

T.C.  
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİTOTERAPİ ANABİLİM DALI

**KURKUMİN VE PİPERİN NANOPARTİKÜLLERİN  
AKUT SİSTEMİK TOKSİSİTE ÇALIŞMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dr. ÖZLEM AKYÜZ

İstanbul - 2019

T.C.  
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİTOTERAPİ ANABİLİM DALI

**KURKUMİN VE PİPERİN NANOPARTİKÜLLERİN  
AKUT SİSTEMİK TOKSİSİTE ÇALIŞMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dr. ÖZLEM AKYÜZ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA

İstanbul - 2019

## TEZ ONAYI

### TEZ ONAYI FORMU

Kurum : Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü



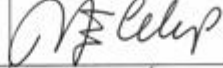
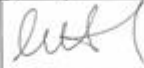
Program : Fitoterapi Yüksek Lisans Programı

Tez Başlığı : KURKUMİN ve PİPERİN NANOPARTİKÜLLERİN AKUT SİSTEMİK TOKSİSİTE ÇALIŞMASI

Tez Sahibi : Özlem AKYÜZ

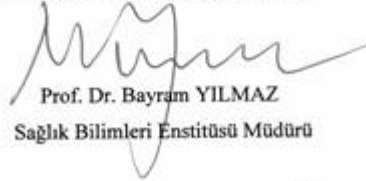
Sınav Tarihi : 19.06.2019

Bu çalışma jürimiz tarafından kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı, Adı-Soyadı (Kurumu)	İmza
Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Erdem Yeşilada	
Tez danışmanı:	Prof. Dr. Erdem Yeşilada	
Üye:	Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Engin Celep	
Üye:	Dr. Öğr. Üyesi Hilal Bardakçı	
Üye:		

### ONAY

Bu tez Yeditepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun 28.06.2019... tarih ve 2019/11...03... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Bayram YILMAZ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

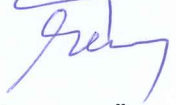
## BEYAN

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

Tarih

03.07.2019

İmza



Dr. Özlem AKYÜZ

## İTHAF

Ailem'e ithaf ediyorum.

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince çalışmalarımın yürütülmesinde büyük emeği geçen, tezimin her aşamasında ilgisini ve yardımını esirgemeyen, Danışman hocam Yeditepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi ve Fitoterapi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Yeditepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi ve Fitoterapi Anabilim Dalı üyelerine, başta Prof. Dr. Ekrem SEZİK'e, Prof. Dr. Hasan KIRMIZIBEKMEZ, Doktor Öğr. Üyesi M. Engin CELEP'e; çalışmalarımın her aşamasında yardım ve desteklerini gördüğüm Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (YÜDETAM) Sorumlu Yöneticisi Veteriner Hekim Engin SÜMER'e; olanaklarından faydalandığım Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'na ve Anabilim Dalı Öğretim üyesi Doç. Dr. Aylin YABA UÇAR, Araştırma Görevlisi Tuğçe ÖNEL'e tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Yüksek Lisans tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Canfeza SEZGİN'e ayrıca teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi manevi her türlü fedakarlığı gösteren, sevgili annem'e tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI	ii
BEYAN	iii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xii
ABSTRACT	xiii
ÖZET	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kanser Tanımı	2
2.2. Kanserde Uygulanan Tedavi Yöntemleri	4
2.3. Kanserde Tamamlayıcı Tedavi Yöntemleri: Fitoterapi	7
2.3.1. Kanser Tedavisinde Kullanılan Bitki: Zerdeçal	10
2.3.2. Kanser Tedavisinde Kullanılan Biyoyaralanım Arttırıcı ve Antikanser Bileşen: Piperin	13
2.4. Nanopartiküllerin Temel Özellikleri	14
2.4.1. Nanopartiküller Hakkında Genel Bilgi	14
2.4.1.1. Nanopartiküllerin Boyutu	15
2.4.1.2. Nanopartiküllerin Yüzey Özellikleri	16

2.4.1.3. Nanopartikül-Hedef Ligandlar	17
2.4.2. Nanopartikül Maruziyeti ve Toksisitesi	18
2.4.2.1. Sitotoksik Hasar Oluşturma Potansiyelinin Tespiti	20
2.5. Kanser Hücrelerine Karşı Kurkumin Nanoformülasyonların <i>In-Vitro</i> Etkinlik Çalışması	21
2.5.1. Polimerik Kapsüllü Kurkumin Nanopartikülleri	21
2.5.2. Lipozomal Kurkumin Nanopartikülleri	21
2.5.3. Miçel Kurkumin Nanopartikülleri	22
2.5.4. Kurkumin Nano-jel	23
2.5.5. Siklodekstrin Kurkumin Kompleksleri	23
2.5.6. Diğer Nanoformülasyonlar	24
2.6. Kurkumin Nanoformülasyonların <i>In-Vivo</i> Kanıtı: Farmakokinetik ve Tümör Hacminin Azaltılmasındaki Etkinliği	24
2.7. Piperin Nanoformülasyonu ile Yapılan Çalışmalar	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Kullanılan Aletler ve Cihazlar	28
3.2. Kullanılan Kimyasallar	28
3.3. Kullanılan Yöntemler	28
3.3.1. Kurkumin ve Piperin Yüklü Zein Nanopartiküllerin Geliştirilmesi ve <i>In-Vitro</i> Karakterizasyonu	29
3.3.2. Çalışma Tasarımı ve Deney Hayvanları	31
3.3.3. Deney Koşulları	31
4. BULGULAR	33
4.1. Klinik Gözlemler	33



4.2. Vücut Ağırlıkları	34
4.3. Patoloji Bulguları	34
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	37
6. KAYNAKLAR	40
7. EKLER	50
7.1. Etik Kurul Kararı	50
7.2. Patent Hakkı İzni	51
8. ÖZGEÇMİŞ	53



## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 2.1.</b> Kanser Tedavisinde Etkili olan Bitkisel İlaçlar	9
<b>Tablo 2.2.</b> Ekstre Edilen Metabolitlerin Farklı Kanser Tiplerindeki Etkisi	10
<b>Tablo 2.3.</b> Kurkuminin Farklı Doz Nanoformülasyon Uygulamaları ile Farklı Tümör Hacimlerindeki Değişiklikler	27
<b>Tablo 4.1.</b> Klinik Belirtiler ve Gözlemler	33
<b>Tablo 4.2.</b> Farelerde Gözlenen Vücut Ağırlığı Değişikliği	34
<b>Tablo 4.3.</b> Yaş Organ Ağırlığı	36

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Kurkumin	11
Şekil 2.2. Dimetoksikurkumin	11
Şekil 2.3. Tetrahidrokurkumin	11
Şekil 2.4. Zerdeçal ( <i>Curcuma longa</i> L.)	12
Şekil 2.5. Piperin Molekülü	13
Şekil 2.6. Karabiber ( <i>Piper nigrum</i> L.)	13
Şekil 2.7. Nanopartikül Hedeflemesi Sırasında Dikkate Alınabilecek İlaç Hücre Etkileşimlerini Etkileyen Dış Faktörlere Örnekler	16
Şekil 2.8. Nanopartiküllerin Endositoz Yolu ile Normal ve Kanser Hücresi İçine Alımı	17
Şekil 2.9. Nanopartiküllerin Giriş Yolları ve Etkiledikleri Başlıca Sistemler	18
Şekil 2.10. Nanopartiküllerin Katı Toz Olarak ve Likit Ortamdaki Aglomerasyon ve Agregasyon Durumları	20
Şekil 2.11. Kanser Tedavisinde Nanokurkumin Yaklaşımları	22
Şekil 3.1. Elektrosprey Aparatının Şematik Figürasyonu	29
Şekil 3.2. Kurkumin ve Piperin Nanopartiküllerin Çekirdek ve Kabuk Modeli	30
Şekil 3.3. Kurkumin ve Piperin Yüklü Zein-Chitosan Nanopartikül ürünü	30
Şekil 3.4. Deney Numunesi Stok Solüsyon	32
Şekil 3.5. 25 mg/kg/doz 0,1 mL İlaç Uygulama (ip)	32
Şekil 3.6. Ayrı Kafesler İçerisine Yerleştirilen BALB- C Deney Fareleri	32

<b>Şekil 4.1.</b> Karaciğer Organ Dokusu	35
<b>Şekil 4.2.</b> Beyin Organ Dokusu	35
<b>Şekil 4.3.</b> Böbrek Organ Dokusu	35
<b>Şekil 4.4.</b> Abdominal Kavite	35
<b>Şekil 4.5.</b> Karaciğer Dokusundaki Lezyon (KC <sub>5</sub> )	35



## SEMBOLLER ve KISALTMALAR

AUC	Area Under Curve
BRCA	Breast Cancer
BE	Beyin
BÖ	Böbrek
EC	European Commission
EGF	Epidermal Growth Factor
FGF	Fibroblast Growth Factor
IGRT	Image Guided Radiotherapy
IMRT	Intensity Modulated Radiotherapy
IP	Intraperitoneal
KC	Karaciğer
MDR	Multiple Drug Resistance
MDSC	Myeloid Derived Suppressor Cells
MWCNT	Multiple Walled Carbon Nanotube
PVA	Polivinyil Alcohol
PLGA	Poly lactic-co-glycolic acid
RT	Radiotherapy
SWCNT	Single Walled Carbon Nanotube
TAT	Tamamlayıcı ve Alternatif Tedavi
3D-CRT	Three Dimensional Conformal Radiotherapy
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	World Health Organization

## ABSTRACT

**Akyuz, O. (2019). Acute Systemic Toxicity Study of Curcumin and Piperine Nanoparticles. Yeditepe University, Institute of Health Science, Department of Pharmacognosy and Phytotherapy, MSc thesis, İstanbul.**

Curcumin as the active compound of turmeric has antioxidative, antiinflammatory, antimicrobial and anticancer properties among others. Its disadvantageous properties like low solubility, poor bioavailability and rapid degradation can be solved by a smart combination of using a natural enhancer like piperine and preparing nanoparticles by a proper method like electrospray.

Curcumin and Piperine loaded zein nanoparticles having mean particle size of approximately 300 nm is a unique blend of curcumin (89%) and piperine (87%) encapsulated with electrospray. There is no particular scientific evidence for the toxicology regarding the curcumin and piperine nanoparticles, so the present work reports the results of the study investigating the acute (single dose) systemic toxicity of the curcumin and piperine loaded zein nanoparticles in BALB-C male mice. As the use of nanoparticles in medicine is expected to increase in the future, having the knowledge of how to effect curcumin and piperine nanoparticles to the system is a necessity. In acute systemic toxicity, the dosage was 25mg/kg (ip) body weight for five male mice. No evidence of acute toxicity was detected during the study. Thus, data analysis of mortality, body weight gain, feed consumption, clinical observations, organ weights did not show significant differences between mice. It is concluded that curcumin and piperine zein loaded nanoparticles systemic (ip) administered to mice had no drug-related toxicity was detected in acute (25 mg/kg ) systemic toxicity study. Also it should be studied with the control group to see hematology and histopathological findings at the same dose.

**Key words:** Curcumin, Piperine, Nanoparticles, Acute Systemic Toxicity

## ÖZET

**Akyüz, Ö. (2019). Kurkumin ve Piperin Nanopartiküllerin Akut Sistemik Toksikite Çalışması. Yeditepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi ve Fitoterapi Anabilim Dalı, Master Tezi. İstanbul.**

Zerdeçal bitkisinin etken maddesi olan kurkumin; bitkiler arasında antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antikanser özelliklere sahip aktif bir bileşiktir. Biyoyararlanım artırılmasında kullanılan piperin gibi doğal bileşenler ile akıllı bir nanopartikül kombinasyonunun elektrosprey gibi uygun bir yöntem kullanımıyla birlikte hazırlanarak, kurkumin bileşiğinin zayıf çözünürlüğü, düşük biyoyararlanıma sahip olması ve hızlı yıkıma uğraması gibi olumsuz sorunları çözülebilir.

Ortalama partikül büyüklüğü yaklaşık 300 nm olan kurkumin ve piperin zein nanoparçacıkları, elektrosprey ile kapsüllenmiş eşsiz bir kurkumin (% 89) ve piperin (% 87) karışımıdır. Kurkumin ve piperin nanoparçacıkları ile ilgili yapılmış bir toksisite çalışması ve bilimsel kanıt bulunmamaktadır, bu nedenle kurkumin ve piperin yüklü zein nanopartiküllerinin BALB-C erkek fareleri üzerinde akut (tek doz) sistemik toksisite çalışması araştırılmıştır. Nanoparçacıkların tıpta kullanımının artması beklenirken, kurkumin ve piperin nanopartiküllerinin sisteme nasıl etki edeceği bilgisine sahip olmak bir zorunluluktur. Akut sistemik toksisite çalışmasında; deney numunesi beş erkek fareye 25 mg / kg / doz olacak şekilde periton içi uygulanmıştır. Çalışma sırasında doza bağlı akut toksik etki saptanmamıştır. Fareler arasında; deney maddesinin dozu ile mortalite üzerindeki etkileri, vücut ağırlığı artışı, yem tüketimi, klinik gözlemler ve organ ağırlıkları açısından anlamlı farklılık görülmemiştir. Farelere uygulanan kurkumin ve piperin zein yüklü nanopartiküllerin akut (25 mg / kg) sistemik toksisite çalışmasında ilaca bağlı toksisite tespit edilmediği sonucuna varılmıştır. Ancak, aynı doz ilaç kullanımında hematoloji ve histopatolojik bulguları değerlendirmek amacıyla kontrol grubu ile birlikte çalışılmalıdır.

**Anahtar kelimeler:** Kurkumin, Piperin, Nanopartiküller, Akut Sistemik Toksikite

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Son yıllarda tıp alanındaki birçok gelişmelere rağmen kanser hastalığının tedavisinde henüz istenilen noktaya ulaşılamamıştır. Sağlıklı hücrelere zarar vermeden sadece kanserli hücreleri seçerek yok edebilecek ilaçları geliştirmek oldukça zordur. Klasik kanser tedavi protokollerinin yetersiz olduğu durumlarda kurkumin ve kurkumin analogları gibi birçok antikanser özelliği bulunan fitoterapik ürünlerin etkili olduğu gösterilmiştir. Düşük molekül ağırlığına sahip kurkumin, hücresel sinyal yollarını uyararak normal hücre üzerine toksik etki göstermeden yüksek düzeyde anti kanser özellik göstermektedir. Biyoyararlanımı düşük olması ve yapısının kolay bozulması bileşenin en büyük dezavantajıdır. Diğer fitoterapik doğal bileşenler ile kombinasyonlar oluşturularak veya nanopartikül bileşenler gibi diğer biyoyaralanım arttırıcı formüller üzerinde bilimsel çalışmalar yapılarak biyoyararlanımı arttırılabilir.

Farklı boyutlarda ve farklı fizikokimyasal özelliklere sahip nanopartiküller, günümüzde birçok sektörde (gıda, tekstil, kimya, bilişim, otomobil ve metal endüstrisi) kullanılmaktadır. Kanser hücre zarlarından rahatlıkla geçebilme özelliği gösterebildiğinden tanı ve tedavide kullanımı araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Ancak, boyutları, birleşerek çökme özelliği, şekli, miktarı, çözünürlüğü gibi fizikokimyasal özelliklerinde dolayı organ ve dokulara toksik etki gösterebilir. Nanopartiküller vücuda cilt, akciğerler ve mide-bağırsak yoluyla girerek dolaşım sistemi ile beyin, karaciğer, böbrek gibi diğer organlara taşınmaktadır. Toksik etkisini, hücre de membran geçirgenliğinde artışa, reaktif oksijen türlerinin oluşumuna, mitokondriyal fonksiyonlarında hasarlara yol açarak göstermektedir. Bunun sonucunda apoptoz yoluyla hücre ölümüne ve genetik hasara neden olmaktadır.

*In-vitro* ve *in-vivo* test yöntemleri ile nanopartiküllerin toksik etki potansiyelleri değerlendirilebilir. "Kirkumin ve Piperin Nanopartikülün Akut Sistemik Toksikite Çalışması" başlıklı yüksek lisans tez çalışmasında sıklıkla tercih edilen Kirkumin ve Piperin bileşenlerin zein yüklü nanopartikül formülasyonunu kullanarak dozaj rejiminin belirlenmesi amaçlanmış olup, tek doz sistemik uygulama yöntemi (ip) sonrasında ilk 24 saat-1 hafta içinde meydana gelen ters klinik belirtiler, vücut ağırlığı değişiklikleri ve gros patolojik bulgular değerlendirilmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kanser Tanımı

Günümüzde önemli bir halk sağlığı problemi olan kanser halen en sık mortalite sebeplerinden biridir. (1,2) Yüzden fazla doku ve organ kanser çeşidi insan vücudunu etkilemektedir.(3,4) Kanser Latince yengeç anlamına gelen “canker” veya “carcinoma” kelimelerinden türemiştir. Kanser kelimesinin ilk defa Hipokrat tarafından kullanıldığı bilinmektedir. Galen bunun yerine şişlik anlamında ki “oncos” terimini kullanmayı tercih etmiştir.

Hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalıp büyümesiyle oluşan kanser türlerinin ortak özelliği uzak doku ve organlara yayılım gösterebilme yeteneğidir. Her kanser türüne özgü farklı tedavi yaklaşımları mevcuttur. Tedaviye verilen yanıtı belirleyen en büyük etmen her insanın farklı genetik yapıya sahip olma özelliğidir. Kanser tedavisi sadece kendisi değil, sebep olduğu sosyal ve psikolojik sorunlardan dolayı multidisipliner yaklaşım gerektirir. Günümüzde kanser tedavisinde başta kemoterapi, radyoterapi, cerrahi tedavi olmak üzere immünoterapi, hormon terapisi, hedeflenmiş terapiler ve gen terapileri de tek başına kullanılabildiği gibi birlikte de kullanılmaktadır.

Kanser temelde genetik bir hastalıktır. Fiziksel ve kimyasal değişiklikler genlerde hasara neden olarak hücrenin fonksiyonlarını bozmaktadır. Organizma DNA tamir sistemlerini kullanarak oluşan genetik hasarı tamir etmek üzere çalışır fakat her zaman başarılı olamayabilir. Hasarlı genler tarafından sentezlenen proteinler hücresel işlevlerde bozulmaya yol açabilir. Metillenme, asetillenme, fosforillenme, gibi epigenetik modifikasyonlar, genin yapısını değiştirmeden fonksiyon değişimine neden olan başka bir etmendir. Bu modifikasyonlar sadece sınırlı bir bölge üzerinde etki gösterebileceği gibi bölgesel mutasyonlar (insersiyonlar, inversiyonlar ve delesyonlar) ile kromozomların büyük bir bölümünü veya tamamını da etkileyebilir.

