

Mangostin Türevlerinin Sitotoksik ve Antileişmanyal Aktivitesi ile Pentostam ve Miltefosin ile Kombinasyonun Araştırılması[§]

Investigation of Cytotoxic and Antileishmanial Activity of Mangostin Derivatives in Combination with Pentostam and Miltefosine

Ayşegül Dalmızrak*, Yener Özel**

* Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

** Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

Atıf/Cite as: Dalmızrak A, Özel Y. Mangostin türevlerinin sitotoksik ve antileişmanyal aktivitesi ile pentostam ve miltefosin ile kombinasyonun araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2025;55(2):121-129.

Öz

Amaç: Leişmanyaz, protozoon bir parazit olan *Leishmania*'nın neden olduğu vektör kaynaklı bir enfeksiyon olup her yıl iki milyon yeni vaka ortaya çıkmaktadır. Son yıllarda antileişmanyal ilaçlara dirençli türlerin ortaya çıkması ile yeni antileişmanyal moleküllerin araştırılmasına gereksinim duyulmaktadır. Bu çalışmada, mangostin türevlerinin, leişmanyaz için alternatif bir ilaç adayı olabileme potansiyelinin ve antileişmanyal ilaçlarla kombinasyonunun etkinliğinin araştırılması hedeflenmiştir.

Yöntem: Bu çalışmada kullanılan α - ve γ -mangostinin saf ve analitik formu kullanılmıştır. α/γ -mangostinin sitotoksik aktivitesi L929 fibroblastlara karşı, antileişmanyal aktivitesi ise *Leishmania tropica* suşuna karşı sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanmış ve türevlerin seçicilik indeksi (SI) hesaplanmıştır. Mangostin türevlerinin antileişmanyal ilaçlardan pentostam ve miltefosin ile kombinasyonu ise dama tahtası (Checkerboard) yöntemi ile belirlenmiştir.

Bulgular: α ve γ -mangostinin fibroblastlara karşı sitotoksik aktivitelerinin 24, 48 ve 72. saatlerde, sırasıyla, 10.15–12.77 μ M ve 15.99–25.57 μ M aralığında, antileişmanyal etkinliklerinin ise aynı zaman dilimlerinde sırasıyla, 25.85–38.54 μ g/ml ve 45.51–80.99 μ M arasında değiştiği saptanmıştır. Her iki ksantonun da güçlü antileişmanyal etkinlik ancak düşük seçicilik gösterdiği (SI<1) tespit edilmiştir. Mangostin türevlerinin, pentostam ve miltefosin ile kombinasyon ilişkileri değerlendirildiğinde, α -mangostin ile her iki ilaç arasında 48. saatten sonra sinerjik etkileşimler görüldükçe, γ -mangostin ile 24. saatten itibaren sinerjik etkileşimler gözlenmiştir.

Sonuç: Çalışmamızda antileişmanyal etkinliği yüksek fakat seçicilik indeksi düşük olan ksantonların pentostam ve miltefosin ile kombinasyonlarında sinerjik etkileşimler gösterdiği saptanmıştır. Kombinasyon stratejilerinde sinerjik etkileşimlerin gözlenmesi söz konusu ksantonların önemli antileişmanyal ilaç adayı moleküler olabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: α -mangostin, γ -mangostin, leişmanyaz

ABSTRACT

Objective: Leishmaniasis is a vector-borne infection caused by the protozoan parasite *Leishmania*. In recent years, the emergence of resistant *Leishmania* species to antileishmanial drugs has highlighted the need for new antileishmanial molecules. This study aimed to investigate the potential of mangostin derivatives as an alternative drug candidate for leishmaniasis and the effectiveness of its combination with antileishmanial drugs.

Methods: The pure and analytical forms of α/γ -mangostin used in this study. The cytotoxic activity of α/γ -mangostin was assessed against L929 fibroblasts, and their antileishmanial activity was evaluated against the *Leishmania tropica* strain using the broth microdilution method. The combination of mangostin derivatives with the antileishmanial drugs pentostam and miltefosine was determined using the checkerboard assay.

Results: The cytotoxic activity of α - and γ -mangostin against fibroblasts ranged from 10.15 to 12.77 μ M and 15.99 to 25.57 μ M at 24, 48, and 72 hours, respectively. Their antileishmanial activities during the same time intervals ranged from 25.85 to 38.54 μ g/mL for α -mangostin and from 45.51 to 80.99 μ M for γ -mangostin. Both xanthenes exhibited potent antileishmanial activity but showed low selectivity (SI<1). Evaluation of the combination effects revealed synergistic interactions between α -mangostin and both pentostam and miltefosine after 48 hours. In contrast, synergistic effects were observed for γ -mangostin as early as 24 hours.

Conclusion: Our findings demonstrate that the xanthenes, despite their strong antileishmanial activity, exhibit low selectivity. However, their combination with pentostam and miltefosine resulted in synergistic interactions. These results suggest that the investigated xanthenes could serve as promising candidates for the development of novel antileishmanial drugs.

Keywords: α -mangostin, γ -mangostin, leishmaniasis

Alındığı tarih / Received:
18.10.2024 / 18.October.2024

Kabul tarihi / Accepted:
12.02.2025 / 12.February.2025

Yayın tarihi / Publication date:
20.06.2025 / 20.June.2025

ORCID Kayıtları

A. Dalmızrak 0000-0003-3331-6768
Y. Özel 0000-0001-6618-8251

[§] Bu çalışma 23. Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde (30 Ekim - 3 Kasım 2023, Antalya) sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

✉ yener_ozel@hotmail.com

GİRİŞ

Leyişmanyaz, *Leishmania* cinsi (Trypanosomatidae ailesi) bir protozoon parazitin neden olduğu vektör kaynaklı bir hastalıktır. Eski Dünya’da *Phlebotomus* cinsi ve Yeni Dünya’da *Lutzomyia* cinsi enfekte dışı kum sineklerinin konaktan kan emmesi sırasında bulaşmaktadır⁽¹⁾.

