

Araştırma Makalesi - Research Article

## ***Rumex acetosella* L. (Kuzukulağı)'nın *In vitro* Antiradikal, Antimikrobiyal, Antikanser ve Fitokimyasal Özellikleri**

### ***In vitro* Antiradical, Antimicrobial, Anticancer, and Phytochemical Properties of *Rumex acetosella* L. (Sorrel)**

Fatma Keser<sup>1\*</sup>, Mustafa Karatepe<sup>2</sup>, Serhat Keser<sup>3</sup>, Suat Tekin<sup>4</sup>, İsmail Türkoğlu<sup>5</sup>, Ömer Kaygılı<sup>6</sup>, Ersin Demir<sup>7</sup>, Ökkeş Yılmaz<sup>8</sup>, Süleyman Sandal<sup>9</sup>, Sevda Kırbağ<sup>10</sup>

**Geliş / Received:** 13/09/2021

**Revize / Revised:** 30/09/2022

**Kabul / Accepted:** 30/09/2022

#### **ÖZET**

Polygonaceae familyasında yer alan *R. acetosella*, çok yıllık otsu bir bitkidir ve Türkiye’de halk arasında sebze olarak tüketilmektedir. Bu çalışmada *R. acetosella* toprak üst kısımlarının etanol, su ve metanol ekstraktlarının antimikrobiyal (*Escherichia coli*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* bakterileri ve *Candida albicans* maya-mantarına karşı), antiradikal (DPPH, ABTS ve OH radikallerine karşı), antikanser (insan prostat kanseri (PC-3), insan kolon kanseri (HCT-116), insan yumurtalık kanseri (A2780) ve insan göğüs kanseri (MCF-7) hücre serilerine karşı) ve fitokimyasal özellikleri (yağda çözünen vitaminler, yağ asitleri, flavonoidler, fitosteroller, fenolik asitler, toplam fenolik bileşik, toplam flavonoid ve toplam proantosiyanidinler) incelenmiştir. Sonuçlarımıza göre *R. acetosella* ekstraktlarının ABTS, DPPH ve OH radikali yok etme testlerinde BHT’den daha yüksek aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Ayrıca bu bitkinin yüksek antimikrobiyal aktiviteye ve fitokimyasal içeriğe sahip olduğu, PC-3 insan prostat kanseri hücrelerine karşı etkili antikanser aktivite gösterdiği anlaşılmıştır. Aynı zamanda sunulan çalışma, *R. acetosella* ekstraktlarının *in vitro* antikanser aktivitesi ile ilgili ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır.

**Anahtar Kelimeler-** *R. acetosella*, Kuzukulağı, Antiradikal, Fitokimyasal, Antikanser

<sup>1\*</sup>Sorumlu yazar iletişim: [fatma\\_arslan85@hotmail.com](mailto:fatma_arslan85@hotmail.com) (<https://orcid.org/0000-0001-6870-0546>)

<sup>2</sup>İletişim: [mkaratepe@firat.edu.tr](mailto:mkaratepe@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0001-6358-5913>)

<sup>3</sup>İletişim: [serhatkeser@gmail.com](mailto:serhatkeser@gmail.com) (<https://orcid.org/0000-0002-9678-1053>)

<sup>4</sup>İletişim: [tekinsuat@gmail.com](mailto:tekinsuat@gmail.com) (<https://orcid.org/0000-0002-2757-1802>)

<sup>5</sup>İletişim: [isturkoglu@firat.edu.tr](mailto:isturkoglu@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0001-7454-7605>)

<sup>6</sup>İletişim: [okaygili@firat.edu.tr](mailto:okaygili@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-2321-1455>)

<sup>7</sup>İletişim: [ersnancan.dmr@gmail.com](mailto:ersnancan.dmr@gmail.com) (<https://orcid.org/0000-0002-7676-5953>)

<sup>8</sup>İletişim: [oyilmaz@fiat.edu.tr](mailto:oyilmaz@fiat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-8276-4498>)

<sup>9</sup>İletişim: [suleyman.sandal@inonu.edu.tr](mailto:suleyman.sandal@inonu.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-8916-3329>)

<sup>10</sup>İletişim: [skirbag@firat.edu.tr](mailto:skirbag@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-4337-8236>)

<sup>11</sup>İletişim: [skirbag@firat.edu.tr](mailto:skirbag@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-4337-8236>)

<sup>12</sup>İletişim: [skirbag@firat.edu.tr](mailto:skirbag@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-4337-8236>)

<sup>13</sup>İletişim: [skirbag@firat.edu.tr](mailto:skirbag@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-4337-8236>)

<sup>14</sup>İletişim: [skirbag@firat.edu.tr](mailto:skirbag@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-4337-8236>)

<sup>15</sup>İletişim: [skirbag@firat.edu.tr](mailto:skirbag@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-4337-8236>)

<sup>16</sup>İletişim: [skirbag@firat.edu.tr](mailto:skirbag@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-4337-8236>)

<sup>17</sup>İletişim: [skirbag@firat.edu.tr](mailto:skirbag@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-4337-8236>)

<sup>18</sup>İletişim: [skirbag@firat.edu.tr](mailto:skirbag@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-4337-8236>)

<sup>19</sup>İletişim: [skirbag@firat.edu.tr](mailto:skirbag@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-4337-8236>)

<sup>20</sup>İletişim: [skirbag@firat.edu.tr](mailto:skirbag@firat.edu.tr) (<https://orcid.org/0000-0002-4337-8236>)

## ABSTRACT

*R. acetosella* is a perennial herbaceous plant in the Polygonaceae family and is consumed as a vegetable among the people in Turkey. In this study, antimicrobial (*Escherichia coli*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* bacteria and *Candida albicans* yeast-fungi), antiradical (against to DPPH, ABTS and OH radicals), anticancer (against to human prostate cancer (PC-3), human colon cancer (HCT-116), human ovarian cancer (A2780) and human breast cancer (MCF-7) cell lines) and phytochemical properties (lipid-soluble vitamins, fatty acids, flavonoids, phenolic acids, phytosterols, total phenolic compounds, total flavonoid, and total proanthocyanidins) of ethanol, water and methanol extracts of *R. acetosella* aerial parts were investigated. According to our results, it was determined that *R. acetosella* extracts have higher activity than the BHT in scavenging tests of ABTS, DPPH and OH radicals. It has also been understood that this plant has high antimicrobial activity and phytochemical content and effective anticancer activities against to PC-3 human prostate cancer cell lines. Also the presented study is the first study on the *in vitro* anticancer activity of *R. acetosella* extracts.

