








## **ARCTIUM MINUS METANOL EKSTRESİNİN ÇEŞİTLİ KANSER HÜCRE HATLARI ÜZERİNDE SİTOTOKSİK ETKİLERİ**

*CYTOTOXIC EFFECTS OF ARCTIUM MINUS METHANOL EXTRACT ON VARIOUS  
CANCER CELL LINES*

Ayşe Arzu SAYIN ŞAKUL<sup>1\*</sup> , Yasemin YOZGAT BYRNE<sup>2</sup> , Ayşe Esra KARADAĞ<sup>3</sup> ,  
Ebrar ALTINALAN<sup>4</sup> , Şeyma ÇİMEN<sup>5</sup> , Mehmet Evren OKUR<sup>6</sup> 

<sup>1</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilim ve Teknolojileri Araştırma Enstitüsü (SABITA), Tıp  
Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı, 34810, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilim ve Teknolojileri Araştırma Enstitüsü (SABITA), Tıp  
Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, 34810, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilim ve Teknolojileri Araştırma Enstitüsü (SABITA),  
Eczacılık Fakültesi Fakültesi, Farmakognozi Ana Bilim Dalı, 34810, İstanbul, Türkiye

<sup>4</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilim ve Teknolojileri Araştırma Enstitüsü (SABITA), Tıp  
Fakültesi Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı, 34810, İstanbul, Türkiye

<sup>5</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilim ve Teknolojileri Araştırma Enstitüsü (SABITA), 34810,  
İstanbul, Türkiye

<sup>6</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Ana Bilim Dalı, 34668, İstanbul,  
Türkiye

### **ÖZ**

**Amaç:** Bu çalışmada *Arctium minus* (Hill) Bernh. ssp. *minus*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ekstresinin kanser hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** *Arctium minus* (Hill) Bernh. ssp. *minus*'un metanol ekstresinin, iki farklı insan meme kanseri hücre hattına (MCF-7 ve MDA-MB-231) ve kontrol olarak normal insan fibroblast hücre hattına (MRC-

\* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Ayşe Arzu Sayın Şakul  
e-posta / e-mail: aasakul@medipol.edu.tr, Tel. / Phone: +902166812114

5) uygulanması ile *in vitro* sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Hücre canlılık tayini CellTiter-Blue metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analiz için One-Way ANOVA ve Tukey post-hoc testi kullanılmıştır.

**Sonuç ve Tartışma:** Analizlerde, MCF-7 kanser hücrelerinde hücre canlılığı %27,8 -38,7 oranında belirlenmiş olup önemli derecede sitotoksik aktivite tespit edilmiştir (1 mg/mL ekstre uygulaması için  $p < 0.022$ ). Ancak MDA-MB-231 kanser hücre hatlarında %47,8-59,7 oranında hücre canlılığı gözlemlenmiştir. MRC-5 normal fibroblast hücrelerinde ise sitotoksosite gözlemlenmemiştir (%92,4 – 105,4 hücre canlılığı). Bu bulgulardan yola çıkarak, MCF-7 kanser hücreleri ve MRC5 normal fibroblast hücrelerine 1,25 mg/mL Arctium minus ekstresi ile muamele edilmiş ve flow sitometrisi metodu ile hücre ölümünün ölçümü gerçekleştirilmiştir. Arctium minus ekstresi uygulaması ile hücre ölümü, MCF-7 kanser hücrelerinde (%98) MRC5 normal fibroblast hücrelerinden (%25) çok daha yüksek oranda gerçekleşmiştir. Sonuç olarak, Arctium minus ssp. minus ekstresi uygulamasının hücre canlılığını MCF-7 hücre hattında normal fibroblast hücre hattına göre daha fazla azalttığı söylenilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Arctium minus ssp. minus, hücre canlılığı, hücre ölümü, kanser, sitotoksosite

## ABSTRACT

**Objective:** This study aimed to evaluate the cytotoxic effects of Arctium minus (Hill) Bernh. ssp. minus methanol extract derived from aerial parts on cancer cell lines.

**Material and Method:** For cytotoxicity assays, two different human breast cancer cell lines (MCF-7 and MDA-MB-231) and healthy human fibroblast cell line (MRC-5) as a control were used. Cell viability determination was performed using the CellTiter-Blue method. One-Way ANOVA and Tukey post test were used for statistical analysis.

**Result and Discussion:** Cell viability has been detected between ratios of 27.8-38.7% for MCF-7 cancer cell line, and a significant cytotoxic activity was observed via the analysis (1 mg/mL extract treatment  $p < 0.022$ ). However, 47.8-59.7% cell viability was observed for MDA-MB-231 cancer cell line, and MRC-5 healthy fibroblast cell line did not demonstrate any cell viability (92.4-105.4% cell viability). Depending on these data, MCF-7 cancer cell line and MRC-5 fibroblast healthy cell line were treated with Arctium minus extract, then cell viability was detected by flow cytometry technique. The ratio of the cell death was higher in MCF-7 cancer cell line (98%) compared with the MRC-5 fibroblast healthy cell line (25%) after the Arctium minus extract treatment. In conclusion, Arctium minus ssp. minus extract has significantly decreased the cell viability in MCF-7 cancer cell line when compared with the MCR-5 fibroblast normal cell line.

**Keywords:** Arctium minus ssp. minus, cancer, cell death, cell viability, cytotoxicity

## GİRİŞ

Kanser, çevresel ve genetik faktörlerin etkisi ile hücrelerin büyüme özelliğinin bozulması ve kontrolsüz çoğalmaları ile gelişen bir hastalıktır. Somatik genetik hastalıklardan en sık görülen ve en komplike olanıdır [1]. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) GLOBOCAN veritabanına göre, 2020 yılında dünya genelinde 19,3 milyon yeni kanser vakası bildirilmiştir. En yaygın kanser türü ise son yıllarda akciğer kanserinden (% 22,4) daha fazla tanı konulan meme kanseri (%47,8) olmuştur [2].