Kanserleşme sürecinde en önemli rol oynayan üç gen grubu; DNA tamir genleri, onkogenler, tümör baskılayıcı genler olarak sınıflandırılabilir.

- Hasarlı genlerin işlevlerini yeniden düzelteren DNA tamir genleri; o bölgeyi tamir edebilmek için ihtiyaç duyulan proteinleri aktive etmektedir. Bu görev başarısızlıkla sonuçlanır ise söz konusu DNA tamir genleri hücreyi apoptoz yoluna sürükleyerek yok edilmesini sağlar. Sıklıkla bu genlerde meydana gelen

işlev bozukluklarında kanserleşme riski de artmaktadır. BRCA (breast cancer) gen bozukluğu bu duruma en iyi örnektir.

- Hücrenin büyümesinde ve farklılaşmasında önemli role sahip olan proto-onkogenler; herhangi bir bölgede mutasyon gerçekleşmesi durumunda onkogen formuna dönüşebilir. RAS, MYC, Erk gibi genler en iyi bilinen onkogenlerdir.
- Tümör baskılayıcı genler ise; hücre bölünmesini ve çoğalmasını kontrol etmekten sorumludur. Herhangi bir hasar gelişmesi durumunda tamir mekanizmasını tetikleyerek DNA tamir işlevini başlatır. Başarısızlık ile sonuçlanır ise apoptoz ile hücre ölümünü tetikler. Örneğin TP53 geni; oluşan hasarlar neticesinde tamir işlev mekanizması bozulması durumunda hücre siklusunda ki kontrol görevini kaybederek kanserleşmeye neden olabilmektedir.

Bütün bu sistematik kurgu içerisinde tek bir amaç bulunmaktadır: *Sağlıklı gen aktarımı.*

Özetle; mutasyona uğramış genlerin gelecek nesillere aktarılmasını engellemek amacı ile sağlıklı hücreler önceden belirlenmiş boyut ve miktara gelene kadar büyüerek bölünmeye devam eder. Eğer uygun şartlarda ise bu süreç sağlıklı ve sürekli ilerler ta ki birbirlerine temas edene kadar. Temas sonrasında büyüme durur. Bu olaya temasa bağlı büyümenin durması yani kontak inhibisyon adı verilmektedir. Eğer DNA hasarlı ise tamir mekanizması devreye girer. G0 fazına geçerek tamir işlemleri yürütülür. Kritik karar anı burada başlar. Tamir edilir ise yenşden bölünme siklusuna girerek hayatına devam eder ancak tamir edilemeyen ve mutasyona uğramış hasarlı genler ise immün sistem hücreleri tarafından apoptoz mekanizması ile yok edilir. Ve mutasyona uğramış DNA'nın gelecek türlere aktarılması engellenmiş olur.

Kanser hücrelerini tanımak artık kolaydır. Normal hücrelerle aralarındaki en temel farklılıkları şu şekilde özetleyebiliriz:

- Dirençli hücreler olup, daha az oksijen ve yiyecek kullanımı ile zorlu koşullarda yaşabilir
- Kontrolsüz şekilde çoğalmayı sağlayan kendi sinyal sistemleri bulunmaktadır
- Hücre yüzeyinde bulunan reseptörler daha sık sinyal alır
- Herhangi bir yere tutunmadan da yaşayabilir ve büyüüp çoğalabilirler
- Temasa bağlı bölünme (kontak inhibisyon) özelliği bulunmamaktadır dolayısıyla bölünmeyi durdurmaz ve büyümeye ve çoğalmaya devam eder

- Sadece glukozu kullanabilirler. Şekeri normal hücrelere göre daha fazla tüketirler.
- Gerekli besin ve oksijeni almak üzere yeni damar sistemleri oluşturabilirler
- Telomerlerini sabitleyerek veya telomeraz aktivitesini koruyarak sınırsız şekilde replike olup çoğalabilirler
- Dolaşım sistemi veya komşuluk yolu ile uzak bir yere hareket ederek yeni bir alanda kanserleşme başlatabilirler
- Apoptozu engelleyebilirler
- Genetik ve epigenetik olarak stabil değildirler

Modern tıp biliminde amaç, kanseri oluşmadan engellemek olmalıdır. Kanser henüz ortaya çıkmadan önce proaktif olarak risk faktörlerinden korunma politikaları geliştirmek oluşumunu engellemede önemli ölçüde fayda sağlayacaktır. Bilinen ve kanıtlanmış risk faktörlerinden sigara, alkol, kötü beslenme, hareketsiz yaşam, uyku bozukluğu, stres, iyonizan ışıklardan korunmama, bazı virüsler ve çevre kirliliğine karşı koruyucu önlemler olarak kanser oluşumunu erken dönemde engellenebileceği bildirilmiştir. (5)

Günümüzde kanser tedavisi, kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemlerin birlikte veya tek başına kullanılmasıyla yapılmaktadır. Ancak standart olarak bilinen bu yöntemlerin avantajları olduğu gibi dezavantajları da bulunmaktadır. İlaç tedavilerinde direnç geliştirmesi, bağışıklık sisteminden kaçarak hedeflenen tedavi sürecini olumsuz etkilemesi örnek olarak verilebilir. Bu dezavantajlarından dolayı konvansiyonel yöntemlere ek olarak çeşitli biyolojik ve immünolojik tedavi yöntemleri geliştirilmektedir. Beklenen hayat süresini, kalitesini ve tedavinin seyrini olumlu yönde etkileyen en önemli etmen erken teşhis ile birlikte yürütülen iyi bir bakım sürecidir. Multidisipliner tedavi yaklaşımı başarı şansını arttırabilir.

## **2.2. Kanserde Uygulanan Tedavi Yöntemleri**

Kanser tedavi protokollerinde radyoterapi, kemoterapi, cerrahi tedavi sık kullanılan tedavi yöntemleridir. Klasik tedaviye yardımcı olmak amacıyla farklı yöntemlerde (kanseri aşılarda, kök hücre tedavisi, immunoterapi vs.) kullanılabilir. Bu tedavi yöntemleri kişisel farklılıklar nedeniyle ayrı ayrı veya birlikte kullanılabilir.

## **Kemoterapi**

Kemoterapi anti kanser ilaçlar kullanılarak kanser hücrelerinin çoğalmasını kontrol altına alınmasında ve öldürülmesinde etkili bir yöntemdir. Yaygın şekilde tek başına veya radyoterapi ile birlikte uygulanabilir. Kemoterapik ajanlar hücre siklusunun farklı aşamalarına etki ederek anti neoplastik etki gösterir.

## **Radyoterapi**

Yüksek doz iyonizan radyasyon hücrelerin çoğalmasını engelleyerek öldürmesine neden olabilmektedir. Bu özelliği nedeni ile radyoterapide kanserli hücreleri öldürmede kullanılmaktadır. Tek başına kullanılabildiği gibi diğer kanser tedavilerinin etkisini arttırmak ve cerrahi sınırları küçültmek için adjuvan radyoterapi olarak da uygulanabilir. Sağlıklı hücreleri de olumsuz etkilemesinden dolayı çok sık kusma, saç kaybı, halsizlik, iştah kaybı gibi yan etkiler gözlenebilir.

## **Cerrahi Tedaviler**

Cerrahi yöntem; pek çok kanserde (yayılım göstermeyen) uygulanan ilk yöntemdir ve bazı kanserlerde cerrahi tedavi ile kür sağlanabilir. Cerrahi özellikle tanının doğrulanması(biyopsi), evreleme, yan etkilerin ve ağrının azaltılmasında kullanılan bir tedavi yöntemidir. Diğer dokulara hasar vermeden kitleyi çıkarmanın mümkün olmadığı durumlarda cerrah kitlenin bir parçasını çıkartarak işleme devam etmeden önce kemoterapi veya radyoterapi ile kitlenin küçültülmesini tercih edebilir. Cerrahi tedavinin yan etkileri, cerrahinin tipine ve hastanın tedavi öncesi genel sağlık durumuna bağlıdır. En sık görülen yan etki, hastaların pek çoğunda kolaylıkla tedavi edilebilen ağrı şikayetidir.

## **Kök Hücre Tedavisi**

Radyoterapi ve kemoterapi tedavi yöntemlerinde istenilen sonuçlara gelinememesine bağlı olarak kök hücrelerle ilgili çalışmalar son yıllarda büyük hız kazanmış durumdadır. Kök hücreler canlının oluşmasıyla vücudumuzda birden çok farklı hücre türlerine dönüşebildiklerinden çok özel hücrelerdir. Tüm organlarımızı oluşturabilme kapasitesine sahip embriyonik ve embriyonik olmayan kök hücreler olarak (yetişkin kök hücre) iki gruba ayrılırlar. Bu hücrelerin istenen hücre tipine kolay dönüşebilme, transfer edilen hücrede yaşayabilme ve hücresel işlevlerini yerine getirebilme özelliklerinin yanı sıra doku ve çevresine hasar vermeme gibi avantajları

nedeniyle ilaç geliştirme ve hastalıkların modellendirilmesinde hücre bazlı bu tedaviler kullanılabilir. (6,7,8)

### **Hormonal Tedaviler**

Hormonlar vücuttaki hormon miktarını değiştirerek kanser tedavisinde ilaç olarak kullanılabilirler. Bunu doğal hormonlar gibi endokrin sistem sinyal yollarını kullanarak gerçekleştirirler. Bu ilaçlar vücuttaki hormon miktarını değiştirerek kanser hücrelerinin büyümesini engeller. Meme ve prostat organı gibi hormon üreten dokuların kanserlerinde sıklıkla kullanılır. Yan etkiler sıklıkla gözlenir, genellikle tedavi tamamlandığında ortadan kalkar. Hormon tedavisinde kullanılan bazı ilaçlar,

- Hormon sentez inhibitörleri (10)
- Hormon reseptör antagonistleri (11,12)
- Hormon takviyesi (13)

### **Biyolojik Tedaviler (İmmünoterapi)**

Biyolojik ajanlar kullanılarak kansere karşı vücut savunma sistemlerini harekete geçirme prensibine dayalı tedavi yöntemlerinden birisidir. İmmünoterapi olarak da bilinen bu tedavi şeklinde amaç; bağışıklık sistemi hücrelerini uyarmak ve kanser hücreleriyle savaşmasını sağlamaktır. Monoklonal antikolar (kansere hücre protein sentez inhibisyonu) kanser aşısı (kansere hücre tanıma), interferonlar, koloni stimulan faktörler (vücut savunma mekanizmasını onarma) ve gen terapi yöntemleri bulunmaktadır.

### **Kanser Aşısı**

Kanser aşısı, immün sistemi uyarak etki gösteren diğer aşılarla farklı olarak B ya da T hücrelerini uyarır ve kansere hücrelerini öldürmeyi hedefler. Dünyada genel olarak kabul görmeyen fakat klinik çalışmalarda olumlu sonuçlar elde edilmiş ve bazı ülkelerde ruhsatları alınmış 3 tip kansere aşısı bulunmaktadır; Küba’da üretilen akciğer kansere aşısı Racotumomab, Cimavax – EGF ve ABD’de üretilen prostat kansere aşısı Sipuleucel-T’dir. Kanser aşısı çok deneysel bir tedavi yöntemidir ve üzerinde klinik araştırmalar halen devam etmektedir.

## **Kanser Büyümesini Baskılayanlar**

Kanserli hücrelerle savaşmakta en etkin ve akılcı yöntem kanser hücresinin büyümesinde rol oynayan büyüme etmenlerini baskılamaktır. Hücrenin büyümesinde veya ölümünde etkindirler. Bu tedavi yönteminde temel amaç, kanser hücresinin yeni damarlanma özelliğini engelleyerek hücrelerin ihtiyacı olan besin ve oksijeni olabildiğince azaltmak, gelişmesini ve yayılmasını engellemektir. Sık kullanılan bir tedavi yöntemidir.

## **Gen Terapi**

Kanser hücresinin genetik haritalandırma yöntemi ile incelenerek sağlıklı hücrelere vermiş olduğu hasarı tespit etme tekniğine dayanan gen terapi yöntemi, sağlıklı normal hücreye zarar vermeden sadece kanserli hücreye özel ilaç tedavi uygulamasını içermektedir. Özetle, kanser hücresine yönelik kişiselleştirilmiş tedavi yöntemidir.

Her kanser tipine uygun kişiye özgü farklı tedavi yöntemleri de kullanılabilir; yüksek sıcaklıkta (42<sup>0</sup>-44<sup>0</sup>) işlemi ile hücrelerin protein ve lipid tabakasını hasara uğratarak hücreye toksik etki gösteren radyofrekans ablasyon tedavisi ve kanserli hücrelerin yüksek miktarda oksijen maruziyeti ile toksikasyon oluşturma yöntemi olan hiperbarik oksijen tedavisi gibi yöntemler bunlardan bazılarıdır.

Çağımızın en büyük sorunu olan kanser karmaşık bir süreçtir. Bilim insanları kanser ve tedavi yöntemleri ile ilgili halen çok çeşitli yöntemler geliştirmekte ve araştırmalar yapmaya devam etmektedir. Gelecekte yeni teknolojilerin geliştirilmesi ile kanser tedavisinde ihtiyaç duyulan yeni stratejik yaklaşımlar sayesinde bu problem ortadan kalkacaktır. (14)

### **2.3. Kanserde Tamamlayıcı Tedavi Yöntemleri: Fitoterapi**

Tamamlayıcı ve Alternatif tedavi yöntemlerinde ilk sırada yer alan fitoterapi geçmiş tarihlerden beri hastalıkların tedavisinde ve genel sağlık durumunu korumada kullanıldığı bilinmektedir.(15) Bitkileri kullanarak hastalıkları tedavi etme yöntemi olarak adlandırılan "fitoterapi" terimini ilk kez Dr Henri Lenclerc, La Presce Medical adlı dergide konu almıştır. Fitoterapi ile ilgili ilk yazılı belge M.Ö.3000 yıllarına ait Ninova tabletleridir. Mezopotamya da kurulan Sümer, Akat, Asur medeniyetlerinde bitkisel ve hayvansal ilaçlar kullanılarak tedavilerin yapıldığı tabletlerde kanıtlanmıştır. Daha sonra ki yıllarda Çin tıbbıyla paralel gelişen Hint tıbbının önemli isimlerinden Rig Veda,

eserlerinde bine yakın şifalı bitkiyi konu almıştır. Yunan tıbbının önemli isimlerinden Eskulap 400'e yakın bitkisel ürünü anlatmış, modern tıbbın temelini oluşturmuştur. İslam uygarlığı döneminde, Ebu Reyhan Kitab-al Saydalafi al Tıp isimli kitabında 20 ye yakın şifalı bitkiden bahsetmiştir. 1650 li yıllara kadar İbn-i Sina ve Al Gafini ye ait 800 hayvansal ve bitkisel tedaviden bahseden "Tıp Kanunu" adlı eseri referans kitap olarak kabul edilerek kullanılmıştır. (15)

Günümüzde ise Tamamlayıcı ve Alternatif tedavi yöntemleri; modern tıba entegre edilerek kullanılmaktadır. Kanser tedavileri alanında yapılan araştırmalar gibi fitoterapi alanında da yapılacak olan çalışmalarda bilimsel metodlar ile desteklemek gerekli ve önemlidir. Farklı tedavi yöntemlerin birlikte kullanılması sonucu Entegratif onkoloji (bütünleştirici onkoloji) terimi ortaya çıkmıştır. Bu terim, kovansiyonel tıbbi tedavi yöntemler ile alternatif kanser tedavi yöntemlerinin birlikte kullanımını ifade etmektedir. Bilimsel temeller ışığında modern bilim disiplini ile geleneksel iyileştirme bilgeliğinin bir karması olarak da tanımlanabilir. Dünya da bu alanda çok ciddi çalışmalar yapılmaktadır. Ve bilim adamları her geçen gün yeni bitkisel ve hayvansal ürünlerin kanser tedavisinde etkili olabileceğine dair yayınlar yapmaktadırlar.

Büyük bir ivme ile artan hastalıklara paralel olarak sentetik ilaçların yol açtığı ciddi yan etkiler, tedavisi henüz mümkün olmayan birçok kronik hastalığın oluşturduğu sonuçlar, çevre kirliliği, endüstriyelleşme ve doğallığın her zaman etkili ve minimum yan etkiye sahip olduğu düşüncesi gibi birçok nedenlere bağlı olarak bitkisel tedaviler yeniden son yıllarda popüler hale gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) yapmış olduğu araştırma sonucunda insanların %80 inin doğal tedaviye inanmakta olduğunu açıklayarak bu popülariteyi desteklemiştir. (16) Kanserde ise benzer sorunlar nedeniyle tamamlayıcı ve alternatif tedavi (TAT) kullanımı giderek artmaktadır. Yapılan çalışmalar TAT kullanım sıklığının %7-%64 arasında olduğunu (ortalama %31,4) belirtilmektedir. (17) Bir diğer önemli ülkemizin de içinde olduğu 14 Avrupa ülkesinde yürütülen çalışmada ise kanserli hastalarda kullanım oranı %36 olarak kaydedilmiş ve %15-%73 arasında geniş bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. (18)

Kanser Tedavisinde, Bitkilerin Kullanımı Dört Önemli Sorunun Çözülmesine Yardımcı Olmaktadır:

- Üremekte olan kanser hücrelerinin engellenmesi (Antikanserojen)
- Kronik iltihap odaklarının iyileştirilmesi (Antiinflamatuvar etki)

- Bağışıklığın güçlendirilmesi
- Serbest oksijen radikallerinin vücuttan uzaklaştırılması (Antioksidan etki)

Kanser tedavisi için kullanılan 121 farklı ilaçtan 90'ı, şifalı bitkilerden ekstre edilmiştir. Kayıtlara göre; 1981 ve 2002 yılları arasında 65 yeni ilaç arasından 48'i doğal ürünlerden üretilmiştir. Örneğin: vinka alkaloid (vinkristin-vinblastin-vindesin-vinorelbin), taksan bileşikleri (paklitaksel-dosetaksel), podofilotoksin ve ondan türetilen bileşikler (topotekan, irinotekan), antrasiklin bileşikleri (doksorubisin-daunorubisin-idarubisin) (19,20) (Tablo 2.1.)