**Keywords-** *R. acetosella*, *Sorrel*, *Antiradical*, *Phytochemical*, *Anticancer*

## I. GİRİŞ

Bitkilerdeki karotenler, C ve A vitaminleri, flavonoidler, tokoferoller ve fenolik bileşikler gibi antioksidan özellik gösteren maddeler bazı hastalıklara karşı koruyuculuk sağlayabilmektedir [1]. Gıdalarla birlikte alınan askorbik asit,  $\beta$ -karoten ve  $\alpha$ -tokoferol gibi eksojen antioksidanlar ile katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz enzimleri gibi endojen antioksidanlar canlı organizmaları oksidatif hasarlardan korumaktadırlar [2,3]. Bunlara ek olarak, antioksidan maddelerin aynı zamanda antibakteriyel, antiülserojenik, antikanserijen, antimikrobiyal, antitümör, antialerjik, antiviral, antimutajenik, antimetastaz aktivite gibi fizyolojik etkilere de sahip oldukları yapılan birçok çalışmayla ispatlanmıştır [4].

Bitkiler enfeksiyon gibi durumlar karşısında antibiyotik etkiye de sahip olan biyolojik olarak aktif maddeler üretebilmektedirler. Dünya Sağlık Örgütü veri ve tahminlerine göre gelişmemiş veya az gelişmiş ülkelerdeki nüfusun yarısından fazlası halen bitki ve bitkisel türevli ilaçları kullanmakta ve dünyada kırsal kesimde yaşayan nüfusun yaklaşık 4/5'lik kısmının birincil sağlık bakımı için halen şifalı bitkilere başvurduğu tahmin edilmektedir. Buna bağlı olarak son yıllarda antibiyotik amaçlarla, bu özelliğe sahip bitkilerin kullanımında bir artış yaşanmaktadır [5].

Modern dünyada kansere bağlı ölümler, ölüm sayısının 1/5'inden daha çoğunu oluşturmaktadır. Kanserle sebep olan başlıca etmenler ise çeşitli kimyasallar, viral enfeksiyonlar, beslenme alışkanlıkları, tütün kullanımı, radyasyon ve çevre faktörleri şeklinde sıralanmaktadır [6]. Kanser tedavisi için kemoterapi, cerrahi müdahale ve radyoterapi gibi önemli ve etkili tedavi yöntemlerine ek olarak halk tıbbında kullanılan bitki ve bitkilerden elde edilen doğal ürünlerle tedavi gibi alternatif yollar da uygulanmaktadır [7].

Polygonaceae familyasının Türkiye'de 67 türü bulunmakta ve bunların 25'i *Rumex* cinsine aittir. *Rumex acetosella* L. (kuzukulağı) bitkisi de bu familya içinde yer almaktadır. Mayıs-Eylül ayları arasında çiçek açan *R. acetosella*, çok yıllık otsu bir bitkidir ve halk arasında sebze olarak tüketilmektedir. Bu bitki ayrıca ateş düşürücü ve idrar söktürücü etkilerine sahip olup, müshil etkisi sebebiyle halk arasında kabızlığa karşı da kullanılmaktadır. Bitkinin kök ve yapraklarının yanık tedavisinde, kanı temizlemede ve iltihapların iyileştirilmesinde de kullanıldığı belirtilmektedir [8-10]. *R. acetosella* ile ilgili literatürler incelendiğinde bu bitkinin antiradikal özellikleri [11-15] ve antimikrobiyal özelliklerinin [16] belirlendiği gözlenmiştir.

Sunulan çalışmanın amacı *Rumex acetosella* toprak üstü kısımlarının su, etanol ve metanol ekstraktlarının antiradikal (ABTS<sup>+</sup>, DPPH<sup>•</sup>, OH<sup>•</sup>), antimikrobiyal (*Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* bakterileri ve *Candida albicans* mantarı), antikanser (insan prostat kanseri (PC-3), insan yumurtalık kanseri (A2780), insan göğüs kanseri (MCF-7) ve insan kolon kanseri (HCT-116)) ve fitokimyasal içeriklerinin (toplam fenolik, toplam flavonoid, toplam proantosyanidin, flavonoidler, fenolik asitler, fitosteroller, yağda çözünen vitaminler ve yağ asitleri) incelenmesidir.

## II. MATERYAL VE YÖNTEM

### A. Bitki Örnekleri ve Ekstraksiyon

*Rumex acetosella* (Kuzukulağı) örnekleri, 25.05.2015 tarihinde, Elazığ-Sivrice arası, Gözeli Ovası, Şirinyazı Köyü çevresi, tarla kenarı, 1550 metre rakımdan toplandı. Numunelerin bir örneği Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Herbaryumu'nda saklandı. Toplanan örnekler laboratuvar ortamında, oda sıcaklığında ve gölgede kurutuldu. Ekstraksiyondan önce kurutulmuş bitki kısımları (10 g) blendırda öğütülüp ekstraksiyon için hazırlandı. Öğütülerek toz haline getirilmiş bitki örnekleri ağzı kapaklı 1 L'lik erlenlerde örneklerin 20 katı kadar çözücü ile (200 mL; su, etanol ve metanol) manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Ekstraksiyon çözeltisi renksiz hale gelinceye kadar değiştirilerek karıştırılmaya devam edildi. Ekstraktlar süzgeç kağıdı ile süzülüp, çözücülerini uzaklaştırıldı. Son olarak elde edilen ekstraktlar ve standartlar analizlere uygun şekilde µg/mL konsantrasyonunda çözümlenerek kullanıldı.

### B. Radikal Yok Etme Aktivitelerinin Belirlenmesi

DPPH serbest radikal giderme, Brand-Williams ve ark. [17] metoduna göre bazı modifikasyonlarla yapıldı. DPPH\* radikalinin 1 mM'lık çözeltisi hazırlandı. Deney tüplerine 500 µg/mL ekstrakt aktarıldı ve toplam hacim 3 mL olacak şekilde saf etanol ile tamamlandı. Daha sonra numune tüpüne stok DPPH\* çözeltisinden 1 mL ilave edildi. 30 dk oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyondan sonra etanoldan oluşan köre karşı 517 nm de absorbansları ölçüldü. Kontrol olarak, 3 mL etanol ve 1 mL DPPH\* çözeltisi kullanıldı.

ABTS\*radikalini yok etme aktivitesi Re ve ark. [18] metoduna göre bazı modifikasyonlarla gerçekleştirildi. Bunun için 2.45 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> ve 7 mM ABTS çözeltileri 1:1 oranında karıştırılarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 16 saat inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan bu ABTS radikal çözeltisinin 734 nm'de absorbansı alınarak 1.660±0.02 absorbansına ulaşılan kadar etil alkolle seyreltildi. Bu absorbans kontrol absorbansı olarak kullanıldı. Daha sonra bu radikal çözeltisinden deney tüplerine 4 mL bırakıldı ve bu tüplerin üzerine 500 µg/mL bitki ekstraktından eklenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda örneklerin absorbansı 734 nm'de PBS (Fosfat Tamponu, pH=7.4)'den oluşan köre karşı kaydedildi.

