

Sorafenib ve Yalancı portakal ekstresi kombinasyonunun A549 hücre hatları üzerindeki *in vitro* sitotoksik ve antioksidan aktivitesi

Deniz Altun Çolak^{1*}, Heval Kaya², Tuğba Atıcı³

¹Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzincan, Türkiye

²Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzincan, Türkiye

³Milli Eğitim Bakanlığı, Erzincan, Türkiye

*Corresponding author: daltun@erzincan.edu.tr
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0002-3576-0355>

Received : 03/10/2024
Accepted : 28/11/2024

To Cite / Atf için: Altun Çolak D, Kaya H, Atıcı T. 2024. Sorafenib ve Yalancı portakal ekstresi kombinasyonunun A549 hücre hatları üzerindeki *in vitro* sitotoksik ve antioksidan aktivitesi. Eurasian J Bio Chem Sci, 7(2):151-156. <https://doi.org/10.46239/ejbc.1560686>

Özet: Akciğer kanseri, dünya genelinde kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir. Özellikle akciğer kanseri hücrelerine özgü, etkili ve güvenli yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesi kanser araştırmalarında bir önceliklidir. Bu çalışma, A549 insan akciğer kanseri hücre hatlarında sorafenib ve Yalancı portakal olarak bilinen *Maclura pomifera* ekstresi kombinasyonunun sitotoksik ve antioksidan etkilerini araştırmaktadır. Bir multikinaz inhibitörü olan sorafenib, çeşitli kanser türlerinin tedavisinde umut verici sonuçlar göstermiştir. Ancak, kanser hücreleri tarafından geliştirilen direnç ve yan etkiler nedeniyle terapötik potansiyeli sınırlı kalmaktadır. Özellikle Yalancı portakal gibi bitkilerden elde edilen doğal özler, önemli antioksidan özellik gösterir ve geleneksel kemoterapi ilaçlarının etkinliğini artırıp toksisitesini azaltabilir. A549 insan akciğer kanseri hücre hatları sorafenib, Yalancı portakal ekstresi ve bunların kombinasyonunun çeşitli konsantrasyonları ile muamele edilmiştir. Hücre canlılığı MTT testi ile değerlendirilirken, toplam oksidan durumu (TOS) ve toplam antioksidan durumu (TAS) seviyeleri ölçülmüştür. Sorafenib ve Yalancı portakal ekstresi kombinasyonu, tek başına sorafenib tedavisine kıyasla hücre canlılığında önemli bir azalma göstermiştir. Ayrıca, kombinasyon tedavisi toplam oksidan seviyelerinde önemli bir düşüşe yol açarak antioksidan aktivitenin arttığını göstermiştir. Bu çalışmanın bulguları, sorafenib ve Yalancı portakal ekstresi kombinasyonunun A549 insan akciğer kanseri hücre hatlarında güçlü sitotoksik ve antioksidan etkiler sergilediğini göstermektedir. Bu kombinasyon tedavisi, akciğer kanseri tedavisinde daha etkili ve daha güvenli bir alternatif olma potansiyeline sahiptir ve daha ileri *in vivo* çalışmalar ve klinik denemeler gerektirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri, Sorafenib, *Maclura pomifera*, Sitotoksisite, Antioksidan, A549 hücre hatları

The cytotoxic and antioxidant effects of sorafenib and osage orange extract combination in A549 cell lines

Abstract: Lung cancer is the leading cause of cancer-related deaths worldwide. Developing new therapeutic strategies that are effective, safe, and specific for lung cancer cells is a priority in cancer research. This study investigates the cytotoxic and antioxidant effects of a combination of sorafenib and *Maclura pomifera* extract, known as Osage orange, in A549 human lung cancer cell lines. Sorafenib, a multikinase inhibitor, has shown promising results in the treatment of various types of cancer. However, its therapeutic potential remains limited due to side effects and resistance developed by cancer cells. Natural extracts, especially those obtained from plants such as Osage orange, show significant antioxidant properties and may improve the efficacy and reduce the toxicity of conventional chemotherapy drugs. A549 human lung cancer cell lines were treated with various concentrations of sorafenib, Osage orange extract, and their combination. Cell viability was evaluated by MTT assay, while the levels of total oxidant status (TOS) and total antioxidant status (TAS) were measured. The combination of sorafenib and Osage orange extract demonstrated a significant decrease in cell viability compared to sorafenib treatment alone. In addition, the combination treatment significantly reduced total oxidant levels, indicating increased antioxidant activity. The findings of this study demonstrate that the combination of sorafenib and Osage orange extract exhibits potent cytotoxic and antioxidant effects in A549 human lung cancer cell lines. This combination therapy has the potential to be a more effective and safer alternative in the treatment of lung cancer, but further *in vivo* studies and clinical trials are required.