**Tablo 2.1.** Kanser tedavisinde etkili olan bitkisel ilaçlar

NO	Metabolitler	Ekstre Edilen İlaçlar
1	Vinka	Vinkristin
2	Vinka	Vinblastin
3	Vinka	Vindesin
4	Vinka	Vinorelbin
5	Taksan	Paklitaksel
6	Taksan	Dosetaksel
7	Podofilotoksin	Topotekan
8	Podofilotoksin	Irinotekan
9	Antrasiklin	Doksorubisin
10	Antrasiklin	Daunorobisin
11	Antrasiklin	Epirubisin
12	Antrasiklin	Idarubisin

1959 yılında ilaçların keşfiyle çalışılan şifalı bitkilerden vinblastin ve vinka bileşiklerinin yanı sıra podofilotoksin gibi sitotoksik bileşiklerin izolasyonu önemli ölçüde başlamıştır. Bu durum 1960 yılında Ulusal Kanser Enstitüsü'nün antikanser doğal bileşenleri elde etmek amacıyla bitkileri toplamasına neden olmuştur. Sonuç olarak, taksan ve kamptotekin gibi sitotoksik etkilere sahip yeni bileşikler keşfedilmiştir. Kullanılan ilaçlar ile birlikte, yapılan klinik çalışmalar 30 yıl sürmüştür. (21) (Tablo 2.2)



**Tablo 2.2:** Ekstre edilen metabolitlerin farklı kanser tiplerindeki etkisi

NO	Metabolitler	Gruplar	Bitki Türleri	Kanser Tipi
1	Kurkumin	Fenolik	Zerdeçal	Kolorektal
2	Fenol	Fenolik	Zencefil	Kanser
3	Resveratrol	Fitoaleksin	Üzüm	Meme
4	Genistein	Flavonoidler	-	Lösemi
5	Biokalein	Flavonoidler	Shosiko	Hepatoselüler
6	Hydroxystaurosporin	Alkaloid	Ökse otu	Over Kanseri
7	Lektin	Lektinler	-	Kanser
8	Xanthorrhizol	Terpenoidler	Zerdeçal	Kanser

### 2.3.1. Kanser Tedavisinde Kullanılan Bitki: Zerdeçal (*Curcuma longa L.*)

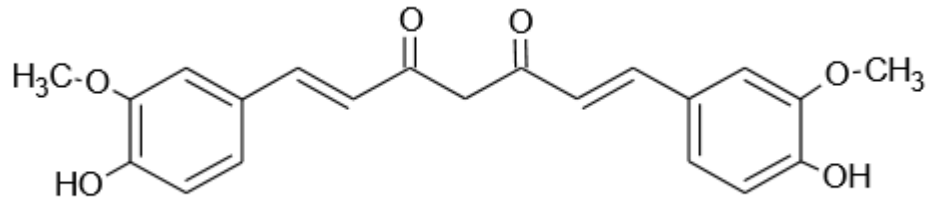
Normal hücre üzerine toksisite göstermeyen, sadece kanser hücrelerini selektif olarak yok eden ya da gelişimini inhibe eden ilaçları geliştirmek oldukça zordur. Yeni, daha aktif, daha selektif ve daha az toksik antikanser ilaçların gelişimi için çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir ve umut veren antikanser yaklaşımlar test edilmektedir.

*Curcuma longa L.* Zingiberaceae ailesinden gelen çiçekleri sarı, büyük yapraklı, çok yıllık otsu bir bitki cinsi olan tıbbi bir bitkidir. Geleneksel Çin tıbbında yıllardır çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan bitki halk arasında zerdeçal olarak bilinmektedir. Etkin maddesi kurkumindir. *Curcuma longa L.*'nin rizomlarından elde edilen bir polifenol olan kurkumin bileşeni; anti-inflamatuar, kemopreventif, anti-oksidan, anti-anjiyojenik, sitotoksik ve tümör oluşumunu önleyici özelliklere sahiptir. (22,23) Birçok prelinik çalışmada, kurkuminin çeşitli kanser türlerinde antikanserojen özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir. (24)

Kanser tedavisi yanı sıra yüzyıllar boyunca çeşitli inflamatuvar hastalıkların tedavisinde de kullanılmıştır. Zerdeçal bitkisinin etki mekanizması; apoptoz (caspase'lerin aktivasyonu ve antiapoptotik genlerdeki reseptörlerin azalması), hücre siklusu (cyclin D1 ve cyclin E), çoğalma (HER-2, EGFR, AP-1), hayatta kalma (PI3K/AKT yolağı), yayılma (MMP-9 ve adezyon molekülleri), yeni kan damarları oluşumu (VEGF), metastaz (CXCR-4), enflamasyon (NF-KB, TNF, IL-1, IL-6, COX-2, VE, 5-LOX) ve çeşitli hücre sinyali yolları üzerinden gerçekleşmektedir. (25)

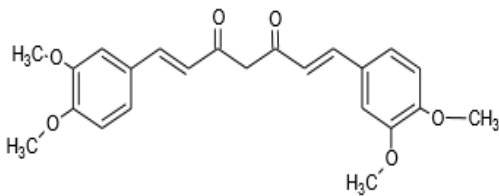
Yapılan çalışmalarda kurkuminin; lösemi ve lenfoma, gastrointestinal kanserler, genitüriner kanserler, göğüs kanseri, yumurtalık kanseri, baş ve boyun skuamöz (yassı) hücre karsinoması, akciğer kanseri, melanom ve nörolojik kanserlerde tümör oluşumunu baskıladığı rapor edilmiştir. (25) Fenolik bileşikler; serbest radikal tutucu özellikleri sayesinde antioksidan ve antikanser aktivite göstermektedir. (26) Kurkumin, fenolik ve enolik fonksiyonel gruplarından dolayı mükemmel antioksidan aktiviteye sahiptir. Yapılan çalışmalarla, kurkumin ve analoglarının sahip olduğu oksijenli aromatik halkaların sitostatik aktivite gösterdiği doğrulanmıştır. (27)

Kurkuminin anti-neoplastik aktiviteye sahip olması, molekül ağırlığının düşük olması ve toksisitesinin olmaması, bu molekülü; potansiyel kemoterapötik ilaçların geliştirilmesinde ideal öncü molekül haline getirmektedir. (28,29) Kurkumin son derece pleiotropiktir, çok sayıda hedefi düzenler, çeşitli alanlardaki moleküler hedeflerle etkileşebilme yeteneğinden dolayı, çok sayıda moleküler ve biyokimyasal kademeleri etkileyebilmektedir. (25) Kurkuminin bu kimyasal yapısından yola çıkarak çeşitli analogları sentezlenmekte ve etkileri denenmektedir.

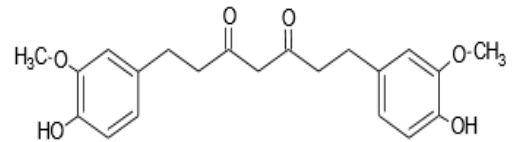


Şekil 2.1. Kurkumin

[(1E,6E)-1,7-bis (4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion]



Şekil 2.2. Dimetoksikurkumin



Şekil 2.3. Tetrahidrokurkumin



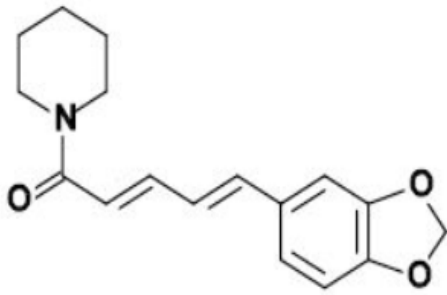
**Şekil 2.4.** Zerdeçal (*Curcuma longa* L.)

Klinik çalışmalarda, kurkumin in günlük 3600-8000 mg dozuna kadar iyi tolere edildiği ve ciddi bir toksisite görülmediği gösterilmiş, daha çok ılımlı derecede bulantı ve ishal gibi yan etkileri olduğu bildirilmiştir. (30) Bununla birlikte çalışmalarda gözlenen en önemli sorun, oral kullanım sonrası oldukça düşük biyoyararlanımı ve hızlı eliminasyonudur. Kurkumin klinik etkinliği ise; kardiyovasküler hastalık, ateroskleroz, nefrit, diyabet, liken planus, vitiligo, psöriyazis, romatoid artrit, enflamatuvar bağırsak hastalıkları, peptik ülser, enflamatuvar göz hastalıkları, kronik pankreatit, karaciğer yağlanması, nörolojik hastalıklar ve kanser hastalıklarında araştırılmıştır. (31) İlk çalışmalar da ümit verici sonuçlar elde edilse de, çalışmaların küçük ve yetersiz olması, sonuçların prelinik çalışmalara göre beklentileri karşılamaması en önemli sorunlardır. Sistemik hastalıklarda hedef organ ve dokuya ulaşması için farklı yaklaşımlar gerekmektedir. Prelinik ve klinik bilimsel veriler birleştirildiğinde kurkumin in daha etkili formülasyonlarla veya farklı kullanım yollarıyla etkinliğinin artırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Mükemmel farmakodinamik profili nedeni ile klinik çalışmalar yapılmıştır ancak sınırlı suda çözünürlüğü ve zayıf biyoyararlanım sorunu ile karşılaşmıştır. Kurkumin'in suda çözünürlüğünü arttırmak için nanopartiküller, lipozomlar ve nanoemülsiyonlar gibi çeşitli nanoteknolojilere dayalı terapötik sistemler geliştirilmiştir. İlk bilimsel çalışma sonuçları, bu formülasyonların toksik yan etkileri azaltarak aynı anda terapötik etkinliği arttırdığını göstermiştir. (32) Terapötik etkinlikte elde edilen artışın, hedef dokuya transferi ve kanser hücre içine alınmasındaki artışa bağlı olduğu ileri sürülmektedir. Bilimsel çalışmalara göre, kanser tedavisinde etkili olabilecek tedavi yaklaşımlarından birisinin de nanoteknolojik kurkumin bileşenlerinin olabileceği düşünülmektedir. (33)

### 2.3.2. Kanser Tedavisinde Kullanılan Biyoyarlanım Arttırıcı ve Antikanser Bileşen: Piperin (*Piper nigrum*)

Kara biber (*Piper nigrum* L.) ve uzun biber (*Piper longum* L.) insanlık tarihi boyunca dünyanın çeşitli bölgelerinde baharat olarak kullanılmıştır. Biber türlerinin etkin bileşenlerinden birisi piperin alkaloididir (1-piperoylpiptidine). (Şekil 2.5)



Şekil 2.5. Piperin molekülü



Şekil 2.6. Karabiber (*Piper nigrum* L.)

Piperin; karaciğer ve ince bağırsaklarda glukuronidasyonu engelleyerek ilaçların ve bazı doğal bileşenlerin biyoyarlanımını arttırmaktadır. (34) İlaçların ve doğal bileşenlerin biyoyarlanımının artırılmasında kullanılan bileşenlerin başında karabiber içinde bulunan piperin etken maddesi yer almaktadır. (35) Yapılan klinik çalışmalarda piperin; kurkumin biyoyarlanımını % 2000 gibi oldukça yüksek oranda arttırmaktadır. (34) Piperin (*Piper nigrum* L.) etkilediği metabolik ve enzimatik yollar ile kemopreventif, detoksifikasyon ve biyoyarlanım arttırıcı özellikleri ile modern hücre, hayvan ve insan çalışmalarında immunmodülatör, antioksidan, antiastmatik, antikarsinojenik, antiinflamatuvar, antiülser ve antiparaziter etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir. (36)

Kanserin tekrarlamasından ve kanser tedavisine dirençten sorumlu temel faktörlerden birisi de kanser kök hücreleridir. (37) Kanser kök hücrelerine karşı etkili ilaç tedavilerinin geliştirilmesi, kanser tedavisinde yeni bir çığır açacaktır. Bu konuda prelinik ve klinik çalışmalar ile yeni ilaç geliştirilmesi alanında yoğun çaba

harcanmaktadır. (38) Kanser kök hücrelerine karşı etkili olduğu gösterilen doğal bileşenler arasında piperin ve kurkumin bulunmaktadır. (39) Klinik olarak etkili olabilecek piperin ve kurkumin formülasyonlarının geliştirilmesi kanser kök hücrelerine karşı tedavi strateji oluşturulmasında umut vaat etmektedir. Piperin, kurkumin ile beraber kullanıldığında; kurkumin in tek başına kullanımına göre antikanser aktivite ve kemopreventif etkisini sinerjistik olarak arttırmaktadır. (40,41) Ayrıca ilaçlara direnç kazanmış kanser hücre hatlarında direncin engellenip kanser ilaçlarının aktivitesinin artırılmasında etkili olduğu bulunmuştur. (42) Bu çalışmalar; kanserin tıbbi medikal tedavisinin yanında tıbbi bitkilerin adjuvan tedavi olarak kullanılabilmesi yönünde araştırmaların yapılması gerektiğini desteklemektedir.

Piperin ve kurkumin'in beraber kullanıldığı (günlük 10 mg / 1000 mg) plasebo kontrollü çift kör klinik çalışmada metabolik sendromlu kişilerde oksidatif ve enflamatuvar belirteçleri anlamlı derecede düşürdüğü gösterilmiştir. (43) Özellikle CRP yüksekliğini azaltmada etkili bulunmuştur. Başka bir plasebo kontrollü klinik çalışmada, çevresel kimyasal etkenlere bağlı akciğer toksisitesinin azaltılmasında piperin- kurkumin (15mg-1500 mg/gün) kombinasyonunun etkili olduğu gösterilmiştir. (44) Çalışma sonunda, akciğer hasarından korunmada etkin ve tolere edilebilen adjuvan tedavi yaklaşımı olarak değerlendirilebileceği ileri sürülmüştür.

Bütün bu veriler; kurkumin ve biyoyararlanım ile etkinliğini arttıran piperin etken maddesinin beraber kullanılma amacının bilimsel mantığını oluşturmaktadır. Ayrıca biyoyararlanımı arttırmada ve etkin hedef organ konsantrasyonunu sağlamada nanoformülasyon ile enkapsülasyon uygulamaları da ek fayda sağlayacaktır.

## **2.4. Nanopartiküllerin Temel Özellikleri**

### **2.4.1. Nanopartiküller Hakkında Genel Bilgi**

Yunan dilinde cüce anlamına gelen "nano" kelimesi, ölçüm birimi nanometre (nm) olarak kullanılmakta olup milyarda biri ifade eder. Türkçede olduğu gibi çoğu dilde çok küçük boyut anlamı vermek için ön ek olarak kullanılmaktadır. Nanopartiküller, bir boyutu en az 1-100 nm aralığında olan, bazı durumlarda 200-300 nm boyutlarının da kabul edilebildiği partiküllerdir. (45) Nobel ödülü almış fizikçi Richard Feynman ın 1959 yılında yapmış olduğu konuşmasında cihaz ve malzemelerin nm aralığındaki özelliklerinin, gelecekte büyük ve önemli fırsatlara imkan sağlayabileceğini ileri sürmesi

nano yapılı malzemelerin (nanomateryaller) öneminin kabul edildiğinin göstergesidir. (46)

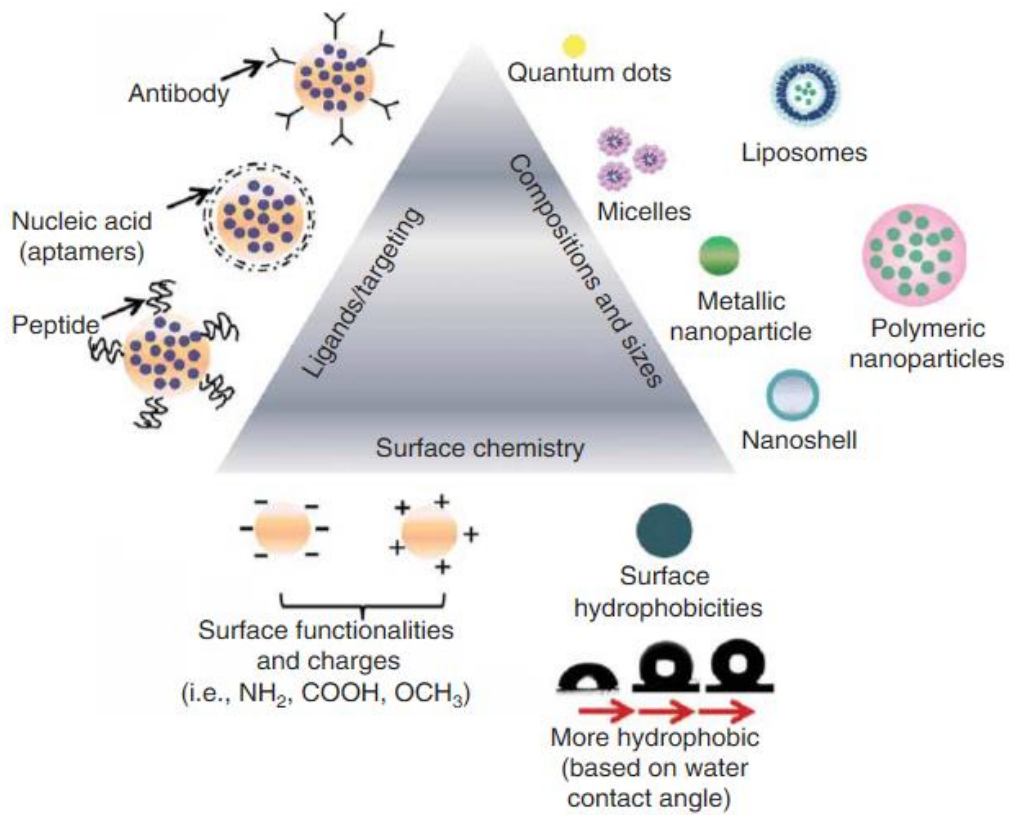
Tasarlanmış nanomateryaller başta olmak üzere nanopartiküllerin çevre ve insan sağlığı üzerine etkileri ile ilgili kaygılar 2000’li yıllarda başlamış olup partiküllerin çevrede ve biyolojik sistemdeki akıbeti, taşınmaları, maruziyet kaynakları ve toksik etkileri ile ilgili yapılan araştırmalar oldukça günceldir. (47) Nanomateryallerin boyutlarının 1 nm ve altında olması sebebiyle çevre ve insan sağlığı ve güvenliği açısından Avrupa Birliği Komisyonu (European Commission, EC) tarafından 2011 yılında nanopartikül kavramı genişletilmiştir. Serbest/aglomerat/agregat haldeki nanomateryallerin %50’den fazlasında en az bir boyutun 1-100 nm arasında olması durumunda, kaynağı ne olursa olsun nanomateryal olarak kabul edilebileceği kavramı getirilmiştir. (48) Nanopartiküllerin ultra küçük boyutta olmaları ve özel şekillere modifikasyonları sonucu farklı manyetik ve optik özellikler, yüksek oranda sağlamlık, iletkenlik, esneklik ve absorpsiyon aktivitesi kazanmaları, son yıllarda yaygın olarak birçok sektörde kullanılmasına sebep olmuştur. (48)

