

Ecballium elaterium'un Farklı Kanser Hücre Hatlarına Karşı Sitotoksik Aktivitesi

Fatma AYDOĞMUŞ ÖZTÜRK^{1*}

ÖZET: Bu çalışma kapsamında, halk arasında acı kavun olarak bilinen *Ecballium elaterium*'un, bazı kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir. Eski Mısırlılar döneminden beri tanınan bir drog olan *E. elaterium* birçok hastalığa karşı kullanılmıştır. Bu çalışmada ise son derece saldırgan ve tedavisi bulunmayan malign melanoma (SK-MEL-30), kolon kanseri (CACO-2), meme kanseri (MCF-7) ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (H1299) hücre hatlarına karşı *E. elaterium*'un meyve ve yaprak ekstrelerinin sitotoksik etkileri MTT testi ile değerlendirilmiştir. *E. elaterium*'un meyve ve yaprak ekstreleri aynı zamanda sağlıklı fare fibroblast hücre hattı (L929) üzerinde denenmiştir. Sonuç olarak; *E. elaterium*'un meyve ve yaprak ekstreleri; SK-MEL-30 hücre hattına karşı zayıf, H1299 hücre hattına karşı orta, MCF-7 hücre hattına karşı yüksek sitotoksik aktivite sergilemiştir. CACO-2 hücre hattına karşı ise her iki ekstreinin de toksik bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, meyve ekstrelerinin yaprak ekstrelerinden daha yüksek sitotoksik aktivite sergilediği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Ecballium elaterium*, meme kanseri, akciğer kanseri, sitotoksik aktivite

Cytotoxic Activity of *Ecballium elaterium* Against Various Cancer Cell Lines

ABSTRACT: This study aims to investigate the cytotoxic effects of *Ecballium elaterium*, known as squirting cucumber or exploding cucumber among the people, against some cancer cell lines. *E. elaterium* has been used as a drug against many diseases since the ancient Egyptians. The cytotoxic effects of fruits and leaves extracts of *E. elaterium* against malignant melanoma (SK-MEL-30), colon (CACO-2), breast (MCF-7), and non-small cell lung (H1299) cancerous cell lines were evaluated by the MTT test. Toxicity of the fruits and leaves extracts of *E. elaterium* were also tested on the mouse fibroblast cell line (L929). As a result, fruits and leaves extracts of *E. elaterium* showed weak cytotoxic activity against the SK-MEL-30 cell lines, while moderate cytotoxic activity against H1299 cell lines, and high cytotoxic activity against the MCF-7 cell lines. Against the CACO-2 cell line, however, it was observed that both extracts had no cytotoxic effects. Also, fruit extracts exhibited higher cytotoxic activity than leaf extracts.

Keywords: *Ecballium elaterium*, breast cancer, lung cancer, cytotoxic activity

¹Fatma AYDOĞMUŞ-ÖZTÜRK (Orcid ID: 0000-0001-6070-7453), Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Köyceğiz Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Muğla, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Fatma AYDOĞMUŞ-ÖZTÜRK, e-mail: aydogmus@mu.edu.tr

GİRİŞ

Ecballium elaterium (L.) A. Rich., Cucurbitaceae familyasının bir üyesi olup, halk arasında “acı kavun, acıdülek, eşek hıyarı” olarak bilinen yabani bir bitki türüdür (Baytop,1999). *E. elaterium*, Akdeniz Bölgesi'nde bol miktarda bulunan çok yıllık bir bitkidir. Topikal antiinflamatuvar özellikleri nedeniyle geleneksel Anadolu tıbbında rinosinüzit tedavisi için (Baytop, 1999); ayrıca geleneksel olarak, ateş, kanser, sinüzit, sarılık, kabızlık ve hipertansiyon için kullanılmıştır (Mazokopakis ve ark., 2009; Bizid ve ark., 2014). Meyve suyunun antipiretik ve analjezik potansiyeli olduğu bilinmektedir. Bu bitkinin kökleri ve meyve özleri iyileştirici olarak kullanılmıştır.

E. elaterium daha çok terapötik ajanlar ve gıda bileşenleri olarak kullanılır. *E. elaterium*'un meyvelerinin metanol ekstresinin fitokimyasal içerikleri, antioksidan, antibakteriyel ve antiinflamatuvar özellikleri araştırılmıştır. *E. elaterium* meyvelerinin doğal antimikrobiyal, antioksidan ve antiinflamatuvar ajanlar olarak gıda uygulamaları ve ilaç endüstrisi için kullanılma potansiyeli olduğu bildirilmiştir (Khalil ve Qaoud, 1993; Raikhlin-Eisenkraft ve Bentur, 2000; Bohlooli ve ark., 2012; Felhi ve ark., 2017). *E. elaterium*'un, sepsis sırasında antiinflamatuvar etkilerine önemli katkı sağlayabilecek proinflamatuvar sitokinlerin birikimini hafifleterek, kısmen sepsis ile ilişkili ensefalopatiye karşı koruyucu etki gösteren bazı bileşenler içerdiği gösterilmiştir (Arslan ve ark., 2017). *E. elaterium* yapraklarından saflaştırılan kukurbitasin B'nin inhibitör aktiviteleri, kanser gelişiminin farklı aşamaları üzerinde araştırmış, bu bileşiğin $\alpha 5\beta 1$ integrinleri ile etkileşerek yapışma, proliferasyon, insan glioma kanseri hücre çizgileri göçünü ve anjiyogenezi belirgin şekilde engellediği gözlenmiştir (Touihri-Barakati ve ark., 2017).