Keywords: Lung cancer, Sorafenib, *Maclura pomifera*, Cytotoxicity, Antioxidant, A549 cell lines

1. Giriş

Akciğer kanseri, tahminen 2 milyon tanı ve 1,8 milyon ölümlü küresel kanser insidansı ve mortalitesinin önde gelen nedenidir. Akciğer tümörleri erkeklerde ve kadınlarda (sırasıyla prostat ve meme kanserinden sonra) ikinci en yaygın kanser teşhisidir (Thandra ve ark. 2021). Küçük hücreli akciğer karsinomu (KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer karsinomu (KHDAK) olmak üzere iki ana grupta sınıflandırılan akciğer kanserlerinde olgunların yaklaşık %80'i küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı almıştır (Zheng, 2016). Radyoterapi, kemoterapi ve immünoterapi gibi yöntemler akciğer kanseri tedavisinde kullanılmakla birlikte bu tedaviler kanserli hücrelerle birlikte sağlıklı hücrelere de zarar verebilmektedir (Singh ve ark. 2018; Sung ve ark. 2021). Son yıllarda, protein kinazlar hücrel sinyal yollarının temel bileşenleri olarak öne çıkmış ve bu nedenle kanser tedavisinde ilaç geliştirme süreçlerinde en önemli hedeflerden biri haline gelmiştir. Apoptozu kolaylaştırma, anjiyogenezi azaltma ve tümör hücresi çoğalmasını baskılama yeteneğine sahip olan sorafenib çok hedefli bir ajandır ve insan küçük hücreli dışı akciğer kanseri dahil olmak üzere çeşitli tümör türlerine karşı güçlü antitümör etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Dal Lago ve ark. 2008; Zhang ve ark. 2013; Tang ve ark. 2020). Sorafenib tedavisine karşı gelişen direnç, kanser tedavisinde önemli bir sorun teşkil etmektedir. Direnç mekanizmaları arasında, ilaç hedeflerinde mutasyonlar, alternatif sinyal yollarının aktivasyonu ve ilaç metabolizmasında değişiklikler yer alır. Bu direnç mekanizmalarının anlaşılması, tedavi stratejilerinin optimize edilmesi ve yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesi açısından kritik öneme sahiptir (Chan ve ark. 2024). Sorafenib direnci, ilaç taşıma sistemlerinde meydana gelen değişiklikler, metabolize edici enzimlerdeki genetik polimorfizmler ve DNA onarımı, apoptoz ve otoliz gibi hücrel süreçlerin yeniden yönlendirilmesiyle ilişkilidir (Cabral ve ark. 2020). Bu mekanizmaların anlaşılması, tedavi stratejilerinin optimize edilmesi ve yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu direncin üstesinden gelmek için, sorafenib ile kombine tedavi seçenekleri veya yeni hedeflere yönelik ilaçların geliştirilmesi gereklidir (Zhao ve ark. 2023). Günümüzdeki tedavi yöntemlerinin olumsuz yanları nedeniyle, alternatif tedavi stratejilerine yönelik araştırmalar son yıllarda büyük bir ivme kazanmıştır. Özellikle, bitki ekstraktlarının kullanıldığı bitkisel terapi teknikleri, son yıllarda ilgi gören tedavi yöntemleri arasında ön plana çıkmaktadır (Mukherjee ve ark. 2001; Solowey ve ark. 2014). Halk arasında Yalancı portakal olarak bilinen *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneid, Moraceae familyasına ait bir bitki olup bitkinin meyve, kabuk, yaprak, tohum ve köklerinin sahip olduğu fitokimyasal profili sebebiyle bilimsel çalışmalarda kullanılmaktadır (Smith ve ark. 1981; Filip ve ark. 2015; Filip ve ark. 2021). *M. pomifera* bileşenleri sitotoksik, antitümör, antibakteriyel, östrojenik, antifungal, antiviral ve antimetabolik aktivitelere dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir (Barnes ve ark. 1955; Kupeli ve ark. 2006; Lakornwong ve ark. 2022).

Bu çalışmada, farklı dozlarda *M. pomifera* bitkisine ait meyve ekstresi ve sorafenib kombinasyonunun insan akciğer kanser hücre hatları (A549) üzerindeki antisitotoksik ve antioksidan etkileri araştırılmıştır. Akciğer kanserinin sorafenibe duyarlılığını geliştirmek ve sorafenibin antitümör ve antioksidan aktivitesini iyileştirmek için etkili bir strateji olması bakımından *M. pomifera* bitkisine ait meyve ekstresi (MPME) ile sorafenib (SRB) birlikte kullanılmıştır. Sorafenib ve Yalancı portakal meyve ekstresinin kombinasyonunun akciğer hücre hatları üzerinde kullanımına ait literatüre rastlanmamış olması bu çalışmanın özgünlüğü açısından önemlidir.