Hidroksil (OH) radikali yok etme aktivitesi Halliwell ve ark. [19] metoduna göre belirlendi. Reaksiyon karışımı 500 µg/mL bitki ekstraktı, 500 µL 3.6 mM deoksiriboz, 200 µL 100 µM FeCl<sub>3</sub>, 200 µL 104 mM EDTA, 100 µL 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve 100 µL 1 mM askorbik asit çözeltisinden oluşturuldu ve vortekste iyice karıştırıldı. 37 °C'deki etüvde 1 saat bekletilen tüplerin üzerine 1 mL %2.8 TCA ve 1 mL %1.0 TBA eklendikten sonra sıcak su banyosunda 50 °C'de 30 dk bekletilen örnekler bütanol fazına alınarak 532 nm dalga boyunda UV'de absorbansları kaydedildi.

Bütün testler üç kez tekrarlandı ve ortalama değerler hesaplandı. Radikal yok etme testlerinde bitki ekstraktlarıyla aynı konsantrasyonda hazırlanan BHT kullanıldı. Her bir örneğin radikal yok etme aktivite yüzdeleri aşağıdaki eşitlikle belirlendi:

$$\% = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100 \quad (1)$$

A<sub>0</sub>: kontrol absorbansı; A<sub>1</sub>: örnek absorbansı.

### C. Fitokimyasal İçeriklerin Belirlenmesi

Toplam fenolik bileşik miktarı Slinkard ve Singleton [20] metoduna göre saptandı. Gallik asit standart olarak kullanıldı. 1 mL bitki ekstraktı deney tüpüne alınarak üzerine 0.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi eklendi ve 3 dk sonra 3 mL %2'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi eklenen örnekler sürekli karıştırılarak 2 saat bekletildi. Bu sürenin sonunda 760 nm dalga boyunda numunelerin absorbansları kaydedildi. Kaydedilen absorbanslar daha önceden hazırlanan gallik asit standart grafiğinden elde edilen denklemde yerine konularak, her bir bitki ekstresinin ihtiva ettiği toplam fenolik bileşik miktarı gallik asit eşdeğeri (mg gallik asit/ g ekstrakt) olarak hesaplandı.

Toplam flavonoid içeriği Kim ve ark. [21] metoduna göre belirlendi. Kateşin standart olarak kullanıldı. Bu metotta 0.5 mL bitki ekstraktı saf suyla 4 mL'ye tamamlandı. Sonra örneklerin üzerine 0.3 mL %5'lik NaNO<sub>2</sub> çözeltisinden ve 0.3 mL %10'luk AlCl<sub>3</sub> çözeltisinden ilave edilip oda sıcaklığında 5 dk bekletildi. Bu sürenin sonunda karışıma 2 mL 1 M NaOH eklenip vortekste iyice karıştırıldı. Reaksiyon sonunda oluşan pembe renkli örneklerin absorbansı 510 nm'de UV.'de kaydedildi. Ekstraktların ihtiva ettiği total flavonoid miktarı

önceden hazırlanmış kateşin standart grafiği üzerinden elde edilen denklemde yerine konarak µg kateşin / g ekstrakt olarak hesaplandı.

Proantosiyanidin içeriğinin belirlenmesi Amaeze ve ark. [22] metoduna göre gerçekleştirildi. Kateşin standart olarak kullanıldı. Bunun için 0.5 mL ekstrakt üzerine 1.5 mL %4'lük vanilin-metanol çözeltisi ve 0.75 mL derişik HCl çözeltisi eklendi. Reaksiyon karışımı iyice karıştırılıp oda sıcaklığında 15 dk bekletildi. Bu sürenin sonunda 500 nm dalga boyunda numunelerin absorbansları kaydedildi. Kaydedilen absorbanslar daha önceden hazırlanan catechin standart grafiğinden elde edilen denklemde yerine konularak, her bir bitki ekstresinin ihtiva ettiği toplam proantosiyanidin miktarı catechin eşdeğeri (mg kateşin / g ekstrakt) olarak hesaplandı.

Flavonoit ve fenolik asit içerikleri Zu ve ark. [23] metoduna göre saptandı. Bitkilerin metanol fazında homojenizasyonu ile elde edilen ekstraktlarının ihtiva ettiği flavonoit ve fenolik asitlerin analizi HPLC cihazı ile ters faz kolon kullanılarak gerçekleştirildi. Bu analizde mobil faz olarak %1 asetik asit içeren metanol/su/asetonitril (46/46/8) karışımı kullanıldı. Bu faz 0.45 µm çapında membran filtresiyle filtre edildi ve kullanmadan önce ultrasonik olarak deaerate edildi. Akış oranı ve enjeksiyon hacmi sırasıyla 1.05 mL/dk ve 10 µL belirlendi. Bütün kromatografik analizler 25 °C'de gerçekleştirildi. Kromatografik piklerin analizi alıkonma süreleri ve UV spektrumlarının referans standartlarla karşılaştırılmasıyla gerçekleştirildi. Myrisetin, morin, kuersetin, kaempferol, naringin, naringenin, resveratrol, vanilik asit, gallik asit, kafeik asit, ferulik asit ve rosmarinik asit *R. acetosella* toprak üstü kısımlarında tespit edildi.

*R. acetosella* toprak üstü kısımlarında bulunan serbest yağ asitleri GC cihazıyla Christie [24] metoduna göre belirlendi. Bitki örneklerinden lipitlerin ekstraksiyonu 3:2 (v/v) heksan-izopropanol karışımı ile yapıldı. Bunun için: 1 g bitki kısmı 3:2 (v/v) oranında 5 mL heksan-izopropanol karışımı içinde 30 sn süreyle homojenize edildi. Homojenizasyon kabı 2 mL parçalama çözeltisi ile yıkandı ve santrifüj tüplerine alındı. Daha sonra 4500 rpm'de 10 dk süreyle santrifüj edilen bitki örneklerinden üst supernatant kısım alınarak ağız kapaklı deney tüplerine konuldu. Metil esteri hazırlamak için heksan/izopropanol fazı içindeki lipit ekstraktı 30 mL'lik sızdırma yapmayan deney tüplerine alındı. Üzerine %2'lik metanolik sülfürik asitten 5 mL ilave edildi, vorteks ile iyice karışmaları sağlandı. Bu karışım 50 °C'lik etüde 15 saat süre ile metilleşmeye bırakıldı. Tüpler etüden çıkarılarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 5 mL %5'lik NaCl ilave edilerek iyice karıştırıldı. Tüpler içinde oluşan yağ asidi metil esterleri 5 mL heksan ile ekstrakte edildi ve heksan fazı pipetle alınarak, 5 mL %2'lik KHCO<sub>3</sub> ile muamele edildi ve fazların ayrılması için 4 saat bekletildi. Daha sonra metil esterlerini içeren karışımın, 45 °C de ve azot akımı altında çözücüsü uçuruldu, 1 mL heksan ile çözülerek 2 mL'lik ağız kapaklı otosampler vialleri içine alınarak gaz kromatografisinde analiz edildi. Lipit ekstraktı içindeki yağ asitleri metil esterlerine dönüştürüldükten sonra SHIMADZU GC 17 Ver. 3 gaz kromatografisi ile analiz edildi. Bu analiz için 25 m uzunluğunda, 0.25 m iç çapında ve PERMABOND 25 mikron film kalınlığına sahip Machery-Nagel (Germany) kapiller kolon kullanıldı. Analiz sırasında kolon sıcaklığı 120-220 °C, enjeksiyon sıcaklığı 240 °C ve dedektör sıcaklığı 280 C olarak tutuldu. Kolon sıcaklık programı 120 C'den 220 C'ye kadar ayarlandı. Sıcaklık artışı 200 °C'ye kadar 5 °C/dk ve 200 °C'den 220 °C'ye kadar 4 C/dk olarak belirlendi. 220 °C'de 8 dakika tutuldu ve toplam süre 35 dakika olarak belirlendi. Taşıyıcı gaz olarak azot gazı kullanıldı. Analiz sırasında örneklere ait yağ asidi metil esterlerinin analizinden önce, standart yağ asidi metil esterlerine ait karışımlar enjekte edilerek, her bir yağ asidinin alıkonma süreleri belirlendi. Bu işlemden sonra gerekli programlama yapılarak örneklere ait yağ asidi metil esterleri karışımlarının analizi yapıldı. Sonuçlar toplam yağ asitleri içinde her bir yağ asidi için % miktar olarak belirlendi. Hesaplamalar GC Solution 2.3 programı kullanılarak yapıldı.