Leyişmanyazın, visseral leyişmanyaz (VL), kutanöz leyişmanyaz (KL) ve mukokutanöz leyişmanyaz (MKL) olmak üzere üç ana klinik formu bulunmaktadır. VL, en ciddi formdur çünkü tedavi edilmediğinde neredeyse her zaman ölümcüldür. KL, en yaygın görülen form olup genellikle deri ülserlerine neden olur. MKL ise sıklıkla ağız, burun ve boğaz gibi mukozal bölgeleri tutmaktadır. KL, en yaygın formdur ve vücudun açıkta kalan kısımlarında deri lezyonları şeklinde görülmektedir. KL vakalarının yaklaşık %95’i Amerika, Akdeniz havzası, Orta Doğu ve Orta Asya’da görülmekle birlikte dünya çapında yılda 600.000 ile 1 milyon yeni vakanın ortaya çıktığı tahmin edilmektedir⁽²⁾. Türkiye’de leyişmanyaz dinamikleri, KL vakalarındaki artış ve KL etkeni olarak *Leishmania major* ve *Leishmania donovani* gibi yeni türlerin ortaya çıkışıyla kendini gösteren kayda değer değişiklikler geçirmektedir. Ülkemizde yılda yaklaşık olarak 2500 *Leishmania tropica* ve *Leishmania infantum* kaynaklı KL vakası bildirilmektedir. Son kanıtlar, iklim değişikliği, kentleşme ve göçün etkisiyle daha önce endemik olmayan bölgelerde bile hastalığın yeniden canlandığını ve tedavileri yarım kalmış göçmenlerin, ülkemize ilaç dirençli suşların taşınması riskini de artırdığını göstermektedir^(3,4).

Leyişmanyaz tedavisinin, klinik formlara, ilaç etkinliğine ve toksisite gibi farklı faktörlere bağlı olup tedaviye verilen yanıtın çok heterojen olduğu bildirilmektedir⁽¹⁾. PAHO (Pan Amerikan Sağlık Örgütü), tedavide kullanılan mevcut ilaçların hepsinin toksik ilaç olduğunu, bu nedenle yeni ve daha etkili tedavi arayışlarının devam ettiğini ve toksisiteyi azaltmak için yeni stratejilerin yoğun biçimde araştırıldığını ifade etmektedir⁽⁵⁾. Kullanılan mevcut ilaçlar çok eski olmakla birlikte toksisite, ciddi yan etkiler, aşırı maliyet, uzun tedavi rejimleri

ve ortaya çıkan ilaç direnci gibi çeşitli sınırlamaları vardır. Pentavalan antimon bileşikler bir çok endemik bölgede genellikle ilk basamak tedavi seçeneği olarak kabul edilmektedir. Miltefosin, pentamidin izetiyonat, amfoterisin B ve paromomisin artık ya antimonlarla kombinasyon halinde ya da birincil tedavi olarak kullanılmaktadır⁽⁶⁾.

Ancak yıllar geçtikçe bu ilaçlara karşı direnç oranları artmaya başlamıştır⁽⁷⁾. Bir çok bitkide bulunan doğal aktif bileşenler genellikle umut verici alternatif ilaç adayı molekül olarak sıkça çalışılmaktadır. Çeşitli çalışmalar, tıbbi bitkilerden elde edilen organik özler/uçucu yağlar ve izole edilmiş doğal bileşiklerin antileyişmanyal etkilerine vurgu yapmaktadır⁽⁸⁾.

Mangostin (*Clusiaceae* bitki ailesi, *Garcinia mangostana* L.) Güneydoğu Asya ülkelerine özgü tropikal bir ağaçtır. Ağacın meyvesinin besin değeri içerdiği lif, vitamin, mineral, flavanoid, folat, tannin, saponin, antosiyanin ve terpenden ötürü oldukça yüksektir. Bununla birlikte, türde bulunan ana fitokimyasallar antibakteriyel, antifungal, antimalaryal, antioksidan, proapoptotik, antiproliferatif, antinosiseptif, antiinflamatuvar, nöroprotektif, hipoglisemik ve antiobezite gibi birçok biyolojik etkiye sahip ksantonlardır. Ksantonların farklı tiplerinin antikanser etkisi ve yara iyileşmesi üzerine etkileri de yoğun olarak araştırılmaktadır⁽⁹⁾. Bu bağlamda, literatürde hem antimikrobiyal etkinliği hem yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilerinin gösterildiği mangostin türevlerinin, özellikle kutanöz lezyonlar ile karakterize KL için alternatif bir ilaç adayı olabilme potansiyelinin ve antileyişmanyal ilaçlarla kombinasyonunun etkinliğinin araştırılması hedeflenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Leishmania Suşu: Bu çalışmada, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası bünyesinde bulunan *Leishmania tropica* (MHOM/AZ/1974/SAF-K27) referans suşu kullanıldı. Parazit bankasından alınan suşlar ITS1 ve hsp70 bölgesine özgü primer ve probler ile genotiplendirildi.

Antileişmanyaller: Çalışmada kullanılan antileişmanyal etken maddelerden pentostam (16037-91-5) ve miltefosin (B2693-072166)'in saf ve analitik formu BOCScience (USA) firmasından sağlandı.

Mangostin Türevleri: Çalışmada kullanılan α -mangostin (29108) ve γ -mangostinin (26675) saf ve analitik formları ticari olarak (Cayman Chemical, ABD) temin edildi.

NNN Besiyerinin Hazırlanması: 1.4 g agar ve 0.6 g NaCl, 90 mL distile suda çözöüröldü ve otoklavda (121°C'de 15 dk) steril edildi. Besiyerine, 50–55°C'ye kadar soğutulduktan sonra 10 mL defibrine tavşan kanı ve 0.2 mL penisilin/streptomisin solüsyonu eklendi. Steril vidalı kapaklı tüplere, hazırlanan besiyerinden 4'er mL dökölerek 10° eğimde besiyerinin katılaşması sağlandı. Besiyerleri kullanılacağı zamana kadar +4°C'de muhafaza edildi.