Antimikrobiyal özellikler de dahil olmak üzere biyolojik aktivitelerden sorumlu meyvelerden elde edilen ana aktif bileşiklerin, yağ asitleri, proteinler, kukurbitasinler (B, D, E, I ve L) ve glikosil kukurbitasinler ve triterpenoidler, glikozitler gibi kukurbitasin türevleri olduğu bildirilmiştir (Rao ve ark., 1974; Attard ve ark., 2005; Chen ve ark., 2005). Bourebaa ve ark. (2020), *E. elaterium* yaprak, çiçek ve meyve ekstratlarında kukurbitacin D ve ilk kez meyve ekstratında kukurbitasin P tespit etmişlerdir. Ayrıca bitkide rutin, narsisin ve kaempferol gibi birkaç flavonoid tanımlanmıştır. *E. elaterium*'un toprak üstü kısımlarının *n*-heksan ekstraktının ve %100 VLC (vacuum liquid chromatography) fraksiyonunun ön fitokimyasal analizinde, steroidler açısından zengin olduğunu gözlenmiştir. Ayrıca, *n*-heksan ekstresinin GC-MS incelemesinde *n*-hentriakontan, neofitadien, pitol ve alfa-tokoferol gibi bileşik açığa çıkarılmıştır. Ayrıca% 100 VLC fraksiyonunun, loliolid, timol, karvakrol, neofitadin, limonen dioksit gibi sekonder organik metabolitler içerdiği tespit edilmiştir (Molavi ve ark., 2020).

Kanser henüz tedavisi olmayan bir hastalık olması sebebiyle tedaviye yönelik ilaçların geliştirilmesi uluslararası sağlık örgütleri FDA (Food and Drug Administration) ve EMA (European Medicines Agency) tarafından özel statüde değerlendirilmektedir. Doğal ürünler, bu yüzyıldaki ölümün ana nedenleri olacağı öngörülen kanser tedavisi için uzun zamandır verimli bir kaynak olmuştur. Bununla birlikte sentetik, biyolojik ve doğal ürünler havuzunun yöntemsel ve bilimsel olarak araştırılmasıyla yeni antikanser ilaçları, ilaç kombinasyonları ve kemoterapi stratejilerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Birçok bitkinin önemli antikanser özelliklerine sahip olduğu bulunmuştur (Mukherjee ve ark., 2001). Kemoterapi sırasında bazen istenmeyen yan etkiler görülür. Kanser tedavisinde bitki türevi ürünlerin kullanımı gibi doğal terapiler, olumsuz yan etkileri azaltabilir. Şu anda, kanser tedavisinde birkaç bitki ürünü kullanılmaktadır. Bununla birlikte, *in vitro* olarak umut verici antikanser özellik gösteren birçok bitki ürünü vardır, ancak insanlarda henüz değerlendirilmemiştir (Desai ve ark.,

2008). İnsanlarda kanser tedavisinde bu bitki ürünlerinin etkinliğini belirlemek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yapılan bu çalışmada melanoma (SK-MEL-30), kolon kanseri (CACO-2), meme kanseri (MCF-7) ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (H1299) hücre hatlarına karşı *E. elaterium*'un meyve ve yaprak ekstralarının sitotoksik aktivitesi araştırılmıştır. Çalışmamız bitkisel kaynakların kullanımının kanserden korunma, önleme, geciktirme veya iyileştirme için yeni stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

MATERYAL VE METOT

E. elaterium meyve ve yaprak ekstraları ve dilüsyonların hazırlanması

Eylül ayında meyvelerin olgunlaşması ile birlikte İstanbul Büyükçekmece'den toplanan *E. elaterium* (Acı Kavun) meyve ve yaprak örnekleri gölgede kurutulduktan sonra toz haline getirilmiştir. 10 gr örnek için 200 mL metanol kullanılmış ve ekstraksiyon soxhlet aparatı ile yapılmıştır. Elde edilen ekstraların çözücüleri döner buharlaştırıcı kullanılarak 40°C'de vakum altında uçurulmuştur.

Hücre kültürü çalışmalarında kullanılmak üzere hazırlanan ekstralar 10 mg mL⁻¹ olacak şekilde DMSO (Dimetil Sülfoksit)'da çözülmüştür. 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg mL⁻¹'lik dilüsyonlar hazırlanmıştır.

