) uygun olarak, 220 nm de maksimum göstermektedir.



Şek. 6. *E. palustre* türünden elde edilen alkaloit (palustrin) in UV-spektrumu.

d. Sonuç:

Elektrokromatogram II (Şek. 5) de görüldüğü gibi, tetkik edilen türlerden yalnız *E. palustre* ve *E. ramosissimum* türlerinde, palustrin'e tekabül eden bir leke görülmüştür. *E. palustre*'den tüketilen saf alkaloit palustrin'in UV-spektrumuna uygun bir spektrum vermiştir (Şek. 6).

Ö Z E T

Türkiye'de yetişen *Equisetum* türünden 3 tanesi (*E. palustre*, *E. ramosissimum* ve *E. telmateia* üzerinde botanik ve kimyasal bakımdan incelemeler yapıldı.

Gövdeden alınan enine kesitlerin anatomik olarak incelenmesiyle, her 3 türü tefrik etmek kabildir (Şek. 1, 2 ve 3):

1. *E.palustre* türünde kollenkima epidermanın altında devamlı olmayıp, gövdenin yalnız çıkıntı kısımlarında ve aynı zamanda girintilerde, birer küme halinde görülmektedir. *E. ramosissimum* ve *E. telmateia* türlerinde ise kollenkima devamlı bir şerit halindedir. Bununla beraber *E. ramosissimum* türünde bu şerit, çıkıntı kısımlarda daha kuvvetli, *E. telmateia* türünde ise bu şerit bütün çevre altında aynı genişliktedir.

2. Korteksteki hava boşlukları *E.palustre* ve *E. telmateia* türlerinde iletme demetleri halkasının dışında, *E. ramosissimum* türünde ise iletme demetlerinin aralarında görülmektedir. Bu hava boşlukları *E. telmateia* türünde çok sayıda, *E. ramosissimum* türünde daha az sayıda ve daha küçüktür. *E.palustre* türünde ise bunlar büyük olup sayıları 6-8 arasında değişmektedir.

3. *E.palustre* ve *E. telmateia* türlerinde bir endoderma tabakası vardır. *E. ramosissimum* türünde ise iletme demetleri halkasını dıştan ve içten içine alan iki endoderma tabakasına rastlanır.

4. *E. ramosissimum* ve *E. telmateia* türlerinde büyük olan orta boşluk, *E.palustre* türünde diğerlerine nazaran daha küçük olarak görülmektedir.

Kimyasal incelemeler sonunda aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur:

E.palustre'de: su % 9, kül % 27.3, HCl de çözünmeyen kül % 22.5. *E. ramosissimum* da: su % 10, kül % 18.6, HCl de çözünmeyen kül % 16.1. *E. telmateia*'da: su % 9, kül % 21.8, HCl de çözünmeyen kül % 16.2.

Her üç türde de glikoz, fruktoz ve alkaloit bulunmaktadır. *E. telmateia* türünde ayrıca saponosit, flavonosit ve kateşin deneyleri positif netice vermiştir. Bitkilerin toprak üstü kısımlarından hazırlanan temizlenmiş hulâsalardan elde edilen alkaloitlerden kâğıt kromatografisi, kâğıt elektroforezi ve UV-spektroskopisi usulleri ile tetkikinde *E.palustre*, *E. ramosissimum* ve *E. telmateia* türlerinde nikotin, *E.palustre* ve *E. ramosissimum* türlerinde ise ayrıca palustrin bulunduğu sonucuna varılmıştır. .

S U M M A R Y

Botanical and chemical investigations are made on 3 (*E. palustre*, *E. ramosissimum* and *E. telmateia*) of the 7 *Equisetum* species which grow in Turkey.

It is possible to distinguish the 3 species by the anatomical characters of the transverse sections of their stems (Fig. 1, 2 and 3):

1. The collenchyma, underlying the epidermis, is discontinuous in *E.palustre*, it is only found on the ridges, or, at the same time, in the grooves. On the contrary, it forms a continuous layer in *E.ramosissimum* and *E.telmateia*, with the difference that this layer is more thick on the ridges in *E.ramosissimum* and is equally of the same width all around the stem in *E.telmateia*.

2. The cortical air cavities are situated outside the ring of vascular bundles in *E.palustre* and *E.telmateia*, whereas they alternate with these bundles in *E.ramosissimum*. These cavities, which are numerous in *E.telmateia*, are less in number and more small in *E.ramosissimum*. These are larger in *E.palustre* and their number varies between 6 and 8.

