

Hyoscyamus reticulatus L.'nin (Solanaceae) *Caenorhabditis elegans* Nematodları Üzerindeki Antihelmintik Etkisi ve Fitokimyasal Bileşimi

Antihelmintic Effect and Phytochemical Composition of Hyoscyamus reticulatus L. (Solanaceae) on *Caenorhabditis elegans* Nematodes

Necati Özpinar*

* Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

Atıf/Cite as: Özpinar N. *Hyoscyamus reticulatus* L.'nin (Solanaceae) *Caenorhabditis elegans* nematodları üzerindeki antihelmintik etkisi ve fitokimyasal bileşimi. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2025;55(3):194-203.

Öz

Amaç: Helminthiyaz, özellikle gelişmekte olan ülkelerde yaygın olarak görülen ve büyük kısmı zoonotik özellik taşıyan önemli paraziter hastalık gruplarındandır. Bu enfeksiyonlar, çocukluk döneminde fiziksel büyümenin yavaşlaması ve zihinsel gelişimin gerilemesi açısından başlıca risk faktörleri arasında yer almaktadır. Literatürdeki bulgular, helmint enfeksiyonlarının yalnızca bireysel sağlık üzerinde değil, aynı zamanda enfekte çocukların eğitim başarıları ve dolaylı olarak toplumların geleceği üzerinde de belirgin etkiler oluşturduğunu göstermektedir. Bu çalışmada *Hyoscyamus reticulatus* L. (Solanaceae)'in yaprak, çiçek ve meyve etanol ekstraktlarının bir nematod olan *Caenorhabditis elegans*'lar üzerindeki anti-helmintik etkisinin test edilmesi amaçlandı.

Yöntem: *C. elegans* bireylerine, *H. reticulatus*'un yaprak, çiçek ve meyve ekstraktları dört farklı dozda (1.25–10 mg/mL) uygulandı. Antihelmintik etki değerlendirildi. Ekstrakt bileşenleri GC-MS yöntemiyle tanımlandı ve olası etken maddeler belirlendi.

Bulgular: Yaprak ekstre dozlarından 10 mg/mL'lik dozun 2. günden itibaren, petri kaplarında bulunan bütün nematodları öldürdüğü görüldü. 5 mg/mL konsantrasyonda ise 5. günün sonunda petlerde bulunan nematodları tamamen öldürdüğü saptandı. Çiçek ekstreğinde ise 5 mg/mL, 2.5 mg/mL ve 1.25 mg/mL ekstre doz verilen Petri kaplarında sırasıyla 5, 6 ve 7. gün sonunda nematodların tamamının öldüğü görüldü. Meyve ekstreğinde ise 5 mg/mL, 2.5 mg/mL, 1.25 mg/mL konsantrasyonlarda verilen petri kaplarındaki nematodların sırasıyla 3, 4, ve 5. gün sonunda tümünün öldüğü saptandı. GC-MS analiz sonuçları incelendiğinde 9-octadecenamide (Oleamide, Oleic acid); yaprak (%23.42), çiçek (%15.36), meyve (%20.21) en yüksek düzeyde bulunan maddelerdi.

Sonuç: *H. reticulatus*'un antihelmintik özelliklere sahip olduğunu ve potansiyel bir doğal ilaç kaynağı olabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Antihelmintik aktivite, *Caenorhabditis elegans*, *Hyoscyamus reticulatus* L. (Solanaceae)

ABSTRACT

Objective: Helminthiasis is one of the major groups of parasitic diseases, commonly observed in developing countries, with the majority being zoonotic in nature. These infections are considered among the primary risk factors for slowed physical growth and impaired cognitive development during childhood. Findings in the literature indicate that helminth infections have significant impacts not only on individual health but also on the educational performance of infected children and, indirectly, on the future of societies. This study aimed to evaluate the anti-helminthic effects of ethanol extracts obtained from the leaves, flowers, and fruits of *Hyoscyamus reticulatus* L. (Solanaceae) on the nematode *Caenorhabditis elegans*.

Methods: *C. elegans* individuals were exposed to leaf, flower, and fruit extracts of *H. reticulatus* at four different concentrations (1.25–10 mg/mL). Anti-helminthic activity was assessed through survival analysis. Extract compositions were identified by GC–MS, and the potential active compounds were determined.

Results: The 10 mg/mL dose of the leaf extract resulted in complete mortality of nematodes by the 2nd day. At 5 mg/mL, total nematode death was observed by the 5th day. In the flower extract group, 5, 2.5, and 1.25 mg/mL doses caused complete nematode mortality by the 5th, 6th, and 7th days, respectively. In the fruit extract group, 5, 2.5, and 1.25 mg/mL doses achieved total mortality by the 3rd, 4th, and 5th days, respectively. GC–MS analysis revealed that 9-octadecenamide (Oleamide/Oleic acid) was the most abundant compound: leaf (23.42%), flower (15.36%), and fruit (20.21%).

Conclusion: The findings demonstrate that *H. reticulatus* possesses significant anti-helminthic properties and may serve as a promising natural therapeutic agent.

Keywords: Anthelmintic effect, *C. elegans*, *Hyoscyamus reticulatus* L. (Solanaceae)

Alındığı tarih / Received:

04.04.2025 / 04.April.2025

Kabul tarihi / Accepted:

11.07.2025 / 11.July.2025

Yayın tarihi / Publication date:

25.09.2025 / 25.September.2025

ORCID Kayıtları

N. Özpinar Yazar 0000-0002-7317-885X

✉ necatiozpinar@gmail.com

GİRİŞ

Helmintiyaz, özellikle gelişmekte olan ülkelerde sıkça karşılaşılan ve çoğu zoonotik özellik taşıyan önemli paraziter hastalıklar arasında yer almaktadır. Bu enfeksiyonlar, çocukluk döneminde fiziksel büyüme ile bilişsel gelişimin yavaşlamasında başlıca etkenlerden biri olarak görülmektedir. Yoksul bölgelerde yaşayan çocukların aynı anda birden fazla helmint türüyle enfekte olma olasılığı oldukça yüksektir. Yapılan bilimsel araştırmalar, helmint enfeksiyonlarının yalnızca çocukların sağlık durumlarını değil, aynı zamanda eğitim başarılarını ve uzun vadede toplumların gelişim potansiyelini de olumsuz etkileyebildiğini göstermektedir⁽¹⁾. Buna karşın, eğitim, ekonomik yük ve halk sağlığı açısından taşıdığı öneme rağmen, hem tıp camiası hem de uluslararası sağlık kuruluşları tarafından büyük ölçüde göz ardı edilmektedir^(2,3). Bugün iki milyardan fazla insanın helmintlerle enfekte olduğu tahmin edilmektedir ve enfeksiyonlar, nadiren doğrudan ölüme neden olsa da, anemi ve yetersiz beslenme gibi kötüleşen sağlık koşullarıyla bağlantılıdır. Bu durumun doğal bir sonucu olarak, toplumun antihelmintik ilaçlara yönelmesi, parazitlerde ilaç direncinin ortaya çıkmasına zemin hazırlamıştır. Bu nedenle, hem etkili hem de kullanımı güvenli olan ve helmintlerin ilaçlara karşı direncinin gelişmesini önleyebilen veya geciktirebilen antihelmintiklerin geliştirilmesi önemlidir⁽⁴⁾.

Son yıllarda gerek kolay ulaşım gerekse ucuz olması sebebiyle hastalıkların tedavisinde bitkisel ürünlerin kullanımı her geçen gün artmaktadır. Birçok bitkisel üründe sentetik ilaçları aratmayacak etkilerin görülmesi, yan etkilerinin çok az ya da hiç olmaması nedeniyle oldukça fazla kullanım alanı bulmaktadır. Tıbbi bitkilerin antihelmintik etkilerine ilişkin yapılan araştırmalar oldukça sınırlıdır. Bunun temel nedenlerinden biri, birçok helmint türünün laboratuvar koşullarında kültüre alınamamasıdır. Bu nedenle gerçekleştirilen çalışmalarda genellikle rat veya fare gibi deney hayvanları model olarak kullanılmaktadır. Ancak hayvan deneylerinin yoğun iş gücü gerektirmesi, uygun çalışma alanı ihtiyacı ve yüksek maliyet gibi çeşitli zorlukları da beraberinde getirdiği bilinmektedir. Yapılan birçok çalışma antihelmintik çalışmalarda *Caenorhabditis elegans*'ın iyi bir model olduğunu göstermektedir⁽³⁻⁷⁾.

Hyoscyamus reticulatus L. (Solanaceae) Güneybatı Asya, Mısır, İran ve Türkiye'deki en önemli şifalı bitkilerden biridir⁽⁸⁾. *Hyoscyamus* türleri, halk hekimliğinde yaygın olarak kullanılan tropan alkaloidlerin, özellikle de skopolamin ve hyosyamin'in ana kaynağıdır⁽⁹⁾. Bu alkaloidler tıpta parkinson gibi hastalıkları tedavi etmek, şizoid hastaları sakinleştirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır⁽¹⁰⁾. *H. reticulatus*, esas olarak midriyatik, antispazmotik, antikolinergik, sedatif ve analjezik özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılan tıbbi bir bitkidir. Ayrıca bitkinin astım, mide ülseri gibi hastalıklarda da geleneksel kullanımları ve faydaları olduğu iddia edilmektedir ancak bu bitkinin hatalı kullanımı oldukça toksik olabilir⁽¹¹⁾.

Bu çalışmada *H. reticulatus*'un yaprak, çiçek ve meyve ethanol ekstraktlarının bir nematod olan *C. elegans*'lar üzerindeki anti-helmintik etkisinin test edilmesi amaçlandı. Ayrıca bu ekstraktların GC-MS analizleri de yapılarak olası etken maddeler belirlendi.

GEREK VE YÖNTEM

Bitki Materyali ve Ekstraksiyon Yöntemi: Çalışmada kullanılan bitki materyali Türkiye/Sivas'tan 39° 42' 28" kuzey, 37° 15' 17" doğu koordinatlarından 1270 metre yükseklikten temmuz ayında toplandı. Bitkilerin tür tespiti Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Hülya Özpınar tarafından yapıldı. Nematod organizma N2 (yaban tipi) *C. elegans* ve *Escherichia coli* OP50, Minnesota Üniversitesi *Caenorhabditis* Genetik Merkezi (USA)'ndan satın alındı.

Hyoscyamus reticulatus bitkisinin meyve, yaprak ve çiçek kısımları bitkiden ayrıldı ve ayrı ayrı kurutuldu. Kurutulan bitki materyalleri bir öğütücü kullanılarak toz haline getirildi. Ekstraksiyon işlemleri oda sıcaklığında yürütüldü. Kurutularak toz haline getirilen bitkisel materyalden 10 g tartıldı ve her biri 250 mL olacak şekilde dört kez etanol ile ekstraksiyon yapıldı. Bu işlem 24 saat boyunca aralıklı çalkalama ile sürdürüldü. Süre sonunda elde edilen karışım, Whatman No.1 filtre kâğıdı kullanılarak süzüldü ve süzüntüler birleştirildi. Daha sonra birleşik

ekstraktların çözücüsü, 40°C'de vakum altında rotary evaporatör (Buchi R-100; Vakum Pompası V-300 ve Kontrol Ünitesi I-300) ile uzaklaştırıldı. Konsantre edilen örnekler, ileri analizlerde kullanılmak üzere -20 °C'de saklandı.

Ceanorhabditis elegans kültür işlemleri: Deneylerde katı kültür ortamı tercih edilmiş olup, bu amaçla standart Nematode Growth Medium (NGM) olarak bilinen agar bazlı ortam hazırlandı.

Luria Broth Hazırlanması: Bacto Tryptone (5 g), Yeast Extract (2.5 g), NaCl (5 g) ve 1 M Tris çözeltisinden (5 mL) tartılarak 500 mL deiyonize su içerisinde çözüldü. Elde edilen çözelti 125 °C'de 15 dakika süreyle otoklavlandıktan sonra oda sıcaklığına kadar soğumaya bırakıldı.

