

Rheum ribes L.'nin etanol ekstraktlarının malign melanoma hücreleri üzerine anti-kanser etkinliği*The anti-cancer effect of Rheum ribes L.'s ethanol extracts on malign melanoma cells*Adnan Kirit¹, Kasım Takım², Ezgi Durmuş³, Eray Metin Güler³, Vildan Betül Yenigün³, Huri Bulut³,Abdürrahim Koçyiğit³¹Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye²Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye³Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye**ÖZ**

Amaç: Işkın bitkisi (*Rheum ribes L.*) Çin, Hindistan, İran ve Türkiye'de yabancı olarak yetişmekte olup birçok tıbbi amaç için kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı *Rheum ribes L.*'nin kök, gövde ve kabuklarının etanol ekstraktlarının malign melanoma hücrelerine karşı anti-kanser etkinliğini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Bitkinin oda sıcaklığında kurutulmuş kök, gövde ve kabuk kısımları mikser ile toz haline getirilip %50 etanol ile 24 saat inkübe edildi. Organik faz rotary evaporatörde uçurulup, su fazı liyofilizatörde ayrıldıktan sonra elde edilen ekstraktlarda; öncelikle total fenol ve total flavonoid düzeyi ile total antioksidan kapasite (TAS) fotometrik yöntemlerle ölçüldü. Daha sonra kültüre edilen malign melanoma hücreleri (B16F10) bu ekstraktların farklı konsantrasyonları ile 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra sitotoksikite düzeyi; kolorimetrik MTT [3-(4,5-diMetilTiyazol-2-il)-2,5-difenil Tetrazolyum bromür] metodu ile, apoptozis düzeyi ise; Akridin Oranj-Etidyum Bromit (AO/EB) ikili boyama yöntemi ile tespit edildi.

Bulgular: Hem sitotoksikite hem de apoptozis sonuçları incelendiğinde aynı konsantrasyonlarda en yüksek sitotoksik ve apoptotik etkinliğin kök ekstraktları ile sağlandığı görüldü ($p < 0,001$).

Sonuç: *Rheum ribes L.*'nin malign melanoma hücreleri üzerine antikanser etkinliğinin doza bağımlı olarak arttığı ve bitkinin gövde ve kabuklarına kıyasla kök ekstraktının anti-kanser ilaç olma potansiyelinin daha yüksek olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Işkın; anti-kanser; malign melanoma

ABSTRACT

Objective: Iskin plant (*Rheum ribes L.*) grows in China, India, Iran and Turkey in the wild and it is used for many medicinal purposes. The aim of this study is to investigate the anti-cancer efficacy of the ethanol extracts of the roots, stems and barks of *Rheum ribes L.* on the malignant melanoma cells. **Material and Method:** Root, stem and bark of the plant dried at room temperature were powdered with a mixer and incubated with 50% ethanol for 24 hours. The organic phase was evaporated in a rotary evaporator and the water phase is separated in the lyophilizer. Total phenol, total flavonoid level and total antioxidant capacity (TAS) were measured by photometric methods. Then, the cultured malignant melanoma cells (B16F10) were incubated for 24 hours with different concentrations of these extracts. Cytotoxicity level was determined by colorimetric MTT [3-(4,5-diMethyl Thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl Tetrazolium bromide] and the apoptosis level by Acridine Orange-Ethidium Bromide (AO/EB) double staining method.

Results: When examining the results of both cytotoxicity and apoptosis, it was observed that the highest cytotoxic and apoptotic activity was achieved with root extracts at the same concentrations ($p < 0.001$).

Conclusion: It was concluded that the anti-cancer efficacy of *Rheum ribes L.* on malignant melanoma cells increased in a dose-dependent manner and the root extract had a higher anti-cancer drug potential compared to the stem and shells of the plant.

Keywords: Rheum ribes L, anti-cancer, malignant melanoma

Sorumlu Yazar: Adnan Kirit, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Osmanbey Kampüsü, 63290, Haliliye, Şanlıurfa, Türkiye

E-posta: adnankirit@yahoo.com

Bu makalemiz daha önce 4-7.10.2018 tarihlerinde Şanlıurfa'da düzenlenen "1. Uluslararası GAP Matematik Mühendislik Fen ve Sağlık Bilimleri Kongresi" isimli kongrede sözlü olarak sunulmuş ve kongrenin tam metin kitabında basılmıştır.