2. Materyal ve Metot

2.1. A549 Hücre Kültürü

Çalışmada sorafenib ve Yalancı portakal ekstresi kombinasyonunun sitotoksik ve antioksidatif etkinliği A549 (ATCC- HB-8065) insan akciğer kanser hücre hatlarında *in vitro* olarak araştırılmıştır. Hücreler %10 FBS ve %1 penisilin-streptomisin ile desteklenmiş Roswell Park Memorial Institute (RPMI)-1640 ortamında CO₂ inkübatöründe %5 CO₂ ve 37°C sıcaklık altında nemlendirilmiş bir atmosferde büyütülmüştür. Hücreler yapışık tek tabakalar halinde büyütülmüş ve dönüşümlü olarak her gün beslenmiş ve hücreler yaklaşık %80 konfluensiye ulaştığında pasajlanmıştır.

2.2. Stok Çözeltilerin Hazırlanması

Birçok farklı kanser türünde etkili bir çoklu kinaz inhibitörü olup kimyasal formülü C₂₁H₁₆ClF₃N₄O₃ olan sorafenibin (SRB, Sigma- Aldrich) %50 inhibisyon konsantrasyonu (IC₅₀) olarak belirlenen 9,9 µM'lik (µmol/L) dozu kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan Eskişehir ilinden 2016 yılında toplanıp kurutulan *Maclura pomifera* (Rafin.) bitki örnekleri manyetik öğütücü ile toz haline getirilmiştir. 10 g alınan bitki örneği 100 mL %70'lik metanol kullanılarak oda sıcaklığında bir gece bekletilmiş ve süzülükten sonra evaporasyon işlemine alınmıştır. *Maclura pomifera* bitkisinin meyvelerine ait özütten (MPME) 50, 100 ve 200 µg/mL çalışma dozları hazırlanarak +4°C'de saklanmıştır.

2.3. Hücre Sayımı ve MTT Analizi

MTT analizi öncesinde, flaskların %80'ini kaplamış hücreler tripsinize edilmiştir. 96 kuyucuklu plaklara 10⁴ canlı hücre/kuyucuk şeklinde Trypan mavisi ile canlılıkları belirlenen hücrelerden ekim yapılmış ve 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda hücreler SRB, MPME ve SRB+MPME uygulama gruplarını oluşturacak şekilde SRB (9,9 µM) ile MPME'nin seçilen üç farklı dozuna (50; 100; 200 µg/mL) 24, 48 ve 72 saat süre ile maruz bırakılmıştır. Süre sonunda hücrelerin canlılığını ve proliferasyonunu ölçmek için MTT Hücre Proliferasyon Kiti (Roche Applied Science) kullanılmıştır. MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür), sarı renkli bir tetrazolyum tuzudur. Bu tuz, canlı hücrelerde bulunan mitokondriyal dehidrogenaz enzimleri tarafından metabolize edilerek formazan adı verilen mor renkli bir ürüne dönüştürülür. Canlı hücrelerin metabolik aktivitesi, MTT'nin indirgenmesiyle ölçülür. Hücreler ne kadar aktifse, o kadar çok MTT indirgenir ve daha fazla mor

formazan kristalleri oluşur. MTT Hücre Proliferasyon Kiti prosedürü takip edilerek her bir kuyucuktaki hücrelerin 570 nm'de absorbans değerleri Biotek ELISA mikropilaka kullanılarak belirlenmiştir. Hücrelerin % canlılık değerleri, absorbans değerleri kullanılarak aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir.

Hücre canlılığı (%) = (Tedavi edilen hücrelerin absorbansı / Kontrol hücrelerinin absorbansı) × 100

2.4. Total Oksidan Aktivite ve Total Antioksidan Kapasite Analizi

6 kuyucuklu plaklara 5×10^4 canlı hücre/kuyucuk şeklinde Trypan mavisi ile canlılıkları belirlenen hücrelerden ekim yapılmış ve 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda hücreler aynı dozlarda SRB, MPME ve SRB+MPME ile muamele edilmiş hücrelerde gözlenen olası toksik etkinin antioksidan sistemlerin down regülasyonu ile ilişkili olup olmadığını belirlemek için yapılan biyokimyasal analizler için Rel Assay Diagnostics firmasına ait Total Oxidant Status (TOS) Assay Kit ve Total Antioxidant Status (TAS) Assay Kit kullanılmıştır. TOS/TAS oranını ifade eden oksidatif stres indeksi (OSI) de hesaplanmıştır. Spektrofotometrik ölçümler TOS için 530 nm ve TAS için 660 nm dalga boyunda yapılmıştır.

2.5. İstatiksel Analizler

IBM SPSS Statistics software (SPSS v.22) hazır paket programı kullanılarak verilerin istatistiksel analizi için gerçekleştirilmiştir. Üç kez tekrarlanan uygulamalarda SRB, MPME ve SRB+MPME dozlarının sitotoksikite ve oksidatif parametre verileri değerlendirilirken istatistiksel anlamlılık değeri $p < 0,001$ olarak kabul edilmiştir.