Besiyerlerinin hazırlanması

SK-MEL-30 maling melanoma hücre hattı (HÜKÜK, Şap Enstitüsü Hücre Kültür Koleksiyonu, Ankara, Türkiye) ve H1299 (ATCC, Manassas, VA, USA) küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre hatları için; %89 RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute 1640) (Biological Industries, USA), %10 FBS (Fetal Bovine Serum) (Biological Industries, USA) ve %1 Penisilin/Streptomisin (Biological Industries, USA) olacak şekilde RPMI 1640 besiyeri, CACO-2 kolon kanseri hücre hattı (ATCC, Manassas, VA, USA) için; %89 EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium) (Biological Industries, USA), %10 FBS ve %1 Penisilin/Streptomisin olacak şekilde EMEM besiyeri, MCF-7 meme kanseri hücre hattı (ATCC, Manassas, VA, USA) ve L929 fare fibroblast hücre hattı (ATCC, Manassas, VA, USA) için; %89 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) (Biological Industries, USA), %10 FBS ve %1 Penisilin/Streptomisin olacak şekilde DMEM besiyeri hazırlanmıştır.

Hücre kültür protokolü ve trifan mavisi ile yaşama yeteneğinin belirlenmesi

Kriyotüplerde -80°C'de dondurularak saklanan SK-MEL-30, CACO-2, MCF-7, H1299 ve L929 hücreleri, çözüldükten sonra üzerine 4 mL hazırlanmış olan besiyerleri eklenmiş ve 2000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından süpernatant atılmış, pelletler besiyeri ile süspansiyon edilerek hücre kültür kaplarına aktarılmış ve 37°C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde hücrelerin flask yüzeyi kaplamaları için inkübe edilmiştir.

Flask yüzeyini tamamen kaplayan kültürler tripsin ile kaldırılmış ve pasajlanarak yeni hücre kültür kaplarına aktarılmıştır. Çoğalan SK-MEL-30, CACO-2, MCF-7 H1299 ve L929 hücrelerinin hücre kültür kaplarının yüzeylerini kaplama oranlarına bakılarak hücrelerin yüzeyden ayrılma işlemi gerçekleştirilmiştir. Hücreleri hücre kültür kaplarından kaldırmak için besiyeri uzaklaştırılmış ve 2 mL PBS (Phosphate Buffered Saline, 1X) ile yıkanmıştır. Ardından 2 mL Tripsin-EDTA (Biological Industries, USA) eklenmiş ve 4 dakika boyunca etüvde bekletilmiştir.

İnkübasyon işleminden sonra hücrelerin yüzeyden ayrılmaları mikroskop yardımı ile kontrol edildikten sonra taze besiyeri eklenerek hücreler falkon tüpe aktararak 2000 rpm ve 2 dakika santrifüj edilmiştir. Yapılan santrifüj işleminin ardından süpernatant kısmı atılmış ve pellet üzerine 1 mL taze besiyeri eklenerek süspansiyon edilmiştir. Bu işlemin ardından trifan mavisi ile boyanan hücreler sayılmış, hücreler her biri kuyucuk başına 10x10³ hücre düşecek şekilde 96 kuyucuklu petrilere (Corning, USA) ekilerek üzerlerine besiyeri eklenmiştir. Hücreler 37°C'de %5 CO₂ inkübatöründe 24 saat inkübe

edilmiştir. 24 saatlik inkübasyonun ardından *E. elaterium* meyve ve yaprak ekstraları 5 farklı konsantrasyonda (6.25, 12.5, 25, 50 ve 100 µg mL⁻¹) ve 3 tekerrürlü olarak hücre kültür kaplarına eklenmiştir.

MTT analizi ile sitotoksitenin belirlenmesi

Farklı konsantrasyonlarda (6.25, 12.5, 25, 50 ve 100 µg mL⁻¹) *E. elaterium* meyve ve yaprak ekstraları ile muamele edilen SK-MEL-30, CACO-2, MCF-7, H1299 ve L929 hücre hatlarında sitotoksik aktivite MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) analizi ile tespit edilmiştir. Ekstrelerle 24 saat inkübe edilen hücre hatlarında 96 kuyulu petri kaplarındaki besiyeri uzaklaştırılarak, her bir kuyucuk başına 100 µL fenol red içermeyen besiyeri ve 50 µL MTT solüsyonundan eklenmiş ve 96 kuyucuklu petri kapları 2 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda MTT solüsyonu çekilip üzerine 100 µL izopropanol eklenmiş ve ELISA okuyucuda (Biotek, PowerWave XS2, Bad Friedrichshall, Germany) SK-MEL-30, CACO-2, MCF-7 ve H1299 hücre hatlarının 570 nm'de; L929 hücre hattı 540 nm'de absorpsanları ölçülmüştür.

