

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE'DE PİYASALARDA BULUNAN BAZI
CURCUMA LONGA L. RİZOM VE PREPARATLARI
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Uzm. Ecz. Şule AKSU KAPUCU

**FARMAKOGNOZİ PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. A. Ahmet BAŞARAN**

**Ankara
2012**

Anabilim Dalı: Farmakognozi

Program: Farmakognozi

Tez Başlığı: Türkiye’de Piyasalarda Bulunan *Curcuma Longa* L. Rizom ve Preparatları üzerinde Farmakognozic Araştırmalar

Öğrenci Adı-Soyadı: Şule AKSU KAPUCU

Savunma Sınavı Tarihi: 31.10.2012

Bu çalışma jürimiz tarafından yüksek lisans/doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Prof. Dr. Zeliha Şükran

AKDEMİR

Hacettepe Üniversitesi

Tez danışmanı:

Prof. Dr. A. Ahmet

BAŞARAN

Hacettepe Üniversitesi

Üye:

Prof. Dr. Ayşe

KURUÜZÜM UZ

Hacettepe Üniversitesi

Üye:

Prof. Dr. İlhan GÜRBÜZ

Gazi Üniversitesi

Üye:

Doç. Dr. Funda Nuray

YALÇIN

Hacettepe Üniversitesi

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir

Prof. Dr. Mustafa Kadri ALTUNDAĞ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak bana destek olan ve tez çalışmamı yönlendiren hocam Prof. Dr. A. Ahmet Başaran'a; çalışmalarımnda her zaman yanımda olup desteğini esirgemeyen arkadaşım Dr. Eczacı Miyase Gözde Gündüz'e; iş arkadaşlarım; Hülya Şenel, Gülten Erbaş Kahyaoğlu, Gültekin Bilgin, Çağrı Özalp ve Cengiz Eken'e (İstanbul Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü); NMR analizlerini gerçekleştiren Prof. Dr. Hamdullah Kılıç'a (Atatürk Ün. Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü) ve Dr. Kimyager Elif Köse Ünver'e (Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitü Müdürlüğü); uçucu yağın gaz kromotografik analizlerinde yardımcı olan Prof. Dr. Fatih Demirci, Prof. Dr. Betül Demirci ve Prof. Dr. Neşe Kırimer'e (Eskişehir Anadolu Üniversitesi); daima yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen aileme ve sevgili eşim Umut Kapucu'ya en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Uzm. Ecz. Şule AKSU KAPUCU

ÖZET

Aksu Kapucu, Ş., Türkiye’de Piyasalarda Bulunan Bazı *Curcuma longa* L. Rizom ve Preparatları Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Programı, Doktora Tezi, Ankara, 2012. Ülkemizde baharat olarak ve tıbbi amaçlarla kullanılmakta olan *Curcuma longa* L. rizomları, (1*E*,6*E*)-1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion yapısında olan kurkumin yönünden zengindir. *Curcuma longa* L. toz drog ve bitkisel preparatları ile kurkumin üzerinde detaylı bir çalışma yürütülmüştür. Piyasadan değişik adreslerden üç parçalanmamış rizom ve iki bitkisel ürün satın alınmıştır. Kurkumince zengin fraksiyonlardan kurkumin ve demetoksikurkumin izole edilmiş, yapıları kromatografik (İTK, KK) ve spektroskopik (UV, ¹H-NMR, ¹³C-NMR) yöntemlerle aydınlatılmıştır. GC ve GC-MS yöntemleri kullanılarak % 1,2 verimle elde edilen uçucu yağın ana maddesi ar-turmeron (% 38,4) olarak bulunmuştur. HPLC, LC-MS-MS ve spektroskopik yöntemler kullanılarak kurkumin ve kurkuminoitler için miktar tayini yöntemleri geliştirilmiş ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilmiştir. *Curcuma longa* L. droğunun endosülfan ve DDT gibi pestisitleri, yüksek oranda potasyum, kalsiyum ve magnezyum gibi mineralleri ve kurşun gibi ağır metalleri bulundurabileceği ortaya çıkmıştır. Kurkuminin, antioksidan etkisi *in vitro* troloksa eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) yöntemi, antigenotoksik ve koruyucu etkisi *in vitro* tek hücreli jel elektroforezi (COMET) yöntemi, antimikrobiyal aktivitesi ise disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Kurkumin, 2 µM ve üzerindeki tüm konsantrasyonlarda ABTS’ye karşı antioksidan aktivite ve H₂O₂ tarafından oluşturulan genotoksisiteye karşı doza bağlı olarak koruyucu özellik gösterirken; 25-50 µM dozlarda bazı bakteri ve mantarlara karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Sonuçlar, piyasada satılan materyallerin benzer maddeleri taşıdığını ve bitkisel ürünlerde yeterli miktarda kurkumin bulunduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Curcuma longa* L., kurkumin, ar-turmeron, HPLC/LC-MS-MS, GC/GC-MS, pestisitler, mineraller, COMET, TEAC

ABSTRACT

Aksu Kapucu, Ş., Pharmacognostical Researches on Some *Curcuma longa* L. Rhizomes and Preparations in Turkish Market, Hacettepe University, Institute of Health Sciences, Pharmacognosy Program, Ph.D. Thesis, Ankara, 2012.

Curcuma longa L. rhizomes which are mainly used as spice and for medical purposes in Turkey, are rich in curcumin with (1*E*, 6*E*)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione structure. Three ungrounded rhizomes and two different herbal preparations were bought from different markets. A detailed study on curcumin, *Curcuma longa* L. powder drug and herbal preparations was realized. Curcumin and demethoxycurcumin have been isolated from curcumin-rich fractions, and their chemical structures were identified by chromatographic (TLC, CC) and spectroscopic (UV, ¹H-NMR, ¹³C-NMR) methods. The essential oil with a yield of 1.2% was analyzed by GC and GC-MS methods, and the ar-turmerone (38.4%) was found as the main compound. Assay methods have been developed for curcumin and curcuminoids by using the HPLC, LC-MS-MS and spectroscopic methods, and repeatable results were obtained. It was observed that *Curcuma longa* L. drug could include pesticides such as endosulphane and DDT, high levels of minerals such as potassium, calcium and magnesium, and heavy metals such as lead. Antioxidant activity of curcumin was assessed by *in vitro* trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) method, antigenotoxic and protective effect of curcumin were assessed by *in vitro* alkaline single cell gel electrophoresis (COMET) method, and antimicrobial activity was assessed by disc diffusion method. Curcumin has showed antioxidant activity properties to ABTS in 2 µM and above concentrations, dose-dependent protective property to genotoxicity by H₂O₂; on the other hand it has showed no antimicrobial activity against some bacteria and fungus in 25-50 µM concentrations. The results showed that the samples that we bought have nearly similar compounds and the herbal preparations in the market have enough quantity of curcumin.

Keywords: *Curcuma longa* L., curcumin, ar-turmerone, HPLC/LC-MS-MS, GC/GC-MS, pesticides, minerals, COMET, TEAC

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
ŞEKİLLER.....	xvii
TABLolar	xviii
KROMATOGRAMLAR	xx
SPEKTRUMLAR	xxi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. TEORİK BİLGİLER.....	4
2.1. Botanik Bilgiler	4
2.1.1. Familya ve Cins Özellikleri	4
2.1.2. Yayılış.....	5
2.2. Kimyasal Bilgiler	6
2.2.1. Kurkuminoitler.....	6
2.2.2. Terpenler ve Uçucu Yağı.....	6
2.2.3. Diğer Kimyasal Maddeler.....	7
2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	9
2.3.1. Antioksidan Aktivite.....	9
2.3.2. Antitümöral Aktivite.....	14
2.3.3. Antienflamatuvar Aktivite	19
2.3.4. Nörodejeneratif Hastalıklarda Etki	21
2.3.5. Antidiyabetik Aktivite	28

2.3.6.	Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri	33
2.3.7.	Peptik Ülser ve Dispepsi Üzerindeki Etki	38
2.3.8.	Anjiyogenezin Düzenlenmesi Üzerindeki Etkisi	41
2.3.9.	Yara İyileştirici Etki.....	41
2.3.10.	Antimikrobiyal Aktivite.....	43
2.3.11.	Nematosidal Aktivite	45
2.3.12.	Antivenom Aktivite	46
2.3.13.	Anti-HIV Aktivite.....	46
2.3.14.	Enflamatuvar Bağırsak Hastalıkları Üzerindeki Etki	47
2.3.15.	Romotoid Artrit Üzerindeki Etki	48
2.3.16.	Böbrekler Üzerindeki Etki	49
2.3.17.	Psöriazis Üzerindeki Etki.....	51
2.3.18.	Skleroderma Oluşumu Üzerindeki Etki.....	52
2.3.19.	Alerjik Reaksiyonlar ve Astım Üzerindeki Etki	52
2.3.20.	Antiplatelet Aktivite	53
3.	MATERYAL, GEREÇ VE YÖNTEMLER	55
3.1.	Bitkisel Materyal	55
3.2.	Fitokimyasal Çalışmalar	55
3.2.1.	Bitkisel Materyalden Tüketme.....	55
3.2.2.	Kromatografi.....	55
3.2.3.	Kullanılan Cihaz ve Gereçler.....	62
3.3.	Standart Renk Tayin Yöntemi	63
3.3.1.	Uygulama alanı ve kapsam	63
3.3.2.	Referanslar	63
3.3.3.	Tanımlama	63
3.3.4.	İlkeler	63

3.3.5.	Reaktif.....	63
3.3.6.	Aparatlar	63
3.3.7.	Örnek alma.....	64
3.4.	Mineral Analizleri	64
3.4.1.	Bitkisel Materyal.....	64
3.4.2.	Tanımlar	64
3.4.3.	Kullanılan Gereç ve Sarf Malzemeleri	65
3.4.4.	ICP-MS Yöntemi	66
3.5.	Pestisit Analizleri	68
3.5.1.	Materyal	70
3.5.2.	Ekstraksiyon.....	71
3.5.3.	Analizler.....	73
3.6.	Aktivite Çalışmaları	76
3.6.1.	Kurkuminin Lenfosit DNA Hasarına Etkilerinin İncelenmesi, Alkali Tek hücre Jel Elektroforezi (Comet Assay).....	76
3.6.2.	DNA Kurkumin Etkileşimi.....	78
3.6.3.	Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) Yöntemi ile Kurkuminin Antioksidan Aktivite Tayini	79
3.6.4.	Antimikrobiyal Aktivite.....	80
3.6.5.	İstatistiksel Yöntemler	80
4.	BULGULAR.....	82
4.1.	Fitokimyasal Bulgular	82
4.1.1.	Uçucu Yağ	82
4.1.2.	Kurkuminoitlerin Miktar Tayini Çalışmaları.....	84
4.1.3.	Kurkuminoitlerin Yapı Tayinleri	97
4.1.4.	Pestisit Analiz Sonuçları.....	111

4.1.5. Mineral ve Ağır Metal Analiz Sonuçları	125
4.2. Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular.....	126
4.2.1. Sağlıklı Lenfositlerde ve H ₂ O ₂ ile Oksidatif Hasar İndüklenen Lenfositlerde DNA Hasarına Karşı Etkilerine ait Bulgular	126
4.2.2. DNA Kurkumin Etkileşim Sonuçları.....	129
4.2.3. Kurkuminin TEAC Yöntemi ile Antioksidan Aktivitesine ilişkin Bulgular.....	131
4.2.4. Kurkuminin Antimikrobiyal Aktivitesine İlişkin Bulgular	133
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	134
KAYNAKLAR	147
EKLER	
EK-1: ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

Abeta	: Amiloid beta
ABTS	: 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ACC	: Asetil-koenzim A-karboksilaz
ADR	: Adriamisin
AGEs	: İleri glukasyon son ürünleri
AH	: Alzheimer hastalığı
AIF	: Allograft inflamatuvar faktör
Al	: Alüminyum
AMES	: Bakteri ters mutasyon analizi
AMPK	: Aktive protein kinaz
AP-1	: Aktivatör protein-1
APC	: Adenomatöz polipozis koli
As	: Arsenik
ATP	: Adenozin trifosfat
Bcl-2	: B hücre lenfoma-2
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
β -A	: Beta Amiloid
BUN	: Kanda üre
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
Cd	: Kadmiyum
CD ₃ OD	: Dötero metanol
ChAT	: Kolinasetiltransferaz
CHCl ₃	: Kloroform
CH ₂ Cl ₂	: Diklorometan
CH ₃ OH	: Metanol
CL	: <i>Curcuma longa</i>
CLE	: <i>Curcuma longa</i> L'nin sulu ekstresi
¹³ C NMR	: ¹³ C-Nükleer manyetik rezonans

COMET	: Tek hücre jel elektroforez
COX	: Siklooksijenaz
cPLA	: Sitozolik fosfolipaz
Cr	: Krom
CRM	: Referans Standart Materyal
Cu	: Bakır
<i>D</i>	: Dublet
DBP	: Di-n-bütülfalat
<i>Dd</i>	: Dublet dublet
ddd	: 1,1-dikloro-2,2-bis (p-klorofenil)etan
dde	: 1,1-dikloro-2,2-bis (p-klorofenil)etilen
ddt	: 1,1-trikloro-2,2-bis (p-chlorophenyl)etan
DENA	: N-nitrozodietilamin
DMBA	: 7,12-dimetilbenz(a)antrasen
DMPO	: 5,5-Dimetil-pirolin-N-Oksit
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DSS	: Dekstran sülfat sodyum
<i>g</i>	: Gram
ECD	: Elektron Yakalama Dedektörleri
ECM	: Ekstraselüler matriks proteinleri
EDTA	: Etilen diamin tetraasetik asit disodyum
EMEA	: Avrupa ilaç ajansı beşeri ilaç değerlendirme
eNOS	: Endotelial nitrik oksit sentaz
ET-1	: Endotelin-1
FAP	: Familial adenomatöz polipozis
Fe	: Demir
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
FID	: Alev iyonizasyon dedektörleri
FN	: Fibronektin
GC	: Gaz kromatografisi

GC-MS	: Gaz kromatografisi-Kütle spektrometresi
GM-CSF	: Granülosit makrofaj-kolon stimüle edici faktör
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
GST	: Glutasyon-S-transferaz
HAT	: Histon asetiltransferaz
Hcb	: Hekzaklorobenzen
Hch	: Hekzaklorosikloheksan
HCl	: Hidroklorik asit
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
Hg	: Cıva
HIV	: İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü
HL-60	: İnsan promiyelositik lösemi hücreleri
HMG-KoA	: Hidroksimetilglutaril-koenzim A
HNE	: Hidroksinonenal
¹ H NMR	: ¹ H Nükleer manyetik rezonans
HNO ₃	: Nitrik asit
HO	: Hem oksijenaz
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HPsA	: <i>Helicobacter pylori</i> gaita antijen testi
HT	: Hidroksitriptamin
HUVEC	: İnsan umbilikal ven endotel hücreleri
Hz	: Hertz
ICP-MS	: İndüktif eşleşmiş plazma kaynaklı kütle spektrometre cihazı
ICV	: İntraserebroventriküler
IgG	: İmmün globülün G
IL	: İnterlökin
IR	: Infrared

I/R	: İskemi/Reperfüzyon
ISO	: Uluslar arası standardizasyon örgütü
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
İR	: İnsülin reseptörleri
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
J	: Kenetlenme sabiti
JNK	: c-Jun N-terminal kinaz
K	: Potasyum
KK	: Kolon kromatografisi
LC-MS-MS	: Sıvı kromatografisi tandem kütle spektroskopisi
LDH	: Laktat dehidrogenaz
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LMPA	: Düşük erime noktalı agar
LNCaP	: İnsan prostat karsinoma hücreleri
LOX	: Lipooksijenaz
LPS	: Lipopolisakkarit
LPs	: Lipit peroksidaz
Mg	: Magnezyum
MCF-7	: İnsan göğüs kanser hücresi
MCP-1	: Monosit kemotaktik protein-1
MDA	: Malonildialdehit
MDM2	: Prostat kanserinde onkogen
MEF2	: Miyosit artırıcı faktör 2
MgSO ₄	: Magnezyum sülfat
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
mRNA	: Haberci ribonükleik asit
MHz	: Megahertz
MMPs	: Metalloproteinazlar
Mn	: Mangan
MNNG	: N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin
MPO	: Miyeloperoksidaz

Na	: Sodyum
NaCl	: Sodyum klorür
NF- κ B	: Nükleer aktive edici faktör Kappa B
Ni	: Nikel
NMPA	: Normal erime noktalı agar
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
NO	: Nitrik oksit
NPD	: Azot fosfor dedektörü
O ₂	: Süperoksit
OH	: Hidroksil
OVA	: Ovalbumin
P53	: Tümör protein 53
PAF	: Platelet aktive edici faktör
Pb	: Kurşun
PB	: Fenobarbital
PBMCs	: Periferel mononükleer hücreler
PBS	: Fosfat tamponlu serum fizyolojik
PC	: Protein karbonil
PGE2	: Prostaglandin E2
PhIP	: 2-amino 1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b] piridin
PID	: Foto iyonizasyon dedektörleri
PI3-kinaz	: Fosfoinosit 3-kinaz
PKC ϵ	: Protein kinaz C epsilon
PLGA	: Laktik-koglikolik asit
PMNL	: Polimorfonükleer
PPAR γ	: Peroksizom proliferatör aktif reseptör gama
ppb	: Milyarda bir kısım
ppm	: Milyonda bir kısım
PTZ	: Pentilenterazol
Quechers	: mini-çoklu-kalıntı metodu
ROS	: Reaktif oksijen türevleri
s	: Singlet