Nanopartiküllerin kullanıldığı ve oldukça hızlı büyüyen bir sektör olan nanoteknoloji sektörü; gıda, tekstil, kimya, malzeme, bilişim, otomobil ve metal endüstrisi gibi birçok alanda kullanılmakta olup tıp alanında aşuların ve hedefli ilaç moleküllerinin geliştirilmesinden erken teşhis için manyetik rezonans, 5-floresan, ultrason, nükleer ve bilgisayarlı tomografi gibi radyolojik alanlarda moleküler görüntüleme ajanı ve daha duyarlı analizler için genomik teknolojilerle biyosensör oluşturulmasına kadar birçok çarpıcı gelişmeye imkan tanır. Kir barındırmayan bebek elbiseleri, su tutmayan-ıslanmayan kirlenmeyen boyalar, leke tutmayan masa örtüleri, güneş kremleri gibi birçok sayıdaki nanoteknolojik ürün günlük hayatta kullanılmaktadır. (49,50) (Şekil 2.1) Renk ve tat geliştirici, antimikrobiyal, koruyucu olarak gıda katkı maddesi ve gıda ambalaj materyali olarak kullanılan nanomateryal ürün sayısı ortalama 100 civarındadır. (51) Nanopartiküller birçok organ ve sistemler tarafından partikül boyutu, yüzey özelliği ve hedef ligand özelliği gibi özelliklere bağlı olarak kolayca absorbe edilebilir ve etkileşime girebilir. (52-55)

#### **2.4.1.1. Nanopartiküllerin Boyutu**

Kanser tedavilerinde bir nano ürünün etkili olabilmesi için, nanoparçacık boyunun geleneksel olarak 10-100 nm arasında olması gerektiğine inanılmaktadır. 10 nm’ dan

küçük nanoparçacıkların böbrek yoluyla hızlı bir şekilde atılması nedeniyle nanoparçacık boyutlarının alt limiti 10 nm olarak belirlenmiştir. (56) Tümör içi vasküler yatakta bulunan endotelial aralık 380-780 nm arası genişliğinde iken, normal vasküler yatakta yer alan endotel hücreleri arasındaki boşluk 2 nm den daha küçüktür. (57) Bu durum, nanoformülasyonu yapılmış antikanser bileşenlerin daha çok kanser dokusunda dağılmasını, normal dokuda birikme riskinin azalmasını desteklemektedir. Daha önceden yapılmış prelinik çalışmalarda pozitif yüklü dış yüzeye sahip olan, boyu 100-150 nm arasında bulunan nanoparçacıkların tümör hücrelerine daha kolay penetre olduğu gösterilmiştir. (58) (Şekil 2.8)



Şekil 2.7. Nanopartikül hedeflemesi sırasında dikkate alınabilecek ilaç hücre etkileşimlerini etkileyen dış faktörlere örnekler

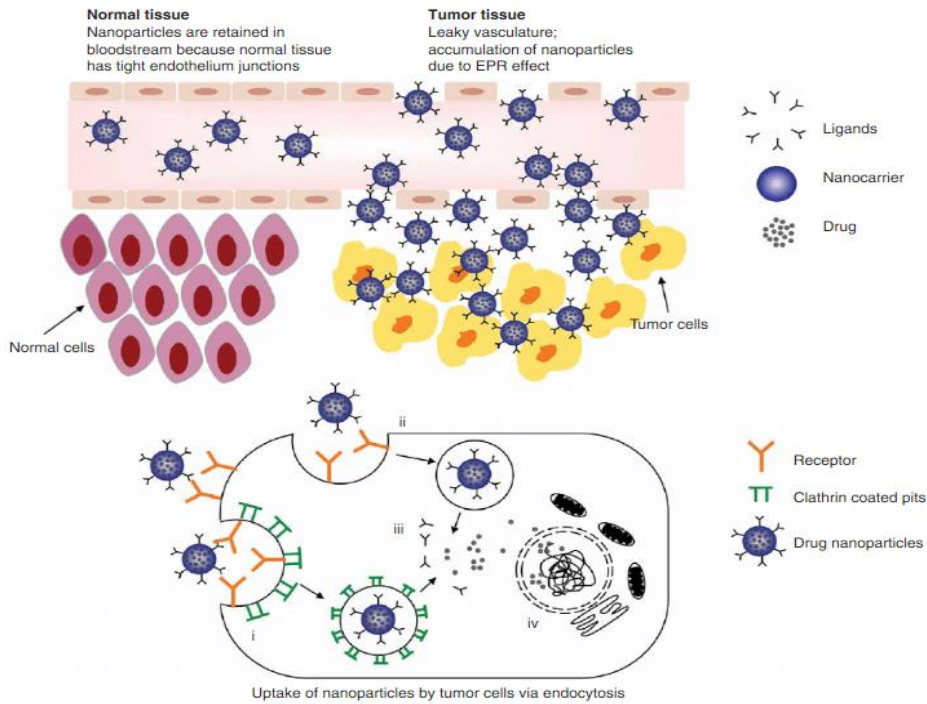
#### 2.4.1.2. Nanopartiküllerin Yüzey Özellikleri

Nanopartiküller, kanser hücreleri ve ilaç partikülleri arasında daha yüksek biyo-etkileşimler ile sonuçlanan yüksek temas yüzey alanına sahiptir. 50-100 nm büyüklüğündeki hafif negatif ve pozitif yüzey yüklerine sahip nanopartiküller kanser

hücrelerinin içine kolayca geçebilmektedir. (57) Erken klinik çalışmalarda nano partikül antikanser tedavilerin, kanser hüresine ve dokusuna daha fazla geçebildiği, antikanser etkinliği arttırırken tedaviye bağlı yan etkileri azaltabildiği gösterilmiştir. (57) Hücre zarı negatif yüklü olduğundan, dış yüzeyi pozitif yüklü katyonik nanopartiküller hücre içine daha fazla oranda girebilmektedir. (57)

### 2.4.1.3. Nanopartikül- Hedef Ligandları

Nanoparçacıkların yüzeyinde özelleşmiş ligandların varlığı, spesifik nanoparçacık-hücre etkileşimlerinin tanımlamasında önemli bir rol oynayabilir. Nanopartiküllerin, reseptörler sayesinde kanser hücre zarına spesifik bağlanmayı teşvik eden protein, peptid veya antikorlar ile hedef hücreye yönlendirilmesi; nanopartiküllerin kanser hücrelerini daha etkin bir şekilde hedeflemesini sağlayabilir. (57) Nanopartiküllerin boyut ve yüzey özelliklerinin daha iyi anlaşılmasıyla, nanopartiküllerin hedeflenen tümörlere ulaşması ve kanser hüresine daha fazla geçmesi sağlanabilir. Bu sayede sonuç olarak terapötik bir etki oluşturmak için ihtiyaç duyulan dozlar daha düşük olabilir. Nanoparçacıkların endositoz ile kanser hüresine girebileceği düşünüldüğünde, nano ilaçların, ilaçları hücrelerden dışarı atmaktan sorumlu hücre yüzeyi protein pompalarını içeren çoklu ilaç direnci (MDR) mekanizmaları gibi sorunları azaltabileceği düşünülmektedir. (57) (Şekil 2.9)

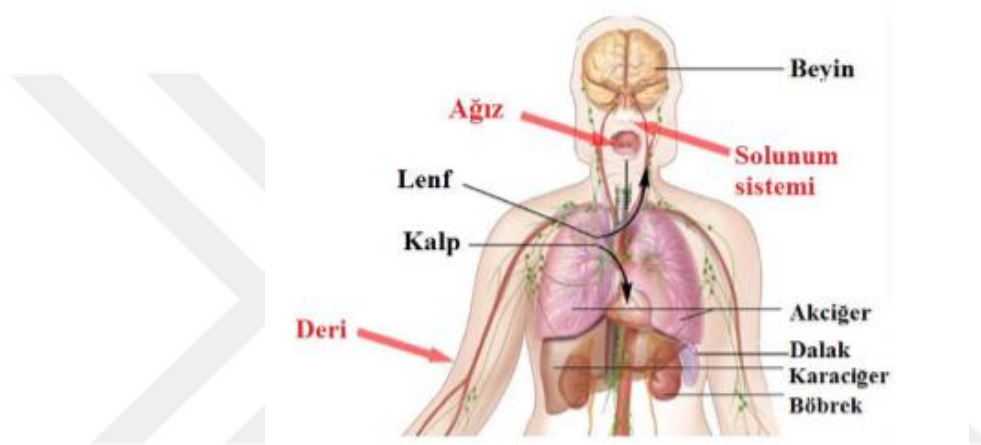


Şekil 2.8. Nanopartiküllerin endositoz yolu ile normal ve kanser hüresi içine alımı



## 2.4.2. Nanopartikül Maruziyeti ve Toksikitesi

Olası meslek hastalıkları nedeni ile iş sağlığı ve halk sağlığı açısından önemli risk faktörü olan nanomateryallerin günümüzde kullanım sıklığı oldukça artmış bulunmaktadır. Maruziyet süresine bağlı olarak solunum yolu, ağız yolu ve deri yolu gibi çeşitli giriş yollarından girerek solunum, sindirim ve deri sistemlerine ve ayrıca böbrek, beyin, kalp gibi organları da hedef alabilmektedir. (52,59,60) Bunların dışında sağlık alanında tanı ve teşhis amaçlı görüntüleme yöntemlerinde veya tedavi amaçlı (iv/oral/dermal) kullanılmaktadır. (52,59,60)



Şekil 2.9. Nanopartiküllerin giriş yolları ve etkiledikleri başlıca sistemler.

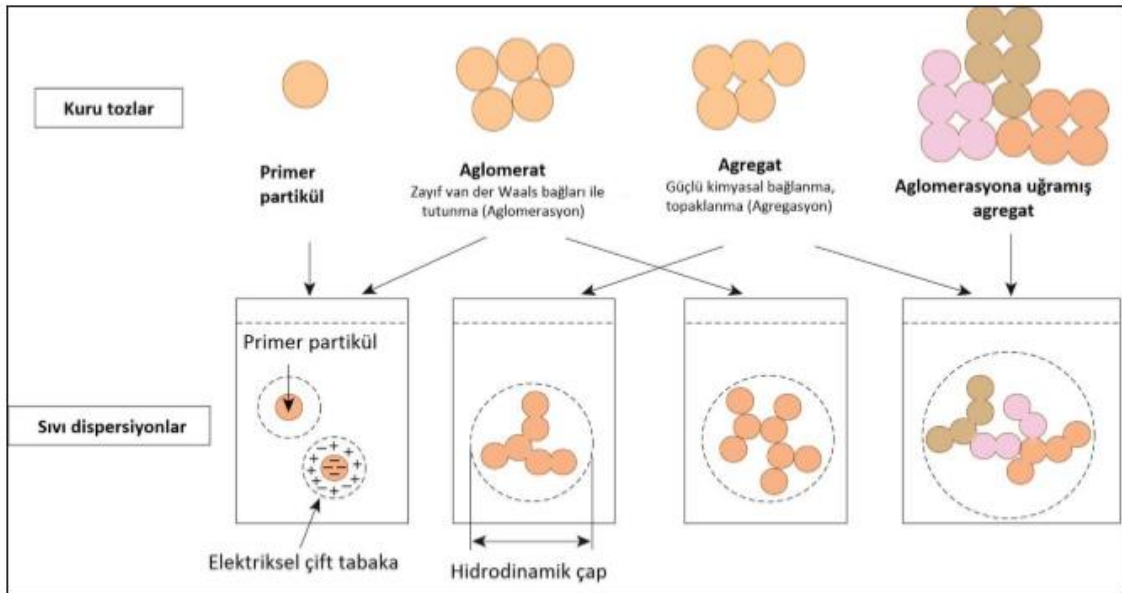
İnhale edilen nanopartiküller burun ve yutaktan başlayarak akciğerlere kadar tüm solunum sistemi boyunca dağılabilir, sistemik dolaşıma dahil olabilir, başta sinir sistemi olmak üzere birçok organ ve sisteme ulaşabilir. (60) Yapılan çalışmalarda; havacılık ve teknoloji sektöründe kullanılan havada asılı kalma özelliğe sahip işlenmemiş karbon nanotüp (SWCNT ve MWCNT) formlarının akciğerlere iletilme potansiyelinin oldukça yüksek olduğu rapor edilmiştir. (61) Kan-beyin bariyerini geçen bazı nanopartiküller makrofajlar tarafından çevrilerek yok edilirken bazıları fagosite edilemez, ortamda mutajenik, proinflamatuvar ve genotoksik medyatörlerin salınmasına sebep olabilir. (62) Bu sürecin gelişmesinde özellikle partikül boyutu önem kazanır. 100 nm boyutundan büyük partiküller karaciğer eliminasyonu nedeniyle organlara ulaşamazken, 100 nm boyutundan daha küçük nanopartiküller ise havada ve çevrede birikerek lenfatik dolaşım, kan dolaşımı ve organlara daha fazla geçiş yaptıkları gözlenmiştir. (63) Nanopartiküllerin

solunum yolu maruziyetleri sonucu amfizem, akciğer kanseri gibi hastalıklar yanı sıra parkinson ve alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların oluşma riskinde artış olabileceği ile ilgili şüpheler bulunmaktadır. (64,45) Yapılan *in-vivo* çalışmalarda her ne kadar nanomateryallerin GI epitel hücrelerine geçişinin özellikle hücrelerarası sıkı bağlantılar (tight junction) nedeniyle limitli olabileceği bildirilse de gerek sindirim sistemine giren partiküllerin midebağırsak yoluyla kan dolaşımına erişiminin ve boyuta bağlı olarak bağırsaktan absorbe edilmesinin mümkün olduğu gerekse de deney hayvanlarında yüksek doz gavajı takiben kemik iliği hücrelerinde DNA hasarının varlığı tespit edilmiştir. (60,63,65,66)

Nanopartiküller için üçüncü önemli maruziyet yolu deri yoludur ve mesleki maruziyet açısından çok önemlidir. 1986 yılından beri çinko oksit (ZnO) ve titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>) gibi birçok nanopartikül kişisel bakım ürünlerinin üretiminde farklı amaçlar ile kullanılmaktadır. (67) Her ne kadar nanopartiküllerin deriden penetrasyonu zor olsa da deri özellikle küçük lipofilik moleküllerin geçişine müsaade eder. (68) Özellikle saç kökleri, yara ve lezyonlu bölgelerden partiküller daha kolay geçebilmektedir. (60,62) Nanopartiküllerin atılımı büyük ölçüde böbrek ve karaciğer üzerinden gerçekleşir. Böbrek endotelial bariyerinin fenestratası (penceresi) oldukça geniş olmasına rağmen por çapları daha küçük olduğu için glomerüler filtrasyon limitli bariyer özelliği gösterir ve 8 nm'den büyük partiküller mekanik filtrasyon ile geçemez. (69) Metal bazlı nanopartiküller için böbrekten eliminasyon 5,5 nm ve altı için uygundur. (70) Boyut kadar partiküllerin yüzey özellikleri ve yükü de filtrasyonu etkiler. Örneğin; güçlü negatif yüke sahip glomerüler kapiler duvarları nötr ve negatif yüklü nanopartiküllerin geçişine müsaade etmez. (69,71) Karaciğerden eliminasyonda da benzer şekilde nanopartikül özelliği önemlidir. Hepatositler nanopartikülleri safra aracılığıyla GI kanala iletir. Gerek hepatositler gerekse de kupfer hücreleri endositoz ve kimyasal veya enzimatik yolla partikülleri degrade eder. Ancak, bahsi geçen hücreler tarafından partiküllerin alınması kronik birikime ve toksisitenin indüklenmesine sebep olabilir. (71) Bilindiği üzere nanopartiküller geniş yüzey alanları ile çeşitli moleküllerin absorpsiyonuna imkan sağlamaktadır. (46) Özellikle yüklü, polar ve hidrofobik gruplara sahip proteinler iyonik ve hidrofobik etkileşimler ve hidrojen bağları oluşturmaya meyillidir. Protein korona olarak da isimlendirilen nanopartikül protein arasındaki dinamik yüzey kan plazma proteinleri ile etkileşim, partikülün kinetiğinde değişim, yeni

antijenik özellik oluşumu, enzim aktivitesinde değişim gibi sonuçlara sebep olabilmektedir. (72)

Nanopartiküller farklı hücre ve dokularda toksik etki potansiyellerine bağlı olarak farklı yanıtlara neden olabilir. Partiküllerin boyutu, miktarı, yapısı, şekli, çökme derecesi, kimyasal kompozisyonu, yüzey yükü, yüzey alanı, yüzey kimyası ve çözünürlüğü gibi fizikokimyasal parametreler toksik etkilerinden sorumludur. (48,46,62) Aglomerasyon ve agregasyon (çökme), partikül boyutu, kimyasal özelliği, yüzey yükü ve sulu ortamdaki hidrofobik etkileşimler gibi faktörlerle değişkenlik gösteren, partiküller arasındaki çekme ve itme güçlerinin farkına bağlı oluşan kompleks bir olay olup nanopartikül toksisitesi üzerinde önemli rol oynar. (46)



Oberdörster 2013 p.1195

Şekil 2.10. Nanopartiküllerin katı toz olarak ve likit ortamdaki aglomerasyon ve agregasyon durumları.