Yüzde Canlılık, Eşitlik 1. ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{Canlılık} = (\text{Ekstre}_{\text{Abs.}} - \text{Blank}_{\text{Abs.}}) * 100 / \text{Kontrol}_{\text{Abs.}} \quad (1)$$

İstatistiksel analiz

Tüm veriler üç tekrarlı yapılan deneyin ortalaması ± standart sapması olarak ifade edilmiştir. Kimyasal bileşiklerin miktarları arasındaki gözlemlenen farklılıklar için istatistiksel önemin değerlendirilmesi, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından çoklu karşılaştırmalar Tukey Alpha post hoc testi ile gerçekleştirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklılıklar $p < 0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Ülkemizde sebebi bilinen ölümler sıralamasında 2018 verilerine göre kardiyovasküler hastalıklardan sonra en sık görülen ikinci ölüm sebebi olması açısından kanser önemli bir problemdir (TİK, 2020). Dünyada Global Cancer Observatory 2018 istatistiklerine göre kanserden dolayı ölümlerde erkeklerde ilk sırada akciğer daha sonra karaciğer, mide ve kolon kanseri gelirken; kadınlarda ise ilk sırada meme kanseri, ikinci sırada akciğer kanseri, üçüncü sırada kolon kanseri nedeniyle ölümlerin gerçekleştiği bildirilmektedir (GCO, 2020). Malign melanoma, yüksek metastatik özelliği, insidansı ve ilaç direnci nedeniyle ciltle ilişkili kanser arasında en agresif kanserdir. Klasik kemoterapötik ajanlar, moleküler hedefli ajanlar ve immün kontrol noktası inhibitörleri melanoma tedavisinde tek veya kombinasyon halinde kullanılmasına rağmen, hastalarda bu tedavilerin klinik faydası sitotoksikite, ilaç direnci ile engellenmektedir. Melanoma, cilt kanserlerinin yaklaşık %4-5'ini oluşturmasına rağmen, cilt kanseri ölümlerinin %75'i melanomadan kaynaklanır (Disse ve ark., 2016). Maalesef, her geçen gün malign melanomanın mortalitesi ve insidansı dünya çapında artmaktadır (Batistatou ve ark., 2009).

Kanserin tedavisi için, yeni ajanların geliştirilmesine acil ihtiyaç duyulurken, geleneksel ilaçların yeni uygulamaları, klinik tedavi için yeni bir strateji sağlayabilir. Bu amaç doğrultusunda geleneksel tıpta kullanılan *E. elaterium*'un melanoma, meme kanseri, kolon kanseri ve küçük hücreli akciğer kanseri üzerindeki *in vitro* antikanser aktivitesi araştırılmıştır.

E. elaterium'un meyve ve yaprak ekstralarının SK-MEL-30, CACO-2, MCF-7 ve H1299 hücre hatlarına karşı sitotoksik aktiviteleri değerlendirmiş ve sitotoksik aktivite sonuçları Çizelge 1 ve Şekil 1'de verilmiştir. *E. elaterium* meyve ve yaprak ekstralarının SK-MEL-30, MCF-7 ve H1299 hücre hatlarının canlılıklarına karşı sitotoksik etkisi gözlenirken, CACO-2 hücre hattına karşı sitotoksik etki sergilemediği tespit edilmiştir. Ekstreler sağlıklı hücre hattına karşı minimum toksisite göstermiştir.