Kanser tedavisinde; cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi gibi geleneksel yöntemler yaygın olarak kullanılmaya devam etse de ağır yan etki profilleri ve kemoresistans gelişimi gibi faktörler kanserle mücadelede engel olarak karşımıza çıkmaktadır [3]. Son yıllarda bu olumsuz faktörleri azaltmak amacıyla yeni tedavi seçenekleri geliştirilmektedir. Kansere karşı koruma ve kanser tedavisi için güvenli ve etkin bileşiklere ihtiyaç duyulmaktadır [3]. Bu amaçla tıbbi bitkilerden elde edilen bileşenler, yan etkileri azaltılmış yüksek etkinliğe sahip yeni terapötik moleküllerin keşfi ve tasarımı için oldukça önemlidir [4].

*Arctium* türleri, Asteraceae familyasına ait bitkilerdir. Asteraceae cinsi tanımı gereği, *A. lappa* L.'nin (=syn. *A. major* Gaertn.), *A. minus* (Hill) Bernh., *A. tomentosum* Mill. ve melezleri veya bunların karışımlarından oluşmaktadır. Ana karakteristik bileşenleri olan inülin, arktigenin ve arktiin ile yapılan çalışmalar mevcuttur [5]. Terapötik endikasyonları arasında seboreik cilt, egzama, fronküller, akne, sedef hastalığı, idrar miktarını artırarak küçük idrar yolu şikayetlerinde adjuvan olarak kullanımı bulunmaktadır [6]. Türkiye'deki florasında ssp. *pubens* ve ssp. *minus* isimli iki alt türü mevcuttur [7].

*Arctium* türlerinde bulunan başlıca biyoaktif bileşenler; lignanlar, yağ asitleri, asetilenik bileşikler, fitosteroller, polisakaritler, kafeoilkinik asit türevleri, flavonoidler, terpenler/terpenoidler ve hidrokarbonlar, aldehitler, metokspirazinler, seskiterpenlerdir [8,9,10]. *Arctium* türleri ayrıca antikanser, antidiyabetik, antioksidan, hepatoprotektif, gastroprotektif, antibakteriyel, antiviral, antimikrobiyal, antialerjik ve antiinflamatuvar etkiler gibi biyoaktif özelliklere sahiptir [5,11,12]. Avrupa-Akdeniz bölgesinde altı ana tür bulunur: *A. atlanticum* (Pomel) H. Lindb., *A. lappa* L., *A. minus*, *A. nemorosum* Lej., *A. palladini* (Marcow) R.E.Fr. & Soderb. ve *A. tomentosum* Mill [5]. *Arctium minus*, Türkiye'de yetişen, Isparta ve Doğu Anadolu'da yayılış gösteren bir *Arctium* türüdür. [13,14]. Ülkemizde daha çok "löşlek" olarak bilinen bu tür, Avrupa'dan güney ve doğuya doğru Kuzey Afrika ve Kafkasya'ya kadar doğal yayılış gösterir. *A. minus* ülkemizde "kabalak, büyük kabalak, acıkabalak" veya "gabalak" isimleriyle de bilinmektedir [15].

*A. minus* yapraklarının sulu ekstresi ile yapılan bir çalışmada 12,5 mg üzerindeki konsantrasyonunun oral candida türlerine karşı fungastik ve fungasidal etkinliği gösterilmiştir [16]. Ayrıca geleneksel Türk halk tıbbında, *A. minus* yaprakları hem güneş çarpması hem de güneş yanığı tedavisinde kullanılmaktadır [17]. Ayrıca geleneksel tedavide *A. minus*'un taze yapraklarının tuzla birlikte veya suyun içinde kaynatılarak eklemlere uygulanması romatizmal ağrıların tedavisinde kullanılır [18].

Avrupa İlaç Ajansı (EMA) uzun süreli kullanımda *A. lappa*, *A. minus* ve *A. tomentosum* köklerinin minör üriner sistem şikayetlerinde, geçici iştahsızlıkta ve seboreik cilt rahatsızlıklarında adjuvan olarak kullanımını onaylamaktadır [19].

*A. minus*'un antiinflamatuvar, antinosiseptif ve antioksidan etkileri önceki çalışmalarda deneysel olarak incelenmiş olsa da henüz antikanser etkinliği yeterince araştırılmamıştır [20]. Bir çalışmada akut gut atak fare modellerine *A. minus*'un tohumlarından elde edilen ekstre uygulanmış ve ekstre antinosiseptif etkisinin gut ağrısının tedavisinde yan etkilere neden olmadan destekleyici tedavi olarak kullanılabileceği bildirilmiştir [21]. Ancak, çalışmamızda kullanmış olan *A. minus* ssp. *minus* alt türleri ile yapılmış mevcut deneysel çalışmalar sınırlıdır. *Arctium* türlerinin sekonder metabolit olarak arktiin içerdiği bilinmektedir [22,23].

## GEREÇ VE YÖNTEM

## Bitki Materyali

*A. minus* ssp. *minus*'un çiçekli toprak üstü kısımları 25 Temmuz 2020 tarihinde Kırklareli Demirköprü'den toplanmıştır. Bitki, Ayşe Esra Karadağ tarafından teşhis edilmiş ve herbaryum örneği (IMEF 1191) İstanbul Medipol Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda muhafaza edilmiştir.

## Ekstraksiyon

Bitki materyalinin toprak üstü kısımları açık havada gölgede kurutulmuştur ve ardından laboratuvar ölçekli bir değirmen kullanılarak uygun bir boyuta kadar toz haline getirilmiştir. Bitki materyali, metanol ile oda sıcaklığında üç kez ayrı ayrı ekstre edilmiştir. Süzülükten sonra, metanol ekstresi 45 °C'de vakumla rotary evaporatör yardımı ile çözücüsünden kurtarılmıştır.