Escherichia coli OP50 suşun Hazırlanması: Hazırlanan Luria Broth içine *E. coli* OP50 suşu eklenerek 37 °C'de 24 saat inkübe edildi.

Nematot Growth Media (NCM) Hazırlanması: NaCl (3 g), pepton (2.5 g) ve agar (20 g) hassas terazide tartılarak 1 L deiyonize su içerisinde çözdürüldü. Karışım 125 °C'de 15 dakika otoklavlandıktan sonra 55 °C'ye kadar soğutuldu. Daha önce hazırlanmış ve 0.2 µm gözenekli filtrelerden geçirilmiş olan 1 mL 1 M CaCl₂, 1 mL 5 mg/mL kolesterol, 1 mL 1 M MgSO₄ ve 25 mL 1 M KH₂PO₄ (pH=6) çözeltileri besiyerine eklendi ve homojenizasyon sağlandı. Ortamın pH'sı 6 olacak şekilde ayarlandı ve ekstrakt eklenerek kullanılacak NGM plakları hazırlanuncaya kadar 55 °C'de muhafaza edildi.

Ceanorhabditis elegans'ların üretilmesi: *C. elegans*'ların üretilmesi ve pasajlanması amacıyla hazırlanan NGM ortamından, 6 mm çapındaki petri kaplarına 10 mL aktarıldı ve oda sıcaklığında katılaşması beklenildi. Üzerlerine 200 µL *E. coli* OP50 kültürü eklenerek kuruması sağlandı. Daha sonra *C. elegans*'lar bu kaplara pasajlanarak çoğaltıldı.

Ceanorhabditis elegans'ların senkronizasyonu: Yaklaşık 10 adet erişkin *C. elegans*, bakteri içeren NGM Petri kaplarına aktarıldı. Altı saatlik yumurtlama süresi sonunda erişkin bireyler ortamdan uzaklaştırıldı. Bu

işlem sonucunda elde edilen yumurtalar senkronize yavruları oluşturdu. Yavrular üçüncü günün sonunda erişkin evreye ulaştığında çalışmada kullanıldı.

Antihelmintik aktivitenin belirlenmesi: Steril koşullarda, 200 mL hacimli beherlere *H. reticulatus* meyve, çiçek ve yaprak ekstraktları ayrı ayrı, 10 mg/mL, 5 mg/mL, 2.5 mg/mL ve 1.25 mg/mL konsantrasyonlarında eklendi. Bu işlem için daha önce hazırlanmış ve 55 °C'de sıvı halde tutulan NGM kullanıldı. Karışımlar homojenize edildi. Nematotların yaşam döngüsü boyunca çoğalmasını engellemek amacıyla besiyerine fluorodeoksiüridin (FUDR) (33 µL, 150 mM FUDR/100 mL NGM) ilave edildi. Hazırlanan besiyerinden 10'ar mL alınarak 6 mm çapındaki Petri kaplarına dağıtıldı ve oda sıcaklığında katılaşmaları beklenildi. Üzerlerine 200 µL *E. coli* OP50 kültürü eklenerek kuruması sağlandı. Pozitif kontrol grubu için 5 mg/mL konsantrasyonunda pyrantel pamoate hazırlandı; negatif kontrol grubuna ise herhangi bir etken madde eklenmedi.

Her bir konsantrasyon için dört Petri kabı hazırlandı. Senkronizasyonu yapılmış erişkin *C. elegans*'lardan 10'ar adet birey stereo mikroskop altında Petri kaplarına aktarıldı. Deney, 22 °C'de üç tekrarlı olarak 20 gün boyunca yürütüldü ve gruplardaki tüm nematotlar ölünceye kadar her gün canlı ve ölü bireyler kaydedildi. Yutak pompalama hareketini kaybetmiş nematotlar ölü kabul edilerek kayıtlara geçirildi (Şekil 1).

GC-MS Analizi: GC-MS analizleri için, GC 7890A cihazı ile dört kutuplu MS 5975C ünitesinin (Agilent Technologies, Waldbronn, Almanya) entegre edildiği bir sistem kullanıldı. Enjeksiyon hacmi 1 µL olarak ayarlandı (bölünmemiş enjeksiyon; enjeksiyon portu sıcaklığı 250 °C). Analizlerde, %5-fenil metilpolisiloksan içeren DB-5ms kolon (30 m × 0.25 mm iç çap, 0.25 µm film kalınlığı; Agilent) tercih edildi ve taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı. Kolon sıcaklık programı şu şekilde uygulandı: başlangıç sıcaklığı 50 °C'de 2 dakika tutuldu, ardından 50 °C/dak hızla 120 °C'ye çıkarıldı. Daha sonra 3 °C/dak hızla 260 °C'ye yükseltildi ve 2 dakika sabit tutuldu. Son aşamada 15 °C/dak hızla 300 °C'ye çıkarıldı ve 4 dakika sabit tutuldu. Ekstraktlarda bulunan bileşikler, tarama modunda (kütle aralığı: 20–600 GeV)

elektronik iyonizasyon (70 eV) yöntemiyle tespit edildi. Tanımlamalar, bileşiklerin tutulma süreleri ve kütle spektrumlarının WILEY 09 ve NIST 11 veri tabanlarıyla karşılaştırılması sonucunda yapıldı.