Sb	: Antimon
Se	: Selenyum
SH	: Tiyol
SOD	: Süperoksit dizmutaz
STZ	: Streptozotozin
TBA	: Tiyobarbitürik asit
t-bütil	: Tersiyer-bütil
t-BOOH	: Tersiyer-bütil hidroperoksit
TCD	: Termal iletkenlik dedektörü
TEAC	: Troloks eşdeğer antioksidan kapasite
Th	: Tiroit
TNBS	: 2,4,6-trinitrobenzen sülfonik asit
TNF- α	: Tümör nekroz faktörü alfa
TPA	: Tetradekanoforbol-13-asetat
TRAIL	: TNF-İlgili apoptoz indüklü ligant
USS	: Ultra saf su
UV	: Ultraviyole
VEGF	: Vasküler endotelyel büyüme faktörü
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein
Zn	: Çinko

ŞEKİLLER

Şekil 1.1 Kurkuminin Biyolojik Etkileri.....	2
Şekil 2.1 <i>Curcuma longa</i> L. Bitkisi ve Rizomları.....	4
Şekil 2.2 <i>Curcuma longa</i> L. yayılışı (37).....	6
Şekil 2.3 <i>Curcuma longa</i> L. Rizomlarında Bulunan Bazı Önemli Maddeler	8
Şekil 3.1 Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatograf (HPLC) Cihazının Şematik Gösterimi	58
Şekil 3.2 LC-MS-MS Cihazının Şematik Gösterimi	60
Şekil 3.3 Enjektör yardımı ile gazların cihaza verildiği düzenek	69
Şekil 3.4 Ekstraksiyon yöntemi (Mini-çoklu kalıntı metod-Quechers)	72
Şekil 4.1 HPLC kalibrasyon eğrisi.....	86
Şekil 4.2 LC-MS-MS kalibrasyon eğrisi.....	91
Şekil 4.3 Kurkuminin DNA kuyruk uzunluğu üzerine etkisi.....	128
Şekil 4.4 Kurkuminin DNA kuyruk yoğunluğu üzerine etkisi	128
Şekil 4.5 Kurkuminin DNA kuyruk momenti üzerine etkisi	129
Şekil 4.6 50-0.5 µM konsantrasyonda 24 saat inkubasyon sonucu DNA kurkumin etkileşimi.....	130
Şekil 4.7 5000-155 µM konsantrasyonda 24 saat inkubasyon sonucu DNA kurkumin etkileşimi.....	130
Şekil 4.8 Kurkumin ile etkileşmiş DNA'nın BamHI ve HindIII enzimi ile kesimi. .	131
Şekil 4.9 Troloks ve Kurkuminin TEAC yöntemi ile karşılaştırmalı antioksidan etkisi	132
Şekil 4.10 Troloks ve kurkuminin konsantrasyona karşı % inhibisyon grafiği	132
Şekil 5.1 HPLC ve LC-MS-MS yöntemlerinde hesaplanan kurkumin miktarlarının karşılaştırılması	141

TABLOLAR

Tablo 3.1 HPLC Uygulama Şartları.....	59
Tablo 3.2 LC-MS-MS Uygulama Şartları.....	61
Tablo 3.3 ICP-MS Metod Parametreleri	66
Tablo 3.4 Mineral içeren Standart Çözeltilerin Konsantrasyonları	68
Tablo 3.5 Kullanılan Pestisit Standartlarının Özellikleri.....	70
Tablo 3.6 Klorlu pestisitler fırın Sıcaklık çizelgesi	73
Tablo 3.7 Fosforlu pestisitler fırın Sıcaklık çizelgesi	74
Tablo 4.1 <i>Curcuma longa</i> L. uçucu yağı analiz sonuçları	83
Tablo 4.2 Spektrofotometrik Yöntemle Hesaplanmış Zerdeçal Numunelerindeki Total Kurkuminoit Miktarları	85
Tablo 4.3 HPLC Yöntemiyle Hesaplanmış Zerdeçal Numunelerindeki Kurkumin Miktarları.....	89
Tablo 4.4 Kurkumin parçalanma pikleri	91
Tablo 4.5 Kurkumin standart konsantrasyonları ve alanları	91
Tablo 4.6 LC-MS-MS Yöntemiyle Hesaplanmış Zerdeçal Numunelerindeki Kurkumin Miktarları	96
Tablo 4.7 Kurkumin (CL1) bileşiğinin ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD) ve ¹ H (400 MHz, <i>d</i> ₆ -DMSO) NMR spektroskopik değerleri	100
Tablo 4.8 Demetoksikurkumin (CL2) bileşiğinin ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD) ve ¹ H (400 MHz, <i>d</i> ₆ -DMSO) NMR spektroskopik değerleri	107
Tablo 4.9 Klorlu Pestisitlerin Alıkonma Zamanları.....	111
Tablo 4.10 Kalibrasyon Verileri.....	113
Tablo 4.11 Pestisit miktarları hesaplama tablosu.....	117
Tablo 4.12 Fosforlu pestisitlerin alıkonma zamanları.....	118
Tablo 4.13 Kalibrasyon Verileri.....	120
Tablo 4.14 Fosforlu pestisitler hesaplama tablosu	124
Tablo 4.15 Fosforlu ve klorlu pestisitleri için güvenilirlik analiz sonuçları	124
Tablo 4.16 Uluslararası Standartlara göre Çalışılan Numunelerdeki Pestisit Miktarları	125
Tablo 4.17 Numunelerdeki mineral ve ağır metal miktarları.....	126

Tablo 4.18 Kurkuminin sağlıklı lenfositlerde ve H ₂ O ₂ ile oksidatif hasar indüklenen lenfositlerde DNA hasarına karşı etkileri.....	127
Tablo 5.1 Spektrofotometrik Yöntemle Hesaplanmış Zerdeçal Numunelerindeki Total Kurkuminoit Miktarları	138
Tablo 5.2 Zerdeçal Numunelerinde Bulunan Kurkumin, Diğer Kurkuminoitler ve Total Kurkuminoit Miktarları	139
Tablo 5.3 Zerdeçal Numunelerinde Bulunan Kurkumin ve Diğer Kurkuminoitlerin HPLC Yöntemiyle % Alan Üzerinden Hesaplanmış Miktarları	140
Tablo 5.4 Zerdeçal Numunelerinde Bulunan Kurkumin Miktarları	140
Tablo 5.5 Uluslararası Standartlara göre Çalışılan Numunelerdeki Pestisit Miktarları	142
Tablo 5.6 Numunelerde Uluslararası Standartlara Göre Araştırılan Mineral Oranları	143
Tablo 5.7 Numunelerde Uluslararası Standartlara Göre Araştırılan Ağır metal Oranları	143

KROMATOGRAMLAR

Kromatogram 4.1 Kurkumin HPLC Standart Kromatogramları (0,088 / 0,176 / 0,352 ppm konsantrasyonlarda)	86
Kromatogram 4.2 Numune-3/standart HPLC kromatogramı.....	87
Kromatogram 4.3 Numune-1 HPLC kromatogramı	87
Kromatogram 4.4 Numune-2 HPLC kromatogramı	88
Kromatogram 4.5 Numune-3 HPLC kromatogramı	88
Kromatogram 4.6 Numune-4 HPLC kromatogramı	88
Kromatogram 4.7 Numune-5 HPLC kromatogramı	89
Kromatogram 4.8 Kurkumin standart LC-MS-MS kromatogramı	92
Kromatogram 4.9 Numune-1 LC-MS-MS kromatogramı	93
Kromatogram 4.10 Numune-2 LC-MS-MS kromatogramı	93
Kromatogram 4.11 Numune-3 LC-MS-MS kromatogramı	94
Kromatogram 4.12 Numune-4 LC-MS-MS kromatogramı	94
Kromatogram 4.13 Numune-5 LC-MS-MS kromatogramı	95
Kromatogram 4.14 Klorlu Pestisit Standartları Kromatogramı	112
Kromatogram 4.15 Standart eklenmiş numune Kromatogramı	114
Kromatogram 4.16 Numune Kromatogramı	115
Kromatogram 4.17 Standart eklenmiş numune/ numune Kromatogramı	116
Kromatogram 4.18 Fosforlu Pestisit Standartları Kromatogramı	119
Kromatogram 4.19 Standart eklenmiş numune kromatogramı	121
Kromatogram 4.20 Numune kromatogramı	122
Kromatogram 4.21 Standart eklenmiş numune / numune kromatogramı	123
Kromatogram 5.1 HPLC yöntemi ile toplam kurkuminoitlerin kromatogramı	139

SPEKTRUMLAR

Spektrum 4.1 Kurkumin LC-MS-MS kütle spektrumu	90
Spektrum 4.2 Kurkumin'in (CL-1) ¹ H NMR Spektrumu (<i>d</i> ₆ -DMSO, 400 MHz) ...	101
Spektrum 4.3 Kurkumin'in (CL-1) ¹ H NMR Spektrumu (<i>d</i> ₆ -DMSO, 400 MHz) ...	102
Spektrum 4.4 Kurkumin'in (CL-1) ¹³ C NMR Spektrumları (CD ₃ OD, 100 MHz) ..	103
Spektrum 4.5 Demetoksikurkumin'in (CL-2) ¹ H NMR Spektrumu (<i>d</i> ₆ -DMSO, 400 MHz)	108
Spektrum 4.6 Demetoksikurkumin'in (CL-2) ¹ H NMR Spektrumu (<i>d</i> ₆ -DMSO, 400 MHz)	109
Spektrum 4.7 Demetoksikurkumin'in (CL-2) ¹³ C NMR Spektrumları (CD ₃ OD, 100 MHz)	110

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Zingiberaceae familyasının önemli üyelerinden biri olan ve halk arasında “zerdeçal” olarak bilinen *Curcuma longa* L., sarı çiçekli, büyük yapraklı, çok yıllık otsu bir bitkidir. “Hint safranı” olarak da bilinir. Anavatanı Güney Asya’dır.

Curcuma cinsi gelişmiş yer altı kök, sap ve rizomlara sahip olup tozu yemeklere eklendiğinde gıdaların tazeliğini koruması, karakteristik koku ve tat katması nedeniyle özel bir önem taşır. Aromatik bitkiler arasında yer alan *Curcuma longa* L. rizomları (zerdeçal, turmerik) köri sosunun en önemli baharatı olup, sosun uzun süre saklanmasını sağlayarak, lezzetini artırır ve gıdaları koruyucu etki gösterir.

Zerdeçal Çin, Endonezya, Hindistan, Tayland ve Afrika’nın tropikal bölgelerinde yaygın bir şekilde yetişmektedir (1). Bitkinin toprak altındaki ana kökleri (rizom) yumurta veya armut, yan kökleri ise parmak şeklindedir. Rizomların üst yüzü sarımsı, iç yüzü ise sarı renklidir. Acımsı bir tadı olup, oblong, ovat, priform ve sıklıkla kısa dallanmıştır. Nepal’de evlerde ilaç olarak kullanılır (2). Ayurveda tıbbında zerdeçal; dahili olarak mideyi, tonik, kan temizleyici ve harici olarak cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılır (3). Geleneksel Hint Tıbbında ise tozundan safra hastalıklarının tedavisinde, anoreksi, grip, soğuk algınlığı, diyabetik yaralar, hepatik rahatsızlıklar, romatizma ve sinüzitte yararlandığı kayıtlıdır (4).

Geleneksel kullanımlarından yola çıkılarak uçucu yağın kimyasal içeriği, kurkuminoitlerin izolasyonu, tanımlanması ve çeşitli biyolojik aktiviteleri hakkında birçok araştırma yapılmıştır. Antienflamatuvar özelliklerinin ortaya çıkmasıyla birlikte 1970’li yıllarda zerdeçal üzerindeki ilgi artmaya başlamıştır. Antiseptik, koku ve tat düzeltici olarak bilinen zerdeçalın klinik testlerle antibakteriyel etkileri kanıtlanmış, böylece gıda ve kozmetik alanının dışında da kullanımı artmıştır (5-8).

Curcuma longa’nın sağlıktaki önemi, içeriğindeki fenolik yapıların antioksidan özelliklerinin anlaşılması ile önemli ölçüde değişmiştir. Lipit peroksidasyonu enflamasyon, kalp hastalıkları ve kanserde önemli rolü bulunan bir faktördür. *Curcuma longa*’nın; süperoksit dizmutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimleri muhafaza ederek lipit peroksidasyonunu düşürebildiği gözlenmiştir. *Curcuma longa*’dan izole edilen maddeler, ortamdaki linoleik asite karşı bir model sistemde ve beyindeki lipitlerin *in vitro* peroksidasyonunda yapılan çalışmalarda güçlü antioksidan aktivite göstermiştir (9-12). Kurkumin ayrıca lipit

peroksidasyonunu tetikleyen süperoksit anyonu, hidroksil radikali gibi serbest oksijen radikallerini ve nitrojen dioksit radikallerini süpürücü etki göstermiştir (13-15).

Kurkuminin, yara tedavisinde ve artritte antibakteriyal ve antienflamatuvar olarak, safra salgısını kontrol ederek yağların hazmedilmesine yardımcı, kolesterol düşürücü özelliği ile kalp krizlerinde önleyici, karaciğer koruyucu, lenfomatik tümör hücrelerinin büyümesini önleyici ve tümör gelişimini durdurucu özellikleri nedeniyle kullanıldığı bilinmektedir. Son zamanlarda antikanserojen ve antimutajenik özellikleri ile ilgili bilimsel çalışmalar artarak devam etmektedir (16-19).

Rizomlardan, tüketme işlemleri sonucu kurkuminoitler adı verilen fenilpropan yapısındaki maddeler izole edilmiştir. Kurkuminoitler ve ana madde kurkumin üzerinde yapılan çalışma sayısı son yıllarda giderek artmaktadır. Etkileri üzerinde yapılan çalışmalar aşağıdaki şekilde gruplandırılabilir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 Kurkuminin Biyolojik Etkileri

Amerika Birleşik Devletlerinde Alzheimer, kanser, artrit gibi rahatsızlıklar gözlenen 19 kayıtlı hastada kurkumin ve zerdeçal tedavisi ile ilgili klinik çalışmalar devam etmektedir (20). Antienflamatuvar (21-23), antitümöral (17,24), antidiyabetik (25,26) ajan olarak kullanılmasının yanı sıra, anjiyogenezde (27,28), Alzheimer hastalığında (29-31) ve gastrointestinal bozukluklarda (32) kullanılmaktadır.

Kurkuminoitlerin yüksek dozda kullanıldığında toksik olmadığı, demetoksikurkumin ve bisdemetoksikurkumin gibi analoglarının da kurkumin benzeri aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir (16,18). Sıçanlarda oral olarak uygulanan kurkuminoitlerin, genel kan dolaşımına girdikleri, glukuronit ve glukuronit-sülfat konjugat formları oluşturdukları rapor edilmiştir (33). Bu nedenle oral olarak alınan kurkuminoitlere atfedilen fizyolojik etkilerin bu konjugatlardan kaynaklandığı da düşünülmektedir.

Curcuma longa rizomları ülkemizde de baharat olarak bilinmekte ve çeşitli biyoaktiviteleri nedeniyle tedavi amaçlı kullanılışı halk arasında hızla artmaktadır. Ülkemizde yetişmediği için aktarlardan satın alınan rizomların veya piyasada gıda takviyesi olarak satılan preparatların içerdikleri kurkuminoit, mineral, ağır metal ve taşıyabileceği pestisit/insektisit artığı miktarları yönünden yapılmış karşılaştırmalı bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu amaçla Ankara ve İstanbul'dan değişik aktarlardan bütün halinde satın alınan rizomlar ve İstanbul'da gıda takviyesi satan farklı adreslerde bulunan ve etken maddesi *Curcuma longa* rizomları olan değişik ticari markalara ait preparatlar etken madde, mineral, ağır metal ve pestisit oranları yönünden karşılaştırmalı olarak araştırılacak ve aktiviteleri incelenecektir. İlaveten aroma bitkisi olarak bilinen zerdeçal rizomlarının uçucu yağının yapısı GC ve GC-MS cihazlarıyla kromatografik yöntemlerle araştırılacaktır.

Rizomlarda bulunan kurkuminoitlerin miktarları spektrofotometrik olarak tespit edilecek, Farmakognozik yöntemler kullanılarak kurkuminoitler izole edilecek, yapıları NMR ile aydınlatılacaktır. Tanı ve miktar tayinlerinde laboratuvar için geliştirilecek olan HPLC ve LC-MS-MS yöntemleri karşılaştırmalı olarak çalışılacaktır. Bu sayede halk sağlığı açısından önemli olması nedeniyle zerdeçal örneğinden hareketle İstanbul Zeytinburnu Halk Sağlığı Laboratuvarında bulunan elemental, kromatografik ve spektrofotometrik cihazlarla (ICP-MS, GC-NPD, GC-ECD, Spektrofotometre, HPLC, LC-MS-MS) doğal bileşikler için analiz yöntemleri geliştirilmiş olacaktır.

Bu çalışma ile devletin merkezi bir laboratuvarında bitkisel ürünlerde kullanılabilir hızlı ve doğru sonuç veren analiz yöntemleri geliştirilmiş olacak, bu yöntemlerle gıda takviyelerinde bulunan ve aktarlarda satılan doğal kaynaklı ürünler bilimsel olarak incelenebilecektir.

2. TEORİK BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler



Şekil 2.1 *Curcuma longa* L. Bitkisi ve Rizomları

2.1.1. Familya ve Cins Özellikleri

Zingiberaceae

Zingiberaceae ya da zencefilgiller familyası aromatik çok yıllık otlar, yatay veya yumrulu rizomlar ve sürünen gövdeleri içeren çiçekli bitkilerden oluşan bir ailedir. Yaklaşık 53 cins ve 1200'ün üzerinde tür içeren Zingiberaceae familyasında Zingiberales ordosu en büyüğüdür. Zingiberaceae familyası tropikal Afrika, Asya ve Amerika'da dağılım gösterir, ancak özellikle Güneydoğu Asya'da bol miktarda bulunmaktadır. Familya iki steril stamenin birleşmesiyle oluşan bir labellum ve uçucu yağların dokularda varlığı ile ayırt edilir.