## HPLC Analizi

HPLC çalışmasında, *A. minus* ssp. *minus* 'un toprak üstü kısmından hazırlanan metanol ekstresi, 0.22 µm membran filtrelerden süzülmüştür. HPLC analizi, Agilent 1100 LC Sistemi ile çalışılmıştır. Analiz Agilent C18 kolonu (4.6x250mm 5µm) üzerinde gerçekleştirilmiş ve sıcaklık 35 °C'de tutulmuştur. Mobil faz metanol:su (55:45) kullanılarak izoktarik akış ile çalışılmıştır. Zhou ve arkadaşlarının (2011) yöntemine göre, 280 nm dalga boyunda pikler tespit edilmiştir [24]. Enjeksiyon hacmi 10 µL ve akış hızı 1,0 mL/dk olarak ayarlanmıştır. Arktin, alıkonma süresi eşleştirilerek tanımlanmış ve ekstre de aynı koşullar altında analiz edilmiştir.

## *In vitro* Sitotoksosite Testleri

### Hücre Kültürü

Sitotoksosite deneyleri için, iki farklı insan meme kanseri hücre hattı (MCF-7 ve MDA-MB-231) ve kontrol olarak insan normal fibroblast hücre hattı (MRC-5) kullanılmıştır. MDA-MB-231 hücreleri MCF-7 hücrelerine kıyasla daha yüksek metastatik özelliğe sahip triple-negatif meme kanseri (TNBC) hücrelerdir [25]. Bu iki hücre hattının sitotoksik aktiviteleri doza bağımlı olarak karşılaştırılmıştır. Hücreler ATCC'den alınmıştır. Tüm hücre dizileri, %10 Fetal Sığır Serum (FBS), %1 L-glutamin ve %1 antibiyotik (penisilin/streptomisin) ile takviye edilmiş yüksek glukoz içeren Dulbecco's Modified Eagle's Medium'da (DMEM) kültüre edilmiştir. İnkübasyon, 37 °C ve %5 CO<sub>2</sub> atmosfer ortamında gerçekleştirilmiştir. Hücreler sub-konfluent tutulmuştur ve ortam iki günde bir değiştirilmiştir.

### Hücre Canlılık Analizi

MCF-7, MDA-MB-231 ve MRC-5 hücreleri, %0,25 Trypsin/EDTA (Gibco) ile flaskdan çıkarılarak hücre canlılığı deneyleri için 96 siyah kuyucuklu plaklara (Corning) 1,2x10<sup>4</sup> hücre/çukur yoğunluğunda ekim yapılmıştır. Ön denemeler sonucu 0,5 mg/mL altında hücre ölümü gözlemlenmesi ve 5 mg/mL konsantrasyonda ise hücre canlılığının %1'in altına düşmesi sebebiyle analizde

uygulanacak ekstrenin konsantrasyon aralığı 0,5-4 mg/mL olarak belirlenmiştir. Gece boyunca yapışmayı takiben hücreler, tek başına ortam ile inkübe edilmiş veya farklı ekstre konsantrasyonuna (0,5; 1; 1,25; 1,5; 1,75; 2; 2,5; 3; 4 mg/mL) maruz bırakılmıştır. Stok solüsyonu hazırlamak için *A. minus* ssp. *minus* ekstresi, DMSO içerisinde çözündürülmüş ve tam DMEM ortamı kullanılarak art arda seyreltme yapılmıştır. 48 saatlik muameleden sonra, her bir kuyucuğa CellTiter Blue reaktifi (Promega) eklenmiş ve hücre canlılığı analizi üretici firmanın protokolüne göre gerçekleştirilmiş, floresan okuyucu SpectraMax i3x MultiMode Detection Platform ile belirlenmiştir. Her koşul için hücre canlılığı ölçümü, sadece medyumla muamele edilen hücrelere göre standardize edilip yapılmıştır. Üç bağımsız deney, üçer defa yapılmıştır. Her hücre için %50 inhibitör konsantrasyon (IC<sub>50</sub>) değerleri GraphPad Prism sürüm 9.1 programı ile hesaplanmıştır.

### Hücre Ölümü Değerlendirmesi

Ekstreyle maruz kalan hücre apoptozunu tespit etmek için propidium iyodür (PI) kullanılmıştır. Hücre ölümünün değerlendirilmesi için her üç hücre hattında da ölüm başlatan ve hücreler arasındaki farkların gözlenebileceği ortak bir konsantrasyon belirlenmesi amaçlanmıştır. Üç hücre hattının ortalama IC<sub>50</sub>'sine (1,31 mg/mL) en yakın değer olan 1,25 mg/mL dozu tercih edilmiştir. MCF-7, MDA-MB-231 ve MRC-5 hücrelerine, 1,25 mg/mL'lik bir konsantrasyonda *A. minus* ssp. *minus* ekstresi ile muamele edilmiş veya kontrol olarak çıkarılmıştır. Hücreler, muameleden 48 saat sonra toplanmış ve  $1 \times 10^6$  hücre/mL konsantrasyonunda FACS tamponu içinde süspansiyon edilmiştir. 100 µL hücre süspansiyonu, 5 µL 100 µg/mL PI ile karanlıkta, oda sıcaklığında 15 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon döneminden sonra hücreler, 1 saat içinde FACS AriaII flow sitometrisi ile analiz edilmiştir ve FlowJo yazılımı kullanılarak işlenmiştir [26].

