

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTI-OKSİDAN DOĞAL BİLEŞİKLERİN KEMOTERAPİ AJANI PACLİTAXEL İLE
BİRLİKTE NANO MİSELLERE YÜKLENMESİNİN ETKİNLİK VE TOKSİSİTE
PROFİLİ AÇISINDAN İN -VİTRO ORTAMDA GÖZLENEN OLASI DEĞİŞİKLİKLER**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burcu ÖZTENEKECİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Fatemeh BAHADORİ

HAZİRAN 2019

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTI-OKSİDAN DOĞAL BİLEŞİKLERİN KEMOTERAPİ AJANI PACLİTAXEL İLE
BİRLİKTE NANO MİSELLERE YÜKLENMESİNİN ETKİNLİK VE TOKSİSİTE
PROFİLİ AÇISINDAN İN -VİTRO ORTAMDA GÖZLENEN OLASI DEĞİŞİKLİKLER**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Burcu ÖZTENEKECİ
(140305110)**

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Fatemeh BAHADORİ

HAZİRAN 2019

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 140305110 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Burcu ÖZTENEKECİ, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “ANTİ-OKSİDAN DOĞAL BİLEŞİKLERİN KEMOTERAPİ AJANI PACLİTAXEL İLE BİRLİKTE NANO MİSELLERE YÜKLENMESİNİN ETKİNLİK VE TOKSİSİTE PROFİLİ AÇISINDAN İN -VİTRO ORTAMDA GÖZLENEN OLASI DEĞİŞİKLİKLER” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı: **Dr. Öğretim Üyesi Fatemeh BAHADORI**.....
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Doç. Dr. Fahri AKBAS**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Dr. Öğretim Üyesi Tuba KUŞMAN
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Savunma Tarihi : 27 Haziran 2019



Aileme,

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans dönemimde her ihtiyaç duyduğumda yanımda olan ümitsizliğe düştüğümde beni ayağa kaldıran, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bilgileri ve tecrübesiyle yoluma ışık tutan Tez danışmanım ve saygıdeğer hocam Dr. Öğretim Üyesi Fatemeh BAHADORİ'ye,

Labaratuvar çalışmalarım sırasında tecrübesi, fedakarlığı, sonsuz yardımları ile yükümü hafifleten Doktorant Fatma KAZDAL'a

Laboratuvar cihaz ve malzemelerini kullanmama izin veren Prof. Dr. Abdurrahim KOÇYİĞİT'e

Her daim yanımda olan destek ve moral veren sevgili dostlarım Bezmialem Üniversitesi Eczacılık Fakültesi asistanlarına,

Sahip olunabilecek en önemli özelliğin iyi kalpli bir insan olmak olduğunu bana öğreten, beni herşeyden önce saygılı ve dürüst olarak yetiştirmeye çabalayan, hedeflerime ulaşmam için maddi manevi hiçbir desteklerini benden esirgemeyen dünyadaki en kıymetli varlıklarım Anneme ve Babama,

Teşekkürü bir borç bilirim.

Haziran 2019

Burcu ÖZTENEKECİ
(Biyolog)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Burcu ÖZTENEKECİ

İmza

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iiiv
BEYAN.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xi
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Nano İlaç Taşıma Sistemleri	3
2.1.1 Nano ve mikro sistemler	3
2.1.2 İlaç taşınmasında-dağıtımında nanoteknoloji	4
2.1.3 Nanoteknoloji devrimi öncesi ve sonrası ilaç taşıma-dağıtım sistemleri ...	4
2.1.4 İlaç taşınmasından nanoteknolojinin kullanımı	6
2.1.5 Nanoteknolojinin ilaç endüstrisi tarafından kabul edilmesi.....	6
2.1.6 İlaç taşınma ve dağıtımında olgun nanoteknoloji	7
2.2 Hedefe Yönelik Kanser Tedavisi (Targeted Cancer Therapy).....	8
2.3 Prooksidanlar ve Antioksidanlar	8
2.3.1 Giriş.....	8
2.3.2 Prooksidanlar	9
2.3.3 Stres ve sağlık	10
2.3.4 Oksidatifstres	11
2.3.5 Oksidatif stres ve hastalıklar	11
2.3.6 Oksidatif stres ve çeşitli malignitelerde varlığı ve seviyelerindeki artışı .	13
2.3.7 Antioksidanlar	14
2.4 Paklitaksel (Paclitaxel, PTX)	20
2.4.1 Etki mekanizması	21
2.4.2 Çeşitli kanser türlerinin inhibe edilmesinde paklitakselin rolü.....	21
2.5 Kuersetin (Quercetin).....	27
2.6 Rosmarinik Asit (Rosmarinic Acid).....	30
2.7 Kürkümün	34
2.7.1 Kürkümün yapısal ve kimyasal özellikleri.....	34
2.7.2 Kürküminin tayini	35
2.7.3 Kürküminin in-vivo metabolizma mekanizması.....	36
2.7.4 Kürküminin endikasyonları.....	36

2.7.5 Antikanser olarak kullanım	37
2.7.5.1 Kanser tedavisinde Kürkümün'nin moleküler hedefleri	38
2.8 Nanoteknolojiye Giriş	43
2.9 Nano İlaç Taşıyıcı Sistemler	43
2.9.1 Lipozomlar	45
2.9.2 Miseller	46
2.9.3 Nanoemülsiyonlar	46
2.9.4 Dendrimerler	47
2.9.5 Nanojeller	47
2.9.6 Karbon nanotüpler	47
3. GEREÇ VE YÖNTEM	48
3.1 Gereç	48
3.1.1 Cihazlar	48
3.1.2 Kimyasallar	48
3.1.3 Hücre soyu	49
3.2 Yöntem	49
3.2.1 Partikül oluşturma	49
3.2.2 Tween 80 hazırlanması	50
3.2.3 Stabilite çalışmaları	50
3.2.4 DLS ölçüm yöntemi	50
3.2.5 Hücre proliferasyonunun Sülforodamin B boyaması ile incelenmesi	501
4. BULGULAR	52
5. SONUÇ	63
KAYNAKLAR	64
ÖZGEÇMİŞ	71

KISALTMALAR

FDA	: ABD Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration)
İTS	: İlaç taşıma-dağıtım sistemi
MDA	: Malondialdehit
NIH	: ABD Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institute of Health)
NT	: Nanoteknoloji
PL	: Piperlongumin (piperlongumine)
PTX	: Paclitaxel
RA	: Rosmarinik asit (rosmarinic acid)
RNS	: Reaktif nitrojen ürünleri (reactive of nitrogen species,)
ROS	: Reaktif (serbest) oksijen radikalleri ürünleri (free /reactive oxygen species)

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1: İlaç taşıma ve dağıtma sistemlerinin nanoteknoloji(NT) devrimi ile ilişkili olarak sınıflandırılması ve örnekleri [1].	6
Tablo 2.2: Oksidatif stresin endojen mediatörleri [9].	16
Tablo 2.3: Prooksidanların farklı sınıfları ve oksidatif stres gelişimi için ortak mekanizmaları [9].	17
Tablo 2.4: Oksidatif stres ile pozitif korelasyon gösteren ölümcül hastalıklar.	18
Tablo 2.5: Paksitaksin de dahil olduğu Taksanez (Taxanes) grubu kanser kemoterapiklerin insan kanser tiplerinde etkilerinin gösterilmesi.	24
Tablo 3.1: Tezde Kullanılan Cihazlar	48
Tablo 3.2: Tez çalışmasında kullanılan katı ve sıvı kimyasal maddeler	49

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	: Prooksidanların genel sınıflandırılması[9].	19
Şekil 2.2	: Oksidatif stres ve hastalık gelişimi [9].	20
Şekil 2.3	: Monroe Eliot Wall (sağda) ve Mansukh C. Wani (solda) birlikte görülmektedir	25
Şekil 2.4	: Monroe Taxus brevifolia (kuzeybatı Pasifik Porsukağacı) kabuğu bütün halde ve üzerinde paklitaksel ve ilgili kimyasalları [50].	25
Şekil 2.5	: Paklitaksel sağlamak için kabuklar soyulması ve işlenmesi [50].	26
Şekil 2.6	: A. Paklitaksel (Taxol®) kimyasal yapısı ve B. 3D modellemesi [50].	26
Şekil 2.7	: α , β tubulin subünitleri kompleksi ve paklitaksel. Paklitaksel sarı çubuklar olarak işaretlenmiştir [50].	27
Şekil 2.8	: Kuersetin, kuersetin glikozit, kuersetin glukuronid, kuersetin sülfat ve metile edilmiş kuersetinin moleküler yapısı [52].	30
Şekil 2.9	: Rosmarinik asidin kimyasal yapısı [61].	32
Şekil 2.10	: Rosmarinik asidin biyosentezi [61].	33
Şekil 2.11	: Rosmarinik asidin anti-kanser moleküler mekanizmaları.	33
Şekil 2.12	: Curcuminoid analoglarının kimyasal yapıları.	35
Şekil 2.13	: Kürkümünin in-vivo metabolizasyonu [68].	36
Şekil 2.14	: Kürkümün Endikasyon Alanları [70].	37
Şekil 2.15	: Molecular targets of curcumin for cancer therapy	39
Şekil 2.16	: Kürkümün NF- κ B'ye karşı inflamasyon ve proliferasyonun önlenmesinde etkindir [72].	41
Şekil 2.17	: Nano İlaç Taşıyıcı Sistemler [79,80].	45
Şekil 3.1	:Partikül oluşturma.	50
Şekil 4.1	:PLGA – 5mg Quercetin formülasyonu	52
Şekil 4.2	:PLGA – 2 mg Rosmarinic Acid formülasyonu	53
Şekil 4.3	:PLGA – 5 mg Rosmarinic Acid formülasyonu	54
Şekil 4.4	:PLGA – 7.5 mg Rosmarinic Acid formülasyonu	55
Şekil 4.5	:PLGA – 5mg Rosmarinic Acid Formülasyonu MCF7 hücrelerine uygulamadan önce.	56
Şekil 4.6	:PLGA - 5 mg Rosmarinic Acid Formülasyonu MCF7 hücrelerine uygulanmadan, 2. tekrar.	577
Şekil 4.7	:PLGA – 2 mg Curcumin Formülasyonu	58
Şekil 4.8	:PLGA – 5 mg Rosmarinic Acid Formülasyonu, oda sıcaklığında 3.gün	59
Şekil 4.9	:Nano-Quercetin'in Paclitaxel ile birlikte MCF/ hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi.	60
Şekil 4.10	:Nano-Rosmarinic Acid'in Paclitaxel ile birlikte MCF/ hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi.	61
Şekil 4.11	:Nano-Curcumin'in Paclitaxel ile birlikte MCF/ hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi.	62

ANTI-OKSİDAN DOĞAL BİLEŞİKLERİN KEMOTERAPİ AJANI PACLİTAXEL İLE BİRLİKTE NANO MİSELLERE YÜKLENMESİNİN ETKİNLİK VE TOKSİSİTE PROFİLİ AÇISINDAN İN -VİTRO ORTAMDA GÖZLENEN OLASI DEĞİŞİKLİKLER

ÖZET

Kemoterapi tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlar sadece kanser tümöründe etki etmek ile kalmayıp, sağlıklı bölgelerde de toksik etkilerin oluşmasına sebep olabiliyorlar. Bu maddeler yan etkilerini zaman zaman oksidasyon ile göstermektedirler. Bu noktadan hareketle bazen kanser tedavisinde kemoterapi sırasında hastalara antioksidan doğal ürün tüketmeleri tavsiye edilmektedir. Ancak bu antioksidan maddelerin kanser tümör bölgesinde kemoterapi ajanının yarattığı oksidasyon etkisini azaltabilir ve kemoterapi ajanının tam olarak etki göstermesine engel olabilir. Bu konu aydınlığa kavuşturulmalıdır. Bu noktadan hareketle antioksidan etkisi olan curcumin, quercetin ve rosmarinik asit bileşiklerin kemoterapi ajanı paclitaxel ile birlikte kanser hücrelerine uygulanıp bu ajanın etkisini hangi yönde değiştirdiği araştırılmıştır. Bunun için adı geçen doğal antioksidanlar bileşikler nano-taşıyıcılara yüklenip paclitaxel ile birlikte meme kanseri hücreleri üzerinde ne yönde etki gösterdiği araştırılmıştır. Doğal antioksidanların nano-taşıyıcıya yüklenme sebebi ise bu maddelerin düşük sudaki çözünürlüğünün giderilerek yüksek oranda hücrelere uygulanabilmesidir. Bunun için polylactidecoglycolide (PLGA) nano-miselleri kullanılmıştır. Paclitaxel'in ise suda çözünür ticari formu hücrelere uygulanmıştır. Her antioksidan maddenin nano-formülasyonu ayrı ayrı o/w yöntemi kullanarak hazırlanmıştır. Bunun için antioksidan ile PLGA birlikte aseton içinde çözülmüş ve yüzey aktif madde içeren suya yavaşça damlatılmıştır. Organik çözücü gece boyunca karıştırılarak oda sıcaklığında uzaklaştırılmıştır. Elde edilen nano formülasyonların boyutları DynamicLightScattering (DLS) yöntemi ile tayin edilmiştir. Anti oksidanlar artan konsantrasyonlarla nano-taşıyıcıya yüklenmiştir ve agregat gözlenmeyen en yüksek konsantrasyon yani tüm bileşiğin miselin içine yüklendiği formülasyon optimize formülasyon olarak kabul edilmiştir. Paclitaxel'in IC₅₀ değerine eşit miktarda konsantrasyonu nano-anti oksidanların çeşitli konsantrasyonları ile birlikte MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine uygulanmış ve hücre canlılığındaki değişimler gözlenmiştir. Hücre canlılığı SulforhodamineB testi ile ölçülmüştür. Ayrıca nano-anti oksidan paclitaxel ile birlikte, paclitaxel'den 1 saat önce ve paclitaxel'den 1 saat sonra hücrelere uygulanmış ve böylece uygulama zamanının sonuçlarda ne gibi değişiklik yaratabileceği de incelenmiştir. Sonuç olarak kürkürmin'in Paclitaxel'in anti-tumor etkisini büyük oranda azalttığı gözlenmiştir. Quercetin ise doza bağlı bir şekilde paclitaxel'in anti-tumor etkisini azaltmıştır. Rosmarinik asitin ise belirgin bir etkisi tespit edilmemiştir. Uygulama zamanının ise bu etkilerin değişimi üzerinde bir fonksiyonu olmadığı gözlenmiştir. Nihai olarak anti oksidanın biyo-yararlanımı ve kandaki konsantrasyonu bilinmediği müddetçe tümör bölgesinde hangi oranda bulunacağı da meçhul kalacaktır denebilir. Bu da

doğal anti oksidanın kemoterapinin etkisini tümör bölgesinde hangi yönde etkileyeceğinin bilinmemesine sebep olacaktır. Buradan yola çıkarak, anti oksidanların kemoterapi ajanının etkisi ve nihai olarak kanser tümörünün büyümesi üzerindeki olumsuz etkisi tam anlaşılmadan kanser tedavisi süresince kullanılmaması gerektiği kanısına açıkça varılabilir.



IN-VITRO INVESTIGATION OF EFFICACY AND TOXICITY OF PACLITAXEL UPON ITS CI-INCORPORATION WITH NATURAL ANTI- OXIDANTS TO NANO-MICELLES

SUMMARY

Chemotherapeutic agents used in chemotherapy treatment not only affect cancer tumors, but also can cause toxic effects in healthy areas. These substances show side effects from time to time due to their oxidation effect. From this point of view, it is sometimes recommended that patients consume antioxidant natural products during chemotherapy in cancer treatment. However, these antioxidant substances may reduce the oxidation effect of the chemotherapy agent at the cancer tumor site and prevent the chemotherapy agent from acting fully. This issue should be clarified. From this point, the antioxidant effect of curcumin, quercetin and rosmarinic acid compounds were applied to cancer cells together with chemotherapy agent paclitaxel and the effect of this agent was investigated. For this purpose, the natural antioxidants compounds were loaded into nano-carriers and the effect of paclitaxel on breast cancer cells was investigated. The reason for the loading of natural antioxidants in the nano-carrier is that these substances can be applied to the cells at a high rate by removing their low solubility property in water. To this end, poly lactide co-glycolide (PLGA) nano-micelles were used. The water-soluble commercial form of Paclitaxel was applied to the cells. The nano-formulation of each antioxidant was prepared separately using the o/w method. Briefly, the antioxidant and PLGA were dissolved together in acetone and slowly dropped into water containing the surfactant. The organic solvent was removed at room temperature by stirring overnight. The size of the nanofomulations obtained were determined by Dynamic Light Scattering (DLS) method. The antioxidants were loaded into the nao-carrier with increasing concentrations, and the highest concentration with no aggregate, ie the formulation in which the entire compound was loaded into the micelle, was considered as the optimized formulation. The concentration of paclitaxel equal to the IC_{50} value was applied to MCF-7 human breast cancer cells with various concentrations of nano-antioxidants and changes in cell viability were observed. Cell viability was measured by Sulforhodamine B assay. In addition, nano-anti-oxidant was applied to the cells together with paclitaxel, 1 hour before paclitaxel and 1 hour after paclitaxel, and the effect of time of administration on the results was investigated. In conclusion, it was observed that curcumin significantly reduced the anti-tumor effect of Paclitaxel. Quercetin reduced the anti-tumor effect of paclitaxel in a dose-dependent manner. There was no significant effect of rosmarinic acid. It was observed that the application time had no function on the change of these effects. Ultimately, the bioavailability of antioxidant and its concentration in the blood will remain unknown unless the concentration of the antioxidant in the blood circulation is known. This will cause the unknown direction of the natural antioxidant on affecting the effect of chemotherapy on the tumor site. From this it can be clearly concluded that antioxidants should not be used during cancer treatment unless the

effect of the anti-oxidant on the chemotherapy agent and ultimately its negative impact on the growth of the cancer tumor is fully understood



1. GİRİŞ

Kanser tedavisinde geleneksel olarak uygulanan kemoterapilerde etkin maddelerin kan dolaşımı sırasında tüm vücuda dağılması ve toksik etki oluşturması, tümör bölgesine yeterli dozda ulaşamaması ve etkinliğinin azalması gibi dezavantajlar mevcuttur. Daha az dozda daha etkin bir sonuç elde etmek için “Hedefli Kanser Tedavisi” başlığı altında toplanan ve birçok yöntemden oluşan tedaviler günümüzde sayısız çalışmanın odağı haline gelmiştir.

Antioksidanlar kemoterapi ajanlarıyla birlikte kanser hastalarına verildiğinde kemoterapi ilaçlarının yan etkilerini azaltarak hastanın kesintisiz tedavi programlarıyla tam doz antiinoplastikleri tolere edebilme yeteneğini artırır. Bu, kemoterapi esnasında antioksidan kullanımının en büyük sebebidir.

Antioksidanların kanser tedavisinin yanı sıra kullanımının sadece avantaj değil bazı dezavantajları da mevcuttur. Kanser hastalığı sırasında vücutta reaktif oksijen türleri (ROS) büyük artış gösterir. Ancak kanser hücrelerinin bu artışa karşı direnç mekanizması vardır. Kemoterapi ajanları kendi özgün etki mekanizmalarının yanı sıra ayrıca ROS miktarını da artırır ve bu artış artık kanser hücrelerinin direnç gösteremeyeceği kadar yüksektir. Dolayısıyla antineoplastik ilaçlar sadece tübülüne bağlanmak, DNA hasarı vermek ve bunun gibi etkilerle değil, ROS artışı ile de kanser hücrelerini öldürürler. İşte bu esnada kanser hastasının vücudunda antioksidanlar bulunduğu takdirde antineoplastik ilacın yükselttiği ROS seviyesinin düşmesine ve kanser hücrelerinin ilaca karşı direnç kazanmasına sebebiyet verirler.

Bu çalışmanın amacı hedefli kanser tedavisine yönelik geliştirilen nano-paclitaxel ile birlikte antioksidan etkileri bilinen doğal ürünleri kullanarak öncelikle paclitaxelin kanser hücresi üzerindeki etkisini hangi yönde değiştiğini incelemek, ikincil olarak ise, sağlıklı hücrelerde bu kombinasyonun ROS oranını nedenli düşürdüğünü belirlemektir.

Bunun için MCF-7 meme kanseri hücrelerine nano-paclitaxel, nano-quercetin veya nano-curcumin veya nano-rosmarinik asit ile birlikte uygulanacaktır. Paclitaxelin

dozu teröpatik dozda sabit tutulurken doğal anti oksidanların dozu üç farklı aralıkta uygulanacaktır. Paclitaxelin etkinliğinin ne denli değiştiği WST-1 canlılık testi ile tespit edilecektir. Bunu takiben her durumdaki ROS değişimi H₂DCF-DA probu kullanarak ölçülecektir.

Sonuç olarak doğal antioksidanların kemoterapi sırasında ki kullanımının avantajları ve dezavantajları karşılaştırılacaktır.



2. GENEL BİLGİLER

1.1 Nano İlaç Taşıma Sistemleri

2.1.1 Nano ve mikro sistemler

Bilimsel gelişmelere bağlı olarak her zaman, gelişmekte olan bir bilimsel düşünceyi veya yeni keşfedilen ürün veya çıktıları temsil eden yeni terimler ortaya çıkmaktadır. Biyoteknoloji, genetik mühendisliği, doku mühendisliği, gen terapisi, kombinatoryal kimya, yüksek çıktı/verim taraması ve kök hücreler geçmiş terimlerin bazı örnekleridir. Son zamanlarda, nanoteknoloji (NT) mevcut bilim ve teknolojinin ana çabalarını temsil eden popüler bir terim haline gelmiştir. NT, hala tam olgunlaşmış bir teknolojidir ve ayrıca sağlık yönü de dahil olmak üzere bilimsel altyapısı daha ağırlıklıdır. Bu nedenle, daha uygun bir terminoloji olarak nanobilim (nanoscience) teriminin kullanılması daha doğru olacaktır. NT genellikle 100 nm veya daha az ölçekte araştırmalar için kullanılan bir terimdir. NT, sadece belirli bir alanı değil, temel malzeme biliminden, kişisel bakım uygulamalarına, savunma sanayisinden sağlık sektörüne kadar çok çeşitli disiplinleri temsil ettiği için benzersizdir. Bu açıdan da NT tek bir bilim dalı veya disiplin altında toplanmamalıdır. NT'nin önemli alanlarından biri, "nanotıp (nanomedicine)" dir. ABD Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institute of Health, NIH) Nanotıp Yol Haritası Girişimi (Nanomedicine Roadmap Initiative) hastalıkların teşhisi, önlenmesi ve tedavisi için moleküler ölçekte oldukça spesifik tıbbi müdahaleyi ifade eden nanotıp uygulamalarını aktif ve küresel ölçekte uygulamakta ve bu alanda liderlik yapmaktadır [1].

Nanotıp, kendisinden önce gelen diğer teknolojiler gibi, akıllı nanocihazların öncüllerinin desteği ile teşhis ve tedavide devrim için inanılmaz bir potansiyele sahiptir. İlaç taşıma ve dağıtım nanosistemleri (İTS), nanotıpın önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Bununla birlikte, ilaçların taşınma ve dağıtımında, NTyi bir boyut sınırına göre tanımlamak doğru olmayabilir, çünkü İTS'lerin etkinliği ve kullanılabilirliği yalnızca boyutlarına dayanmamaktadır. Kullanışlı İTS'ler, gerçek

nanosistemlerden (örneğin, ilaç-polimer konjugatları ve polimer miselleri) 100mikron aralığındaki mikropartiküllere kadar değişir. Hem nano hem de mikro ölçekli sistemler, çeşitli klinik olarak yararlı ilaç taşıma-dağıtım sistemlerinin geliştirilmesinde son derece önemli olmuştur. Pratik nedenlerden dolayı, bu açıdan NT; mikroteknoloji ve nanoüretim ve mikro düzeydeki karşılıklarını içerir [1].

2.1.2 İlaç taşınmasında-dağıtımında nanoteknoloji

Nanoteknoloji, kullanıldığı her alanda tam anlamıyla devrim yapan, kullanıldığı teknoloji ve alanda iş ve zaman yükünü hafifleten, gelecekte yapabilecekleri ile ilgili tezler, hipotezler ve hayaller ve güç potansiyeli nedeniyle, daha önce hiç görülmemiş bir coşkuyla çok dikkat çekti. İlaç dağıtımında, NT sadece bir etki yaratmaya başlıyor. Bununla birlikte, mevcut “nano” İTS’lerin çoğu, lipozomlar, polimerik miseller, nanopartiküller, dendrimerler ve nanokristaller gibi nanometre aralığında bulunan geleneksel ilaç dağıtım sistemlerinin kalıntılarıdır. Lipozomlar ve polimer miselleri ilk olarak 1960’lı yıllarda, nanopartiküller ve dendrimerler ise 1970’li yıllarda hazırlandı. Nanometre boyutlarda koloidal altın parçacıkları ilk kez Michael Faraday tarafından 150 yıldan daha önce hazırlanmış, ama yakın zamana kadar nanoparçacıklar veya NT ile atıf veya ilişki kurulamamıştır. Yaklaşık otuz yıl önce, koloidal altın parçacıkları immünogold boyama olarak bilinen ve hedefe spesifik boyama antikör ile konjuge edildi [2]. Böyle bir uygulama, NT’de altın parçacıklarının son patlayıcı uygulamalarının öncüsü olarak düşünülebilir. NT’nin ilaç taşınmasındaki önemi, programlanmış fonksiyonlara sahip cihazlar üretmek için molekülleri ve supramoleküler yapıları idare (manipulate) etme kavramında ve yeteneğindedir. Geleneksel lipozomlar, polimerik miseller ve nanopartiküller “nanotaşıyıcılar” olarak adlandırılır ve bu açıcası sadece boyut ölçeğinde doğrudur. Bu geleneksel İTS’ler, mevcut NT devriminden bağımsız olarak güncel geçerliliğine sahiptir. İlaçların taşınmasında ve hedef organa gönderilmesinde NT’nin gerçek anlamını takdir etmek için, İTS’leri NT devriminden önce ve sonra zaman dilimine göre sınıflandırmak yararlı olabilir [1].

2.1.3 Nanoteknoloji devrimi öncesi ve sonrası ilaç taşıma-dağıtım sistemleri

Tablo 2.1’de gösterildiği gibi, mevcut NT devrimine ilişkin ilaç taşıma teknolojileri üç kategoriye ayrılabilir: NT devriminden önce (geçmiş); mevcut geçiş dönemi (şimdiki); ve olgun NT (gelecek).