#### 2.4.2.1. Sistotoksik Hasar Oluşturma Potansiyelinin Tespiti

Günümüzde halen devam etmekte olan *in-vitro* sitotoksisite çalışmalarında; nanaopartiküllerin hücre duvarı ve hücre plazma membranında hasar oluşturduğu, elektron transport sistemi ve aerobik solunum ile etkileşime girdiği, oksidatif stresi arttırdığı, hücre sinyal yolağını aktive ettiği, lizozomal membran hasarına neden olduğu, fagositozu engellediği ve kromozomal (genetik) hasar oluşturduğu gösterilmiştir. (63)

Sitotoksisite, hücrenin geçici olmayan onarılamaz bozukluğu ve hücre aktivitesinin durdurulması şeklinde tanımlanabilir. *In-vitro* sitotoksisite testlerinde, test

maddesi uygulaması sonrası hücre büyüme oranı ve morfolojik özellikler değerlendirilir. Genelde testlerde hücrenin sayısı, büyümesi, hücre membran bütünlüğü ve genetik materyal içeriği ve bunların üzerine etkileri ölçülmektedir. (73)

## **2.5. Kanser Hücrelerine Karşı Kurkumin Nanoformülasyonların *In-Vitro* Etkinlik Çalışmaları**

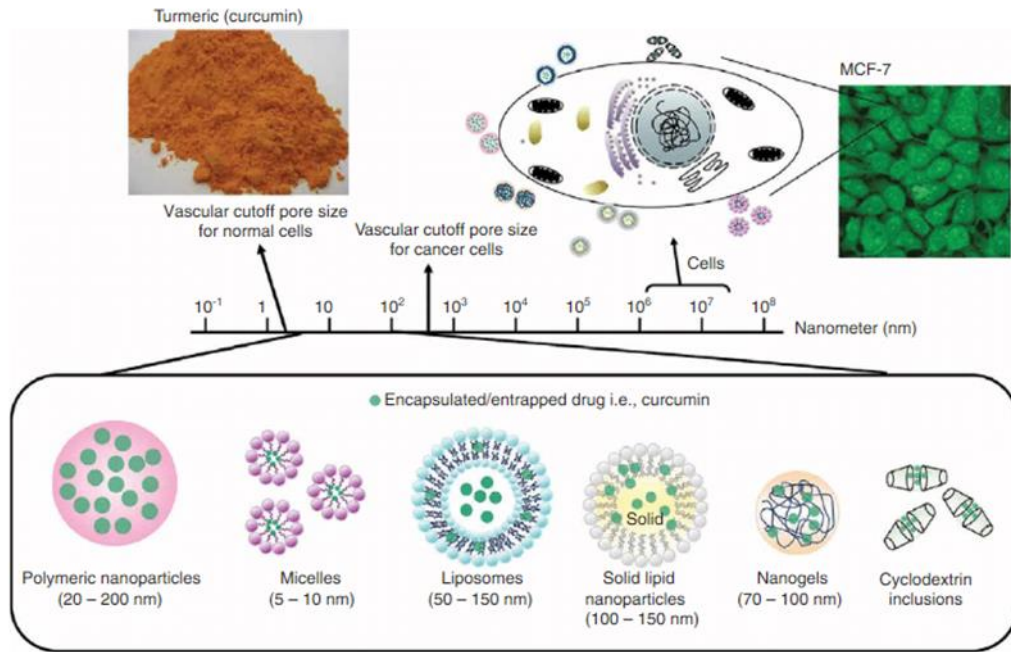
### **2.5.1. Polimerik Kapsüllü Kurkumin Nanopartikülleri**

Kurkuminin polimerle kaplanması yöntemi, kurkumin biyoyararlanımını arttırmak ve yıkımını azaltmaya yarayan bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Günümüzde kurkumin nanoenkapsülasyon işlemi için doğal veya sentetik biyo çözünebilirliğe sahip moleküller kullanılmaktadır. Örneğin; polivinil alkol ( PVA), polilaktik koglolik asit (PLGA) gibi sentetik ve chitosan gibi doğal polimerler kullanılmaktadır. (74-76) Çeşitli kanser tiplerinde yapılan çalışmalarda, polimer ile kaplanmış kurkumin nano partiküllerinin serbest kurkuminden daha fazla öldürücü etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. (77-79) Ayrıca polimer kaplı kurkumin in kanser hücreleri içine serbest kurkumine göre daha fazla geçtiği saptanmıştır. (77,80) Çalışmalarda kullanılan polimerik kaplı kurkumin bileşeninin çapı yaklaşık 20 – 200 nm aralığında değişmektedir. (98)

### **2.5.2. Lipozomal Kurkumin Nanopartikülleri**

Değişik formlarda kullanılan lipozomlar, hidrofobik ve hidrofilik içeriklerine ve etkileşim sahalarına göre ilaçların hedef bölgeye ulaştırılmasında tercih edilen faydalı yöntemlerden biridir. (81) Lipozomların hidrofobik tabakası fosfolipit ve kolesterol moleküllerinden oluşmaktadır. Lipit temelli bu taşıyıcılar kurkumin, resveratrol, orizanul ve N-asetilsistein gibi suda çözünmeyen kemopreventif ajanların hedef tümör dokuya ulaştırılmasında faydalıdır. Yapılan çalışmalarda, kurkumin yüklü lipozomların prostat kanseri hücrelerini serbest kurkuminden daha fazla yok ettiği, eşdeğer etkinliğin sağlanması için serbest kurkuminin 10 kat daha fazla yüksek konsantrasyonda uygulanması gerektiği saptanmıştır. (82) Bu çalışmalar lipozomal nanoformülasyon kullanılarak kurkuminin biyo yararlanımını ve hücre içine alımını arttırılabileceğini desteklemektedir. (98) Çok sayıda *in-vitro* çalışmalarda lipozom temelli kurkumin formülasyonlarının yüksek anti kanser etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. (83,84) 6 farklı insan pankreatik kanser hücre hattında, lipozomal kurkumin serbest kurkumine göre daha fazla öldürücü etki göstermiştir. (83)

Kurkuminin diğer anti kanser ajanlarla aynı lipozom içine alınması günümüzde geliştirilen yeni alanlardan birisidir. (85) Bu şekilde farklı anti kanser ilaçları sinerjistik etkilerinden faydalanılarak anti kanser etkinin iyileştirilmesi ve sağlıklı hücelere yan etkinin azaltılması sağlanabilir. Kurkumin ve Cisplatin kombinasyonunun skuamöz hücreli kanser hücrelerinde sinerjistik etki gösterdiği saptanmıştır. Kurkumin ilaç direncini azaltırken Cisplatin ile beraber kullanıldığında daha fazla kanser hücre apoptozuna neden olmuştur. (85) Çalışmalarda kullanılan lipozomal kurkumin bileşeninin çapı yaklaşık 50 – 150 nm aralığında değişmektedir. (98)



W.-H. Lee et al.

Şekil 2.11. Kanser tedavisinde nano-kurkumin yaklaşımları

### 2.5.3. Miçel Kurkumin Nanopartikülleri

Polimerik miçel; sıvı solüsyonlarda hidrofobik bileşenlerin çözünürlüğünü arttıran amfilik kopolimerlerden oluşan makro moleküler yapılardır. (86) Lipozomlar çift katmanlı lipit tabakadan oluşurken miçeller tek katmanlı lipit tabakadan oluşmaktadır. Taşıyıcı sistem olarak tercih edilen polimerik miçel uygulamasının avantajı; hedef dokuya geçişin artması, dolaşımında uzun süre durması, sağlıklı hücelere yan etkinin az olması, ilaç çözünürlüğü ve stabilitesinin iyileştirilmesidir. Günümüzde

polimerik miçel üretimi için çeşitli biyo çözünebilirliğe sahip biyo uyumlu amfifilik kopolimerler kullanılmaktadır. (87,88) Çalışmalarda enkapsülasyon yöntemi ile geliştirilmiş miçel kurkumin polimerlerin serbest kurkumin etkinliğine göre sürekli ve kararlı salınımına sahip olduğu ve daha etkin anti kanser aktivite gösterdiği saptanmıştır. (89) Çalışmalarda kullanılan miçel kurkumin bileşeninin çapı yaklaşık 5 – 10 nm aralığında değişmektedir. (98)

#### **2.5.4. Kurkumin Nano-jel**

İlaç taşıma sistemleri hidro-jel ve nano-jel formunda uzun süredir kullanılmaktadır. Nano-jel, hidro-jelin nano boyutunda formülize edilmiş halidir. Her iki form da sıvı ortamda yüksek stabiliteye sahip ve benzer şekilde yüksek su çözünürlüğü özellikleri göstermektedir. (90,91) 2012 yılında yapılan bir çalışma; kurkumin ile yüklenmiş kitin nano-jelinin transdermal uygulama ile cilt kanseri tedavisinde kullanılabilirliğini göstermiştir. (91) Kurkumin ile yüklenmiş kitin nano-jeli insan melanom hücrelerine toksik etki gösterir iken, insan fibroblast hücrelerine daha az toksisite göstermektedir. Yeni yapılan bir araştırmada, hidro-jel aerosol formda mikrosferleri kullanılarak kurkuminin akciğer dokusuna ulaştırılabileceği gösterilmiştir. (92) Bununla birlikte, eşdeğer miktardaki serbest kurkumin ile benzer anti kanser aktivitesi bulunmuştur. (93) Çalışmalarda kullanılan kurkumin nano-jel bileşeninin çapı yaklaşık 70 – 100 nm aralığında değişmektedir. (98)

#### **2.5.5. Siklodekstrin Kurkumin Kompleksleri**

Kurkumin ve siklodekstrin kompleks molekülünün kanser tedavisinde ki etkinliği ile ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır. (94,95) Siklodekstrinler, hidrofilik dış tabaka ve lipofilik çekirdekten oluşan siklik oligosakkaritlerdir. (94) Yapısı gereği kurkumin gibi hidrofobik ilaçlar kompleks molekülün merkez alanına yerleştirilir ve bu sayede suda çözünürlüğü artırılır. Siklodekstrin kompleksi kurkuminin stabilitesini ve biyoyararlanımını artırırken yıkımını ve sağlıklı hücrelere olan yan etki özelliğini azaltmaktadır. (94) Yapılan çalışmalarda siklodekstrin ve kurkumin kompleksinin serbest kurkumine göre çeşitli kanser hücrelerine daha fazla sitotoksik etki gösterdiği saptanmıştır. (98)

### 2.5.6. Diğer Nanoformülasyonlar

Nanoemulsiyon tekniği ile oluşturulan kurkumin polifenol bileşenleri aynı şekilde suda çözünürlüğü arttırmak amacı ile kullanılmaktadır. Fakat bu konuda çok fazla çalışma bulunmamaktadır. (96,97) Kurkumin lipid nanoemulsiyonun ortalama çapı 47-55 nm dir. Öte yandan lösemi hücre hattında yapılan bir çalışmada, kurkumin salınımının yavaş olması nedeni ile kurkumin nanoemulsiyon formunun serbest kurkuminden daha az antikanser aktivite göstermiştir. (96) Çalışmalarda kullanılan kurkumin lipid nanopartiküllerin çapı yaklaşık 100– 150 nm aralığında değişmektedir. (98)

### 2.6. Kurkumin Nanoformülasyonların *In-Vivo* Kanıtı: Farmakokinetik ve tümör hacminin azaltılmasındaki etkinliği

Böbrekler tarafından ilk geçiş eliminasyonu eşiği olan 10 nm'nin üzerinde çapa sahip nanopartiküllerin kullanılması, nanopartiküllerin böbreklerden hızla atılmasını engeller. (57) Öte yandan, tümörlerde vasküler yataktaki endotel hücreleri arasındaki boşlukların çapı yüzlerce nm olup, sağlıklı normal kapiller damardaki boşluklardan çok daha büyüktür. Bu da 10-100 nm çapa sahip nanopartiküllerin sağlıklı dokuda daha az birikip toksisitesinin azalmasına neden olurken tümör dokusunda daha fazla geçerek birikmesine ve tümöre daha fazla antikanser aktivite göstermesine izin verir. (57) Nanopartiküller, fagositoz ve kanser hücre içine alınması yoluyla tümör hücrelerinde birikirler. Nanopartiküllerin tümör hücrelerine alımı normal hücrelere göre daha yüksektir. Bunun sebebi; kanser hücrelerinin daha yüksek metabolik aktiviteye sahip olması ve kanser hücrelerinin, normal hücrelere göre endositozu kolaylaştıran reseptörlere daha fazla sahip olmasıdır.<sup>57</sup> Kurkumin nanoformülasyonlarının *in-vivo* farmakokinetiği, biyodağılımı ve etkinliği çeşitli hayvan modellerinde çalışılmıştır. (87,75,78,99)

Mürin ksenograftlerinde 24 gün sonunda intravenöz olarak 5 mg/kg dozunda dış yüzeyi pozitif yüklü kurkumin nanopartikülü verilmesi ile hepatosellüler karsinoma tümörünün büyümesi belirgin bir şekilde engellenmiştir. (936 mm<sup>3</sup> den 407.5 mm<sup>3</sup>). Araştırmacılara göre antitümör etkinliğinin bir bölümü antianjiyojenik etkiye bağlanmıştır. (78) İntravenöz kurkumin yüklü miçellerin kullanıldığı başka bir çalışmada (25 mg/kg doz), cilt altı uygulanan C26 tipi kolon kanser hücrelerinin *in-vivo* ortamda büyümesinin engellendiği gösterilmiştir. (87) Ciltaltı pankreatik kanser hücrelerinin verildiği hayvanlarda polimerik kapsüllü kurkumin nanopartikülleri (25 mg/kg/gün doz 3 hafta

boyunca) uygulanmasıyla primer tümör büyümesi belirgin engellenmiştir. Aynı çalışmada kurkumin nanopartikülünün Gemsitabin ile beraber kullanılmasıyla tümör büyümesinin daha fazla engellendiği gösterilmiş ve *in-vivo* sinerjistik bir etki olabileceği ileri sürülmüştür. Ek olarak pankreatik kanser ksenograft modelinde sistemik metastaz gelişimi belirgin bir şekilde engellenmiştir. (101) Lipozomal kurkumin formunda uygulanan nanopartiküllerin kullanıldığı bir çalışmada *in-vivo* tümörün volümünde azalma ve kanser metastaz gelişiminde baskılanma elde edilmiştir. Müriinlere intravenöz olarak lipozomal kurkumin formunda (40 mg/kg/gün doz haftada 3 gün) uygulanan nanopartiküllerin pankreas kanseri büyümesini baskıladığı gösterilmiştir. Bu çalışmada önemli bir toksisite olmadan ilacın iyi tolere edildiği gözlenmiştir. (83) Kurkumin nanoformulasyonu doğal kurkumine göre kullanım yoluna bakılmaksızın (oral, intravenöz veya intraperitonela enjeksiyon) daha fazla doz AUC-zaman eğrisine sahip olduğu gösterilmiştir. (75,88,102,78,101)

PLGA ile kapsüllenmiş kurkumin nanopartiküllerin serbest kurkumine göre daha fazla yarılanma ömrüne sahipken serum düzeyleri ise iki kat daha fazla bulunmuştur.<sup>101</sup> Ayrıca farelerde intravenöz uygulamayı takiben 60 dk sonra serbest kurkumine göre bin kat daha fazla maksimum serum düzeyine ulaştığı gösterilmiştir. (75) Örneğin; 4mg/ml tek doz kullanımında kurkumin nanopartikülleri ile serumda 25 mikrogram /ml düzeyleri elde edilirken aynı dozda verilen serbest kurkumin ile 0.02 mikrogram/ml serum düzeyleri elde edilmiştir. (75) Ratlarda 200nm partikül çapına sahip kurkumin nanopartiküllerin 10mg/kg intravenöz kullanımı sonrası yarılanma zamanı 18,6 saat ve AUC düzeyi 3.3 mg/l/saat bulunmuştur. (78) Serbest kurkumin verilmesi ile elde edilen oranlar değerlendirildiğinde yarılanma zamanı nanopartiküle göre 50 kat daha düşük bulunurken AUC düzeyi 1.9 mg/l/saat (düşük) bulunmuştur. (78) Diğer çalışmalarda serbest kurkumin verildikten sonra başlıca karaciğer, dalak, böbrek, akciğer, kalp ve tümör dokusunda kurkumin bileşenleri saptanırken, miçel formunda verilen nanopartiküllerin temel olarak tümör bölgesinde biriktiği gösterilmiştir. Tümör bölgesinde ki birikimin 24 saat sonra bile saptanabilir miktarda olduğu gözlenmiştir. (99) Benzer şekilde deneysel meme kanseri yapılmış hayvanlarda 24 saat sonra doğal kurkumin saptanabilirken, nano kurkuminin 25 gün sonra bile tümör dokusunda saptanabileceği gösterilmiştir. (102)

Nanopartiküller ile yapılan tedavide bağışıklık sistemi önemli rol oynamaktadır. Makrofajlar; dolaşım sisteminde bulunan nanopartikülleri ortadan kaldırarak tümör



dokusuna ulaşımını engelleyebilir. Benzer etkiye sahip myeloid kaynaklı baskılayıcı hücreler (MDSC) ise kanser hastalarının çoğunda yüksek miktarda bulunmuştur. Dolayısı ile MDSC hücrelerinin makrofajlar gibi nanopartikülleri ortamdan uzaklaştırmaları kanserde nano tedavi yöntemlerinin başta gelen en önemli dezavantajı olarak düşünülmektedir. (103) Sonuç olarak; makrofaj klirensinin engellenmesinde ve dolaşımında bulunan nanopartikül miktarlarının arttırılmasında farklı nanoformülasyonlar geliştirilmiştir. Örneğin; PEG kaplanmış lipozomal formulasyonlar mononükleer hücrelerce fagositozu azaltılmış ve serumda daha uzun süre kaldığı daha fazla antitümör aktivite gösterdiği saptanmıştır. Öte yandan MDSC gibi bağışıklık sistemini engelleyen ve kansere karşı bağışıklık sistem yanıtını baskılayarak kanserin büyüme sürecine katkı sağlayan hücrelerin nanopartiküller ile hedeflenmesi faydalı olabilir. Özellikle MDSC gibi hücrelere alınan nanopartiküller antiinflamatuvar ve antiproliferatif etkileri ile tümör progresyonunu azaltabilir.