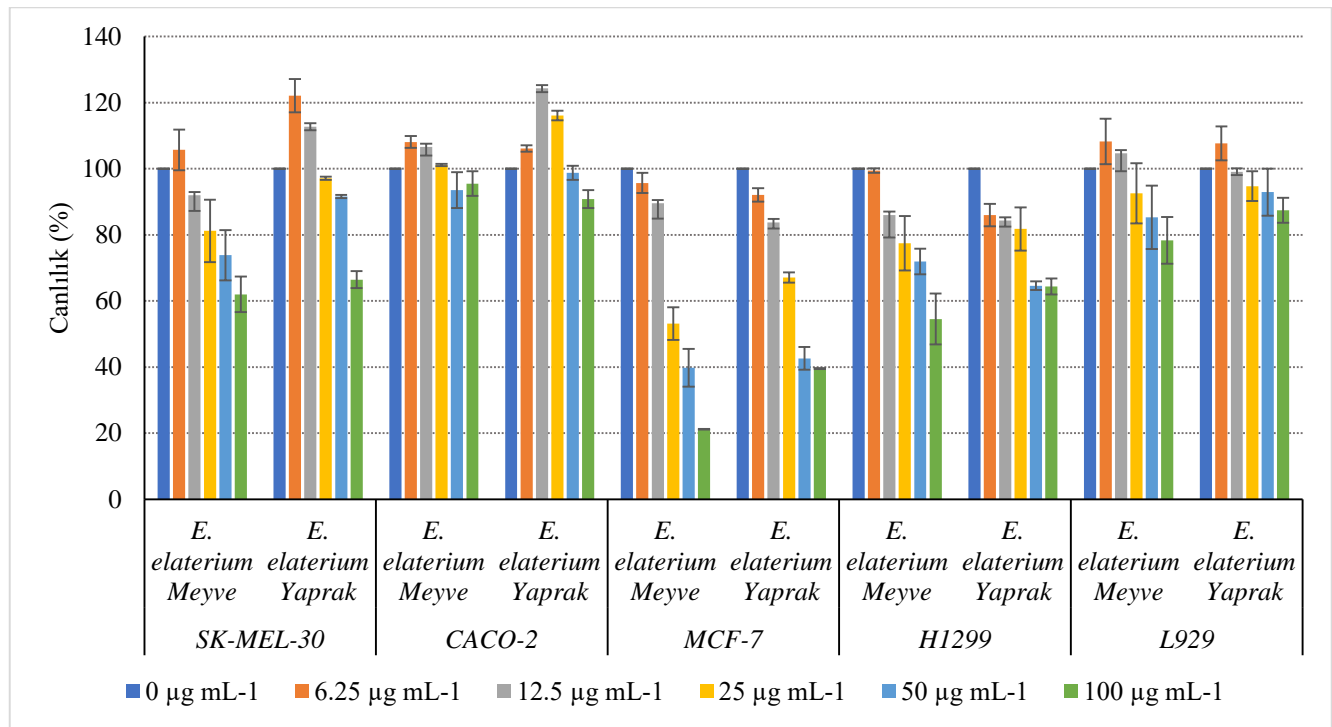
Çizelge 1. *E. elaterium* meyve ve yaprak ekstralarının SK-MEL-30, CACO-2, MCF-7, H1299 ve L929 hücre hatlarına karşı sitotoksik aktiviteleri

		Sitotoksisite					
		Canlılık (%)					
		0 µg mL ⁻¹	6.25 µg mL ⁻¹	12.5 µg mL ⁻¹	25 µg mL ⁻¹	50 µg mL ⁻¹	100 µg mL ⁻¹
SK-MEL-30	<i>E. elaterium</i> Meyve	100	105.7±6.17	91.94±4.69	81.21±9.45	73.82±7.57	61.96±5.38
	<i>E. elaterium</i> Yaprak	100	122.14±5.03	112.75±1.14	97.09±0.50	91.61±0.51	66.44±2.56
CACO-2	<i>E. elaterium</i> Meyve	100	108.1±1.78	106.6±2.60	101.1±0.34	93.50±5.43	95.55±3.70
	<i>E. elaterium</i> Yaprak	100	106.10±0.97	124.3±1.17	116.09±1.47	98.80±2.13	90.81±2.71
MCF-7	<i>E. elaterium</i> Meyve	100	95.7±3.073	89.52±4.59	53.11±4.95	39.81±5.72	21.19±0.07
	<i>E. elaterium</i> Yaprak	100	92.10±2.05	83.75±1.89	67.09±1.52	42.61±3.43	39.51±0.13
H1299	<i>E. elaterium</i> Meyve	100	99.42±0.65	85.98±6.75	77.43±8.25	71.93±3.88	54.52±7.71
	<i>E. elaterium</i> Yaprak	100	85.98±3.37	84.30±1.83	81.78±6.52	64.60±1.29	64.37±2.45
L929	<i>E. elaterium</i> Meyve	100	108.28±6.87	104.65±5.38	92.55±9.11	85.29±9.63	78.31±7.05
	<i>E. elaterium</i> Yaprak	100	107.68±5.12	99.09±1.02	94.73±4.50	92.92±7.10	87.43±3.74

Meyve ekstresinin 100 µg mL⁻¹ konsantrasyonda hücre canlılığına etkisi (sitotoksisite) SK-MEL-30 için %61.96, CACO-2 için %95.55, MCF-7 için %21.19 ve H1299 için %54.52; yaprak ekstresinin 100 µg mL⁻¹ konsantrasyonda hücre canlılığına etkisi (sitotoksisite) ise sırayla %66.44, %90.81, %39.51 ve %64.37 olarak belirlenmiştir (Çizelge 1, Şekil 1). Meyve ve yaprak ekstralarının *E. elaterium* ile yapılan diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlara benzer şekilde melanoma hücrelerine karşı hafif bir etki sergilediği; meme kanserine karşı ise yüksek bir antikanser aktivite sergilediği tespit edilmiştir. Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre hattına karşı orta seviyede bir etki gözlenmiştir. Genel olarak meyve ekstraları yaprak ekstralarına göre kanser hücre hatlarına karşı daha yüksek sitotoksisite sergilemiştir.