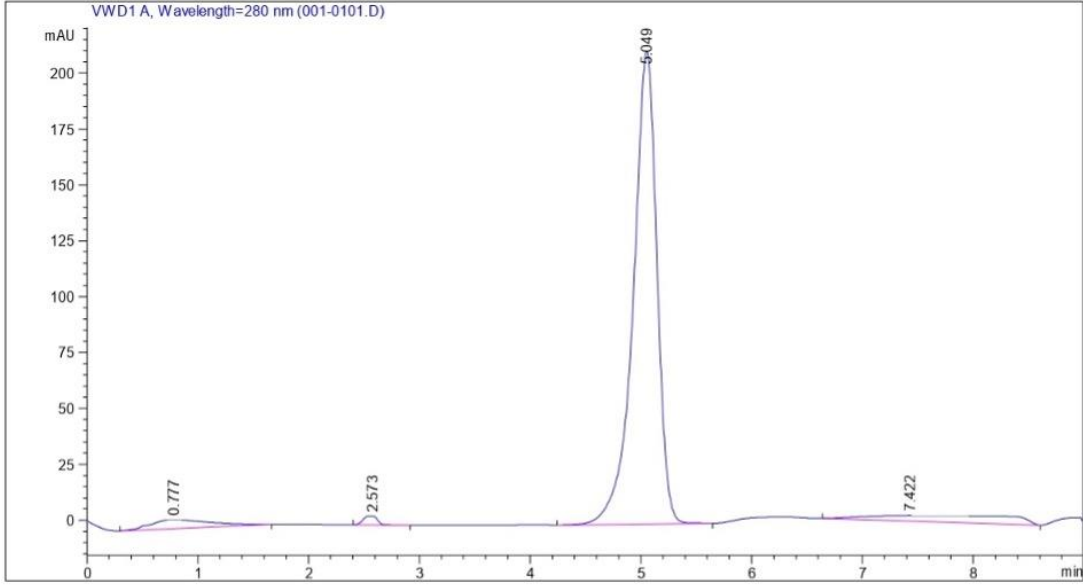
### İstatistiksel Analiz

Tüm analizler üç tekrar olarak yapılarak sonuçların ortalaması alınmıştır. İstatistiksel analiz GraphPad Prism sürüm 9.1 programı ile hesaplanmış ve One-Way ANOVA ve Tukey post-hoc testi kullanılmıştır.  $p < 0,05$  değerlerindeki bir fark istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirilmiştir (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ).

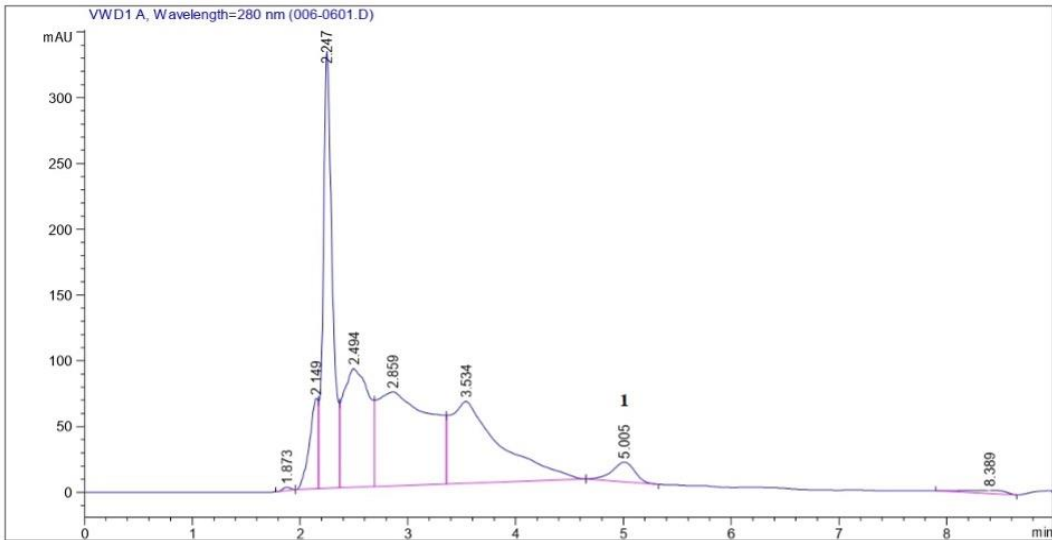
## SONUÇ VE TARTIŞMA

*A. minus* ssp. *minus*' un toprak üstü kısımlarından arktiin analizi ilk kez bu çalışmada yapılmış olup *in vitro* sitotoksik aktiviteleri araştırılmıştır. *A. minus* ssp. *minus*'un toprak üstü kısımlardan hazırlanan metanollü ekstrenin fitokimyasal bileşen analizi, HPLC tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizlerde ekstre içerisinde var olan arktiin varlığı ortaya konulmuştur. Daha önceki çalışmalarda farklı *Arctium* türlerinde türe özgü sekonder metabolit olan arktiin farklı yöntemlerle analiz edilmiştir [24,27,28]. Ancak bu çalışma, bu kapsamda *A. minus* ssp. *minus* ile yapılan ilk çalışmadır. *A.*

*minus* ssp. *minus* için arktiin standart kromatogramı Şekil 1 'de verilmiştir. Bu çalışmada *A. minus* ssp. *minus* toprak üstü kısımlarının metanol ekstrelerine HPLC ile arktiin analizi yapılmıştır (Şekil 2). Şekil 1'de elde edilen kromatogramda yer alan pikin Şekil 2'ye verilen kromatogramda da yer alması ekstre içerisindeki arktiin varlığını göstermektedir. Arktiin daha önce sitotoksik etkisi ortaya konulmuş bir bileşiktir [29]. Bu nedenle bu çalışmada da arktiin içeriği açısından zengin bir ekstrenin antikanser etkisi araştırılmış ve sonuçlar literatürle bağlantılı olarak tartışılmıştır.

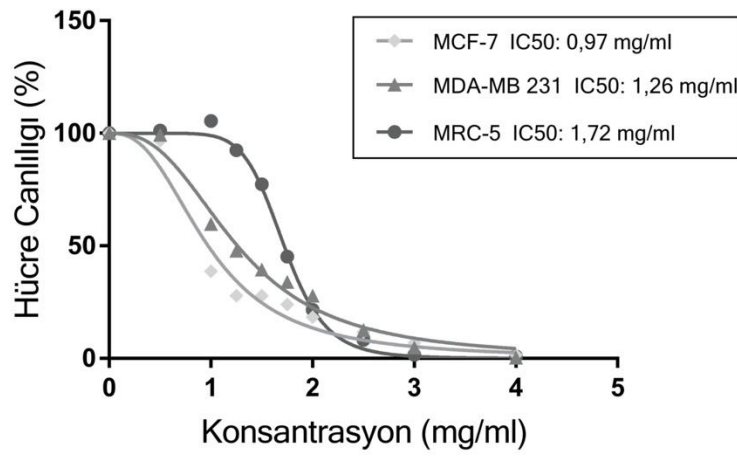


Şekil 1. Arktiin'in Standart Kromatogramı (R.T.:5.049)



Şekil 2. *A. minus* ssp. *minus* ekstresinin HPLC Kromatogramı (1: Arctiin RT:5.005)