RPMI-1640 Stok Sıvı Besiyerinin Hazırlanması: Ticari olarak temin edilen RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute 1640 Medium) besiyeri iöerisine %10 FCS (fetal calf serum), %1 penisilin/streptomisin ve %1 gentamisin eklenerek stok sıvı besiyeri hazırlandı ve besiyeri kullanılacağı zamana kadar +4°C'de muhafaza edildi.

Leishmania Suşunun Canlandırılması ve NNN Besiyerine Ekim ve Sıvı Besiyerinde Çoğaltılması: Sıvı azottan çıkarılan suş, 37°C'ye ayarlanmış su banyosunda çözöüröldü ve üremeleri için NNN besiyerine ekildi. NNN besiyerleri 26°C'de inkübasyona kaldırıldı. Üreme görölen besiyerlerinden, antileişmanyal etkinlik ve sinerji çalışmaları için kullanılmak üzere, RPMI-1640 sıvı besiyerine pasaj yapıldı. Promastigot inoküle edilmiş RPMI-1640 sıvı besiyeri bulunan flasklara (hücre költürü kaplarına) 2-3 günde bir taze besiyeri eklenerek, yeterli miktarda promastigot elde edildi. İlaç duyarlılık testlerinde kullanılmak üzere yoğunluğu 10^7 promastigot/mL olacak şekilde parazit süspansiyonu hazırlandı.

Tablo 1. Etken maddelerin stok çözöeltilerinin hazırlanması

Etken Maddeler	Çözöcü	Sulandırıcı	Çalışma Konsantrasyonu
Pentostam	Su	RPMI-1640	12560 µg/mL
Miltefosin	Su	RPMI-1640	1024 µg/mL
Alfa-Mangostin	DMSO	RPMI-1640	1000 µM
Gama-Mangostin	DMSO	RPMI-1640	1000 µM

DMSO: Dimetilsölfoksit.

Mangostin Türevleri ve Antileişmanyallerin Stok Çözöeltilerinin Hazırlanması: Etken maddelerin uygun çözöcü/sulandırıcı çeşidi ve potens değeri belirlendi ve stok konsantrasyonları EUCAST kriterleri doğrultusunda hesaplandı. Hassas terazide tartılan antileişmanyal etken maddeler ve mangostin türevlerinin uygun çözöcülerle, Tablo 1'de belirtilen konsantrasyonlarda stok çözöeltileri hazırlandı. Hazırlanan stok çözöelti 1 mL'lik miktarlarda test edilecekleri zamana kadar -20°C'de saklandı.

Mangostin Türevleri ve Antileişmanyallerin Sitotoksik Aktivitesinin Belirlenmesi: Sıvı azotta muhafaza edilen fibroblastlar, RPMI-1640 ile yıkandıktan sonra %10 FBS (fetal sığır serumu) iöeren RPMI-1640 besiyerine ekilerek 37°C'de %5 CO₂'li etöüde 48 saat inköbe edildi. Hücrelerin sayısı ve canlılığı, tripan mavisi ile boyanarak Thoma lamında belirlendi. 10⁵/mL hücre iöeren 100 µL hücre süspansiyonu, 96 kuyucuklu mikropalakalara dağıtıldı. α ve γ -mangostin süspansiyonunun son konsantrasyonu 500-3.90 µM aralığında, pentostamın 3280–49.06 µg/mL aralığında, miltefosinin ise 512–4 µg/mL aralığında olacak şekilde seri dilüsyonları farklı bir mikropalakada yapıldı ve hücrelerin ekildiği mikropalakalara aktarıldı. Mikropalakalar, 37°C'de %5 CO₂ altında 48 saat inköbe edildi. Hücre canlılığı, MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromid) yöntemi ile belirlendi⁽¹⁰⁾ ve elde edilen absorbans değeri, Thermo marka Varioskan model (ABD) spektrofotometre ile 570 nm'de ölçöldü. Sitotoksik aktiviteyi gösteren IC₅₀ değeri, Graphpad Prism 8.4.2 programı ile belirlendi. Sitotoksik aktivite testleri, farklı günlerde üç kez tekrarlandı⁽¹¹⁾.

In vitro Mikrodilüsyon Yöntemi: Mangostin türevleri ve antileişmanyal ilaçların aktiviteleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile *in vitro* olarak belirlendi. İlaç duyarlılık testlerinde; steril, düz tabanlı 96 kuyucuklu hücre kültür plağındaki 12 sıranın biri pozitif kontrol, biri negatif kontrol, geri kalan kuyucuklar da ikili sıralar halinde etken maddeler için kullanıldı. Her bir kuyucuğa stok RPMI-1640 sıvı besiyerinden (%10 FCS + %1 penisilin/streptomisin + %1 gentamisin) 100 µL dağıtıldı. Mikroplakanın etken maddeler için ayrılmış bölümlerinin ilk kuyucuklarına, etken madde süspansiyonundan 100 µL pipetlenerek seri dilüsyon yapıldı. Seri dilüsyon işlemi tamamlandıktan sonra 10⁷ promastigot/mL yoğunluğundaki parazit süspansiyonundan negatif kontrol hariç tüm kuyucuklara 100 µL eklendi. Mikroplakanın kapağı kapatılarak etrafı parafilm ile kaplandı ve 26°C’de inkübasyona kaldırıldı. İnkübasyonun 24, 48 ve 72. saatlerinde etken maddelerin MPK (minimum parazitisidal konsantrasyon) değerleri invert mikroskopta yapılan inceleme ile belirlendi⁽¹¹⁾.