3. Bulgular

3.1. A549 Hücre Hattı İçin IC_{50} Değerlerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan sorafenib (SRB) ile *Maclura pomifera* (Yalancı portakal) ekstresinin (MPME) A549 hücre hattı üzerinde ayrı ayrı ve kombine bir şekilde sitotoksik etkisini belirlemek üzere uygulanan MTT analizi sonucunda belirlenen IC_{50} değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

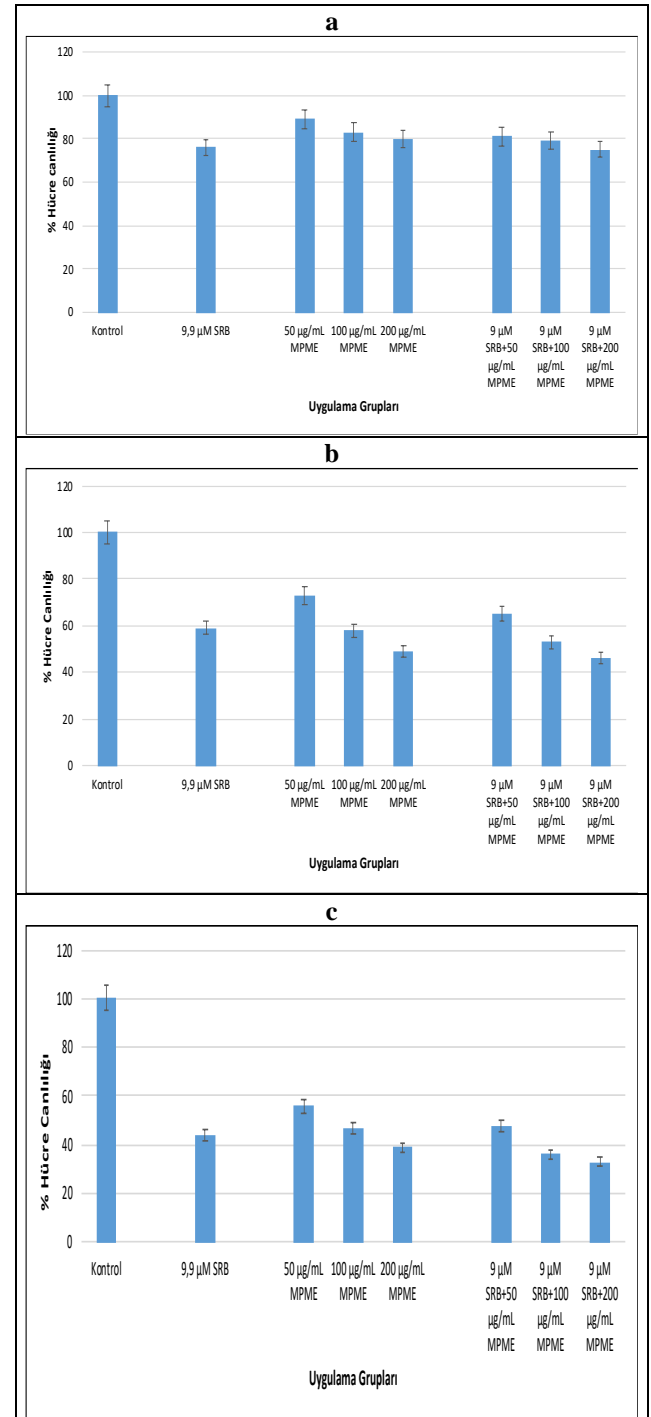
Tablo 1. A549 hatlarına SRB ve MPME uygulaması sonunda 24, 48 ve 72 saatleri için IC_{50} değerleri

Doz (μ M)		IC_{50}	
Süre	Hücre	Sorafenib (SRB)	<i>M. pomifera</i> ekstresi (MPME)
24h	A549	>9,9 μ M	>200 μ g/mL
48h	A549	>9,9 μ M	183±0,01 μ g/mL
72h	A549	4,9±1,27 μ M	89±0,12 μ g/mL

3.2. A549 Hücre Hattı İçin MTT Test Bulguları

Belirlenen konsantrasyon değerleri ile 24 saat inkübasyonun ardından yapılan canlılık belirlemelerinin sonuçları Şekil 1a'da gösterilmektedir. A549 hücre hattında 24 saat boyunca SRB (9,9 μ M) bileşiğinin tek başına

uygulanması sonucunda hücre canlılık oranı $76 \pm 0,01$ olarak gözlenmiştir. Bu sonuç kontrole göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,001$).



Şekil 1. A549 hücrelerinde a) 24 saatlik b) 48 saatlik ve c) 72 saatlik sitotoksitenin belirlenmesi

A549 hücre hattında 24 saat boyunca MPME'nin artan dozlarında (50; 100 ve 200 μ g/mL) tek başına uygulanması sonrası gözlenen canlılık oranları ise sırasıyla $89,23 \pm 0,15$; $83,12 \pm 0,24$; $80,42 \pm 1,28$ 'dir. Tüm dozlarda gözlenen canlılık oranları kontrole göre istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,001$). A549 hücre hattında 24 saatlik SRB+MPME kombinasyon uygulamaları (9,9 μ M SRB+50 μ g/mL MPME, 9,9 μ M

SRB+100 µg/mL MPME ve 9,9 µM SRB+200 µg/mL MPME) sonucu belirlenen canlılık oranları sırasıyla %81,4±0,75; %79,76±0,12; %75,13±1,01 şeklinde olup gözlenen canlılık oranları tüm dozlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,001).