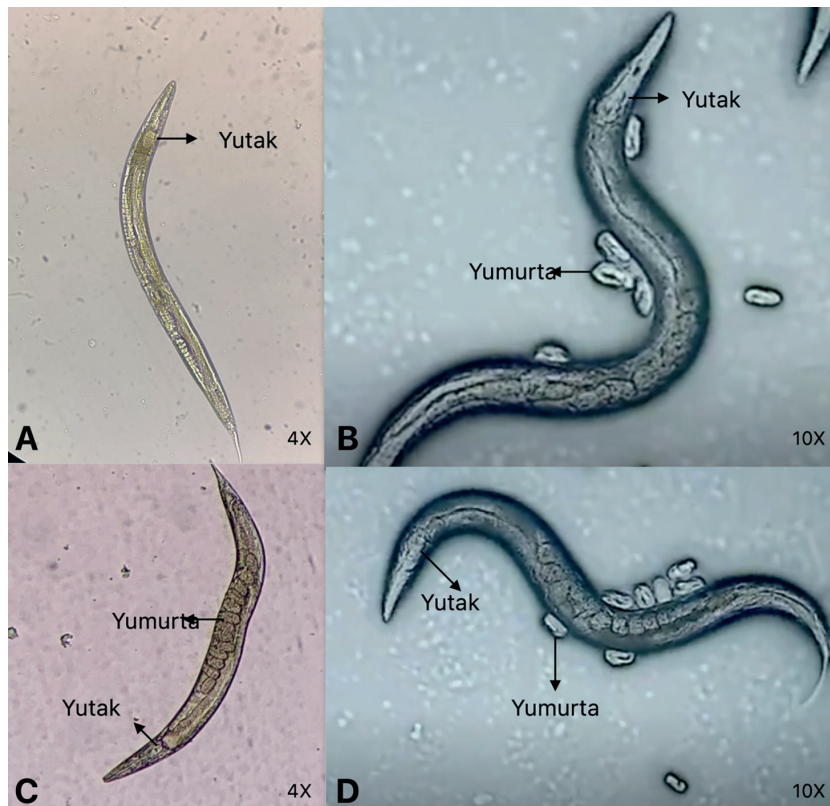
İstatistiksel analiz: Gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) yapıldı. Anlamlı fark tespit edilen durumlarda, bu farkın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek için çoklu karşılaştırma yöntemi olarak Tukey testi uygulandı. Tüm istatistiksel analizler SPSS 16.0 yazılımı (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi ve %95 güven düzeyinde $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Hyoscyamus reticulatus yaprak ekstraktının antihelmintik etkileri incelendiğinde, 10 mg/mL dozunda uygulanan ekstraktın ikinci günden itibaren petri kaplarındaki tüm nematodları öldürdüğü belirlendi. Yarı doz olan 5 mg/mL ekstrakt ise

beşinci günün sonunda nematodların tamamını ortadan kaldırdı. Yaprak ekstraktı dozları azaldıkça nematodların yaşam sürelerinin uzadığı gözlemlendi. Karşılaştırmalı olarak, 5 mg/mL pyrantel pamoate uygulamasında nematodların ancak dokuzuncu günün sonunda öldüğü kaydedildi. Kontrol grubunda ise yirminci günün sonunda tüm nematodların öldüğü tespit edildi (Şekil 1, Tablo 1). İstatistiksel analizler sonucunda, kontrol grubu ile 10 mg/mL, 5 mg/mL ve 2.5 mg/mL ekstrakt uygulanan gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca, 10 mg/mL ekstrakt ile 5 mg/mL pyrantel pamoate uygulanan gruplar arasında da anlamlı bir farklılık saptandı ($p < 0.05$). Buna karşın, 2.5 mg/mL ve 1.25 mg/mL ekstrakt uygulamaları arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$) (Tablo 2).

Hyoscyamus reticulatus çiçek ekstraktı grubu incelendiğinde, kontrol grubunda bulunan nematodlarının 20. gün sonunda öldüğü, Pyrantel pamoate 5 mg/mL verilen Petri kaplarında 9. gün sonunda, 10 mg/mL çiçek ekstraktı verilen Petri kaplarında ise 1. gün sonunda bütün nematodların



Şekil 1. Sağlıklı ve ölü nematodlar. A ve C: Ölü nematodlar; B ve D: Sağlıklı nematodlar

Tablo 1. *Hyoscyamus reticulatus* yaprak, çiçek ve meyve özütlerine maruz kalan nematodların hayatta kalma oranları (%±SD)

Gün	Çalışma konsantrasyonları (mg/mL)					
	Pyrantel pamoate 5	10	5	2.5	1.25	Kontrol
1	^A 100±0.01	^A 100±0.01	^A 100±0.01	^A 100±0.01	^A 100±0.01	^A 100±0.01
	^B 100±0.01	^B 100±0.01	^B 100±0.01	^B 100±0.01	^B 100±0.01	^B 100±0.01
	^C 100±0.01	^C 100±0.01	^C 100±0.01	^C 100±0.01	^C 100±0.01	^C 100±0.01
2	^A 100±0.01	^A 0±0.00	^A 48±1.32	^A 52±1.53	^A 61±2.12	^A 100±0.01
	^B 100±0.01	^B 0±0.00	^B 56±2.29	^B 61±1.85	^B 52 ±2.58	^B 100±0.01
	^C 100±0.01	^C 0±0.00	^C 46±1.85	^C 50±1.81	^C 58±1.78	^C 100±0.01
3	^A 95±1.15	^A 0±0.00	^A 36±1.45	^A 42±1.56	^A 50±1.37	^A 100±0.01
	^B 95 ±1.15	^B 0±0.00	^B 33±1.68	^B 42 ±1.92	^B 51 ±1.76	^B 100±0.01
	^C 95±1.15	^C 0±0.00	^C 25±1.82	^C 30±1.78	^C 42±1.63	^C 100±0.01
4	^A 95±0.78	^A 0±0.00	^A 25±1.32	^A 31±1.76	^A 39±1.92	^A 100±0.01
	^B 95 ±0.78	^B 0±0.00	^B 24±1.15	^B 28±2.21	^B 30±1.50	^B 100±0.01
	^C 95±0.78	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 12±2.04	^C 20±1.59	^C 100±0.01
5	^A 86±0.92	^A 0±0.00	^A 8±1.39	^A 15±1.78	^A 26±1.78	^A 100±0.01
	^B 86 ±0.92	^B 0±0.00	^A 6±1.16	^B 12±1.93	^B 18±2.01	^B 100±0.01
	^C 86±0.92	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 8±2.08	^C 100±0.01
6	^A 85±0.92	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 2±1.00	^A 11±1.76	^A 99±0.58
	^B 85 ±0.92	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 4±1.78	^B 8±1.68	^B 99±0.58
	^C 85±0.92	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 99±0.58
7	^A 50±1.35	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 2±1.00	^A 99±0.58
	^B 50 ±1.35	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 2±1.00	^B 99±0.58
	^C 50±1.35	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 99±0.58
8	^A 36±1.53	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 99±0.58
	^B 36 ±1.53	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 99±0.58
	^C 36±1.53	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 99±0.58
9	^A 4±1.82	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 99±0.58
	^B 4±1.82	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 99±0.58
	^C 4±1.82	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 99±0.58
10	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 99±0.58
	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 99±0.58
	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 99±0.58
11	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 99±0.58
	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 99±0.58
	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 99±0.58
12	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 99±0.58
	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 99±0.58
	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 99±0.58
13	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 99±0.58
	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 99±0.58
	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 99±0.58
14	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 95±0.76
	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 95±0.76
	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 95±0.76
15	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 90±0.86
	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 90±0.86
	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 90±0.86
16	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 80±0.97
	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 80±0.97
	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 80±0.97
17	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 20±1.00
	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 20±1.00
	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 20±1.00
18	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 11±1.05
	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 11±1.05
	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 11±1.05
19	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 5±1.37
	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 5±1.37
	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 5±1.37
20	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 5±1.37
	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 5±1.37
	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 5±1.37
21	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00	^A 0±0.00
	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00	^B 0±0.00
	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00	^C 0±0.00