Birçok türü önemli süs bitkileri, baharatlar ve tıbbi bitkilerden oluşur. Süs bitkileri olarak *Curcuma alismatifolia*, *Alpinia*, *Globba*, *Hedychium*, *Kaempferia*, *Nicolaia*, *Renealmia* ve *Zingiber* cinslerine ait türler yer alır. Ayrıca *Zingiber*, *Alpinia galanga*, *Curcuma longa*, *Aframomum melegueta*, *Zingiber mioga*, *Amomum Elettaria* baharat olarak bilinen cins ve türlerdir (34,35).

Aile üyeleri büyükten küçüğe, dikey iki sıra halinde dizilmiş yapraklı, üst üste bazal kılıfların meydana getirdiği yalancı kollardan oluşan otsu bitkilerdir. Bitkiler ya kendinden destekli ya da epifittir. Çiçekler hermafrodit, güçlü zigomorf, determinant-simoz çiçek durumu taşıyan, göze çarpan, spiral düzenli braktelerden oluşur. Çiçek örtüsü, bir birleşmiş tübüler kaliks ve bir lobu diğer iki lobdan daha büyük olan bir tübüler korolladan oluşan bir sarmaldır. Çiçekler genellikle iki stameni eriyip bir dudak formu oluşturmuş olup tek verimli stamen içerirler.

Ovaryum alt durumlu, iki nektarın tepesinde ve stigma boru şeklindedir (34,35). Bazı verimli türleri (*Alpinia*, *Hedychium*) parfüm endüstrisinde kullanılır.

***Curcuma longa* L.**

Bir metreye kadar boylanabilen etli, kalın gövdeli çok yıllık bitkilerdir. Ana rizomları oval, yaklaşık 3 cm çapında ve 4 cm uzunluğundadır. Yanal rizomları hafifçe kıvrık (1 cm x 2-6 cm), etli turuncu renktedir yapraklar 50 cm uzunluk ve 7-25 cm genişlikte yeşil, büyük lanseolat yapraklı, apeks; akut ve kaudat, sivri tepeli, yaprak sapı ve kılıf seyrekten yoğuna kadar tüylüdür. Tepe silindirik 10-15 cm uzunluğunda 5-7 cm çapındadır. Brakteler beyaz ya da üst yarısı açık yeşil, taşıdığı her bir çiçek 5-6 cm uzunlukta, brakteoller 3,5 cm'ye kadar uzunluktadır. Açık sarı çiçekler 5 cm uzunlukta; kaliks tüpsü, tek tarafı bölünmüş, eşit olmayan dişli; korolla beyaz, tüp huni şeklinde, üç lobludur. Stamenler yanal, petaloid, yaygın, eliptik, filamentler polen kesesinin ortasında anterde birleşmiş, tepede mahmuzludur. Ovaryum üç gözlü, tüsüzdür. Kapsül elipsoittir, içinde turuncu rizomları vardır.

Curcuma longa L.'nin birincil rizomları ovat, oblong ya da armut biçimli yuvarlak iken, ikincil rizomları sıklıkla kısa dallı olan uzun bitkilerdir. Yuvarlak formdakiler, uzunluğu 2,5 cm kalınlığı 1-1,8 cm olan uzun formdakilerin yaklaşık olarak yarısı kadardır. Kök çizgileri ve halkaları ile dışları sarımsıdan sarımsı kahverengiye doğrudur. Kök izlerinin sonrasında yaprak tabanları kırılğan, içleri turuncu sarıdan turuncuya kadar değişen renklere, mumsu, belirgin bir endodermis tarafından merkezi bir silindir ile ayrılmış bir korteks gösterir.

WHO monografında, "*Curcuma longa* rizomları" olarak kayıtlı monograf bulunmaktayken, Avrupa farmakopesi 5'te "Turmerik, Javanese" adıyla *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. rizomları yer almaktadır (1,2,36).

2.1.2. Yayılış

Coğrafik olarak Kamboçya, Çin, Hindistan, Endonezya, Lao Demokratik Halk Cumhuriyeti, Madagaskar, Malezya, Filipinler ve Vietnam'da dağılım gösterir. Yaygın olarak Çin, Hindistan, Endonezya, Tayland ve Afrika'nın tropikal bölgeleri de dahil olmak üzere tropikal kuşak boyunca yetiştirilir (1,6,36).



Şekil 2.2 *Curcuma longa* L. yayılışı (37)

2.2. Kimyasal Bilgiler

2.2.1. Kurkuminoitler

Kurkumin (% 1.11), bisdemetoksikurkumin (% 1.62), demetoksikurkumin (% 0.86), dihidrokurkumin, siklokurkumin, 4''-(3'''metoksi-4'''hidroksifenil)-2''-okzo-3''-enbutanil-3-(3'-metoksi-4'hidroksifenil)-propen-at (calebin-A), 1,7-bis (4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,4,6-heptatrien-3-on, 1-hidroksi-1,7-bis (4-hidroksi-3-metoksifenil)-6-hepten-3,5-dion, 1,7-bis(4-hidroksifenil)-1-hepten-3,5-dion, 1,7-bis (4-hidroksifenil)-1,4,6-heptatrien-3-on, 1,5-bis (4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on (38,39) rizomların içeriğinde yer alan kurkuminoitlerdir. Renk pigmentlerinin % 50–60'ını kurkumin, demetoksikurkumin ve bisdemetoksikurkumin karışımından oluşan kurkuminoitler (% 5) oluşturmaktadır (2,36).

Kurkumin, zerdeçal rizomlarının ana bileşiği olarak kabul edildiği için Dünya Sağlık Örgütü kullanılabilir zerdeçal ürünlerinde bulunması gereken kurkuminoit oranını belirlemiştir (1). Ayrıca kurkumin sarı renk standardı olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle kurkumin miktarının belirlenmesinde kullanılan standart bir spektrofotometrik yöntem monograflara girmiştir (40).

2.2.2. Terpenler ve Uçucu Yağı

Koku ve tat düzeltici olarak kullanımının yaygın olması nedeniyle araştırılan *Curcuma longa* L. rizomlarının uçucu yağının (% 6); donuk sarıdan, turuncu-sarıya değişen renklere olduğu kayıtlıdır. *Curcuma longa* L.'nin parlaklığı ve sarı rengi

fenolik maddelerden ve analoglarından kaynaklanırken, aroması uçucu yağından kaynaklanmaktadır. Su buharı distilasyonu sonucunda elde edilen uçucu yağın içerisinde ağırlıklı olarak seskiterpen ketonlar ve alkoller bulunmuştur. Araştırmalarda uçucu yağında, p-simen, β -seskifellandren, turmeron, ar-turmeron, β -turmeron, 1,8-sineol, cis-sabinol, α -pinen, karyofillen, kurkumen, linalol, borneol, izoborneol, öjenol, sineol, β -pinen, kurdion, α -turmeron, zingiberen, (+)-ar-kurkumen, (-)- β -bisabolen, α -fellandren, germakron, ar-kurkumen (41,42) bulunmuştur. *Curcuma longa* L. rizomlarından elde edilen sulu etanolik ekstreden kurlon (43) izole edilmiştir. Droğun kuru rizomlarından iki seskiterpen ketoalkol; turmeronol A, turmeronol B (44), metanol ekstresinden; germakron-13-al, 4-hidroksibisabol-2,10-dien-9-on, 4-metoksi-5-hidroksibisabol-2,10-dien-9-on, 2,5-dihidroksibisabol-3,10-dien ve prokurkumadiol (45) izole edilmiştir. Bisabolen tipi seskiterpenlerin *Curcuma longa* L. için karakteristik olabileceği düşünülmektedir (1,3,43).

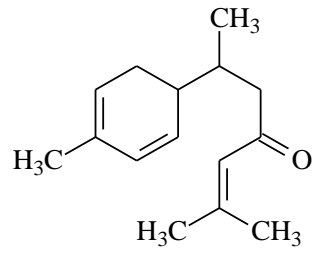
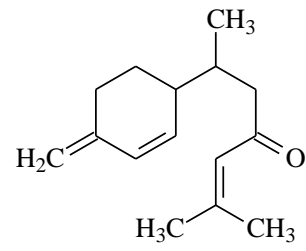
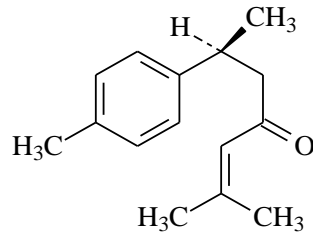
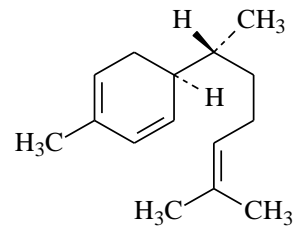
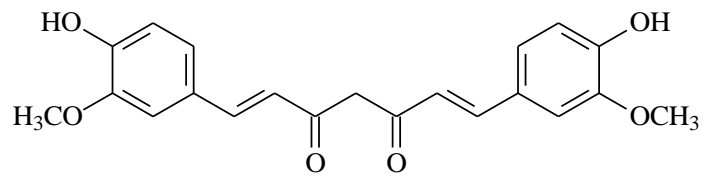
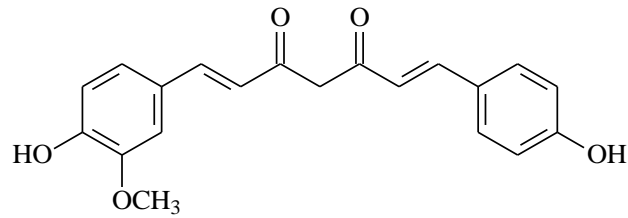
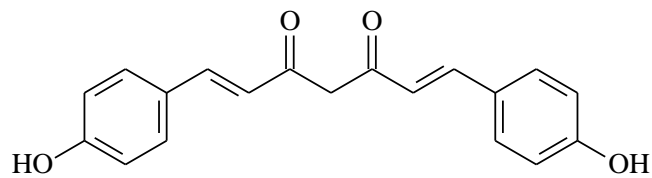
Yapılan literatür araştırmalarında seskiterpenler; (S)-(+)-ar-turmeron (46), bisakuron (45), β -atlanton (47), (6R)-[(1R)-1,5-dimetilheks-4-enil]-3-metilsikloheks-2-en-1-on, (48), zedoarondiol (49), kurkumanolid A, kurkumanolid B (50), kurkulonon A, kurkulonon B, kurkulonon C, kurkulonon D, 6 α -hidroksikurkumanolid A ve 1,10-dehidro-10-deoksi-9-oksozedoarondiol'e (51) de rastlanmıştır.

2.2.3. Diğer Kimyasal Maddeler

Zerdeçal üzerinde yapılan literatür araştırmalarında kurkuminoit ve terpenler dışında farklı yapılara ait kimyasal maddelerin de izole edildiği saptanmıştır.

β -sitosterol, stigmasterol (52), kampesterol, kolesterol ve yağ asitleri; tetradekanoik asit, cis-cis-9-hekzadekanoik asit, hekzadekanoik asit, cis-cis-9,12-oktadekediyoik asit, cis-trans-9-oktadekanoik asit, oktadekanoik asit ve eikozanoik asit (53) kayıt altına alınmış maddeler arasındadır.

Benzenoitler; vanillin (54), vanilik asit, (E)-ferulik asit, (Z)-ferulik asit (55), (E)-4-(4-hidroksi-3-metoksifenil)but-3-en-2-on (56), 1,5-bis (4-hidroksi-3-metoksifenil)-(1E,4E)-1,4-pentadien-3-on (57) diferuloilmetan, feruloil-p-kumaroilmetan ve di-p-kumaroilmetan kayıt altına alınmış maddeler arasındadır.

 **α -Turmeron** **β -Turmeron****ar-Turmeron****Zingiberen****Kurkumin****Demetoksikurkumin****Bisdemetoksikurkumin****Şekil 2.3** *Curcuma longa* L. Rizomlarında Bulunan Bazı Önemli Maddeler

2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Curcuma longa L. rizomlarının biyolojik aktiviteleri üzerinde yapılan araştırmaların sonuçları, biyolojik aktivite gruplarına göre aşağıda verilmiştir.

2.3.1. Antioksidan Aktivite

Oksidatif stres; miyokardial iskemi, kanama, şok, sinir hücrelerinin zedelenmesi, hipoksi ve kanser gibi birçok hastalığın oluşmasında rol oynar. Kurkumin vitamin C ve E ile karşılaştırılabilir oranda güçlü antioksidan etki göstermektedir. Sıçan eritrositlerinde hidrojen peroksit indüklü hemoliz ve lipit peroksidasyonu ölçülmüştür. Kurkumin düşük konsantrasyonlarda eritrositlerdeki hemolizi inhibe ederken, yüksek konsantrasyonlarda inhibisyon yapmamıştır. Ancak diğer kurkuminoitlerde böyle bir etki gözlenmemiştir. Bu sonuçlara göre hemolizin inhibisyon derecesinin halkadaki metoksi gruplarının sayısı ile ilişkili olabileceği öne sürülebilir. Testlerde kullanılan dl-alfa-tokoferol etkin bir şekilde hemolizi ve lipit peroksidasyonunu inhibe etmiştir. Membranda stabilize olan dl-alfa-tokoferol'ün etki mekanizması kurkuminoitlerden farklıdır (12).

Suda çözünen antioksidan bir peptid olan turmerin'in, 3 metiyonin grubu içerdiği ve yüksek antioksidan aktivitesinin bu gruplardan ileri gelebileceğinin düşünüldüğü belirtilmektedir. Yapılan çalışmada turmerin, 183 nm'de DNA membranlarını % 80 oranında oksidatif hasara karşı korumuştur. Reaktif oksijen türevlerinin indüklediği aroşidonat salıverilmesi ve t-bütil hidroperoksitin neden olduğu mutajenik aktivite turmerin tarafından inhibe edilmiştir. İnsan lenfositlerinde AMES metoduyla yapılan çalışmada turmerin'in miligram düzeylerinde bile toksik olmadığı gözlenmiştir (58).

Kurkumin ve üç türevinin (demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin ve diasetilkurkumin) antioksidan özellikleri incelenmiştir. Maddeler az etkili olan diastilkurkumin hariç, 0.08 mM gibi olabildiğince düşük konsantrasyonda nitrit-indüklü oksidasyondan hemoglobinin korunmasını sağlamıştır (15).

Kurkuminin yapay membranlarda (lipozom gibi) fotosensitizer, radikal süpürücü, demir bağlayıcı potansiyeli araştırılmıştır. Kurkumin lipozom stabilitesi üzerinde çift etki göstermiştir. Mebranda demir ve demir iyonlarının bulunduğu ortamlarda şelat yapıcı ajan gibi davranırken, fosfolipitlerin peroksidasyonunu engellemiştir (59).

Lipit peroksidasyonu; enflamasyonda, kalp hastalıklarında ve kanserde önemli rol oynayan bir parametredir. Kurkuminin lipit peroksidasyonu üzerine etkisi pek çok çalışmaya konu olmuştur. Kurkumin iyi bir antioksidandır ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda karaciğer mikrozomlarında, eritrosit membranlarında ve beyin homojenatlarında lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir (60).

Kurkumin; süperoksit dizmutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi lipit peroksidasyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynayan antioksidan enzimleri muhafaza ederek lipit peroksidasyonunu düşürmektedir. Kurkumin ayrıca lipit peroksidasyonunu tetikleyen süperoksit anyonu, hidroksil radikali gibi serbest oksijen radikallerini ve nitrojen dioksit radikallerini süpürücü etki göstermektedir (13,14,61).

Kurkuminoitlerin sıçanlarda beyin homejanatlarında ve karaciğer mikrozomlarında lipit peroksidasyonunu inhibe edici etkisi incelenmiştir. Tüm kurkuminoitler α -tokoferolden (referans) daha aktif bulunmuş olup içlerinde en etkili olan kurkumindir. Kurkumindeki metoksi gruplarının etkide önemli rol oynadığı görülmektedir. Fenolik halkadaki metoksi grupları ve 1-3 diketon sistemi bu etkiye katkıda bulunan gruplardır. Deneylede diketon sisteminin demir gibi metaller için potansiyel ligant özelliği gösterdiği gözlenmiştir. Diğer bir bulgu da, orto pozisyonda bir metoksi grubu ile antioksidan etki artmaktadır. Kurkuminin etki mekanizması henüz bulunamamıştır (14).

Kurkuminin antioksidan ve antiinflamatuvar etkisi çeşitli tedavi edici avantajlar içermektedir. Kurkumin lipit parçalanması, peroksidasyon ve sitolizi inhibe ederek böbrek hücrelerini (LLC-PK1) oksidatif hasardan korumuş ve kalpteki iskemi-indüklü biyokimyasal değişiklikleri azaltmıştır (62,63).

Turmerik'in sulu ekstresinden antioksidan bir protein izole edilmiştir. Antioksidan özelliğini sıcaklıkla stabil tutabildiği ve lipit peroksidasyonunda doza bağımlı olarak inhibe edici özellik gösterdiği gözlenmiştir. Bu protein 50 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda lipit peroksidasyonu üzerinde % 50 inhibitör aktivite göstermiştir. Beyin homojenatlarındaki bu Ca^{+2} -ATPaz aktiviteden korunmanın yolu tiyol (-SH) gruplarının kaybedilmesinden korunarak gerçekleştirilebileceği düşünülmektedir (64).