*R. acetosella* toprak üstü kısımlarından ekstrakte edilen yağda çözünen vitamin ve fitosterol içerikleri Sánchez-Machado ve ark. [25] ile Lopez-Cervantes ve ark. [26] metotlarına göre HPLC cihazıyla belirlendi. Bitki örneklerinin 10 mL 3/2 heksan/izopropanol karışımında parçalanıp santrifüj edilmesiyle elde edilen supernatanttan 5 mL 25 mL'lik vida kapaklı tüpler içine alınarak üzerine %5'lik KOH çözeltisi ilave edildi. Vortekslelendikten sonra 85 °C'de 30 dk bekletilen örnekler daha sonra oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve üzerine 5 mL saf su ilave edilerek karıştırıldı. Sabunlaşmayan lipofilik moleküller 2 x 5 mL heksan ile ekstrakte edildi. Heksan fazı azot akımı ile uçuruldu. 1 mL (60/40, v/v) asetonitril/metanol karışımında çözümlenerek otosampler viallerine alınan örnekler HPLC'de analiz edildi. Analiz Shimadzu HPLC cihazı ile yapıldı. Cihazda pompa olarak LC-10 ADVP, UV-visible dedektör olarak SPD-10AVP, kolon fırını olarak CTO-10ASVP, otosampler olarak SIL-10ADVP, degasser ünitesi olarak DGU-14A ve Class VP yazılım (Shimadzu, Kyoto Japan) kullanıldı. Mobil faz olarak asetonitril/metanol (60/40, v/v) karışımı kullanıldı. Mobil faz akış hızı 1 mL olarak belirlendi. Analiz için UV dedektör kullanıldı. Kolon olarak da Süpelcosil LC 18 (15 cm x 4.6 mm, 5 µm; Sigma, USA) kolonu kullanıldı. Dedeksiyon dalga boyları retinol için 320 nm, tokoferoller ve D vitamini için



215 nm, K vitamini için 265 nm, fitosteroller için 202 nm belirlendi Analiz sonuçları  $\mu\text{g/g}$  olarak ifade edildi. Retinol,  $\delta$ -tocopherol,  $\alpha$ -tocopherol, vitamin K, vitamin D, ergosterol ve stigmasterol *R. acetosella* toprak üstü kısımlarında saptandı.

#### D. Antimikrobiyal Özelliklerin Belirlenmesi

*Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Bacillus subtilis* IMG 22, *Proteus vulgaris* FMC 1, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071, *Listeria monocytogenes* SCOTTA, *Klebsiella pneumoniae* FMC 5, *Staphylococcus aureus* COWAN 1 bakterileri ve *Candida albicans* FMC 17 maya-mantarı test mikroorganizmaları olarak kullanıldı. Antimikrobiyal aktivite testi, Collins ve Lyne [27] metoduna göre disk difüzyon metoduna ile belirlendi. Bitki ekstraktları mikro şırınga ile 6 mm çapındaki steril boş antibiyotik disklerle emdirildi. Bakteri suşları; Nutrient Buyyon'da aşılansak 35  $\pm$  1  $^{\circ}\text{C}$  de 24 saat, maya suşları Malt Ekstrakt Buyyon'da, 25  $\pm$  1  $^{\circ}\text{C}$  de 48 saat süre ile inkübe edildi. Antibiyogram için erleninde steril edilen ve 45-50  $^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulan Müller Hinton Agar, yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanan bakteri ve mayaların buyyondaki kültürü ile %1 oranında aşılansak (10<sup>6</sup> bakteri/mL, 10<sup>4</sup> maya/mL) iyice çalkalandıktan sonra 9 cm çapındaki steril petri kutularına konularak ve besiyerinin homojen bir şekilde dağılması sağlandı. Katılaşılan besi ortamına ekstrakt emdirilmiş olan diskler hafifçe bastırılarak yerleştirildi. Bu şekilde hazırlanan petri kutuları 4  $^{\circ}\text{C}$ 'de 1.5 $\pm$ 2 saat bekletildikten sonra bakteri aşılansak plaklar 37  $\pm$  0.1  $^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat, maya aşılansak plaklar ise 25  $\pm$  0.1  $^{\circ}\text{C}$ 'de 3 gün süre ile inkübe edildi. Streptomisin sülfat (10 mg/disk) bakteriler için ve nystatin (30 mg/disk) ise maya-mantarı için standart antibiyotikler olarak kullanıldı.

#### E. Antikanser Özelliklerin Belirlenmesi

1) *Hücre Kültürü*: İnsan prostat kanseri (PC-3), insan kolon kanseri (HCT-116), insan yumurtalık kanseri (A2780) ve insan göğüs kanseri (MCF-7) hücre serileri Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonunda (ATCC) alındı ve bu çalışmada kullanıldı. Çalışmamızda besiyeri olarak RPMI-1640 medium (Sigma, ABD) kullanıldı. İçerisine %10 FBS (Sigma, ABD), %1 pencilin streptomycin (Gibco, Almanya) ve %1 non essential amino acids (Lonza) eklendi. Hücreler konfluent olana kadar haftada en az iki defa laminar hava akımlı kabin (Biyolojik emniyet kabini; Nüve LN120) içerisinde steril şartlarda besiyeri değiştirildi. Konfluent olan hücrelerin pasajları yapıldı.