SD: Standart Sapma; ^A: Yaprak ekstraktı; ^B: Çiçek ekstraktı; ^C: Meyve ekstraktı.

Tablo 2. *Hyoscyamus reticulatus* etanol ekstresi dozlarının sağkalım testi sonuçları

	Kontrol	Pyrantel pamoate 5 mg/mL	10 mg/mL	5 mg/mL	2.5 mg/mL	1.25 mg/mL
Kontrol	1.000	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01
Pyrantel pamoate 5 mg/mL		1.00	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01
10 mg/mL			1.00	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01
5 mg/mL				1.00	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01	^a 0.01 ^b 0.01 ^c 0.01
2.5 mg/mL					1.00	^a 0.06 ^b 0.06 ^c 0.06
1.25 mg/mL						1.00

a: *H. reticulatus* yaprak ekstraktı dozları için sağkalım testi sonuçları, p değeri <0.05 fark önemlib: *H. reticulatus* çiçek ekstraktı dozları için sağkalım testi sonuçları, p değeri <0.05 fark önemlic: *H. reticulatus* meyve ekstraktı dozları için sağkalım testi sonuçları, p değeri <0.05 fark önemli

öldüğü gözlemlendi. 5 mg/mL, 2.5 mg/mL ve 1.25 mg/mL ekstrakt verilen Petri kaplarında sırasıyla 5, 6 ve 7. gün sonunda nematodların tamamının öldüğü görüldü (Tablo 1). Kontrol grubu ile 10 mg/mL ekstrakt verilen nematod grupları ve Pyrantel pamoate 5 mg/mL verilen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). 5 mg/mL konsantrasyonunda ekstrakta maruz bırakılan nematod grubu ile Pyrantel pamoate 5 mg/mL verilen grup arasında farkın anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.05$). 5 mg/mL ve 2.5 mg/mL ile 2.5 mg/mL ve 1.25 mg/mL dozları arasında anlamlı farkın olmadığı görüldü ($p > 0.05$) (Tablo 2).

Hyoscyamus reticulatus meyve ekstraktı grubu incelendiğinde, kontrol grubunda bulunan nematodların 20. gün sonunda ölürken Pyrantel pamoate 5 mg/mL ilaç verilen Petri kaplarında 9. gün sonunda, 10 mg/mL meyve ekstraktı bulunan Petri kaplarında ise 1. gün sonunda bütün nematodların öldüğü gözlemlendi. 5 mg/mL, 2.5 mg/mL, 1.25 mg/mL meyve ekstraktı bulunan Petri kaplarındaki nematodların sırasıyla 3, 4, ve 5. gün sonunda tümünün öldüğü saptandı (Tablo 1). Kontrol grubu ile 10 mg/mL meyve ekstraktı bulunan nematod grupları ve Pyrantel pamoate 5 mg/mL verilen grup arasında farkın anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.05$). 5 mg/mL

meyve ekstraktına maruz bırakılan nematod grubu ile 2.5 mg/mL meyve ekstraktına maruz bırakılan nematod grubu arasındaki fark anlamlıydı ($p < 0.05$). 2.5 mg/mL ve 1.25 mg/mL'lik konsantrasyonlardaki nematod grupları arasında yine anlamlı bir farkın olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$) (Tablo 2).

Hyoscyamus reticulatus etanol ekstraktının fitokimyasal analizi: GC-MS analizleri sonucunda tespit edilen fitokimyasal bileşikler Tablo 3'te sunulmuştur. Bulgulara göre, 9-octadecenamide (Oleamide, Oleic acid) bileşiği; yaprakta (%23.42), çiçekte (%15.36) ve meyvede (%20.21) en yüksek oranda bulunan bileşik olarak belirlenmiştir. Yaprak etanol ekstresinde 9-octadecenamide'den sonra en yüksek oranlarda phytol (%2.62), trans-triclotetradeca-7,9-diene (%2.42) ve linoleic acid (%2.31) tespit edilmiştir (Tablo 3). Çiçek etanol ekstresinde ise 9-octadecenamide bileşiğini takiben alpha-eudesmol (%1.25), 1-adamantanecarboxylic acid (%1.25) ve androst-5,16-diene-3 beta-ol (%1.25) en yüksek düzeyde saptanmıştır (Tablo 3). Meyve etanol ekstresinde ise 9-octadecenamide'den sonra en yüksek oranda bulunan bileşikler isoxazole-3-carboxylic acid (%2.52), atropin (%0.97) ve hyoscyamine (%0.97) olarak belirlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. GC-MS analiz sonuçlarına göre elde edilen fitokimyasallar