A549 hücre hattında 48 saat boyunca SRB (9,9 µM) bileşiminin tek başına uygulanması sonucunda hücre canlılık oranı %59,17±0,56'dır (Şekil 1b). Bu sonuç kontrole göre istatistiksel açıdan anlamlıdır (p<0,001). A549 hücre hattında 48 saat boyunca MPME'nin artan dozlarda (50; 100 ve 200 µg/mL) tek başına uygulanması sonrası elde edilen canlılık oranları ise sırasıyla %73,47±0,24; %58,14±0,6; %49,24±1,01 olup gözlenen canlılık oranları tüm dozlarda kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemlidir (p<0,001).

A549 hücre hattında 48 saatlik SRB+MPME kombinasyon uygulamaları (9,9 µM SRB+50 µg/mL MPME, 9,9 µM SRB+100 µg/mL MPME ve 9,9 µM SRB+200 µg/mL MPME) sonucu canlılık oranları sırasıyla %65,48±0,14; %53,14±0,8; %46,35±1,25'dir ve gözlenen bu oranlar tüm dozlarda kontrole göre istatistiksel açıdan anlamlıdır (p<0,001). A549 hücre hattında 72 saatlik SRB (9,9 µM) bileşiminin tek başına uygulanması sonucu hücre canlılık oranı %44,10±0,23'e çıkmıştır (Şekil 1c). Bu sonuç kontrole kıyasla istatistiksel olarak önemlidir (p<0,001). A549 hücre hattında 72 saatlik MPME'nin artan dozlarda (50; 100 ve 200 µg/mL) tek başına uygulanmasıyla elde edilen canlılık oranları ise sırasıyla %56,11±0,25; %47,70±0,02; %39,50±0,30 olup tüm dozlarda gözlenen bu oranlar kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlıdır (p<0,001).

3.3. Oksidatif Parametre Bulguları

A549 hücrelerinde SRB+MPME kombinasyonunun toplam oksidan kapasitesi (TOS), toplam antioksidan kapasitesi (TAS) ve toplam oksidatif stres indeksleri (OSI) Şekil 2'de gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre SRB+MPME uygulama gruplarında SRB'nin tek başına kullanıldığı gruba göre TAS değerlerini artırıp TOS değerlerinde belirgin bir düşüşe yol açması artan antioksidan aktiviteyi işaret etmiştir. Oksidatif parametre değerleri bakımından kontrole göre gözlenen bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,001).