Kolorektal kanser hayvanların da yapılan bir diğer çalışma da ise 40mg/kg katyonik lipozomal kurkumin iv uygulamasıyla tümör büyümesinde %90 azaldığı gösterilmiştir. (103) Katyonik kurkumin nanopartikülünün kullanıldığı deneysel karaciğer kanseri hayvanlarında 190 mg/kg iv uygulanması sonucu tümör büyümesinde %44 azalma olduğu saptanmıştır. (78) Pankreas kanseri hayvanlarında kurkumin nanopartikülünün 25 mg /kg cilataltı uygulamasında tümör büyümesinde %50 azalma sağlanmıştır. (100) Solid lipid nanopartikül uygulanan akciğer kanseri yapılmış hayvanlarda ip uygulamasında 200mg/kg uygulamasında tümör büyümesinde %65 azalma elde edilmiştir. (105) Glioma hayvanlarda ip lipid nanopartikül uygulamasında tümör büyümesinde %28 azalma elde edilirken aynı etkiyi elde etmek için 30 kat daha fazla serbest kurkumine ihtiyaç olduğu gösterilmiştir. (108)

**Tablo 2.3.** Kurkuminin farklı doz nanoformülasyon uygulamaları ile farklı tümör hacimlerinde ki değişiklikler

Formulasyon	Tümör Tipi	Tümör Völümünde Azalma	Kullanım Yolu	Ref.
Katyonic lipozom-PEG-PEI kompleksi	Kolorektal	40 mg/kg ile %90 ↓	IV	[103]
Katyonic poli(butyl) siyanoakrilat nanopartikülleri	Hepatik	190 mg/kg ile %44 ↓	IV	[78]
N-isopropilakrilamid, VP ve akrilik asid nanopartikülleri	Pankreatik	25 mg/kg ile %50 ↓	SC	[100]
Albumin nanopartikülleri	Kolon ve Pankreatik	10 mg/kg veya 20 mg/kg ile %50 veya 60 ↓	IV	[104]
Solid lipid nanopartiküller	Akciğer	200 mg/kg ile %65 ↓	IP	[105]
Lipozom	Pankreatik	20 mg/kg ile %40 ↓	IP	[106]
Lipozom	Baş ve boyun	50 mg/kg ile %300 ↓	IV	[57]
Polimerik miçeller	Akciğer	25 mg/kg ile %50 ↓	IV	[99]
Lipd-core nanopartikülleri	Glioma	%28 ↓; aynı etkiyi sağlamak için serbest kurkumin' in 30 kattan daha yüksek dozda kullanılması gerekli	IP	[108]

## 2.7. Piperin Nanoformülasyonu ile Yapılan Çalışmalar

Kurkuminden farklı olarak piperin nanoformülasyonu ile yapılan çalışma sayısı daha azdır. Yeni yapılan bir çalışmada 172.5 nm çapında elde edilen piperin nanopartikülünün iyi yüzey morfolojisine sahip olduğu ve partikül çapının standardize edilebildiği gösterilmiştir. (109) Aynı çalışmada piperin nanopartikülünün *in-vivo* ortamda doğal piperinden 3,65 kat daha fazla biyoyararlanıma sahip olduğu gösterilmiştir. Bütün bu çalışmalar gözden geçirildiğinde tıbbi bitkilerin nanoformülasyonunun konvansiyonel bitkisel doz formlarından daha fazla teropatik potansiyeli olduğunu açıkça göstermektedir.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Marka	Alet ve Cihazlar
Hayat	İnsülin Enjektörü 1mL
Labnet	Vortex Karıştırma cihazı
–	Penset ve Makas
–	Patoloji Numune Kabı 100 mL
Adventure Ohaus	Hassas terazi
Precisa BJ4100D	Elektronik Terazi
Arçelik	Buzdolabı (+4 °C)

#### 3.2. Kullanılan Kimyasallar

Marka	Kimyasal
Patentli Stok Solüsyon	Zein ile kaplanmış Kurkumin- Piperin nanopartikül 50 mL
Sigma-Aldrich	%10 Gluteraldehit solusyon
–	CO <sub>2</sub> gazı

#### 3.3. Kullanılan Yöntemler

Tez çalışması Yeditepe Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Laboratuvarında yürütülmüştür. Ancak kullanılan patentli ajanın nanopartikül karakterizasyonu ve üretimi, Prof. Dr. Oğuz Bayraktar ve arkadaşları tarafından İzmir Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi ve İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

### 3.3.1. Kurkumin ve Piperin Yüklü Zein Nanopartiküllerinin Geliştirilmesi ve *In-vitro* Karakterizasyonu

#### *Deney maddesi*

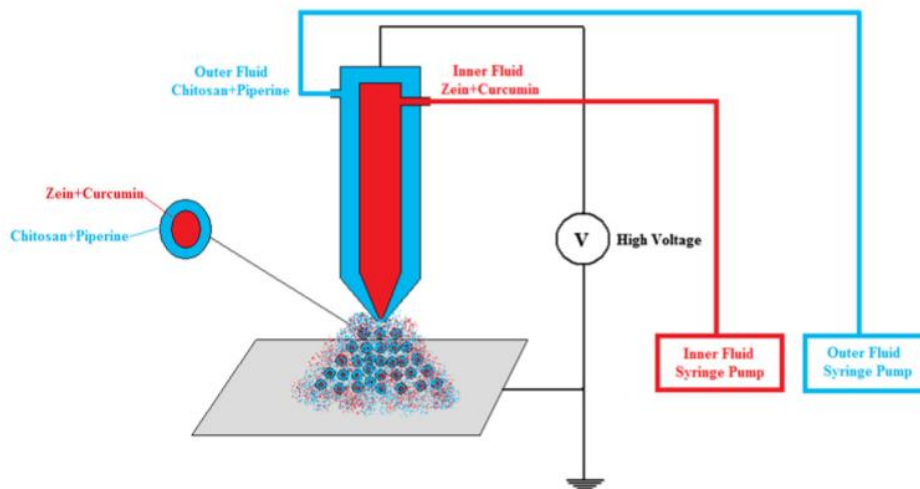
Hammaddeleri Hindistan ülkesinden tedarik edilen zerdeçal bitkisinden (turmerik) Kurkumin, kararabiber bitkisinden ise Piperin bileşenleri ekstre edilmiştir. (110) HPLC analizinde kullanılan kurkumin ve piperin referans maddeleri ile orta moleküler ağırlıktaki zein maddesi Sigma Aldrich firması tarafından tedarik edilmiştir. Ekstraksiyon yönteminde kullanılan etanol sıvısı ise Merck Darmstadt firması tarafından tedarik edilmiştir. Tercih edilen uygulama yöntemi (ip) nedeni ile patentli üründe ve daha önce yapılan *in-vitro* çalışmalarda kullanılan ürün içeriğindeki chitosan kaplama işlemi bu çalışmada tercih edilmemiştir.

#### *Kurkumin ve Piperin HPLC analizleri*

Kurkumin ve Piperin maddelerinin enkapsülasyon etkinliğinin belirlenmesinde kullanılan ölçüm analizleri; 33°C sıcaklığında ki, 262 nm ultraviyole görünür spektroskopi detektörü ve pompa ile donatılmış ters faz HPLC (Thermo Scientific Ultimate 3000) cihazı ile yapılmıştır. (110)

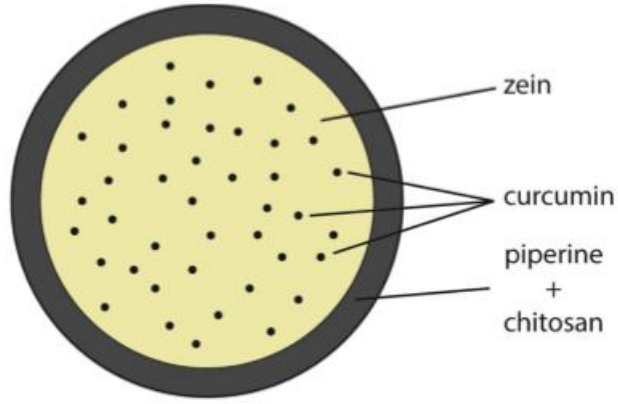
#### *Mikro ve Nanopartiküllerin elektrosprey yöntemi ile hazırlanması*

Nanopartiküller IMKASAN marka elektrosprey cihazı kullanılarak hazırlanmıştır. Bu cihaz iki farklı sıvı tabakasını eşzamanlı olarak püskürtme işlemi yapabilmektedir. Çalışmada nanopartiküllerin çekirdek ve kabuk yüzey olarak şekillendirilmesi hedeflenmiştir.



Şekil 3.1. Elektrosprey aparatının şematik figürasyonu

Elde edilen üründe nanopartiküllerin çekirdeğinde kurkumin bulunurken kabuk yüzeyini piperin ve biyopolimer zein oluşturmaktadır. (110)



Şekil 3.2. Kurkumin ve piperin nanopartiküllerin çekirdek ve kabuk modeli

Akut Sistemik Toksikite deneyinde kullanılan stok solüsyonda ise 10 mg / ml kurkumin, 2 mg / ml piperin maddesi bulunmaktadır. Elde edilen kurkumin ve piperin nanoformülasyonu nun ortalama partikül çapı 300 nm çapındadır. Akut Sistemik Toksikite deneyi çalışmasında 25 mg/kg/doz kurkumin ve piperin nanopartikülleri sistemik uygulama yöntemi kullanılarak (ip) farelere periton için tek doz enjekte edilmiştir.



Şekil 3.3. Kurkumin ve piperin yüklü zein-chitosan nanopartikül ürünü

### 3.3.2. Çalışma tasarımı ve Deney Hayvanları

Çalışma türü olarak Akut Sistemik Toksikite Deneyi TS EN ISO 10993-11 Tıbbi Cihazların Biyolojik Değerlendirmesi- Sistemik Toksikite Deneyleri standartlarına uygun olarak seçilmiştir. Çalışma tasarımı aşamasında deneyden en az 5 gün önce sağlıklı, genç erişkin 5 adet erkek fare laboratuvar koşullarına alıştırmıştır. Daha sonra hayvanlar 5 ayrı grupta tek tek olacak şekilde kafeslere yerleştirilmiştir. Standartlarda belirtilen şartlar doğrultusunda tipik olarak tek bir kemirgen türü olan fare kullanılmıştır. Bu durum, türler arasında ki farklılıkların kontrol altına alınmasını ve sadece çalışma süresiyle ilgili değerlendirme yapılmasını kolaylaştırmıştır. Akut sistemik toksisite deneyi 24 saat içinde kullanılan deney numunesine bir defa maruz kalmadan sonra herhangi bir zamanda meydana gelen ters etkileri görmek ve kaydetmek amacı ile tasarlanmıştır.

Deney hayvanlarının odalarında ki sıcaklık (22+/- 3) ve bağıl nem (%30-70) hayvan türüne göre uygun olacak şekilde ayarlanmıştır. Aydınlatma süresi 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık şeklinde ayarlanmıştır. Beslenme amacı ile, sınırsız içme suyu ile birlikte standart ticari laboratuvar diyeti kullanılmıştır.

### 3.3.3. Deney Koşulları

50 mL hacmindeki Kurkumin-Piperin nanomolekül stok solüsyon +4 °C derece buzdolabından çıkartılarak fizyolojik olarak kabul edilebilir oda sıcaklığında bekletildikten sonra homojen karışım sağlamak amacı ile Vortex karıştırma cihazı ile karıştırılmıştır. 3 dakika süre ile karıştırılan deney numunesi 0,1 mL/ kg hacimli tek bir doz şeklinde periton içi (ip) uygulanmıştır. Bu işlem her bir fare için tekrarlanmıştır.

Doz belirlenmesinde, formülasyonda bulunan 10 gr kurkumin / 2 gr piperin nanomolekülün 50 mL lik stok solüsyon madde derişimi hesaplaması (0,1 gr Kurkumin / 0,5 gr Piperin nanomolekül) yapılmıştır. Stok solüsyon madde derişimi hesaplandıktan sonra uygulanacak gerçek doza geçiş yapılmıştır. Her bir fareye 25mg/kg tek doz uygulaması, en uygun uygulama yolu olan periton içi uygulama yöntemi tercih edilerek periton boşluğuna enjekte edilmiştir.



Şekil 3.4. Deney numunesi stok solüsyon 50mL



Şekil 3.5. 25 mg/kg/doz 0,1 mL ilaç uygulama (ip)



Şekil 3.6. Ayrı kafesler içerisine yerleştirilen BALB-C deney fareleri

## 4. BULGULAR

### 4.1.Klinik gözlemler

Akut Sistemik Toksikite çalışmasına yönelik gözlem süresi standartlara göre 1 hafta olacak şekilde belirlenmiştir. Çalışmada ki hayvan kaybını en aza indirmek amacı ile gözlemler, erken dönemde doz uygulaması yapılan günde her saat, diğer günlerde ise günde en az bir defa olacak şekilde yapılmıştır.

**Tablo 4.1.** Klinik belirtiler ve gözlemler

<b>Klinik gözlem</b>	<b>Gözlemlenen belirti</b>	<b>Etkilenen sistemler</b>
Solunum	Normal nefes alma	MSS, Akciğer, kalp
Motor hareketler	Normal hareket yeteneği	MSS, duyuşal, nöromüsküler, otonom
Konvülzyon	Gözlenmedi	MSS, otonom, nöromüsküler
Refleksler	Normal refleks	MSS, duyuşal, otonom, nöromüsküler
Gözle ilgili belirtiler	Normal	Otonom
Kardiyovasküler berlitiler	Normal ritim	MSS, otonom, kalp, akciğer
Salivasyon	Normal	Otonom
Piloereksiyon	Normal kıl yapısı	Otonom
Analjezi	Normal reaksiyon	MSS, duyuşal
Kas tonusu	Normotoni	Otonom
Gasrointestinal	Normal gaita, idrar, beslenme	MSS, otonom, duyuşal, mide barsak hareketi, böbrek
Cilt	Normal	Doku hasarı, irritasyon



## 4.2. Vücut Ağırlıkları

Vücut ağırlığı ölçümleri, doz verilmeden hemen önce, doz verildikten sonra ilk üç gün boyunca günlük olarak ve deney sonu 7. günün sonunda yapılmıştır.

**Tablo 4.2.** Farelerde gözlenen Vücut Ağırlığı Değişikliği

No	Başlangıç Ağırlığı	1.gün Ağırlığı	2. gün Ağırlığı	3. gün Ağırlığı	Deney sonu Ağırlığı (7.gün)
1	29,6 gr	29,6 gr	29,7 gr	29,7 gr	30,1 gr
2	24,5 gr	24,5 gr	24,6 gr	24,6 gr	25,5 gr
3	25,3 gr	25,4 gr	25,5 gr	25,7 gr	26,0 gr
4	29,4 gr	29,4 gr	29,6 gr	29,7 gr	31,4 gr
5	27,3 gr	27,3 gr	27,4 gr	27,6 gr	28,0 gr

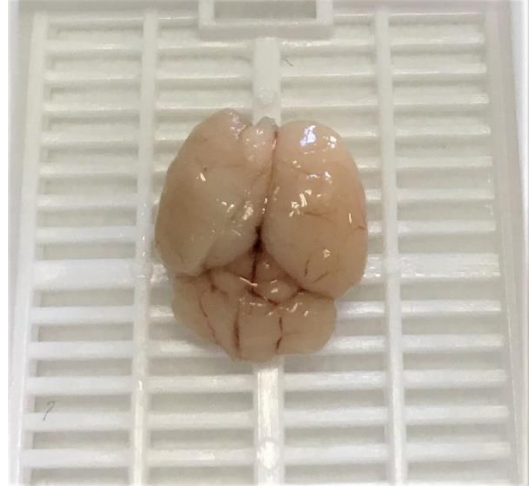
Vücut ağırlığı ölçümleri sonrasında yaşayan 5 farede; Deneysel Hayvanların Ötenazisine ilişkin Avrupa Komisyonu Tavsiyelerinde belirtilen prensiplere uygun bir ötanazi yöntemi (CO<sub>2</sub>) tercih edilmiştir.

## 4.3. Patoloji bulguları

Dokulardaki, organlardaki ve diğer sistemlerdeki toksik etkileri araştırmak için hematoloji ve klinik kimya analizleri yapılmaktadır. Standartlara göre; akut sistemik toksisite deneyi sırasında klinik olarak gerek görüldüğünde veya daha uzun maruz kalma deneyi beklenmiyorsa patoloji bulguları (klinik, anatomik, histolojik) dikkate alınmalıdır. Gros patolojik değerlendirmeler, vücudun dış yüzeylerinin, tüm deliklerin ve kranial, torasik ve abdominal boşlukların ve bunların içeriklerinin muayenesini içermektedir. Hematoloji ve klinik kimya analizleri kan dokusu yetersizliğinden çalışılmamıştır. Öte yandan gruba ait beyin, karaciğer ve böbrek yaş organ ağırlık değişimleri ve gros patoloji bulguları değerlendirilmiştir.



Şekil 4.1. Karaciğer dokusu



Şekil 4.2. Beyin dokusu



Şekil 4.3. Böbrek dokusu



Şekil 4.4. Abdominal kavite



Şekil 4.5. Karaciğer dokusundaki lezyon (KC<sub>5</sub>)

**Tablo 4.3.** Yaş Organ Ağırlığı

<b>No:1</b>	<b>Ağırlık</b>	<b>No:2</b>	<b>Ağırlık</b>	<b>No:3</b>	<b>Ağırlık</b>	<b>No:4</b>	<b>Ağırlık</b>	<b>No:5</b>	<b>Ağırlık</b>
<b>KC<sub>1</sub></b>	1,421 gr	<b>KC<sub>2</sub></b>	1,158 gr	<b>KC<sub>3</sub></b>	1,234 gr	<b>KC<sub>4</sub></b>	1,621 gr	<b>KC<sub>5</sub></b>	1,095 gr
<b>BÖ<sub>1</sub></b>	0,523 gr	<b>BÖ<sub>2</sub></b>	0,449 gr	<b>BÖ<sub>3</sub></b>	0,421 gr	<b>BÖ<sub>4</sub></b>	0,546 gr	<b>BÖ<sub>5</sub></b>	0,513 gr
<b>BE<sub>1</sub></b>	0,434 gr	<b>BE<sub>2</sub></b>	0,389 gr	<b>BE<sub>3</sub></b>	0,434 gr	<b>BE<sub>4</sub></b>	0,469 gr	<b>BE<sub>5</sub></b>	0,494 gr



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kanser tüm dünyada giderek artan ve yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulan hastalıkların başında gelmektedir. Kanser tedavilerinde sıklıkla karşılan sorunlardan birisi; kullanılan ilaçlara karşı direnç gelişimidir. Dünyanın birçok ülkesinde eski çağlardan beri tıbbi bitkiler çeşitli hastalıkların tedavisinde geleneksel olarak kullanılmıştır. Gelişmekte olan ülkelerin kırsal bölgelerinde tıbbi bitkiler tedavinin bir parçası olarak halen kullanılmaya devam edilmekte ve gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanların %80' i hastalık tedavisinde geleneksel tedavi yöntemlerini tercih etmektedirler. Kanser ilaçlarının geliştirilmesinde maliyet oldukça yüksek olup yaklaşık olarak 2 milyar doları bulmaktadır. Bu nedenle ucuz ve hızlı geliştirme kaynaklarını en iyi alternatifi doğal fitokimyasal kaynaklardır. Dünyada bulunan yaklaşık 5 milyon bitki türünün sadece %1' i yeni bioaktif bileşik tespit etmek amacı ile araştırılmıştır.