E. elaterium'un diğer kanser hücrelerine karşı antikanser aktivitesi araştırılmıştır. *E. elaterium*'un etil asetat ekstresinin, Hep-G2 insan karaciğer kanser hücrelerine karşı yüksek bir antitümör etki gösterdiği, IC₅₀ değerinin 19.12 µg mL⁻¹ olduğu bildirilmiştir (El Sayed ve Badr, 2012). *E. elaterium* meyve ekstralarının AGS mide kanseri ve KYSE30 özofagus skuamöz kanser hücrelerinde sitotoksik etkileri değerlendirilmiş ve AGS hücrelerinde en yüksek etki gözlenmiştir. 24, 48 ve 72 saat sonunda AGS hücreleri için IC₅₀ değerleri sırasıyla 2.5, 0.7 ve 0.7 µg mL⁻¹ bulunurken; KYSE30 hücrelerinde ise IC₅₀ değerleri 500, 150 ve 125 µg mL⁻¹ olduğu bildirilmiştir. Apoptotik hücreler, etidyum bromid/akridin turuncu boya kullanılarak floresan mikroskopta analiz edilmiş ve ekstrakt ile muamele edilen hücrelerde apoptotik hücrelerde artış olduğu tespit edilmiştir (Bohlooli ve ark., 2012). Yapılan bir çalışmada, esas olarak serbest yağ asitleri, linoleik, punik ve oleik içeren *E. elaterium* tohum yağının, sterollerin yanı sıra tokoferollerin, insan kolon adenokarsinoması (HT29) ve fibrosarkom (HT1080) hücre hatlarına karşı etkili antiproliferatif etkilere sahip oldukları tespit edilmiştir (Touihri-

Barakati ve ark., 2016). *E. elaterium* meyve ve yaprak metanol ekstrelerinin meme kanseri (MCF-7, MDA-MB-468) ve mide kanseri (MKN-45) hücre hatlarına karşı sitotoksik etkisi incelenmiş ve MDA-MB-468 hücre hattına karşı IC₅₀ değerlerinin sırasıyla 50 ve 264 µg mL⁻¹ olduğu tespit edilirken, diğer hücre hatlarına karşı kullanılan doz aralığında önemli bir sitotoksik etki gözlenmemiştir (Hamidi ve ark., 2019). *E. elaterium* tohumu yağının, insan kolon adenokarsinomu (HT29) ve fibrosarkom (HT1080) hücre hatları üzerinde güçlü antiproliferatif etkisi olduğu, sırasıyla IC₅₀ değerlerinin 4.86 µg mL⁻¹ ve 4.16 µg mL⁻¹ olduğu bildirilmiştir (Touihri ve ark., 2019). Molavi ve ark. (2020), *E. elaterium*'un toprak üstü *n*-hegzan ekstresinin, MCF-7 hücre hattına karşı IC₅₀ değerinin 264.3 µg mL⁻¹ olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil 1. *E. elaterium* meyve ve yaprak ekstrelerinin SK-MEL-30, CACO-2, MCF-7, H1299 ve L929 hücre hatlarına karşı sitotoksik aktiviteleri

E. elaterium'dan elde edilen kukurbitasin E'nin, ZR-75-1 meme kanseri, COLO 679 melanoma, PC-3 ve L929 fare konnektif dokusunda sitotoksik etki değerlendirilmiştir. Kukurbitasin E, PC-3 hücrelerinde 9.35 nM ve COLO 679 (IC₅₀ değerleri 0.87 ve 1.95 µM) hücrelerinde hafif bir etki sergilemiştir. Morfolojik olarak tüm kanser hücre tiplerinde apoptoz morfolojisi belirlenmiştir (Attard ve Cuschieri, 2004). Kukurbitasin D'nin, G1 fazında hücre döngüsünü durdurduğu ve daha sonra apoptozun indüklenmesini destekleyen CDK1 (siklin-bağımlı kinaz 1) geninin aşırı anlatımı ile *in vitro* olarak NSCLC-N6 akciğer kanseri hücrelerine karşı bir büyüme inhibitörü olduğu gösterilmiştir (Jacquot ve ark., 2014). Kukurbitasin E'nin 95D akciğer kanseri hücrelerinde ROT (Reaktif Oksijen Türleri)'un aracılık ettiği kaspaza bağımlı apoptoz ve koruyucu otofajiyi indüklediğini gösterilmiştir (Ma ve ark., 2016). *E. elaterium*'un meyvelerinden elde edilen kukurbitasin D, E ve I'nın, LC3 genini yukarı regüle ettiği, AGS hücre hattında, G1 hücre döngüsü durdurduğu ve hücre ölümünü indüklediği bildirilmiştir (Jafargholizadeh ve ark., 2018). Kukurbitasin B'nin, U87 glioma kanser hücre hattında proliferasyonu engellediği tespit edilmiştir. Doza bağlı olarak IC₅₀ değeri 70.14 nM olarak tespit edilmiştir (Touihri-Barakati ve ark., 2017). Yılmaz ve ark. (2018), kukurbitasin I ve *E. elaterium* L.'un (meyve suyu ve kloroform ekstraktı) meme kanseri hücreleri (MCF-7 ve MDA-MB-231) üzerindeki