Hücreler konfluent olduğunda hücreleri flask yüzeyinden kaldırmak için tripsin (Sigma) kullanıldı. Flask ortamından medium uzaklaştırıldıktan sonra her 25 cm<sup>2</sup>'lik flask için 2 mL tripsin eklendi. Tripsin hücre kültür ortamında uzun süre kaldığında hücrelere zarar vermeye başlar. Sıcaklık arttıkça daha etkili çalıştığı için 2-3 dakika inkübatörde bekletildi. Böylece hücrelerin daha çabuk yüzeyden kaldırılması sağlanmış oldu. Hücrelerin üzerine eklenen tripsin etkisini azaltmak için medium ile seyreltildi. Sonrasında hücrelerin canlılık oranı bir hemositometrede %0.4 tryphan blue kullanılarak belirlendi. Canlılık oranının %90'ın üzerinde olduğu belirlendi ve deneylere başlandı. Hücreler falcon tüpüne (Citotes, Çin) alınarak 1800 rpm'de 3 dk santrifüj edilip hücrelerin dibe çökmesi sağlandı. Üst kısımda bulunan süpernatant atıldı. Hazırlanan hücrelerin sayımı yapılarak her kuyucuğunda 15x10<sup>3</sup> hücre olacak şekilde 96 well platelere ekimleri yapıldı. Flasklar ve well plate'ler %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde (Panasonic, Japonya), 37  $^{\circ}\text{C}$ 'de ve %95 nemli ortamda inkübasyona bırakıldı. Ekimden 24 saat sonra hücreler mikroskop altında incelenerek flask ve well plate tabanına hücrelerin tekrardan yapışıp/yapışmadıkları kontrol edildi.

2) *MTT Testi*: *R. acetosella* toprak üstü kısımlarının etanol, su ve metanol ekstraktları, farklı kanser hücre serilerine (PC-3, HCT-116, A2780 ve MCF-7) karşı antikanser özellikleri açısından incelendi. Hücrelerin yaşayabilirliği, %0.4 tripan mavisi kullanılarak belirlendi. *R. acetosella* ekstraktlarının % hücre canlılığının etkileri 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi ile değerlendirildi [28,29].

#### F. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler için SPSS Statistics 22.0 yazılım programı kullanıldı. Antiradikal analiz sonuçları varyans analizi (ANOVA) ve Duncan'ın çoklu aralık testi (DMRT) ile değerlendirildi. Antikanser aktivite testleri için Kolmogorov Smirnov testi kullanılarak normal dağılım elde edildi ( $p < 0.05$ ). Ekstraktların % hücre canlılığı kullanılarak IC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı.

### III. BULGULAR VE TARTIŞMA

#### A. Antiradikal Özellikler

Sunulan çalışmada *R. acetosella* su, etanol ve metanol ekstraktlarının antiradikal özelliklerine bakıldığında, ekstraktların ABTS<sup>+</sup> (%96.68, %97.68, %97.13, sırasıyla) ve DPPH radikallerini (%96.11, %95.34, %96.97, sırasıyla) standart antioksidan BHT'den (%93.24, %95.21, sırasıyla) çok daha yüksek oranda yok ettikleri saptanmıştır (Tablo 1). OH<sup>•</sup> radikali giderme testinde ise *R. acetosella* etanol ve metanol ekstraktları (%84.63, %87.16, sırasıyla) BHT'den (%75.77) daha yüksek aktivite göstermiştir. *R. acetosella* ile ilgili antiradikal çalışmalar incelendiğinde; Özen [12] ile Isbilir ve Sagiroglu [15] yaptıkları çalışmalarda *R. acetosella* etanol ekstraktının sırasıyla %75 ve %79.68 oranında DPPH<sup>•</sup> radikali giderdiğini belirlemişlerdir. Bu iki çalışmanın sonuçları bizim çalışma sonuçlarımızdan (%95.34) daha düşük olduğu görülmektedir. Pereira ve ark. [13] ve Samancioglu ve ark. [30] *R. acetosella* ekstraktının yüksek oranda DPPH<sup>•</sup> radikali yok ettiğini; Sarikurkcü ve ark. [31] ise *R. acetosella* etanol ekstraktlarının yüksek oranda DPPH, ABTS ve NO radikalleri yok ettiğini saptamışlardır.

**Tablo 1.** *R. acetosella* ekstraktlarının ABTS<sup>+</sup>, OH<sup>•</sup>, DPPH<sup>•</sup> radikalleri yok etme aktiviteleri, toplam flavonoit, toplam proantosiyanidin, toplam fenolik bileşik değerleri

Örnekler	ABTS <sup>+</sup> Yok Etme (%)	OH <sup>•</sup> Yok Etme (%)	DPPH <sup>•</sup> Yok Etme (%)	Toplam Flavonoit (µg CE/g)	Toplam Proantosiyanidin (µg CE/g)	Toplam Fenolik (mg GAE/g)
<i>R. acetosella</i> Su	96.68±0.23 <sup>b</sup>	66.23±1.14 <sup>d</sup>	96.11±0.26 <sup>a</sup>	5305.94±2.34	1558.56±2.41	118.89±0.94
<i>R. acetosella</i> Etanol	97.68±0.17 <sup>b</sup>	84.63±0.79 <sup>c</sup>	95.34±0.37 <sup>a</sup>	5575.91±1.99	4473.00±2.67	135.52±0.62
<i>R. acetosella</i> Metanol	97.13±0.20 <sup>b</sup>	87.16±0.35 <sup>b</sup>	96.97±0.24 <sup>a</sup>	6518.24±2.01	4483.16±2.93	136.94±0.67
BHT	93.24±0.20 <sup>a</sup>	75.77±0.12 <sup>a</sup>	95.21±0.33 <sup>a</sup>	-	-	-

Aynı sütündeki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir (p<0.001). Antiradikal aktivite sonuçları 500 µg/mL ekstrakt konsantrasyonu için hesaplanmıştır. Toplam flavonoit ve toplam proantosiyanidin sonuçları µg kateşin/g ekstrakt, toplam fenolik bileşik sonucu ise mg gallik asit/g ekstrakt şeklinde ifade edilmiştir.