Doğal fenolik bir yapı olan kurkuminin antioksidan etkisi insan kırmızı kan hücrelerinde ve hücre membranlarında ölçülmüştür. Kurkumin 4-100 μM

konsantrasyonlarda H_2O_2 'e karşı hücreleri parçalanmaktan ve lipit peroksidasyonundan korumuştur. Kurkumin 100 μM konsantrasyonda, dışarıdan alınarak oluşan kırmızı kan hücreleri demir depolarında ve talasemili hastalarda içerdeki demir depolarında önemli oranda lipit peroksidasyonunu inhibe etmiştir. Sisteme hidrojen peroksit yakın oranda askorbik asit eklendiğinde kurkuminin talasemili hücrelerdeki koruyucu etkisi daha da belirgin hale gelmiştir. Kurkumin tek başına Fe^{+2}/Fe^{+3} değerini değiştirmemiş, ancak hidrojen peroksit tarafından Fe^{+2} 'nin reoksidasyonunu inhibe etmiştir. Sonuçlara göre kurkuminin Fe^{+2} ile kompleksi, hidrojen peroksit olan reaktiviteyi azaltmaktadır. Bu nedenle membran antioksidanı olan kurkuminin talasemili kırmızı kan hücrelerini, demir katalizli oksidatif hasara karşı koruyabileceği öne sürülmektedir (65).

Kurkumin izoprenalin-indüklü miyokardial iskemik hasarda sıçan miyokardını koruyucu etki göstermiş olup koruyucu etkisinin serbest radikal süpürücü etkisinden kaynaklandığı bulunmuştur (66-68). İkinci doz izoprenalin uygulamasından iki hafta sonra, kurkumin var olan kollajen dokusunda ve sentezindeki parçalanmayı azaltmıştır. Bu etki kurkuminin serbest radikal süpürücü etkisinden ve lizozomal enzimlerin serbest bırakılmasını inhibe etmesinden kaynaklanmaktadır (69).

Kurkuminin ve etoksi süstitüe türevlerinin antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Antioksidan özellikleri lipit perokside edici yetenekleri ve troloks ekivalan kapasiteleri yönünden α -tokoferol ile kıyaslanmıştır. Hem kurkumin hem de türevleri antioksidan özellikte bulunmuştur. Kurkumin doğal iken diğerleri sentetik türevleridir. Suda çözünmezler ve hidrofobik hücre membranı zarları arasında lokalize halde bulunmaları beklenmektedir. En iyi çözünürlük sürfaktanlar varlığında gözlenmiştir. Azit, haloperoksil gibi radikallere karşı antioksidan aktiviteleri ölçüldüğünde kurkumin ve türevlerinin lipozomlarda α -tokoferol kadar lipit peroksidasyonunda etkili oldukları gözlenmiştir (70).

Kurkuminle ön tedavi sırasında, kanama durumunda yükselen IL-1- α , IL-1- β , IL-2, IL-6, IL-10 gibi karaciğer sitokinleri normal seviyelere dönmüştür. Hatta IL-1- β seviyeleri plasebo seviyelerinden daha düşüktür. Kanama sonrasında 2 ve 24 saat sonra farklı şekilde aktive olan NF- κ B ve AP-1 tedavi öncesi uygulanan kurkumin ile inhibe edilmiştir. Kurkuminle ön tedavi edilen sıçanlarda serum aspartat transaminaz

ölçümleri kanama hallerinde düşük karaciğer hasarını göstermektedir. Bu sonuçlar kurkuminin kanama durumunda oluşan hasara karşı koruyucu etkisini, transkripsiyon faktörünü inaktive ederek ve sitokinleri yararlı seviyelerde düzenleyerek gösterdiğini desteklemektedir (71).

Kurkuminin sıçan beyin homojenatlarında, kurşun ve kadminyum-indiklü lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu etkisi incelenmiştir. Lipit peroksidasyonunu ölçmek için tiyobarbitürik asit metodu (TBA) kullanılmıştır. Sonuçlar kurkuminin dokuları, bu toksik metallerin oluşturduğu lipit peroksidasyonundan önemli ölçüde koruduğunu göstermiştir. Koroner beyin bölümlerine, kurkumin varlığında (30 mg/kg) ve yokluğunda intraperitoneal olarak kurşun asetat (20 mg/kg) enjekte edilmiştir. Kurkuminin koruyucu etkisini görmek için, hipokampal CA1 ve CA3 hücrelerindeki kurşun-indiklü hasar incelenmiştir. Kurkumin enjekte edilen sıçanlarda kurşun-indiklü hasar önemli ölçüde azalmıştır. Olası kurşun, kadminyum ve kurkumin şelasyonlarını ve nöroprotektif etki mekanizmasını görmek için elektrokimyasal, ultraviyole, spektrofotometrik ve IR spektrofotometresi yöntemleri kullanılmıştır. Sonuçlara göre bu metaller ve kurkumin arasında metal-ligant özelliği görülebileceği ve şelasyonların olabileceği görülmüştür. Sonuçlardan yola çıkarak kurkuminin bu metallerin şelasyonlarında doku hasarından korumak amacıyla kullanılabilmesi öne sürülmektedir (72).

Sıçanlarda serebral iskemi modelinde kurkumin lipit peroksidasyonunu inhibe ederek, antioksidan savunma enzimlerini artırarak ve peroksinitrit oluşumunu azaltarak önemli nöroprotektif etki göstermiştir. Sonuç olarak kurkuminin oksidatif hasarın neden olduğu birçok hastalığın tedavisinde yararlı etkileri nedeniyle potansiyel ajan olarak kullanılabilmesi görülmektedir. Bu etkilerinin antioksidan etkilerinden kaynaklandığı ve yeni ilaçların geliştirilmesinde kullanılabilmesi düşünülmektedir (73).

Fosfomolibdenyum ve linoleik asit peroksidasyon metodları gibi *in vitro* model sistemlerde kurkumin, demetoksikurkumin ve bisdemetoksikurkuminin ayrı ayrı antioksidan aktiviteleri ölçülmüştür. Çözeltilerin askorbik asite ekivalan ($\mu\text{mol/g}$) antioksidan kapasiteleri sırasıyla; kurkumin>demetoksikurkumin> bisdemetoksikurkumin şeklinde bulunmuştur. Linoleik asit peroksidasyonunda 100

ppm'de, BHT'ye oranla kıyaslandığında yine en yüksek aktiviteyi kurkumin göstermiş ve diğerleri de aynı sırayla devam etmiştir (16).

Curcuma longa L.'den izole edilen β -turmerin 0.125 μ M konsantrasyonda, linoleik asit miselleri, eritrosit membran sistemleri ve lipozomlar gibi üç farklı model sistemde % 70, % 64 ve % 60 oranında lipit peroksidasyonuna neden olmuştur. Bu değer BHA ve α -tokoferol (400 μ M) gibi standart antioksidanlardan 3200 kez daha etkili olduğunu göstermektedir. β -turmerin, dien-trien ve tetraen konjugasyonunu sırasıyla % 54, % 72 ve % 47'ye kadar inhibe etmiştir. β -turmerin, BHA ve α -tokoferol ile kıyaslandığında hidroksil radikalini daha efektif bir şekilde süpürücü etki göstermiştir. Polimorfonükleer (PMNL) aktivasyonunu, standart BHA (400 μ M) ve mannitol (10 μ M) sırasıyla % 65 ve % 55 inhibe ederken, β -turmerin (2.5 μ M) % 75 inhibe etmiştir. 0,125 μ M dozda β -turmerin, tüm zaman aralıklarında t-BOOH indüklü hücre ölümünden korumuştur. Yukarıdaki özelliklerinin yanı sıra lenfositlerde toksik olmadığı ve hücre canlılığını etkilemediği gözlenmiştir. Antioksidan etki mekanizmasında reaktif oksijen türleri üzerindeki rolünün önemli olabileceği düşünülmektedir (74).

Sıçanlarda, sipermetrinin neden olduğu kandaki biyokimyasal ve antioksidan enzim değişikliklerinin üzerinde kurkuminin koruyucu etkisini ölçmek amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Sıçanlar altı gruba bölünmüştür; grup I kontrol grubu, grup II ve III araç kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Grup IV, V ve VI ise 28 gün boyunca oral olarak sırasıyla, kurkumin (100 mg/kg vücut ağırlığı), sipermetrin (25 mg/kg vücut ağırlığı) ve sipermetrin+kurkuminle tedavi edilmiştir. Sıçanların serum biyokimyasal değerleri ölçülmüş, lipit peroksidasyon ve antioksidan enzim aktiviteleri karaciğer, beyin ve böbreklerde tanımlanmıştır. Sipermetrin uygulaması süperoksit dizmutaz hariç nonenzimatik ve enzimatik antioksidan seviyelerini düşürürken, kan biyokimyasal değerlerinin, karaciğer, beyin ve böbreklerde lipit peroksidasyonunun yükselmesine neden olmuştur. Sipermetrinle birlikte kurkuminin varlığı, kandaki biyokimyasal değerleri ve lipit peroksidasyonunu önemli ölçüde düşürürken, redükte glutatyon, katalaz, glutatyon peroksidaz seviyelerini yükselterek karaciğer, beyin ve böbreklerdeki normal histolojik yapının korunmasına yardımcı olmuştur. Çalışmaların sonucunda kurkuminin sıçanlarda sipermetrin-indüklü oksidatif hasara karşı koruyucu etki gösterdiği gözlenmiştir (75).

Curcuma longa L.'nin taze ve kuru rizomlarının kimyasal yapılarının ve aktivitelerinin incelendiği bir çalışma yapılmıştır. Sonuçlara göre, α -turmeron kuru rizomlarda az miktarda yer almaktayken taze rizomlarda majör bileşen olarak bulunmuştur. Yine β -turmeron miktarı kuru rizomlarda, taze rizomlardaki miktarının yarısından daha az bulunmuştur. Antioksidan özellikleri lipit peroksidasyon, DPPH ve metal şelasyon metodu gibi pek çok yöntemle ölçülmüştür. Taze rizomların uçucu yağlarının ve etanol oleorezinlerinin aktiviteleri kuru rizomlardan daha yüksek bulunmuştur (76).

2.3.2. Antitümöral Aktivite

Kurkuminin farelerde, asistik lenfoma hücreleri üzerindeki antitümör etkisi ile ilgili ilk çalışmalar 1985 yılında yapılmıştır (77). Daha sonra antitümöral ve inhibitör etkisi melanoma hücreleri ve melanomanın akciğer metastazı üzerinde gösterilmiştir (78,79). *C. longa*'dan kurkumin ve diğer 3 kurkuminoit (I, II, III) izole edilmiştir. Sitotoksik aktiviteleri, tümör küçültücü ve antioksidan etkileri yönünden karşılaştırma yapılmıştır. Sonuçlar Kurkumin III'ün daha etkin bir antitümör ajan olduğunu göstermiştir ve farelerde Ehrlich asit tümör testine göre önemli ölçüde inhibisyon göstermiştir (80).

Kurkumin *in vitro* olarak çeşitli kanser türleri arasında çoğalmayı inhibe edici etki göstermektedir (81). Kurkuminin kolon, duodenum, özefagus, ön mide, mide, karaciğer, göğüs, lösemi, oral ve prostat gibi pek çok kanser türünde tümorojenik aktiviteyi baskılayabileceği ortaya konmuştur.

Farelerdeki çalışmalarda kurkumin, DMBA ve TPA indüklü deri tümörü oluşumunda inhibe edici etki göstermiştir (82-84). Erkek Swiss albino farelerde yapılan bir çalışmada, kurkumin ya da *Curcuma longa* (CL) ekstresinin kimyasal yolla indüklenen tümörleri küçültmesi yönünden etkinliği incelenmiştir. Ekstre 5 g CL rizom tozunun 100 mL aseton/metanol (45:55) ile ekstraksiyonu hazırlanmıştır. Sonra filtre kağıdından süzölmüştür. Kurkumin çözeltisi için 40 mg kurkumin 5 mL aseton/metanol (45:55) karışımında çözülmüştür. DMBA tümörleri indüklemek için kullanılmıştır. Kurkumin ya da droğun ekstresinin tek doz uygulaması papillom oluşumunu engellemede başarısız olmuştur. Ekstrenin uygulanmasında kontrol grubuyla kıyaslandığında, papillom oluşumunda çok küçük ve önemsiz bir azalma gözlenmiştir. Karsinogenez oluşumu ve başlangıç aşaması boyunca kurkumin ve CL

ekstresinin beraber uygulanması, kontrol grubuna kıyasla papillom oluşumunda azalmaya neden olmuştur. Bu sonuçlar hem kurkumin hem de CL ekstresinin etkilerini tümörün ilerleme aşamasında gösterdiğine işaret etmektedir (85). Başka bir çalışmada diyetle alınan kurkuminin (% 0,2 ve % 1,0), 7,12-dimetilbenz(a)antrasen (DMBA) ve 12,0-tetradekanoilforbol-13-asetat (TPA)-indüklü deri kanseri oluşumu üzerine etkisi Swiss albino farelerde incelenmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kurkuminle tedavi edilen grupta daha düşük oranda papillomalar gözlenmiştir. Kurkumin tedavisi uygulanan artan ras-p21 ve fos-p62 gen ekspresyonları doza bağımlı olarak düşmüştür (86).

Hindistan'da bağırsak kanseri oranının düşük olması mutfakta *C. longa*'nın çok kullanılmasına bağlanmaktadır (87). Kurkuminoitlerin MCF-7 hücre çoğalması üzerine etkileri karşılaştırıldığında önemli farklılıklar olduğu gözlenmiştir (88). Kolon tümörlerinde başlangıç periyodu boyunca ve bu periyot sonrasında kurkumin uygulanması önemli oranda inhibisyona neden olmuştur. Ek olarak, noninvazif kolon adenokarsinomasında tetiklenme/ilerleme safhası boyunca diyetle sentetik kurkumin uygulanması da çoğalmayı baskılamış ve inhibe etmiştir (89). Kurkumin ayrıca farelerde, memeli tümör uyarıcı aktiviteli DMBA'yı (90) ve DMBA-DNA (91-93) oluşumunu inhibe edici aktivite göstermiştir. Başka bir yaklaşımda kurkuminin C57BL/6J-Min/+ (Min/+) 15 haftalık farelerde Adenomatöz polipozis koli (APC) geninde mutasyonla oluşan bağırsak tümörlerinden koruyucu etkisi ölçülmüştür (94). Bu çalışma daha sonra karsinojen 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b] piridin (PhIP) diyetle beslenen APC (min) farelerde kurkuminin apoptoz ve tümöröjeniz üzerine etkisi hakkında yapılan çalışmayla doğrulanmıştır (95). Kurkuminin sıçanlarda radyasyon indüklü DNA hasarını azalttığı ve antimutajenik aktivite potansiyeli gösterdiği görülmüştür (96,97). P53 hücreleriyle yapılan çalışmalarda kurkumin-indüklü apoptoza bu hücrelerin de katıldığı gösterilmiştir (98). *Apc*^{Min/+} (94,99) farelerde APC geninde mutasyonla oluşan, insanlarda da benzer şekilde familial adenomatöz polipozis (FAP) bağırsak adenomlarına neden olabilen genetik bir durumdur ve kolon kanserleri için büyük risk oluşturur. Oral kurkumin uygulanması *Apc*^{Min/+} farelerde bağırsak adenomlarının gelişmesini inhibe edici etki göstermiştir. Azometan indüklü kolon kanserinde, azometan kolonik COX-2'yi etkilemezken, COX-1 ekspresyonunu inhibe etmiştir (100). Diyetle kurkumin

tedavisinin COX-2 ekspresyonunu artırarak azometan-indüklü COX-1 artışını kompanse edebileceği düşünülmüştür (101-103).

Kurkuminin kanserli hücre kültürlerinde apoptozu farklı mekanizmalarla indüklemesi ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve bazı kanserlere karşı koruyucu etki gösterdiği gözlenmiştir (104). Kurkumin tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), IL- β gibi proenflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltır. Ayrıca proenflamatuvar mediatörleri ve koruyucu antioksidan genleri düzenleyen protein 1'i (AP-1) aktive eder ve transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör- κ B (NF- κ B)'yi inhibe eder (105,106). AP-1'in baskılanması kurkuminin hem AP-1 ile direkt etkileşimi ile onun DNA sarmalına bağlanması ile olur (107) hem de AP-1'in c-jun ve c-fos bileşenlerini inhibe etmesiyle olur (108,109). Ayrıca sitokrom P450 ve siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi pek çok enzimi de baskıladığı bildirilmiştir (110). Kurkumin tedavisi DU145 hücrelerinde NF κ B, AP-1 aktivasyonunu baskılar ve endojen bcl-2 ve baxxL oranlarını azaltarak düzenler (111). Kurkuminin TNF-İlgili apoptoz indüklü ligantla (TRAIL) kombinasyonu insan prostat karsinoma (LNCaP) hücre ölümlerini artırmıştır (112). Kurkuminin sitozolik fosfolipazın [cPLA(2)] fosforilasyonunu bloke ederek ve COX-2 ekspresyonunu düşürerek araşidonik asit metabolizmasını etkilediği öne sürülmüştür. Ayrıca, 5-Lipooksijenazın (LOX) katalitik etkisini de inhibe etmiştir (113). Bu aktiviteler kurkumin ve analoglarının antienflamatuvar ve antikarsinojenik etkilerine katkıda bulunabilir. Farelerde yapılan çalışmalarda kurkuminin kemopreventif etki mekanizmasının, antioksidan ve faz II enzim aktivitesiyle ilişkili olduğunu desteklemektedir (114).

Hayvan modellerinde oral olarak kurkumin uygulanmasının kimyasal olarak indüklenen ağız (115,116), mide (101,117), karaciğer (118) ve kolon (89,102,119) kanserlerinde inhibe edici etki gösterdiği gözlenmiştir. Kurkuminin anti-karsinojenik ve kemopreventif etkisinin moleküler temeli için transkripsiyon faktörleri, büyüme düzenleyicileri, adezyon molekülleri, apoptotik genler, anjiyogenez düzenleyicileri, hücrel sinyal molekülleri gibi çeşitli hedefleri de içeren etkiler atfedilmiştir (81). Apoptozu da içeren anahtar düzenleyici rolü, kaspaz, Bcl-2 ailesi, TNF reseptör ailesi ve diğer adapte proteinleri içerir (120).