Geliş Tarihi: 14.02.2020 **Kabul Tarihi:** 06.03.2020 **Doi:** 10.32322/jhsm.689150

Cite this article as: Kirit A, Takım K, Durmuş E ve ark. *Rheum ribes L.*'nin etanol ekstraktlarının malign melanoma hücreleri üzerine anti-kanser etkinliği. *J Health Sci Med* 2020; 3(2): 148-152.

GİRİŞ

Rheum ribes L. Çin, Hindistan, İran ve Türkiye’de yabancı olarak yetişmektedir (1). Türkiye’de ise Doğu Anadolu ve özellikle Van ili civarında yetişmektedir (2). *Rheum ribes L.* Türkiye’de yabancı olarak yetişen tek rheum türüdür (3). Bitkinin aerial kısımlarının daha önce yapılmış içerik çalışmalarında krizofanol, fiskiyon ve emodol antrakinonları ile kuersetin, 5-dezoksikuersetin, kuersetin 3-0-ramnozid, kuersetin 3-0- galaktozid, kuersetin 3-0-rutinozid flavonoidleri içerdiği tespit edilmiştir (2). Ayrıca C vitamini açısından zengin olduğunu ortaya koyan çalışmalar da mevcuttur (4).

Rheum ribes L. halk arasında birçok klinik faydalarının yanında az bilinen anti-kanser özelliği için de kullanılmaktadır. Halk arasında birçok hastalığın tedavisinde kullanılmış olması bu bitki üzerine bilimsel çalışmaları cazip hale getirmiştir. *Rheum ribes L.*’in antioksidan, anti-bakteriyel, anti-trikomonas, anti-viral, anti-fungal, anti-diyabetik, anti-dayareik, anti-hiperlipidemik özellikleri üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır (5-14). Ayrıca Alzheimer hastalığının hafif ve orta şiddetteki vakalarında kullanılan asetil kolin esterez inhibitörleri gibi etki gösterdiğini ortaya koyan çalışmalar da mevcuttur (15). Bildiğimiz kadarıyla, anti-kanser (10, 16-20) özelliği üzerine de çalışmalar yapılmıştır. Bununla birlikte malign melanoma hücre hattı üzerine yapılmış sadece bir çalışmaya rastladık (10). Bu çalışmada da *Rheum ribes L.*, fraksiyonlarına ayrılmayıp bir bütün halinde değerlendirilmiştir.

Malign melanoma, cilt kanserinden ölümlerin %75’ini teşkil etmektedir. Agresif lokal büyüme ve metastaz malign melanomanın yaygın özellikleri olup nodal yayılımı olan hastalarda beş yıllık sağkalım oranı yaklaşık %36’dır ve uzak metastazı olanlarda bu oran %5’e kadar düşmektedir (21). Sağkalım oranının düşüklüğü, etkin bir tedavinin halen mevcut olmayışı nedeniyle malign melanoma için etkin tedavi arayışları halen sürmektedir.

Bu çalışmada, *Rheum ribes L.*’nin kök, gövde ve kabuklarının ayrı ayrı ekstraktlarının antioksidan özelliklerini ve farklı konsantrasyonlarının malign melanoma (B16F10) hücre hattı üzerindeki sitotoksik ve apoptotik etkinliğini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bitki Malzemeleri: Bu çalışmada *Rheum ribes L.*, taze olarak Van ilinden toplanmıştır. Bitki, üzerindeki toz kalıntıları su ile temizlenerek kökü, gövdesi ve gövdesinin yeşil kabukları olmak üzere üç kısma ayrılıp ince dilimler haline getirildikten sonra 1 hafta boyunca gölgede kurutuldu. Şahit numuneler Harran Üniversitesi herbaryumunda 5994 numarası ile kaydedildi. Bitkinin kuru halde olan kök, gövde ve kabukları çırpıcı ile kaba toz haline getirildi.

Ekstraktların Hazırlanması: Toz haline getirilen bitki materyalleri %50 etanolde 24 saat kapalı amber beherde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra rotary evaporatörde organik fazı ayrılarak, sonrasında liyofilizatörde su fazı uçurularak ekstrakte edildi.

Etken maddenin hazırlanması: Elde edilen bitki ekstraktları, farklı konsantrasyonlarda hazırlanmak için önce %0,1 DMSO (Dimetil Sülfoksit) ile çözülüp stok solüsyonu hazırlandıktan sonra PBS (Phosphate Buffered Saline) ile seyreltildi.