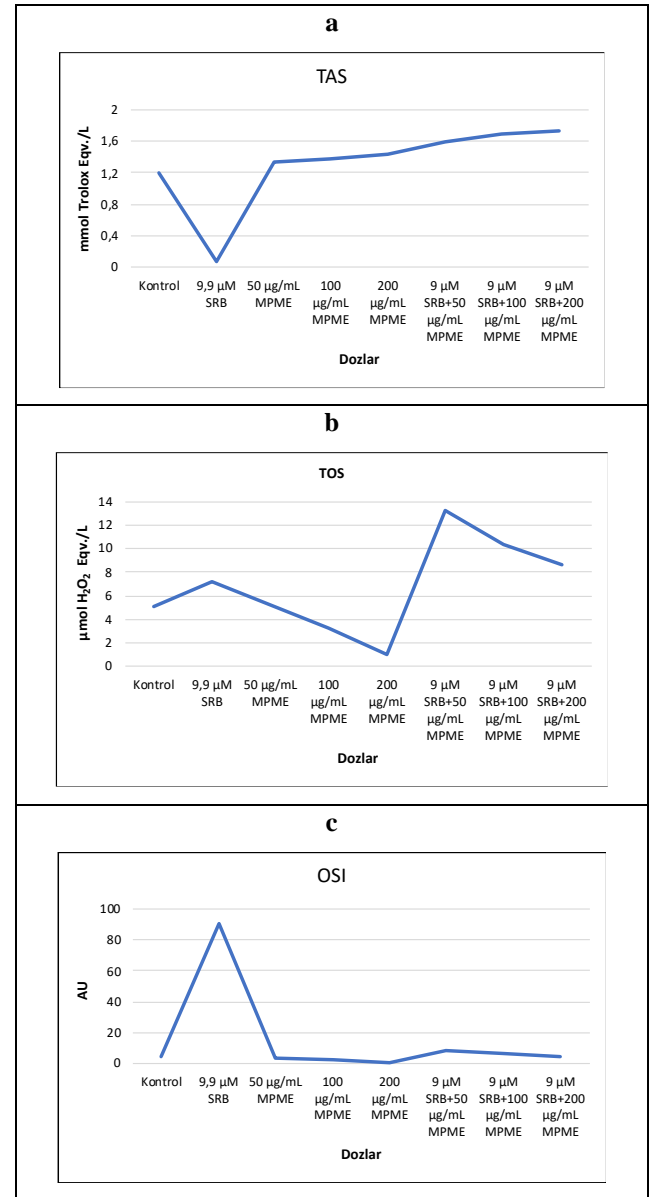
4. Tartışma

Akciğer kanseri hücrelerinin metastatik ilerlemesindeki farklı hedefler arasında çok seviyeli çapraz reaksiyonlar tanımlanmıştır ve bir hedefin baskılanması, diğerlerinin tümör hücreleri için immün kaçış moleküler mekanizmaları olarak hareket etmesine izin verir (Jiang ve ark. 2017). İki veya daha fazla antikanser ajandan oluşan kombinasyon tedavisinin, tek hedefli ajanlara kıyasla tümör ilerlemesini engellemede daha etkili olduğu düşünülmektedir (Li ve ark. 2013).

Reseptör tirozin kinazlar kanser gelişiminde önemli rol oynar ve spesifik terapötik yaklaşımlar için etkili hedefler sunar. Birçok çalışma, çoklu kinaz inhibitörü ve güçlü bir antikanser etkisi gösteren yeni bir oral bis-aryl üre bileşiği

olan sorafenibin, protein kinazları hedefleyerek tümör büyümesini engelleyebileceğini öne sürmektedir (Jane ve ark. 2006; Zhang ve ark. 2012).

Sorafenib tedavisinin olumsuz yan etkileri nedeniyle, yeni terapötik stratejiler sorafenib tedavisinin kritik kusurlarını iyileştirmek için sorafenibin doğal ilaçlarla birleştirilmesine odaklanmıştır (Smit ve ark. 2010). Bir bitki flavonu olan apigeninin, kromozomal sapmalar ve mikronükleus, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS), oksidatif ve DNA hasarı, lipid peroksidasyonu ve hepatorenal hasarlarda artış ve antioksidan enzimlerde azalma ile karakterize genetik, oksidatif ve doku hasarlarına neden olan sorafenib ile kombine edilerek Swiss albino fareleri üzerinde yapılan bir çalışmada sorafenib kaynaklı toksisiteye karşı koruyucu etkileri olduğu ve yan etkilerini azaltmak ve etkinliğini artırmak için sorafenib ile kombine edilebileceğini göstermektedir (Singh ve ark. 2022).



Şekil 2. A549 hücre hattında SRB+MPME kombinasyonunun oksidatif stres parametre verileri a) TAS b) TOS c) OSI

At kestanesi tohumlarından elde edilen pentasiklik bir triterpene olan escin ile sorafenib kombinasyonunun A549 and NCIH460 akciğer kanseri hücrelerinin G0/G1 fazında geç apoptozu indüklemek için otofajiyi sinerjik olarak inhibe ettiği bildirilmiştir (Hussain ve ark. 2023). Kurkuminin polimerik nanopartikül formülasyonu olan NanoCurcumin, insan hepatoselüler karsinom modellerinde tümör büyümesini ve akciğer metastazlarını etkili bir şekilde inhibe ederek klinik gelişim için potansiyel sunmakta, ayrıca sorafenib ile kombinasyon halinde tümör büyümesini ve metastazı engellemektedir (Hu ve ark. 2015). Sentetik sorafenib, poli (laktik-ko-glikolik asit) ve doğal kurkumini birleştiren bir nanoformülün, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri A549 hücre hatlarında önemli apoptozu indükleyebileceğini ve büyümeyi inhibe edebileceği ifade edilmiştir (El-Hamawi ve ark. 2023). Quercetin, EGFR C797S mutasyonunu barındıran küçük hücreli dışı akciğer kanseri hücrelerinde tümör büyümesini etkili bir şekilde inhibe ederek üçüncü nesil tirozin kinaz inhibitörlerine karşı kazanılmış direnç için potansiyel bir tedavi görevi gördüğü vurgulanmıştır (Huang ve ark. 2021). Benzer şekilde, bufalin ile kombinasyon halinde sorafenibin NCI-H292 insan küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücrelerinde tek başına sorafenib veya bufalin tedavisinden daha güçlü sitotoksik etki ve hücre apoptozu gösterdiği belirtilmiştir (Kuo ve ark. 2022). Başka bir çalışmada, erastin ve sorafenib ile temsil edilen ferroptoz indükleyicileri, ilerlemiş küçük hücreli dışı akciğer karsinomlu hastaların sağkalımına fayda sağladığı veya hatta sispaltin bazlı çok kürlü kemoterapi tedavisinin başarısızlığını takiben KDDAK tedavisi için yeni bir bakış açısı sağladığı bildirilmiştir (Li ve ark. 2020). Yine, β -iyonon ve sorafenibin antioksidan etkiler, sinyal yollarının modülasyonu ve ilaç direncinin üstesinden gelme gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla hepatoselüler karsinoma karşı potansiyel kemoterapötik etkilere sahip olduğunu gösteren literatür mevcuttur (Abd-Elbaset ve ark. 2020).