Mangostin Türevleri ve Antileişmanyallerin IC₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi: Mangostin türevleri ve antileişmanyal ilaçların IC₅₀ değerleri, MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromit) (Sigma) canlılık tespit kiti ile *in vitro* olarak değerlendirildi. MPK değerinin belirlenmesinden sonra, mikrolaklardaki her bir kuyucuktan 100 µL alınarak yeni mikrolaklara aktarıldı ve üzerine MTT reaktifinden eşit hacimde eklendi. Mikrolakalar dört saat aynı koşullarda inkübe edildi. İnkübasyon sonunda mikrolaka kuyucuklarında oluşan formazan kristallerinin çözülmesi için 100 µL DMSO eklendi ve 30 dakika oda ısısında karanlık ortamda bekletildi. Varioskan marka (Thermo Labsystem, Franklin, MA, ABD) okuyucuda okutularak *Leishmania* promastigotlarına karşı absorbans değerleri elde edildi. Absorbans verileri, Graphpad Prism 8.4.2 programı ile analiz edilerek IC₅₀ değerleri hesaplandı⁽¹¹⁾.

Mangostin Türevleri ve Antileişmanyallerin Selektif İndeks (SI) Değerinin Belirlenmesi: SI değeri, aşağıdaki denklem kullanılarak fibroblast hücre (L929) hattına karşı elde edilen IC₅₀ değerinin *Leishmania* promastigotlarına karşı elde edilen IC₅₀ değerine bölünmesi ile hesaplandı:

SI= Fibroblastların IC₅₀ değeri/*Leishmania* promastigotlarının IC₅₀ değeri

SI değerlerinin 1.00’den yüksek olması, test edilen maddenin promastigotlara karşı fibroblastlardan daha yüksek seçicilik sergilediğini göstermektedir⁽¹²⁾.

Sinerjik Etkileşimlerin Belirlenmesi: Mangostin türevleri ve antileişmanyaller arasındaki etkileşim dama tahtası (checkerboard) yöntemi ile belirlendi. Bu amaçla her bir kombinasyon için iki adet 96 kuyucuklu düz tabanlı steril mikrolaka kullanıldı. Birinci mikrolakanın her bir kuyucuğuna RPMI-1640 sıvı besiyerinden 50 µL dağıtıldı. IC₅₀ değerinin üç sulandırım üstünden başlayıp beş sulandırım altına kadar, antileişmanyal ilaçların dikey düzlemde seri dilüsyonları yapıldı. İkinci mikrolakanın sekizinci sütununa kadar tüm kuyucuklarına 70 µL RPMI-1640 besiyeri dağıtıldı. Sekizinci sütundaki kuyucuklara 70 µL mangostin çözeltisi eklenerek, yatay düzlemde sağdan sola doğru seri dilüsyon yapıldı. İkinci mikrolakada yapılan dilüsyonlar, birinci mikrolakaya birebir aynı kuyucuğa olmak üzere 50 µL aktarıldı, her kuyucukta her iki etken maddenin farklı kombinasyonları elde edildi^(13,14).

Logaritmik faza girip yeterli yoğunlukta üreyen *Leishmania* promastigotlarından hazırlanan 10⁷ promastigot/mL yoğunluktaki parazit süspansiyonundan 100 µL, birinci mikrolakanın besiyeri ve sterilite kontrol kuyucukları hariç tüm kuyucuklarına eklendi. Üreme kontrolü (RPMI 1640+promastigot), besiyeri kontrolü (RPMI 1640) ve sterilite kontrolü (RPMI 1640+antileişmanyal/mangostin) için dörder kuyucuk kullanıldı. Mikrolakalar 26°C’de 18–24 saat inkübe edildi.

Antileişmanyaller (AL) ile mangostin türevleri (MAN) arasındaki etkileşim, fraksiyonel inhibitör konsantrasyon indeksi (FİKİ) hesaplanarak belirlendi. Bu hesaplama için aşağıdaki formül kullanıldı.

$$FİKİ = FİK_{Antileişmanyal} + FİK_{MAN}$$

$$FİKİ = (Kombinasyondaki AL MPK) / (AL MPK) + (Kombinasyondaki MAN MPK) / (MAN MPK)$$

Hesaplanan FİKİ değerleri, aşağıdaki sınır değerlere göre yorumlandı.

Etkileşimler;