Toplam Fenolik İçerik Ölçümü: *Rheum ribes L.*’nin toplam fenolik içeriğini belirlemek için Folin-Ciocalteu yöntemi (22) kullanıldı. Filtrelenmiş 50 µL numune ve 250 µL 0,2 N Folin-Ciocalteu reaktifi vortex ile karıştırıldı ve oda sıcaklığında 5 dakika tutuldu. Daha sonra 200 µL 0,7 mol/L Na₂CO₃ ile karıştırıldı. Oda sıcaklığında 2 saat inkübasyondan sonra, reaksiyon karışımının absorbansı, bir spektrofotometre (Varioskan Flash Multimode Reader, Thermo Scientific, ABD) kullanılarak bir köre karşı 760 nm’de ölçüldü. Kalibrasyon eğrisini çizmek için standart olarak gallik asit (0-300 mg/L) kullanılmıştır. Hesaplamalarda üç ölçümün ortalaması kullanılmıştır ve toplam fenolik içerik, µg/mL gallik asit eşdeğerleri cinsinden ifade edilmiştir.

Toplam Flavonoid İçerik Ölçümü: *Rheum ribes L.* örneklerinin toplam flavonoid içeriği, Zhishen vd. tarafından geliştirilen kolorimetrik test yöntemine göre belirlenmiştir (23). Filtrelenmiş 50 µL numune 250 µL distile su ve 15 µL %5 NaNO₂ çözeltisi ile karıştırıldı. 6 dakika sonra 30 µL %10 AlCl₃ çözeltisi, daha sonra 100 µL 1 mol/L NaOH ilave edildi ve çözelti, 5 dakika daha oda sıcaklığında inkübe edildi. Reaksiyon karışımı iyice karıştırıldı ve kırmızı renkli flavonoid-alüminyum kompleksinin yoğunluğu, bir spektrofotometre (Varioskan Flash Multimode Reader, Thermo Scientific, ABD) kullanılarak 510 nm’de ölçüldü. 5 ila 50 mg/L’lik bir konsantrasyon aralığında standart bir kuersetin eğrisi çizildi. Toplam flavonoid içeriği, µg/mL kuersetin eşdeğeri olarak ifade edildi.

Toplam Antioksidan Kapasite Ölçümü: Erel vd. (24) geliştirdiği yöntemine göre yapıldı. Prensip, ekstrakttaki antioksidanların koyu mavi yeşil renkli ABTS radikalini, renksiz ABTS formuna indirgemesi esasına dayanır. Standart olarak 1 mM troloks kullanılıp, ekstraktlar için sonuçlar mM troloks eşdeğeri olarak ifade edildi.

Hücre hattının Hazırlanması: B16F10 hücre hattını çoğaltmak için D’MEM’e (Dulbecco’s Modified Eagle Medium) FBS %10 (Fetal Bovine Serum) ve P/S %1 (penisilin 100 U/mL ve streptomisin 100 U/mL) eklenen vasat kullanıldı. Hücreler %5 CO₂, %95 nem ve 37°C’de sıcaklık ortamında inkübatörde tutuldu. Hücreler konflüe olduktan sonra tripsinizasyonla hasat edilip etken madde uygulanacak 96’lık ve 6’lık plakelere ekildi. 96’lık plakelerde her kuyucuğa 10x10³ hücre, 6’lık plakelerde her kuyucuğa 10x10⁵ hücre ekilip 24 saat inkübe edildi. Hücre canlılığı tripan mavisi ile kontrol edildi ve canlılığın %95’in üzerinde olduğu görülerek deneylere devam edildi.

Sitotoksite Analizi: Farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlar 96’lık plakelerde ekili olan B16F10 hücre hattı üzerinde üçerli tekrar olacak şekilde ve 24 saat süreyle uygulandı. Negatif kontrol olarak, tedavi yapılan kuyucuklardaki en yüksek düzeye eşit konsantrasyonda (%0,1) DMSO

eklendi. Ekstraktlarla tedaviden sonra her kuyucuğa 5 µg/mL konsantrasyondaki MTT'den [3-(4,5-diMetilTiyazol-2-il)-2,5-difenil Tetrazolyum bromür] 20 µL eklenerek 4 saat süreyle 37°C'de karanlıkta inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki içerik döküldü. Daha sonra her kuyucuğa 150 µL DMSO eklenerek oda sıcaklığında ve çalkalayıcıda 20 dk çalkalanmaya bırakıldı. Ardından spektrofotometreyle 470 nm'de (Varioskan LUX Multimode Microplate Reader- Thermo Fisher Scientific) absorbans ölçümü yapıldı.