Bu çalışmada, sorafenib ve *Maclura pomifera* (Yalancı portakal) meyve ekstresinin düşük dozlarda ve kısa süreli kombinasyon halinde uygulanmasının, tümör hücrelerinin canlılığını tek başına kullanılan dozlardan daha etkili bir şekilde azaltmasının ve antioksidan aktivite göstermesinin literatürle uyumlu olduğu görülmektedir.

5. Sonuç

Sonuç olarak, bu çalışma, sorafenib ve Yalancı portakal (*Maclura pomifera*) meyve ekstresinin A549 akciğer kanseri hücre hatları üzerinde belirgin sitotoksik ve antioksidan etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. Kombinasyon tedavisi, sorafenibin tek başına kullanımına kıyasla hücre canlılığını daha etkili bir şekilde azaltmış ve oksidatif stres seviyelerini belirgin biçimde düşürerek antioksidan aktiviteyi artırmıştır. Bu bulgular, sorafenib ile Yalancı portakal ekstresi kombinasyonunun akciğer kanseri tedavisinde daha etkili ve güvenilir bir seçenek olabileceğini öne sürmektedir. Bununla birlikte, bu sonuçların geçerliliğini desteklemek için daha fazla *in vivo* araştırma ve klinik çalışmalar gereklidir.

Yazarların katkıları: HK: Verileri topladı ve analiz etti, makalenin ilk taslağını yazdı ve son versiyonunu hazırladı. TA: Verileri topladı ve analiz etti, şekilleri çizdi, ilk taslağı yazdı. DAÇ: Projeyi tasarladı, verileri topladı ve analiz etti, ilk taslağı ve makalenin son versiyonunu gözden geçirdi.

Çıkar çatışması beyanı: Tüm yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Kaynaklar

- Abd-Elbaset M, Mansour AM, Ahmed OM, Abo-Youssef AM. 2020. The potential chemotherapeutic effect of β -ionone and/or sorafenib against hepatocellular carcinoma via its antioxidant effect, PPAR- γ , FOXO-1, Ki-67, Bax, and Bcl-2 signaling pathways. *Naunyn Schmiedebergs Arch.* 393:1611-1624
- Barnes RA, Gerber NN. 1955. The Antifungal Agent from Osage Orange Wood. *J Am Chem.Soc.* 77(12):3259-3262
- Cabral LKD, Tiribelli C, Sukowati CHC. 2020. Sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma: The relevance of genetic heterogeneity. *Cancers (Basel).* 12(6):1576
- Chan YT, Wu J, Lu Y, Li Q, Feng Z, Xu L, Yuan H, Xing T, Zhang C, Tan HY, Feng Y, Wang N. 2024. Loss of lncRNA LINC01056 leads to sorafenib resistance in HCC. *Mol Cancer.* 23:74
- Dal Lago L, D'Hondt V, Awada A. 2008. Selected combination therapy with sorafenib: A review of clinical data and perspectives in advanced solid tumors. *Oncologist.* 13(8):845-858
- El-Hamawi O, Eldin ZE, Abdel-Moneim A, Zanaty MI, El-Shahawy AA. 2023. A nanoformula comprising three entities in one design: Synthetic Sorafenib-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) conjugated with natural curcumin induces a distinct intrinsic apoptosis pathway versus non-small cell lung cancer A549 cell lines. <https://www.researchsquare.com/article/rs-2824510/v1>. Accessed 21 Sept 2024.
- Filip S, Djarmati Z, Lisichkov K, Csanadi J, Jankov RM. 2015. Isolation and characterization of *Maclura (Maclura pomifera)* extracts obtained by supercritical fluid extraction. *Industrial Crops and Products.* 76:995-1000
- Filip S, Đurović S, Blagojević S, Tomić A, Ranitović A, Gašić U, Zeković Z. 2021. Chemical composition and antimicrobial activity of Osage orange (*Maclura pomifera*) leaf extracts. *Arch Pharm.* 354(2):2000195
- Hu B, Sun D, Sun C, Sun Y, Sun H, Zhu Q, Yang X, Gao Y, Tang W, Fan J, Maitra A, Anders R, Xu Y. 2015. A polymeric nanoparticle formulation of curcumin in combination with sorafenib synergistically inhibits tumor growth and metastasis in an orthotopic model of human hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun.* 468(4): 525-532
- Huang KY, Wang TH, Chen CC, Leu YL, Li HJ, Jhong CL, Chen CY. 2021. Growth suppression in lung cancer cells harboring EGFR-C797S mutation by quercetin. *Biomolecules.* 11(9):1271
- Hussain Y, Singh J, Meena A, Sinha RA, Luqman S. 2023. Escin enhanced the efficacy of sorafenib by autophagy-mediated apoptosis in lung cancer cells. *Phytother Res.* 37(10):4819-4837
- Jane EP, Premkumar DR, Pollack IF. 2006. Coadministration of sorafenib with rottlerin potently inhibits cell proliferation and migration in human malignant glioma cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 319(3):1070-1080
- Jiang S, Wang Q, Feng M, Li J, Guan Z, An D, Dong M, Peng Y, Kuerban K, Ye L. 2017. C2-ceramide enhances sorafenib-induced caspase-dependent apoptosis via PI3K/AKT/mTOR