#### B. Fitokimyasal Kompozisyon

*R. acetosella* bitkisinin total flavonoit, total proantosiyanidin ve total fenolik bileşik içerikleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre *R. acetosella*'nın su, etanol ve metanol ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarları sırasıyla, 118.89 mg GAE/g ekstrakt, 135.52 mg GAE/g ekstrakt ve 136.94 mg GAE/g ekstrakt şeklinde, toplam flavonoit miktarları sırasıyla, 5305.94 µg CE/g ekstrakt, 5575.91 µg CE/g ekstrakt ve 6518.24 µg CE/g ekstrakt şeklinde, toplam proantosiyanidin miktarları sırasıyla, 1558.56 µg CE/g ekstrakt, 4473.00 µg CE/g ekstrakt ve 4483.16 µg CE/g ekstrakt şeklinde belirlenmiştir. *R. acetosella* ile ilgili literatürler incelendiğinde, Özen [12] *R. acetosella* etanol ekstraktının 76.60 mg Pirokatekol E/g toplam fenolik bileşik, 51.60 mg Kuersetin E/g toplam flavonoit içerdiğini, Pereira ve ark. [13] ise aynı bitkinin 141.58 mg GAE/g toplam fenolik, 67.91 mg Kateşin E/g toplam flavonoit ihtiva ettiğini saptamışlardır. Bir diğer çalışmada Wegiera ve ark. [16] *R. acetosella*'nın 78.36 mg GAE/g, Isbilir ve Sagiroglu [15] *R. acetosella* etanol ekstraktının 69.21 mg GAE/g, Ahmed ve ark. [14] aynı bitkinin metanol ve su ekstraktlarının sırasıyla, 108.88 µg GAE/mg, 94.07 µg GAE/mg, ve son olarak Samancioglu ve ark. [30] ise bu bitkinin 73.66 mg GAE/100 toplam fenolik bileşik içerdiğini tayin etmişlerdir. Sarikurkcü ve ark. [31] *R. acetosella* etanol ekstraktlarının 34.14 mg GAE/g toplam fenolik, 70.48 mg RE/g toplam flavonoit, 3.34 mg CE/g toplam flavanol içerdiğini belirlemişlerdir. Bütün bu çalışma sonuçları ve bizim çalışma sonuçlarımıza bakıldığı zaman *R. acetosella*'nın toplam fenolik ve toplam flavonoit içeriği bakımından oldukça zengin olduğu açıkça görülmektedir.

*R. acetosella* bitkisinin flavonoit ve fenolik asit içerikleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Buna göre *R. acetosella* bitkisinin flavonoit içeriği olarak rutin (54.15 µg/g), myrisetin (37.00 µg/g), morin (3.50 µg/g), kuersetin (0.05 µg/g), kaempferol (0.20 µg/g), katesin (23.40 µg/g), naringin (37.20 µg/g), naringenin (0.05 µg/g) ve resveratrol (2.85 µg/g) ihtiva ettiği, fenolik asit içeriği olarak ise vanilik asit (3883.90 µg/g), hidroksikinamik asit (0.60 µg/g), kafeik asit (113.70 µg/g), ferulik asit (2295.00 µg/g) ve rosmarinik asit (2.90 µg/g) içerdiği saptanmıştır. Bu sonuçlara göre *R. acetosella*'nın flavonoit ve fenolik asit içeriği oldukça

zengin bir bitki olduğu görülmektedir. Yapılan literatür araştırmasında bu bitkinin flavonoit ve fenolik asit içeriğinin belirlendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmadı.

*R. acetosella* bitkisinin vitamin, sterol ve yağ asidi içerikleri Tablo 2’de gösterilmiştir. Buna göre *R. acetosella* bitkisinde yağda çözünen vitaminler olarak retinol (0.05 mg/kg),  $\alpha$ -tokoferol (0.10 mg/kg),  $\delta$ -tokoferol (0.05 mg/kg), D (1.65 mg/kg) ve K vitamini (0.10 mg/kg) bulunduğu, fitosterol olarak ise ergosterol (1.60 mg/kg) ve stigmasterol (0.70 mg/kg) bulunduğu saptanmıştır. *R. acetosella*’nın yağ asitleri içeriğinin %15.82 palmitik asit (16:0), %5.77 palmitoleik asit (16:1), %5.12 stearik asit (18:0), %10.22 oleik asit (18:1), %24.99 linoleik asit (18:2), %38.08 linolenik asit (18:3), %20.94 toplam doymuş yağ asitleri, %79.06 toplam doymamış yağ asitleri olduğu saptanmıştır. Pereira ve ark. [13] *R. acetosella*’nın 52.24 mg/100 g  $\alpha$ -tokoferol içerdiğini belirlemişlerdir. Bu  $\alpha$ -tokoferol değerinin bizim çalışmamızdaki değere göre (0.10 mg/kg) oldukça yüksek olduğu açıkça görülmektedir. *R. acetosella*’nın yağ asitleri içeriğiyle ilgili çalışmalara bakıldığında ise sadece Pereira ve ark. [13] bu bitkinin %11.23 oranında palmitik asit (16:0), %20.18 oranında linoleik asit (18:2), %51.34 linolenik asit (18:3), %19.45 oranında toplam doymuş yağ asitleri, %80.55 oranında ise toplam doymamış yağ asitleri ihtiva ettiğini göstermişlerdir. Bu sonuçlara göre *R. acetosella*’nın doymamış yağ asitleri bakımından oldukça zengin olduğu açıkça anlaşılmaktadır.

**Tablo 2.** *Rumex acetosella*’nın flavonoit, fenolik asit, vitamin, fitosterol ve yağ asitleri içerikleri

Flavonoit ve Fenolik Asitler	( $\mu\text{g/g}$ )
Rutin	54.15 $\pm$ 0.95
Myrisetin	37.00 $\pm$ 1.05
Morin	3.50 $\pm$ 0.10
Kuersetin	0.05 $\pm$ 0.00
Kaempferol	0.20 $\pm$ 0.05
Katesin	23.40 $\pm$ 0.70
Naringin	37.20 $\pm$ 0.90
Naringenin	0.05 $\pm$ 0.00
Resveratrol	2.85 $\pm$ 0.25
Vanilik Asit	3883.90 $\pm$ 2.55
Hidroksikinamik Asit	0.60 $\pm$ 0.10
Gallik Asit	113.70 $\pm$ 1.25
Kafeik Asit	2295.00 $\pm$ 1.95
Ferulik Asit	2.90 $\pm$ 0.15
Rosmarinik Asit	3883.90 $\pm$ 2.55
Vitamin ve Fitosteroller	( $\mu\text{g/g}$ )
Retinol	0.05 $\pm$ 0.00
$\delta$ -Tocopherol	0.05 $\pm$ 0.00
$\alpha$ -Tocopherol	0.10 $\pm$ 0.00
Vitamin K	0.10 $\pm$ 0.00
Vitamin D	1.65 $\pm$ 0.20
Ergosterol	1.60 $\pm$ 0.10
Stigmasterol	0.70 $\pm$ 0.05
Yağ Asitleri (YA)	(%)
Palmitik Asit (16:0)	15.82 $\pm$ 0.19
Palmitoleik Asit (16:1)	5.77 $\pm$ 0.32
Stearik Asit (18:0)	5.12 $\pm$ 0.45
Oleik Asit (18:1)	10.22 $\pm$ 0.11
Linoleik Asit (18:2)	24.99 $\pm$ 0.57
Linolenik Asit (18:3)	38.08 $\pm$ 0.09
Doymuş YA	20.94
Doymamış YA	79.06

### C. Antimikrobiyal Özellikler

*R. acetosella* ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 3’de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre *R. acetosella*’nın su ekstraktının *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *B. subtilis* bakterileri üzerinde, etanol ve metanol ekstraktlarının ise *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae*, *B.*