Apoptozis Tayini: 200 µg/ml ve altı konsantrasyonlardaki ekstraktlar 6'lık platelerde ekili olan B16F10 hücre hattı üzerinde 24 saat süreyle uygulandıktan sonra apoptotik hücre oranlarının mikroskopik tespiti için Akridin Oranj-Etidyum Bromit ikili boyama yöntemi kullanıldı. Hücre incelemesi floresan mikroskop (Leica DM 1000, Solms, Germany) altında gerçekleştirildi. Her konsantrasyon için test üç tekrarlı yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Tüm analizler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama ± SD olarak ifade edildi. Grafiksel değerlendirmeler ve IC₅₀ değerlerinin hesaplanması için Microsoft Excel 2010 (Roselle, IL, ABD) programı kullanılmıştır. Çoklu grupların karşılaştırılmasında tek yönlü ANOVA, post hoc analizinde Tukey testi kullanılmıştır.

Etik Durum

Çalışmamız herhangi bir insan veya hayvan üzerinde veya onların biyolojik materyalleri kullanılarak yapılmış olmadığı; sadece satın alınan dünyaca kabul görmüş kuruluşların standardize ettiği hücre serileri kapsamındaki hücre serisi üzerinde yapılmış in vitro laboratuvar çalışması olduğundan herhangi bir etik kurul iznine gerek duyulmamıştır.

BULGULAR

Total Fenolik ve Flavonoid Aktivite: *Rheum ribes L.*'nin farklı kısımlarının %50 etanolik ekstraktları, kateşin ve gallik asit'e kıyasla önemli ölçüde fenolik ve flavonoid aktivite göstermiştir. Fenolik aktivite düzeyi 200 µg/mL konsantrasyonda gövde, kabuk ve kök için sırasıyla 53,74±3,56, 57,16±3,97 ve 69,49±4,17 µg GAE (Gallik Asit Eşdeğeri)/mL idi. Flavonoid aktivite düzeyi de 200 µg/mL konsantrasyonda gövde, kabuk ve kök için sırasıyla 76,55±5,72, 83,80±4,29 ve 99,11±6,85 µg KE (Kuersetin Eşdeğeri)/mL idi. *Rheum ribes L.*'nin gövde, kabuk ve kök ekstraktlarının total fenolik ve flavonoid aktivite ölçüm sonuçları **Şekil 1** ve **Şekil 2**'de görülmektedir.

Total Antioksidan Kapasite: Total antioksidan kapasite 200 µg/mL konsantrasyonda gövde, kabuk ve kök için sırasıyla 1,10±0,06, 1,29±0,02 ve 1,48±0,07 mmol troloks/L idi (**Şekil 3**).

Hücre Canlılık Oranı: MTT ile yapılan canlılık testinde *Rheum ribes L.*'nin fraksiyonları arasında en yüksek oranda fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olan kök ekstraktı-

nın düşük dozlarda (15 µg/mL) hücre canlılığında hafif bir artışa, yüksek dozlarda ciddi düzeyde canlılık azalmasına neden olduğu; bir tepe noktasından sonra da bu etkinlikte hafif bir azalmaya doğru bir gidiş olduğu saptandı. Gövde, kabuk ve kök ekstraktlarının 500 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını sırasıyla %85,01±7,20, %65,01±7,53 ve %8,08±5,88 düzeyine kadar düşürdükleri saptandı (p<0,001) (**Şekil 4**) (**Tablo**). Kök ekstraktı için IC₅₀ değeri 61 µg/mL olarak saptandı. Çalışması yapılan konsantrasyonlarda kontrole kıyasla sitotoksikite etkinlik farkı kök için 62 µg/mL'den itibaren (p<0,001) istatistiki olarak belirginlik gözlenirken, kabuk için 125 µg/mL'den (p=0,002) itibaren belirginlik saptanmıştır. Gövdede ise kontrole kıyasla farklılık saptanmamıştır (**Şekil 4**).