Kurkuminin günlük 100 mg/kg dozda uygulanmasının farelerde N-nitrozodietilamin ile (DENA) başlatılan ve fenobarbital indüklü hepatokarsinogenez

üzerindeki etkisi incelenmiştir (121). Bu çalışmanın devamında 100 mg/kg günlük kurkumin alınmasının hepatik glutasyonun antioksidan aktivitesinin azalmasından koruduğu, lipid peroksidasyonunu düşürdüğü ve DENA/PB tarafından oluşan histolojik değişiklikleri minimuma indirdiği gözlenmiştir (122). Kurkuminin kemirgenlerde, N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin (MNNG)-indüklü mide kanserinin gelişmesini inhibe edebileceği gösterilmiştir (117). Bu etkisi *Helicobacter pylori*'nin çoğalmasını baskılamasından kaynaklanıyor olabilir (123). İn vivo bir çalışmada farelere hepatoselüler karsinoma hücreleri yerleştirilmiş ve kurkuminin tümör anjiyogenezi ve COX-2, VEGF gibi biyobelirteçler üzerindeki aktivitesi ölçülmüştür (124). Bir grup üzerinde ardışık 6 gün boyunca kurkumin uygulanması sonucunda hepatoma hücrelerinde tümör büyümesi önemli ölçüde inhibe olmuştur (125).

Kurkuminin baş ve boyun karsinomasının büyümesini baskıladığı (126), kemirgenlerde prostat kanserinin büyümesini azalttığı (127) ve farelerde pankreatik kanserlerin büyümesini anjiyogenezi baskılayarak ve apoptozu indükleyerek inhibe ettiği gösterilmiştir (128). İntrakardiyak kurkumin uygulanması ile birçok karaciğer metastazında azalma gözlenmiştir bu nedenle diyetle alınan kurkuminin metastazdan koruyucu etkisi olduğu görülmüştür (129,130).

Kurkumin ve gempitabinin kombine uygulanması ile farelerde pankreatik kanser büyümesinin NF- κ B'nin düzenlediği gen ekspresyonu, hücre çoğalmasını ve anjiyogenezi inhibe ederek azalttığı gösterilmiştir (17). Kurkumin ve doksitaksel kombinasyonu yumurtalık kanserlerinde etkili bulunmuştur (131). Kurkumin kemirgenlerde glioblastomanın büyümesini baskılamıştır (132). Kurkumin okzaliplatin ile uygulandığında kolon kanserinde etkili bulunmuştur (133).

Kurkumin ayrıca prostat kanserinde, MDM2 onkogeninin ekspresyonunu azaltarak hücrelerin kemoteropatlere ve radyasyona duyarlılığını artırır (133). İnsan prostat kanserli hücrelerine maruz bırakılan fareler kurkuminle tedavi edilmiştir. Kurkuminle tedavi edilen hayvan modellerinde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; mikrodamar yoğunluğunda ve hücre çoğalmasında azalma, apoptozda artma gözlenmiştir (134,135). Androjen bağımlı prostat kanser tedavisinde apoptoz altında androjen alınması, Bcl-2 ekspresyonu ve kaspazlara karşı oluşan cevap prostat kanser hücrelerinin duyarlılığına bağlıdır. Kurkuminin prostat

kanser hücrelerini de içeren çeşitli hücrelerde apoptozu indüklediği gösterilmiştir (127). Melanoma hücrelerinin apoptozu Fas-reseptör/kaspaz-8 yolağından oluşturulurken P53'ten bağımsızdır (136). Kurkumin T hücre çoğalması yolağıyla siklosporin A-dirençli forbol miristat asetat+anti-CD28'i bloke etmektedir ve bu nedenle kanser tedavisinde immünsüpresif ajan olarak kullanılabilir (137). Yapılan bir çalışmada kurkuminin ve kolavironun (*Garcinia kola* tohumlarından elde edilen bioflavonoit) sıçanlarda di-n-bütiflalat (DBP)-indüklü testis hasarında iyileştirici etkisi araştırılmıştır. Sıçanlarda glutatyon (GSH) seviyesi, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesi ve düşmüş testosteron seviyesi önemli oranda artmıştır. Yükselen malonaldehit (MDA) seviyesi düşmüştür (138,139).

Kurkuminin göğüs kanseri hücre kültüründe *in vitro* olarak fibroblast büyüme faktörü (FGF)'nün ekspresyonunu, angienez faktörlerini, vasküler endotel büyüme faktörlerini (VEGF) ve temel fibroblast büyüme faktörlerini (b-FGF) inhibe ederek tümör büyümesini azalttığı gözlenmiştir (140). Kurkumin epitelyum hücre karsinoma modelinde etkili bulunmuştur. Kimyasal yolla indüklenen tümörlerde % 50 oranında azalma görülmüştür (116).

Hayvan çalışmalarının sonuçları özellikle kolorektal kanser açısından, umut verici olmasına rağmen, kurkumin veya *Curcuma longa*'nın yüksek dozda alımının insanlarda azalmış kanser riski ile ilişkili olduğuyla ilgili şu anda çok az kanıt vardır.

Taiwan'da ağızda kanseri öncesi lezyonlara sahip (oral lökoplaklar), serviks, deri ya da mide kanserli hastalarda yapılan faz 1 klinik denemesinde, 3 ay boyunca 8 g/gün'e kadar kurkumin desteği uygulanmıştır. Oral lökoplaklı 7 hastadan 2 tanesinde, servikal intraepitelyal neoplazili 4 hastadan 1 tanesinde, deride pullu karsinomalı 6 hastadan 2 tanesinde ve bağırsak metaplazili (141) 6 hastadan 1 tanesinde alınan biyopsilerde histolojik iyileşmeler gözlenmiştir. Ancak tedavi bitiminde oral lökoplaklı 7 hastadan 1 tanesinde ve servikal intraepitelyal neoplazili 4 hastadan 1 tanesinde kanser gelişmiştir. Bu çalışma, ağırlıklı olarak oral kurkumin biyoyararlanımını ve güvenilirliğini incelemek için tasarlanmıştır ve sonuçların yorumlanması karşılaştırma için bir kontrol grubunun olmaması ile sınırlıdır. Hayvan çalışmalarında umut verici bulgular sonucunda, bu tür adenomlar gibi prekanseröz kolorektal lezyonlarda, oral kurkumin takviyesinin etkisini değerlendirmek amacıyla insanlarda birçok kontrollü klinik çalışmalar tasarlanmıştır ve sürmektedir (142).

2.3.3. Antienflamatuvar Aktivite

Curcuma longa L. rizomlarının antienflamatuvar etkisi hayvan modellerinde gösterilmiştir. Drog, sıçanlarda yapılan intraperitoneal uygulamalarda karregenin ile oluşturulan pençe ödeminde, kotton-pellet gronülom testi ve gronülom kese testinde akut ve kronik enflamasyonu azaltmıştır (143). Kurkumin ve türevleri droğun antienflamatuvar etki gösteren aktif bileşenleridir (144,145).

Droğun etkinliğinin, sıçanlarda deneysel olarak indüklenen enflamasyonda hidrokortizon asetat ya da indometazine benzer olduğu bildirilmiştir (143,146). Uçucu yağı sıçanlarda, adjuvan indüklü artritte, karregenin indüklü pençe ödeminde ve hyalüronidaz-indüklü enflamasyonlarda antienflamatuvar aktivite göstermiştir (143). Droğun antienflamatuvar aktivitesini tripsin ve hyalüronidaz enzimlerini inhibe ederek gösterdiği düşünülmektedir.

Oral olarak uygulanan turmerik suyu ya da tozunun antienflamatuvar etki göstermediği, yalnızca intraperitoneal uygulamada bu aktiviteyi gösterdiği gözlenmiştir. Buna ilaveten, drogtan izole edilen polisakkarit fraksiyonunun farelerde intraperitoneal uygulaması, kolloidal karbon testinde fagositik kapasiteyi artırabileceği gözlenmiştir Kurkuminin antienflamatuvar etkisinin, enflamasyon sürecinde rol oynayan oksijen radikallerini süpürücü etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (1).

Sıçanlarda ve farelerde karregenin-indüklü ödem testinde, kurkumin ve sodyum kurkuminatın intraperitoneal uygulamasından sonra güçlü antienflamatuvar aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca kurkumin, oral uygulamada da akut karregenin-indüklü ödem testinde etkili bulunmuştur (5).

Yapılan *in vitro* çalışmalarda kurkuminin sıçan peritoneal nötrofillerinde 5-lipooksijenaz aktiviteyi inhibe ettiği ve bunun yanı sıra insan kanından elde edilen plateletlerde 12-lipooksijenaz ve siklooksijenaz aktiviteleri de inhibe ettiği görülmüştür. Serbest hücre kültürlerinde kurkuminin güçlü antioksidan aktivite gösterdiği gözlenmiştir ve dioksijenaz etkisinin de bu nedenle olabileceği düşünülmektedir (147).

Kronik ve akut enflamasyonda TNF- α ve IL-1 önemli rol oynamaktadır. *In vitro* olarak 5 μ M konsantrasyonda kurkumin uygulanmasının, insan monositik makrofaj hücrelerinde lipopolisakkarit-indüklü TNF- α ve IL-1 üretimini inhibe ettiği

gözlenmiştir. Aynı konsantrasyonda LPS-indüklü NF- κ B aktivasyonunu da inhibe ettiği ve L929 fibroblast litik testinde TNF'nin biyolojik aktivitesini azalttığı gözlenmiştir (1).

Kurkuminin fare makrofajlarındaki lipopolisakkaritle indülenen interlökin-12 üzerine etkisi incelenmiş ve doza bağımlı olarak kurkuminin IL-12 üretimini inhibe ettiği gözlenmiştir. Bu sonuçlar kurkuminin biyolojik etkilerinden olan antienflamatuvar aktiviteyi makrofajlardaki IL-12 üretimini inhibe ederek gösterebileceğini desteklemektedir (148).

C. longa rizomlarından etken maddeler antienflamatuvar aktivitelerini incelemek için izole edilmiştir. HL-60 hücreleri ayrılmış ve 24 saat boyunca *Escherichia coli* (1 μ g/mL)'deki lipopolisakkarite, etken maddeler varlığında ve yokluğunda maruz bırakılmıştır. Toplanan süpernatatlar standart Elisa testi kullanılarak TNF- α ve PG E2 üretimi yönünden analiz edilmiştir. Suda çözünen ekstraktlar toksik değildir ve biyolojik aktivite göstermemiştir. Turmerik'ten elde edilen organik ekstraktlar ise, 50 μ g/mL'nin üzerinde sitotoksik bulunmuştur. Ham organik ekstraktlar LPS indüklü TNF- α (IC50 değeri = 15,2 μ g/mL) ve PGE2 (IC50 değeri = 0.92 μ g/mL) üretimini inhibe etmiştir. Saflaştırılmış kurkumin diğer kurkuminoitlerden daha aktif bulunmuştur. Turmerik ekstresinin fraksiyonları ve alt fraksiyonları preparatif HPLC ile toplanmıştır ve biyolojik aktiviteleri yönünden değerlendirilmiştir ve IC50 değeri 1 μ g/mL'de aktivite gözlenmemiştir. Bazı antienflamatuvar aktivite gösteren alt fraksiyonların etkileşim halinde buldukları üst fraksiyonlarda aktivite kaybı olduğu gözlenmiştir. Fraksiyonlardan turmerik uçucu yağı içerenlerin PGE2'yi inhibe etmekte kurkuminoitlerden daha etkili olduğu gözlenmiştir. Kurkumin COX-2 ekspresyonunu inhibe ederken turmerik uçucu yağı COX-2 mRNA seviyesi üzerinde etki göstermemiştir (149).

Kurkumin siklooksijenaz, lipooksijenaz ve fosfolipaz A2 gibi enzimleri inhibe eden doğal antioksidan ve antienflamatuvar bir ajandır. Bu çalışmada enflamasyonda önemli rol oynayan ve periferik mononükleer hücreler (PBMCs) tarafından oluşturulan matriks metalloproteinazlar (MMPs) üzerinde kurkuminin etkisi incelenmiştir. Zigomorfik analiz ve ELİSA testi sonuçlarına göre kurkumin mononükleer hücreler (PBMCs) tarafından oluşturulan matriks metalloproteinazların (MMPs) aktivitesini ve seviyelerini doza bağımlı olarak inhibe etmiştir. İn vitro

olarak aktive edilen PBMCs ve kurkumin ile tedavi sonucunda NF κ B aktivasyonu inhibe edilmiştir. Sonuçlar göstermiştir ki kurkuminin antienflamatuvar etkinliği, PBMCs'lerdeki MMP-9 üretiminin inhibisyonunu da kapsamaktadır (150).

Yüksek basınç ve hızda homojenize edilerek hazırlanan emülsiyonlarla kurkumin kapsülü hazırlanmıştır. Kurkumin kapsülün antienflamatuvar aktivitesi farelerde-kulak enflamasyon modelinde incelenmiştir. Kurkuminin % 1 emülsiyonunda, TPA- ile oluşturulan fare kulağındaki ödem modelinde 618,6 nm ve 79,5 nm'de % 43 ya da % 85 inhibisyon gözlenmiştir (151).

Kurkumin yüksek konsantrasyonlarda (>2 μ M), nitrik oksit (NO) üretimini ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunu inhibe etmektedir. Düşük konsantrasyonlarda ise makrofajlarda hem oksijenaz (HO)-1'in ekspresyonunu indüklemektedir. Bu çalışmada kurkuminin 6 saat tedavi öncesinde uygulanmasıyla, lipopolisakkarit indüklü RAW264.7 makrofajlarda düşük konsantrasyonlarda da (0,5-2 μ M) nitrik oksit üretimini ve iNOS ekspresyonunu inhibe edebileceği gösterilmiştir. Kurkumin doza ve zamana bağımlı olarak hem oksijenaz (HO)-1'in ekspresyonunu indükleyerek nitrik oksit üretimini ve iNOS ekspresyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir. Hem oksijenaz ekspresyonunun engellenmesi ile kurkuminin inhibitör etkisi ortadan kalkmıştır. LPS-indüklü NF- κ B uzun süreli düşük doz kurkumin uygulanması ile azalmıştır (152).

Bisdemetoksikurkumin ile tedavi lipopolisakkarit indüklü RAW264.7 makrofajlarda nitrik oksit üretimini ve iNOS ekspresyonunu baskılamıştır. Hem oksijenaz ekspresyonunun engellenmesi ile bisdemetoksikurkuminin inhibitör etkisi ortadan kalkmıştır. Bu sonuçlar kurkumin gibi bisdemetoksikurkumininde antienflamatuvar etki mekanizmasında Hem oksijenaz ekspresyonunun etkili olduğunu göstermiştir (153).

2.3.4. Nörodejeneratif Hastalıklarda Etki

β -Amiloid indüklü oksidatif stres Alzheimer'daki nöronal hücre ölümünün nedenlerinden biridir. *C. longa*'dan izole edilen kurkuminoidlerin, 3-[4,5 dimetiliazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium bromür redüksiyon testine göre, sıçanlardaki feokromositom PC12 hücreleri ve insan umbilikal ven endotel hücrelerini (HUVEC), β -A (1-42)'e karşı koruduğu bulunmuştur. Kurkumin, demetoksikurkumin ve bisdemetoksikurkuminin PC12 ve HUVEC hücreleri için ED

50 değerleri sırasıyla 7.1 ± 0.3 , 4.7 ± 0.1 , 3.5 ± 0.2 $\mu\text{g/mL}$ ve 6.8 ± 0.4 , 4.2 ± 0.3 ve 3.0 ± 0.3 $\mu\text{g/mL}$ bulunmuştur. Bu maddeler DPPH testine göre α -tokoferolden daha fazla antioksidan aktivite göstermiştir. Alfa-tokoferol 50 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda bile β -A (1-42)'e karşı koruma sağlamamıştır. Sonuçlar kurkuminoitlerin antioksidan etkileri nedeniyle, β -A (1-42)'den hücreleri koruduklarını desteklemektedir (154).

Alzheimer hastalarında enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu artmıştır ve mikroglia hücreleri aktive olmuştur. Kurkuminin Alzheimer hastalığındaki etkisi farelerde enflamasyon, oksidatif hasar ve plak oluşumu üzerinde incelenmiştir. Kurkumin Alzheimer hastalığı olan farelerde beyinde artmış olan okside protein ve IL-1 seviyelerini önemli ölçüde düşürmüştür. İlginç bir şekilde sadece düşük doz kurkumin, glial asidik proteini azaltmış, çözünmeyen Abeta, çözünebilen Abeta ve plak oluşumunu düşürmüştür (% 43-50). Ancak amiloid prekürsör protein seviyeleri azalmamıştır. Nöronal membranlarda mikrogliozis baskılanmıştır ancak plak yakınlarında bu etki olmamıştır (155).

Yapılan birçok çalışma serbest radikallerin Alzheimer hastalığında nörodejenerasyona neden olduğunu göstermektedir. PC12 hücrelerinde süperoksit anyonu (O_2^-) ortaya çıkarmaya yarayan pirogallol ile indüklenen sistemde, hücre ölümleri ve yükselmiş hücre içi süperoksit duyarlı floresans özellikli hidroetidin ile spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. *C. longa*'nın sulu ekstresi (CLE) O_2^- süpürücü etkisiyle, PC12 hücrelerini pirogallol indüklü hücre ölümünden kurtarmıştır. Ayrıca CLE tarafından hipoksi/reoksijenasyon hasarı da bloke edilmiştir. Bu çalışma ayrıca CLE etkisini incelemek amacıyla, H_2O_2 ile indüklenen sıçan feokromositoma PC12 hücrelerinde; hücre lezyonları, peroksidasyon düzeyi ve enzim aktivasyonu ölçülerek yapılmıştır. H_2O_2 ' e (150 AM) 30 dakika maruz kalma sonucunda, hücre hayatiyetinin sürdürülmesinde, glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivitesinde azalma ve malonildialdehit üretiminde artma gözlenmiştir. Hidrojen peroksite maruz kalma öncesinde CLE (0,5-10 $\mu\text{g/mL}$) ile ön tedavi sonucu, hücre canlılığında, antioksidan enzimlerde önemli ölçüde artış, MDA seviyelerinde de düşüş gözlenmiştir. Yukarıda sözü edilen nöroprotektif etkisi takrin ile de ölçülmüş, kolinesteraz inhibitör etkinin Alzheimer hastalığında klinik etkinliği artırmaya yardımcı olabileceği öne sürülmüştür. Bu radikal süpürücü ajanların koruyucu

etkilerinin mekanizmasının altının çizilmesi hipoksi/iskemi kaynaklı beyin hasarlarında da tedavi için yeni bir alan oluşturabilir (156).