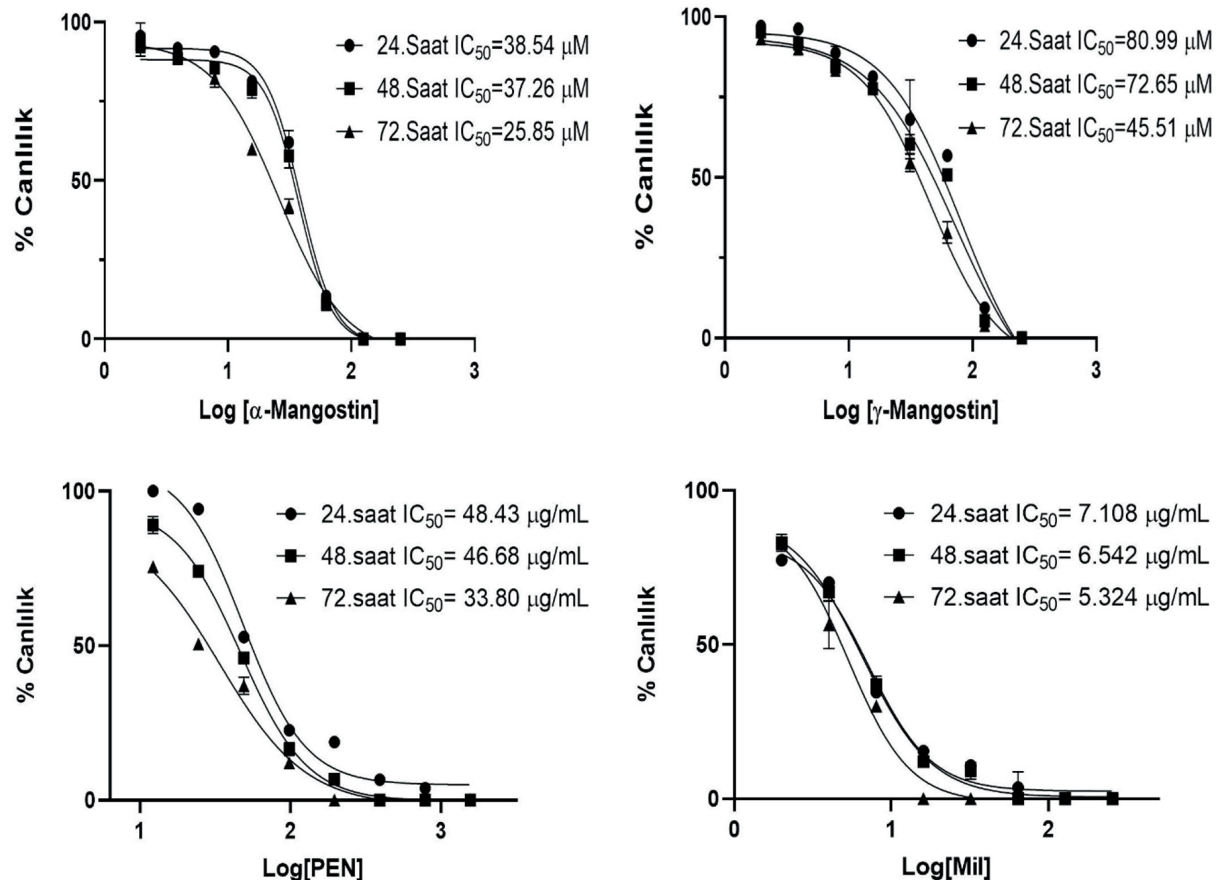
FİKİ ≤ 0.5 sinerji, FİKİ= 0.50-0.75 kısmi sinerji, FİKİ= 0,75-1 Aditif, FİKİ= 1.00-4.00 etkisiz (indifferent), FİKİ= ≥ 4.00 antagonizma olarak değerlendirilmeye alındı⁽¹⁵⁾.

BULGULAR

Mangostin Türevleri ve Antileişmanyallerin *L. tropica* Suşuna Karşı Etkinlik Değerleri

Mangostin türevleri ve antileişmanyallerin MPK değerleri 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sonunda invert mikroskopta belirlenmiştir. Invert mikroskop altında, promastigotların hareketliliğinin durduğu,

morfolojik yapılarının bozulup amastigot şeklini aldığı ya da parçalanarak promastigotların tümünün öldüğü en düşük ilaç konsantrasyonu MPK olarak değerlendirilmiştir. Mangostin türevlerinin MPK değerleri 24., 48. ve 72. saatlerde, α -mangostin için 125 μ M, γ -mangostin için ise 250 μ M olarak saptanmıştır. Antileişmanyal ilaçlardan pentostamin MPK değeri tüm inkübasyon sürelerinde 195 μ g/mL, miltefosinin MPK değeri ise 24. saatte 32 μ g/mL, 48. ve 72. saatte ise 16 μ g/mL olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). Mangostin türevleri ve antileişmanyallerin IC₅₀ değerleri, MTT yöntemi ile elde edilen absorbans değerlerinin Graphpad Prism 8.4.2 programı ile analiz edilmesiyle belirlenmiştir. Mangostin türevlerinin IC₅₀ değerlerinin 24., 48. ve 72. saatlerde α -mangostin için 25.85–38.54 μ M aralığında, γ -mangostin için ise 45.51–80.99 μ M aralığında olduğu saptanmıştır. Antileişmanyallerden pentostamin IC₅₀ değerlerinin aynı inkübasyon sürelerinde 33.8–48.43 μ g/mL aralığında, miltefosinin ise 5.32–7.1 μ g/mL aralığında olduğu belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Etkin maddelerin *L. tropica* suşuna karşı IC₅₀ değerlerini gösteren grafikler (α : alfa, γ : gama, PEN: pentostamin, Mil: miltefosin)

Tablo 2. Mangostin türevleri ile antileişmanyal ilaçların *L. tropica* suşuna karşı IC₅₀ ve MPK değerleri

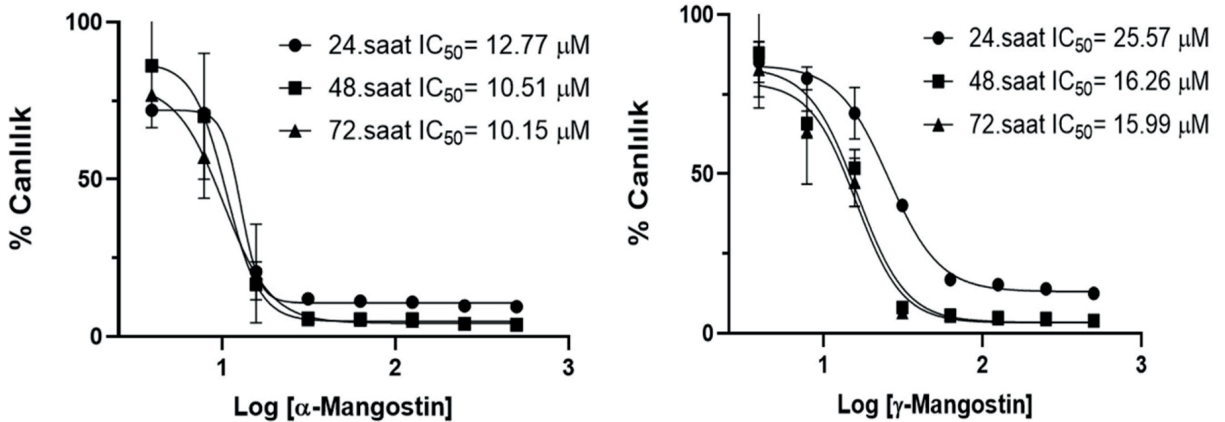
Etken Maddeler	24.saat		48.saat		72.saat	
	IC ₅₀	MPK	IC ₅₀	MPK	IC ₅₀	MPK
Alfa-Mangostin (µM)	38.54	125	37.26	125	25.85	125
Gama-Mangostin (µM)	80.99	250	72.65	250	45.51	250
Pentostam (µg/mL)	48.43	195	46.68	195	33.8	195
Miltefosin (µg/mL)	7.1	32	6.54	16	5.32	16

IC₅₀: % 50 inhibisyon konsantrasyonu; MPK: Minimum parazitisidal konsantrasyon.