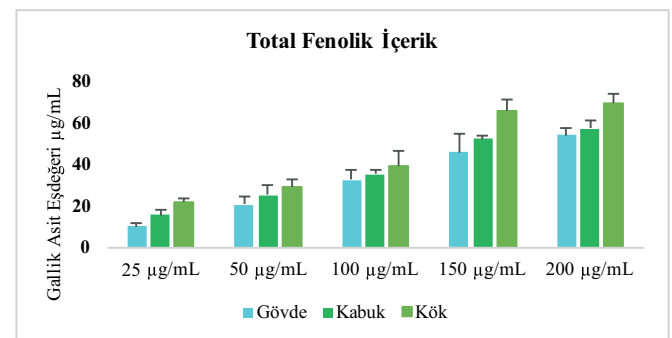
AO/EB yöntemiyle yapılan incelemede *Rheum ribes L.*'nin gövde, kabuk ve kök ekstraktlarının 200 µg/mL konsantrasyonda B16F10 malign melanoma hücre hattında hücre canlılığını sırasıyla %69,16±3,50, %57,14±4,14 ve %40,24±3,57 düzeyine kadar düşürdüğü saptandı (p<0,001) (**Şekil 5**) (**Tablo 1**). Kök ekstraktı için IC₅₀ değerinin 188 µg/mL olduğu saptanmıştır. Çalışması yapılan konsantrasyonlarda kontrole kıyasla apoptozis etkinlik farkı kök için 50 µg/mL'den itibaren (p=0,001) istatistiki olarak belirginlik gözlenirken, kabuk ve gövde için 100 µg/mL'den (p<0,001) itibaren belirginlik saptanmıştır (**Şekil 5**).

TARTIŞMA

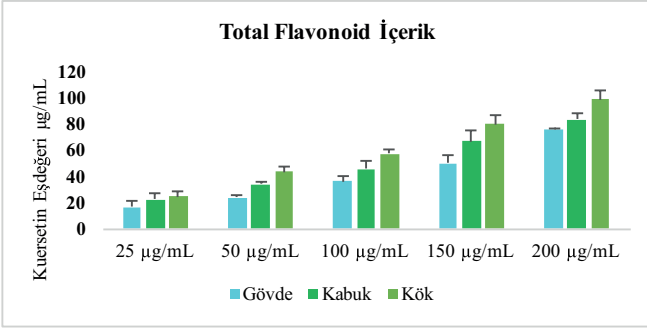
Bu çalışmada *Rheum ribes L.*'nin çeşitli kısım ekstraktlarının farklı düzeyde polifenolik içeriğe sahip olduğu ve anti-kanser etkinliklerinin de farklı olduğu saptandı.

Önceki çalışmalarda *Rheum ribes L.*'nin kök ve gövdesinin fenolik ve flavonoid aktivitesinin ölçümü yapılmış ve kök ekstraktında bu içeriğin daha yüksek düzeyde olduğu, bununla orantılı olarak antioksidan kapasitenin de kök ekstraktında daha yüksek olduğu saptanmıştır (6,12). Polifenol içerikle orantılı olarak antioksidan aktivitenin arttığı bilinmektedir (25-27). Bununla uyumlu olarak biz de çalışmamızda bu bulguları teyit ettik (**Şekil 1-3**).

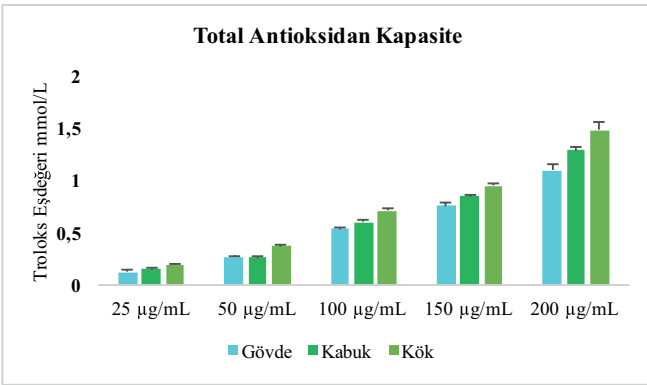
Kanser hücrelerinin bazal redoks seviyeleri normal hücrelerden farklıdır. Kanser hücrelerinde daha yüksek seviyelerde serbest metal iyonları ve daha yüksek endojen ROS



Şekil 1. *Rheum ribes L.*'nin farklı kısım ekstraktlarının Total Fenolik İçerik düzeyleri



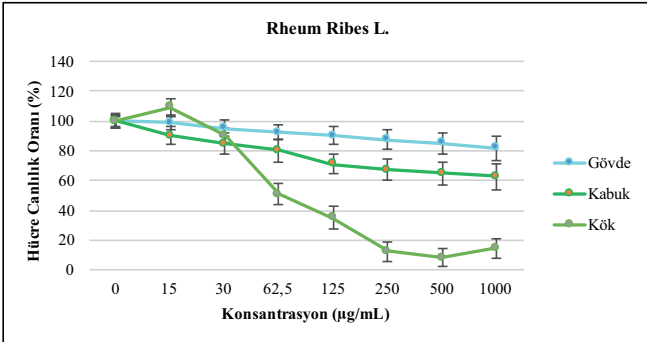
Şekil 2. *Rheum ribes L.*'nin farklı kısım ekstraktlarının Total Flavonoid İçerik düzeyleri