Kurkuminin *in vitro* olarak fAbeta(1–40) ve fAbeta(1–42) oluşumu, genişlemesi ve stabilizasyonu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Kurkumin fAbeta (1–40)'dan Abeta (1–40) ve Abeta (1–42) oluşumunu ve genişlemesini inhibe etmiştir. Ayrıca fAbeta stabilizasyonunu bozmuştur (157).

Alzheimer hastalığı (AH) olan hayvan modellerinde, kurkumin amiloid ve okside protein seviyelerini düşürerek bilişsel bozukluklardan korumuştur. AH beyin hücrelerinde metaller Abeta oluşumunu indükleyebilmektedir ve beyinde konsantrasyonun toksisiteye neden olabilmektedir. Metallerle şelasyon Abeta birikmesi ve oksidatif nörotoksisiteyi azaltabilir. Cu^{+2} ve Fe^{+2} iyonları kurkumin ve analoglarıyla bağlanabilmektedir. Bu da kurkuminin AH'daki etki mekanizmasını açıklamaya bir örnek teşkil etmektedir. Çünkü kurkuminin metallerle bağlanması sadece Abeta toksisitesinden korumaz aynı zamanda metallerle indüklenen NF- κ B'nin oluşturacağı enflamasyon hasarından da korur (158).

Kurkumin oksidatif hasarı, enflamasyonu ve amiloid akümülyasyonunu baskılayabilmektedir. Kurkuminin toplanmış ya da toplanmamış fAbeta40'ı inhibe edebileceği gösterilmiştir. Bu uygulamada kurkumin, ibuprofen ya da naproksenden daha iyi bir Abeta 40 inhibitörü olarak bulunmuştur. Kurkumin Abeta oluşumunu inhibe etmiştir. Amiloid plakları işaretlenen, AH ve Tg 2576 fare beyin kısımları kurkumin ile inkübe edilmiştir. *In vitro* çalışmalarda kurkumin enjeksiyonunda, kan beyin engelini aştığı gözlenmiştir. Kurkumin farelerde amiloid seviyelerinde ve plaklarda azalmalara neden olmuştur. Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalara göre kurkuminin küçük Beta-amiloidlere doğrudan bağlandığını, agregasyonu ve fibril oluşumunu engellediğini göstermiştir (159). Alzheimer hastalığının patolojisinde önemli rol oynayan peroksidazlarla beta-amiloid peptit bağlanmasını kurkumin inhibe etmiştir (160).

Alzheimer'lı hastalar Abeta plaklarının makrofajlar tarafından fagosite edilmesi yönünden hasara sahiptirler. Kurkuminin Alzheimer'lı hastalarda Abeta plakların alımını artırdığı gözlenmiştir. Ayrıca, kurkumin Abeta plakların fagositozunu artırmıştır (161). Başka bir çalışmada kurkuminin işaretli amiloid plaklarda *in vivo* olarak var olan plakları bozduğu gözlenmiştir. Farelerde yapılan

uygulamada, kurkuminin kan beyin engelini aştığı gözlenmiştir. Yedi gün boyunca kurkuminin sistemik tedavisi sonucunda, var olan plaklar azalmıştır. Kurkumin agregasyonu bozucu bir ajan gibi etki göstermiştir (162).

Alzheimer'lı hastalarda 6 aylık randomize, plasebo kontrollü, çift körlü klinik bir çalışma yapılmıştır. 34 kişi başlamıştır ve 27 tanesi tedaviyi tamamlamıştır (8 kişi 0 g, 9 kişi 1 g, 11 kişi 4 g/gün kurkumin). Serum kurkumin seviyeleri yemeklerle verildikten 1,5 saat sonra maksimum 250 nM seviyesinde olurken, suyla verildikten 4 saat sonra maksimum 270 nM seviyesinde olmuştur. 1 veya 4 g alan gruplar arasında farklılık ölçülmemiştir. 6 aylık deneme sonucunda plasebo grubuyla karşılaştırıldığında, bilişsel kayıpların olmaması fark olarak gösterilebilir. Plasebo grubuyla karşılaştırıldığında kurkumin alan grupta serum vitamin E ve Aβ40 seviyeleri yükselmiştir (163).

Parkinson hastalarında beyindeki dopaminerjik nöronlar oksidatif streten dolayı yıpranır. Bu hastalarda en önemli biyokimyasal neden tiyol antioksidan olan glutasyon (GSH) azalması ile nöronlarda oksidatif stres, mitokondrial disfonksiyon ve hücre ölümlerinin gerçekleşmesidir. Daha önceki çalışmalarda doğal antioksidan olan turmerik'in *in vitro* ve *in vivo* olarak peroksi-nitrit kaynaklı mitokondrial disfonksiyonda koruyucu etkisi gösterilmiştir. Bu çalışmada dopaminerjik nöronların kurkumin ile tedavisi sonucunda GSH seviye azalmasının düzeltilmesi, protein oksidasyonuna karşı koruma ve GSH kaybıyla bozulan mitokondrial kompleks-1 aktivitesinin korunması gözlenmiştir. Sonuçlardan yola çıkarak kurkuminin GSH azalması kaynaklı oksidatif stresi de içeren nörodejeneratif hastalıklarda potansiyel teröpatik bir değer olduğu öne sürülebilir (164).

Antioksidan etkili kurkuminin haloperidol-indüklü tardif diskinezi üzerindeki etkisi farklı davranışsal (diskinezik hareketler, lökomotor aktiviteler), biyokimyasal (lipit peroksidasyonu azalmış glutasyon seviyeleri, antioksidan enzim seviyeleri), nörokimyasal (nörotransmitter madde seviyeleri) parametreler yönünden değerlendirilmiştir. Haloperidol'ün kronik uygulanması (1 mg/kg i.p. 21 gün) ile anlamsız çiğneme hareketleri, dildeki dolanmalar, yüz çekilmeleri önemli oranda artmış ve bunlar doza bağımlı olarak kurkumin tarafından inhibe edilmiştir. Kurkumin ön tedavisi birçok davranışsal bozukluğu geri çevirmiştir. Striatumu içeren beyin ön bölgesinde haloperidol indüklü oksidatif hasar kurkumin tarafından

iyileştirilmiştir. Yine haloperidolün kronik uygulanması sonucunda dopamin, serotonin ve norepinefrin devrinde oluşan düşüşler, kurkumin tarafından doza bağımlı olarak geri çevrilmiştir. Nöroleptik-indüklü tardif diskinezide kurkumin hiperkinetik hareketlerin tedavisinde teröpatik ajan olarak kullanılabilir (165).

Kurkuminin 6-hidroksidopamin-indüklü nöronal hücre ölümlerine karşı koruyucu etkisi araştırılmıştır. 6-hidroksidopamin önemli ölçüde MES23.5 hücrelerinin canlılığını azaltmıştır. Kurkumin, mitokondrial membran potansiyelini düzelterek, Cu-Zn süperoksit dizmutaz seviyelerini artırarak ve hücre içi artan reaktif oksijen türevlerini baskılayarak 6-hidroksidopamin nörotoksitesinden hücreleri korumuştur. Kurkuminle ön tedavi 6-hidroksidopamin indüklü NF- κ B translokasyonunu önemli ölçüde inhibe etmektedir. Kurkuminin nöroprotektif etkisi antioksidan özelliklerinden ve NF- κ B translokasyonunu düzenlemesinden kaynaklanmaktadır (166).

Kurkuminin bilişsel bozukluklar ve oksidatif hasar üzerine modüle etkisi intraserebroventriküler-streptozotozin (ICV-STZ) infüze edilen sıçanlarda incelenmiştir. Üç hafta boyunca sıçanlara bir gruba çift taraflı olarak ICV-STZ (3 mg/kg) uygulanırken diğer gruba bunun yanında takviye olarak kurkumin (80 mg/kg) verilmiştir. ICV-STZ infüzyonundan 2 hafta sonra sıçanlar pasif kaçınma ve su labirentinde hareketlenme gibi bilişsel performansları yönünden değerlendirilmiştir. Daha sonra biyokimyasal ve histopatolojik yönden incelenmek amacıyla kullanılmışlardır. ICV-STZ uygulaması sıçanlarda bilişsel hasarlara yol açarken bu hasar kurkumin tarafından iyileştirilmiştir. Kurkumin takviyesinin önemli ölçüde 4-hidroksinonenal (4-HNE) ve malonaldehit (MDA) seviyelerini arttırdığı ve tiyobarbitürik reaktif maddeler (TBARS), hidrojen peroksit (H_2O_2), protein karbonil (PC), okside glutatyon (GSSG) ve redükte glutatyon (GSH) seviyelerini düşürdüğü gözlenmiştir. Ayrıca sıçanlarda hipokampus ve serebral korteks içinde bağlı enzimlerin (glutatyon peroksidaz [GPx] ve glutatyon redüktaz [GR]), kolinasetiltransferaz (ChAT) aktivitesini artırdığı gözlenmiştir. Bu çalışma sonucunda kurkuminin bilişsel hasarı önlemede etkili olduğu ve bu nedenle Alzheimer tedavisinde yararlı olabileceği öne sürülmüştür (29).

Son yıllarda alüminyumun Alzheimer hastalığı (AH) ile ilişkili olduğu öne sürülmektedir. İn vivo çalışmalarda uzun süreli alüminyuma maruz kalma sonucunda

oksidatif stresin indüklendiği ve β -Amiloid seviyelerinin yükseldiği görülmektedir. Alzheimer hastalığında (AH) şu andaki tedavi yöntemleri sadece semptomlarda iyileşmeler sağlamaktadır bu nedenle daha az yan etkili yeni ilaçların gelişmesine ihtiyaç vardır. Bu çalışma, sıçanlarda alüminyum indüklü bilişsel işlev bozukluğu ve oksidatif stres üzerine kurkuminin kronik uygulama sonucu koruyucu etkisini göstermek amacıyla yapılmıştır. Sıçanlara altı hafta boyunca günlük olarak alüminyum klorür (100 mg/kg, p.o.) ve eş zamanlı olarak altı hafta boyunca günlük (30 ve 60 mg/kg, p.o.) kurkumin uygulanmıştır. 21. ve 42. günde hafıza ve hareket üzerine davranışsal değerlendirmeler yapılmıştır. 43. günde son davranışsal testler ve oksidatif hasarı görmek için biyokimyasal testler yapıldıktan sonra sıçanlar ayrıştırılmıştır. Kronik alüminyum uygulaması zayıf hafıza ve oksidatif hasara yol açmıştır. Ayrıca sıçanlarda önemli ölçüde alüminyum konsantrasyonunun ve asetilkolinesteraz aktivitesinin artmasına neden olmuştur. Kronik kurkumin uygulaması ise önemli ölçüde hafızadaki tutuklukları geliştirmiş, ayrıca oksidatif hasar, asetilkolinesteraz aktivitesi ve alüminyum konsantrasyonunu azaltmıştır. Kurkuminin alüminyum indüklü bilişsel bozukluklarda ve oksidatif hasarda koruyucu etkisinin olduğu gözlenmiştir (167).

Kurkuminoitlerin asetilkolin esteraz inhibe edici ve hafıza artırıcı etkiye sahip olup olmadıklarını görmek için bir çalışma yapılmıştır. Sıçanlarda *in vitro* ve *ex vivo* modellerde, Morris su labirenti testi ile kurkuminoitlerin hafıza üzerine etkileri araştırılmıştır. Kurkuminoitler *in vitro* çalışmada asetilkolin esterazı inhibe etmişlerdir, IC₅₀ değerleri; bisedemetoksikurkumin 19.67, demetoksikurkumin 16.84 ve kurkumin için 33.14 bulunmuştur. *Ex-vivo* çalışmalarda asetilkolin testinde kurkuminoitler, kurkumin hariç frontal korteks ve hipokamusta, doz-bağımlı (3–10 mg/kg) inhibisyon göstermiştir. Sabit dozda (10 mg/kg), hafıza üzerine etkileri incelendiğinde, bütün komponentler önemli ölçüde (p<0,001) etkili bulunmuş ve skopolamin-indüklü amnezide karşılaştırılabilir etki göstermiştir. Bu çalışmalar sonucunda kurkuminoitlerin kurkumin hariç, asetilkolin esteraz inhibe edici etki gösterdiği işaret edilmektedir. Kurkuminin hafıza güçlendirici etkisi eşit derecede iken, asetilkolin esteraz etkisi *in vitro* denemelerde nispeten zayıf ve *ex vivo* çalışmalarda etkisiz bulunmuştur. Bu da aditif etki mekanizmasını düşündürmektedir. Bu nedenle, Alzheimer hastalığında tedavi edici profilde

kurkuminoit karışımının, kurkumine göre daha etkili olabileceği düşünülmektedir (168).

Kurkumin (100, 200 ve 300 mg/kg oral) ön tedavisinin, pentilentetrazol-indüklü oksidatif hasar ve bilişsel bozukluklardaki etkisi incelenmiştir. Farelere her bir alternatif günde (48 ± 1 s) oksidatif yanma gerçekleşene kadar pentilentetrazol (30 mg/kg, i.p.) enjekte edilmiştir. Deneylerin sonunda sıçanlarda labirent ve pasif kaçınma testinde, beynin bütün bölgelerinde oksidatif stres parametreleri (malonildialdehit ve glutatyon) ölçülmüştür. Deneyde kurkumin doza bağımlı olarak anti-konvülsan etki göstermiştir. Pentilentetrazol enjeksiyonunun oluşturduğu etkileri kurkumin doza bağımlı olarak geri çevirmiştir. Sonuçlara göre kurkumin ön tedavisinin nöbetleri iyileştirdiği, Pentilentetrazol-indüklü oksidatif stresi ve bilişsel bozuklukları düzelttiği gözlenmiştir (169).

C. longa'nın standardize ekstresinin, tedavi öncesi uygulanması ile 24 aylık yaşlı erkek kobaylarda, öğrenme ve Morris su labirenti modeli üzerine etkisi incelenmiştir. Hayvanlara 2 ay boyunca kemirgen yemi olarak *C. longa* ekstresi oral yoldan 10 (Grup C10) ve 50 (Grup C50) mg/kg günlük dozda verilmiştir. Davranışsal denemelerin sonunda seçilen beyin bölgelerinde nörotransmitterlerin, metabolitlerinin ve aminoasitlerin konsantrasyonları ölçülmüştür. Denemelerde 4 gün boyunca tedavi edilen grupta kontrol grubuna göre gecikmeli kaçış önemli ölçüde düşmüştür. Denemelerde 5. günün sonunda C10 grubu kontrol grubuna göre hedef alana daha sıklıkla ulaşmış ancak daha fazla zaman harcamıştır. Gruplar arasında beyindeki monoaminler ve aminoasit seviyeleri arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Ön tedavi yapılan her iki grupta da denemelerde prefrontal lobdaki 5-Hidroksitriptamin (5-HT) seviyesindeki artış, hedef alandan geçme sayısı ile pozitif ilişkili bulunmuştur. Plazma kortikosteron seviyeleri her iki ön tedavi grubunda da kontrol grubuna göre daha düşüktür. Sonuçlar *C. longa* ekstresi ile tedavinin merkezi serotonerjik sistem aktivitesini düzenleyerek öğrenmeyi ve konumsal hafızayı artırdığını desteklemekte ve bunların strese karşı oluşan toleransla alakalı olabileceği düşünülmektedir. Kontrol grubuna kıyasla ekstrenin kullanıldığı hayvanlarda hippokamustaki glutamat seviyesi azalmıştır. Ekstrenin kullanımının hippokamustaki glutamat indüklü egzitoksisiteyi ve sonuç olarak nörodejenerasyonu etkileyebileceği düşünülmektedir (170).

Kurkuminin streptozotozin (STZ) indüklü demanslı farelerde; hafıza fonksiyonları, beyin insülin reseptörleri (IR), asetilkolinesteraz aktivitesi ve oksidatif stres üzerine etkileri incelenmiştir. Sıçanlara çift taraflı iki kez STZ (3 mg/kg, i.c.v.) enjekte edilmiştir ve kurkumin (200 mg/kg, p.o) tedavi öncesi ve sonrası iki program şeklinde uygulanmıştır. STZ (i.c.v.) enjeksiyonu sonrasında hafıza kayıpları, Morris labirent testinde gecikmeler, hipokampus ve serebral kortekste IR protein seviyeleri üzerinde önemli azalmalar gözlenmiştir. Kurkuminin tedavi öncesi ve sonrası uygulamalarında her iki bölgede de, hafıza kaybında ve IR protein seviyelerinde önemli ölçüde düzelmeler olmuştur. Buna ek olarak STZ (i.c.v.) hipokampus ve serebral kortekste artan asetilkolinesteraz aktivitesi kurkumin uygulanması ile normale dönmüştür. Oksidatif stresi gösteren yükselen MDA ve azalan GSH seviyesi de kurkumin tarafından düzeltilmiştir. Sonuçlar kurkuminin antikolinesteraz ve antioksidan aktivitesi yanında, STZ-indüklü demansta koruyucu etkisinin de olduğunu desteklemektedir (171).