*A. minus* ssp. *minus* ekstresi uygulamasının, meme kanseri hücrelerini (MCF-7 ve MDA-MB-231) duyarlı hale getirip getiremeyeceği araştırılmıştır. *A. minus* ssp. *minus* ekstresinin antikanser etkilerini analiz etmek için hücre canlılığı deneylerine kontrol hücre hattı olarak MRC5 hücre hattı dahil edilmiştir. *A. minus* ssp. *minus* ekstresi için gerçekleştirilen hücre canlılığı deneylerinde, MCF-7 hücreleri (0,97 mg/mL) ve MDA-MB-231 hücreleri (1,26 mg/mL), kontrol grubu MRC5 hücrelerine (1,72 mg/mL) göre daha düşük IC<sub>50</sub> değeri göstermiştir (Şekil 3). Ek olarak, MCF-7 hücrelerinin aksine, MDA-MB-231 hücrelerinin oldukça agresif, istilacı ve çeşitli kanser önleyici ajanlara dirençli TNBC hücre hattı olduğu bilinmektedir. [30].



**Şekil 3:** *A. minus* ssp. *minus* ekstresinin MCF-7 ve MDA-MB-231 ile MRC5 hücreleri üzerinde sitotoksik etkileri ve hücrelerin IC<sub>50</sub> değerleri

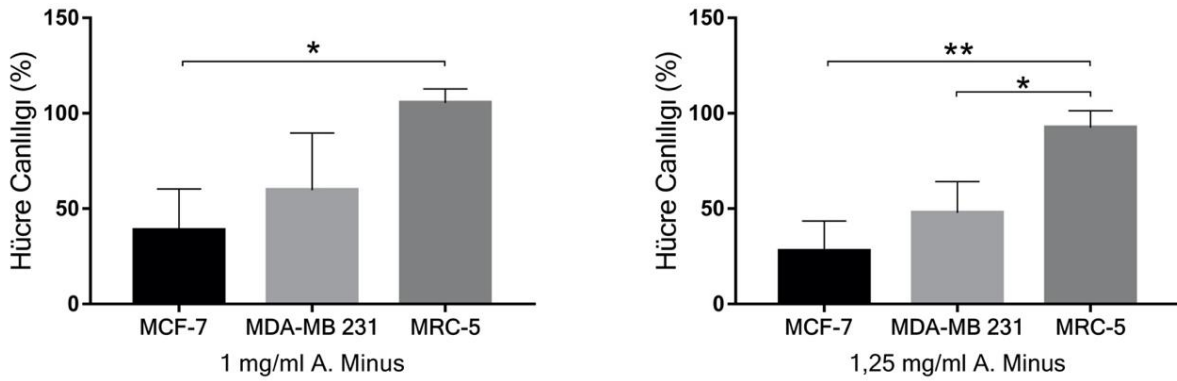
**Tablo 1.** Farklı hücre hatları üzerinde *A. minus* ssp. *minus* ekstresinin hücre canlılığına etkisi

<i>A. minus</i> ssp. <i>minus</i> ekstresi konsantrasyonu (mg/ml)	Hücre Canlılığı (% , Ort ± SS)		
	MRC-5	MDA-MB 231	MCF-7
0	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
0,5	101,24 ± 5,48	99,26 ± 1,56	96,64 ± 1,89
1	105,39 ± 7,47	59,73 ± 30,00	38,68 ± 21,67
1,25	92,42 ± 8,90	47,77 ± 16,42	27,83 ± 15,69
1,5	77,31 ± 12,26	39,50 ± 5,69	27,79 ± 6,58
1,75	45,18 ± 24,37	33,88 ± 6,94	23,91 ± 4,17
2	21,60 ± 28,53	27,79 ± 8,32	18,31 ± 6,48
2,5	8,22 ± 12,27	12,57 ± 18,83	11,71 ± 15,05
3	1,57 ± 0,70	4,77 ± 7,18	6,84 ± 9,47
4	0,96 ± 0,26	0,36 ± 0,82	1,57 ± 0,97

3 farklı hücre hattının farklı *A. minus* ssp. *minus* ekstre konsantrasyonlarındaki canlılık oranları (%) Ortalama ± Standart sapma şeklinde gösterilmiştir. Tüm ortalama ve standart sapmalar 3'er tekrarlı 3 farklı deneyden elde edilmiştir. Tüm değerler ekstre verilmeyen kontrol gruplarına göre normalize edilmiştir. En yüksek konsantrasyondaki çözücü (DMSO) miktarının dahi toksik etkisi olmadığı yapılan denemelerde belirlenmiştir.

1 mg/mL *A. minus* ssp. *minus* ekstresi uygulaması, MCF-7 hücrelerinde %38,7 (en düşük) oranında hücre canlılığı ile sonuçlanırken, MDA-MB-231 hücrelerinde %59,7 oranında hücre canlılığı ile sonuçlanmıştır. Ayrıca ekstre uygulaması sonucu görülen en yüksek hücre canlılığı, MRC5 hücre hattında %105,4 oranında belirlenmiştir. 1,25 mg/mL konsantrasyonda *A. minus* ssp. *minus* ekstresi uygulaması ise sırasıyla, MCF-7 hücrelerinde %27,8 (en düşük) hücre canlılığı ile sonuçlanırken, MDA-MB-231 hücre hattında %47,8 oranında hücre canlılığı tespit edilmiştir. Ekstre uygulaması sonucu MRC5 hücre hattı %92,4 oranı ile en yüksek hücre canlılığı tespit edilen hücre hattıdır (Tablo 1).