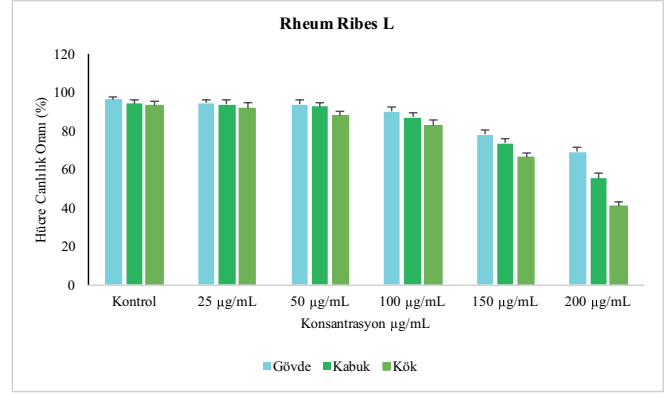
Şekil 3. *Rheum ribes L.*'nin farklı kısım ekstraktlarının Total Antioksidan Kapasite düzeyleri

üretimleri, onları oksidan sitotoksisteye neden olan fitokimyasallara daha duyarlı hale getirir (28). Bu bağlamda birçok medikal ilaç ROS üretebilme potansiyeli ile orantılı olarak antikanser etkinlik göstermektedir (29).

Rheum ribes L., antioksidan etkinliğinin yanısıra antikanser özellik de göstermiştir (Şekil 4,5). Bu bağlamda antioksidan aktivitesi iyi tanımlanmış fitokimyasalların yüksek dozlarda ve demir, bakır gibi metal iyonlarının varlığı gibi belirli koşullar altında pro-oksidasyon aktivite de gösterebildikleri ortaya konmuştur (30,31). Bu açıdan bakıldığında *Rheum ribes L.*'nin antikanser özelliğinin, içerdiği



Şekil 4. *Rheum ribes L.*'nin farklı kısım ekstraktlarının B16F10 hücre hattı üzerinde 24 saat uygulandıktan sonra sitotoksik etkinliğinin MTT yöntemi ile değerlendirilmesi. Kontrolle kıyasla sitotoksik etkinlik farkı kök için 62 µg/mL'den itibaren ($p < 0,001$) istatistiki olarak belirginlik gözlenirken, kabuk için 125 µg/mL'den ($p = 0,002$) itibaren belirginlik saptanmıştır. Gövdede ise kontrolle kıyasla farklılık saptanmamıştır.



Şekil 5. *Rheum ribes L.*'nin farklı kısım ekstraktlarının B16F10 hücre hattı üzerinde 24 saat uygulandıktan sonra apoptotik etkinliğinin Akridin Oranj – Etidyum bromit boyaları ile floresan mikroskopta değerlendirilmesi. Kontrolle kıyasla apoptozis etkinlik farkı kök için 50 µg/mL'den itibaren ($p = 0,001$) istatistiki olarak belirginlik gözlenirken, kabuk ve gövde için 100 µg/mL'den ($p < 0,001$) itibaren belirginlik saptanmıştır.

antioksidan polifenollerin yüksek konsantrasyonda pro-oksidan aktivite göstermesine bağlı gibi görünmektedir.