2.3.5. Antidiyabetik Aktivite

Diyabet; beyin, böbrek, kalp, karaciğer ve diğer organları etkileyen hiperglisemik bir hastalıktır. İnflamasyon TİP II diyabetin oluşmasında çeşitli sitokinler ve transkripsiyon faktörleri (NF- κ B, NRF2, PPAR γ) rol oynar. İnsülin direnciyle hem TNF hem de NF- κ B ile ilişkilidir. Kurkumin diyabette kan glukoz seviyelerini baskılayabilir ve antioksidan pankreatik β -hücreleri ve artmış PPAR γ aktivasyonunu artırır (172).

Kurkuminin hipoglisemik etkisini nasıl gösterdiği yapılan birçok çalışmada incelenmiştir. Kurkuminin Tip 2 diyabetli farelerde PPAR- γ ligant bağlama aktivitesi ile kan glukoz seviyelerinin yükselmesini baskıladığı bulunmuştur (172,173). Artan oksidatif stres ve hiperglisemi diyabette hızlandırılmış ileri glukasyon ürünleri birikimi (AGEs) ve kollojen liflerinin çapraz bağlanmasına katkıda bulunmaktadır. Kurkumin uygulanması diyabette AGE-indüklü komplikasyonlara karşı koruma göstermiştir (174). STZ indüklü diyabetik sıçanlarda kurkuminin yara iyileşmesini hızlandırdığı gözlenmiştir. Diyabetik yaralarda hem oral hem topikal alınan kurkumin yara iyileşmesinde etki göstermiştir (175,176). Diğer bir çalışmada kurkuminin yüksek glukoz seviyelerine maruz kalan kırmızı kan hücrelerinde protein

glikozilasyonunu, lipit peroksidasyonunu ve oksijen radikallerinin üretimini inhibe ettiği görülmüştür (177).

Kurkuminin sıçanlarda streptozotosin indüklü diyabette hipolipidemik etki gösterdiği gözlenmiştir. Kolesterol seviyelerindeki düşüş özellikle LDL ve VLDL fraksiyonlarında olmuştur. Diyabetik sıçanlarda diyetle alınan kurkuminle, kan trigliserit ve fosfolipit seviyelerindeki önemli düşüşler gerçekleşmiştir. Diyetle alınan kurkuminin hipokolesterolemik etkisi incelendiğinde, hepatik kolesterol-7-hidroksilaz aktivitesinin kurkuminle beslenen diyabetik hayvanlarda daha yüksek olduğu bulunmuş ve bu hayvanlarda kolesterol katabolizmasının daha yüksek olduğu gözlenmiştir (178). Ayrıca diyabetle bağlantılı değişimlerde kurkuminin, *C. longa*'ya göre daha etkili olduğu bulunmuştur (179).

Kurkuminle beslenen sıçanlarda diyabetin metabolik durumunda gelişmeler gösterdiği gözlenmiştir. Streptozotosin indüklü diyabette kurkumin tedavisinin hipoglisemiye indükleyebileceği doğrulanmıştır. Kurkuminin bu durumu iyileştirmesinin mekanizması onun hipokolesteolemik etkisinden, antioksidan yapısından ve serbest radikal süpürücü etkisinden kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir (180,181).

Kardiyomiyopati kronik diyabet ile ilişkili bir komplikasyondur. STZ-indüklü diyabetik sıçanlarda kurkumin tedavisi ile kalpteki oksidatif DNA ve protein hasarının düzelmesi, eNOS ve iNOS seviyelerinin azalması ile gerçekleşmiştir (182).

Tedavisi en zor ağrılardan biri olarak tanımlanan diyabetik nöropatik ağrı, diyabette gözlenen önemli bir mikrovasküler komplikasyondur. Farelerde kurkumin diyabetik nöropatik ağrı modelinde hiperaljiyi azaltmıştır. Kurkumin ayrıca doz bağımlı olarak TNF- α ve NO salınımını inhibe etmiştir. Bu sonuçlar kurkuminin diyabetik nöropatik ağrıda TNF- α ve NO salıverilmesini inhibe etmesiyle anti-hiperaljik aktivitesine işaret etmektedir. Devam eden çalışmalarda, kurkuminin diyabetik nöropatik ağrıda insülin kombinasyonu ile uygulanması ile anti-hiperaljik aktivitesini TNF- α ve NO'e katılımı ile gerçekleştirdiği gösterilmiştir (183,184).

Kurkumin uygulanmasının, diyabet indüklü antioksidan kapasitenin düşmesinden ve 8-OH dehidrogenaz ve nitrotirozin yükselmesinden koruduğu bulunmuştur. Kurkumin ayrıca diyabet indüklü IL-1 β , VEGF ve NF- κ B seviyelerinin

artışını inhibe etmektedir. Kurkuminin etkileri hiperglisemi şiddetinde iyileşme olmadan gerçekleşmiştir (185).

Başka bir çalışmada kurkumin hiperglisemi-indüklü lens proteinlerinin toplanması ve çözünmezliğini inhibe ederek STZ-indüklü diyabetik kataraktın oluşumunda koruyucu etki göstermiştir (186,187). Kurkumin kan glukozunu, glukozil hemoglobin, dislipidemi ve MDA seviyelerini düşürmüştür. Diyabetik retinopatinin oluşumunda hiperglisemi kaynaklı yeniden damarlanmanın uyarılması ve VEGF'nin indüklenmesi etkilidir. Kurkuminin STZ-indüklü diyabetik sıçanlarda VEGF ekspresyonunu inhibe etme yeteneği çalışılmıştır. Diyabetik retina ile kontrol grubu retinası transkripsiyon ve protein seviyeleri yönünden karşılaştırıldığında kurkuminin VEGF ekspresyonunu azalttığı görülmüştür (188).

Sıçanlarda streptozotizin-nikotinamit-indüklü diyabette kurkuminin lipit profilini düzenlemesi incelenmiştir. Kurkumin sıçanlarda, kan glukoz seviyelerinde önemli oranda azalmalar, plazma insülin seviyelerinde önemli artışlar yapmıştır. Ayrıca serum ve karaciğer kolesterolü, trigliserit, serbest yağ asiti, fosfolipit, HMG Co-A, redüktaz aktivitesi, VLDL ve LDL kolesterol seviyelerinde önemli düşüşlere neden olmuştur. Serum HDL düzeylerindeki düşüşler de tedavi sonrasında normale dönmüştür (189,190). Ayrıca diyabetik sıçanlarda oral kurkuminin kan glukoz ve plazma glikoprotein seviyelerini düşürdüğü gözlenmiştir (190).

İki haftalık kurkumin tedavisi diyabetik hayvanlarda hem renal disfonksiyonların hem de oksidatif stresin azalmasına neden olmuştur. Kurkuminin ayrıca Tip 2 diyabetik sıçanlarda hepatik ve renal fonksiyon işaretlerini ve protein seviyelerini geliştirdiği bulunmuştur. Kurkumin diyabet indüklü total protein, albumin, globulin ve albumin/globulin oranları, hepatik ve renal işaretleri ve üre, ürik asit, kreatinin seviyelerini tersine çevirmiştir (191,192).

Hem kurkumin hem onun metaboliti tetrahidrokurkumin STZ-indüklü diyabetik sıçanlarda, oksidatif stresin modülasyonu, lipitlerin azalması ve lipit peroksidasyonunu ile kan glukoz seviyelerini düşürücü, plazma insülin seviyelerini artırıcı ve hepatik enzim seviyelerini düzenleyici etki göstermiştir (189,193). Kurkuminle tedavi edilen sıçanlarda plazma insülin ve doku sialik asit düzeyleri yükselmiştir, bu nedenle doku heksoz, heksozamin ve fukoz seviyeleri normale

dönmüştür. Sonuçlara göre tetrahidrokurkumin kurkuminden daha etkili bulunmuştur (191).

Kurkuminin direkt pankreatik beta-hücreleri üzerindeki uyarıcı etkisi ve böylece hipoglisemik aktiviteye neden olması incelenmiştir. Kurkuminin sıçan pankreatik beta hücrelerindeki anyon kanallarında yapılan çalışmalarda, elektriksel aktivitenin indüklenmesi ve kanal açılma olasılığını artırmasıyla etki gösterdiği bulunmuştur. Bu etkiye hücre membran potansiyelinin depolarizasyonu, elektriksel aktivite üretimi ve artmış insülin salıverilmesi eşlik eder. Anyon kanallarının aktivasyonu sonucunda beta-hücreleri hacmi azalmıştır, bundan dolayı CL (-) kaybı ve su kaybı gerçekleşmiştir. Bu bulgulara göre CL (-) tozları beta-hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır ve kurkuminin beta hücrelerinin aktivasyonu ile hipoglisemik aktivite göstermesinde bu madde grubunun katkısı olabilir. İlâveten kurkuminin hem oksijenaz-1 ekspresyonunu indükleyerek pankreatik beta hücrelerinde sitoprotektif etki gösterdiği bulunmuştur (194,195).

Diyabette pankreatik adacık hücrelerinin ölümü insülin üretiminde eksikliğine neden olur. Hiperglisemide hücre ölümünden korumak profilaktik öneme sahiptir. Kurkuminin STZ-indüklü adacık hücre ölümlerindeki etkisi *in vitro* olarak incelenmiştir. Kurkumin ROS üretimini geciktirmiştir ve apoptozu inhibe etmiştir. Kurkumin adacık hücrelerini STZ-indüklü oksidatif hasara karşı serbest radikal süpürücü etkisiyle korumaktadır (196,197).

İnsüline dirençli obezitede, kurkuminin iyileştirici etkisi üzerine bir çalışma yapılmıştır. Glukoz ve insülin tolerans testi ve hemoglobin A1c yüzdeleri ile yapılan tanımlamalarla kurkumin yüksek yağlı diyetle indüklenen obez ve leptin-eksik erkek C57BL/6J farelerde diyabeti iyileştirici etki göstermiştir. Kurkumin tedavisi beyaz yağ dokusunda makrofaj infiltrasyonunu yüksek oranda azaltmıştır, adipoz doku adiponektin üretimini artırmıştır ve hepatik NF- κ B aktitesini, hepatomegali ve hepatik enflamasyon işaretlerini azaltmıştır. Oral olarak alınan kurkumin, obeziteyle ilgili pek çok enflamatuvar ve metabolik düzenlemedeki bozuklukları tersine çevirmiş ve Tip 2 Diyabet Modeli'nde glisemik kontrolü geliştirmiştir (198).

Başka bir çalışmada, Tip 1 diyabetin gelişmesinden korunmada etkisi olan histon modifikasyonu üzerine kurkuminin etkisi incelenmiştir. Çekirdek seviyesinde kurkumin histon defosforilasyonundaki azalma ve asetilasyonundaki artmadan

korumuştur. Kurkumin tedavisindeki diyabetik nefropatiden korunma, histon modifikasyonundaki post-translasyonel değişiklikleri içerir (199).

Kurkumin NF- κ B ve AP-1 aracılı NOS değişikliklerinden ve oksidatif stresten korumaktadır. Kurkumine maruz kalma ile mikrovasküler endotel hücrelerinde ET-1 seviyeleri de yükselmiştir. Bu çalışmalar kurkuminin diyabetteki komplikasyonlarda, kalpteki vazoaktif faktörlerin ekspresyonu üzerine farklı etkisine ve doku mikro çevrelerindeki önemine dikkat çekmektedir. Diyabetik kardiyomiyopati yapısal olarak kardiyomiyosit hipertrofisi ve hatta kalp yetmezliği ile karakterizedir. Diyabet indüklü kardiyomiyosit hipertrofisinde p300 geni ve onun miyosit artırıcı faktör 2 (MEF2) ile etkileşimi önemli rol oynar. Kurkuminin p 300 blokörü olduğu ve bu anormalliklerden koruyabileceği görülmüştür (200).

Hiperglisemi, oksidatif stresin artmasına, vazoaktif faktörler ve hüre dışı matriks proteinlerin yükselmesine neden olmasıyla pek çok kronik diyabet komplikasyonunu tetikleyen bir faktördür. Bu çalışma kurkuminin, ekspresyonunda asetiltransferaz enziminin rol aldığı p300 genini ve NF- κ B'yi inhibe ederek diyabetik nefropatide koruyucu etki gösterebileceği düşünülerek yapılmıştır. Streptozinle indüklenen diyabetik fareler kurkuminle tedavi edilmiştir. Diyabet indüklü, oksidatif stres, p300 ve NF- κ B aktivitesi ile böbreklerde vazoaktif faktörlerin (eNOS, endotelin-1), büyüme faktörleri β -1 ve ekstraselüler matriks proteinlerinin (fibronektin) artışında kurkumin koruyucu etki göstermiştir. Kurkuminin bu yararlı etkilerinin, p300 ve NF- κ B'yi inhibe etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (201).

Kurkuminin yüksek oranda polifenollerini içerdiği ve be nedenle yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu bulunmuştur. Sonrasında antihiperglisemik etkisi C2C12 fare miyoblast hücreleri kullanılarak çeşitli sinyal yollarında araştırılmıştır. Kurkumin tedavisi güçlü bir şekilde glukoz alımını ve AMPK (AMP-aktive protein kinaz)/ACC (asetil-CoA karboksilaz) fosforilasyonunu indüklerken, PI3-kinaz (fosfoinosit 3-kinaz)/Aktivasyonu'nu indüklememiştir. İlginç bir şekilde insülin ve kurkuminin tedavide birlikte kullanımı AMPK/ACC ve PI3-kinaz/Aktivasyon yollarında sinerjistik aktivasyona neden olmuştur. Sonuçlar göstermiştir ki; kurkumin AMPK aktivasyonunu tetikleyerek, insülin duyarlılığını ve

glukoz alımını artırarak kaslarda potansiyel antidiyabetik ajan gibi davranabilmektedir (202).

Yüksek yağlı diyetle ve streptozinle indüklenen diyabetik sıçanlar (STZ, 30 mg/kg vücut ağırlığı), yedi gün boyunca kurkuminle (50, 150 ve 250 mg/kg vücut ağırlığı) beslenmiştir. Kurkumin doza bağımlı olarak plazma lipitlerini ve glukoz seviyelerini düşürmüştür ve 150 mg/kg'da en önemli etkiyi göstermiştir (203).

Curcuma longa L.'den izole edilen kurkuminin TİP 2 diyabette insülin rezistansındaki ilerleme üzerine etkisi ve bu ekinin altındaki mekanizma, roziglitazon ile karşılaştırılarak incelenmiştir. 60 ve 70 günlük sürelerle yüksek yağ içerikli diyetle indüklenen TİP 2 diyabetli farelerde kurkuminin insülin rezistansı üzerinde hem koruyucu hem de tedavi edici etkisi incelenmiştir. Kurkuminin profilaktik amaçla oral uygulandığı (80 mg/kg), roziglitazon (1 mg/kg) ve onların kombinasyonlarını içeren farklı gruplar yüksek yağ içerikli diyetle beslenmeye başlanmıştır. Tedavi amaçlı uygulama yüksek yağ içerikli diyetle indüklenen insülin dirençli ve TİP 2 diyabetli sıçanlarda, son 15 günde yapılmıştır. Kurkumin antihiperglisemik etki göstermiştir ve insülin duyarlılığını geliştirmiştir. Bu etkisi TNF- α seviyelerini azaltmasıyla oluşan antienflamatuvar aktivitesinden ya da plazma lipit seviyelerini düşürerek oluşturduğu anti-lipolitik aktivitesinden kaynaklanabilmektedir. Kurkuminin etkisi roziglitazonla karşılaştırıldığında benzer şekilde bulunmuştur. Bu nedenle kurkuminin, TİP 2 diyabette tedaviye yardımcı amaçla kullanılabileceği öne sürülmektedir (204).

2.3.6. Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri

Yapılan ilk çalışmalarda kurkuminin sol koroner arterin anamolisi ile indüklenen miyokardial iskemi üzerine etkisi araştırılmıştır. Kurkumin ligasyondan 30 dakika önce uygulanmıştır. Koroner arter ligasyonundan 4 saat önce kalp çıkartılmıştır ve glutatyon (GSH), malonildialdehit (MDA), miyeloperoksidaz (MPO), süperoksitdizmutaz (SOD), katalaz (CAT), laktat dehidrogenaz (LDH) yönünden incelenmiştir. Kurkumin iskemi boyunca hayvanları, kalp atım hızının düşmesinden ve kan basıncından korumuştur. Kurkumin ayrıca iskemi indüklü MDA artışından ve LDH salıverilmesinden de korumuştur (205).

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada isopreterenol indüklü miyokard enfarktüsünde kurkuminin koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur. Enfarkte sıçan

kalbi üzerinde yapılan histopatolojik çalışmalarda kurkumin tedavisi sonucunda nekrozun azaldığı gözlenmiştir (67).

Kanser hastalarında kemoteropatik ajanlarla oluşan kardiyotoksisite genel bir problemdir. Kurkuminin sıçanlarda akut adriamisin indüklü miyokardial toksisiteyi düşürdüğü gözlenmiştir. ADR uygulamasından 7 gün önce ve 2 gün sonra yapılan kurkumin tedavisi karidyotoksisiteyi iyileştirmiş, LDH yükselmesinden korumuş ve lipit peroksidasyonunu inhibe ederek endojen antioksidanları artırmıştır (206).

Aterosklerotik tavşanlarda yapılan çalışmalarda kurkuminin kardiyovasküler hastalıklarda koruyucu etki gösterdiği gözlenmiştir. Koruyucu etkisini hücre içi membranlarda lipit peroksidasyonunu inhibe ederek gösterdiği gözlenmiştir (207).