GC-MS	Bileşen Adı	Tutunma Süresi	Etanol (%)
<i>Hyocyamus reticulatus</i> L. Çiçek	Alpha-Eudesmol	2.525	1.25
	1-adamantanecarboxylic acid	2.525	1.25
	Androst-5,16-diene-3 beta -ol	2.525	1.25
	2-Pentadecanone	33.956	0.52
	Tricosane	42.396	0.89
	Hexacosane	42.396	0.89
	Docosane	42.396	0.89
	9-Octadecenamide (Oleamide, Oleic acid amide)	43.466	15.36
<i>Hyocyamus reticulatus</i> L. Yaprak	Trans-Tricyclo tetradeca-7,9-diene	2.519	2.42
	1-Hexadecene	22.638	0.25
	1-Pentadecene	22.638	0.25
	1-Tetradecanol (Myristyl alcohol)	22.638	0.25
	Dihydroactinidiolide	26.420	0.64
	Hexadecane	28.211	0.75
	(-)-Loliolide	32.331	0.70
	2-Hexadecen-1-ol	33.824	1.23
	2-Pentadecanone	33.956	2.21
	Palmitic acid (Hexadecanoic acid)	36.405	1.36
	Tridecanoic acid	36.405	1.36
	Phytol (2-Hexadecen-1-ol)	39.186	2.62
	Heptadecanoic acid	39.437	0.31
	Linoleic acid (9,12-Octadecadienoic acid)	39.718	2.31
	n-Hexatriaconta	42.396	0.62
	2(1H)-Naphthalenone	43.363	0.56
	9-Octadecenamide (Oleamide, Oleic acid amide)	43.460	23.42
<i>Hyocyamus reticulatus</i> L. Meyve	Isoxazole-3-carboxylic acid	2.531	2.52
	1-Tetradecene	16.355	0.21
	1-Tridecene	16.355	0.21
	1-Dodecanol	16.355	0.21
	2-Butyl-2,7-octadien-1-ol	22.157	0.16
	1-Hexadecene	22.638	0.20
	1-Pentadecene	22.638	0.20
	2-Pentadecanone	33.956	0.38
	Palmitic acid (Hexadecanoic acid)	35.627	0.43
	9,12-Octadecadienoic acid	38.848	0.41
	Heptadecanoic acid	39.443	0.16
	Hexadecanamide	40.393	0.46
	Atropin	41.291	0.97
	Hyoscyamine	41.291	0.97
	Eicosane	42.396	0.20
	Heneicosane	42.396	0.20
	9-Octadecenamide (Oleamide, Oleic acid amide)	43.466	20.21
	Cyclododecyne	45.245	0.16
	Eicosane	49.016	0.33

TARTIŞMA

Helmint enfeksiyonları özellikle sosyoekonomik açıdan dezavantajlı popülasyonlar arasında, küresel olarak önemli bir halk sağlığı sorunudur. Hastalık etkileri insanlar için iyileştirilmiş sanitasyon ve evcil hayvanlarda mera kontrolü ile önemli ölçüde azaltılabilir de bu yöntemler bu parazitleri ortadan kaldırmak için yeterli değildir. Aşıların yokluğunda bu parazitlerin kontrolü, semptomları hafifletmek ve bulaşmayı azaltmak kemoterapiye bağlıdır. Hayvancılık endüstrisinde ilaçların yoğun kullanımı, mevcut tüm antihelmintiklere karşı yaygın bir direnç yol açmıştır⁽¹²⁾. Son raporlar, hayvan parazitlerinde olduğu gibi, insanlarda da helmint enfeksiyonlarında direncin ortaya çıkmaya başladığını göstermektedir⁽¹³⁾. Az sayıda yeni ilaç veya aşı ile parazitlere karşı mücadele kaybedilen bir savaşa dönüşebilir. Parazitik helmintlerde ilaç direncinin gelişimini anlamak, mevcut antihelmintiklerin etkinliğini uzatmak ve ilaç direncini izlemek için belirteçler geliştirmek açısından çok önemlidir. Ayrıca, direncin üstesinden gelmek veya onu önlemek için yeni kemoterapötik ajanların tasarlanmasında ve yeni ilaç hedeflerinin belirlenmesinde de faydalı olacaktır⁽¹⁴⁾. Son yıllarda birçok hastalık için bitkisel droglar oldukça sık kullanılmakta ve sentetik ilaçları aratmayacak etkiler oluşturmaktadır. Bizim çalışmamızda *H. reticulatus* çiçek, meyve ve yaprak ethanol ekstraktları nematodlar üzerinde denenmiş ve oldukça güçlü antihelmintik aktivite sergilediği gözlenmiştir. Yapılan literatür taramasında *H. reticulatus* bitkisi ile ilgili yeterli sayıda antihelmintik aktiviteye rastlanmazken, aynı bitkinin antioksidan⁽¹⁵⁾, antinosiseptif⁽¹¹⁾, antibakteriyel⁽¹⁶⁾ etkilerinden bahsedilmiştir.

Çalışmamızın verileri incelendiğinde *H. reticulatus*'un yaprak, çiçek ve meyve ekstraktlarında antihelmintik aktivitesi çalışmaya alınan bütün konsantrasyonların pyrantel pamoate den daha etkili olduğu görülmüştür. GC-MS bulguları incelendiğinde tüm ekstraktlarda en yüksek oranda tespit ettiğimiz; 9-octadecenamide (Oleamide, Oleic acid amide) antihelmintik etkili bazı bitki türlerinde yüksek oranda tespit edilmiştir^(17,18). Bu bileşik, oleik asit biyosentezinden türetilen bir amid olan bir oleamiddir⁽¹⁹⁾. 9-octadecenamide ayrıca anti ruh hali ve uyku bozuklukları için potansiyel bir tıbbi tedavi olarak önerildiği gibi antiplasmodial etkinlik gösterebileceği de ileri sürülmüştür^(20,21).