Rheum ribes L.'nin anti-kanser (10,16-20) etkinliği üzerine bazı çalışmalar yapılmıştır. Esmailbeig vd.'nin (16) yaptığı çalışmada *Rheum ribes L.*'nin K-562 (Kronik miyelojen lösemi) hücre hattı üzerinde antikanser etkinliği (IC_{50} : 115 µg/mL) saptanmıştır. Ayrıca Sardari vd. *Rheum ribes L.* ekstraktını malign melanoma A375 hücre hattı üzerinde denemiş ve IC_{50} : 21,3 µg/mL olarak bulmuşlardır (10). Abudayyak vd. *Rheum Ribes L.*'nin hepatosellüler kanser hücre hattı üzerinde IC_{50} değerini 14.29-31.94 mg/mL olarak saptamışlardır. Keser vd. ise insan meme kanseri (MCF-7), kolon kanseri (HCT-116), over kanseri (A2780) ve prostat kanseri (PC-3) hücre hatları üzerinde sitotoksik etkinliğini saptamışlardır. Bu çalışmalar *Rheum ribes L.*'nin antikanser etkinliği açısından bizim bulgularımızı teyit etmektedir. Bununla birlikte Sardari vd. (10)'nin yaptığı çalışmada *Rheum ribes L.*, fraksiyonlarına ayrılmayıp bir bütün halinde değerlendirilmiştir. Bizim çalışmamızda buna ek olarak *Rheum ribes L.*'nin kök ekstraktlarının gövde ve kabuk ekstraktlarına kıyasla malign melanoma hücreleri üzerinde istatistiksel olarak daha yüksek sitotoksik ve apoptotik etkinlik gösterdiği saptanmıştır ($p < 0,001$) (Tablo).

Tablo. *Rheum ribes L.*'nin farklı kısım ekstraktlarının B16F10 hücre hattı üzerine MTT yöntemiyle sitotoksikite ve AO-EB yöntemiyle apoptozis oranlarının karşılaştırılması.

	MTT (% Canlılık Oranı) 250 µg/mL	AO-EB (% Canlılık Oranı) 200 µg/mL
Gövde	87,41±6,5	69,16±3,50
Kabuk	67,54±4,5 ^Ω	57,14±4,14 ^Ψ
Kök	12,43±4,3 *	40,24±3,57 *

Veriler kontrolle kıyasla ortalama ± SS olarak ifade edilmiş ve gruplar arası fark ANOVA testiyle değerlendirilmiştir.

*: $p < 0,001$ kabuk ve gövdeye kıyasla, Ω: $p < 0,01$ gövdeye kıyasla, Ψ: $p < 0,001$ gövdeye kıyasla.

Bundan sonraki hedefimiz *Rheum ribes L.* kök ekstraktının içerik analizini yapmak, anti-kanser etki mekanizmasını ve kanser hücre hatlarına kıyasla normal insan hücre hatlarına ne denli etki ettiğini aydınlatmaya çalışmak olacaktır.

SONUÇ

Elde edilen sonuçlar, önceki çalışmalarla uyumlu olarak *Rheum ribes L.*'nin antikanser etkinliğinin varlığını ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar doğrultusunda *Rheum ribes L.*'nin anti-kanser ilaç üretiminde kullanılabileceği ümit edilebilir. Bununla birlikte bitkinin kök ekstraktının, gövde ve kabuk kısmına kıyasla daha etkili olduğu görülmektedir. Bundan sonra, *Rheum ribes L.* ile ilgili yapılacak anti-kanser etkinlik çalışmalarında bitkinin kök kısmına odaklanılmasının daha uygun olacağı kanaatine varılmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar, aralarında çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Maddi Destek: Hiçbir kuruluş tarafından maddi destek alınmamıştır.