*subtilis*, *B. megaterium* ve *S. aureus* bakterileri ve *C. albicans* mantarı üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. *R. acetosella* metanol ekstraktının *L. monocytogenes*, *K. pneumonia* ve *B. subtilis* üzerinde (sırasıyla, 9 mm, 10 mm, 10 mm) standart antibiyotikten (sırasıyla, 8 mm, 9 mm, 9 mm) daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *R. acetosella* bitkisiyle alakalı antimikrobiyal çalışmalar incelendiğinde Wegiera ve ark. [16] bu bitkinin *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae* bakterileri ve *C. albicans* mantarı üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Akgunlu ve ark. [32] *R. acetosella* su-metanol ve heksan ekstraktlarının *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella enteritidis*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *B. subtilis* bakterilerine ile *C. albicans* ve *C. krusei* mantarlarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini belirlemişlerdir. Orbán-Gyapai vd. [33] *R. aquaticus* bitkisinin *S. aureus*, metisilin dirençli *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarını göstermişlerdir. Ansari vd. [34] *R. acetosella* ekstraktlarının *Acinetobacter baumannii* bakterisine karşı yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Bu sonuçların çalışma sonuçlarımızla oldukça benzerlik gösterdiği ve *R. acetosella*'nın antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu anlaşılmaktadır.

**Tablo 3.** *Rumex acetosella* ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri (mm zone)

Mikroorganizma	<i>R. acetosella</i> Su	<i>R. acetosella</i> Etanol	<i>R. acetosella</i> Metanol	Standart Antibiyotikler
<i>Escherichia coli</i>	8	9	10	10
<i>Proteus vulgaris</i>	-	8	9	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	9	10	15
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	8	9	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	9	10	9
<i>Bacillus subtilis</i>	8	8	10	9
<i>Bacillus megaterium</i>	-	8	9	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	8	10	12
<i>Candida albicans</i>	-	8	9	10

Streptomycin sülfat (10 mg/disk) bakteriler için, Nystatin (30 mg/disk) ise maya-mantarı için standart antibiyotik olarak kullanılmıştır. Kağıt disklerin çapı 6 mm alınmıştır.

#### D. Antikanser Özellikler

PC-3, A2780, MCF-7 ve HCT-116 kanser hücre serilerine karşı *R. acetosella* ekstraktlarının antikanser aktivitelerinin IC<sub>50</sub> değerleri Tablo 4'de sunulmaktadır. Buna göre *R. acetosella* metanol ekstraktının (28.91 µg/mL, 4.64 µg/mL, 30.47 µg/mL, sırasıyla) MCF-7 insan göğüs kanseri, PC-3 insan prostat kanseri ve HCT-116 insan kolon kanseri hücrelerine karşı diğer ekstraktlardan daha yüksek antikanser aktivite gösterdiği; *R. acetosella* etanol ekstraktının (10.63 µg/mL) ise A2780 insan yumurtalık kanseri hücrelerine karşı daha yüksek antikanser aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre *R. acetosella*'nın etkili bir antikanser aktiviteye sahip olduğu söylenebilir. *R. acetosella* ile ilgili literatür araştırmasında bu bitkinin antikanser özelliğiyle ilgili herhangi bir çalışma bulunamadı. Ottenweller vd. [35] yaptıkları çalışmada *R. acetosella* ekstraktlarının DNA hasarını engellediğini ve insan prostat kanseri hücrelerinin farklılaşmasını indüklediğini saptamışlardır. Wegiera vd. [36] insan lösemik hücre hatları 1301 (insan T lenfoblastik hücreleri) ve EOL-1 (insan eozinofilik lösemi) hücrelerine karşı *R. acetosa*, *R. confertus*, *R. crispus*, *R. hydrolapathum* ve *R. obtusifolius* ekstraktlarının yüksek sitotoksik aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada ise Lajter vd. [37] *R. acetosa*, *R. aquaticus*, *R. scutatus* ve *R. thyrsoiflorus* heksan ve kloroform ekstraktlarının MCF-7 kanser hücre serilerine karşı yüksek antikanser aktiviteye sahip olduğunu saptamışlardır. Tamokou vd. [38] *R. abyssinicus* ve *R. bequaertii* bitkilerinin A2780 over kanseri hücrelerine karşı antikanser aktivite gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Bütün bu çalışma sonuçları *Rumex* türlerinin potansiyel antikanser aktiviteye sahip olduklarını kanıtlamaktadır.



**Tablo 4.** *R. acetosella* ekstraktlarının PC-3, A2780, MCF-7 ve HCT-116 kanser hücre serileri üzerindeki antikanser aktivite testlerinin IC<sub>50</sub> değerleri

Örnekler (µg/mL)	PC-3	A2780	MCF-7	HCT-116
<i>R. acetosella</i> Su	6.94	14.41	38.35	42.36
<i>R. acetosella</i> Etanol	5.46	10.63	34.47	50.25
<i>R. acetosella</i> Metanol	4.64	14.29	28.91	30.47

#### IV. SONUÇLAR

Bu çalışmada *R. acetosella* toprak üstü kısımlarının su, etanol ve metanol ekstraktlarının antiradikal, antimikrobiyal, antikanser ve fitokimyasal özelliklerinin değerlendirilmesi yapılmıştır. Çalışma sonunda bu bitkinin etkili antiradikal, antimikrobiyal ve antikanser özelliklere sahip olduğu, fitokimyasal içerik bakımından zengin olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sunulan çalışma ile ilk defa *R. acetosella*'nın *in vitro* antikanser özellikleri incelenmiştir.