Tıbbi bitkiler arasında tedavide en sık kullanılan Kurkumin' in klinik kullanımını engelleyen en önemli sorunlar ise; vücutta hızlı yıkımı ve suda çözünmemesine bağlı biyoyararlanımının düşük olmasıdır. Bu sorun; kanser tedavilerinde yeni olmayıp bu problemlerin aşılmasında çeşitli tedavi yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler içinde; kurkumin in biyoyararlanımı arttırıcı özelliği olan piperin ile kombinasyonu, peptid konjugasyonu, kurkumin analoglarının sentezi ve kurkumin nanoformülasyonlarının geliştirilmesi bulunmaktadır.

Günümüzde bilimsel araştırmalarla kurkumin ve diğer ilaç kombinasyonları kullanılarak terapötik değeri ve biyoyararlanımı daha yüksek, toksik etkileri daha az bileşikler elde edilmeye çalışılmakta olup aktif biyolojik maddelerin çözünebilir polimerler içine yerleştirilmesi işlemi ile ilgili araştırmalar yoğun olarak devam etmektedir. Yapılan araştırmalar ilk önce doğal kurkumin bileşeni ile yapılırken, giderek nano formülasyonlar ve doğal taşıyıcı sistemler üzerine odaklanmıştır. Kurkumin nanopartikülleri ile yapılan çalışmalar ümit verici olmakla birlikte bu çalışmaların çoğu *in-vitro* deney çalışmalarıdır, klinik çalışmalar ise halen devam emektedir. Öte yandan yapılan çalışmalarda, kurkumin nanoformülasyonun etkinliği, stabilitesi, hücre içine geçişi ve biyoyararlanımı ile ilgili araştırma sonuçlarında çoğunlukla pozitif sonuçlara yer verilmiştir. Lipozom, polimerik nanopartikül, lipid nanopartikül ve nanojellerin kullanılması hedef tümör dokusuna etkin miktarda kurkuminin ulaştırılmasını sağlamada

ve kanser hücrelerinin daha fazla yıkıma uğratılmasını sağlamada kullanılmaktadır. Çalışmaların çoğunda, kullanılan nanopartikül kurkumin 100-200 nm çapının etkin ve güvenilir bir aralık olduğu gösterilmiştir. Nanopartiküllerin insanlarda gözlenen yan etkisi nedeni ile ilişkili olarak bazı endişelerin bulunmasına karşın, büyük çaptaki partiküllere kıyasla küçük çaptaki nanopartiküllerin rahatlıkla kısıtlı alanlara erişebilmesi özelliği genel olarak avantaj kabul edilmiştir. Nanoenkapsülasyon sistemleri bioaktif maddeleri hedef kitleye taşımada ve kanser hücrelerinin içine alınmasında etkili ve faydalı yöntemlerdir. Ayrıca stabiliteyi ve molekül yapısını korunmasını da sağlamaktadır. Nanopartikül yüzey alan özelliklerinin; örneğin dış yüzey alanın elektiriksel yük özelliğine sahip olması, nanopartiküllerin dağılımında, sağlıklı hücreler ve kanser hücreleri üzerinde bulunan toksik etkisinde önemli rol oynamaktadır. Bu sebeple, gelecekte yapılacak olan çalışmalarda kurkumin nanopartiküllerin spesifik protein ve antikolar ile daha işlevsel hale getirilmesi antikanser etkinliğinin artırılmasında büyük rol oynayacaktır. Kurkumin ve piperin birlikte kullanıldığında piperin, kurkumin biyoyararlanımı 20 kat daha arttırmakta, sinerjistik olarak antikanser etki göstermektedir. Biyoyararlanım faydası yanısıra birbirinin etkisini sinerjistik arttıran iki bileşenin nanoformülasyonunun akut sistemik toksisitesinin değerlendirilmesi önem taşımaktadır.

Stok ürün üretiminde kullanılan elektrosprey yöntemi, kurkumin gibi çözünürlüğü zayıf maddelerin enkapsülasyonunda ve polimerik nanopartiküllerin hazırlanmasında sık tercih edilen bir yöntemdir. Elektrosprey yöntemi ile elde edilen polimer nanopartiküllerin çapı kullanılan polimerin cinsine bağlı olarak 275-800 nm arasında değişmektedir. Yapılan çalışmalarda partikül çapı 500 nm altında olan nanopartiküllerin kan dolaşımında fagositozdan kaçabileceği gösterilmiştir. Böylece tedavi etkinliği iyileştirilirken ihtiyaç duyulan ilaç dozu ve istenmeyen ilaç yan etkileri azaltılabilmektedir. Çalışmamızda kullanılan stok ürün partikül çapı 300 nm olarak belirlenmiştir. Elektrosprey yöntemi ile dış tabakaya yerleştirilen zein ve piperin biopolimeri sayesinde stok ürün içerisinde yer alan kurkumin maddesinin biyodağılım ve biyoyararlanım özelliği arttırılmıştır. Piperin ile yapılan kombinasyonunda ise kurkumin emilimi daha da arttırılması hedeflenmiştir. Bir mısır proteini olan zein ile yapılan bilimsel çalışmaların olumlu sonuçları enkapsülasyon materyali olarak seçilmesinde etkili olmuştur. Böylece kurkumin maddesinin dağılımında fayda sağlamıştır. Öte yandan kurkumin maddesinin, nötral pH altında ve ışığa maruz bırakıldığında hızlıca yıkıma uğraması gibi dezavantajlarına rağmen geliştirilen zein biopolimeri kaplama tekniği ile

bu olumsuzluk giderilmiş ve ilacın 6 aydan daha uzun süre stabilitesini koruyarak uygun şartlarda saklanabileceği gösterilmiştir.

Akut sistemik toksisite deneyi, istenen klinik yola akut maruz kalmadan doğabilecek sağlık tehlikeleri hakkında genel bilgi sağlamaktadır. Akut sistemik toksisite çalışması, subakut / subkronik ve diğer çalışmalarda dozaj rejiminin belirlenmesinde ilk adım olabilir ve istenen klinik maruz kalma yoluyla bir maddenin toksik etki şekli hakkında bilgi verebilir. Kullanılan deney tasarımına bağlı olarak akut sistemik toksisite deneyinin gözlem süresinde, deney numunesi uygulanan hayvanlardan hiçbiri biyolojik reaktivite göstermemiştir. Fareler arasında; deney maddesinin dozu ile mortalite üzerindeki etkileri, vücut ağırlığı artışı, yem tüketimi, klinik gözlemler ve organ ağırlıkları açısından anlamlı farklılık görülmemiştir. Farelere uygulanan kurkumin ve piperin zein yüklü nanopartiküllerin akut (25 mg / kg) sistemik toksisite çalışmasında ilaca bağlı toksisite tespit edilmediği sonucuna varılmıştır. Dolayısı ile numune bu deneyin gereklerini karşılamış olup deney maddesinin dozu ile davranışsal ve klinik anormallikler saptanmamıştır. Öte yandan, gros nekropsi bulguları değerlendirmesinde; tek bir fare karaciğer dokusunda tespit edilen bariz ilaç lezyon varlığı tespit edilmiştir. Farklılıkların açıklanması ve toksik etkinin gösterilmesi amacına yönelik, daha kapsamlı yöntemlerin kullanılarak hematolojik ve histopatolojik analizlerin değerlendirmesine ihtiyaç vardır.

## 6. KAYNAKLAR

- 1) Nicholson DW. Caspase structure, proteolytic substrates and function during apoptotic cell death. *Cell Death Differ.* 1999;6:1028-42.
- 2) Mao TK, Van De Water J, Keen CL, Schimitz HH and Gershwin ME. Cocoa flavanols and procyanidins promote transforming growth factor –beta 1 homeostasis in peripheral blood mononuclear cell. *Exp Biol Med.* 2003;228:93-9.
- 3) Fitzmaurice C, Dicker D, Pain A, Hamavid H, Moradi-Lakeh M, MacIntyre MF, Allen C ve ark. The Global Burden of Cancer 2013. *JAMA Oncol.* 2015;1(4):505-27.
- 4) Pavlopoulou A, Spandidos DA, Michalopoulos I. Human cancer databases review. *Oncol Rep.* 2015;33(1):3-18.
- 5) Dhanamani M, Devi SL, Kannan S. Ethnomedicinal plants for cancer therapy-a review. *Hygeia J D Med.* 2011; 3:1-10.
- 6) Lucena SR, Salazar N, Gracia-Cazaña T, Zamarrón A, González S, Juarranz Á, Gşlaberte Y ve ark. Combined Treatments with Photodynamic Therapy for Non Melanoma Skin Cancer. *Int J Mol Sci.* 2015;16(10):25912-33.
- 7) Takahashi K, Yamanaka S. Induced pluripotent stem cells in medicine and biology. *Development.* 2013;140(12):2457-61.
- 8) Jung YW, Hysolli E, Kim KY, Tanaka Y, Park IH. Human induced pluripotent stem cells and neurodegenerative disease: prospects for novel therapies. *Curr Opin Neurol.* 2012;25(2):125-30.
- 9) Sakai M, Elhilali M, Papadopoulos V. The GnRH Antagonist Degarelix Directly Inhibits Benign Prostate Hyperplasia Cell Growth. *Horm Metab Res.* 2015;47(12):925-31.
- 10) Groom AG, Younis T. Endocrine therapy for breast cancer prevention in high-risk women: clinical and economic considerations. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 2016;17:1-11.
- 11) Li F, Dou J, Wei L, Li S, Liu J. The selective estrogen receptor modulators in breast cancer prevention. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2016 Jan 20.

- 12) Chlebowski RT, Manson JE, Anderson GL, Cauley JA, Aragaki AK, Stefanick ML, Lane DS ve ark. Estrogen plus progestin and breast cancer incidence and mortality in the Women's Health Initiative Observational Study. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(8):526-35.
- 13) Ohlmann CH. Chemotherapy of prostate cancer. *Urologe A.* 2015;54(10):1461-9.
- 14) Baykara O. Current Therapies and Latest Developments in Cancer Treatment. In: Watanabe Hiroto S, ed. *Horizons in Cancer Research vol.57.* New York, ABD: Nova Science Publishers; 2015:105-156.
- 15) Şarışen Ö, Çalışkan D. Fitoterapi: Bitkilerle Tedaviye Dikkat (!) *STED* 2005;14:182-187. Erişim 20.04.2019, <http://www.ttb.org.tr/STED/sted0805/titoterapi.pdf>
- 16) Wang CZ, Calway T, Yuan CS. Herbal medicines as adjuvants for cancer therapeutics. *Am J Chin Med.* 2012;40: 657-669
- 17) Ernst E, Cassileth B. The prevalence of complementary/ alternative medicine in cancer: A systematic review. *Cancer.* 1998;83:777-782.
- 18) Molassiotis A, Fernandez-Ortega P, Pud D, et al. Use of complementary and alternative medicine in cancer patients: A European survey. *Ann Oncol.* 2005;16:655-63.
- 19) Wang Z, Wang N, Chen J, Shen J. Emerging glycolysis targeting and drug discovery from chinese medicine in cancer therapy. *Evid Based Complement Alternat Med.*2012.
- 20) Mukherjee AK, Basu S, Sarkar N, Ghosh AC. Advances in cancer therapy with plant based natural products. *Curr Med Chem.* 2001;8: 1467-1486
- 21) Cragg GM, Newman DJ. Plants as a source of anti-cancer agents. *J Ethnopharmacol.* 2005;100: 72-79.
- 22) Gupta SC, Patchva S, Koh W, et al. Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2012;39:283-99.
- 23) Lee W-H, Loo C-Y, Bebawy M, et al. Curcumin and its derivatives: their application in neuropharmacology and neuroscience in the 21st century. *Curr Neuropharmacol.* 2013;11:338-78.



- 24) Lopez-Lazaro M. Anticancer and Carcinogenic properties of curcumin: Considerations for Its clinical development as a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent. *Mol Nutr Food Res.* 2008;52: 103-27.
- 25) Anand, P., Sundaram, C., Jhurani, S. Kunnumakkara, A.B., Aggarwal, B.B. Curcumin and cancer: An “old-age” disease with an “age-old” solution. *Cancer Letters.* 2008; 267, 133–164.
- 26) Sharma, R. A., Gescher, A.J., Steward, W.P. Curcumin: the story so far. *European Journal of Cancer.* 2005;41, 1955–1968.
- 27) Youssef, D., Nichols, C. E., Cameron, T., Cameron, S., Balzarini, J., De Clercq, E., Jha. Design, synthesis, and cytostatic activity of novel cyclic curcumin analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 2007;17, 5624–5629.
- 28) Aggarwal, B.B., Kumar, A., Bharti, A.C. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Research.* 2003; 23, 363–398.
- 29) Kelloff, G., Crowell, J., Hawk, E. Clinical development plan: curcumin. *Journal of Cellular Biochemistry.* 1996;26, 72–85.
- 30) Hsu CH, Cheng AL. Clinical studies with curcumin. *Adv Exp Med Biol.* 2007;595:471-80.
- 31) Gupta SC, Patchva S, Aggarwal BB. Therapeutic roles of curcumin: lessons learned from clinical trials. *AAPS J.* 2012;15(1):195–218. doi:10.1208/s12248-012-9432-8.
- 32) Gera M, Sharma N, Ghosh M, et al. Nanoformulations of curcumin: an emerging paradigm for improved remedial application. *Oncotarget.* 2017;8(39):66680–66698.
- 33) Yallapu MM, Jaggi M, Chauhan SC. Curcumin nanomedicine: a road to cancer therapeutics. *Curr Pharm Des.* 2013;19(11):1994–2010.
- 34) Shoba G, Joy D, Joseph T, Majeed M, Rajendran R, Srinivas PS. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Med.* 1998;64(4):353-6.
- 35) Han HK. The effects of black pepper on the intestinal absorption and hepatic metabolism of drugs. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2011;7(6):721-9.

- 36) Meghwal M, Goswami TK. Piper nigrum and piperine: an update. *Phytother Res.* 2013;27(8):1121-30.
- 37) Katoh M. Networking of WNT, FGF, Notch, BMP, and Hedgehog signaling pathways during carcinogenesis. *Stem Cell Rev.* 2007;3(1):30-8.
- 38) Pan Y, Ma S, Cao K, Zhou S, Zhao A, Li M, Qian F, Zhu C. Therapeutic approaches targeting cancer stem cells. *J Cancer Res Ther.* 2018;14(7):1469-1475.
- 39) Kim YS, Farrar W, Colburn NH, Milner JA. Cancer stem cells: potential target for bioactive food components. *J Nutr Biochem.* 2012;23(7):691–698.
- 40) Rinwa P, Kumar A. Piperine potentiates the protective effects of curcumin against chronic unpredictable stress-induced cognitive impairment and oxidative damage in mice. *Brain Res.* 2012;1488:38-50.
- 41) Patial V, S M, Sharma S, Pratap K, Singh D, Padwad YS. Synergistic effect of curcumin and piperine in suppression of DENA-induced hepatocellular carcinoma in rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2015;40(2):445-52.
- 42) Khan M, Maryam A, Mehmood T, Zhang Y, Ma T. Enhancing Activity of Anticancer Drugs in Multidrug Resistant Tumors by Modulating P-Glycoprotein through Dietary Nutraceuticals. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(16):6831-9.
- 43) Panahi, Yunes et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of curcuminoid-piperine combination in subjects with metabolic syndrome: A randomized controlled trial and an updated meta-analysis. *Clinical Nutrition.* 2015;34(6): 1101 – 1108.
- 44) Panahi Y, Ghanei M, Hajhashemi A, Sahebkar A. Effects of Curcuminoids-Piperine Combination on Systemic Oxidative Stress, Clinical Symptoms and Quality of Life in Subjects with Chronic Pulmonary Complications Due to Sulfur Mustard: A Randomized Controlled Trial. *J Diet Suppl.* 2016;13(1):93-105.
- 45) Buzea, C., Pacheco, I.I. ve Robbie, K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases.* 2007;2: MR17-71.
- 46) Oberdörster, G., Kane, A.B., Klaper, D. ve Hurt, R.H. Nanotoxicology. In: C.D. Klaassen ed. *Casarettand Doull's Toxicology the Basic Science of Poisons.* New York, NY: McGraw-Hill; 2013.

- 47) Colvin, V.L. The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature Biotechnology*. 2003;21: 1166-1170.
- 48) EU Commision. (2011). Commission recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial (Text with EEA relevance). 2011;696/EU. *Official Journal of the European Union*. Erişim 20.05.2015, <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011H0696&from=EN>.
- 49) Aitken, R.J., Chaudhry, M.Q., Boxall, A.B. ve Hull, M. Manufacture and use of nanomaterials: current status in the UK and global trends. *Occupational Medicine*. 2006;56: 300-306.
- 50) Berk, S. ve Akkurt, İ. Nanopartikül: Geleceğın korkulu rüyası. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*. 2012;60: 180-184.
- 51) Magnuson, B.A., Jonaitis, T.S. ve Card, J.W. A brief review of the occurrence, use, and safety of food-related nanomaterials. *Journal of Food Science*. 2011;76:R126-133.
- 52) Ai, J., Biazar, E., Jafarpour, M., Montazeri, M., Majdi, A., Aminifard, S. ve ark. Nanotoxicology and nanoparticle safety in biomedical designs. *International Journal of Nanomedicine*. 2011;6:1117-1127.
- 53) Chen, J., Patil, S., Seal, S. ve McGinnis, J.F. Rare earth nanoparticles prevent retinal degeneration induced by intracellular peroxides. *Nature Nanotechnology*. 2006;1:142150.
- 54) Kang, G.S., Gillespie, P.A., Gunnison, A., Rengifo, H., Koberstein, J. ve Chen, L.C. Comparative pulmonary toxicity of inhaled nickel nanoparticles: Role of deposited dose and solubility. *Inhalation Toxicology*. 2011;23:95-103.
- 55) Wang, Z., Chen, Z., Zuo, Q., Song, F., Wu, D., Cheng, W. ve ark. Reproductive toxicity in adult male rats following intra-articular injection of cobaltchromium nanoparticles. *Journal of Orthopaedic Science*. 2013;18:1020-1026.
- 56) Venturoli D, Rippe B. Ficoll and dextran vs. globular proteins as probes for testing glomerular permselectivity: effects of molecular size, shape, charge, and deformability. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005;288:F605-F13.
- 57) Davis ME, Chen ZG, Shin DM. Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2008;7(9):771-82.