Oleamid, nöroaktif yağ asidi amidleri arasında yer alır ve merkezi sinir sistemi üzerinde inhibitör etkiler oluşturabilir⁽²⁰⁾. Bu bileşimin *C. elegans*'ta da benzer şekilde sinaptik iletiyi baskılayarak hareket kısıtlılığına yol açabileceği düşünülmektedir. Linoleik ve palmitik asit gibi doymamış yağ asitleri ise hücre membranı geçirgenliğini artırarak iyon dengesini bozabilir ve böylece hücresel homeostazisi sekteye uğratabilir. Bu tür bileşiklerin kombinasyonu, nöromusküler etkilerin ortaya çıkmasında sinerjik rol oynayabilir. Ayrıca *H. reticulatus* yaprak ve meyve etanol ekstresinde tespit ettiğimiz palmitik asitin ve yaprak etanol ekstresinde tespit ettiğimiz linoleik asit bazı çalışmalarda nematotoksik bileşikler olarak tanımlanmıştır^(22,23) (Tablo 3).

Literatürde *Hyoscyamus* türlerinin sitotoksik etkilerini değerlendiren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bonde ve Pinjarı⁽²⁴⁾, *H. reticulatus* ekstraktlarının A549 (akciğer kanseri) ve PC-3 (prostat kanseri) hücre hatları üzerinde yüksek düzeyde sitotoksik etki gösterdiğini, ancak sağlıklı hücreler üzerinde düşük toksisiteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Bu bulgu, bitkinin seçici toksisite özelliğine sahip olabileceğini göstermektedir. Ionkova⁽²⁵⁾ ise hem *H. reticulatus* hem de *Hyoscyamus aegypticus* türlerinden elde edilen *in vitro* kültürlerin çeşitli insan tümör hücre hatlarında doza bağlı olarak antikanser etkiler gösterdiğini ve düşük doz uygulamalarında sağlıklı hücreler üzerinde belirgin bir toksik etki gözlemlenmediğini bildirmiştir. Benzer şekilde, *Hyoscyamus niger* türü üzerinde yapılan bir başka çalışmada, Hep-2 hücre hattı üzerinde orta düzeyde sitotoksik etki saptanırken, sağlıklı hücreler üzerinde bu etkinin minimal düzeyde olduğu belirtilmiştir⁽²⁶⁾. Tüm bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, *H. reticulatus* ekstraktlarının antihelmintik etkinlik düzeyinde kullanılan konsantrasyonlarda sağlıklı hücre hatları üzerinde toksisite riskinin düşük olduğu ve seçici sitotoksik potansiyel taşıdığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada, *H. reticulatus* bitkisinin farklı bölümlerinden (yaprak, çiçek ve meyve) elde edilen etanol ekstraktlarının *C. elegans* modeli kullanılarak antihelmintik potansiyeli sistematik olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, özellikle yaprak ekstraktının kısa sürede yüksek mortaliteye neden olduğunu ortaya koymuştur. Yaprak ekstraktı,

10 mg/mL dozunda 48 saat içinde %100 nematod ölümü sağlamış ve bu etki, pozitif kontrol olan pyrantel pamoat'a göre daha hızlı gerçekleşmiştir. GC-MS analizleri, oleamid, linoleik asit ve palmitik asit gibi biyolojik açıdan aktif bileşiklerin varlığını ortaya koyarak bu etkilerin kimyasal temelini desteklemiştir. Çalışmanın sonuçları, *H. reticulatus*'un özellikle yaprak ekstraktının güçlü, hızlı ve çok yönlü antihelmintik etki gösterdiğini açıkça ortaya koymaktadır. Literatürde bu bitki üzerine sınırlı sayıda farmakolojik çalışma bulunmasına rağmen, geleneksel kullanımıyla örtüşen bu bulgular, *H. reticulatus*'un farmasötik düzeyde değerlendirilmesi gereken bir doğal ürün adayı olduğunu desteklemektedir.

Ayrıca yapılan çalışmalara göre kullanılan doz aralığının *in vitro* güçlü sitotoksik etki göstermemesi, bu bitki ekstraktlarının güvenliğini desteklemekte ve farmasötik formülasyonlara dönüştürülme potansiyelini artırmaktadır. Bununla birlikte, bu sonuçların daha ileri düzeyde *in vivo* hayvan modelleriyle doğrulanması, spesifik etken maddelerin izole edilerek test edilmesi ve farmakokinetik-farmakodinamik profilinin netleştirilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, *H. reticulatus* bitkisi, özellikle yaprak bileşenleri bakımından, doğal kaynaklı antihelmintik ajan geliştirme süreçlerinde yüksek potansiyele sahip, umut vadeden bir bitkisel ilaç adaydır. Bu bulgular, doğal ürün araştırmaları ve etnofarmakoloji alanlarına önemli katkılar sunmakta, ilaç direnci sorununa karşı alternatif çözümler geliştirilmesine ışık tutmaktadır.