Mevcut NT devriminden önceki yani geçmişte İTS örnekleri yukarıda belirtildiği gibi lipozomlar, polimerik tanecikler, nanopartiküller, dendrimerler, mikropartiküller ve nanokristallerdir.

Günümüz İTS'leri, mikroçipler, mikroigne tabanlı transdermal taşıma sistemleri, katmanlı montajlı sistemler ve mürekkep püskürtmeli teknoloji ile üretilen çeşitli mikropartikülleri içerir.

Bu çabalar birçok yeni üretim yöntemi geliştirildi. NT söz konusu olduğunda, İTS'lerin geleceği, nano/mikro İTS'lerin seri üretimini yapabilen nano/mikro üretim süreçlerini geliştirmektir. Nano/mikro ölçekte mühendislik malzemelerinin üretiminin mevcut teknolojisi, yarı iletkenler dışında, ürünler üretmek için nano/mikro ölçekli süreçler geliştirmek için yeterince gelişmiştir [1,3].

NT'nin klinik olarak yararlı İTS'leri gerçekçi bir şekilde getirip getirmeyeceğini sorgulamak gerçekçi, adil ve önemli bir sorudur. Bu sorunun cevabı doğal olarak "evet"tir. Ancak buradaki gerçek sorulması gereken soru bunun "ne zaman" olacağıdır. Teorik olarak, nanocihaz üreten bilim adamları, klinik olarak yararlı nano/mikro ilaç formülasyonları üretmek için İTS'lerde yoğun olarak çalışanlarla iş birliği yapabileceğinden, bu süreç zaten gerçekleşmiş olmalıydı. Ancak, henüz olmadı. Bunun önemli nedenlerinden biri, bilim adamlarının mikro ölçekli İTS'leri geçmesine neden olan nano skalasındaki takıntılarınıdır. Klinik olarak yararlı İTS'ler, tedavi edici olarak etkili olabilecek ve genellikle uzun bir süre boyunca belirli bir miktarda ilaç taşımalı ve dağıtılmalıdır. Bu gereksinimler NT tarafından üretilen mikro ölçekli İTS'ler tarafından karşılanabilir. Buna ek olarak, sistemlerin insan vücuduna tanıtılması ve ABD Gıda ve İlaç İdaresinden (Food and Drug Administration, FDA) onay alınması gerektiği gerçeğine de dikkat edilmesi gerekir [1].

Tablo 2.1 : İlaç taşıma ve dağıtma sistemlerinin nanoteknoloji (NT) devrimi ile ilişkili olarak sınıflandırılması ve örnekleri [1].

Dönem	NT'den önce (Geçmiş Dönem)	Geçiş Dönemi (Günümüz)	Olgun NT (Gelecek Dönem)
Teknoloji	Nano/mikro partiküllerin emülsiyon bazlı hazırlanması	Nano/mikro üretim	Nano/mikro son uç üretimi
Örnekler	Lipozomlar Polimerik Miseller Nanopartiküller Dendrimerler Mikropartiküller Nanokristaller	Mikroçip sistemleri Mikroiğneli transdermal taşıma sistemleri Katmanlı montajlı sistemler Mürekkep püskürtmeli teknoloji ile üretilen çeşitli mikropartiküller	Ölçek büyütme üretimi için nano/mikro makineler

2.1.4 İlaç taşınmasından nanoteknolojinin kullanımı

Nano/mikro parçacıkların (veya kapsüllerin) üretimi, NT'nin nano/mikro ölçekli İTS'ler üretmek için neler yapabileceğini tanımlamaya bir örnek olarak sunulabilir. Nano/mikro parçacıkların hazırlanmasında halihazırda mevcut yöntemler esas olarak kullanılmaktadır ve bu metot çift emülsiyon yöntemleri veya solvent değişim tekniğine dayanmaktadır [4]. Düşük ilaç yükleme kapasitesi, düşük yükleme verimliliği ve boyut dağılımını kontrol etme yeteneğinin zayıflığı gibi olumsuz örnekler de mevcut yöntemlerle ilgili olarak temel sorunlardır. Nano örnekleme (nanopatterning) gibi NTleri kullanmak, yüksek yükleme verimliliği ve yüksek homojen parçacık boyutlarına sahip nano/mikropartiküllerin üretimine izin verebilir [1].

2.1.5 Nanoteknolojinin ilaç endüstrisi tarafından kabul edilmesi

NIH Nanotıp Yol Haritası girişiminin temalarından biri de temel bilimlerdeki keşiflerin klinik çalışmalara yansıtılması ve uygulanmasını kolaylaştıran translasyonel araştırma yoluyla klinik araştırma girişiminin yeniden yapılandırılması olmuştur. Nano İTS'lerin esas uygulama amacı, hastalıkların tedavisi için klinik

olarak faydalı olacak formülasyonlar geliştirmek olmuştur. ABD’de klinik uygulamalar için FDA'dan onay gerekmektedir. İlaç endüstrisi, genellikle güvenli olarak görülmeyen bileşenleri (ara-yardımcı maddeler (excipients) olarak da adlandırılır) içeriyorsa, yeni İTS’leri kullanmakta dikkatli ve ağır davranmışlardır. Yeni bir kimyasal ajan veya cihazın FDA onayı alınması için klinik çalışmalarından geçmesi uzun ve masraflı bir süreçtir; endüstride, onay almayı gerektirecek ve test edilmemiş malzemelerin eklenmesine karşı direnç vardır. Endüstrinin bu isteksiz ve yavaş tutumunun üstesinden gelmek için, bilim adamlarının mevcut dağıtım sistemlerinden önemli ölçüde daha iyi olan yeni dağıtım sistemleri geliştirmeleri gerekmektedir. Fonksiyonlarda sadece marjinal artışlar, gerekli olan değerli onayı almaya yetmeyecektir. NT; büyüklük sırasına göre etkinlik artışı yapma potansiyeline sahiptir. Örneğin aynı nano/mikro cihazları kullanarak hem tanı hem de tedavi yani teragnozis (theragnosis) için geliştirilebilirler ve bu tür teragnozis cihazları kişiselleştirilmiş tıpta büyük umutlar vaat etmektedir [5].

2.1.6 İlaç taşınma ve dağıtımında olgun nanoteknoloji

Nanoteknolojinin ilaç taşıma ve dağıtımı alanında devrimsel büyük bir potansiyele sahiptir. Ancak böyle bir potansiyeli gerçeğe getirilmesi için, farklı disiplinlerdeki bilim insanları arasında uyumlu çalışmalarını ve finansman kurumları tarafından sürekli desteklenmesi gerektirir. Tablo 2.1’de gösterildiği gibi, nanoteknoloji tabanlı İTS’lerin geleceği, nano/mikro üretim ile ölçeklendirme üretiminin yeteneğine bağlıdır. Bu durum, mümkün olan en basit İTS’lerin tasarımını gerektirir ve sadece nanoüretim mühendisleri ve İTS bilim adamları arasındaki yakın iletişim yoluyla mümkün olacaktır. Eğer, NT’nin ilaç taşınması ve dağıtımında gerçek potansiyelinin nano/mikro ölçekte taşıma sistemleri ile uğraşmaktan ziyade nano/mikro üretim ve üretim cihazlarına dayandığını kavrayabilirsek, ilaç taşınması için NT daha hızlı olgunlaşacak ve daha kullanışlı hale gelecektir [1].

2.2 Hedefe Yönelik Kanser Tedavisi (Targeted Cancer Therapy)

Günümüzde kanser, kalp hastalıklarından sonra dünya çapında insan ölümünün önde gelen nedenlerinden biridir ve bireysel vaka sayısının 2025 yılına kadar yılda 19,3 milyona çıkması beklenmektedir [6]. Kanser tedavisinde gözle görünür ve önemli klinik gelişmeler olmasına karşılık, onkologlar için tam tedavisi hala büyük bir zorluktur. Cerrahi tedavi, radyoterapi, kemoterapi ve hedefe yönelik tedavi gibi seçenekler günümüzde halen uygulanan tedaviler arasında yer almaktadır. Ancak bu tedavi yöntemlerinin, istenmeyen ve hastaya büyük zararları olan yan etkilere yol açtığı ve normal hücrelere de zarar verdiği bilinmektedir. Ayrıca, kanser hücreleri tarafından kemoterapik ilaca karşı direnç gelişimi, geleneksel tümör terapisi yöntemlerinin başarısızlığına neden olmakta bu nedenle kanser tedavisinde kullanılan ilaç protokolleri revize edilmektedir [7,8].

2.3 Prooksidanlar ve Antioksidanlar

2.3.1 Giriş

İnsan ve hayvanlar, yem ve hayvancılık uygulamalarındaki değişiklikler, iklim değişkenleri, taşıma ve göçler, yeniden gruplandırma, tedaviye yönelik ve koruyucu faaliyetler, çeşitli stresörler vb. gibi biyolojik ve çevresel faktörlere maruz kalmaktadır. İnsan ve hayvanların sağlık ve verimlerinin korunmasında bu faktörlere karşı savaşabilmesi önemlidir. Bugün, tüm dünya kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, diyabet, kanserler ve diğer burada adını sayamayacağımız kadar çok hastalıklar gibi kronik sağlık komplikasyonlarında bir artışa tanık olmaktadır. Tıbbi araştırmalar, diyetin bu kronik hastalıkların kontrolünde potansiyel bir araç olabileceğini öne sürmektedir [9].

Meyve ve sebzeler açısından zengin diyetlerin, özellikle kalp-damar hastalıkları ve kanserler gibi çeşitli hastalıklara karşı koruyucu bir etkiye yol açtığı bildirilmiştir. Meyve ve sebzelerin korumayı sağladığı düşünülen temel besinler, antioksidanlardır [9,11].

Artan meyve ve sebze alımının hastalıklara karşı koruyucu bir etkisini araştıran 200 epidemiyolojik çalışmanın gözden geçirildiği bir çalışmada, polifenolik antioksidanların meyve ve sebzelerdeki yüksek içeriğinin muhtemelen yararlı etkilerden sorumlu ana faktör olduğu sonucuna varılmıştır [12].

Bu farkındalık, son yirmi yılda yemek masası üzerindeki antioksidan moleküllerinden zengin meyve ve sebze oranlarında muazzam bir artışa yol açtı. Ancak hala kronik sağlık sorunları riski artmaya devam ediyor ve bu zıtlık çok önemli bir soruyu akla getiriyor? “Neden? Sağlıkla ilgili sorunlar oksidatif strese bağlıysa ve diyet bileşenleri güçlü antioksidanlar ise, o zaman sorunun gerilemesi gerekmiyor muydu? Bu antioksidanlar ilgili vücut dokularına ulaştığında neler olmaktadır? Henüz ortaya çıkarılmamış diğer faktörler ve aydınlatılmamış konular var mıdır? Araştırmacılar bu sorulara da cevap aramaktadır [9].

2.3.2 Prooksidanlar

Prooksidan, reaktif / serbest oksijen radikalleri ürünleri (free /reactive oxygen species - ROS) oluşumunu artırarak veya antioksidan sistemleri inhibe ederek oksidatif strese neden olan herhangi bir endobiyotik veya ksenobiyotik anlamına gelir. Prooksidanlar; hücreler veya dokulardaki tüm reaktif, serbest radikal içeren molekülleri içerebilir. Proksidanlar birkaç kategoriye ayrılabilir. (Şekil 2.1). (Tablo 2.2 ve 2.3)

Basit olarak endobiyotikler; bir organın veya biyolojik işlemin çalışmasını etkileyen endojen bir maddedir. Ksenobiyotikler ise; bir organizma içinde doğal olarak üretilmeyen veya organizma içinde bulunması beklenmeyen bir kimyasal maddedir. Ayrıca normalden çok daha yüksek konsantrasyonlarda bulunan maddeleri de içerebilir.

C ve E vitaminleri gibi popüler ve iyi bilinen antioksidan flavonoidlerden bazılarının, geçiş metallerinin vücutta fazla bulunması durumunda prooksidan olarak davrandığı bildirilmiştir. Bunların in vitro ortamlarda mutajenik olduğu bulunmuştur. Bu flavonoidlerin antioksidan aktiviteleri ve bakırla başlatılan proksidan aktiviteleri yapılarına bağlıdır. Bir flavonoidin antioksidan aktivitesi için -OH ikamesi gereklidir. OH ikamesi olmayan ve flavonoidler için temel kimyasal yapıları sağlayan flavon ve flavanon, ne antioksidan aktivite ne de bakır kaynaklı proksidan aktivite göstermez. Bir flavonoidin bakırla başlatılan prooksidan aktivitesi ayrıca yapısı üzerindeki serbest OH ikamelerinin sayısına da bağlıdır. OH yer değiştirmeleri ne kadar fazlaysa prooksidan aktivite o kadar güçlü olur. O-Metilasyon ve muhtemelen flavonoid OH ikamelerinin diğer O-modifikasyonları, flavonoidlerin hem antioksidan hem de proksidant aktivitelerini etkisiz hale getirir [13,14].

Kuarsetinin antioksidan aktivitesinin, lipit peroksidasyonunun sulu oksijen radikalleri tarafından kolaylaştırıldığı bir test sistemindeki monoglikozitlerinden daha iyi olduğu bulunmuştur. Luteolin; iki glikozidinden çok daha güçlü bir antioksidan olduğu ayrıca kanıtlamıştır. Flavonoidler genel olarak, C3 pozisyonunda bağlanmış şekerleri olan O-glikozitler olarak besinlerde bulunur. -OH ikamelerinin metilasyonu veya glikosidik modifikasyonu, bir flavonoidin geçiş metali tarafından başlatılan prooksidan aktivitesinin inaktivasyonuna yol açar. Meyve ve sebzelerin kanser ve kardiyovasküler hastalıklar da dahil olmak üzere hastalıklara karşı koruma sağlaması, bu yiyeceklerde bulunan flavonoidler dahil olmak üzere çeşitli antioksidanlara bağlanmıştır. Kuarsetin ve kempferol gibi flavonoidler, geçiş metalleri fazlalığında nükleer DNA hasarını ve lipit peroksidasyonunu indükler. Flavonoidlerin ve askorbik asit ve a-tokoferol dahil olmak üzere diğer antioksidanların in vivo bakırla başlatılan prooksidan hareketleri, genel olarak önemli değildir; çünkü bakır iyonu, metal toksisitesi hariç dokularda büyük ölçüde sekestre edilir. Kuarsetin de dahil olmak üzere bazı flavonoidler tarafından hepatositlerdeki demir kaynaklı lipit peroksidasyonunun önlenmesi iyi bilinmektedir [9].

2.3.3 Stres ve sağlık

İnsan vücudundaki her hücre, oksidan ve antioksidan türler arasında bir homeostaz koşulunu korur. İnsanlar tarafından pulmoner oksijen alımının %1-3'ü ROS'a dönüştürülür. Normal metabolizma koşulları altında, sürekli ROS ve diğer serbest radikallerin oluşumu, ATP üretimi, çeşitli katabolik ve anabolik süreçler ve beraberindeki hücrel redoks döngüleri gibi normal fizyolojik fonksiyonlar için önemlidir. Bununla birlikte, kimyasal maruz kalma, kirlilik veya radyasyon gibi eksojen çevresel veya endojen biyolojik faktörler nedeniyle aşırı serbest radikal oluşumu meydana gelebilir. ROS alt grupları:

- 1- Serbest radikaller (süperoksit radikalleri ($O_2^{\bullet-}$) gibi) ve
- 2- Radikal olmayan ROS (hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi) [9,15].

Hücrelerde üretilen primer serbest radikaller süperoksit (O_2^{\bullet}) ve nitrik oksittir (NO). Süperoksit, elektron taşıma sistemlerinde eksik oksijenin azalmasıyla veya enzimatik sistemlerin spesifik bir ürünü olarak üretilirken, NO bir dizi spesifik enzim (nitrik oksit sentazları) tarafından üretilir. Hem süperoksit hem de NO reaktiftir ve bir dizi

başka ROS ve serbest nitrojen ürünleri (radicals of nitrogen species, RNS) oluşturmak için kolayca reaksiyona girebilir. Genellikle, mitokondri sürekli ROS üretiminin gerçekleştiği hücrel ROS kaynağıdır. Bu durum, hücre içindeki enerji üretimi için gerekli olan mitokondri zarında bulunan elektron taşıma zincirinin sonucudur. Ek olarak, bazı sitokrom 450 enzimlerinin de ROS ürettikleri bilinmektedir [9,15].

2.3.4 Oksidatif stres

Serbest ROS ve RNS radikallerinin potansiyel biyolojik hasara neden olan zararlı etkisi, sırasıyla oksidatif stres ve nitrosatif stres olarak adlandırılır. Biyolojik sistemlerde, aşırı ROS / RNS üretimi ve / veya enzimatik ve non-enzimatik antioksidanların eksikliği olduğunda bu belirgindir. Redoks stresi / oksidatif stres karmaşık bir işlemdir. Organizma üzerindeki etkisi, oksidan tipine, bulunduğu yere ve üretim yoğunluğuna, çeşitli antioksidanların kompozisyonu ve aktivitelerine ve tamir sistemlerinin yeteneğine bağlıdır [16].

ROS terimi, süperoksit radikali ($O_2 \bullet$) ve hidroksil radikali ($HO\bullet$) gibi O_2 'den daha yüksek reaktiviteye sahip olan bütün moleküler oksijenin (O_2) metabolitlerini ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi radikal olmayan molekülleri içerir. Bu ROS normal aerobik metabolizmanın yan ürünü olarak üretilir, ancak temel sağlık tehlikesi olduğu kanıtlanan stres altında seviyeleri artar. Mitokondri, ROS üretiminden sorumlu ana hücre organeldir. Bir dizi oksidatif fosforilasyon işlemi ile ATP üretir. Bu işlem sırasında, dört elektron azalması yerine O_2 yerine bir veya iki elektron azalması olabilir, bu da O_2 veya H_2O_2 oluşumuna neden olur ve bu türler diğer ROS'a dönüştürülebilir. Diğer ROS kaynakları; peroksizomal oksidazlar, sitokrom P-450 enzimleri, NAD (P)H oksidazlar veya ksantin oksidazı içeren tepkimeler verebilir [17,18].

2.3.5 Oksidatif stres ve hastalıklar

Bugün dünya kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve benzeri gibi yaşa bağlı kronik sağlık hastalıklarında ve buna bağlı olumsuz sağlık etkileri ve mortalite / sekelerde bir artış yaşamaktadır. Diyabet gibi bazı metabolik hastalıklar da artmış bir lipoperoksidasyon düzeyi ile ilişkilidir [19]. (Şekil 2.2). (Tablo 2.4)

Santral sinir sistemi (SSS), nispeten toplam antioksidan kapasitesi daha düşük bir seviyede olduğu için serbest radikal hasarına karşı aşırı duyarlıdır. Dokularda üretilen ROS, lipitler, nükleik asitler ve proteinler gibi makromoleküllere doğrudan zarar verebilir. Çoklu doymamış yağ asitleri, ROS için tercih edilen oksidasyon hedeflerinden biridir. Oksijen içeren serbest radikaller, özellikle süperoksit anyon radikalini ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil radikalini ($OH^{\bullet-}$) ve alkilperoksil radikalini ($\bullet OOCR$) çok çeşitli hastalıkların patogeneğinde rolü iyi belirlenmiş lipit peroksidasyonunun güçlü başlatıcılarıdır. Lipit peroksidasyonu başlatıldığında, sonlandırma ürünleri üretilinceye kadar zincir reaksiyonların yayılması gerçekleşecektir. Bu nedenle, malondialdehit (MDA), 4-hidroksi-2-nonenol (4-HNE) ve F2-izoprostanlar gibi lipit peroksidasyon son ürünleri biyolojik sistemlerde birikir. DNA bazları ayrıca ROS oksidasyonuna karşı çok hassastır ve DNA bazlarının in vivo baskın saptanabilir oksidasyon ürünü 8-hidroksi-2-deoksiguanozindir. DNA bazlarının oksidasyonu hem nükleer hem de mitokondriyal DNA'da mutasyonlara ve delesyonlara neden olabilir. Mitokondriyal DNA, birincil ROS kaynağına yakınlığı ve nükleer DNA ile karşılaştırıldığında zayıf onarım kapasitesinden dolayı özellikle oksidatif hasara meyillidir. Bu oksidatif değişiklikler, birçok fizyolojik etkiye sahip çeşitli protein tiplerinde (enzimatik ve yapısal) fonksiyonel değişikliklere yol açar. Benzer şekilde, transkripsiyon faktörlerinin indirgenme modülasyonu, spesifik DNA bağlama aktivitelerinde bir artış veya azalışa neden olur, böylece gen ekspresyonunu modifiye eder[9,14].

Malondialdehit (MDA) oksidatif stres belirteçleri arasında önemli bir üründür. MDA, perokside edilmiş çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA), özellikle araşidonik asitten oluşan üç karbonlu bir bileşiktir. Membran lipit peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir. MDA düzeyleri, oksijen içeren serbest radikallerin fazla olduğu çeşitli hastalıklarda arttığından, serbest radikal hasarı ile birçok ilişki gözlenmiştir. SSS'de özellikle hücre zarında PUFA fazla olduğundan ayrıca oksidatif hasara karşı hassastır [14].

Cu/Zn süperoksit dismutaz (Cu/Zn-SOD) ve selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (GSHPx) ise antioksidan kapasiteyi gösteren önemli enzimlerdir. Cu/Zn-SOD; tüm oksijeni metabolize eden hücrelerde bulunan ve aşırı derecede toksik olan süperoksit radikalini potansiyel olarak daha az toksik hidrojen peroksite dönüştüren hücre içi bir enzimdir. Cu/Zn-SOD doğada yaygındır, ancak bir metaloenzim olması nedeniyle,

aktivitesi dokulardaki serbest bakır ve çinko rezervlerine bağlıdır. Hücre içi bir enzim olan GSHPx, memeli hücrelerinde, hidrojen peroksit ve lipit hidroperoksitleri metabolize edebilen birkaç proteine aittir [9,14].

2.3.6 Oksidatif stres ve çeşitli malignitelerde varlığı ve seviyelerindeki artışı

Karsinogenezis (kanser oluşumu) duyarlı dokuların bütünlüğünün aşamalı olarak kaybedilmesiyle sonuçlanan konakçı dokunun çok sayıda aktive edici ve inhibe edici biyolojik aktiviteleri (immün ve immün olmayan) arasındaki etkileşimlerin aşamalı bir erozyonu olarak tanımlanabilir. Kanseri, mutasyon ve yaşlanma gelişiminde ilk ve temel aşama, hücre DNA'sındaki oksidatif hasardır. Mutasyonlara ve kansere yol açabilecek oksitlenmiş DNA ürünlerinin bir listesi şu anda tanımlanmıştır. ROS'un neden olduğu DNA hasarına bağlı olarak görülen ana değişiklik, purin veya pirimidin halkasındaki yer değişimleri nedeniyle DNA zincirindeki kopuştur [20]. ROS ile birlikte diğer indirgeyici metallere de yaşlanma, mutasyon ve tümör gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır. Düzenli işleyen bir hücre mekanizmasında, katalaz, peroksidazlar ve süperoksit dismutaz gibi enzimlerle birlikte, serbest radikal temizleyicileri olan vit-E, vit-C ve glutatyon DNA onarım mekanizmasını kontrol eder [9].

DNA'daki bu hasarlar ya tek iplik kopmaları (single strand break, SSB), çift iplik kopmaları (double strand breaks, DSB) ya da oksidatif olarak üretilmiş kümelenmiş DNA lezyonları (oxidatively generated clustered DNA lesion, OCDL) şeklindedir. Oksidatif strese bağlı olarak hasar görmüş DNA'nın düzensiz onarımı veya onarım yokluğu apoptotik yoldaki değişikliklerle birlikte mutagenesis ve genetik transformasyona yol açabilir. Çözülmemiş ve inatçı inflamasyon nedeniyle oluşan oksidatif stres, immün yanıtların dinamiklerinin değişmesinde rol oynayan önemli bir faktör olabilir. Bu değişiklikler, sonuçta kronik hastalıklara veya kanserlere yol açabilen hücre ve dokuların yapısal bütünlüğünün kaybına yol açabilecek immünolojik bir kaosa - karmaşıklığa neden olabilir [21,22]. Oksidatif stresin; değişmiş hücre büyümesi, neoplaziye yol açan kronik enfeksiyonlar, metastatik kanser ve anjiyogenez ile birlikte alerji, otoimmün veya nörodejeneratif hastalıkların indüksiyonuna neden olduğu bildirilmektedir. Bu gibi değişikliklerin arka planında protein, gen ve damar gibi hücre bileşenlerinin hasarı vardır. Ayrıca, bir araya gelip kümelenmiş bu faydasız ve karmaşık hücrelerin dokuda fazla birikmesi, ilave

oksidatif strese neden olur ve bağışıklık sistem ile buna cevap vermeyen inflamasyonun sürekli aktivasyonunu sağlar [23]. Doku nekrozu ve hücre sel büyüme, bağışıklık sistemindeki hücrelerinin oksidatif stres kaynaklı değişmiş aktivitelere bağlı olarak enflamatuar arac uların ekspresyonu ile uyarılır. Doku fonksiyonundaki bu değişiklikler temel olarak otoimmünite, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser oluşumundan sorumludur. TNF'ler, proteazlar, ROS'ler ve kinazlar gibi aşırı üretilen apoptotik faktörlerin yanı sıra oksidatif stres nedeniyle üretilen çeşitli atıklar aktif olarak tümör büyümesine ve proliferasyonuna katılır. Bu faktörler ayrıca membran yıkımı, komşu dokulara invazyon ve kan / lenfatik damarlar aracılığı ile tümör hücrelerinin metastazı için de gereklidir [24,25]. Örneğin; son dekatlarda, tiroid kanserlerinin insidansı dünya genelinde artmıştır. Bunun nedenlerinden biri, muhtemelen serbest radikal oluşumunun artmasına neden olan, radyasyona maruz kalmadaki artıştır [26].