#### KAYNAKLAR

- [1] Abushita, A.A., Hebshi, E.A., Daood, H.G. & Biacs, P.A. (1997). Determination of antioxidation vitamins in tomatoes. *Food Chemistry*, 60, 207-212.
- [2] Meyer, A.S., Heinonen, M. & Frankel, E.N. (1998). Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chemistry*, 61, 71-75.
- [3] Nakagawa, K., Ninomiya, M., Okubo, T., Aoi, N., Nuneja, L.R., Kim, M., Yamanaka, K. & Miyazawa, T. (1999). Tea catechin supplementation increases antioxidant capacity and prevents phospholipid, hydroperoxidation in plasma in human. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3967-3973.
- [4] Miyake, Y., Murakami, A., Sugiyama, Y., Isobe, M., Koshimizu, K. & Ohigashi, H. (1999). Identification of coumarin from lemon fruit (*Citrus limon*) as inhibitors of *in vitro* tumor promotion and superoxide and nitric oxide generation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3151-3157.
- [5] Modi, C., Mody, S., Patel, H., Dudhatra, G., Kumar, A. & Awale, M. (2012). Herbal antibacterials: a review. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 1, 52-61.
- [6] Lemke, L., Williams, D.A., Roche, V.F. & Williams, Z.S. (2008). *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*. 6th edition.
- [7] Hilal, Z., Michael, S., Ben, A.E. & Bashar, S. (2012). Greco-Arab and Islamic herbal-derived anticancer modalities: from tradition to molecular mechanisms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, Article ID 349040, 13 pages.
- [8] Kahraman, S. (2009). *Labada (Rumex cristatus DC) 'nin antioksidan aktivitesi*. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- [9] Kuruüzüm, A. (1996). *Bazı Rumex L. türlerinin kemotaksonomik açıdan karşılaştırılmaları ve sitotoksik etkilerinin belirlenmesi*. Bilim Uzmanlığı Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- [10] Kuruüzüm, A. (1999). *Rumex patens L. üzerinde fitokimyasal araştırmalar ve biyolojik aktivite çalışmaları*. Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- [11] Alpınar, K., Ozyurek, M., Kolak, U., Guclu, K., Aras, C., Altun, M., Celik, S.E., Berker, K.I., Bektasoglu, B. & Apak, R. (2009). Antioxidant capacities of some food plants wildy grown in Ayvalik of Turkey. *Food Science and Technology Research*, 15, 59-64.
- [12] Özen, T. (2010). Antioxidant activity of wild edible plants in the Black Sea Region of Turkey. *Grasas Y Aceites*, 61, 86-94.
- [13] Pereira, C., Barros, L., Carvalho, A.M. & Ferreira, I.C.F.R. (2011). Nutritional composition and bioactive properties of commonly consumed wild greens: Potential sources for new trends in modern diets. *Food Research International*, 44, 2634-2640.
- [14] Ahmed, D., Mughal, Q. M., Younas, S. & Ikram, M. (2013). Study of phenolic content and urease and alpha-amylase inhibitory activities of methanolic extract of *Rumex acetosella* roots and its sub-fractions in different solvents. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26, 553-559.
- [15] Isbilir, S.S. & Sagioglu, A. (2013). Total phenolic content, antiradical and antioxidant activities of wild and cultivated *Rumex acetosella* L. extracts. *Biological Agriculture & Horticulture*, 29, 219-226.
- [16] Wegiera, M., Kosikowska, U., Malm, A. & Smolarz, H.D. (2011). Antimicrobial activity of the extracts from fruits of *Rumex* L. species. *Central European Journal of Biology*, 6, 1036-1043.

- [17] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- [18] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- [19] Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. & Aruoma, O. (1987). The deoxyribose method: a simple test tube assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Analytical Biochemistry*, 165, 215-219.
- [20] Slinkard, K. & Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis-automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.
- [21] Kim, D.O., Chun, O.K., Kim, Y.J., Moon, H.Y. & Lee, C.Y. (2003). Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6509-6515.
- [22] Amaeze, O.U., Ayoola, G.A., Sofidiya, M.O., Adepoju-Bello, A.A., Adegoke, A.O. & Coker, H.A.B. (2011). Evaluation of antioxidant activity of *Tetracarpidium conophorum* (Mull. Arg) Hutch & Dalziel leaves. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID976701, 7 pages.
- [23] Zu, Y.G., Li, C.Y., Fu, Y.J. & Zhao, C.J. (2006). Simultaneous determination of catechin, rutin, quercetin, kaempferol and isorhamnetin in the extract of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaf by RP-HPLC with DAD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 714-719.
- [24] Christie, W.W. (1992). *Gas chromatography and lipids*. The Oil Press, Glasgow.
- [25] Sanchez-Machado, D.I., Lopez-Hernandez, J. & Paseiro-Losado, P. (2002). High performance liquid chromatographic determination of alpha-tocopherol in macroalgae. *Journal of Chromatography A*, 976, 277-284.
- [26] López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D.I. & Ríos-Vázquez, N.J. (2006). High performance liquid chromatography method for the simultaneous quantification of retinol,  $\alpha$ -tocopherol, and cholesterol in shrimp waste hydrolysate. *Journal of Chromatography A*, 1105, 135-139.
- [27] Collins, C.M. & Lyne, P.M. (1989). *Microbiological methods*. Butterworths-Heinemann, London, England.
- [28] Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55-63.
- [29] Denizot, F. & Lang, R. (1986). Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *Journal of Immunological Methods*, 89, 271-277.
- [30] Samancıoğlu, A., Sat, I.G., Yildirim, E., Ercisli, S., Jurikova, T. & Mlcek, J. (2016). Total phenolic and vitamin C content and antiradical activity evaluation of traditionally consumed wild edible vegetables from Turkey. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 15, 208-213.
- [31] Sarikurkcu, C., Targan, S., Ozer, M.S. & Tepe, B. (2017). Fatty acid composition, enzyme inhibitory, and antioxidant activities of the ethanol extracts of selected wild edible plants consumed as vegetables in the Aegean Region of Turkey. *International Journal of Food Properties*, 20, 560-572.
- [32] Akgunlu, S.B., Sekeroglu, N., Koca-Caliskan, U., Ozkutlu, F., Ozcelik, B., Kulak, M. & Gezici, S. (2016). Research on selected wild edible vegetables: Mineral content and antimicrobial potentials. *Annals of Phytomedicine*, 5, 50-57.
- [33] Orbán-Gyapai, O., Liktör-Busa, E., Kúsz, N., Stefkó D., Urbán, E., Hohmann, J., Vasas, A. (2017). Antibacterial screening of *Rumex* species native to the Carpathian Basin and bioactivity-guided isolation of compounds from *Rumexaquaticus*. *Fitoterapia*, 118, 101-106.
- [34] Ansari-pour, S., Safaei, N., Bagheri, N. (2020). Antibacterial effects of hydroalcoholic and aqueous extracts of two medicinal plants in comparison with popular antibiotics: An *in vitro* study. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 22, e97873.
- [35] Ottenweller, J., Putt, K., Blumenthal, E.J., Dhawale, S., Dhawale, S.W. (2004). Inhibition of prostate cancer-cell proliferation by Essiac. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 10, 687-691.
- [36] Wegiera, M., Smolarz, H.D., Bogucka-Kocka, A. (2012). *Rumex* L. species induce apoptosis in I301, EOL-1 and H-9 cell lines. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, 69, 487-499.
- [37] Lajter, I., Zupkó, I., Molnár, J., Jakab, G., Balogh, L., Vasas, A., Hohmann, J. (2013). Antiproliferative activity of Polygonaceae species from the Carpathian Basin against human cancer cell lines. *Phytotherapy Research*, 27, 77-85.
- [38] Tamokou, J.D., Chouna, J.R., Fischer-Fodor, E., Chereches, G., Barbos, O., Damian, G., Benedec, D., Duma, M., Efouet, A.P.N., Wabo, H.K., Kulate, J.R., Mot, A., Silaghi-Dumitrescu, R. (2013). Anticancer and antimicrobial activities of some antioxidant-rich Cameroonian medicinal plants. *PlosOne*, 8, 1-14.