inhibe edici etkilerini araştırmışlar ve bu çalışma sonucunda elde edilen verilerle benzer şekilde meme kanseri hücreleri üzerinde antiproliferatif aktivite gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Dünyada her yıl milyonlarca kişinin yakalandığı ve milyonlarca kişinin ölümüne sebep olan kanser yaş, cinsiyet, dil, din, ırk ayrımı yapmaksızın tüm insanları etkilemektedir. Geleneksel olarak halk arasında tedavi amaçlı kullanılan *E. elaterium*, kanser tedavisinde potansiyel yeni ilaçların geliştirilmesinde umut vadetmektedir.

SONUÇ

Özet olarak bu çalışma, *E. elaterium*'un meyve ve yaprak ekstraktlarının, melanoma, meme kanseri ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücrelerinin proliferasyonlarını inhibe edici etkiler sergilediğini göstermiştir. Ayrıca, toksik olduğu bilinen *E. elaterium* meyvesi ile yaprak ekstraktlarının farklı hücre hatlarına karşı sitotoksik etkilerinin karşılaştırılması yapılmış, *E. elaterium*'un, kanserin klinik tedavisi için aday bir ajan olabilirliği ile ilgili bir ön çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma ile ortaya konan veriler ışığında kansere karşı *E. elaterium*'un kullanılabilmesi için etken maddelerinin izolasyonlarının ve optimizasyonlarının yapılması, özellikle *in vivo* deneylerinin sonuçlarının gözlenmesi gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 17/241 numaralı proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Arslan D, Ekinci A, Arıcı A, Bozdemir E, Akil E, Özdemir HH, 2017. Effects of *Ecballium elaterium* on Brain in a Rat Model of Sepsis-Associated Encephalopathy. *Libyan Journal of Medicine*, 12 (1): 1-6.
- Attard E, Cuschieri A, 2004. Cytotoxicity of Cucurbitacin E Extracted from *Ecballium elaterium* in vitro. *Journal of Natural Remedies*, 4: 137-144.
- Attard E, Brincat MP, Cuschieri A, 2005. Immunomodulatory Activity of Cucurbitacin E Isolated from *Ecballium elaterium*. *Fitoterapia*, 76: 439-441.
- Baytop T, 1999. Türkiye'de Bitkilerle Tedavi Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Kitabevleri s. 206-207, İstanbul-Türkiye.
- Batistatou A, Cook MG, Massi D, 2009. Histopathology report of cutaneous melanoma and sentinel lymph node in Europe: a web-based survey by the Dermatopathology Working Group of the European Society of Pathology. *Virchows Archiv*, 454: 505-511.
- Baurebaba L, Gilbert-Lopez B, Oukil N, Bedjou F, 2020. Phytochemical composition of *Ecballium elaterium* extracts with antioxidant and anti-inflammatory activities: Comparison among leaves, flowers and fruits extracts. *Arabian Journal of Chemistry*, 13: 3286-3300.
- Bizid S, Sabbah M, Msakni I, Slimene B, Mohamed G, Bouali R, Abdallah H, Abdelli N, 2014. Cholestatic Hepatitis due to *Ecballium elaterium* Ingestion. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 39 (5): e61-e63.
- Bohlooli S, Jafari N, Jahed S, 2012. Cytotoxic Effect of Freeze-Dried Extract of *Ecballium elaterium* Fruit on Gastric Adenocarcinoma (AGS) and Esophageal Squamous Cell Carcinoma (KYSE30) Cell Lines. *Journal of Gastrointestinal Cancer*, 43: 579-583.
- Chen X, Bao J, Guo J, Ding Q, Lu J, Huang M, Wang Y, 2012. Biological Activities and Potential Molecular Targets of Cucurbitacins: A Focus on Cancer. *Anti-Cancer Drugs*, 23: 777-787.