2.3.7 Antioksidanlar

Metabolizma veya zararlı etkenlere bağlı olarak hücrede meydana gelen zararlı etkileri gidermek veya en aza indirmek için, sistem zararın önlenmesi, oksidatif hasarları hafifletmek için tamir mekanizması, hasara karşı fiziksel koruma mekanizması ve en önemlisi antioksidan savunma mekanizmaları gibi bazı savunma stratejileri ile kendini geliştirmiştir. Oksidatif strese bağlı gelişen serbest radikal oluşumu teorisine dayanarak, antioksidanlar strese dikkat etmek için ilk tercih edilen çizgidir. Endojen antioksidan savunma sistemleri, genellikle hücre sitoplazması ve çeşitli hücre sel organeller içinde dağılmış olan, bölümlendirilmiş enzimatik ve non-enzimatik antioksidan molekülleri içerir. SOD, katalaz ve bazı peroksidaz vb. gibi ökaryotik organizmalarda yaygın olarak bulunan primer antioksidan enzimler, ROS'u su ve O₂ gibi daha kararlı moleküllere dönüştürmek için karmaşık bir reaksiyon kademesini katalize eder. Birincil antioksidan enzimlerin yanı sıra, çok sayıda ikincil enzim, birincil antioksidan enzim fonksiyonları için gerekli ko-faktörleri sağlayan redoks döngüleri oluşturmak için küçük moleküler ağırlıklı antioksidanlarla yakın ilişki içinde hareket eder [9,16].

Küçük moleküler ağırlıklı non-enzimatik antioksidanlar (örneğin, GSH, NADPH, tioredoksin, E ve C vitaminleri ve selenyum gibi eser elementler) de doğrudan ROS temizleyicileri olarak işlev görür. Bu enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan

sistemler, hassas bir hücre içi redoks dengesini koruyarak ve ROS'un neden olduğu istenmeyen hücre hasarı en aza indirerek hayatı sürdürmek için gereklidir. Endojen ve eksojen antioksidanlar arasında bazı yüksek moleküler ağırlıklı (superoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, albümin, transferrin, metalotiyonin) ve bazı düşük moleküler ağırlıklı maddeler (ürük asit, askorbik asit, lipoik asit, glutatyon, ubikuinol, tokoferol / E vitamini, flavonoidler) bulunur [9,16].

Doğal gıda kaynaklı antioksidan bileşenler son yirmi yılda büyük ilgi görmüş ve antienflamatuar, antioksidan ve antiapoptotik modülatör potansiyelini gösteren umut verici çeşitli biyolojik aktiviteler tanımlanmıştır. Flavonoidler, meyvelerde, sebzelerde ve bitkilerde bulunan büyük heterojen bir benzopiran türevleri grubunu içerir. Bunlar ikincil bitki metabolitleridir ve 4000'den fazla moleküler tür tanımlanmıştır. Flavonoidler, serbest radikal temizleyici aktiviteleri nedeniyle kanser ve nörodejeneratif hastalıklarda olumlu bir sağlık etkisi gösterirler. Çok sayıda meyve ve sebzede bulunan en bol doğal flavonoidlerden biri, serbest radikalleri temizleyerek, hidrojen bileşiği vererek, su verme yoluyla oksidatif yaralanmayı ve hücre ölümünü önleyen kuersetindir (3,5,7,3',4'-pentahidroksflavon). Singlet oksijen ve lipid peroksidasyonunun veya şelatlayıcı metal iyonlarının önlenmesi. Son zamanlarda, yaşlanma ile ilgili insan hastalıklarının tedavisinde bir yaşlanma karşıtı ajan olarak resveratrolün potansiyeli de kanıtlanmıştır [27,29].

Tablo 2.2 : Oksidatif stresin endojen mediatörleri [9].

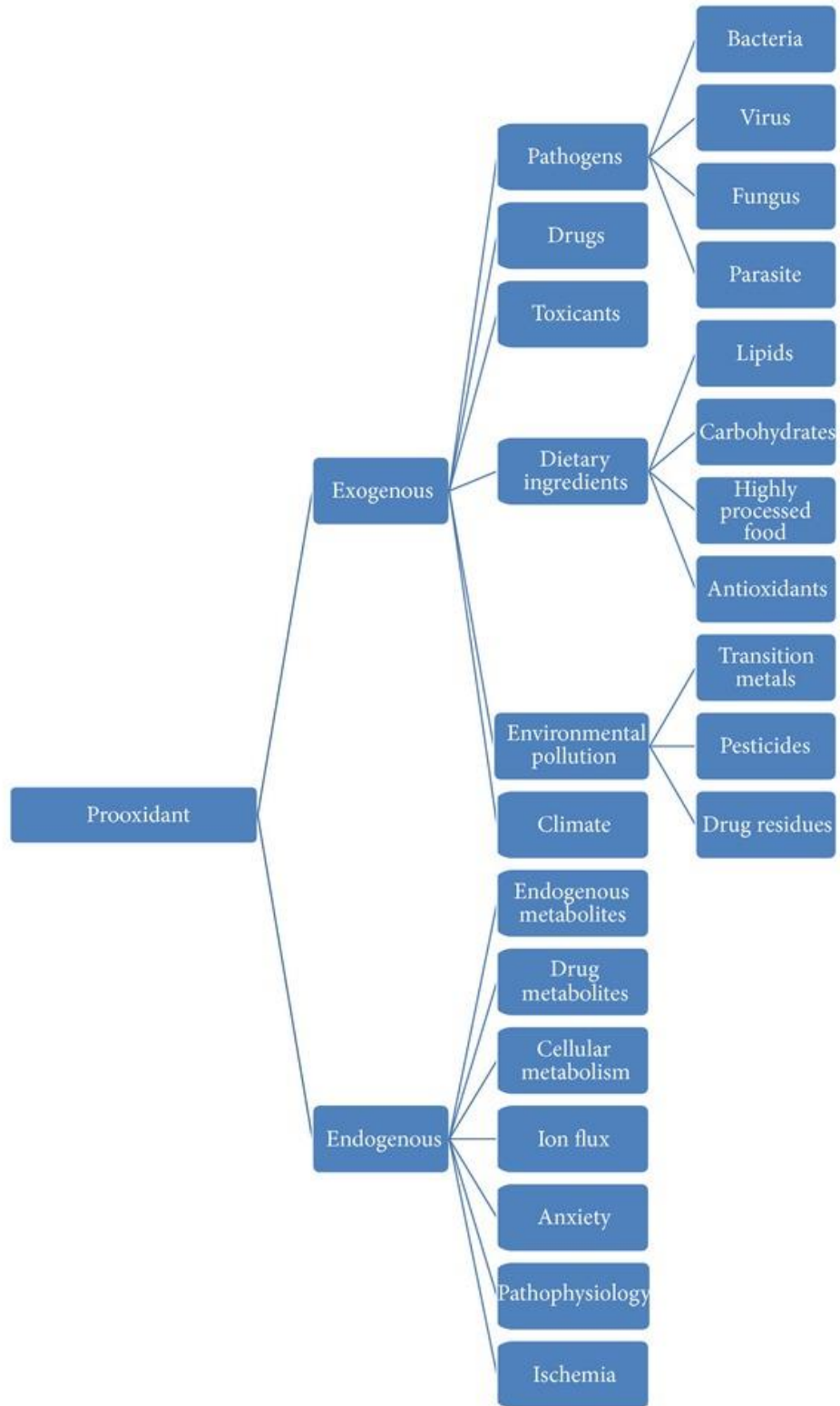
Sınıf	Örnekler	Mekanizma
Serbest radikal kaçığı	Membran bağlı enzimler	NADPH oksidaz
	Elektron taşıma sistemleri	Karışık fonksiyonlu oksidazlar
Oksijen aktivasyonu	Çözünabilir hücre bileşenleri	Geçiş metalleri, tiyol içeren proteinler, kinin türevleri, epinefrin, metaloproteinler, hemoproteinler ve flavoproteinler
	Ksenobiyotikmetabolize edici enzimler	Cyt P ₄₅₀ bağımlı monooksijenazlar, Cyt b ₅ ve NADPH-bağımlı sitokromredüktazlar
ROS üretimi / yayılımı	Çözünabilir sitozolik enzimler	Ksantinoksidaz, süperoksitdismutaz, katalaz
	Fagositik hücreler	İltihaplanma, solunum patlaması ve toksik moleküllerin uzaklaştırılmasında rol alan nötrofiller, makrofajlar ve monositler
	Lokal iskemi	Yaralanma veya ameliyat nedeniyle hasarlı kan alımı

Tablo 2.3 : Prooksidanların farklı sınıfları ve oksidatif stres gelişimi için ortak mekanizmaları [9].

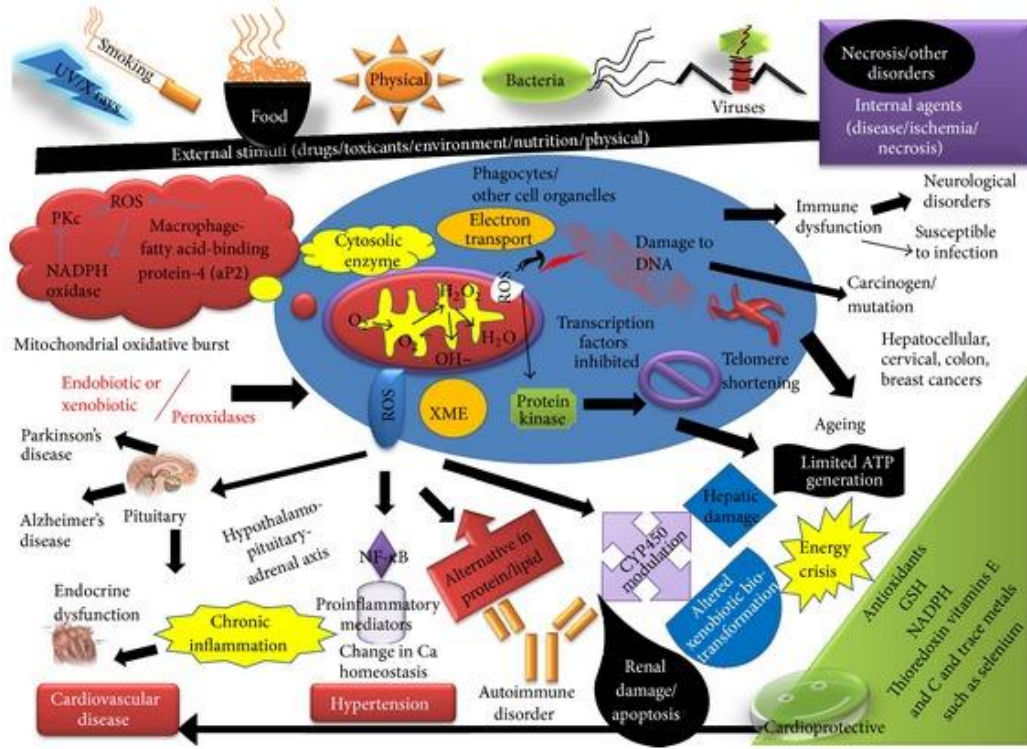
No	Sınıf	Örnekler	Mekanizma
(1)	İlaçlar	Analjezikler (parasetamol) gibi reçetesiz satılan ilaçlar veya antikanser ilaçlar (metotreksat gibi)	Makromoleküllerdeki değişikliklere yol açan ROS üretimi. Sonuçta karaciğere ve böbreğe ölümcül şekilde zarar verebilen .
(2)	Geçiş metalleri	Magnezyum, demir, bakır, çinko vb.	Bu metaller, Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarını indükleyerek aşırı ROS oluşumuna neden olabilirler. Kronik magnezyum artışı; klasik bir prooksidan hastalıktır. Diğer yüksek demir seviyeleri nedeniyle hemokromatoz veya bakır nedeniyle Wilson hastalığı olabilir.
(3)	Pestisitler	BHC, DDT, vb.	Serbest radikal üretiminin uyarılması, lipit peroksidasyonunun uyarılması, antioksidan enzimlerdeki ve glutasyon redoks sistemindeki değişiklikler
(4)	Fiziksel egzersiz	Koşu, ağırlık kaldırma vb.	Kaslardaki aşırı kasılma ve gevşeme laktik asit metabolizmasını artırarak ROS üretimini artırır. Sıkı egzersiz aşırı ROS'a neden olur
(5)	Zihinsel kaygı	Gerginlik, endişe ve kaygı gibi düşünceler	Redoks sistemindeki dengesizlikler; nöroinflamasyon ve nörodejenerasyon, mitokondriyal disfonksiyon, nöronal sinyallerin değişmesi ve nörojenezin inhibisyonunda rol oynar.
(6)	Patofizyoloji	Lokal iskemi	ROS üretiminin artmasına neden olur.
(7)	Çevresel faktörler	Aşırı hava koşulları (sıcak, soğuk, fırtına)	Adaptasyon sırasında, mitokondriyal membran akışkanlığı azalır. Bu durum elektronların transferini bozabilir, böylece ROS üretimi artar.
(8)	Antioksidanlar	Askorbik asit, E vitamini, polifenoller	Bazı koşullar altında (örneğin ağır metallerin varlığında) proksidan olarak davranabilirler.

Tablo 2.4 : Oksidatif stres ile pozitif korelasyon gösteren ölümcül hastalıklar.

No	Hastalık	İlgili organlar	Etyolojisi
(1)	Maküler dejenerasyon	Gözler	Reaktif oksijen ara maddeleri (ROI)
(2)	Diyabet	Çoklu organ	Superoksitdismutaz, katalaz, glutatyonredüktaz, glutatyonperoksidaz
(3)	Kronik yorgunluk	Çoklu organ	C-reaktif protein
(4)	Ateroskleroz	Kan damarları	Azaltılmış NADPH oksidaz sistemi
(5)	Otoimmün hastalıklar (SLE)	Bağışıklık sistemi	R _o ribonükleoprotein
(6)	Nörodejeneratif hastalıklar (Alzheimer ve Parkinson)	Beyin	ROS
(7)	Astım	Akciğer	ROS, özellikle, H ₂ O ₂
(8)	Romatoidartirit ve osteoartirit	Eklemler	ROS
(9)	Nefrit	Böbrek	Glutatyontransferazkappa (GSTK 1-1)
(10)	Melanom	Cilt	DNA hasarı ve lipit peroksidasyonu (LPO) içeren patofizyolojik işlemler
(11)	Miyokardiyal enfarktüs	Kalp	ROS



Şekil 2.1: Prooksidanların genel sınıflandırılması [9].



Şekil 2.2 : Oksidatif stres ve hastalık gelişimi [9].

Konvansiyonel tedaviye alternatif olarak bitkisel kaynaklı yeni bileşikler, kanser hücrelerine karşı kuvvetli etkinlikleri ve sınırlı / ihmal edilebilir yan etkileri nedeniyle son zamanlarda gündemdedirler ve çok takdir edilmektedirler. Halen klinik kullanımdaki antikarsinojenik kemoterapik ilaçlar esas olarak bitkilerden elde edilmektedirler.

Vinka alkaloidleri (vinblastin ve vincristine): Catharanthus roseus (L.) 'den elde edilir

Taksanlar (paklitaksel): Taxus brevifolia 'dan elde edilir.

Kamptoteksin (alkaloid): Camptotheca acuminata ve Nothapodytes nimmoniana 'dan izole edilir.

2.4 Paklitaksel (Paclitaxel, PTX)

1967'de Monroe Eliot Wall ve Mansukh C. Wani, *Taxus brevifolia* (kuzeybatı Pasifik Porsukağacı) kabuğundan bir mitotik inhibitörü izole ettiler ve bu bileşiğe "Taksol (Taxol)" adını verdiler [30]. (Şekil 2.3 ve 2.4)

Daha sonra yarı sentetik ortamda yetiştirildiğinde, Taksolun bir mantar endofiti tarafından üretildiği keşfedildi. Fungal endofit, Pasifik Porsuk ağacının floem (bitkilerde yapraklardan aşağıya doğru şeker ve diğer metabolik ürünleri ileten bir çeşit vasküler doku) dokusundan izole edildi. Bristol-Myers Squibb Şirketi tarafından “Paklitaksel (Paclitaxel, PTX)” jenerik ismi ile ticari olarak geliştirildi ve Taxol® ticari markası altında satılmaya başlandı. Daha sonra PTX'in albümin, polisitrat vb. ile konjuge edilmesi ile çeşitli formülasyonlar geliştirildi ve her bir Pasifik Porsuk ağacından 150 endofitik mantar suşları izole edildi. Endofitik mantar popülasyonu çok çeşitlidir. 150 suşun 105'i 25 farklı cinslere aitken, birinin cinsi henüz belirlenememiştir. 44 suşa ise katı kültürlerde herhangi bir üreme olmamıştır. Paklitaksel, görünüşte beyazdan kirli beyaza kadar olan kristal bir tozdur. Ampirik formülü C₄₇H₅₁NO₁₄ ve moleküler ağırlığı 853.9 birimdir. PTX son derece lipofiliktir, bu nedenle suda çözünmez. Erime noktası ise 216-217°C civarındadır (Şekil 2.6) [30,31].

2.4.1 Etki mekanizması

PTX ilacı tubulin'i hedefler. Araştırmacılar PTX'e maruz kalan hücrelerin, tubulini hedefleyen bir ilaç olan kolşisine karşı nitelikte olan iç düzeneği, hücre bölünmesi ve ayrıca kromozom ayrımı ile zorluk çektiğini gözlemlədiler. Kolşisin ve PTX arasındaki en büyük fark; kolşisin mikrotübül tertibatını inhibe ederken PTX mikrotübülü ayrılma ve parçalanmaya karşı stabilize eder ve korur. Daha yüksek bir dozda, PTX'in, mikrotübül eksi uçlarını sentrosomlardan ayrılmasını baskıladığı bilinmektedir. Beta-tubulin alt biriminin PTX için bağlanma alanına sahip olduğu bilinmektedir [30,32,33].

2.4.2 Çeşitli kanser türlerinin inhibe edilmesinde paklitakselin rolü

Kanser tedavisi alanında, özellikle çeşitli kemoterapötik ajanların kullanımında kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Terapötik etkinliği arttırdığı için nanopartikül destekli kemoterapötik İTS'leri kullanılmıştır. Metastatik meme kanseri üzerine yapılan çalışmalar, kemoterapötik ajan PTX ve twist shRNA'nın kompleks nanopartiküller yoluyla eş-teslim edilerek metastazın inhibe edildiği gösterildi. Böylece hücresel alım, RNA etkileşimi ve metastazı inhibe etme etkili bir şekilde sağlanmış olur [30,34]. Sitoredüktif cerrahi sırasında PTX yüklü geniş nanopartiküllerin (pax-eNP) uygulanması, over karsinomunda lokal tümör

rekürrensini etkili bir şekilde azaltmıştır [35]. Kemoterapötik nanopartikül ajanlar, hedef organa taşınması ve ulaşımında daha doğru, vücuttan atılımında ise daha yavaş olduğu için serbest verilen kemoterapötiklere göre bir avantaj sağlamaktadır [36]. Bununla birlikte, meme, akciğer, prostat, over ve boyun karsinomları da dahil olmak üzere çeşitli kanser tiplerinde kemoresistans (ilaca direnç hali) gözlenmiştir. PTX'lerle konjuge edilen nanopartiküller nanomiseller olarak da taşınabilir ve hedef organa teslim edilebilir. Bu formülasyonlar, diğer formülasyonlara kıyasla hedef tümöre ilaç taşınmasında daha yüksek verimlilik gösteren hücre içi endositoz ile basitçe alınabilir [37,38]. Çok duvarlı karbon nanotüpler, PTX'in polisitik asit ile konjuge edildiği potansiyel İTS'ler olarak da kullanılmıştır.

Sinyal molekülünün aktive edici bir mutasyonuna karşı kullanılan inhibitör bir ajanın, PTX gibi standart bir kemoterapötik ajan ile kombinasyonu, mutant insan endometriyal kanser hücre hatlarında sinerjik aktivite göstermiştir [39]. Osteosarkom hücrelerinde; PTX'in Etoposid ile kombinasyonu halinde termokemoterapiye sitotoksik etkilerini değerlendirmek için yapılan bir çalışmada, ilaç kombinasyonunun apoptoz indükleme kapasitesinin, tek tek kullanılan ilaçların etkisinden daha güçlü olduğunu göstermiştir [40]. Başka bir çalışmada da, kaspazdan bağımsız olarak hücre ölümü indükleyici bir ajan olan Gelomulide-K ile birlikte PTX verildiğinde, PTX'in klinik etki aktivitesinde artış olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma yeni kaspazdan bağımsız hücre ölümü indükleyici ajanların gelişimi hakkında bir fikir vermektedir [30,41].

Çeşitli araştırma ve gayretlere karşılık, halen multipl miyelomun kesin tedavisi (cure) mümkün değildir. Bu nedenle çoğu durumda, ilaçların verimliliğini artırmak ve yan etkilerini azaltmak amacıyla kemoterapötik ilaçların kombinasyonu kullanılmaktadır. Farnesiltransferaz inhibitörü R115777 (Zarnestra) ile sinerjize edilen PTX'in çoğunlukla G2/M hücre döngüsü durmasını tetikleyecek kadar etkili olduğu bulunmuştur [42].

PTX ile Cremophor EL kombinasyonu aşırı duyarlılık reaksiyonları ve PTX'in farmakokinetiğinde değişmeye neden olmaktadır. Cremophorsuz ve albumin ile stabilize edilmiş bir nanopartikül PTX formülasyonu olan ABI-007 kullanımının, Cremophor içeren PTX ile karşılaştırıldığında, farelerde daha az toksisiteye neden olduğu bildirilmiştir [43]. Yapılan bir çalışmada da tiyolatlı polikarbopil bazlı bir

oral PTX formülasyonunun kullanılması, belirgin şekilde iyileşmiş PTX plazma seviyeleri gösterdi ve tümör büyümesini azalttı [44].

PTX'in akciğer, meme, over, lökopeni ile seyreden hastalıklar ile karaciğer kanserine karşı etkili bir antikanser ajan olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. [45,46].

Ayrıca belirli mekanizmalarla glikolizi azalttığı da bilinmektedir. PTX; tubulini hedef alarak, hücre döngüsü durmasını indükleyerek, sinyal faktörlerini artırarak veya bunları mutasyona sokarak çeşitli kanser türlerinin tedavisinde rol oynar. Bununla birlikte, Pasifik Porsuk ağacının kabuğundan elde edilen PTX'e olan aşırı talep, bu kanser tedavi edici silah için zorlu bir özelliktir. Bu nedenle, bu antikanser ilacın artan ihtiyacını karşılamak için bu ürünü kimyasal/sentetik yöntemlerle geliştirmeye odaklanılmalıdır [30,47,48]. (Tablo 2.5).

Tablo 2.5 : Paksitakselin de dahil olduğu Taksanez (Taxanes) grubu kanserkemoterapiklerin insan kanser tiplerinde etkilerinin gösterilmesi.

Taksan Sınıfının Aktif Olduğu İnsan	Kanıtlar	Kullanım ve Etkinliğin Tanımı
Meme kanser	Faz III çalışmalar - tek ajan adjuvanı	Genel yaşam süresinde artış
Akciğer kanseri	Faz III çalışmalar - tek ajan adjuvanı	Genel yaşam süresinde artış (tek başına veya platin kemoterapi kombinasyonu)
Prostat kanseri	Faz III çalışmalar - tek ajan adjuvanı	Hormon dirençli prostat kanserinde tek ajan aktivitesi ve cerrahiye yardımcı olarak sağkalımı artırma
Pankreas kanseri	Faz III çalışmalar - Gemcitabine ile kombine	Metastatik hastalarda front-line seçeneği ve yalnız başına ve gemcitabin ile adjuvan tedavi
Over kanseri	Faz III çalışmalar - tek ajan adjuvanı	Yanıt oranları 20–48%
Mesane kanseri	Faz II çalışmalar	Tek ajan genel hastalık kontrol oranı %18
Endometriyum kanseri	Faz I çalışmalar-platinumresistant EK	Tek başına cevap oranı %86 (platine dirençli hastalar dahil)
Squamous hücreli karsinom	Faz II çalışmalar	Tek ajan yanıt oranları %66-96: bevacizumab ile kombine edildiğinde fayda görüldü
Melanom	Faz II çalışmalar	6 aylık progresyonsuzsağkalım %29: yanıt oranı %0-14
Yumuşak doku sarkomu ve Kaposi sarkomu	Faz II çalışmalar	%14,3 oranında tek ajan cevap oranı
Lenfoma	Faz II çalışmalar - Tek ajan	Vinorelbin, etoposid ve sisplatin (vtepa) kombinasyonu ile yanıt oranı %33



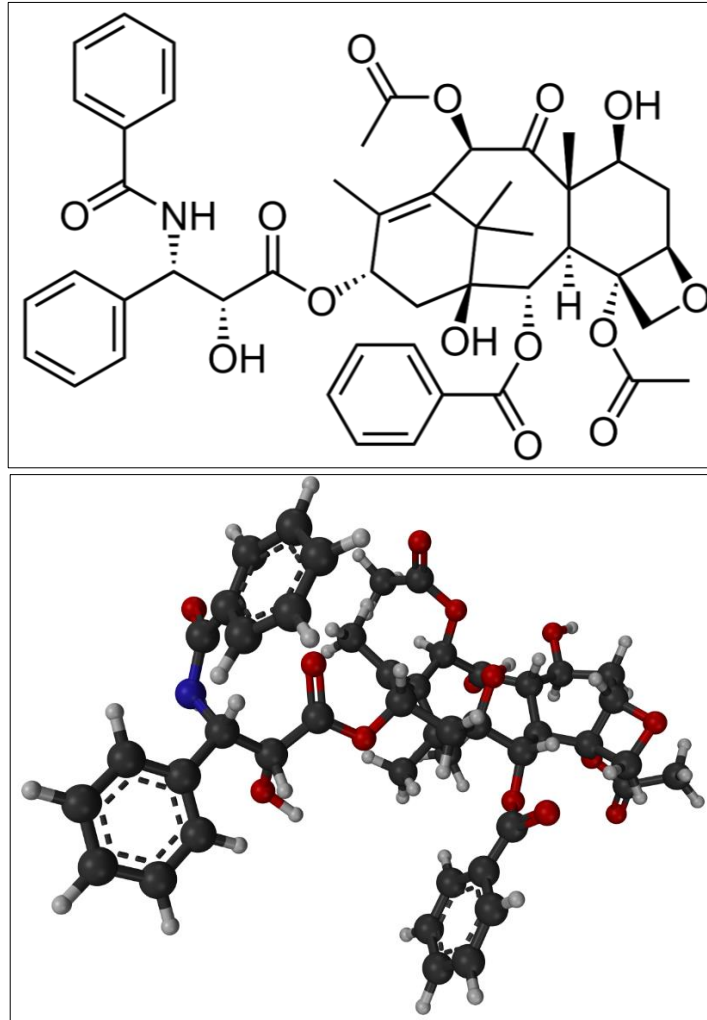
Şekil 2.3 : Monroe Eliot Wall (sağda) ve Mansukh C. Wani (solda) birlikte görülmekte [49].