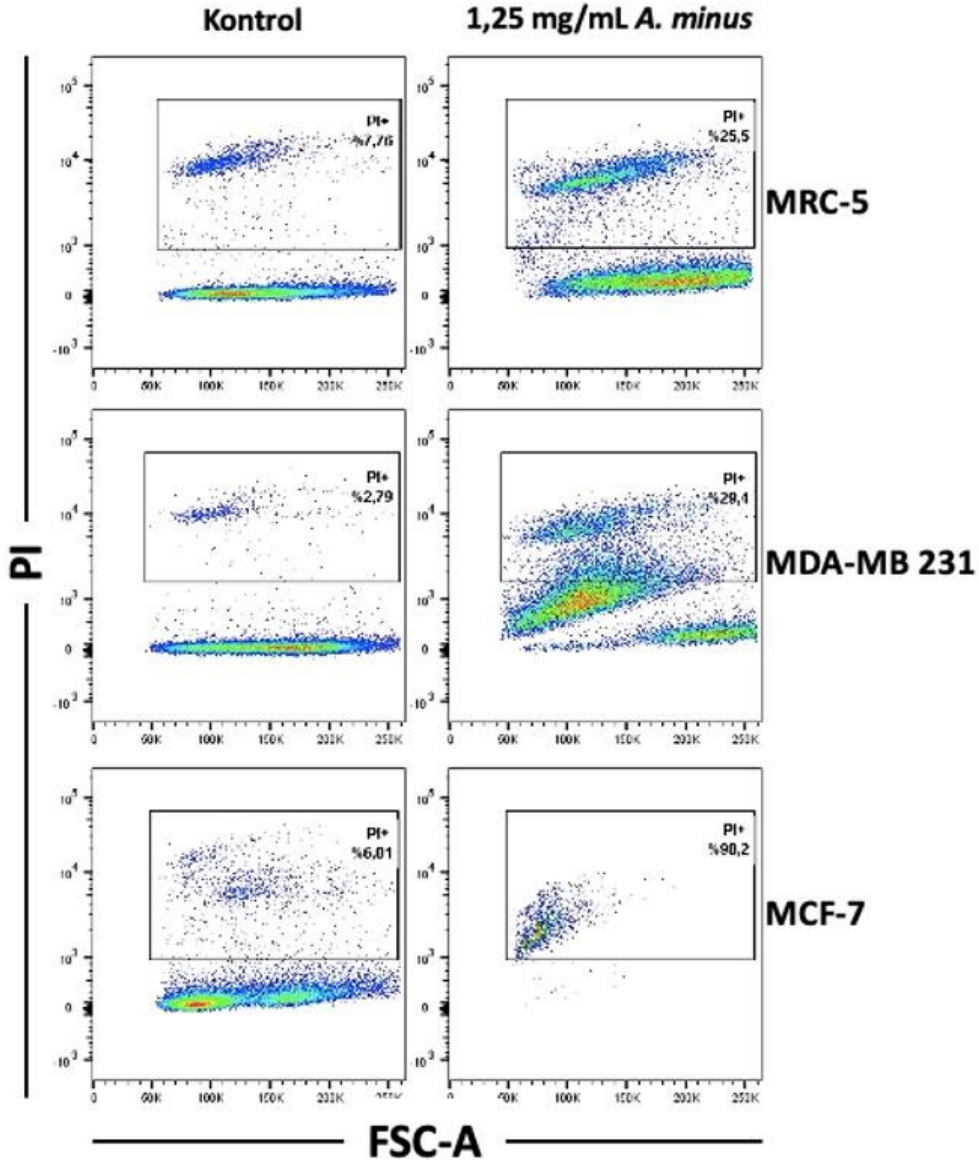
MRC5 hücre hattı, MCF-7 hücre hattının IC<sub>50</sub> değerinden yaklaşık iki kat daha yüksek olan 1,72 mg/mL IC<sub>50</sub> değeri göstermiştir (Şekil 3). Bu nedenle MRC-5 hücre hattına 1,25 mg/mL ekstre ile muamele edildiğinde hücre canlılığında önemli bir azalma görülmemiştir. 1 mg/mL *A. minus* ssp. *minus* ekstresi uygulaması sonucu MCF-7 ve MRC-5 hücre hatlarının hücre canlılığı değerlendirildiğinde anlamlı bir fark gözlemlenmiştir ( $p < 0,022$ ). 1,25 mg/mL *A. minus* ssp. *minus* ekstresi uygulaması sonucunda MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatları için hücre canlılığı kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir fark gözlemlenmiştir (MRC-5 ile MCF-7 için  $p < 0,0033$  ve MRC-5 ile MDA-MB-231 için  $p < 0,0191$ ) (Şekil 4). Hücre ölümünün değerlendirilmesinde her üç hücre hattının ortalama IC<sub>50</sub>'sine (1,31 mg/mL) en yakın değer olan 1,25 mg/mL dozu tercih edilmiştir. Bu bulgulardan yola çıkarak, MCF-7 ve MRC5 hücrelerine 48 saat boyunca 1,25 mg/mL *A. minus* ssp. *minus* ekstresi ile muamele edilmiştir. Hücre ölümünün flow sitometrisi ölçümü PI boyaması ile gerçekleştirilmiştir. *A. minus* ssp. *minus* uygulaması ile hücre ölümü, MCF-7 hücrelerinde (%98) MRC5 hücrelerine göre (%25) çok daha yüksek oranda artmıştır (Şekil 5).



**Şekil 4.** *A. minus* ssp. *minus* metanol ekstresinin farklı hücre hatlarında sitotoksosite analizi

Veriler, kontrole kıyasla ortalama  $\pm$  SS olarak ifade edildi. İstatistiksel olarak anlamlı fark \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  kabul edildi.





**Şekil 5.** 1,25 mg/mL *A. minus ssp. minus* ekstresi uygulamasının MRC-5, MDA-MB 231 ve MCF-7 hücre hatlarında flow stimoterisi ölçümü

Kanser, kesin tedavisinin henüz bulunmamış olması ve insidansının her geçen gün artması sebebiyle sık çalışılan ve ciddi bütçeler ayrılan bir araştırma konusudur. Kadınlarda en sık görülen kanser türü olması ve yüksek mortalite profili sebebiyle meme kanseri tedavisi oldukça önemlidir. Meme kanseri çalışmalarında dikkate alınması gereken en önemli özelliklerden biri hastalığın hücresel düzeyde heterojen olması ve farklı moleküler alt tiplerinin bulunmasıdır [31,32]. TNBC; tüm meme kanseri türleri arasında en agresif olanı olduğundan tedavisi daha zordur ve hastada yayılma olasılığı daha yüksektir [33]. *A. minus ssp. minus* metanol ekstresinin, meme kanseri modeli MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre dizileri üzerindeki sitotoksik etkileri doza bağlı olarak araştırılmıştır.