Teşekkür

Araştırmaya yaptığı katkılardan dolayı Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Hülya Özpinar'a teşekkür ederim.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Drake L, Bundy D. Multiple helminth infections in children: impact and control. *Parasitology*. 2001;122(S1):S73-81. <https://doi.org/10.1017/S0031182000017662>
2. Bethony J, Brooker S, Albonico M, et al. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *Lancet*. 2006;367(9521):1521-32. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68653-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68653-4)
3. Özpinar N. A model organism for antihelminthic activity: *Caenorhabditis elegans* and *Nigella sativa*. *Türkiye Parazit Derg*. 2020;44(1):31-5. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2020.6759>
4. Lei J, Leser M, Enan E. Nematicidal activity of two monoterpenoids and SER-2 tyramine receptor of *Caenorhabditis elegans*. *Biochem Pharmacol*. 2010;79(7):1062-71. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2009.11.002>
5. Mallarino Miranda LP, Alvear Alayon MR, Tejeda Benítez LP. Antihelmintic activity of extracts of papaya and avocado seed using *Caenorhabditis elegans* as model. ISEE: 33rd Annual Conference of the International Society of Environmental Epidemiology. ISEE Conference Abstracts. 2021;2021(1):P-088. <https://doi.org/10.1289/isee.2021.P-088>
6. Ozpinar H. Anti-helminthic activity of *Consolida orientalis* (Gay) Schröd. on *Caenorhabditis elegans* nematodes and determination of possible active ingredients. *Turkish JAF Sci Tech*. 2021;9(8):1593-8. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v9i8.1593-1598.4561>
7. Suárez G, Alcántara I, Salinas G. *Caenorhabditis elegans* as a valuable model for the study of anthelmintic pharmacodynamics and drug-drug interactions: The case of ivermectin and eprinomectin. *Front Pharmacol*. 2022;13:984905. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.984905>
8. Madani H, Hosseini B, Dehghan E, Rezaei-chiyaneh E. Enhanced production of scopolamine in induced autotetraploid plants of *Hyoscyamus reticulatus* L. *Acta Physiol Plant*. 2015;37:55. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1795-x>

9. Moharrami F, Hosseini B, Sharafi A, Farjaminezhad M. Enhanced production of hyoscyamine and scopolamine from genetically transformed root culture of *Hyoscyamus reticulatus* L. elicited by iron oxide nanoparticles. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*. 2017;53(2):104-11.
<https://doi.org/10.1007/s11627-017-9802-0>
10. Khezerluo M, Hosseini B, Amiri J. Sodium nitroprusside stimulated production of tropane alkaloids and antioxidant enzymes activity in hairy root culture of *Hyoscyamus reticulatus* L. *Acta Biol Hung*. 2018;69(4):437-48.
<https://doi.org/10.1556/018.69.2018.4.6>
11. Oto G, Ozdemir H, Yaren B, et al. Antinociceptive activity of methanol extract of *Hyoscyamus reticulatus* L. in mice. *Am J Phytomed Clin Ther*. 2013;1(2):117-23.
12. Wolstenholme AJ, Fairweather I, Prichard R, von Samson-Himmelstjerna G, Sangster NC. Drug resistance in veterinary helminths. *Trends Parasitol*. 2004;20(10):469-76.
<https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.07.010>
13. Osei-Atweneboana MY, Eng JK, Boakye DA, Gyapong JO, Prichard RK. Prevalence and intensity of *Onchocerca volvulus* infection and efficacy of ivermectin in endemic communities in Ghana: A two-phase epidemiological study. *Lancet*. 2007;369(9578):2021-9.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60942-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60942-8)
14. James CE, Hudson AL, Davey MW. Drug resistance mechanisms in helminths: is it survival of the fittest? *Trends Parasitol*. 2009;25(7):328-35.
<https://doi.org/10.1016/j.pt.2009.04.004>
15. Mohammad MK, Almasri IM, Tawaha K, et al. Antioxidant, antihyperuricemic and xanthine oxidase inhibitory activities of *Hyoscyamus reticulatus*. *Pharma Biol*. 2010;48(12):1376-83.
<https://doi.org/10.3109/13880209.2010.483521>
16. Akbaş P, Kaya E, Alkan H, Ceylan G. Determination of the content of *Hyoscyamus reticulatus* seeds by XRF method and antibacterial characteristics of ethyl alcohol extract. *Eskisehir Technical Univ J Sci Tech A-Appl Sci Eng*. 2020;21(1):199-204.
<https://doi.org/10.18038/estubtda.622224>
17. Zeid IMA, Al Thobaitil S, El Hag G, Alghamdi SA, Umar A, Ahmed Hamdi O. Phytochemical and GC-MS analysis of bioactive compounds from *Balanites aegyptiaca*. *Acta Sci Pharm Sci*. 2019;3:129-34.
<https://doi.org/10.31080/ASPS.2019.03.0352>
18. Dwivedi A, Joshi V, Barpete P, Akhtar A, Kaur A, Kumar S. Anthelmintic activity of root bark of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. *Ethnobotanical Leaflets*. 2009;13:564-7.
19. Iwu I, Chijioke-okere M, Onu U, Uchegbu R. GC-MS, phytochemical and antimicrobial analysis of the leaf of *Newboudia laevis* P. Benth. *Int J Innov Res Dev*. 2018;7(7):242-50.
<https://doi.org/10.24940/ijird/2018/v7/i7/JUL18053>
20. Chaniad P, Phuwaroanpong A, Techarang T, Viriyavejakul P, Chukaew A, Punsawad C. Antiplasmodial activity and cytotoxicity of plant extracts from the Asteraceae and Rubiaceae families. *Heliyon*. 2022;8(1):e08848.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08848>
21. Chinonye II, Lynda OU, Augustina UA, Fidelis CO. Characterization of the volatile components of the leaf of *Starchytarpheta cayennensis* (Rich) Vahl. *Int J Herbs Spices Med Plants*. 2019;4(1):41-9.
22. Chitwood DJ. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annu Rev Phytopathol*. 2002;40:221-49.
<https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.032602.130045>
23. Anke H, Stadler M, Mayer A, Sterner O. Secondary metabolites with nematocidal and antimicrobial activity from nematophagous fungi and Ascomycetes. *Can J Bot*. 1995;73(S1):932-9.
<https://doi.org/10.1139/b95-372>
24. Bonde AR, Pinjari RM. Therapeutic importance of *Hyoscyamus* species-A review. *Review. Int J Forest Animal Fish Res*. 2023;7(5):18-32.
25. Ionkova I. Anticancer compounds from in vitro cultures of rare medicinal plants. *Pharmacognosy Reviews*. 2008;2(4):206-18.
26. Ismeel AO. Cytogenetic and cytotoxic studies on the effect of phytoinvestigated active compounds of *Hyoscyamus niger* (in vivo and ex vivo). [Degree of Doctorate of Philosophy of Science in Biotechnology]. Iraq: Al-Nahrain University-College of Science, Irak. 2011.