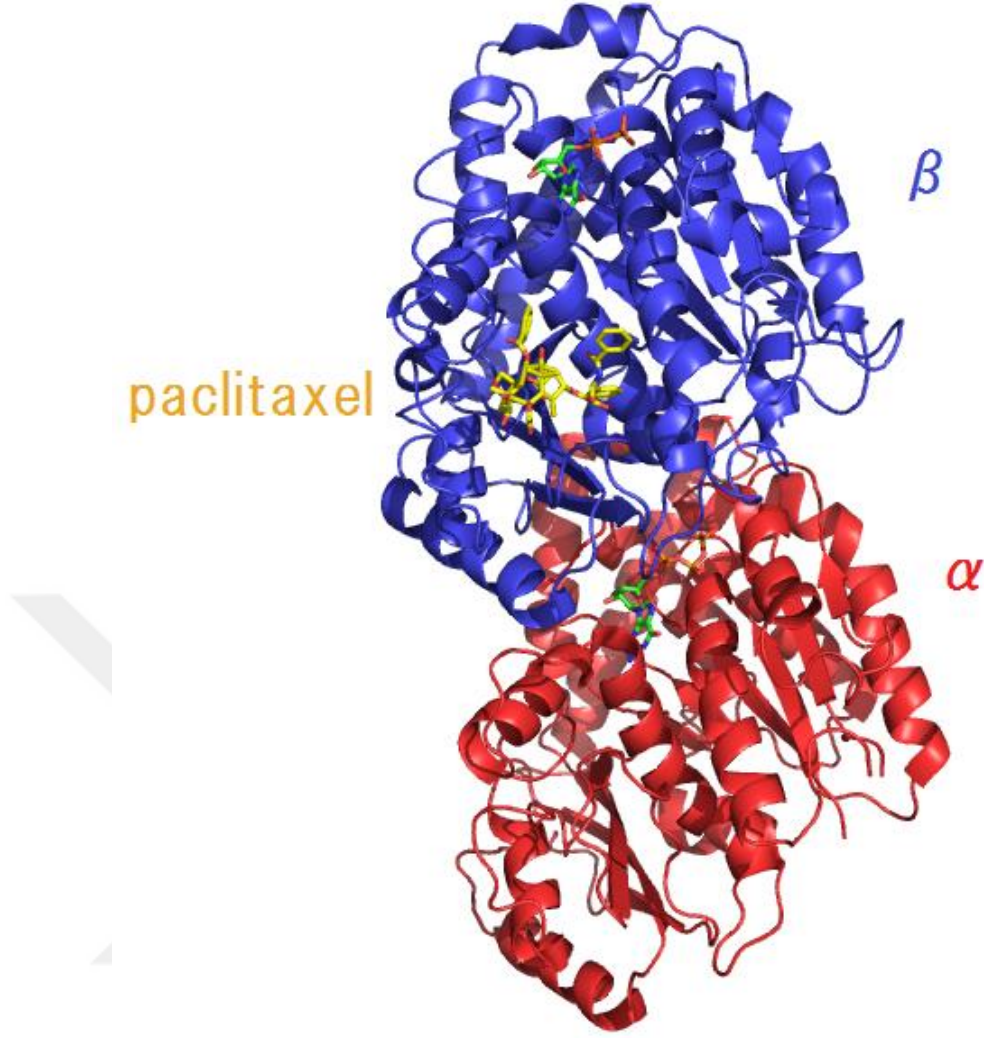
Şekil 2.4 : Monroe *Taxus brevifolia* (kuzeybatı Pasifik Porsukağacı) kabuğu bütün halde [50].



Şekil 2.5 : Paklitaksel sağlamak için kabuklar soyulması ve işlenmesi [50].



Şekil 2.6 : A. Paklitaksel (Taxol®) kimyasal yapısı ve B. 3D modellemesi [50].



Şekil 2.7 : α , β tubulin subünitleri kompleksi ve paklitaksel. Paklitaksel sarı çubuklar olarak işaretlenmiştir [50].

2.5 Kuersetin (Quercetin)

Meyve ve sebzelerde bulunan bir flavonoid olan kuersetin, zihinsel / fiziksel performansı artırabilen ve enfeksiyon riskini azaltabilen eşsiz biyolojik özelliklere sahiptir. Bu özellikler, anti-kanserojen, anti-enflamatuar, antiviral, antioksidan ve psikostimulan aktiviteleri ile birlikte, ayrıca lipit peroksidasyonunu, trombosit agregasyonunu ve kılcal geçirgenliği inhibe etme ve mitokondriyal biyogenezi uyarma özelliklerini de içeren genel sağlık ve hastalık direncine yönelik potansiyel faydaların temelini oluşturur [51].

Kuersetin, flavonoid bileşiklerin altı alt sınıfından biri olan *flavonol* olarak sınıflandırılmıştır. Bu isim 1857'den beri kullanılmaktadır ve quercetum (*meşe*

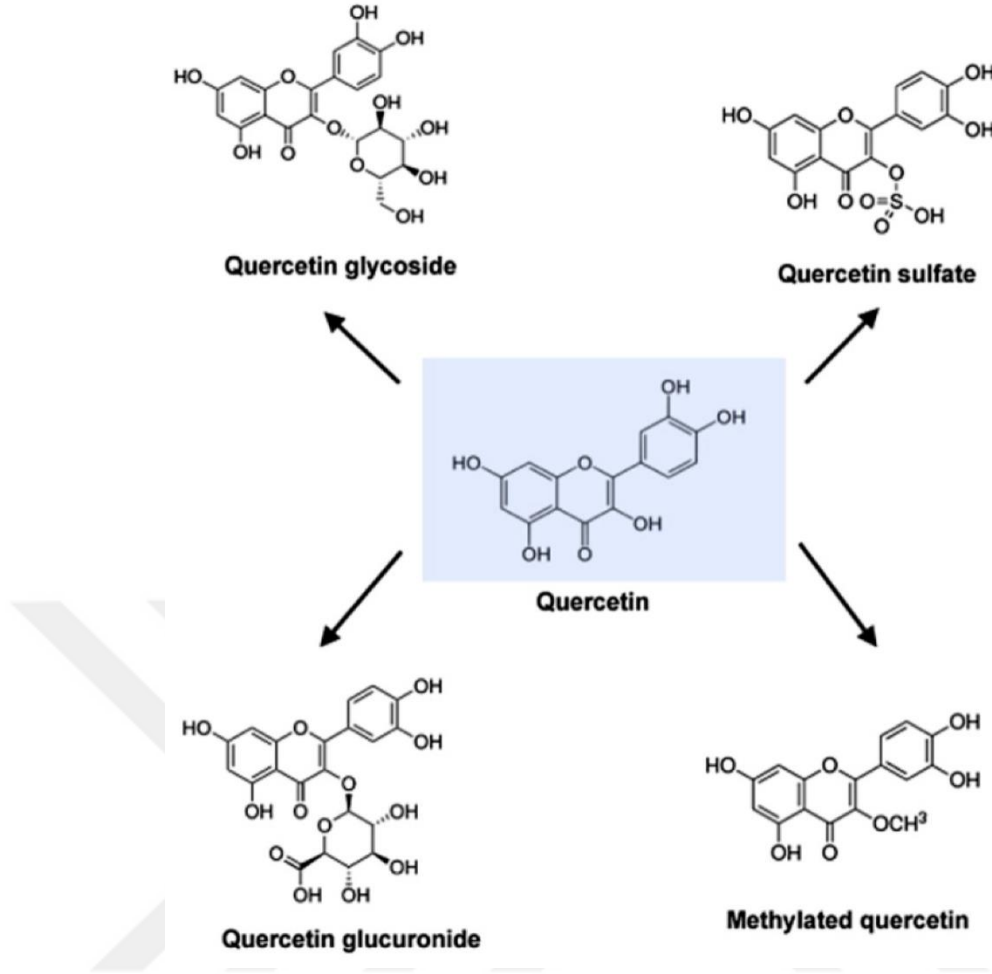
ormani) isminden türemiştir. Doğal olarak oluşan bir polar oksin transport inhibitörüdür. Kuersetin için Uluslararası Kuramsal ve Uygulamalı Kimya Birliği (*The International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC*) isimlendirmesi 3, 3', 4', 5, 7-pentahidroksiflvanon'dur (veya bunun eş anlamlı 3, 3', 4', 5, 7-pentahidroksi-2-fenilkromen- 4-1). Bu, kuersetinin 3, 5, 7, 3' ve 4 pozisyonlarına bağlı bir OH grubuna sahip olduğu anlamına gelir. Kuersetin ortak formları, Şekil 2.8'de gösterilmiştir [52].

Kuersetin ($C_{15}H_{10}O_7$) ekli bir şeker içermeyen bir aglikondur. Parlak bir sitron sarı iğne kristalidir, soğuk suda çözünmez, sıcak suda zayıf çözünür, ancak alkol ve lipidlerde çözünürlüğü oldukça yüksektir. Kuersetin glikozit, OH gruplarından birinin yerine bir glikozil grubunun eklenmesiyle oluşur. Ekli glikozil grubu, çözünürlüğü, emilimini ve in vivo etkilerini değiştirebilir. Genel bir kural olarak, glikozil grubunun (kuersetin glikozit) varlığı, aglikon kuersetine kıyasla suda çözünürlüğünün artmasına neden olur. Kuersetin glikozit, ekli glikozil grubu açısından özgündür. Genel olarak, kuersetin terimi sadece aglikon tipini tanımlamak için kullanılmalıdır; bununla birlikte, isim zaman zaman araştırma ve tamamlayıcı endüstrisinde glikozit tip de dahil olmak üzere kuersetin tipi moleküllere atıfta bulunmak için kullanılır [52].

Flavonoid moleküllerinin en bol bulunanı olan kuersetin tipi flavonoller (özellikle kuersetin glikozitler) bitkilerde yaygın olarak bulunur. Elma, çilek, Brassica sebzeleri (lahana, şalgam, Brüksel lahanası, hardal vb.), kapari, üzüm, soğan, arpacık soğanı, çay ve domatesin yanı sıra birçok tohum, kuruyemiş, çiçek, kabuk ve yaprak gibi çeşitli yiyeceklerde bulunurlar. Kuersetin ayrıca *Ginkgo biloba*, *Hypericum perforatum* ve *Sambucus canadensis* gibi tıbbi botaniklerde de bulunur [53]. Kırmızı soğanın dış halkalarında ve köke en yakın kısımda (en yüksek konsantrasyona sahip kısmı) daha yüksek kuersetin konsantrasyonları oluşur. Bir çalışmada organik olarak yetiştirilen domateslerde, kimyasal katkıları fazla olanlara göre %79 daha fazla kuersetin bulunduğu gösterildi. Kuersetin, farklı bitkilerden elde edilmiş çeşitli bal türlerinde de bulunur. Dut ve findıkta da kuersetin bulunur. Yukarıda belirtilen besinlerden en yüksek kuersetin konsantrasyonu kaparide (çiğ, işlenmemiş) (234 mg/100g), en düşük konsantrasyon ise siyah veya yeşil çayda (2mg/100g) bulunur [52,54,55].

Kuersetin alımı Çin sağlıklı genç erkekler için günde yaklaşık 18 mg'dır. ABD'de flavonol alımı, ABD yetişkinleri için günde 13 mg'dır. Yapılan bir çalışmada ABD'de ortalama kuersetin alımının günde yaklaşık 14.90 ila 16,39 mg idi ve soğan, çay ve elmalar yüksek miktarda kuersetin içeriyordu [52]. Japonya'da yapılan bir çalışmada; kuersetin alımı ortalaması 16,2 mg/gün idi, erkeklerde kuersetin alımı kadınlardan daha düşüktü ve kuersetin alımı hem erkek hem de kadınlarda yaş ile düşük bir korelasyon gösteriyordu. Tahmini kuersetin alımı yaz ve kış aylarında benzerdi. Kuersetin hem yazın hem de kışın çoğunlukla soğan ve yeşil çay kaynaklı olarak alınıyordu. Kuşkonmaz, yeşil biber, domates ve kırmızı yaprak marul gibi sebzeler yaz aylarında iyi kuersetin kaynaklarıydı [56]. Avustralya'da, siyah ve yeşil çaylar, kuersetin baskın kaynaklarıydı. Diğer kaynaklar arasında soğan, brokoli, elma, üzüm ve fasulye yer almakta idi. 24 saatlik hatırlama verilerinin analizi, toplam flavonoidlerin (> 18 yaş) 454 mg / gün ortalama bir yetişkin alımını göstermiştir. Elma, 16-18 yaşlarına kadar en önemli kuersetin kaynağıydı, ardından soğan gittikçe daha önemli bir kaynak haline geldi (Somerset, 2008). İspanya'da günlük ortalama kuersetin alımı, 18,48 mg/gün olup, çay, turunçgiller ve meyve suyu, bira, şarap, kavun, elma, soğan, çilek ve muz gibi kaynaklara dayalı olarak, ABD'de olduğundan (9,75 mg / gün) önemli ölçüde daha yüksektir [57].

İnsanlarda kuersetin biyoyararlanımı oldukça düşüktür (~%2). Kuersetin glikozitin tahmini emilimi, 100 mg alan sağlıklı bireylerde %3 ile %17 arasında değişmektedir. Kuersetinin nispeten düşük biyoyararlanımı, düşük emilimine, geniş metabolizmasına ve/veya hızlı eliminasyonuna bağlıdır. Kuersetin glikozit ince bağırsağın üst bölümünde emilir, daha sonra ince bağırsak ve karaciğerde biyotransformasyon enzimleriyle metile, sülfö-sübstitüde ve glukuronize edilir ve sonunda böbrek yoluyla idrarla birlikte atılır [52].



Şekil 2.8 : Kuersetin, kuersetin glikozit, kuersetin glukuronid, kuersetin sülfat ve metile edilmiş kuersetinin moleküler yapısı [52].

2.6 Rosmarinik Asit (Rosmarinic Acid)

Rosmarinik asit (RA) ilk olarak 1958 yılında İtalyan kimyagerleri M.L. Scarpatti ve G. Oriente tarafından biberiyeden (*Rosmarinus officinalis*) izole edildi ve tanımlandı. Kimyasal olarak; 3-(3,4-dihidroksifenil) laktik asit ve kafeik asit esteri olan bir fenolik bileşiktir [58]. (Şekil 2.9)

Rosmarinik asit; özellikle Boraginaceae türlerinde ve Lamiaceae'nin nepetoideae alt familyasında bulunur. Bununla birlikte, diğer yüksek bitki familyası türlerinde, bazı eğreltiotu ve hornwort (*ceratophyllum demersum*, bir çeşit yeşil su bitkisi) türlerinde ve çeşitli mono- ve dikotiledon anjiyopermlerin türlerinde de bulunur. Ocimum basilicum (fesleğen), *Ocimum tenuiflorum* (kutsal fesleğen), *Melissa officinalis* (melisa), *Rosmarinus officinalis* (biberiye), *Origanum majorana* (mercanköşk), *Salvia officinalis* (adaçayı), kekik ve nane gibi mutfak otları (yemek yapmada

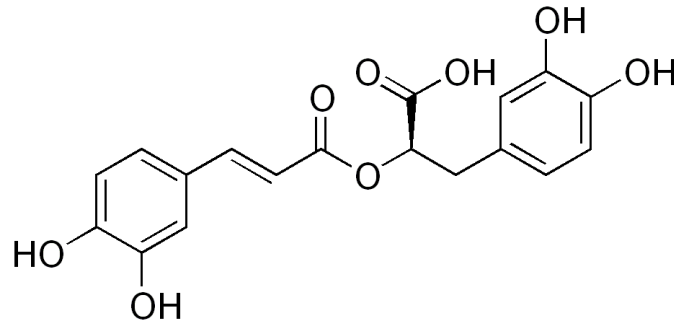
kullanılan) olarak yaygın kullanılan türlerde bulunur. *Maranta* ve *Thalia* cinsleri gibi Marantaceae familyasındaki bitkilerde de bulunur [8].

Rosmarinik asidin biyosentezi, 1-fenilalanin ve l-tirozin amino asitleriyle başlar. Kimyasal olarak RA, 3,4-dihidroksifenillaktik asitli bir kafeik asit esteridir, fakat biyolojik olarak 4-koumaroil-4'-hidroksifeniltattan oluşur. Biyosentezde yer alan sekiz enzimin (4-koumaroil-KoA, rosmarinat sentaz vb.) tümü bilinmektedir ve biyosenteze katılan genlerin birçoğunun cDNA'ları izole edilmiştir. *Coleus blumei* veya *Salvia officinalis*'den elde edilen bitki hücre kültürleri, bitkinin kendisinden çok daha yüksek miktarlarda rosmarinik asit biriktirir (*hücre kuru ağırlığının %36'sına kadar*). Bu nedenle bitki hücre kültürleri ile rosmarinik asidin biyoteknolojik üretimi önerilmektedir [58].(Şekil 2.10)

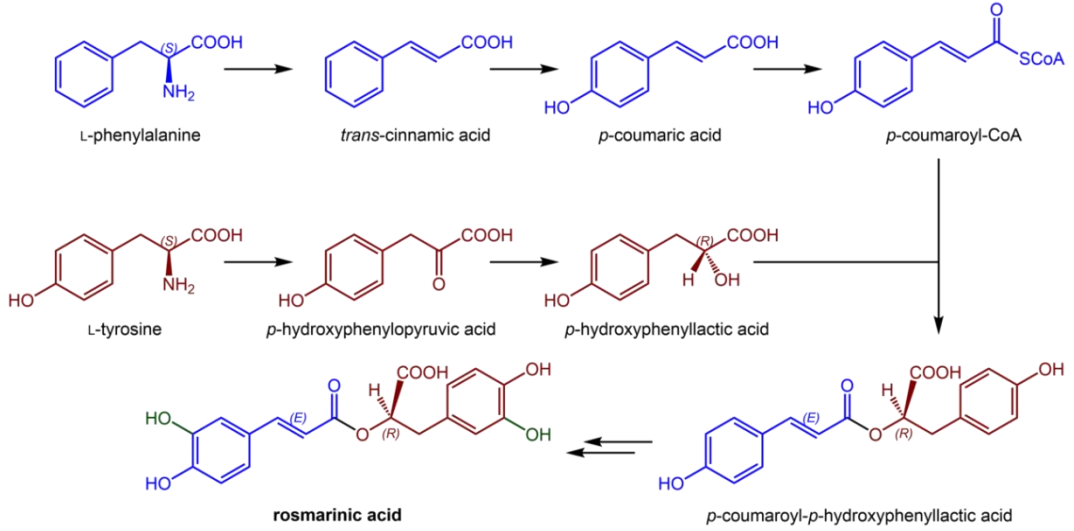
Rosmarinik asit ve litospermik asit, salvianolik asit, melitrik asit ve yunnaneik asit gibi kimyasal olarak türetilmiş bileşikleri, antitümör, antienflamatuar, antioksidan ve antiviral, antibakteriyel özellikleri nedeniyle farmakolojik bir öneme sahiptir. Tıbbi bitkilerde, diğer bitkilerde ve baharatlarda rosmarinik asidin bulunması faydalı ve sağlığı teşvik edici etkilere sahiptir. Bitkilerde, rosmarinik asidin önceden oluşturulmuş yapısal olarak biriken bir savunma bileşiği olarak işlev gördüğü düşünülmektedir [58].

Yukarıda belirtilen özelliklerinden dolayı RA, Alzheimer hastalığı, kardiyovasküler hastalıklar, atopik dermatit ve alerjileri tedavi etmek ve insan sağlığını desteklemek üzere diyetle eklenmeleri önerilmektedir [59]. Ayrıca RA, melanoma ve lösemi hücrelerini etkili bir şekilde inhibe edebilir ve karaciğer, kolon, meme ve mide gibi birçok organda tümör-kanser oluşumunu ve gelişimini baskılayabilir [60]. Bu kullanımlar nedeniyle, RA talebi son birkaç on yılda önemli ölçüde artmıştır. Bununla birlikte, RA'nın bulunduğu düşük miktarlarda ve doğal bitki kaynaklı malzemelerin sınırlı tedariki kullanılabilirliğini sınırlamıştır. Bu bileşiklerin mevcut oluş miktarı düşük olduğunda veya doğal kaynaklarından elde etmek zor olduğunda, biyoteknoloji ile bitki sekonder metabolitlerinin üretimi kompanse edebilir. Biyoteknolojik yolla RA üretiminin alternatif yolları etkin bir şekilde kullanılmış ve çalışmalar devam etmektedir. Bitki doku kültürü, birçok laboratuvarında nispeten daha yüksek miktarlarda RA üretmek için etkili bir şekilde kullanılmıştır ve bu yol biyosentetik işlemlerin geliştirilmesi ve üretime dayalı büyük ölçekli biyoreaktörlerin kurulması gibi birçok avantaj sağlamıştır[8].

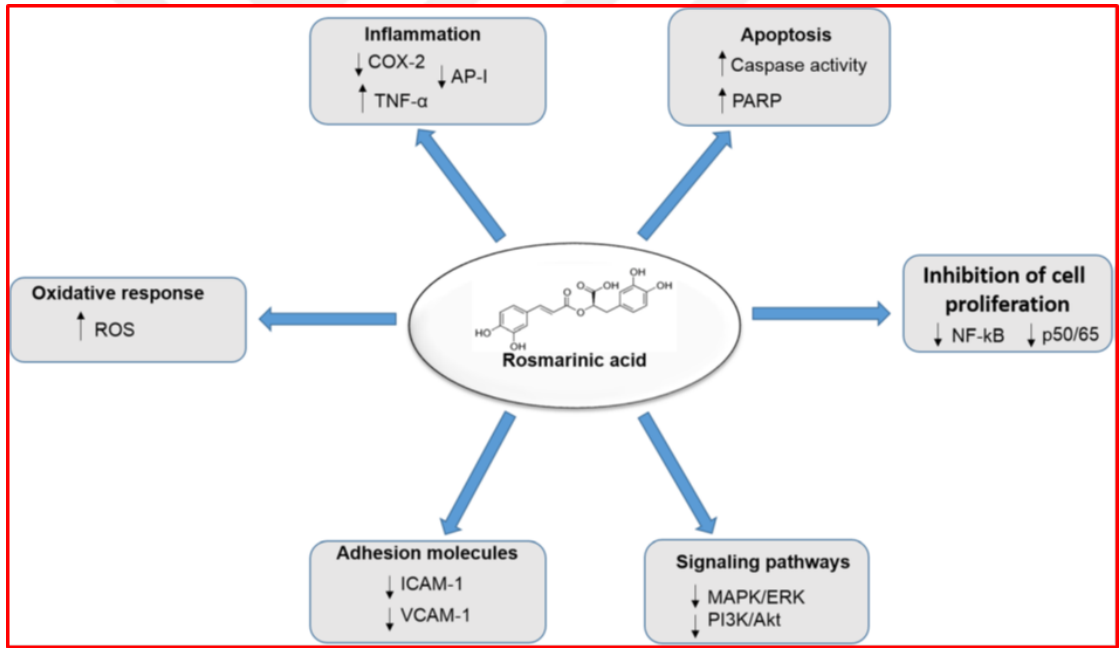
RA içeriğinde kaffeoil ve katekolmoieter vardır ve antioksidan, anti-enflamatuar, anti-alerjik, anti-depresif, anti-hiperglisemik ve anti-mikrobiyal etkiler gibi çeşitli biyolojik etkilere sahiptir. RA, kolon, cilt ve meme kanserleri gibi farklı kanser türleri üzerinde önemli tedavi edici etkilere sahip olabilir. RA etkili bir antioksidandır ve anti-enflamatuar özelliklere sahiptir. Ayrıca tümör gelişiminin çeşitli aşamalarında etki gösterdiği için ilgi çekici bir kemoterapötik bir ajandır. Antioksidan ve anti-enflamatuar etkilerin indüksiyonu, hem VCAM-1'in hem de ICAM-1'in ekspresyonu, ERK-sinyal yolunun aktivasyonu, β -catenin / TCF4 aktivitesinin indüklenmesi, anti-Warburg etkisi ve IL-6 / STAT3 ve MAPK / ERK yollarının baskılanması gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla kanser hücrelerinin büyümesi ve çoğalması RA tarafından inhibe edilir. Bitki kaynaklarından elde edilen RA verimi; iklim, hasat zamanı, tam çiçeklenme aşaması, bitki ontogenez aşaması, bitki depolama koşulları ve toprak özellikleri gibi faktörler nedeniyle bitkilerin türlerine, yetiştiği yerlere ve çevrelerine göre değişmektedir. RA'nın piyasadaki yüksek talebi, bitkilerin biyolojik çeşitliliği üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olup, doğada onu üreten bitkileri savunmasız bırakmaktadır. Bu problemlerden kaçınmak için RA kimyasal olarak sentezlenebilir ve bu türleri doğal ortamlarında kurtarmak için bitki hücre kültürleri metodu kullanılabilir. Bununla birlikte, biyoteknolojik yaklaşımlar avantajları nedeniyle bu amaç için daha uygundur [8]. (Şekil 2.10)



Şekil 2.9 : Rosmarinik asidin kimyasal yapısı [61].



Şekil 2.10 : Rosmarinik asidin biyosentezi [61].



Şekil 2.11 : Rosmarinik Rosmarinik asidin anti-kanser moleküler mekanizmaları.

COX-2: siklooksijenaz-2; TNF-a: tümör nekroz faktörü-a; AP-1: aktivatör protein-1; PARP: poli (ADP riboz) polimeraz; NF-kB: nükleer transkripsiyon faktörü-kappa B; p50 / p65 (heterodimer): transkripsiyon faktörleri; ERK: hücre dışı sinyal düzenlenmiş protein kinaz; MAPK / ERK: mitojenle aktiveleştirilen protein kinaz; PI3K / Akt: fosfatidilinositol 3-kinaz Akt (protein kinaz B); ICAM-1: hücreler arası yapışma molekülü-1; VCAM-1: vasküler hücre yapışma molekülü-1; ROS: reaktif oksijen türleri [8].