Günümüzde mevcut çalışmalar doğrultusunda *A. minus* 'un antidiyabetik, hepatoprotektif, gastroprotektif, antibakteriyel, antiviral, antimikrobiyal, antialerjik ve antinflamatuar etkileri bilinmektedir [5]. Bununla birlikte, kanser hücrelerine karşı *A. minus* ssp. *minus* ekstresinin sitotoksitesi yeterince çalışılmamıştır. Çalışmamızda *A. minus* ssp. *minus* metanol ekstresi uygulanması sonucu meme kanserinin farklı hücre dizilerinde *in vitro* sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. *In vitro* sitotoksite deneyimize göre, *A. minus* ssp. *minus* ekstresinin 1,25 mg/mL metanol ekstresi ile muamele edildiğinde hücre canlılığı sonuçları MCF-7 hücrelerinde %27,8 (en düşük), MDA-MB-231 hücrelerinde %47,8 ve kontrol grubu MRC5 hücre hattında ise %92,4 olarak belirlenmiştir. Bu bulgular, *A. minus* ssp. *minus* ekstresinin MCF-7 meme kanseri hücre hatları üzerinde ciddi sitotoksik etkileri olduğunu, ancak istilacı ve dirençli MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri için sitotoksik etkisinin çok daha düşük oranda olduğunu göstermiştir. Ayrıca *A. minus* ssp. *minus* ekstresinin sitotoksik etkisinin normal fibroblast hücrelerinde kanser hücre hatlarına kıyasla oldukça düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bu bağlamda *A. minus* ssp. *minus* ekstresinin MCF-7 hücre hattı için umut verici bir tedavi olabileceği, kanserin diğer moleküler alt tipleri için ise daha fazla çalışma yapılması gerektiği söylenebilir. Bu çalışmanın, *A. minus* ssp. *minus* ekstresinin antikanser etkisine dikkat çekeceğini, bu bitkinin antikanser etkileri araştırılmak üzere *in vivo* hayvan deneyleri ve klinik çalışmalara öncülük edeceğini düşünmekteyiz.

## YAZAR KATKILARI

Kavram: A.A.S.Ş, M.E.O.; Tasarım: A.A.S.Ş, M.E.O.; Denetim: A.A.S.Ş, M.E.O.; Kaynaklar: Y.Y.B, A.E.K.; A.A.S.Ş, M.E.O.; Malzemeler: Y.Y.B., A.E.K.; Veri Toplama ve/veya işleme: Ş.Ç., E.A., Y.Y.B., A.E.K.; Analiz ve/veya yorumlama: A.A.S.Ş., Y.Y.B., M.E.O.; Literatür taraması: A.E.K., E.A., Ş.Ç.; Makalenin yazılması: E.A., A.A.S.Ş.; Kritik inceleme: A.A.S.Ş., M.E.O., Y.Y.B., E.A., A.E.K., Ş.Ç.; Diğer: -

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

## ETİK KURUL ONAYI

Yazarlar bu çalışma için etik kurul onayının zorunlu olmadığını beyan etmektedir.

**KAYNAKLAR**

1. Futreal, P. A., Kasprzyk, A., Birney, E., Mullikin, J. C., Wooster, R., Stratton, M. R. (2001). Cancer and genomics. *Nature*, 409(6822), 850-852. [CrossRef]
2. Global Cancer Observatory Web Site. (2020) From: <https://gco.iarc.fr/today/home> Erişim Tarihi: 28.04.2022
3. Banik, K., Harsha, C., Bordoloi, D., Laldusaki Sailo, B., Sethi, G., Leong, H. C., Arfuso, F., Mishra, S., Wang, L., Kumar, A. P., Kunnumakkara, A. B. (2018). Therapeutic potential of gambogic acid, a caged xanthone, to target cancer. *Cancer Letters*, 416, 75-86. [CrossRef]
4. Top, R., Erden, Y., Tekin, S. (2019). Bazı önemli tıbbi bitkilerin antioksidan ve antikanser etkilerinin araştırılması. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(2), 435-442. [CrossRef]
5. Wang, D., Bădărau, A. S., Swamy, M. K., Shaw, S., Maggi, F., da Silva, L. E., López, V., Yeung, A. W. K., Mocan, A., Atanasov, A. G. (2019). Arctium Species Secondary Metabolites Chemodiversity and Bioactivities. *Frontiers in Plant Science*, 10, 834. [CrossRef]
6. Avrupa Fitoterapi Bilimsel Kooperatifi-Bitkisel Tıbbi Ürünler Bilimsel Vakfı (2016). Arctii radix (Burdock Root) üzerine ESCOP Monografisi. From: <http://escop.com/downloads/arctii/> Erişim Tarihi: 28.04.2022
7. Kupicha FK. (1975). Arctium minus (Hill) Bernh. İçinde *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*.
8. Washino, T., Yoshikura, M., Obata, S. (1986). New Sulfur-containing Acetylenic Compounds from Arctium lappa. *Agricultural and Biological Chemistry*, 50(2), 263-269. [CrossRef]
9. Xiao, W., Chuange, C., Yutao, Y., Chengchao, Z. (2004). Analysis of the essential oil from Arctium lappa L. *Natural Product Research and Development*, 16(1), 33-35.
10. Washing, T., Kobayashi, H., Ikawa, Y. (1987). Structures of Lappaphen-a and Lappaphen-b, new guaianolides linked with a sulfur-containing acetylenic compound, from Arctium lappa L. *Agricultural and Biological Chemistry*, 51(6), 1475-1480.
11. Lin, S., Chung, T., Lin, C., Ueng, T.-H., Lin, Y., Lin, S., Wang, L. (2000). Hepatoprotective Effects of Arctium Lappa on Carbon Tetrachloride- and Acetaminophen-Induced Liver Damage. *The American Journal of Chinese Medicine*, 28(02), 163-173. [CrossRef]
12. Ahangarpour, A., Heidari, H., Oroojan, A. A., Mirzavandi, F., Nasr Esfehiani, K., Dehghan Mohammadi, Z. (2017). Antidiabetic, hypolipidemic and hepatoprotective effects of Arctium lappa root's hydro-alcoholic extract on nicotinamide-streptozotocin induced type 2 model of diabetes in male mice. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 7(2), 169-179. [CrossRef]
13. Altundağ, E., Ozturk, M. (2011). Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 19, 756-777 [CrossRef]
14. Tuzlacı, E., Erol, M. K. (1999). Turkish folk medicinal plants. Part II: Eğirdir (Isparta). *Fitoterapia*, 6, 593-610. [CrossRef]
15. Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M. T. (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı*

*Bitkiler*). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği.