- Disse M, Reich H, Lee PK, Schram SS, 2016. A review of the association between parkinson disease and malignant melanoma. *Dermatologic Surgery* 42: 141-146.
- Desai AG, Qazi GN, Ganju RK, El-Tamer M, Singh J, Saxena AK, Bedi YS, Taneja SC, Bhat HK, 2008. Medicinal Plants and Cancer Chemoprevention, *Current Drug Metabolism*, 9 (7): 581-591.
- El Sayed ZI, Badr WH, 2012. Cucurbitacin Glucosides and Biological Activities of the Ethyl Acetate Fraction from Ethanolic Extract of Egyptian *Ecballium elaterium*. *Journal of Applied Sciences Research*, 8 (2): 1252-1258.
- Felhi S, Saoudi M, Daoud A, Hajlaoui H, Ncir M, Chaabane R, El Feki A, Gharallah N, Kadri A, 2017. Investigation of Phytochemical Contents, in vitro Antioxidant and Antibacterial Behavior and in vivo Anti-inflammatory Potential of *Ecballium elaterium* Ethanol Fruits Extract. *Food Science and Technology*, 37 (4): 558-563.
- Global Cancer Observatory (GCO), 2020. Estimated Number of Deaths in 2018, https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2018&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&group_cancer=1&include_nmsc=1&include_nmsc_other=1 (Erişim Tarihi: 07.07.2020).
- Hamidi M, Ghasemi S, Bighdilou BB, Koochi DE, Yousefbeyk F, 2019. Evaluation of Antioxidant, Antibacterial and Cytotoxic Activity of Methanol Extract from Leaves and Fruits of Iranian Squirting Cucumber (*Ecballium elaterium* (L.) A. Rich). *Research Journal of Pharmacognosy* 7 (1): 23-29.
- Jacquot C, Rousseau B, Carbonnelle D, Chinou I, Malleter M, Tomasoni C, Roussakis C, 2014. Cucurbitacin-D-Induced CDK1 mRNA Up-Regulation Causes Proliferation Arrest of a Non-small Cell Lung Carcinoma Cell Line (NSCLC-N6). *Anticancer Research*, 34: 4797-4806.
- Jafargholizadeh N, Zargar SJ, Aftabi Y, 2018. The Cucurbitacins D, E, and I from *Ecballium elaterium* (L.) Upregulate the LC3 Gene and Induce Cell-Cycle Arrest in Human Gastric Cancer Cell Line AGS. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 21 (3): 253-259.
- Khalil AM, Qaoud KM, 1993. Toxicity and Partial Characterization of *Ecballium elaterium* Fruit Juice. *International Journal of Pharmaceutics*, 3: 135-141.
- Ma G, Luo W, 1, Lu J, Ma DL, Leung CH, Wang Y, Chen X, 2016. Cucurbitacin E Induces Caspase-Dependent Apoptosis and Protective Autophagy Mediated by ROS in Lung Cancer Cells. *Chemico-Biological Interactions*, 253: 1-9.
- Mazokopakis EE, Karefilakis CM, Starakis IK, 2009. The Safety and Efficacy of the Fruit Juice of *Ecballium elaterium* in the Treatment of Acute Rhinosinusitis. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 15 (12): 1273-1274.
- Molavi O, Torkzaban F, Jafari S, Asnnashari S, Asgharian P, 2020. Chemical Compositions and Anti-Proliferative Activity of the Aerial Parts and Rhizomes of Squirting Cucumber, Cucurbitaceae. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 15 (1): e82990.
- Mukherjee AK, Basu S, Sarkar N, Ghosh AC, 2001. Advances in Cancer Therapy with Plant Based Natural Products. *Current Medicinal Chemistry*, 8 (12): 1467-1486.
- Raikhlin-Eisenkraft B, Bentur Y, 2000. *Ecballium elaterium* (Squirting Cucumber) — Remedy or Poison? *Journal of Toxicology. Clinical Toxicology*, 38: 305-308.
- Rao MM, Meshulam H, Lavie D, 1974. The Constituents of *Ecballium elaterium* L. Part XXIII Cucurbitacins and Hexanorcucurbitacins. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions*, 1: 2552-2556.

- Touihri-Barakati I, Kallech-Ziri O, Boulila A, Khwaldia K, Marrakchi N, Hanchi B, Hosni K, Luis J, 2016. Targetting $\alpha\beta3$ and $\alpha5\beta1$ Integrins with *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich. Seed Oil. Biomedicine and Pharmacotherapy, 84: 1223-1232.
- Touihri-Barakati I, Kallech-Ziri O, Ayadi W, Kovaciç H, Hanchi B, Hüsnü K, Luis J, 2017. Cucurbitacin B Purified from *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich from Tunisia Inhibits $\alpha5\beta1$ Integrin-Mediated Adhesion, Migration, Proliferation of Human Glioblastoma Cell Line and Angiogenesis. European Journal of Pharmacology, 797: 53-161.
- Touihri I, Kallech-Ziri O, Boulila A, Fatnassi S, Marrakchi N, Luis J, Hanchi B, 2019. *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich. Seed Oil: Chemical Composition and Antiproliferative Effect on Human Colonic Adenocarcinoma and Fibrosarcoma Cancer Cell Lines. Arabian Journal of Chemistry, 12: 2347-2355.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TİK), 2020. Ölüm Nedeni İstatistikleri 2018. http://www.tuik.gov.tr/PreTabloArama.do?metod=search&araType=hb_x (Erişim tarihi: 07.07.2020).
- Yılmaz K, Karakuş F, Eyol E, Tosun E, Yılmaz İ, Ünüvar S, 2018. Cytotoxic Effects of Cucurbitacin I and *Ecballium elaterium* on Breast Cancer Cells. Natural Product Communications, 13: 1445-1448.