2.7 Kürkürmin

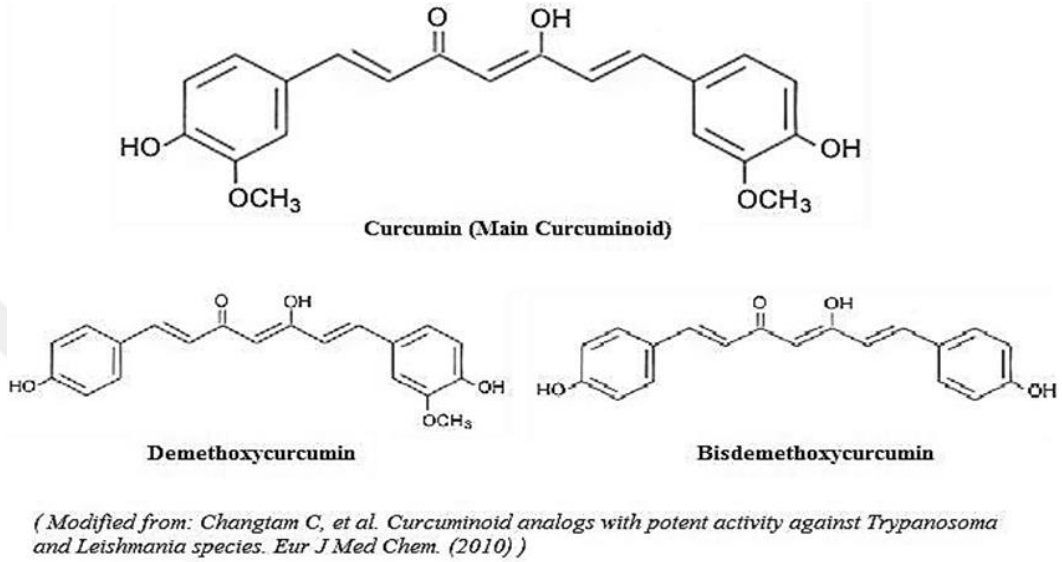
Kürkürmin, ‘zerdeçal’ olarak da bilinen *Curcuma longa* Linn bitkisinin rizomlarından izole edilen başlıca biyoaktif bir hidrofobik polifenoldür . Kürkürmin, yüzlerce yıldır Çin tıbbında ve diğer Asya ilaçlarında geleneksel olarak geniş bir yelpazedeki farmakolojik aktivitelerden dolayı pek çok rahatsızlık için kullanılmıştır; metabolik ve enfeksiyöz hastalıklar, diyabet, sedef hastalığı, romatoid artrit, ateroskleroz, Parkinson, Alzheimer ve çeşitli kanser türleri bu hastalıkların başında gelmektedir. Yapılan araştırmalar kürkürminin antioksidan, anti-inflamatuar, antifungal, antibakterial ve antikarsinojenik aktiviteler sergilediğini göstermiştir [62]. Aynı zamanda kürkürmin trombosit agregasyonunu inhibe eder, trombozu bastırır, HIV virüsünün çoğalmasını engeller, yara iyileşimini hızlandırır, karaciğer hasarına, katarakt oluşumuna, pulmoner toksisiteye ve fibroza karşı koruyucudur. Bunların yanı sıra kürkürminin çeşitli hayvan modellerinde ve insan çalışmalarında çok yüksek dozlarda (12 g / gün) dahi son derece güvenli olduğu gösterilmiştir [63].

2.7.1 Kürkürmin yapısal ve kimyasal özellikleri

Kürkürmin, sarı-turuncu renkli boyar bir maddedir. Su ve eterde çözünmez. Etanol, dimetilsülfoksit ve diğer organik çözücülerde çözünür. Erime noktası 183 °C ve moleküler ağırlığı 368.37’dir. Ticari kürkürmin üç ana bileşen içerir: curcumin (% 77), demethoxycurcumin (DMC) (% 17) ve bisdemethoxycurcumin (BDMC) (% 3). Bu 3 bileşik curcuminoid olarak adlandırılır. Birkaç araştırma grubu bu üç analogun(curcuminoid) antioksidan, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antidiyabetik, antikarsinojenik ve kemopreventif faaliyetlerini araştırmış ve bunları tek tek veya karışım olarak kullanmıştır. Curcuminoidlerin oksidatif stresin indüksiyonunda rol oynadığı hidrosil radikaller, süperoksit radikaller, singlet oksijen, peroksil radikalleri ve peroksinitrit gibi serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) temizleyicileri olduğu gösterilmiştir [64].

Kürkürminin suda çözünürlüğü (<% 0.005 w / v) çok düşüktür ve yağ / su bölme katsayısı yüksektir.(logP = 3.1). Alkali ortamda hızlı bozunmaya uğrar, yarı ömrü birkaç dakikadır. Organik çözücülerde ışıl bozunmaya (photodegradation) uğrar. Bu özellikler kürkürminin kullanım alanını kısıtlar [65].

Kimyasal olarak, kürkümün, asidik ve nötr solüsyonlarda baskın bir keto formuna ve alkali ortamda stabil enol formuna sahip olan keto-enol tautomerliği sergileyen bis-R,alfa-doymamış beta-diketone olarak bilinen bileşiktir. İki o-metoksi fenol birimi, iki enon parçası ve bir 1,3-diketon \rightleftharpoons 1,3-keto-enol sistemi içerir.



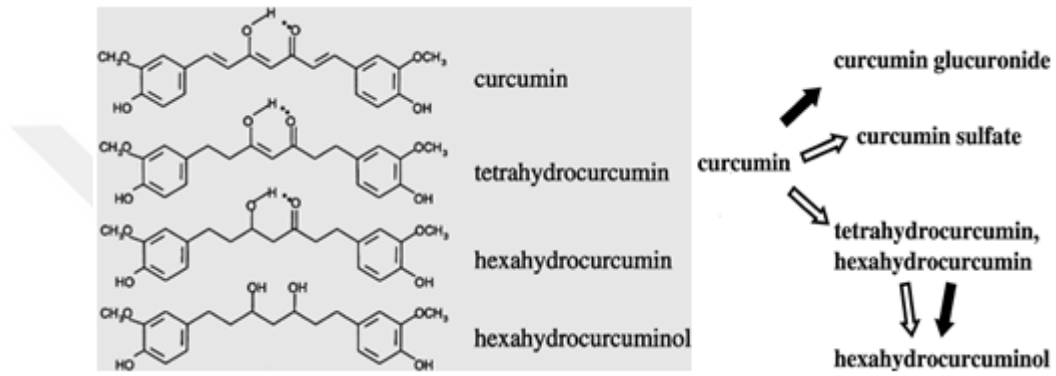
Şekil 2.12 : Curcuminoid analoglarının kimyasal yapıları.

2.7.2 Kürkümünin tayini

Curcuma longa L.'deki renkli bileşikler için tespit yöntemleri, turmeriğin floresans özelliğine dayanır. Bir numunedeki kürkümün içeriği, bir ekstraksiyon prosesinden sonra bir spektroflorimetre ile belirlenebilir. Tønnesen ve Karlsen, *Curcuma* örneklerinde bireysel curcuminoidlerin içeriğini belirlemek için HPLC yöntemlerini floresans algılama moduyla uygulamıştır [66]. Bitki materyalleri ya da insan ve hayvan plazması ve idrarda curcuminoidlerin miktarının belirlenmesi için mevcut HPLC yöntemleri, 10 ile 45 dakika aralığında çalışma sürelerine sahiptir. Hayvansal dokularda kürkümünin hızlı (<2 dk) kantitatif tayini için floresans algılama (HPLC-FD) ile sağlam, hassas ve doğru hızlı HPLC yöntemi de kullanılmaya başlanmıştır. Uyarıcı ve emisyon dalga boylarına sahip Floresan Dedektörü(FD), curcumin için 420 ve 470 nm aralığında tayin edilir [67].

2.7.3 Kürkürminin in-vivo metabolizma mekanizması

Oral olarak alınan kürkürminin adsorpsiyonundan sonra heptadienedion zincirindeki çift bağların indirgenmesi çeşitli metabolitlerin üretilmesine yol açar. Alkol dehidrojenaz karaciğerdeki kürkürmini tetra ve heksahidro kürkürmine indirger ve henüz tanımlanmamış mikrozomal bir enzim di ve oktahidro kürkürmin oluşumuna yol açar. Kürkürmin ve indirgenmiş metabolitler glukuronidasyona uğrarlar ve kürkürmin glukuronid ve kürkürmin sülfata dönüşür [65].



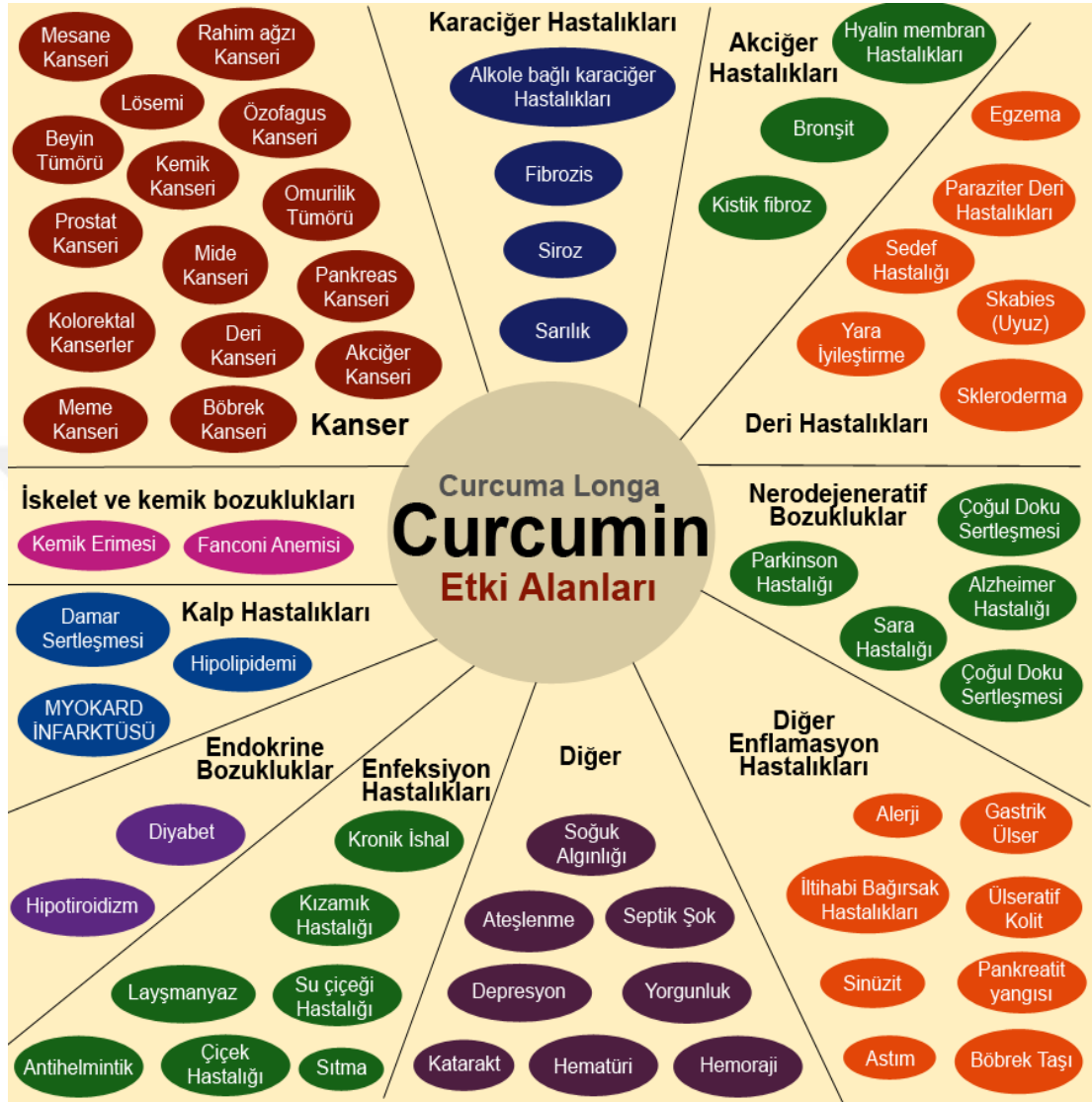
Şekil 2.13 : Kürkürminin in-vivo metabolizasyonu [68].

2.7.4 Kürkürminin endikasyonları

İnsanlardaki çeşitli hastalıklara karşı kullanılabilen ve nutrasötik bir madde olan kürkürminin (diferuloylmethane) farmakokinetiği, güvenilirliği ve etkinliğini ele alan kapsamlı klinik araştırmalardan umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Kanser, kardiyovasküler hastalık, artrit, üveit, ülseratif proktit, Crohn hastalığı, ülseratif kolit, irritabl bağırsak hastalığı, tropik pankreatit, peptik ülser, mide ülseri, idiyopatik orbital inflamatuvar psödötümör dahil olmak üzere çeşitli pro-inflamatuvar hastalıklar karşı etkili olduğu saptanmıştır.

Bunların yanı sıra oral liken planus, gastrik enflamasyon, vitiligo, sedef hastalığı, akut koroner sendrom, ateroskleroz, diyabet, diyabetik nefropati, diyabetik mikroangiopati, lupus nefriti, böbrek rahatsızlıkları, edinilmiş immün yetmezlik sendromu, Alzheimer hastalığı, β -talasemi, biliyer diskinezi, Dejerine-Sottas hastalığı, kolesistit, ve kronik bakteriyel prostatit hastalarında da terapötik etkinliği

olduğu biliniyor. Ayrıca kürkümün kronik arsenik maruziyetine ve alkol zehirlenmesine karşı koruma da göstermiştir [69].



Şekil 2.14 : Kürkümün Endikasyon Alanları [70].

2.7.5 Antikanser olarak kullanım

In vitro ve in vivo çalışmalar, kürkümünün çeşitli kanser tiplerine karşı kimyasal önleyici ve kemoterapötik etkilere yol açtığını göstermiştir. Kürkümün cilt, serviks, akciğer, prostat, meme, yumurtalık, mesane, karaciğer, gastrointestinal sistem, pankreas ve kolorektal epitel kanserlerinin yanı sıra lösemi, lenfomalar, multipl miyelom, beyin kanseri ve melanoma üzerinde antikarsinojenik etkiler sergiler.

Kürkümün kanser hücrelerini kemoterapi ve radyasyona karşı duyarlı hale getirirken normal hücreleri ve beyin, bağırsak, karaciğer, böbrek, oral mukoza, kalp, dalak gibi

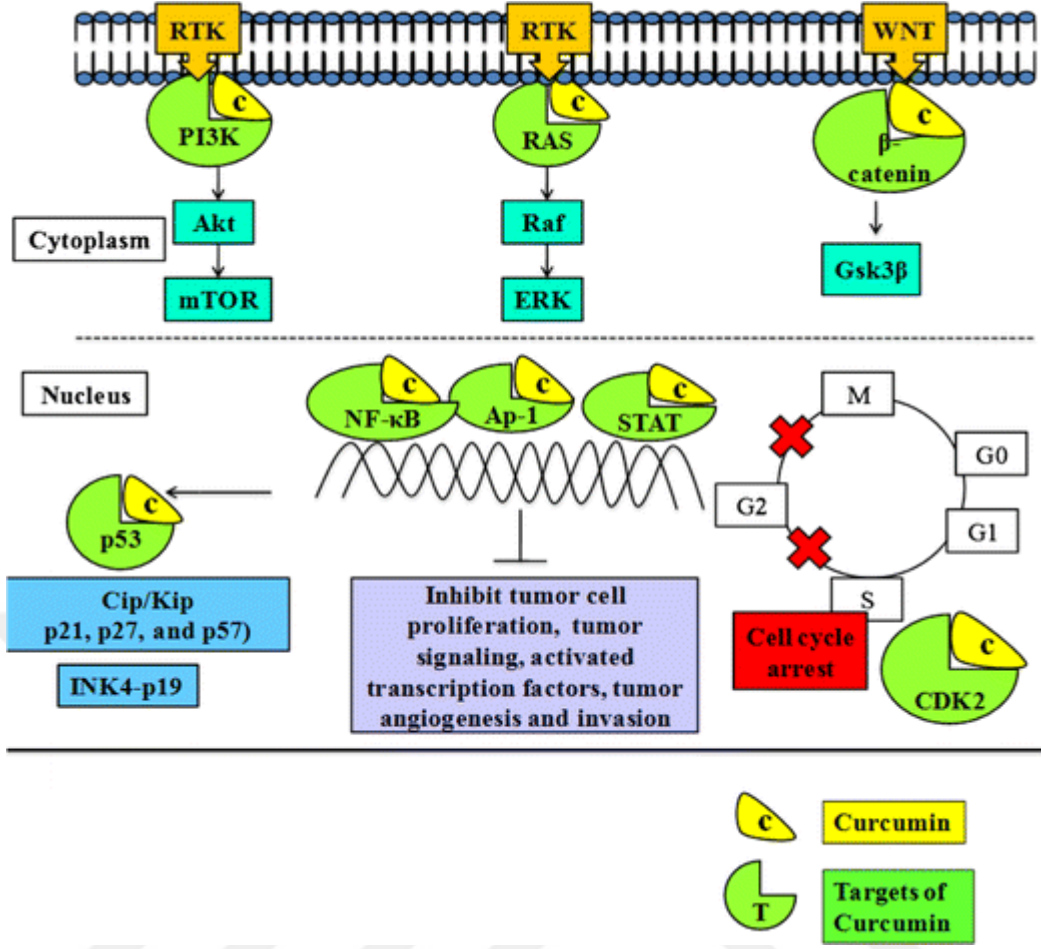
organları oksidatif strese, kemoterapiye ve radyoterapiye bağı toksisiteye karşı koruyabilir. Kürkümünün sağladığı bu avantaj antikanser ilaç olarak kullanımında tercih edilmesinin başlıca sebeplerinden biridir [62].

Kürkümün'in antikanser etkilerinin öncelikle kanser hücrelerindeki apoptotik yolların aktivasyonundan ve aynı zamanda inflamasyon, anjiyogenez ve tümör metastazı gibi tümör mikro-ortamlarının inhibisyonundan kaynaklandığı bilinmektedir. Kapsamlı çalışmalar kürkümünün p53, Ras, PI3K, AKT, Wnt-β katenin, mTOR ve benzeri gibi birçok terapötik açıdan önemli kanser sinyal yollarını hedeflediğini göstermiştir.

Kürkümün çok çeşitli tümör hücrelerinin proliferasyonunu baskılar, transkripsiyon faktörleri NFκ B, AP-1 ve Egr-1'i aşağı regüle eder; COX2, LOX, NOS, MMP-9, uPA, TNF, kemokinlerin, hücre yüzeyi adezyon moleküllerinin ve siklin D1'in ekspresyonunu; büyüme faktörü reseptörlerini (EGFR ve HER2 gibi) aşağı-regüle eder; ve c-Jun N-terminal kinaz, protein tirozin kinazlar ve protein serin / treonin kinazların aktivitesini inhibe eder.

2.7.5.1 Kanser tedavisinde Kürkümün'nin moleküler hedefleri

Kürkümün çok çeşitli tümör hücrelerinin proliferasyonunu baskılar, transkripsiyon faktörleri NFκ B, AP-1 ve Egr-1'i aşağı regüle eder; COX2, LOX, NOS, MMP-9, uPA, TNF, kemokinlerin, hücre yüzeyi adezyon moleküllerinin ve siklin D1'in ekspresyonunu; büyüme faktörü reseptörlerini (EGFR ve HER2 gibi) aşağı-regüle eder; ve c-Jun N-terminal kinaz, protein tirozin kinazlar ve protein serin / treonin kinazların aktivitesini inhibe eder.



Şekil 2.15 : Molecular targets of curcumin for cancer therapy

a) Kürkümün'in CDK / siklin kompleksleri ve CDK inhibitörleri üzerindeki etkisi:

CDK'lar (Cyclin-dependent kinases), ilgili siklin ortağı ile bir kompleks oluşturarak hücre döngüsü ilerlemesini kontrol eden serin / treonin kinazlardır. Malign hücrelerde, CDK'ların değiştirilmiş ekspresyonları, siklinlerin fazla sentezlenmesi ve CDK inhibitörlerinin ekspresyonunda kayıplara sebep olur.

Serbestleşmiş CDK aktivitesi, kanser hücreleri için seçici bir büyüme avantajı sağlar. Çeşitli çalışmalar, kürkümünin CDK aktivitesini hedef aldığını ve tümör progresyonunu baskıladığını belgelemiştir. Son zamanlarda yapılan bir çalışma, kürkümünin kolon kanseri hücrelerinde CDK2 protein fonksiyonunun aşırı ekspresyonunu doğrudan hedeflediğini göstermiştir [65].

b) Kürkümün'in p53 yolağına etkisi

p53 hücre proliferasyonu, DNA hasarı, apoptoz ve benzerleri dahil olmak üzere çok çeşitli hücresel süreçleri yöneten en önemli tümör baskılayıcı proteinlerden biridir. p53, çoğu kanser türünde sıklıkla mutasyona uğramış TP53 geni tarafından kodlanır. Bu mutasyon, hücre proliferatif kontrolünün, DNA kontrol noktalarının, DNA tamir mekanizmalarının, hücre ölümünün kaybına yol açan p53'ün doğal fenotip aktivitesinin kaybına yol açar.

Bu karakteristik özellikler kanser hücrelerinin ölmelerini engeller. Bu nedenle p53'ün işlevinin geri kazanılması kanser tedavisinde etkin bir terapötik fırsattır. P53 işlevinin geri kazanılmasında en etkili terapötik ajanlardan biri kürkümindir. Kürkümin, p53'e bağlı ve p53'ten bağımsız yollarla çeşitli kanser hücrelerinde apoptozise neden olur [65].

c) Kanser hücresi sinyal yolağında kürkümin hedefleri

Hücre sinyal yolları kendi içlerinde bağlantılıdır ve insan vücudunda çok geniş fonksiyon alanına sahiptir. Sinyal iletimini sağlayan proteinlerin ekspresyonları değiştirilerek kanser hücrelerinin proliferasyonunun kontrol altında tutulması amaçlanır.

Ras, fosfoinositid 3kinaz (PI3K), EGFR, (mTOR), Akt, NF-κB, INT-1 (Wnt) ve mitojenle aktive edilmiş protein kinazlar (MAPK) gibi proteinler, genellikle kanserli dokularda deregüle edilir. Bu nedenle, kanser sinyal yollarındaki anahtar moleküllerin hedeflenmesi, kanser tedavisinde terapötik bir sonuç sağlayabilir.

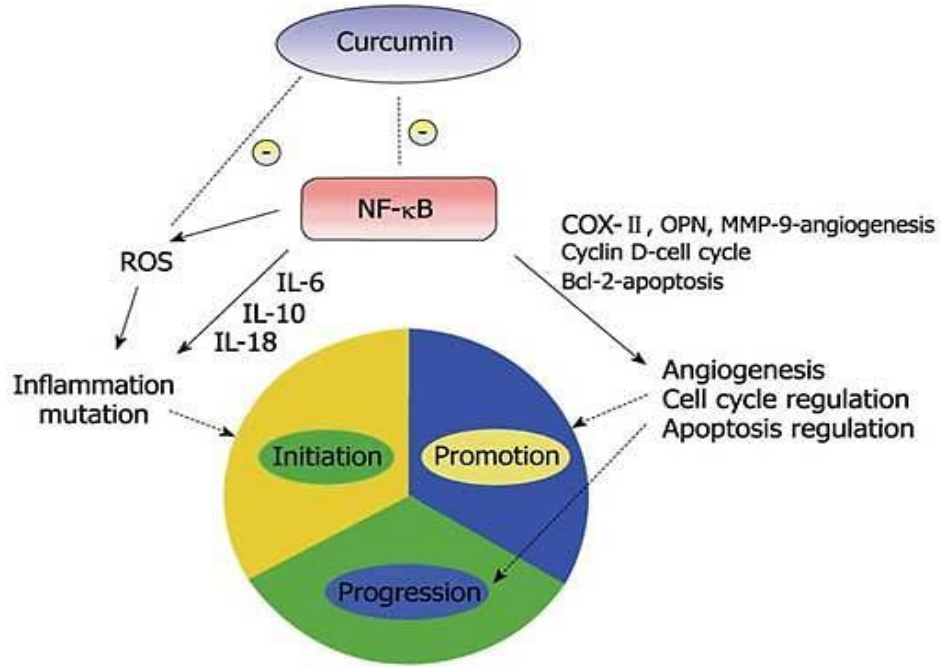
Kürkümin **Ras** onkojenik yolağında terapötik bir rol oynar. Kürküminin moleküler mekanizması incelendiğinde, Ras proteininin aşağı regülasyonuna ve **ERK**'nın yukarı regülasyonuna yol açtığı görülmüştür. Buna dayanarak kürküminin RAS-ERK sinyal mekanizmasını ortadan kaldırarak AGS mide kanseri hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği ileri sürülmüştür. Kürküminin Ras'ın aşırı eksprese edildiği kanser vakalarında güçlü bir terapötik ajan olabileceğini düşündüren bir çok çalışma mevcuttur.

Kürküminin çeşitli tümör modellerinde **PI3K / AKT** sinyal transdüksiyon yolağını inhibe ettiği gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada kürküminin Burkitt lenfoma hücre

hattında, PI3K / AKT yolağının radyasyonla başlatılan aktivasyonunu inhibe ederek radyasyona bağlı apoptozu artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, aynı zamanda PI3K / AKT yolağının aşağı akış hedeflerinden biri olan NF-κB proteininin ekspresyonunu aşağı doğru regüle ettiği gösterilmiştir. Kürküminmalign hücrelerde güçlü bir PI3K / AKT / mTOR inhibitörü olabilir.

Wnt, β-katenin bağımlı ve bağımsız mekanizmalar aracılığıyla çoklu sinyal yollarını düzenleyen bir glikoprotein ailesidir. Hücre metabolizmasının gelişiminde, hücrenin varlığını sürdürmesinde çok önemli bir rol oynar. Wnt / βcatenin sinyallerinin düzgün regüle olmaması ve hiperaktivasyonu hücre kanserleşmesine sebep olur. Wnt / β-katenin sinyal yolunu hedeflemek kanser tedavisinde etkili bir yaklaşımdır. Yapılan çalışmalar kürkümin ve analoglarının Wnt / β-katenin sinyal yolağının güçlü modülatörleri olabileceğini göstermiştir [71].

d) Kanser transkripsiyon faktörleri üzerine kürkümin hedefleri



Şekil 2.16 : Kürkümin NF-κB'ye karşı inflamasyon ve proliferasyonun önlenmesinde etkindir [72].