16. Lubian, C. T., Teixeira, J. M., Lund, R. G., Nascente, P. S., Del Pino, F. (2010). Antifungal activity of the aqueous extract from *Arctium minus* (Hill) Bernh. (Asteraceae) on oral *Candida* species. *Brazilian Journal of Medicinal Plants*, 12(2), 157-162. [CrossRef]
17. Altay, V., Karahan, F. (2017). Medicinal Plants Used to Sunstroke and Sunburn Treatment in Anatolian Traditional Medicine. *Erzincan University Journal of Science and Technology*, 2017, 124-137. [CrossRef]
18. Fujita, T., Sezik, E., Tabata, M., Yesilada, E., Honda, G., Takeda, Y., Tanaka, T., Takaishi, Y. (1995). Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in middle and west Black Sea regions. *Economic Botany*, 49(4), 406. [CrossRef]
19. European Medicines Agency web site (2011). From: [https://www.ema.europa.eu/documents/herbal-monograph/final-community-herbal-monograph-arctium-lappa-l-radix\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/herbal-monograph/final-community-herbal-monograph-arctium-lappa-l-radix_en.pdf) Erişim Tarihi 03.03.2021
20. Erdemoglu, N., Turan, N. N., Akkol, E. K., Sener, B., Abacioglu, N. (2009). Estimation of anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of *Arctium minus* (Hill) Bernh. ssp. *minus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 121(2), 318-323. [CrossRef]
21. Fischer, S. P. M., Brusco, I., Camponogara, C., Piana, M., Faccin, H., Gobo, L. A., de Carvalho, L. M., Oliveira, S. M. (2018). *Arctium minus* crude extract presents antinociceptive effect in a mice acute gout attack model. *Inflammopharmacology*, 26(2), 505-519. [CrossRef]
22. Boldizsár, I., Füzfai, Z., Tóth, F., Sedlák, E., Borsodi, L., Molnár-Perl, I. (2010). Mass fragmentation study of the trimethylsilyl derivatives of arctiin, matairesinoside, arctigenin, phylligenin, matairesinol, pinosresinol and methylarctigenin: their gas and liquid chromatographic analysis in plant extracts. *Journal of Chromatography. A*, 1217(10), 1674-1682. [CrossRef]
23. Predes, F. S., Ruiz, A. L. T. G., Carvalho, J. E., Foglio, M. A., Dolder, H. (2011). Antioxidative and in vitro antiproliferative activity of *Arctium lappa* root extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11(1), 25. [CrossRef]
24. Zhou, X., Zhang, H., Ge, L., Gong, H., Tian, S. (2011). Determination of Arctiin and Arctigenin Contents in *Arctium tomentosum* Mill. by HPLC Method. *Journal of Chemistry*, 8, S372-S376. [CrossRef]
25. Eroğlu Köksal, E. (2019). Yüksek Lisans Tezi. *Meme Kanserinde Doğal Biyoaktif Bileşenlerin Antikanser Etkilerinin Karşılaştırmalı Araştırılması*. Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Ankara, Türkiye.
26. Riccardi, C., Nicoletti, I. (2006). Analysis of apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. *Nature Protocols* 1, 1458-1461. [CrossRef]
27. Ge, L., Liu, F., Hu, Y., Zhou, X. (2020). Qualitative and quantitative analysis of arctiin and arctigenin in *Arctium tomentosum* Mill. by high-performance thin-layer chromatography. *JPC - Journal of Planar Chromatography - Modern TLC*, 33, 1-8. [CrossRef]
28. Liu, S., Chen, K., Schliemann, W., Strack, D. (2005). Isolation and identification of arctiin and arctigenin in leaves of burdock (*Arctium lappa* L.) by polyamide column chromatography in combination with HPLC-ESI/MS. *Phytochemical Analysis : PCA*, 16(2), 86-89. [CrossRef]

29. Lee, C.-Y., Hsin, M.-C., Chen, P.-N., Lin, C.-W., Wang, P.-H., Yang, S.-F., Hsiao, Y.-H. (2022). Arctiin Inhibits Cervical Cancer Cell Migration and Invasion through Suppression of S100A4 Expression via PI3K/Akt Pathway. *Pharmaceutics*, 14(2), 365. [\[CrossRef\]](#)
30. Gest, C., Joimel, U., Huang, L., Pritchard, L.-L., Petit, A., Dulong, C., Buquet, C., Hu, C.-Q., Mirshahi, P., Laurent, M., Fauvel-Lafève, F., Cazin, L., Vannier, J.-P., Lu, H., Soria, J., Li, H., Varin, R., Soria, C. (2013). Rac3 induces a molecular pathway triggering breast cancer cell aggressiveness: differences in MDA-MB-231 and MCF-7 breast cancer cell lines. *BMC Cancer*, 13, 63. [\[CrossRef\]](#)
31. Libson, S., Lippman, M. (2014). A review of clinical aspects of breast cancer. *International Review of Psychiatry (Abingdon, England)*, 26(1), 4–15. [\[CrossRef\]](#)
32. Weigelt, B., Peterse, J. L., Van 't Veer, L. J. (2005). Breast cancer metastasis: markers and models. *Nature Reviews. Cancer*, 5(8), 591–602. [\[CrossRef\]](#)
33. LaPorta, E., Welsh, J. (2014). Modeling vitamin D actions in triple negative/basal-like breast cancer. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 144 Pt A, 65–73. [\[CrossRef\]](#)