KAYNAKLAR

- Bazzaz F, Khajehkaramadin M, Shokoheizadeh HR. In vitro antibacterial activity of Rheum ribes extract obtained from various plant parts against clinical isolates of Gram-negative pathogens. IJPR 2005; 4: 87-91.
- Tosun F, Kizilay ÇA. Anthraquinones and flavonoids from Rheum ribes. J Fac Pharm Ankara 2003; 32: 31-5.
- Cullen J. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh: Edinburgh University Press; 1966.
- Munzuroğlu Ö, Karataş F, Gür N. Işgın (*Rheum ribes L.*) Bitkisindeki A, E ve C Vitaminleri ile Selenyum Düzeylerinin Araştırılması. Turk J Biol 2000; 24: 397-404.
- Kalkan S, Otag MR, Engin MS. Physicochemical and bioactive properties of edible methylcellulose films containing Rheum ribes L. extract. Food Chem 2020; 307: 125524.
- Emen Tanrikut S, Çeken B, Altaş S, Piriççioglu M, Kizil G, Kizil M. DNA cleavage protecting activity and in vitro antioxidant potential of aqueous extract from fresh stems of Rheum ribes. Acta Aliment 2013; 42: 461-72.
- Hudson JB, Lee MK, Sener B, Erdemoglu N. Antiviral activities in extracts of Turkish medicinal plants. Pharm Biol 2000; 38: 171-5.
- Raafat K, Aboul-Ela M, El-Lakany A. Alloxan-induced diabetic thermal hyperalgesia, prophyllaxis and phytotherapeutic effects of Rheum ribes L. in mouse model. Arch Pharm Res 2014.
- Khiveh A, Hashempur MH, Shakiba M, et al. Effects of rhubarb (*Rheum ribes L.*) syrup on dysenteric diarrhea in children: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. J Integr Med 2017; 15: 365-72.
- Sardari S, Shokrgozar MA, Ghavami G. Cheminformatics based selection and cytotoxic effects of herbal extracts. Toxicol In Vitro 2009; 23: 1412-21.
- Naemi F, Asghari G, Yousofi H, Yousefi HA. Chemical composition of essential oil and anti trichomonas activity of leaf, stem, and flower of Rheum ribes L. extracts. Avicenna J Phytomed 2014; 4: 191.
- Öztürk M, Aydoğmuş-Öztürk F, Duru ME, Topçu G. Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. Food Chem 2007; 103: 623-30.
- Taşkın T, Bulut G. Qualitative and quantitative phytochemical analysis and in-vitro biological activity of Rheum ribes L. different parts. Istanbul J Pharm 2019; 49: 7-13.
- Hadzadeh MR, Jafary G. The effects of Rheum Ribes on serum lipids in hyperlipidemic Rabbit. koomesh 2004; 5: 19-28.
- Gholamhoseinian A, Moradi MN, Sharifi-Far F. Screening the methanol extracts of some Iranian plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. Res Pharm Sci 2009; 4: 105-12.
- Esmailbeig M, Kouhpayeh SA, Amirghofran Z. An Investigation of the Growth Inhibitory Capacity of Several Medicinal Plants From Iran on Tumor Cell Lines. Iran J Cancer Prev 2015; 8:e4032.
- Achakzai JK, Anwar Panezai M, Kakar MA, et al. In Vitro Anticancer MCF-7, Anti-Inflammatory, and Brine Shrimp Lethality Assay (BSLA) and GC-MS Analysis of Whole Plant Butanol Fraction of Rheum ribes (WBFRR). Biomed Res Int 2019; 2019: 3264846.
- Aygun A, Gulbagca F, Nas MS, et al. Biological synthesis of silver nanoparticles using Rheum ribes and evaluation of their anticarcinogenic and antimicrobial potential: A novel approach in phytonanotechnology. J Pharm Biomed Anal 2019; 113012.
- Abudayyak M. In vitro evaluation of Rheum ribes induced genotoxicity in HepG2 cell lines. Istanbul J Pharm 2019.
- Keser S, Keser F, Karatepe M, et al. Bioactive contents, In vitro antiradical, antimicrobial and cytotoxic properties of rhubarb (*Rheum ribes L.*) extracts. Nat Prod Res 2019: 1-5.
- Jerant AF, Johnson JT, Sheridan CD, Caffrey TJ. Early detection and treatment of skin cancer. Am Fam Physician 2000; 62: 357-68, 75-6, 81-2.
- Slinkard K, Singleton VL. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. Am J Enol Vitic 1977; 28: 49-55.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem 1999; 64: 555-9.
- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem 2005; 38: 1103-11.
- Khan MA, Rahman AA, Islam S, et al. A comparative study on the antioxidant activity of methanolic extracts from different parts of Morus alba L. (Moraceae). BMC Res Notes 2013; 6: 24.
- Galati G, O'Brien PJ. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. Free Radic Biol Med 2004; 37: 287-303.
- Robaszkievicz A, Balcerzyk A, Bartosz G. Antioxidative and prooxidative effects of quercetin on A549 cells. Cell Biol Int 2007; 31: 1245-50.
- Kocyigit A, Guler EM, Dikilitas M: Role of Antioxidant Phytochemicals in Prevention, Formation and Treatment of Cancer. In: Reactive Oxygen Species (ROS) in Living Cells Cristiana F, Elena A (eds). London: Intech Open; 2018. 21-45.
- Zare P, Shahbazfar AA, Alem M, Varmaghani S. Effects of coadministration of artemisinin and iron on histopathologicalalterations in the AGS gastric adenocarcinoma cell line. Turk J Med Sci 2017; 47: 364-7.
- Azam S, Hadi N, Khan NU, Hadi SM. Prooxidant property of green tea polyphenols epicatechin and epigallocatechin-3-gallate: implications for anticancer properties. Toxicol In Vitro 2004; 18: 555-61.
- Raza H, John A. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate differentially modulates oxidative stress in PC12 cell compartments. Toxicol Appl Pharmacol 2005; 207:212-20.