Transkripsiyon faktörleri, birkaç genin ekspresyonunu kontrol etmede önemli rol oynayan proteinlerdir. Transkripsiyon faktörlerinin çoğu, normal fizyolojik koşullar

altında sıkı bir şekilde düzenlenir ve inaktiftir. Çok sayıda kanser dokusunda çeşitli transkripsiyon faktörünün ekspresyonunun düzensiz olduğu tanımlanmıştır. Transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ve inaktivasyonu, kanser gelişimini, hücre sağ kalımını, hücre proliferasyonunu ve tümör anjiyogenezini destekleyebilir.

Tümör gelişiminde anahtar rol oynayan önemli transkripsiyon faktörü aileleri; NF- κ B ve AP-1 aileleri, sinyal transduserler ve transkripsiyon aktivatörleri (STAT) aile üyeleri ve steroid reseptörleridir.

Yapılan araştırmalar kürkümünün NF- κ B ve AP-1 transkripsiyon faktörlerinin ailelerini bloke ederek HPV16 aracılı oral onkogenin baskılanması için terapötik potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Kürkümün NF- κ B'nin DNA bağlama kapasitesini bloke ederek bu etkiyi gösterir.

Kürkimin, PIAS-3'ün aktivasyonu yoluyla JAKSTAT sinyal mekanizmalarını baskılayarak over ve en dometriyal kanser hücreleri üzerindeki antineoplastik etkilerini sergiler, böylece STAT-3 fosforilasyonunun ve tümör hücresi büyümesinin zayıflamasına yol açar [65].

e) Tümör anjiyogenezinde ve metastazında kürkümün hedefi

Anjiyogenez fizyolojik bir mekanizma olup var olan damarlardan dallanarak yeni damarların oluşmasıdır. Kanserli hücrelerde anjiyogenezin rolü son derece önemlidir. Anjiyogenez, tümör hücrelerinin kontrolsüz büyümeleri için besin temin eder. Anjiyogenezin inhibe ederek kanserleşme baskılanabilir. Kürkümün de anjiyogenezin inhibisyonu üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olan en etkili maddelerden biridir. Son çalışmalar kürkümünün, anjiyogenez uyarıcıları ile tümör anjiyogenez sürecini modüle edebildiğini göstermektedir.

Metastaz, kanser hücrelerinin köken aldıkları bölgeden vücudun farklı doku ve organlarına yayılması, migrasyonudur. Kürkümün MMP-9 aktivitesini inhibe ederek, NF- κ B ve AP-1 aktivasyonunu baskılayarak kolon kanseri hücrelerinin migrasyonunu inhibe eder. Bu araştırmalar sonucunda, kürkümünün metastatik süreçte yer alan proteinleri hedef alabileceği ve metastatik onkolojik hastalıkların tedavisinde etkili bir ilaç olarak kullanılabilmesi düşünülebilir [65,73].

2.8 Nanoteknolojiye Giriş

Nanoteknoloji atomik, moleküler ve süper molekül düzeylerinde (nanometre boyutundaki maddelerle) çalışabilme becerisidir. Maddenin boyutunu ifade etmek için kullanılan nano cüce anlamına gelen Yunanca bir kelimedir. Nanometre 10-9 metredir. Nanoteknolojide partikül büyüklüğü çoğunlukla 1-100 nm arasındadır fakat bu aralıktaki her maddeye nano demek doğru değildir. Partikülün boyutunun yanı sıra kazandığı özellik de maddenin nanopartikül olup olmadığını belirlemede önemlidir. Nanoteknoloji nano boyutta fonksiyonel ürün üretilmesini ve bu ürünlerin ölçülmesini amaçlar. 21. yüzyılda nanobiyoteknoloji alanında yapılan çalışmalar ilaç üretiminde yeniliklerin önünü açmıştır [74].

2.9 Nano İlaç Taşıyıcı Sistemler

Nanoteknoloji alanının gelişmesiyle birlikte konvansiyonel ilaçlarda yaşanan sorunları önlemek adına nano-ilaçlar üretilmeye başlanmıştır. İlaç nanoformülasyonları (nano-ilaç) kontrollü salım, hedeflendirilmiş salım ve terapötik etkinliği sebebiyle konvansiyonel ilaçlara göre daha üstündür.

Nano-ilaç olarak kullanılan biyolojik olarak bozunabilir nanoparçacıklar biyoaktif moleküllerin ve suda çözünen/çözünmeyen ilaçların biyoyararlanımını, çözünürlüğünü ve vücutta tutulma süresini artırarak terapötik etkinliği artırır. Nanopartikül ilaç formülasyonu hasta masraflarını ve toksisite riskini azaltır.

İlaçların (nano-ilaç) nanoenkapsülasyonu, ilaçların etkinliğini, özgünlüğünü, tolere edilebilirliğini ve terapötik etkinliğini artırır. Nano-ilaçların erken bozunma ve biyolojik çevreyle etkileşimden korunması, seçilen bir dokuya emilimin artırılması, biyoyararlanımı, alıkonma süresi ve hücre içi penetrasyonun iyileştirilmesi gibi birçok avantajı vardır.

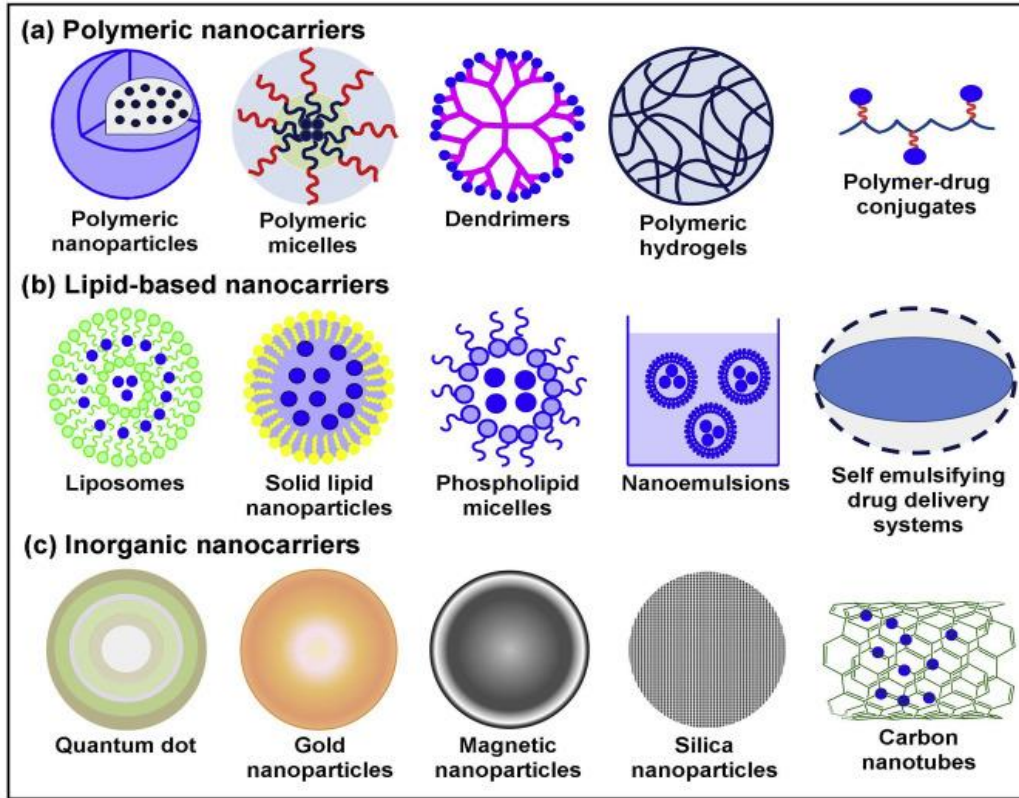
Nano-ilaçların hedefleme yetenekleri partikül boyutu, yüzey yükü, yüzey modifikasyonu ve hidrofobiklikten etkilenir. Bununla birlikte nanoparçacıkların boyut ve boyut dağılımları bu nanoparçacıkların hücre zarı ile olan etkileşimlerini ve bunların fizyolojik ilaç bariyerlerinden penetrasyonlarını belirlemek için önemlidir. Biyolojik bariyerlerden geçen nanoparçacıkların boyutu dokuya, hedef bölgeye ve dolaşıma göre ayarlanır [75].

İdeal bir hedefleme sistemi uzun süre dolaşım süresine sahip olmalı, hedef bölgede uygun konsantrasyonlarda bulunmalı ve dolaşımdayken etkinliğini veya terapötik etkinliğini kaybetmemelidir. Çeşitli nanosistemler, daha büyük boyutların bir sonucu olarak, normal ilaçlardan daha yüksek konsantrasyonlarda biriktirilir. Buna ek olarak, artmış vasküler geçirgenlik, tümörlerde lenfatik drenajın bozulması ile birleşince, nanosistemlerin tümörlerde veya iltihaplanan dokularda geçirgenlik ve kalıcılık etkisi artar [76].

İlaç taşıyıcı sistemler tasarlanırken biyoaktif maddelerin gastrik dayanıklılığının kısa süreli olması, zayıf çözünürlük, düşük geçirgenlik, zayıf stabilitesi ile ilişkili sorunları aşmak için ve irritans veya toksisite gibi yan etkileri azaltmak için tasarlanırlar. İlaç taşıyıcı sistemlerin kullanılmasının amacı genel olarak biyoaktif maddenin insan vücudunda oral biyoyararlanımını ve biyoaktivitesini arttırmaktır.

Biyoaktif maddenin etrafında partikül merkezli kapsülleme sistemleri kullanarak fiziksel bir bariyer oluşturulması stabilite, dağılım ve biyoyararlanım özelliklerini artırabilir. Buna ek olarak, belirli bir biyolojik yanıtı ortaya çıkarmak için biyoaktif maddelerin gastrointestinal sistem içindeki yerini ve salınım oranını kontrol etmek önemlidir.

Kapsül formülasyonlarında yer alan materyaller ve kapsülleme metodları kapsülün formunu, boyutunu, şeklini ve salım özelliklerini belirlemede önemlidir [77].



Şekil 2.17 : Nano İlaç Taşıyıcı Sistemler [79,80].

2.9.1 Lipozomlar

Lipozomlar iki katmanlı lipit membrandan oluşan, iç kısımlarında ve tabakalar arasında sulu faz bulunduran, küresel şekilli, boyutu 30-50 nm arasında olan kapalı veziküllerdir. Yapısında doğal olarak oluşan kolesterol ve fosfolipidlerden oluşur, bu da onları biyolojik olarak parçalanabilir hale getirir. Lipozomlar amfifilik özelliktedir. Yapılarında bulunan hidrofilik baş kısmı dış yüzeyde, lipofilik kuyruk kısmı ise iç kısımda bulunur.

Lipozomlar çok yönlü yapıları, toksik olmamaları, immünojenik olmamaları ve tamamen biyolojik olarak parçalanabilmeleri nedeniyle en çok tercih edilen ilaç taşıyıcı sistemlerden biridir. Lipozom en çok yapısına polietilen glikol (PEG) eklenerek kullanılmıştır [80].

Lipozomların etki alanlarına ulaşması kan dolaşımından interstisyel boşluğa ekstrasvazyon yoluyla geçişiyle mümkündür. Lipozomlar, aktif ve pasif hedefleme stratejileri aracılığıyla belirli dokuları hedefleyebilir. Bunun nedeni, lipozomların yapısındaki iki katmanlı lipit membranın dış yüzeyine moleküllerin kolaylıkla bağlanarak hedef bölgede etkinlik göstermesidir [80].

2.9.2 Miseller

Miseller tek polimer zincire sahip amfifilik özellikte süper makromoleküllerdir. Misellerin 10 nanometre çapında çift katmanlı koruyucu bir tabakası vardır. Misellerini süper moleküler yapısı birçok avantaj sağlar. Vücutta spesifik hedefleme yapabilir ve kan dolaşımına katıldığında hidrofilik dış yüzeyindeki reaktif fonksiyonel kısımları korur.

İnsan vücudunda düşük toksisite gösterirler. Yüksek seviyeli su tutma özelliği sayesinde kanda uzun süreli dolaşıma sahiptir. Bu sayede böbrek kreatinlirensinin normal değerlerde seyretmesine ve fagositik yıkımın önlenmesinde etkilidir. Buna ek olarak, misellerin işlevselliği blok kopolimerlerin kimyasal yapılarını değiştirerek değiştirilebilir [81].

2.9.3 Nanoemülsiyonlar

Birbiri içinde karışmayan bir ya da daha fazla sıvıdan oluşan nano boyuta indirgenmiş heterojen karışımlara nanoemülsiyon denir. Düşük çözünürlüğe sahip nutrasötiklerin uygulanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Termodinamik stabilite, küçük küre boyutu, daha iyi çözündürme kapasitesi ve genellikle güvenli olarak bilinen yardımcı maddelerin (GRAS) kullanılması gibi bir çok avantajı vardır.

Yapılan çalışmalarda bu sistemin biyoyararlanımı GI sistemdeki koruyucu etkinin artırılması ve çözünürlüğün geliştirilmesiyle artırılmıştır. Ayrıca, misellerin nano boyutta olması lipofilik damlacık ve bağırsağın sulu ortamı arasındaki ara yüzey alanını artırır, böylece uygulanan nutrasötik maddenin GI sistem içindeki homojen dağılımını kolaylaştırır. Son zamanlarda, sürfaktan gibi yüzey aktif madde ve yağdan oluşan kendiliğinden emülsiyonlaşanizotropiknanoemülsiyonların değiştirilmiş formuna büyük ilgi olmuştur. Bu sistemler, nutrasötiklerinbiyoyararlanımını arttırmada önemli bir potansiyeli olduğunu göstermiştir.

Yapılan son çalışmalarda, 2-iminotiyolan ile modifiye edilmiş kitozan ile kaplanan kürküminnanoemülsiyonlarının doğal kürkümüne kıyasla biyoyararlanımda 33 kat artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışma kürküminbiyoyararlanımını arttırmada nano taşıyıcıların son derece etkin olduğunu göstermiştir [80].

2.9.4 Dendrimerler

Dendrimerler birbirini tekrarlayan monomerlerin dallanarak oluşturduğu üç boyutlu nanoskopikmakromoleküllerdir. Düşük polidispersite indeksine sahip olduğu için klasik polimerlerden farklıdır. Bu nano taşıyıcılar hücresel bariyerleri hem transsellüler hem parasellüler yollardan geçebilirler [82].

2.9.5 Nanojeller

Mikrojeller / nanogeller suda çözünen ve şişebilen polimer zincirlerden oluşan, hidrojel olarak da bilinen çapraz bağlı polimeriknano parçacıklardır. Nanojeller yüksek su içeriğine, taşıyıcı sistemde olması beklenen mekanik özelliklere sahiptir ve biyouyumludur.

Polimer esaslı ilaç dağıtım sistemleri (DDS) için eşsiz avantajlar sunar: boyut nanometreden mikrometreye ayarlanabilir, biyokonjugasyon için geniş bir yüzey alanına sahiptir ve biyomoleküllerin birleşmesinde ağ görevi görür. Nanojellerinstabilitesi kan dolaşımında uzun süre etkin olarak faaliyet göstermesine olanak sağlar. Nanojeller istenen süre boyunca ilaçların sürekli salımı için biyolojik olarak parçalanabilir özelliktedirler [83].

2.9.6 Karbon nanotüpler

Karbon nanotüpler (CNT'ler) birkaç nanometre kadar küçük bir yarıçapa sahip ve 5-550 nm uzunluğuna sahip silindir biçimli makromoleküllerdir.

Bu tüplerin duvarları grafit benzeri oluşan altıgen tek sıra karbon atomu kafesinden oluşur. Uçları fullerene benzeyen bir moleküle kaplıdır. CNT birçok silindirin konsantrik bir düzeninden oluşur. Bir nanotüpün yapısı kiral endeksler (n, m) ile gösterilen kiral vektörü vasıtasıyla tamamen belirlenebilir.

Mükemmel elektriksel özelliklerinin ötesinde, karbon nanotüpleri yüksek mekanik ve kimyasal stabiliteye sahiptir. İlaçların yüklenmesi ve salımı kolaydır. Uygulama açısından oldukça avantajlıdır [84].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Cihazlar

Tezde kullanılan cihazlar aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 3.1 : Tezde kullanılan cihazlar.

Cihaz	Marka	Model
Hassas Tartı	Precisa e	225SM-DR
Isıtma Tablası	IKA	C-MAG HS 7
Santrifüj	Hermle	Z326R
İnkübatörlü Çalkalayıcı	Stuart	SI500
Şırınga Filtreleri	SantaCruzUltraCruz®	SyringeFilter, MCE
Ultrasonikatör	EngineerLive	UIP1000
Otomatik Pipetler	Axygen,	VITLAB
Distile Su Cihazı	Nüve	ND 12
Deiyonize Su Cihazı	MerckMillipore	Milli-Q Integral
Isıtıcı Blok	Stuart	SBH130
Liyofilizatör	Labconco	FreezeDryer 23
Polimer Boyut Ölçüm Cihazı	Zetasizer	Nano-zs
-85 °C derin dondurucu	U410 premium	New Brunswick
Derin Dondurucu	Arçelik	2354 A+D
Çeker ocak	AssistLab	Standart çekerocak
Ultrasonik Banyo	Bandrlin	Sonorex

3.1.2 Kimyasallar

Tez çalışmasında kullanılan katı ve sıvı kimyasal maddeler aşağıda belirtilmiştir.

Tablo 3.2: Tez çalışmasında kullanılan katı ve sıvı kimyasal maddeler.

Malzemenin Cinsi	Ürün Kodu
Petroleum Ether For Denaturation (5 Lt)	Merck. 101769
Ethyl Acetate Extra Pure (2,5 Lt)	Merck. 100864
Methanol (2,5 Lt)	Merck. 106007
Potassium Chloride (1Kg)	Merck. 104936
Zinc Chloride Gr For Analysis (1 Kg)	Merck. 108816
Dichloromethane Gr For Analysis (2,5 Lt)	Merck. 106050
Aceton (2,5 Lt)	Merck. 100014
Tween 80 (500ml)	Merck. 822187
Paclitaxel 6 mg/ ml	Sindaxel 30 mg/ 5ml
Rosmarinic acid	ALDRICH 536954-5G
Quercetin	SIGMA Q4951-10G
Poly (D,L-lactide-co-glycolide)	SIGMA P2191-5G

3.1.3 Hücre soyu

MCF7 meme kanser hücre soyu AmericanTypeCulture Collection (ATCC)'den MCF7 (ATCC® HTB22™) kod ile satın alındı.

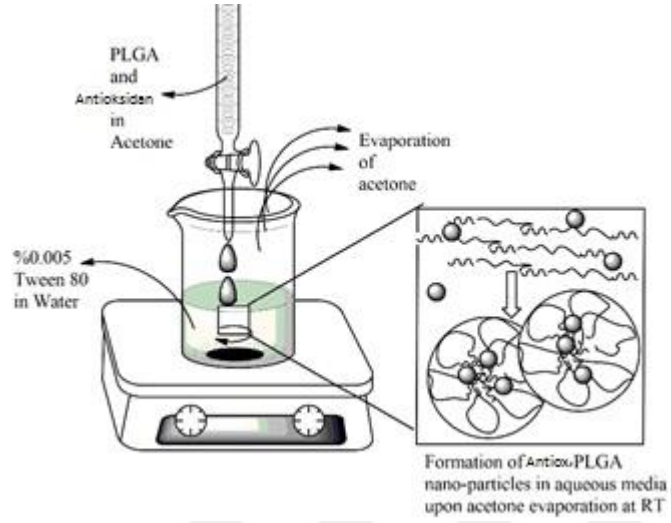
% 10 fetalbovine serumu (FBS), 0.01 mg/ml humanrecombinant insülin, % 1 penisilin içeren Dulbecco'sModifiedEagleMedium (DMEM) besiyerinde, 25 cm2 flasklarda kültüre edildikten sonra, hücreler yeterli yoğunluğa ulaşana kadar CO2 inkübatöründe (%5 CO2) 37 °C'de inkübe edilecektir. % 85-90 konfluent tek tabaka oluşturuncaya kadar çoğalan kültür %0.25 tripsin/EDTA ile tripsinize edilerek pasajlanmıştır. Çoğaltılan hücreler DMSO eklenerek, dondurulmuş ve sıvı azot içinde saklanmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Partikül oluşturma

50 mg PLGA 2.5 ml aseton içerisinde çözülür. Yapılan her tartımda bu miktarlar arasındaki oran sabit kalarak hesaplama yapılmalıdır. 4 mg Qercetin 2.5 ml asetonunda çözülür. Hazırlanmış olan PLGA – Aseton örneğinden 2.5 ml alınır. Örnekler karıştırılarak 5ml'lik bir konsantrasyon elde edilir. Elde edilen konsantrasyon bir enjektöre alınır. 20 ml'lik Tween 80 – Su konsantrasyonu magnetik karıştırıcı üzerine koyulur. İçerisine magnetik bir balık atılır. 5 mL'lik enjektördeki Qercetin – Aseton damla damla Tween 80 – Su içerisine ilave edilir. Agregat oluşumunun önüne geçmek için çözelti yavaş yavaş ilave edilmelidir. Magnetik karıştırıcı 250 rpm hızına ayarlanıp aseton tamamen ucana kadar çözelti üzerine bekletilir. Yaklaşık

olarak 12-18 saat sürebilir. Aynı işlem curcumin ve rosemarinic asit içinde tekrarlandı.



Şekil 3.1: Partikül oluşturma.

3.2.2 Tween 80 hazırlanması

19 ml distile su içerisine 1 ml Tween 80 eklenir. Bunun ardından 2. seyreltme yapılır. Hazırlanan örnekten 1 ml alınır ve 19 ml su içerisinde çözülür. Partikül oluşturma için kullanılacak olan 2 kez seyreltilmiş olan (Tween80-su) konsantrasyondur.

3.2.3 Stabilite çalışmaları

Tamamen donması için derin dondurucuda 24 saat bekleyen numuneler suyun uçması ve toz halde saf madde elde etme maksadıyla liyofilizatöre konulmuştur. Numuneler 0,407 Bar, - 118F sıcaklığında 24 saat liyofilizatörde kalmıştır. Liyofilize olan numuneler 4-8 hafta süresince buzdolabında (-20) tutulur. Toz halde ki numuneler, santrifüje konulduğu orandaki 1ml deiyonize saf su ya da PBS(fosfat buffersaline) ile “re-hydrate” edilip nano boyutları ölçülmüştür.

3.2.4 DLS ölçüm yöntemi

Hazırlanan numunelerin partikül boyutunu ölçmek için örnekler cam küvetlere lazer ışığın numuneye temas edebileceği miktarda aktarılır. Küvetler teker teker yaklaşık yarım saat öncesinden soğuması için çalıştırılan cihaza konur. Ölçüm yöntemi olarak belirli standartlar girilmektedir. Numunenin türü polimer, her bir küvet için 5 okuma 3'er dakika şeklindedir.

3.2.5.Hücre proliferasyonunun Sülförödamın B boyaması ile incelenmesi

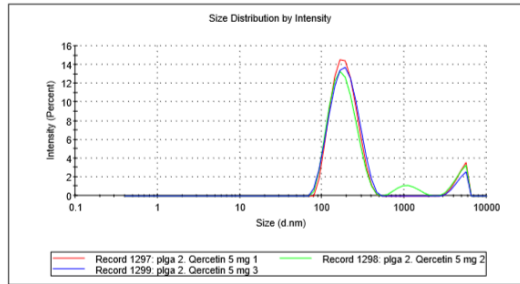
Şeffaf 96 kuyucuklu plakanın her bir kuyucuğuna 1×10^4 hücre olacak şekilde MCF7 (ATCC® HTB-22™) meme kanseri hücresi ekilmiştir. Tüm etken maddeler farklı konsantrasyonlarda çözünürlükleri kontrol edilerek, tamamen homojen bir şekilde hazırlanmıştır. Hücre kültüründe 3 farklı sonuca baktığımız için 30 µL paclitaxel alınıp 300 µL distile su ile tamamlanmıştır. 24-48-72 saat döngülerinde hücrelere verilmiştir. Paclitaxel ve quercetin 3 farklı şekilde hücreler üzerine eklenmiştir. Paclitaxel ve Quercetin hücreye aynı anda verilmiştir. Paclitaxel hücreye Quercetinden 1 saat önce verilmiştir. Quercetin hücreye Paclitaxelden 1 saat önce verilmiştir ve 24,48 ve 72 saat inkübe edilmiştir. Bu sürelerin sonunda hücrelerin üzerine besi yeri atılmıştır ve kuyucuklara 100 µL soğuk %20 (wt/vol) trikloroasetik asit (TCA) eklenerek +4°C de 30 dk. Boyunca fikse edilmiştir. Hücreler üzerindeki fiksasyon solüsyonu alınmıştır ve kuyucuklar soğuk su ile yıkandıktan sonra kurutulmaya bırakılmıştır. Kuyucuklar kuruyunca üzerine 100 µL %1'lik asetik asit içerisinde hazırlanmış %0.4 (wt/vol) Sulforhodamine B(Sigma-Aldrich, Almanya) boyası eklenmiştir ve 30 dk. Oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Fazla boyanın giderilmesi için hücreler %1'lik asetik asit ile en az 5 kere yıkanmıştır ve kurutulmaya bırakılmıştır. Proteine bağlı kalan boya 10 mM Tris tamponu (pH=10) içerisinde çözündürülmüştür ve spektrofotometre (Varioskan Flash, ThermoScientific, ABD) ile fotometrik olarak 510nm'de okunmuştur. Elde edilen değerlerin ortalaması alınmıştır, canlılık yüzdesi hesaplanmıştır ve etken madde uygulanamayan kontrol grubuna karşı canlılık yüzdesi grafiği oluşturulmuştur. Tüm sonuçlar grafikler ile sunulmuştur.