Tablo 3. Mangostin türevlerinin sitotoksite ve seçicilik indeks değerleri

Etken Maddeler	24.saat (IC ₅₀)			48.saat (IC ₅₀)			72.saat (IC ₅₀)		
	<i>L. tropica</i>	L929	SI	<i>L. tropica</i>	L929	SI	<i>L. tropica</i>	L929	SI
Alfa-Mangostin (µM)	38.54	12.77	<1	37.26	10.51	<1	25.85	10.15	<1
Gama-Mangostin (µM)	80.99	25.57	<1	72.65	16.26	<1	45.51	15.99	<1

IC₅₀: % 50 inhibisyon konsantrasyonu; L929: Fibroblast hücre hattı; SI: Seçicilik endeksi.

**Şekil 2. Etken maddelerin L929 fibroblastlara karşı IC₅₀ değerlerini gösteren grafikler (α: alfa, γ: gama)**

Mangostin Türevleri ve Antileişmanyallerin Sitotoksik Aktivite Değerleri: α-mangostinin fibroblast hücrelerine karşı sitotoksik etkinliklerinin 24., 48. ve 72. saatlerde, sırasıyla, 12.77 µM, 10.51 µM ve 10.15 µM olduğu saptanmıştır. γ-mangostinin ise aynı inkübasyon sürelerinde sırasıyla 25.57 µM, 16.26 µM ve 15.99 µM olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2). SI değerleri hesaplandığında mangostin türevlerinin güçlü antileişmanyal etkinlik göstermesine rağmen seçiciliğinin düşük olduğu saptanmıştır (SI<1) (Tablo 3).

Mangostin Türevleri ile Antileişmanyal İlaç Kombinasyonlarının Etkileşim Sonuçları: Mangostin türevleri ile antileişmanyallerin etkileşimleri dama tahtası (checkerboard) yöntemi ile araştırılmıştır. α-mangostinin miltefosin ile kombinasyonunda, 24. saatte etkisiz (indifferent) etkileşim, 48. ve 72. saatte kısmi sinerjik etkileşim, pentostam ile kombinasyonunda ise 24. saatte etkisiz etkileşim, 48. saatte kısmi sinerjik etkileşim ve 72. saatte ise sinerjik etkileşim saptanmıştır. γ-mangostinin miltefosin ile kombinasyonunda, tüm inkübasyon sürelerinde kısmi

Tablo 4. Mangostin türevleri ile antileişmanyal ilaçların etkileşim sonuçları

Kombinasyon	24.saat		48.saat		72.saat	
	FİKİ	Yorum	FİKİ	Yorum	FİKİ	Yorum
Alfa-Mangostin-miltefosin	1.062	Etkisiz	0.749	Kısmi sinerji	0.749	Kısmi sinerji
Alfa-Mangostin-pentostam	1	Etkisiz	0.749	Kısmi sinerji	0.312	Sinerji
Gama-Mangostin-miltefosin	0.75	Kısmi sinerji	0.625	Kısmi sinerji	0.562	Kısmi sinerji
Gama-Mangostin-pentostam	0.625	Kısmi sinerji	0.499	Sinerji	0.28	Sinerji

FİKİ: Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu.

sinerjik etkileşim, pentostam ile kombinasyonunda ise 24. saatte kısmi sinerjik etkileşim, 48. ve 72. saatlerde ise sinerjik etkileşim gözlenmiştir (Tablo 4).

TARTIŞMA

Mangosten olarak bilinen *G. mangostana* Linn. Endonezya, Malezya, Sri Lanka, Filipinler ve Tayland gibi Güneydoğu Asya ülkelerinin tropikal yağmur ormanlarında yetiştirilir ve geleneksel tıpta karın ağrısı, ishal, sistit, egzama, dizanteri, yara iltihabı ve kronik ülserlerin tedavisinde kullanılır. *In vitro* ve *in vivo* laboratuvar çalışmaları, *G. mangostana* ekstralarının anti-inflamatuar, sitotoksik, antioksidan, antitümoral, immünomodülatör, nöroprotektif, anti-alerjik, antibakteriyel ve antiviral özellikler dahil olmak üzere çok çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir⁽¹⁶⁾. Al-Massarani ve ark.⁽¹⁷⁾ tarafından yapılan bir çalışmada, α -mangostinin çeşitli bakteri türleri ve *Plasmodium falciparum* (IC₅₀: 2.2 μ M), *Trypanosoma cruzi* (IC₅₀: 8.9 μ M), *Trypanosoma brucei* (IC₅₀: 7.9 μ M), ve *L. infantum* (IC₅₀: 8 μ M), gibi patojen protozoonları içeren geniş bir mikroorganizma yelpazesine karşı etkinliği araştırılmış ancak MRC-5 (Medical Research Council Cell Strain-5) hücrelerine karşı toksik bulunması nedeniyle seçici olmayan bir etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir (SI<1). Çalışmamızda da, antileişmanyal etkinliği ifade eden IC₅₀ değerleri α -mangostin için 25.85–38.54 μ M aralığında, γ -mangostin için ise 45.51–80.99 μ M aralığında olup güçlü antileişmanyal etkinlik saptanmıştır. Ancak L929 fibroblast hücrelerine karşı yaptığımız sitotoksikite analizleri, mangostin türevlerinin yukarıdaki çalışmaya benzer şekilde düşük seçiciliğe sahip olduğunu göstermiştir. Buna rağmen özellikle yüzeysel lezyonların topikal uygulamalarında *G. mangostana* ekstralarının