- and Erk signaling pathways in HCC cells. *Appl Microbiol Biotechnol.* 101(4):1535-1546
- Kuo JY, Liao CL, Ma YS, Kuo CL, Chen JC, Huang YP, Chung JG. 2022. Combination treatment of sorafenib and bufalin induces apoptosis in NCI-H292 human lung cancer cells in vitro. *In Vivo.* 36(2):582-595
- Kupeli E, Orhan I, Toker G, Yesilada E. 2006. Anti-inflammatory and antinociceptive potential of *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider fruit extracts and its major isoflavonoids, scandenone and auricularin. *J Ethnopharmacol.* 107(2):169-174
- Lakornwong W, Kanokmedhakul K, Masranoi J, Tontapha S, Yahuafai J, Laphookhieo S, Kanokmedhakul S. 2022. Cytotoxic and antibacterial xanthenes from the roots of *Maclura cochinchinensis*. *Nat Prod Res.* 36(23): 6021-6030
- Li J, Pan YY, Zhang Y. 2013. Synergistic interaction between sorafenib and gemcitabine in EGFR-TKI-sensitive and EGFR-TKI-resistant human lung cancer cell lines. *Oncol Lett.* 5(2):440-446
- Li Y, Yan H, Xu X, Liu H, Wu C, Zhao L. 2020. Erastin/sorafenib induces cisplatin resistant non-small cell lung cancer cell ferroptosis through inhibition of the Nrf2/xCT pathway. *Oncol Lett.* 19(1):323-333
- Mukherjee AK, Basu S, Sarkar N, Ghosh AC. 2001. Advances in cancer therapy with plant-based natural products. *Curr Med Chem.* 8(12):1467-1486
- Singh, AK, Hennon M, Ma SJ, Demmy TL, Picone A, Dexter EU, Nwogu C, Attwood K, Tan W, Hermann GM, Fung-Kee-Fung S, Malhotra HK, Yendamuri S, Gomez-Suescun, JA. 2018. A pilot study of stereotactic body radiation therapy (SBRT) after surgery for stage III non-small cell lung cancer. *BMC Cancer.* 18:1183
- Singh D, Khan MA, Akhtar K, Arjmand F, Siddique HR. 2022. Apigenin alleviates cancer drug sorafenib-induced multiple toxic effects in Swiss albino mice via anti-oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol.* 447:116072
- Smith JL, Perino JV. 1981. Osage orange (*Maclura pomifera*): History and economic uses. *Econ Bot.* 35(1):24-41
- Smit EF, Dingemans AMC, Thunnissen FB, Hochstenbach MM, van Suylen RJ, Postmus PE. 2010. Sorafenib in patients with advanced non-small cell lung cancer that harbor K-ras mutations: a brief report. *J Thorac Oncol.* 5(5): 719-720
- Solowey E, Lichtenstein M, Sallon S, Paavilainen H, Solowey E, Lorberboum-Galski H. 2014. Evaluating medicinal plants for anticancer activity. *Sci World J.* 2014(1): 721402.
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. 2021. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 71(3):209-249
- Tang W, Chen Z, Zhang W, Cheng Y, Zhang B, Wu F, Wang Q, Wang S, Rong D, Reiter FP, De Toni EN, Wang X. 2020. The mechanisms of sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma: theoretical basis and therapeutic aspects. *Signal Transduct Target Ther.* 5(1):87
- Thandra KC, Barsouk A, Saginala K, Aluru JS, Barsouk A. 2021. Epidemiology of lung cancer. *Contemp Oncol/ Współcz Onkol.* 25(1):45-52
- Zhang Y, Zhang B, Zhang A, Zhao Y, Zhao J, Liu J, Rao Z. 2012. Synergistic growth inhibition by sorafenib and vitamin K2 in human hepatocellular carcinoma cells. *Clin.* 67:1093-1099
- Zhang J, Chen YL, Ji G, Fang W, Gao Z, Liu Y, Gao F. 2013. Sorafenib inhibits epithelial-mesenchymal transition through an epigenetic-based mechanism in human lung epithelial cells. *PLoS One.* 8(5):e64954.
- Zhao J, Lin E, Bai Z, Jia Y, Wang B, Dai Y, ZhuoW, Zeng G, Liu X, Cai C, Li P, Zou B Li J. (2023). Cancer-associated fibroblasts induce sorafenib resistance of hepatocellular carcinoma cells through CXCL12/FOLR1. *BMC Cancer.* 23(1): 1198.
- Zheng M. 2016. Classification and pathology of lung cancer. *Surg Oncol Clin.* 25(3):447-468.