4. BULGULAR

Results

	Size (d.nm)	% Intensity:	St Dev (d.nm)
Z-Average (d.nm): 197,8	Peak 1: 196,0	93,4	72,41
Pdl: 0,287	Peak 2: 4818	6,6	716,3
Intercept: 0,910	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

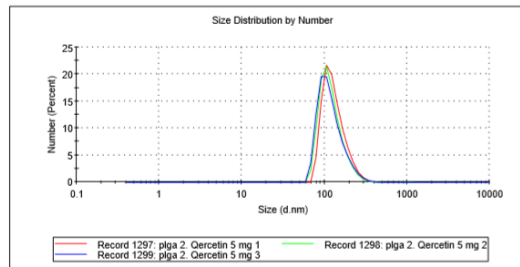
Result quality Good



Results

	Size (d.nm)	% Number:	St Dev (d.nm)
Z-Average (d.nm): 197,8	Peak 1: 121,8	100,0	45,67
Pdl: 0,287	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,910	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

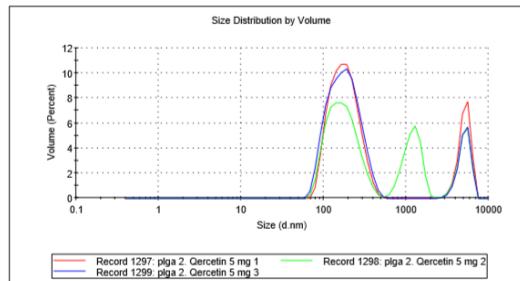
Result quality Good



Results

	Size (d.nm)	% Volume:	St Dev (d.nm)
Z-Average (d.nm): 197,8	Peak 1: 187,1	83,4	80,21
Pdl: 0,287	Peak 2: 5095	16,6	825,0
Intercept: 0,910	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality Good

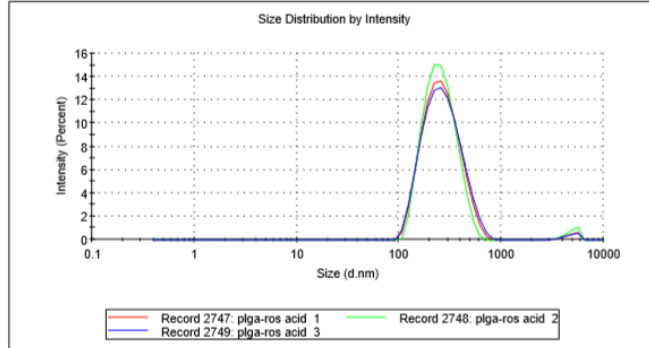


Şekil 4.1: PLGA – 5mg Quercetin formülasyonu.

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 245.2	Peak 1: 274.2	98.4	109.9
Pdl: 0.173	Peak 2: 4844	1.6	702.3
Intercept: 0.952	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

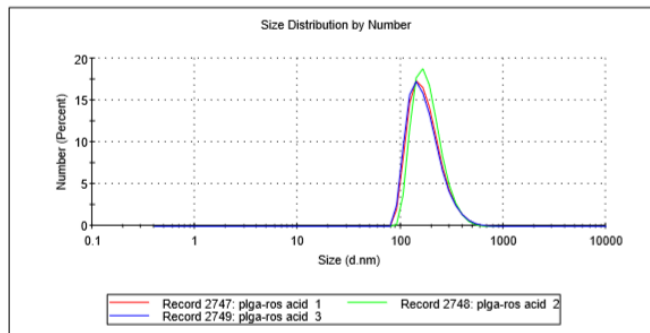
Result quality Good



Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d....
Z-Average (d.nm): 245.2	Peak 1: 181.8	100.0	71.87
Pdl: 0.173	Peak 2: 0.000	0.0	0.000
Intercept: 0.952	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

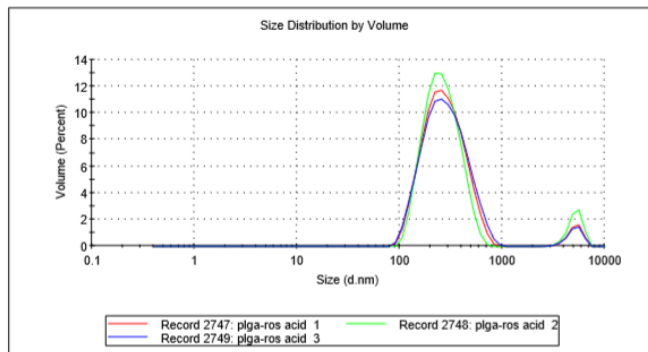
Result quality Good



Results

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 245.2	Peak 1: 290.1	95.3	129.0
Pdl: 0.173	Peak 2: 5111	4.7	815.8
Intercept: 0.952	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality Good

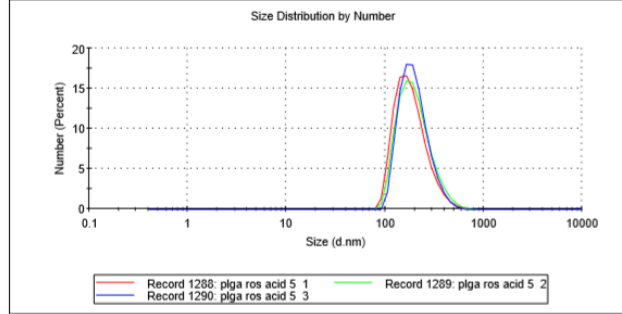


Şekil 4.2: PLGA – 2 mg Rosmarinic Acid formülasyonu.

Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d....
Z-Average (d.nm): 252,1	Peak 1: 203,1	100,0	71,23
Pdl: 0,147	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,948	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

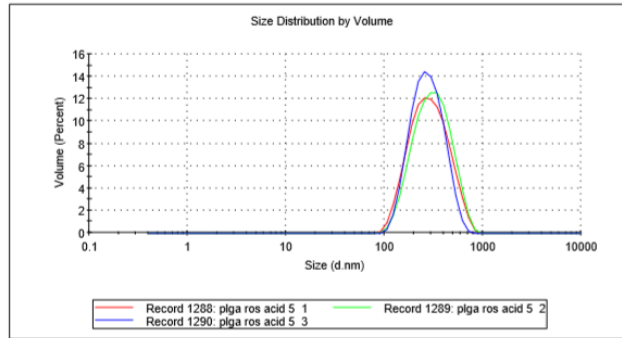
Result quality **Good**



Results

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 252,1	Peak 1: 287,0	100,0	106,9
Pdl: 0,147	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,948	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

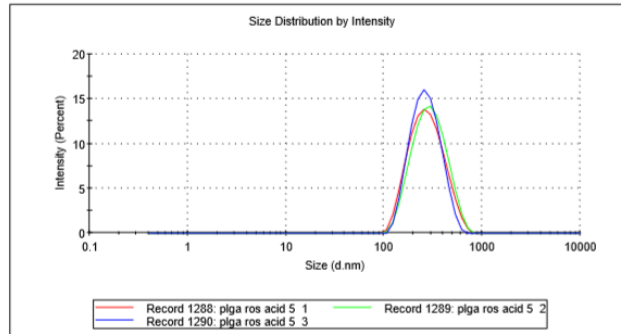
Result quality **Good**



Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 252,1	Peak 1: 275,6	100,0	93,98
Pdl: 0,147	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,948	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality **Good**

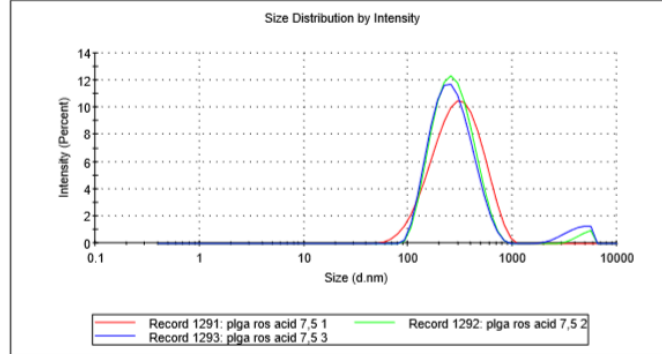


Şekil 4.3: PLGA – 5 mg Rosmarinic Acid formülasyonu.

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 254,1	Peak 1: 288,5	97,4	127,2
Pdl: 0,211	Peak 2: 4769	2,6	738,1
Intercept: 0,924	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

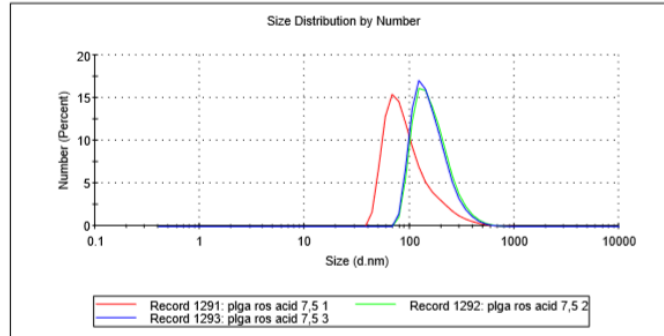
Result quality Good



Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d....
Z-Average (d.nm): 254,1	Peak 1: 172,3	100,0	76,69
Pdl: 0,211	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,924	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

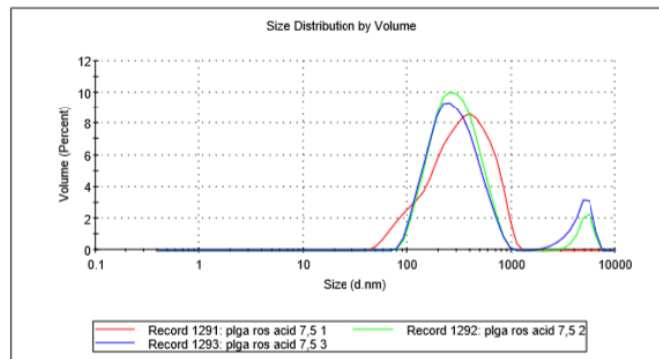
Result quality Good



Results

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 254,1	Peak 1: 313,5	93,2	155,8
Pdl: 0,211	Peak 2: 5061	6,8	841,4
Intercept: 0,924	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality Good

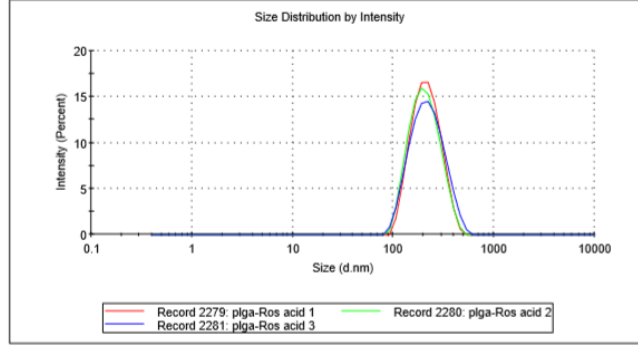


Şekil 4.4: PLGA – 7.5 mg Rosmarinic Acid formülasyonu. **yazı ortalanmalı**

Results

	Size (d.n.m)	% Intensity:	St Dev (d.n.m)
Z-Average (d.n.m): 199,4	Peak 1: 227,9	100,0	85,34
Pdl: 0,119	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,960	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

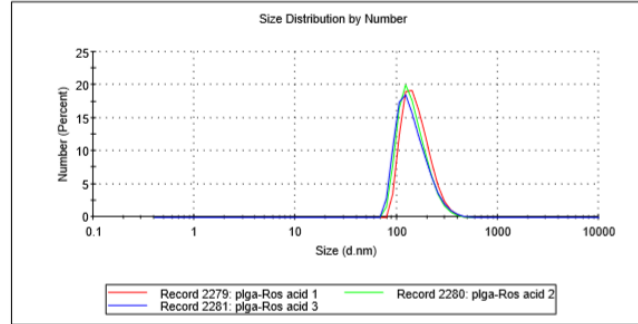
Result quality **Good**



Results

	Size (d.n.m)	% Number:	St Dev (d.n.m)
Z-Average (d.n.m): 199,4	Peak 1: 148,2	100,0	56,77
Pdl: 0,119	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,960	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

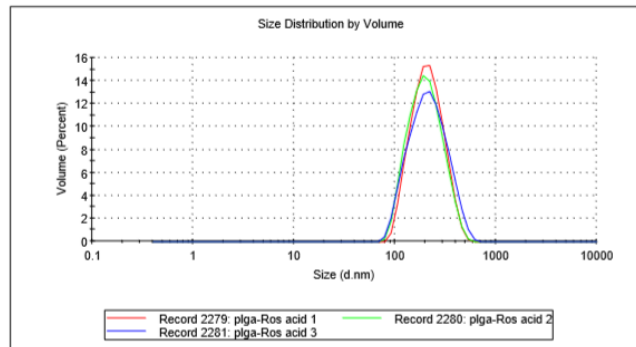
Result quality **Good**



Results

	Size (d.n.m):	% Volume:	St Dev (d.n.m):
Z-Average (d.n.m): 199,4	Peak 1: 228,2	100,0	95,93
Pdl: 0,119	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,960	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality **Good**

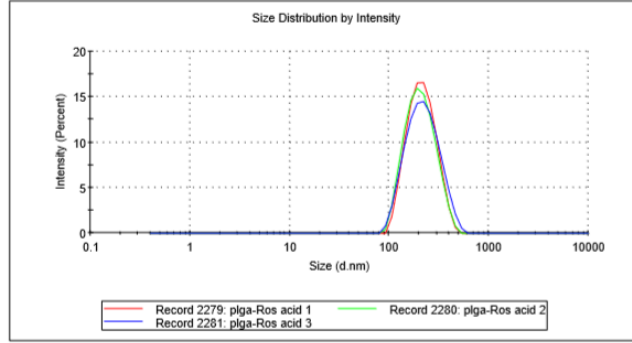


Şekil 4.5: PLGA – 5mg Rosmarinic Acid Formülasyonu MCF7 hücrelerine uygulamadan önce.

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 199,4	Peak 1: 227,9	100,0	85,34
Pdl: 0,119	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,960	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

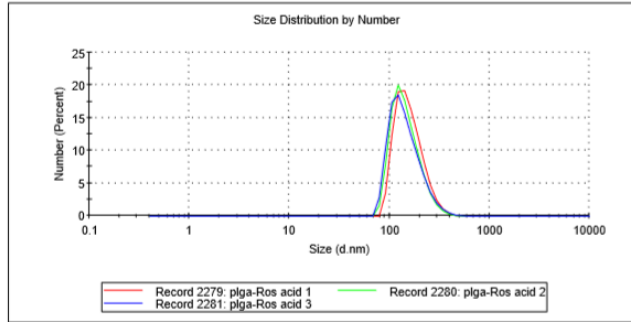
Result quality **Good**



Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d....
Z-Average (d.nm): 199,4	Peak 1: 148,2	100,0	56,77
Pdl: 0,119	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,960	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

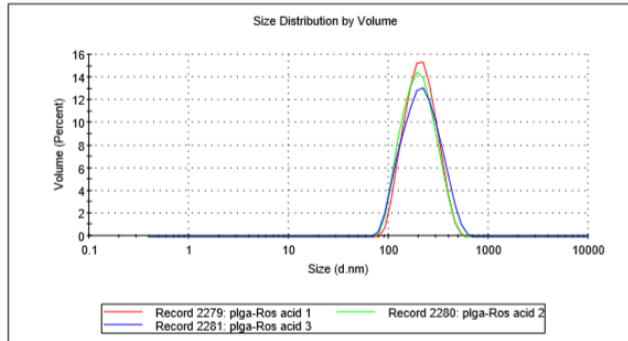
Result quality **Good**



Results

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 199,4	Peak 1: 228,2	100,0	95,93
Pdl: 0,119	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,960	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality **Good**

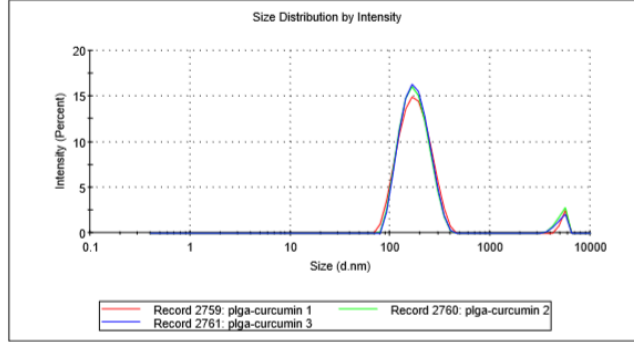


Şekil 4.6: PLGA – 5 mg Rosmarinic Acid Formülasyonu MCF7 hücrelerine uygulanmadan, 2. tekrar

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 184.1	Peak 1: 181.7	95.8	58.24
Pdl: 0.249	Peak 2: 5029	4.2	593.2
Intercept: 0.884	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

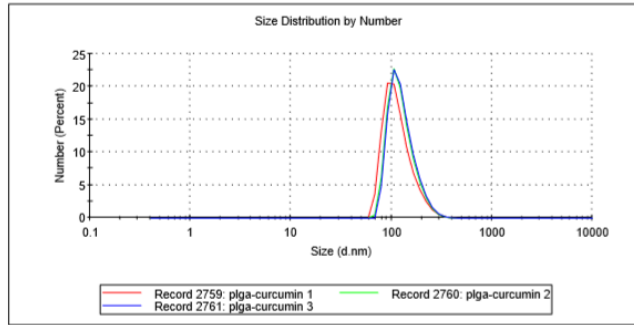
Result quality Good



Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d...
Z-Average (d.nm): 184.1	Peak 1: 129.8	100.0	41.19
Pdl: 0.249	Peak 2: 0.000	0.0	0.000
Intercept: 0.884	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

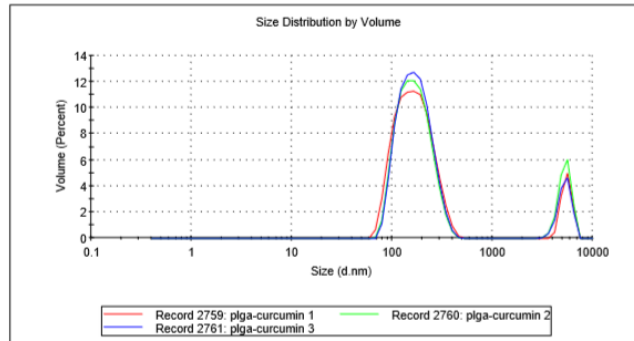
Result quality Good



Results

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 184.1	Peak 1: 174.9	87.8	63.80
Pdl: 0.249	Peak 2: 5230	12.2	751.3
Intercept: 0.884	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality Good

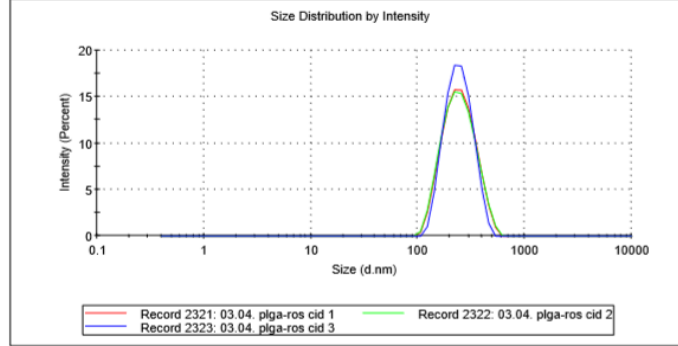


Şekil 4.7: PLGA – 2 mg Curcumin Formülasyonu.

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 229,7	Peak 1: 247,7	100,0	71,16
Pdl: 0,056	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,948	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

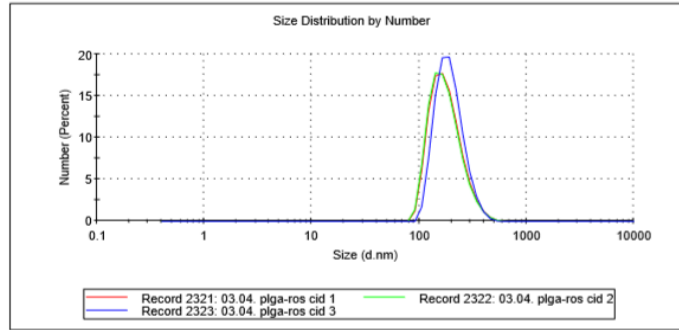
Result quality **Good**



Results

	Size (d.n...	% Number:	St Dev (d...
Z-Average (d.nm): 229,7	Peak 1: 196,9	100,0	59,98
Pdl: 0,056	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,948	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

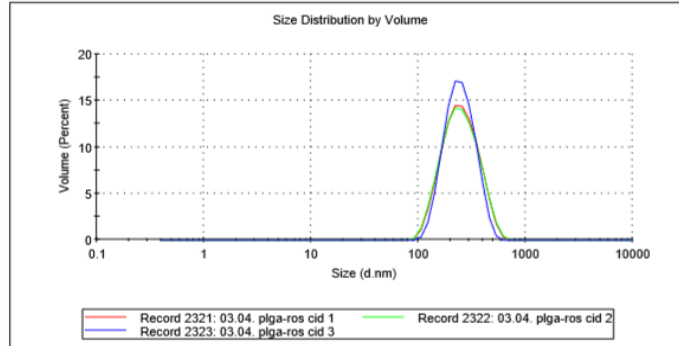
Result quality **Good**



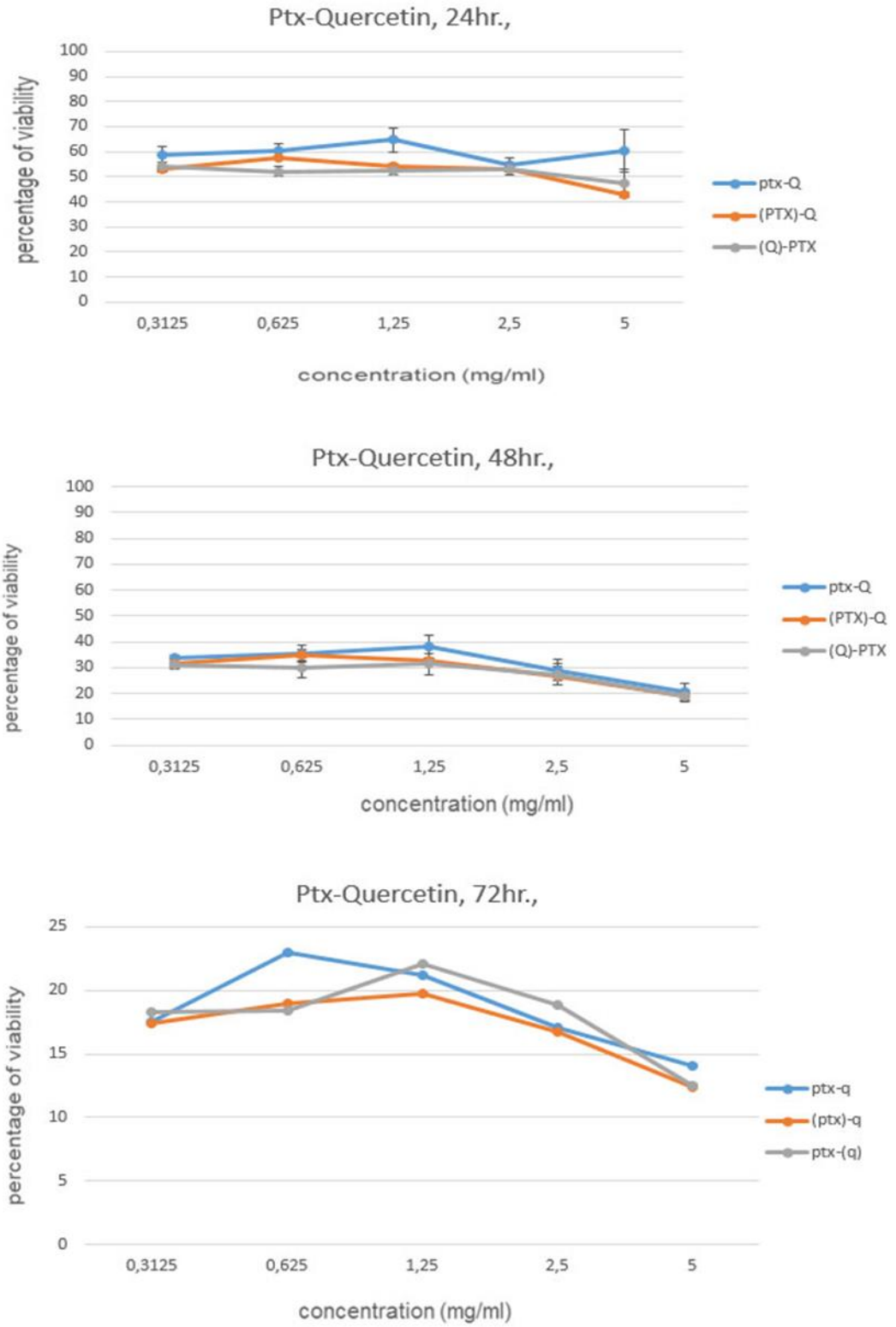
Results

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 229,7	Peak 1: 252,3	100,0	79,53
Pdl: 0,056	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,948	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