güçlü antimikrobiyal etkilerine yönelik kanıtlar, geleneksel tedavide kullanımını haklı çıkarabilir^(18,19). Mangostin türevlerinin KL etkeni olan *Leishmania* türlerine karşı etkinliğine yönelik çalışmaların sayısı sınırlıdır. Bunun olası nedenleri arasında mangostin türevlerinin düşük seçicilik göstermesi muhtemeldir. Yakın tarihli bir çalışmada, Pyne ve ark.⁽²⁰⁾, *in silico* yöntemler ile α -mangostinin antileişmanyal etkili olabileceğine yönelik modellemeler yapmış ve bileşiğin antileişmanyal etkinliğini doğrulamak için, *L. donovani* parazitinin farklı formlarına karşı 4.95–7.37 μ M arasında değişen IC₅₀ değerleri ile α -mangostinin parazite özgü inhibitör aktivitesini göstermiştir. Araştırmacılar, alfa-mangostinin mitokondriyal disfonksiyon ile parazitlerde oksidatif ve nitrozatif stres aracılı apoptotik hücre ölümüne neden olarak etkili olduğunu, mangostin uygulaması sonrası *Leishmania* ile enfekte makrofaj hücrelerinde pro-inflamatuar sitokinlerin yaklaşık iki ile üç kat arttığını ve arjinaz enzim aktivitesini inhibe ederek parazitin hayatta kalma şansını azalttığını bildirmişlerdir. Literatür incelendiğinde mangostin türevlerinin antileişmanyal etkinliğine yönelik az sayıda çalışma olmakla birlikte farklı protozoon sınıflarına ait parazitlere karşı da sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Sangkanu ve ark.⁽²¹⁾, farklı bir protozoon parazit olan *Acanthamoeba triangularis*'e karşı, *G. mangostana* perikarp ekstresi ve α -mangostinin potansiyelini ve klorheksidin ile kombinasyonunu araştırmış, ekstre ve α -mangostinin minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) trofozoitlerde sırasıyla 0.25 ve 0.5 mg/mL, kistlerde ise 4 ve 1 mg/mL olarak bildirmiştir. Ayrıca ekstre ve α -mangostinin, klorheksidin ile sinerjik etkileşim gösterdiğini rapor etmiştir. Chaijaroenkul ve ark.⁽²²⁾, tarafından yapılan farklı bir çalışmada, klorokin duyarlı ve dirençli *P. falciparum* izolatlarında perikarp ekstresi ve α -mangostinin, her iki izolata karşı iyi-

orta düzeyde antimalaryal aktiviteye sahip olduğu ve glikoz ile trikarboksilik asit metabolizmalarını hedef aldığı bildirilmiştir. Yine *Plasmodium* üzerine yapılan bir çalışmada, *in vivo* fare modellerinde oral alımın yerine intraperitonel uygulamanın daha etkili olduğu gösterilmiş olup mangostin kabuğunun endüstriyel atıklarının antimalaryal ilaç geliştirmede aktif farmasötik bileşiklerin üretiminde hammadde olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir⁽²³⁾.

Bu çalışmanın en önemli sınırlılığı, mangostin türevlerinin toksik etkilerinin sadece belli bir hücre hattında çalışılmış olup kemirgen modellerinde akut toksisite testlerinin yapılamamış olması ve buna ek olarak *in vitro* yöntemler ile elde ettiğimiz etkinlik sonuçlarının *in vivo* şartlarda gösterilmemiş olmasıdır. Ancak elde ettiğimiz veriler daha ileri çalışmalar için literatüre katkı sağlayacak ön verileri içermektedir.

Çalışmamızda, her iki ksantonun da güçlü antileişmanyal etkinlik ancak düşük seçicilik gösterdiği (SI<1) tespit edilmiştir. Mangostin türevlerinin, pentostam ve miltefosin ile kombinasyon ilişkileri değerlendirildiğinde, α-mangostin ile her iki ilaç arasında 48. saatten sonra sinerjik etkileşimler görülürken, γ-mangostin ile 24. saatten itibaren sinerjik etkileşimler gözlenmiştir. Verilerimiz, mangostin türevlerinin pentostam ve miltefosin ile sinerjisinin gösterildiği ilk çalışma olma niteliğindedir.

Kombinasyon stratejilerinde sinerjik etkileşimin görülmesi test edilen bileşiklerin kendi başına etkili oldukları dozlardan en az dört kat daha düşük dozlarda etkili olmasını sağlamaktadır. Bu açıdan düşük seçicilik gösteren ancak antileişmanyal etkinliği ve yara iyileştirme potansiyeli⁽²⁴⁾ gösterilmiş mangostin türevlerinin kombinasyon uygulamalarında alternatif antileişmanyal etkili bileşikler olarak kullanılma potansiyelinin olabileceği düşünülmektedir.

Yüksek güvenilirlikleri ve çeşitli biyolojik işlevleri nedeniyle, mangostin ve türevlerinin birçok hastalık için umut verici bir terapötik ajanlar olabileceği düşünülmektedir. Doğal kaynaklardan izole edilen bileşiklerin güçlü antileişmanyal etkinlikleri yanında mevcut antileişmanyal ilaçlar ile sinerjik etkileşim

göstermesi, yeni nesil ilaç kombinasyonlarının tasarlanması, yan etkilerin azaltılması ve direnç gelişiminin önlenmesi adına literatürdeki önemli boşlukları doldurabilir ve gelecek çalışmalara yön verebilir.

TEŞEKKÜR

Çalışmada kullanılan parazit suşunun temin edildiği Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'na ve sorumlu Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ahmet Özbilgin'e teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2021/042 ve 2021/043 proje numaraları ile desteklenmiştir.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Funding: This research was founded by Balıkesir University, Scientific Research Projects Coordination Unit (no: 2021/042, 2021/043).