- 58) Hu-Lieskovan S, Heidel JD, Bartlett DW, et al. Sequence-specific knockdown of EWS-FLI1 by targeted, nonviral delivery of small interfering RNA inhibits tumor growth in a murine model of metastatic Ewing's sarcoma. *Cancer Res.* 2005;65:8984-92.
- 59) Crosera, M., Bovenzi, M., Maina, G., Adami, G., Zanette, C., Florio, C. ve ark. Nanoparticle dermal absorption and toxicity: A review of the literature. *International Archives of Occupational and Environmental Health.* 2009;82: 1043-1055.
- 60) Elsaesser, A. ve Howard, C.V. Toxicology of nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2012;64:129-137.
- 61) Lam, C.W., James, J.T., McCluskey, R. ve Hunter, R.L. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicological Sciences.* 2004;77: 126-134.
- 62) Schrand, A.M., Rahman, M.F., Hussain, S.M., Schlager, J.J., Smith, D.A. ve Syed, A.F. Metal-based nanoparticles and their toxicity assessment. Wiley Interdisciplinary Reviews: *Nanomedicine and Nanobiotechnology.* 2010;2:544-568.
- 63) Oberdörster, G. Safety assessment for nanotechnology and nanomedicine: Concepts of nanotoxicology. *Journal of Internal Medicine.* 2010;267: 89-105.
- 64) Antonini, J. M., Santamaria, A. B., Jenkins, N. T., Albini, E. ve Lucchini, R. Fate of manganese associated with the inhalation of welding fumes: Potential neurological effects. *Neurotoxicology.* 2006;27: 304-310.
- 65) FAO/WHO (2010). FAO/WHO Expert meeting on the application of nanotechnologies in the food and agriculture sectors: Potential food safety implications. *FAO/WHO Meeting Report.* Rome: 2010. Erişim: 20.06.2015, [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44245/1/9789241563932\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44245/1/9789241563932_eng.pdf)
- 66) Trouiller, B., Reliene, R., Westbrook, A., Solaimani, P. ve Schiestl, R.H. Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability *in vivo* in mice. *Cancer Research.* 2009;15:8784-8789.
- 67) Mu, L. ve Sprando, R.L. Application of nanotechnology in cosmetics. *Pharmaceutical Research.* 2010;27: 1746-1749.
- 68) Barry, B.W. (2001). Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2001;14:101-114.

- 69) Deen, W.M., Lazzara, M.J. ve Myers, B.D. Structural determinants of glomerular permeability. *The American Journal of Physiology - Renal Physiology*. 2001;281: 579-596.
- 70) Choi, H.S., Liu, W., Misra, P., Tanaka, E., Zimmer, J.P., Itty-Ipe, B. ve ark. Renal clearance of quantum dots. *Nature Biotechnology*. 2007;25:1165-1170.
- 71) Gormley, A.J. ve Ghandehari, H. Evaluation of Toxicity of Nanostructures in Biological Systems. In: S.S.C. Sahu, D.A. Casciano ed. *Nanotoxicity from in vivo and in-vitro models to health risks* UK: Wiley. 2009;115-159.
- 72) Walczyk, D., Bombelli, F.B., Monopoli, M.P., Lynch, I. ve Dawson K.A. What the cell “Sees” in bionanoscience. *Journal of the American Chemical Society*. 2010;132: 5761-5768.
- 73) Mahmoudi, M., Azadmanesh, K., Shokrgozar, M.A., Journey, W.S. ve Laurent, S. Effect of nanoparticles on the cell life cycle. *Chemical Reviews*. 2011;111: 34073432.
- 74) Nair KL, Thulasidasan AKT, Deepa G, et al. Purely aqueous PLGA nanoparticulate formulations of curcumin exhibit enhanced anticancer activity with dependence on the combination of the carrier. *Int J Pharm*. 2012;425:44-52.
- 75) Mohanty C, Sahoo SK. The *in vitro* stability and *in vivo* pharmacokinetics of curcumin prepared as an aqueous nanoparticulate formulation. *Biomaterials*. 2010;31:6597-611.
- 76) Grabovac V, Bernkop-Schnürch A. Development and *in vitro* evaluation of surface modified poly(lactide-coglycolide) nanoparticles with chitosan-4-thiobutylamidine. *Drug Dev Ind Pharm*. 2007;33:767-74.
- 77) Yallapu MM, Gupta BK, Jaggi M, et al. Fabrication of curcumin encapsulated PLGA nanoparticles for improved therapeutic effects in metastatic cancer cells. *J Colloid Interface Sci*. 2010;351:19-29.
- 78) Duan JH, Zhang YD, Han SW, et al. Synthesis and *in vitro/in vivo* anti-cancer evaluation of curcumin-loaded chitosan/ poly (butyl cyanoacrylate) nanoparticles. *Int J Pharm*. 2010;400:211-20.

- 79) Anitha A, Deepagan VG, Rani VVD, et al. Preparation, characterization, *in vitro* drug release and biological studies of curcumin loaded dextran sulphate-chitosan nanoparticles. *Carbohydr Polym.* 2011;84:1158-64.
- 80) Liu JS, Xu LH, Liu CT, et al. Preparation and characterization of cationic curcumin nanoparticles for improvement of cellular uptake. *Carbohydr Polym.* 2012;90:16-22.
- 81) Mohanty C, Das M, Sahoo SK. Emerging role of nanocarriers to increase the solubility and bioavailability of curcumin. *Exp Opin Drug Deliv.* 2012;9:1.
- 82) Thangapazham RL, Puri A, Tele S, et al. Evaluation of a nanotechnology-based carrier for delivery of curcumin in prostate cancer cells. *Int J Oncol.* 2008;32:1119-23
- 83) Li L, Braithe FS, Kurzrock R. Liposome-encapsulated curcumin: *in vitro* and *in vivo* effects on proliferation, apoptosis, signaling, and angiogenesis. *Cancer.* 2005;104:1322-31
- 84) Li XY, Nan KH, Li LL, et al. *In vivo* evaluation of curcumin nanoformulation loaded methoxy poly (ethylene glycol) graft-chitosan composite film for wound healing application. *Carbohydr Polym.* 2012;88:84-90
- 85) Duarte VM, Han E, Veena MS, et al. Curcumin enhances the effect of cisplatin in suppression of head and neck squamous cell carcinoma via inhibition of IKK beta protein of the NF kappa B pathway. *Mol Cancer Ther.* 2010;9:2665-75.
- 86) Attia ABE, Ong ZY, Hedrick JL, et al. Mixed micelles self-assembled from block copolymers for drug delivery. *Curr Opin Colloid Interf Sci.* 2011;16:182-94.
- 87) Gou ML, Men K, Shi HS, et al. Curcumin-loaded biodegradable polymeric micelles for colon cancer therapy *in vitro* and *in vivo*. *Nanoscale.* 2011;3:1558-67.
- 88) Song ZM, Feng RL, Sun M, et al. Curcumin-loaded PLGA-PEG-PLGA triblock copolymeric micelles: preparation, pharmacokinetics and distribution *in vivo*. *J Colloid Interface Sci.* 2011;354:116-23.
- 89) Song L, Shen YY, Hou JW, et al. Polymeric micelles for parenteral delivery of curcumin: preparation, characterization and *in vitro* evaluation. *Colloid Surf A.* 2011;390:25-32.

- 90) Hamidi M, Azadi A, Rafiei P. Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Adv Drug Deliv Res.* 2008;60:1638-49.
- 91) Mangalathillam S, Rejinold NS, Nair A, et al. Curcumin loaded chitin nanogels for skin cancer treatment via the transdermal route. *Nanoscale.* 2012;4:239-50.
- 92) El-Sherbiny IM, Smyth HDC. Controlled release pulmonary administration of curcumin using swellable biocompatible microparticles. *Mol Pharm.* 2011;9:269-80.
- 93) Das RK, Kasoju N, Bora U. Encapsulation of curcumin in alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells. *Nanomedicine.* 2010;6:153-60.
- 94) Yallapu MM, Jaggi M, Chauhan SC. Beta-cyclodextrin-curcumin self-assembly enhances curcumin delivery in prostate cancer cells. *Colloids Surf B.* 2010;79:113-25.
- 95) Yallapu MM, Jaggi M, Chauhan SC. Poly (beta-cyclodextrin)/curcumin selfassembly: a novel approach to improve curcumin delivery and its therapeutic efficacy in prostate cancer cells. *Macromol Biosci.* 2010;10:1141-51.
- 96) Anuchapreeda S, Fukumori Y, Okonogi S, et al. Preparation of lipid nanoemulsions incorporating curcumin for cancer therapy. *J Nanotechnol.* 2012;2012:ID270383.
- 97) Mulik RS, Monkkonen J, Juvonen RO, et al. Transferrin mediated solid lipid nanoparticles containing curcumin: enhanced *in vitro* anticancer activity by induction of apoptosis. *Int J Pharm.* 2010;398:190-203.
- 98) Lee, W.-H.; Loo, C.-Y.; Young, P.M.; Traini, D.; Mason, R.S.; Rohanizadeh, R. Recent advances in curcumin nanoformulation for cancer therapy. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2014;11,1183–1201.
- 99) Gong CY, Deng SY, Wu QJ, et al. Improving antiangiogenesis and antitumor activity of curcumin by biodegradable polymeric micelles. *Biomaterials.* 2013;34:1413-32
- 100) Bisht S, Mizuma M, Feldmann G, et al. Systemic administration of polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin (NanoCurc) blocks tumor growth and metastases in preclinical models of pancreatic cancer. *Mol Cancer Ther.* 2010;9:2255-64.
- 101) Anand P, Nair HB, Sung BK, et al. Design of curcumin-loaded PLGA nanoparticles formulation with enhanced cellular uptake, and increased bioactivity *in vitro* and superior bioavailability *in vivo.* *Biochem Pharmacol.* 2010;79:330-8.

- 102) Jithan AV, Madhavi K, Madhavi M, et al. Preparation and characterization of albumin nanoparticles encapsulating curcumin intended for the treatment of breast cancer. *Int J Pharm Investig.* 2011;1:119-25.
- 103) Lin Y-L, Liu Y-K, Tsai N-M, et al. A Lipo-PEG-PEI complex for encapsulating curcumin that enhances its antitumor effects on curcumin-sensitive and curcumin-resistance cells. *Nanomed Nanotechnol Biol Med.* 2012;8:318-27.
- 104) Kim TH, Jiang HH, Youn YS, et al. Preparation and characterization of water-soluble albumin-bound curcumin nanoparticles with improved antitumor activity. *Int J Pharm* 2011;403:285-91
- 105) Wang P, Zhang L, Peng H, et al. The formulation and delivery of curcumin with solid lipid nanoparticles for the treatment of on non-small cell lung cancer both *in vitro* and *in vivo*. *Mater Sci Eng C* 2013;33:4802-8
- 106) Ranjan AP, Mukerjee A, Helson L, et al. Efficacy of liposomal curcumin in a human pancreatic tumor xenograft model: inhibition of tumor growth and angiogenesis. *Anticancer Res* 2013;33:3603-9
- 107) Wang D, Veena MS, Stevenson K, et al. Liposome-encapsulated curcumin suppresses growth of head and neck squamous cell carcinoma *in vitro* and in xenografts through the inhibition of nuclear factor kappa B by an AKT-independent pathway. *Clin Cancer Res* 2008;14:6228-36
- 108) Zanotto-Filho A, Coradini K, Braganhol E, et al. Curcumin-loaded lipid-core nanocapsules as a strategy to improve pharmacological efficacy of curcumin in glioma treatment. *Eur J Pharm Biopharm* 2013;83:156-67
- 109) Zafar F, Jahan N; Khalil-Ur-Rahman, Bhatti HN. Increased Oral Bioavailability of Piperine from an Optimized Piper nigrum Nanosuspension. *Planta Med.* 2019;85(3):249-257.
- 110) Baspinar Y, Üstündas M, Bayraktar O, Sezgin C. Curcumin and piperine loaded zein-chitosan nanoparticles: Development and *in-vitro* characterisation. *Saudi Pharm J.* 2018;26(3):323–334. doi:10.1016/j.jsps.2018.01.010





**T.C. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ, DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU**  
**(YÜDHEK)**  
**ETİK KURUL KARARI**

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
19.09.2018	696	13.08.2018	Dr. Özlem AKYÜZ

<b>'Meme Kanseri olan farelerde Curcumin-Piperin nanoürün antitümöral etkinliği ve Docetaxel kemoterapi ilacının etkinlik karşılaştırması öncesi Akut toksisite deneyi'</b> adlı bilimsel çalışma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna oy birliğiyle karar verilmiştir.		
Etik Onay Geçerlilik Süresi: 3 Yıl	Hayvan Türü ve cinsiyeti: Fare ♀♂	Hayvan Sayısı: 5

GÖREVİ	ADI SOYADI	
Başkan	Prof. Dr. Bayram YILMAZ	
Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA	KATILMADI
Raportör	Vet. Hekim Engin SÜMER	KATILMADI
Üye	Prof. Dr. M. Ece GENÇ	
Üye	Prof. Dr. Rukset ATTAR	KATILMADI
Üye	Doç. Dr. Soner DOĞAN	
Üye	Doç. Dr. Ediz DENİZ	
Üye	Prof. Dr. Gamze TORUN KÖSE	
Üye	Doç. Dr. Aylin YABA UÇAR	
Üye	Hakan GÖKSEL	
Üye	Ahmet ŞENKARDEŞLER	



**VELİDDİN CANFEZA SEZGİN**  
TEŞVİKİYE MAH. HAKKI YETEN CAD. NO: 11  
CENTER 1 DAİRE: 33 PK: 34365 FULYA  
ŞİŞLİ / İSTANBUL  
Tel:0 (212) 416 05 15

Ref. No. : PY2016-00071  
Tarih : 19.03.2018  
Konu : AVRUPA PATENT OFISI Patent Başvuru No: 15787729.1  
"KURKUMİN VE PİPERİN YÜKLÜ ÇİFT KATMANLI BİYOPOLİMER TABANLI NANO TAŞIYICI  
SİSTEMLERİN ELECTROSPREY/KAPLAMA YÖNTEMİ KULLANILARAK"

**Sayın VELİDDİN CANFEZA SEZGİN,**

Yukarıda bahsedilen Avrupa Patent başvurunuzun "tescil belgesi" olarak koruma altına alındığını bildirmekten memnuniyet duymaktayız. Tescil belgenize ilişkin bilgiler aşağıda verilmektedir.

Başvuru No : 15787729.1  
Başvuru Tarihi : 02.10.2015  
Belge No : EP3142702  
Belge Tarihi : 3.1.2018

Bu aşamadan sonra tarafınıza bildirilen yıllık harçların zamanında ödemesinin yapılması kaydıyla buluşunuzun ilgili ülkede **2.10.2035** tarihine kadar koruması devam edecektir.

Ekte sunulmuş olan belgeniz elinize ulaştığında, lütfen aşağıdaki onay kısmını doldurup imzalayarak tarafımıza gönderiniz.

Konuyu bilgilerinize sunar, çalışmalarınızda başarılar dileriz.

Saygılarımızla

**Çisil AKAR**  
Müşteri İlişkileri Uzmanı

**Burak KESER**  
Marka Patent Danışmanı

#### TALİMAT BİLGİLERİ

<input checked="" type="checkbox"/> ORJİNAL BELGEYİ TESLİM ALDIM		
Yetkili Adı Soyadı	İmza	Tarih
Veliddin Canfeza Sezgin		28/03/2018

Ek:  
- Patent Belgesi (ORJİNAL)

**Lütfen ilgili kısmı doldurup 0 232 421 42 00 nolu faksa gönderiniz.**

\*\*\* Ayrıntılı bilgi için 0 232 444 43 44 nolu telefonu arayabilirsiniz. \*\*\*

destek@patent.com.tr 0212 416 05 15 www.destekpatent.com.tr

Etiler Business Park Blok No:11, Kat:3 Kat:34365 İstanbul  
T. 0212 329 00 00 F. 0212 346 02 64

**URKUNDE**

Es wird hiermit bescheinigt, dass für die in der Patentschrift beschriebene Erfindung ein europäisches Patent für die in der Patentschrift bezeichneten Vertragsstaaten erteilt worden ist.

**CERTIFICATE**

It is hereby certified that a European patent has been granted in respect of the invention described in the patent specification for the Contracting States designated in the specification.

**CERTIFICAT**

Il est certifié qu'un brevet européen a été délivré pour l'invention décrite dans le fascicule de brevet, pour les Etats contractants désignés dans le fascicule de brevet.

Europäisches Patent Nr.

European patent No.

Brevet européen n°

**3142702**

Patentinhaber

Proprietor of the patent

Titulaire du brevet

Sezgin, Veliddin Canfeza  
 Tesvikiye Mah.  
 Hakki Yeten Cad. No:11  
 Center 1 Daire:33  
 Fulya  
 34365 Istanbul/TR



**Benoît Battistelli**  
 Präsident des Europäischen Patentamts  
 President of the European Patent Office  
 Président de l'Office européen des brevets

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad Soyad:** Özlem AKYÜZ

**Doğum Tarihi:** 13.09.1982

**Medeni Durum:** Bekar

**e-posta:** ozlem\_akyz@hotmail.com

**Cep tel:** 0533 224 5488

**İş adresi:** Yapıkredi Bankası Bankacılık Üssü Akse Mh. Rahmi Dibek Cd. No: 275  
Çayırova/KOCAELİ

### İŞ DENEYİMLERİ

- 2008-2010:** Sakarya Tepekum Sağlık Ocağı Mecburi Hizmet (Pratisyen Hekim)  
Sakarya Kocaali İlçe Devlet Hastanesi (Aile Hekimi)
- 2011-2013:** Kocaeli Özel Konak Hastanesi (Acil)
- 2013-2016:** Sakarya-Kocaeli bölgeleri SEDAŞ (İşyeri Hekimi)
- 2017-2019:** Yapıkredi Bankası Genel Müdürlük İş Sağlığı Yöneticiliği

### EĞİTİM

- 2014-2016:** Yeditepe Üniversitesi Fitoterapi Yüksek Lisans Programı
- 2001-2008:** Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (İng. Hazırlık)

### SERTİFİKALAR:

- 2018:** Yeditepe Üniversitesi Akupunktur Eğitim Programı  
Medipol Üniversitesi Fitoterapi Eğitim Programı
- 2017:** Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası
- 2014:** Aile Danışmanlığı Eğitim Programı
- 2013:** İşyeri Hekimliği Sertifika Programı
- 2010:** Aile Hekimliği Sertifika Programı

**YABANCI DİLLER:**

İngilizce (ileri seviye), Almanca (başlangıç)

**EK BİLGİLER:**

**Dernek üyelikleri:** Kocaeli Tabip Odası, IHIDER İş Hijyenistleri Derneği

**Tıbbi Editörlük:** *Kanserde Doğru Bilinen Yanlışlar* Kitabı Tıbbi Editörlük