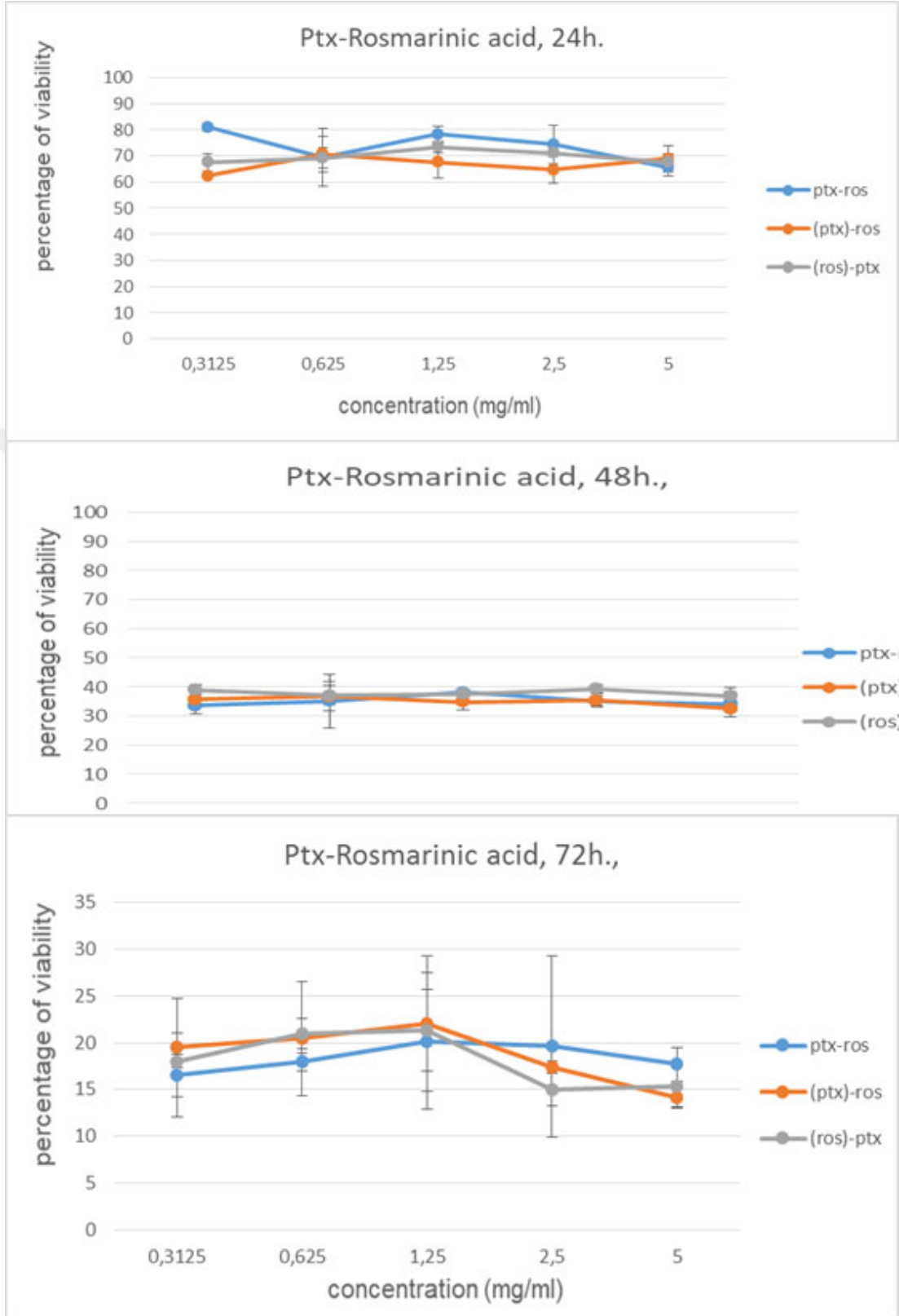
Result quality **Good**



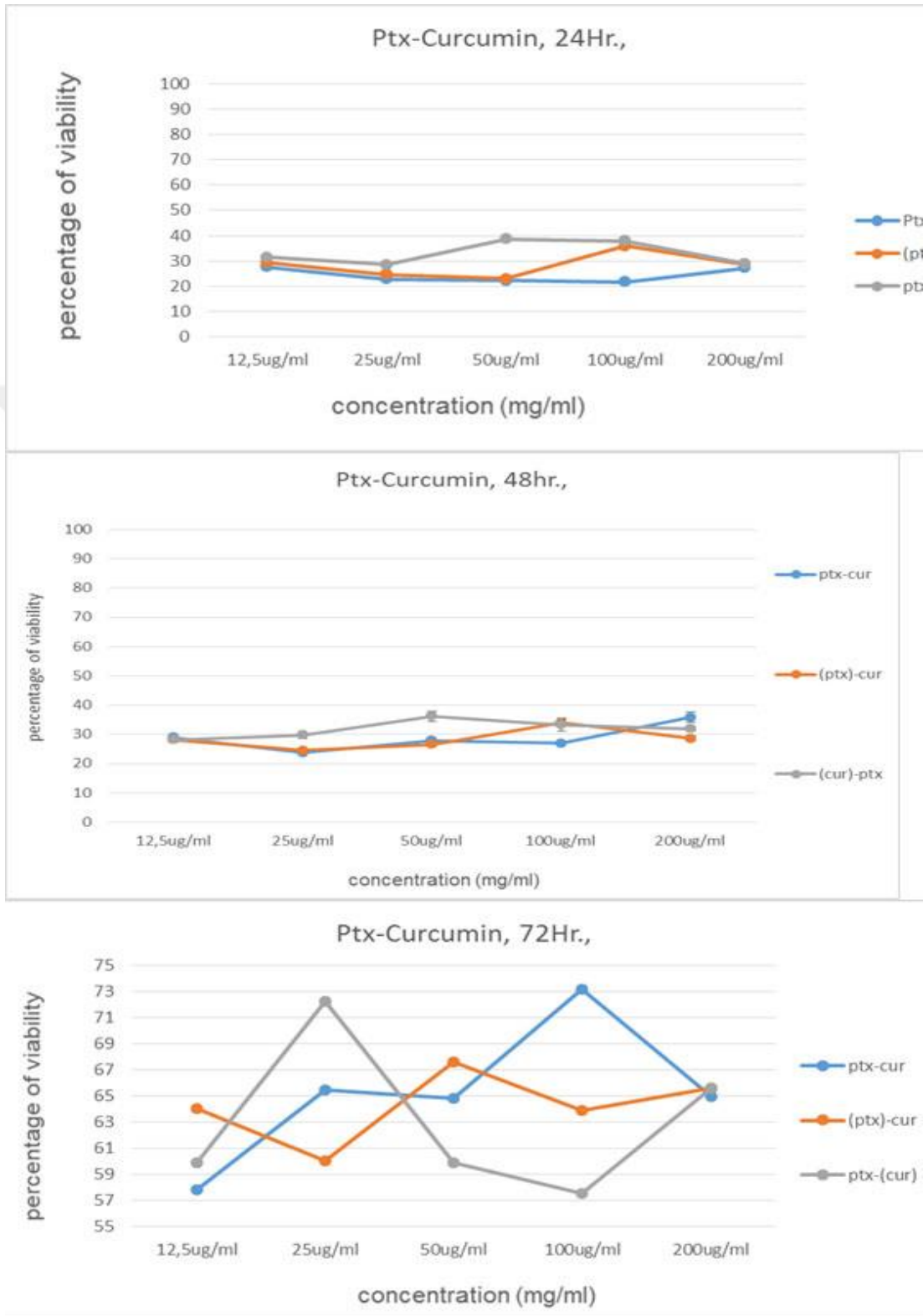
Şekil 4.8: PLGA – 5 mg Rosmarinic Acid Formülasyonu, oda sıcaklığında 3.gün.



Şekil 4.9: Nano-Quercetin'in Paclitaxel ile birlikte MCF7 hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi.



Şekil 4.10: Nano-Rosmarinic Acid'in Paclitaxel ile birlikte MCF7 hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi.



Şekil 4.11: Nano-Curcumin'in Paclitaxel ile birlikte MCF/ hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi.

5. SONUÇ

Hazırlanan formülasyonların boyutlarını 300 nm'nin altında oluşu hedefli kanser tedavisinde kullanmaya uygun olduklarını göstermektedir. Basamaklı bir şekilde konsantrasyonu yükseltileen Quercetin ve rosmarinic acid belli bir miktardan sonra nano taşıyıcının içene sığamayıp sulu ortamda agregat oluşturmuşlardır. Bu agregatlar DLS cihazında gözlenmiştir. Hiçbir agregat içermeyen formülasyonlar optimize formülasyonlar olarak seçilmiştir. Bunlar başlıca 2 mg Curcumin, 5mg Rosmarinic acid ve 5 mg Quercetin 20 ml PLGA içinde taşınan formülasyonlardan ibarettir. Bu formülasyonların a) Paclitaxel ile birlikte b) Paclitaxel uygulamasından 1 saat sonra ve c) Paclitaxel uygulamasından 1 saat önce hücre kültürüne uygulanması sonucu oluşan sitotoksik etki Şekil 4-9-11'de gösterilmiştir. Tüm sonuçlarda genel izlenim olarak 72 saatin sonunda en yüksek sitotoksik etkinin gözleendiği zikredilebilir. 72 saat sonuçları karşılaştırıldığında Quercetin ve Rosmarinic acid formülasyonlarında yaklaşık %20 canlılık gözlenmişken çarpıcı bir şekilde Curcumin ile birlikte uygulanan Paclitaxel çok az ölçüde sitotoksik etki gösterebilmiş ve %60 oranında canlılık gözlenmektedir.

Sonuç olarak curcumin'in Paclitaxel'in anti-tumor etkisini büyük oranda azalttığı gözlenmiştir. Quercetin ise doza bağlı bir şekilde paclitaxel'in anti-tumor etkisini azaltmıştır. Rosmarinic asitin ise belirgin bir etkisi tespit edilmemiştir. Uygulama zamanının ise bu etkilerin değişimi üzerinde bir fonksiyonu olmadığı gözlenmiştir. Nihai olarak anti oksidanın biyo-yararlanımı ve kandaki konsantrasyonu bilinmediği müddetçe tümör bölgesinde hangi oranda bulunacağı da meçhul kalacaktır denebilir. Bu da doğal anti oksidanın kemoterapinin etkisini tümör bölgesinde hangi yönde etkileyeceğinin bilinmemesine sebep olacaktır. Buradan yola çıkarak, anti oksidanların kemoterapi ajanının etkisi ve nihai olarak kanser tümörünün büyümesi üzerindeki olumsuz etkisi tam anlaşılmadan kanser tedavisi süresince kullanılmaması gerektiği kanısına açıkça varılabilir

KAYNAKLAR

- [1] **Park K.** (2007). Nanotechnology: What it can do for drug delivery. *J Control Release.* 2007 Jul 16;120(1-2):1-3. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1949907/>
- [2] **Larsson LI.** (1979). Simultaneous ultrastructural demonstration of multiple peptides in endocrine cells by a novel immunocytochemical method. *Nature.* Dec 13;282(5740):743-6.
- [3] **Jackson MJ.** (2006). *Microfabrication and Nanomanufacturing.* Taylor & Francis; Boca Raton.
- [4] **Freitas S, Merkle HP, Gander B.** (2005). Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. *J Control Release.* 102:313–332.
- [5] **Ozdemir V, Williams-Jones B, Glatt SJ, Tsuang MT, Lohr JB, Reist C.** (2006). Shifting emphasis from pharmacogenomics to theragnostics. *Nat Biotechnol.* 24:942–946.
- [6] **Siegel RL, Miller KD, Jemal A** (2016). Cancerstatistics 2016. *CA Cancer J Clin* 66:7–30.
- [7] **Kopeina GS, Senichkin VV, Zhivotovsky B** (2017). Caloricrestriction-A promising anti-cancerapproach: from molecular mechanism stoclinicaltrials. *BiochimBiophysActa* 1867(1):29-41. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2016.11.002>.
- [8] **Swamy MK, Sinniah UR, Ghasemzadeh A.** (2018). Anticancerpotential of rosmarinic acid and its improved production through biotechnological interventions and functional genomics. *ApplMicrobiolBiotechnol* 102: 7775. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9223-y>
- [9] **Rahal A, Kumar A, Singh V, et al.** (2014). Oxidativestress, prooxidants, andantioxidants: theinterplay. *BiomedResInt.* 2014:761264. doi:10.1155/2014/761264
- [10] **Cox BD, Whichelow MJ, Prevost AT.** (2000). Seasonalconsumption of salad vegetables and fresh fruit in relation to the development of cardio vascular disease and cancer. *Public Health Nutrition.* 3(1):19–29.
- [11] **Strandhagen E, Hansson P-O, Bosaeus I, Isaksson B, Eriksson H.** (2000). High fruit in take may reduce mortality among middle-age dandelderly men. Thestudy of men born in 1913. *European Journal of Clinical Nutrition.* 54(4):337–341.
- [12] **Potter JD.** (1997). Cancerprevention: epidemiology and experiment. *Cancer Letters.* 114(1-2):7–9.

- [13] **Halliwell B.** (2008). Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 476(2):107–112.
- [14] **Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci P.** (2005). Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology and Medicine*. 39(7):841–852.
- [15] **Ahmed AD, Hye-Yeon C, Jung-Hyun K, Ssang-Goo C.** (2010). Role of oxidative stress in stem, cancer and cancers temcells. *Cancers*. 2(2):859–884.
- [16] **Ďuračková Z.** (2010). Some current insights into oxidative stress. *Physiological Research*. 59(4):459–469.
- [17] **Dvorakova M, Höhler B, Vollerthun R, Fischbach T, Kummer W.** (2000). Macrophages: a major source of cytochrome b558 in the rat carotid body. *Brain Research*. 852(2):349–354.
- [18] **Inoue M, Sato EF, Nishikawa M, et al.** (2003). Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Current Medicinal Chemistry*. 10(23):2495–2505.
- [19] **Ballinger SW.** Mitochondrial dysfunction in cardiovascular disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 2005;38(10):1278–1295.
- [20] **Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M.** (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160(1):1–40.
- [21] **Khatami M.** (2011). Unresolved inflammation: “Immunetsunami” or erosion of integrity in immune-privileged and immune-responsive tissues and acute and chronic inflammatory diseases or cancer. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 11(11):1419–1432.
- [22] **Kryston TB, Georgiev AB, Pissis P, Georgakilas AG.** (2011). Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutation Research*. 711(1-2):193–201.
- [23] **Schneider R, Mohebiany AN, Ifergan I, et al.** (2011). B cell-derived IL-15 enhances CD8 T cell cytotoxicity and is increased in multiple sclerosis patients. *Journal of Immunology*. 187(8):4119–4128.
- [24] **Innocenti F, Cox NJ, Dolan ME.** (2011). The use of genomic information to optimize cancer chemotherapy. *Seminars in Oncology*. 38(2):186–195
- [25] **Vire B, David A, Wiestner A.** (2011). TOSO, the Fc μ receptor, is highly expressed on chronicallymphocytic leukemia B cells, internalizes upon IgM binding, shuttles to the lysosome, and is down regulated in response to TLR activation. *Journal of Immunology*. 187(8):4040–4050.
- [26] **Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, Squatrito S, Vigneri R.** (2013). World wide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. *Journal of Cancer Epidemiology*. 2013;10 pages.965212.

- [27] **Lin AP, Tsai WJ, Fan CY, Lee MJ.** (2000). *Vandelliacordifoli* are gulated cell proliferation and cytokines production in humanmononuclearcells. *American Journal of Chinese Medicine*. 28(3-4):313–323.
- [28] **Lastra CA, Villegas I.** (2007). Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidantagent: mechanisms and clinical implications. *Biochemical Society Transactions*. 35(5):1156–1160.
- [29] **Lee J, Hahm ER, Singh SV.** (2010). With aferin A inhibits activation of signal transducer and activator of transcription 3 in human breast cancer cells. *Carcinogenesis*. 31(11):1991–1998.
- [30] **Priyadarshini K, KeerthiAparajitha U.** (2012). Paclitaxel Against Cancer: A Short Review. *Medchem*. 2:139-141. doi:10.4172/2161-0444.1000130.
- [31] **Carsuso M, Colombo AL, Fedeli L, Pavesi A, Quaroni S, et al.** (2000). Isolation of endophyticfungi and actinomyce testaxane producers. *AnnMicrobiol*, 50: 3-13.
- [32] **Brito DA, Yang Z, Rieder C. L.** (2008). Microtubules do not promotemitotic slip page whenthes pindle assembly check point cannot be satisfied. *J Cell Biol* 182: 623-629.
- [33] **Ganguly A, Yang H, Cabral F.** (2010). Paclitaxel-dependent cell lines reveal a noveldrugactivity. *MolCancerTher* 9: 2914-2923.
- [34] **Shen J, Sun H, Xu P, Yin Q, Zhang Z, et al.** (2012). Simultaneous inhibition of metastasis and growth of breast cancer by co-delivery of twistsh RNA and Paclitaxel using pluronic P85-PEI/TPGS complex nanoparticles. *Biomaterials* S0142-9612(12)01208-2.
- [35] **Gilmore D, Schulz M, Liu R, Zubris KA, Padera RF, et al.** (2012). Cyto reductive Surgery and Intra operative Administration of Paclitaxel-loaded Expansile Nanoparticles Delay Tumor Recurrence in Ovarian Carcinoma. *AnnSurgOncol*.
- [36] **Park S, Kang S, Chen X, Kim EJ, Kim J, et al.** (2012). Tumor suppression via Paclitaxel-loaded drug carriers that target in flammation marker upregulated in tumor vasculature and macrophages. *Biomaterials*, 34: 598-605.
- [37] **Li Y, Bi Y, Xi Y, Li L.** (2012). Enhancement on oral absorption of Paclitaxel by multifunctional pluronic micelles. *J Drug Target*.
- [38] **Zhang J, Zhao J, Zhang W, Liu G, Yin D, et al.** (2012) Establishment of Paclitaxel-resistant cell line and the under lying mechanism on drug resistance. *Int J Gynecol Cancer* 22: 1450-1456.
- [39] **Byron SA, Loch DC, Pollock PM.** (2012). Fibroblast growth factor receptor inhibition synergizes with Paclitaxel and Doxorubicin in endometrial cancer cells. *Int J Gynecol Cancer*, 22: 1517-1526.
- [40] **Huang T, Gong WH, Li XC, Zou CP, Jiang GJ, et al.** (2012). Synergistic increase in thesensitivity of osteosarcoma cells to

thermochemotherapy with combination of Paclitaxel and etoposide. *MolMed Report* 6: 1013-1017.

- [41] **Yang JC, Lu MC, Lee CL, Chen GY, Lin YY, et al.** (2011). Selective targeting of breast cancer cells through ROS-mediated mechanism potentiates the lethality of Paclitaxel by a novel diterpene, gelomulide K. *Free Radic Biol Med* 51: 641-657.
- [42] **Zhu K, Gerbino E, Beaupre DM, Mackley PA, Muro-Cacho C, et al.** (2005). Farnesyl transferase inhibitor R115777 (Zarnestra, Tipifarnib) synergizes with Paclitaxel to induce apoptosis and mitotic arrest and to inhibit proliferation or growth of multiple myeloma cells. *Blood* 105: 4759-4766.
- [43] **Scripture CD, Figg WD, Sparreboom A.** (2005). Paclitaxel chemotherapy: from empiricism to a mechanism-based modulation strategy. *Ther Clin Risk Manag* 1: 107-114.
- [44] **Föger F, Malaivijitnond S, Wannaprasert T, Huck C, Bernkop-Schnürch A, et al.** (2008). Effect of a thiolated polymer on oral Paclitaxel absorption and tumor growth in rats. *J Drug Target* 16: 149-155.
- [45] **Yen WC, Corpuz MR, Prudente RY, Cooke TA, Bissonnette RP, et al.** (2004). A selective retinoid X receptor agonist bexarotene (Targretin) prevents and overcomes acquired Paclitaxel (Taxol) resistance in human non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 10: 8656-8664.
- [46] **Hood KA, West LM, Rouwé B, Northcote PT, Berridge MV, et al.** (2002). Peloruside A, a novel antimitotic agent with Paclitaxel-like microtubule-stabilizing activity. *Cancer Res* 62: 3346-3360.
- [47] **Markman M.** (1991) Taxol: an important new drug in the management of epithelial ovarian cancer. *Yale J Biol Med* 64: 583-590.
- [48] **Rowinsky EK, Cazenave LA, Donehower R.C.** (1990.) Taxol: a novel investigational anti microtubule agent. *J Natl Cancer Inst* 82: 1247-1259.
- [49] **URL-1** https://en.wikipedia.org/wiki/Monroe_Eliot_Wall
- [50] **URL-2** Wikipedia, Paclitaxel, <https://en.wikipedia.org/wiki/Paclitaxel>
- [51] **Aguirre, L.; Arias, N.; Macarulla, M.T.; Gracia, A.; Portillo, M.P.** (2011). Beneficial effects of quercetin on obesity and diabetes. *Open Nutraceuticals J.* 2011, 4, 189–198.
- [52] **Li Y, Yao J, Han C, Yang J, Chaudhry MT, Wang S, Liu H, Yin Y.** (2016). Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients.* 8(3):167. doi: 10.3390/nu8030167.
- [53] **Wiczowski, W.; Romaszko, J.; Bucinski, A.; Szawara-Nowak, D.; Honke, J.; Zielinski, H.; Piskula, M.K.** (2008). Quercetin from shallots (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) is more bio available than its glucosides. *J. Nutr.* 138, 885–888.
- [54] **Mitchell, A.E.; Hong, Y.J.; Koh, E.; Barrett, D.M.; Bryant, D.E.; Denison, R.F.; Kaffka, S.** (2007). Ten-year comparison of the influence of

organic and conventional crop management practices on the content of flavonoids in tomatoes. *J. Agric. FoodChem.* 55, 6154–6159.

- [55] Tutelian, V.A.; Lashneva, N.V. (2013). Biologically active substances of plant origin. Flavonols and flavones: Prevalence, dietary sources and consumption. *Vopr. Pitan.* 82, 4–22.
- [56] Nishimuro, H.; Ohnishi, H.; Sato, M.; Ohnishi-Kameyama, M.; Matsunaga, I.; Naito, S.; Ippoushi, K.; Oike, H.; Nagata, T.; Akasaka, H.; *et al.* (2015). Estimated Daily intake and seasonal food sources of quercetin in Japan. *Nutrients*, 7, 2345–2358.
- [57] Zamora-Ros, R.; Andres-Lacueva, C.; Lamuela-Raventos, R.M.; Berenguer, T.; Jakszyn, P.; Barricarte, A.; Ardanaz, E.; Amiano, P.; Dorransoro, M.; Larrañaga, N.; *et al.* (2010). Estimation of dietary sources and flavonoid intake in a Spanish adult population (EPIC-Spain). *J. Am. Diet. Assoc.* 110, 390–398.
- [58] Petersen M, Simmonds MS. (2003). Rosmarinic acid. *Phytochemistry*. 62(2): 121-5.
- [59] Cao W, Hu C, Wu L, Xu L, Jiang W. (2016). Rosmarinic acid inhibits inflammation and angiogenesis of hepatocellular carcinoma by suppression of NF- κ B signaling in H22 tumor-bearing mice. *J PharmacolSci*, 132(2):131–137.
- [60] Alagawany M, El-Hack ME, Farag MR, Gopi M, Karthik K, Malik YS, Dhama K. (2017). Rosmarinic acid: modes of action medicinal values and health benefits. *Anim HealthResRev* 18:1–10. <https://doi.org/10.1017/S1466252317000081>
- [61] URL-3 https://en.wikipedia.org/wiki/Rosmarinic_acid
- [62] Mimeault, M. and S.K. Batra, (2011). Potential applications of curcumin and its novel synthetic analogs and nanotechnology-based formulations in cancer prevention and therapy. *Chinesemedicine*, 6(1): p. 31.
- [63] Naksuriya, O., *et al.*, (2014). Curcumin nano formulations: a review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment. *Biomaterials*, 35(10): p. 3365-3383.
- [64] Aggarwal, B.B., A. Kumar, and Bharti, A.C. (2003). Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer research*, 23(1/A): p. 363-398.
- [65] Kasi, P.D., *et al.*, (2016). Molecular targets of curcumin for cancer therapy: an updated review. *Tumor Biology*, 37(10): p. 13017-13028.
- [66] Tønnesen, H.H. and Karlsen, J. (1983). High-performance liquid chromatography of curcumin and related compounds. *Journal of Chromatography A*, 259: p. 367-371.
- [67] Schiborr, C., *et al.*, (2010). A validated method for the quantification of curcumin in plasma and brain tissue by fast narrow-bore high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 397(5): p. 1917-1925

- [68] Ireson, C.R., et al., (2002). Metabolism of the cancer chemopreventive agent curcumin in human and rat intestine. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 11(1): p. 105-111.
- [69] Gupta, S.C., Patchva, S. and Aggarwal, B.B. (2013). The therapeutic roles of curcumin: lessons learned from clinical trials. *The AAPS journal*, 15(1): p. 195-218
- [70] URL-4 Kürkürmin endikasyon alanları.
- [71] Dadkhah, A., et al., (2014). Chemopreventive effects of caraway powder and oils to suppress 1, 2-dimethyl hydrazine-induced coloncarcinoma genesis. *Turkish Journal of Biochemistry/Türk Biyokimya Dergisi*, 39(3).
- [72] URL-5 Kürkürmin NF- κ B'ye karşı inflamasyon ve proliferasyonun önlenmesinde etkindir. Available from: Available from: <http://flipper.diff.org/app/items/5438>.
- [73] Singh, S. and B.B. Aggarwal, B.B. (1995). Activation of transcription factor NF- κ B is suppressed by curcumin (diferuloylmethane). *Journal of Biological Chemistry*, 270(42): p. 24995-25000.
- [74] Sayiner, Ö. ve T. Çomođlu, *Nanotaşıyıcı Sistemlerde Hedeflendirme*.
- [75] Kumari, A., Yadav, S.K. and Yadav, S.C. (2010). Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75(1): p. 1-18
- [76] Cui, F., et al., (2006). Biodegradable nanoparticles loaded with insulin-phospholipid complex for oral delivery: preparation, in vitro characterization and in vivo evaluation. *Journal of controlled release*, 114(2): p. 242-250.
- [77] Gonçaves, A., et al., (2017). Production, properties, and applications of solid self-emulsifying delivery systems (S-SEDS) in the food and pharmaceutical industries. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*.
- [78] Tecer, H., *Medikal*. 2013.
- [79] Malam, Y., M. Loizidou, and A.M. Seifalian, (2009). Liposomes and nanoparticles: nanosized vehicles for drug delivery in cancer. *Trends in pharmacological sciences*, 30(11): p. 592-599.
- [80] Arora, D. and Jaglan, S. (2016). Nanocarriers based delivery of nutraceuticals for cancer prevention and treatment: A review of recent research developments. *Trends in Food Science & Technology*, 54: p. 114-126.
- [81] Kataoka, K., A. Harada, and Nagasaki, Y. (2001). Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance. *Advanced drug delivery reviews*, 47(1): p. 113-131.
- [82] Crooks, R.M., et al., (2001). Dendrimer-encapsulated metal nanoparticles: synthesis, characterization, and application in catalysis. *Accounts of chemical research*, 34(3): p. 181-190.

- [83] **Oh, J.K., et al.**, (2008). The development of microgels/nanogels for drug delivery applications. *Progress in PolymerScience*, 33(4): p. 448-477.
- [84] **Saito, R., G. Dresselhaus, and M.S. Dresselhaus**, (1998). Physical properties of carbon nanotubes. *World Scientific*.13(4), 215-233.



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Burcu Öztenekeci
Doğum Tarihi ve Yeri : 05.02.1990 Bandırma
E-posta : burcu.oz@hotmail.com.tr
Adres : Hamidiye Mah.Fevzipaşa cad.No:151 M.Kemalpaşa
Unvan: : Biyolog

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2013, Fatih Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi,Biyoloji Bölümü
- **Yükseklisans** : 2019, Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı,Biyoteknoloji Programı