KAYNAKLAR

1. Montaner-Angoiti E, Llobat L. Is leishmaniasis the new emerging zoonosis in the world? Vet Res Commun. 2023;47(4):1777-99. <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10171-5>
2. World Health Organization (WHO). Leishmaniasis. Geneva: WHO, 2023. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis] (Erişim Tarihi: 14.Ekim.2024).
3. Tunalı V, Özbilgin A. Knock, knock, knocking on Europe's door: Threat of leishmaniasis in Europe with a focus on Turkey. Curr Res Parasitol Vector Borne Dis. 2023;15(4):100150. <https://doi.org/10.1016/j.crpvbd.2023.100150>
4. Özbilgin A, Zeyrek FY, Güray MZ, et al. Türkiye'de kutanöz leşmanyazis etkeni *Leishmania tropica*'da antimon direnç mekanizmasının belirlenmesi. Mikrobiyol Bul. 2020;54(3):444-62. <https://doi.org/10.5578/mb.69702>

5. Tuon FF, Dantas LR, de Souza RM, et al. Liposomal drug delivery systems for the treatment of leishmaniasis. *Parasitol Res.* 2022;121(11):3073-82. <https://doi.org/10.1007/s00436-022-07659-5>
6. Corman HN, McNamara CW, Bakowski MA. Drug discovery for cutaneous leishmaniasis: A review of developments in the past 15 years. *Microorganisms.* 2023;11(12):2845. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122845>
7. Uliana SRB, Trinconi CT, Coelho AC. Chemotherapy of leishmaniasis: Present challenges. *Parasitology.* 2018;145:464-80. <https://doi.org/10.1017/S0031182016002523>.
8. Hassan AA, Khalid HE, Abdalla AH, Mukhtar MM, Osman WJ, Efferth T. Antileishmanial activities of medicinal herbs and phytochemicals in vitro and in vivo: An update for the years 2015 to 2021. *Molecules.* 2022;27(21):7579. <https://doi.org/10.3390/molecules27217579>
9. Sultan OS, Kantilal HK, Khoo SP, et al. The potential of α -mangostin from *Garcinia mangostana* as an effective antimicrobial agent - A systematic review and meta-analysis. *Antibiotics.* 2022;11(6):717. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060717>
10. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 1983;65(1-2):55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
11. Özel Y, Çavuş İ, Yılmaz U, et al. Hibrit gümüş nanoparçacık komplekslerinin sitotoksik ve antileişmanyal aktivitesinin araştırılması: *Leishmania* türlerine karşı potansiyel ilaç adayları. *Mikrobiyol Bul.* 2024;58(2):182-95. <https://doi.org/10.5578/mb.202498184>
12. Tronina T, Bartmańska A, Popłoński J, et al. Prenylated flavonoids with selective toxicity against human cancers. *Int J Mol Sci.* 2023;24(8):7408. <https://doi.org/10.3390/ijms24087408>
13. Pillai SK, Moellering RC, Eliopoulos GM. Antimicrobial combinations. In: Lorian V, editor. *Antibiotics in laboratory medicine.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005:365-439.
14. Özel Y, Yılmaz U, Ünlü M, Vardar Ünlü G. Antibacterial activity and synergistic interaction of various essential oil components and antibiotics. *Mikrobiyol Bul.* 2022;56(1):95-102. <https://doi.org/10.5578/mb.20229908>
15. Li YJ, Pan CZ, Zhao ZW, Zhao ZX, Chen HL, Lu WB. Effects of a combination of amlodipine and imipenem on 42 clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* obtained from a teaching hospital in Guangzhou, China. *BMC Infect Dis.* 2013;13:548. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-548>
16. Chin YW, Kinghorn AD. Structural characterization, biological effects, and synthetic studies on xanthenes from mangosteen (*Garcinia mangostana*), a popular botanical dietary supplement. *Min Rev Org Chem.* 2008;5:355-364. <https://doi.org/10.2174/157019308786242223>
17. Al-Massarani SM, El Gamal AA, Al-Musayeib NM, et al. Phytochemical, antimicrobial and antiprotozoal evaluation of *Garcinia mangostana* pericarp and α -mangostin, its major xanthone derivative. *Molecules.* 2013;18(9):10599-608. <https://doi.org/10.3390/molecules180910599>.
18. Priya V, Jainu M, Mohan SK, Saraswathi P, Gopan SC. Antimicrobial activity of pericarp extract of *Garcinia mangostana* Linn. *Int J Pharm Sci Res.* 2010;1(8):278-81.
19. Chomnawang MT, Sakagami SS, Nukoolkarn VS, Gritsanapan W. Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria. *J Ethnopharmacol.* 2005;101(1-3):330-3. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.038>
20. Pyne N, Ray R, Paul S. Computational and experimental approaches manifest the leishmanicidal potential of α -mangostin resourced from *Garcinia cowa*. *Acta Trop.* 2024;257:107291. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2024.107291>
21. Sangkanu S, Mitsuwan W, Mahabusarakam W, et al. Anti-acanthamoeba synergistic effect of chlorhexidine and *Garcinia mangostana* extract or α -mangostin against *Acanthamoeba triangularis* trophozoite and cyst forms. *Sci Rep.* 2021;11(1):8053. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87381-x>
22. Chaijaroenkul W, Mubarak MA, Ward SA, Na-Bangchang K. Metabolite footprinting of *Plasmodium falciparum* following exposure to *Garcinia mangostana* Linn. crude extract. *Exp Parasitol.* 2014;145:80-6. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.07.013>
23. Upegui Y, Robledo SM, Gil Romero JF, et al. In vivo antimalarial activity of α -mangostin and the new xanthone δ -mangostin. *Phytother Res.* 2015;29(8):1195-201. <https://doi.org/10.1002/ptr.5362>
24. Park SY, Lee JH, Ko SY, Kim N, Kim SY, Lee JC. Antimicrobial activity of α -mangostin against *Staphylococcus* species from companion animals in vitro and therapeutic potential of α -mangostin in skin diseases caused by *S. pseudintermedius*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13:1203663. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1203663>