3. There is only one layer of endodermis in *E.palustre* and *E.telmateia*, but there are two layers in *E.ramosissimum*, which surround the ring of vascular bundles both from inside and outside.

4. The central hollow which is large in *E.ramosissimum* and *E.telmateia*, is smaller in *E.palustre*.

The following results are obtained from the chemical investigations:

In *E.palustre*: moisture 9 %, ash 27.3 %, acid soluble ash 22.5 %. In *E.ramosissimum*: moisture 10 %, ash 18.6 %, acid soluble ash 16.1 %. In *E.telmateia*: moisture 9 %, ash 21.8 %, acid soluble ash 16.2 %

All these 3 species contain glucose, fructose and alkaloids. Furthermore saponin, flavone and catechin tannin experiments give positive results. The examination with paper chromatography, paper electrophoresis and UV absorption spectroscopy of the alkaloids obtained from the purified extracts prepared from the aerial parts of the plants, reveals that *E.palustre*, *E.ramosissimum* and *E.telmateia* contain nicotine, whereas *E.palustre* and *E.ramosissimum* contain palustrine as well.

L İ T E R A T Ü R

1. Phillipson J. D., Melville, C. J., *J. Pharm. Pharmacol.*, **12**, 506 (1960).
2. Davis, P. H., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, **1**, 31, University Press, Edinburgh (1965).
3. Deysson, G., *Éléments d'Anatomie des Plantes Vasculaires*, **1**, 133, Société d'édition d'enseignement supérieur, Paris (1954).
4. Garnier, G., Bezanger - Beauquesne, L., Debraux, G., *Ressources Médicinales de la Flore Française*, **1**, 90, Vigot Frères éditeurs, Paris (1961).
5. Karrer, W., *Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe*, Birkhaeuser Verlag, Basel und Stuttgart (1958).
6. Karrer, P., Eugster, C. H., *Helv. Chim. Acta*, **32**, 957 (1949).
7. Kylin, H., *Z. Physiol. Chem.*, **163**, 229 (1927). - Ref. Karrer, W., *Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe*, 739, Birkhaeuser Verlag, Basel und Stuttgart (1958).
8. Manske, R. H. F., *Can. J. Research*, **20B**, 265 (1942). - Ref. C.A., **37**, 5761 (1943).
9. Mayer, C., Trueb, W., Wilson, I., Eugster, C. H., *Helv. Chim. Acta*, **51**, 661 (1968).
10. Nakamura, H., Hukuti, G., *J. Pharm. Soc. Japan*, **66**, 449 (1940). - Ref. Geissman, T. A., *The Chemistry of Flavonoid Compounds*, 324, The Mac Millan Company, New York (1962).
11. Nelson, E. K., Mattern, H. H., *J. Amer. Chem. Soc.*, **53**, 3046 (1931). - Ref. Karrer, W., *Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe*, 350, Birkhaeuser Verlag, Basel und Stuttgart (1958).
12. Sosa, A., *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **31**, 57 (1949). - Ref. Karrer, W., *Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe*, 625, Birkhaeuser Verlag, Basel und Stuttgart (1958).
13. Wöhlbier, W., Beckmann, S., *Ber.* **83**, 310 (1950).
14. Hegnauer, R., *Chemotaxonomie der Pflanzen*, **1**, 248, Birkhaeuser Verlag, Basel und Stuttgart (1962).
15. Eugster, C. H., Griot, R., Karrer, P., *Helv. Chim. Acta*, **36**, 1387 (1953).
16. Baytop, T., *Farmakognozi Ders Kitabı*, **1**, Baha Matbaası, Istanbul (1970).
17. Carless, I. E., *J. Pharm. Pharmacol.*, **5**, 884 (1953).
18. Papp, E., Szabo, Z., *Herba Hung.*, **2**, 383 (1963). - Ref. Stahl, E., *Dünnschicht-Chromatographie*, 446, Springer - Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1967).
19. Hodgson, E., Smith, E., Guthrie, F. E., *J. Chromatog.* **20**, 176 (1965).
20. Karrer, P., Eugster, C. H., *Helv. Chim. Acta*, **31**, 1062 (1948).

(Redaksiyona verildiği tarih: 17 Mart 1972)