Tavşanlarda deneysel aterosklerozda kurkuminin LDL oksidasyonunu inhibe ederek hipokolesterolemik etki gösterdiği bulunmuştur. İlginç bir şekilde 1,6 mg/kg kurkuminle tedavi edilen tavşanlarda 3,2 mg/kg kurkuminle tedavi edilenlere göre daha düşük kolesterol, fosfolipit ve trigliserit seviyeleri gözlenmiştir (208). Bu araştırmacıların diğer bir çalışmasında ise kurkuminin tavşanlarda oksidatif stresi ve aortik yağlı çizgilerin oluşumunu azalttığı gözlenmiştir. Plazmada düşük lipit peroksitlerine ve yüksek α -tokoferol ve koenzim Q seviyelerine dikkat çekilmektedir. Histolojik sonuçlar yağlı çizgi lezyonların torasik ve abdominal aortta hasara yol açtığı ve bunlarında kurkuminle tedavi edilen grupta kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir (209).

Sıçan miyokardında izoprenalin ile indüklenen miyokardial iskemide kurkuminin koruyucu etkisi incelenmiştir. Kurkuminin oral tek dozu iskemi öncesi ya da başlangıcında uygulanmıştır. Tedavi öncesi ve sonrası verilen kurkumin; ksantinoksidaz, süperoksit anyon, lipit peroksidaz (LPs) ve miyeloperoksidaz seviyelerini düşürmüştür ve SOD, CAT, GSH ve GSH-S-transferaz aktiviteleri kurkumin tedavisi sonucunda önemli ölçüde artmıştır. Kurkuminin sıçan miyokardını iskemiye karşı koruduğu gözlenmiştir (66).

Domuz koroner arterinde kurkumin homosistein indüklü endotel disfonksiyonunu bloke etmiştir. Kurkumin etkin olarak homosistein indüklü; endotel bağımlı damar genişlemesindeki bozukluğu, epitel nitrik oksit sentazın ekspresyonunu ve süperoksit anyonu üretimi üzerine etkisini inhibe edebileceği görülmüştür (210).

Miyokardial iskemi durumunda iskemi reperfüzyon (IR) modelinde *C. longa*'nın kardiyoprotektif etkisi araştırılmıştır. Kobaylar üç gruba bölünmüştür ve 30 gün boyunca bir grup oral olarak tuz (sham, kontrol I/R grup), diğer grup *C. longa* 100 mg/kg (CL-100 grup) almıştır. 31. Günde kontrol IR grubu ve CL-100 grubu LAD koroner arter ligasyonu yapılmıştır ve 1 saat reperfüze edilmiştir. I/R kontrol grubunda sham kontrole kıyasla, önemli kardiyak nekroz olmuştur, sol ventriküler fonksiyonda çökme, antioksidan mekanizmalarda düşüş ve lipit peroksidasyonunda artış gözlenmiştir. Miyokard enfarktüsü sonucu I/R *C. longa* tedavi grubunda önemli oranda azalmıştır. Tedavi grubu, I/R kontrol grubuyla kıyaslandığında, miyokardiyal antioksidanlarda onarım ve hemodinamik parametrelerde düzelme olmuştur. Ayrıca CL tedavisi ile I/R indüklü lipit peroksidasyonu önemli ölçüde inhibe edilmiştir. Kardiyoprotektif etki, kalpteki fonksiyonların geri dönüşüyle gözlenmiştir. CL tedavisinin kardiyoprotektif etkisi, oksidatif stresin baskılanması ve ventriküler fonksiyonun geliştirilmesi ile ilgilidir. Histopatolojik bulgular CL tedavisinin kalp üzerindeki koruyucu etkisini desteklemektedir (211).

Kardiyopulmoner baypas ve kardiyak global iskemi/reperfüzyonun devamında proinflamatuvar genlerin sentezi uyarılır ve NF- κ B bu düzenlemeye katılır. Tavşanlarda yapılan incelemelerde, Kardiyopulmoner baypas boyunca NF- κ B inaktivasyonu, kardiyopileji ile kardiyak I/R hasarını düşürebildiği ve matriks metalloproteinaz (MMP) aktivitesini azaltarak kardiyak mekanik disfonksiyondan koruduğu gözlenmiştir. Ameliyat sonrası miyokardiyal mRNA'nın ekspresyonu, IL-6, MCP-1, and TNF- α seviyeleri, reperfüzyon sonrası troponin I plazma seviyeleri ve kardiyak mekanik disfonksiyon kurkumin grupları tarafından önemli ölçüde azalmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında miyokardiyal aktive MMP-2 ve 9 seviyeleri de önemli ölçüde azalmıştır. Kardiyopulmoner baypas boyunca NF- κ B'nin kurkumin tarafından inaktivasyonu, kardiyak proinflamatuvar genlerin sentezini ve MMPs aktivasyonunu baskılamıştır. Bu da kardiyak global I/R hasarlarında kardiyak mekanik disfonksiyonun şiddetini ve kardiomyositik apoptoz oluşumunu azaltmıştır (212).

Yapılan çalışmada farelerde düşük doz kurkuminin E/LDL reseptörlerinde ateroskleroz üzerine etkileri incelenmiştir. Fareler Western diyet (% 21 yağ, % 0,15 kolesterol (a/a), kolik asit hariç) ile beslenmiştir. 0,3 mg/gün dozda kurkumin (% 98

saflıkta), 4 ay boyunca diyetle karıştırılarak farelere verilmiştir. Bu çalışma modelinde kurkumin aterosklerozu inhibe etmiştir ancak kandaki kolesterol ya da trigliserit oranlarını ve hayvan vücut ağırlığını etkilememiştir (213).

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada kültüre düz kas hücrelerinde karotid arter hasarında kurkumin platelet büyüme faktörünün göçü, çoğalması ve kollojen sentezini inhibe etmiştir. Hasardan 14 gün sonra kurkumin tedavisi sonucu DNA sentezinin, kollojen sentezinin ve platelet büyüme faktörü sentezinin azalmasıyla karotid arter yeni iç çeperi oluşumu kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azalmıştır. Bu sonuçlara göre platelet türevli büyüme faktörü ile uyarılan düz kas hücrelerinin göçünde kurkumin önemli bir potansiyeldir ve vasküler hasar sonucu incinmelerde bu olayların düzenlenmesinde kritik rol oynayabilir (214).

Deneysel abdominal aortik anevrizma (AAAs) modelinde yıkıcı bağlayıcı bağ dokusunun yeniden yapılanmasında ve proinflatuar sitokinler üzerinde kurkuminin oral uygulanmasının etkisi incelenmiştir. Kurkuminle tedavi edilen farelerde aortik doku aktifleştirici protein (AP)-1 ve NF- κ B DNA-bağlayıcı aktivitede düşüş gözlenmiştir ve çok düşük aortik IL-1 β , IL6, MCP-1 ve MMP-9 doku konsantrasyonları gözlenmiştir. Kurkumin elastin liflerinin yapısal korunması ile ve anevrizmal dejenerasyona aracılık eden aortik sitokin, kemokin ve proteinazların ekspresyonunu azaltarak deneysel abdominal aortik anevrizmanın gelişimini baskılamıştır (215).

Kurkuminin domuz koroner arteri üzerinde etkisi ve etki mekanizması araştırılmıştır. Domuz kalbinden alınan izometrik tansiyon verileri ve kurkumine (10–11–10–5 mol/L) yanıtı çalışılmıştır. Kurkumin koroner arterlerdeki pasif ve prostoglandin F2 α ile ilişkili izometrik tansiyonu azaltmıştır. Bu sonuçlar izole edilen domuz koroner damarındaki kurkumin indüklü rahatlamının; nitrik oksit, siklik guanozin monofosfat ve adrenerjik- β -reseptörlerinden kaynaklanabileceğini ancak prostoglandin sentezinden olmadığını desteklemektedir (216).

Kurkumin ayrıca rampamisin salınımlı stent sisteminin kan uyumluluğunda gelişme sağlamıştır. Rampamisin ve rampamisin/kurkumin-yüklü çoklu PLGA (dlaktik asit koglolik asit) kaplamalar üretilmiştir. Sonuçlara göre kurkuminin rampamisin yüklü PLGA kaplamasıyla birleşmesi ile platelet aktivasyonu ve adezyonunun, uzun süreli pıhtılaşma zamanının ve fibrinojen absorpsiyonunun

düşürebileceği gösterilmiştir. Bu sonuçlar kurkuminin stentlerde, tromboz oluşumundan korunmak için kullanılabilceğini desteklemektedir (217,218).

Kurkuminin kalp hipertrofinde de önemli rol oynadığı yapılan çalışmalarla gözlenmiştir. Bu aktivitesini patolojik kardiyak hipertrofi ve kalp yetmezliğinde önemli rol oynayan histon asetiltransferazı (HAT) bir başka deyişle p300 inhibe ederek gösterir. İn vitro olarak kurkuminin fenilefrin indüklü kardiyak hipertrofiyi bloke ettiği gözlenmiştir. Kurkumin ayrıca aort band-indüklü inflamasyon ve fibrozisi p300- HAT-bağımlı sinyal yolağından bloke etmiştir (219).

Benzer bir çalışmada kurkuminin sıçan kardiyomiyositlerinde hipertrofi indüklü asetilasyonu ve hipertrofi-duyarlı transkripsiyon faktörü GATA4'ün DNA bağlayıcı özelliğini inhibe ettiği görülmüştür. Kurkumin ayrıca bu hücrelerde, p300/GATA4 kompleksini bozmuştur ve p300 indüklü hipertrofik yanıtları baskılamıştır. İn vivo çalışmalarda hipertansif kalp hastalığı olan sıçanlarda, hem asetilenmiş GATA4 formu hem de p300/GATA4 kompleksinin nispi seviyeleri belirgin bir şekilde artmıştır. İki farklı kalp yetmezliği modelinde tuza duyarlı hipertansif kalp hastalığı ve cerrahi olarak indüklenmiş miyokardiyal enfarkte kalp hastalığında, kurkumin sistolik fonksiyonların bozulmasına ve kalp yetmezliğinin neden olduğu miyokardiyal duvar kalınlığı ve çap artışına karşı koruma sağlamıştır (220).

İskemi-reperfüzyon (IR) modelinde kurkuminin kardiyak hücreleri koruyucu etkisi incelenmiştir. Kurkumin (10 µM), tedavi öncesinde ya da reperfüzyon anında (tedavi sonrası) uygulanmıştır ve etkisi antioksidan Troloks ekivalan kapasiteyle karşılaştırılmıştır. IR kardiyak hücrelerde oksidatif stres artar, bozuk mitokondriyal aktivite görünür ve hem nekrotik hem de apoptik işlemler gelişir, aynı zamanda NF-κB translokasyonu ve c-Jun N-terminal kinaz (JNK) fosforilasyonunda artış gözlenir. Kurkumin tedavisi tüm bu modifikasyonların zayıflamasına neden olmuştur ve IR nedenli hücre ölümlerini azaltmıştır. Kurkuminin bu koruyucu etkisi sadece basit bir antioksidan mekanizmadan kaynaklanmaz, aynı zamanda NF-κB ve JNK yollarıyla etkileşimlerden de ileri gelmektedir. Bu sonuçlara göre hipoksi oluşumundan önce kurkumin uygulanması kardiyak hücreleri IR hasarından korumaktadır (221).

2.3.7. Peptik Ülser ve Dispepsi Üzerindeki Etki

Tavşanlarda *C. longa* rizomlarının, sulu ya da metanollü ekstrelerinin oral uygulanması gastrik sekresyonu önemli ölçüde düşürmüştür (222) ve mide sıvısındaki müsin oranını artırmıştır.

Sıçanlarda droğun etanol ekstresinin intragastrik uygulanmasında; gastrik sekresyonu inhibe ettiği ve gastroduodonal mukozayı pilorik ligasyonların sebep olduğu hasarlarda, hipotermik dirençli strese, indometazin, rezerpin, ve merkaptamin uygulanmasında, % 80 metanol, 0,6 mol/L hidroklorik asit, 0,2 mol/L sodyum hidroksit ve % 25 sodyum klorit gibi hücre tahrip edici ajanlara karşı koruduğu gözlenmiştir (57,223). Drog gastrik mukozada mukus salgılanmasını artırmış ve sıçanlarda protein olmayan sülfidlerin geri kazanımını sağlamıştır (223).

Droğun antienflamatuvar bileşeni olan kurkumin, müsin üretilmesini artırarak deneysel olarak indüklenmiş gastrik lezyonlarda koruyucu ve iyileştirici etki göstermiştir. Ancak kobaylarda histaminle oluşturulan gastrik ülsere karşı kurkuminin koruyucu etkisi konusunda çelişkili raporlar vardır (5). Aynı zamanda kurkuminin (100 mg/kg) hem oral hem de introperitoneal uygulamasında sıçanlarda gastrik ülseri indüklediği rapor edilmiştir (1,5). Sodyum kurkuminatın kobay ileumundan izole edilen düz kas kasılmalarında spesifik olmayan inhibisyonlara neden olduğu bildirilmiştir (5). *In vitro* ve *in vivo* olarak kurkuminin bağırsak gazı üzerine etkisi incelenmiştir. *In vitro* denemelerde, nohut tozuyla beslenen sıçanların diyetine kurkumin eklendiğinde bağırsak kökenli *Clostridium perfringens* ve gaz oluşumu kademeli olarak azaldığı gözlenmiştir (5). Köpeklerde intravenöz uygulamalarda hem uçucu yağı hem de sodyum kurkuminat safra salgılanmasını artırdığı ve ek olarak safra kesesi kaslarını uyardığı gözlenmiştir (5,144).

H. pylori pozitif ve fonksiyonel dispepsi olan 25 hasta kayıt edilmiştir. *H. pylori* durumları hem histolojik hem de C13 üre nefes testi ya da HPsA testi ile değerlendirilmiştir. Hastalara 7 gün boyunca günde iki defa 30 mg kurkumin, 600 mg asetilsistein, 100 mg bovin laktoferin, 20 mg pantoprozol uygulanmıştır. İki ay sonra *H. pylori* eradikasyonu C13 üre nefes testi ile kontrol edilmiştir. Başlangıçta ve iki ay sonraki bulantı, kusma, karın ağrısı, şişkinlik gibi semptomlar (Skorlar yok: 0, hafif: 1, orta: 2, ağır:3) ve gastrik enflamasyonun iyi bir göstergesi olan serum PGII değeri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak 25 hastadan sadece 3 tanesi (% 12) tedavi

edilmiştir. Hem eradike edilen hastalarda hem de edilemeyenlerde semptomlarda ve PGIİ değerinde önemli ölçüde azalma gözlenmiştir. Kurkumin bazlı tedavinin *H. pylori* eradikasyonu üzerine görünür bir etkisi olmadığı ancak diğer taraftan bakterinin direnç göstermesine rağmen, gastrik enflamasyonun azaldığı ve semptomlarda gelişmeler olduğu gözlenmiştir (224).

Yapılan bir çalışmada sakın seyreden ülseratif kolitli hastalarda kurkuminin etkinliği araştırılmıştır. Ülseratif kolitli 89 hastada yapılan randomize, çift körlü, çoklu denemelerde, kurkuminin hastalığın nüksetmesini engellemesi amaçlanmıştır. 6 ay boyunca 45 hastada sülfasalazin ya da mesalamin yanında kahvaltılı ve akşam yemeğinden sonra 1 g kurkumin verilmiştir. 44 hastada ise ilaçların yanında plasebo verilmiştir. Klinik aktivite indeksi ve endoskopik indeks başlangıçta, her iki ayda bir ve altı aylık klinik denemenin sonunda tanımlanmıştır. 7 hasta protokolü bozmuştur. Altı ay sonunda kurkumin kullanan 43 hastadan 2 (% 4.65) tanesinde nüksetme olmuştur. Oysa plasebo kullanan grupta 39 hastada 8 (% 20.51) tanesinde nüksetme gerçekleşmiştir. Nüksetme oranları esas alındığında kurkumin ve plasebo arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Kurkumin hem klinik aktivite indeksi hem de endoskopik indeksini geliştirmiştir. Bu da ülseratif kolitteki baskılanmayı göstermektedir. Sonuç olarak kurkumin ülseratif kolit tedavisinde umut vaat edici ve güvenli bir madde olarak görülmektedir (225).

Kurkuminin, indometazin indüklü serbest oksijen radikallerin neden olduğu gastrik ülserdeki gastroprotektif etkisi incelenmiştir. Kurkumin doza bağımlı olarak gastrik lezyonları bloke ederek 25 mg/kg dozda % 82 koruma göstermiştir. İndometazin, kurkumin tarafından korunan hidroksil radikallerini yaklaşık beş kat artırır ve H₂O₂ ve türevlerini yükseltgeyen gastrik mukozal peroksidazı inaktive eder. Yapılan *in vitro* çalışmalarda indometazinin sadece H₂O₂ varlığında peroksidazı intihar substratı gibi davranarak geri dönüşümsüz olarak inaktive ettiği gözlenmiştir. 5,5-Dimetil-pirolin-N-Oksit (DMPO), peroksidazı indometazin radikaline karşı korur. Elektron spin rezonans spektroskopisi ile DMPO katılımı gibi, peroksidaz-indometazin-H₂O₂ sistemi de dedekte edilebilmektedir. Kurkuminin doza bağımlı olarak peroksidazı koruduğu ve peroksidaz substratı gibi davranarak H₂O₂'in oksidasyonu ile tüketilmesini sağladığı, böylece indometazin oksidasyonunu bloke ettiği gözlenmiştir. Kurkumin ayrıca *in vitro* olarak SOH radikali süpürücü etki de

gösterebilir. Sonuç olarak kurkuminin gastrik mukozayı; H₂O₂ ve türevlerini yok ederek ve indometazin kaynaklı peroksidasyon inaktivasyonundan koruyarak, etkili bir şekilde koruduğu öne sürülmektedir (226).

C. longa ekstresini kullanan 221 kişi üzerinde izleme yapılmıştır. Hem dispeptik semptomlar hem de diyetle alınan yağların sindirilmesi incelenmiştir. Dolayısıyla hiperlipidemik etkisi ve anti-aterosklerotik karakteri de incelenmiştir. Bu araştırmanın nedeni dispepsi problemi olan hastalarda dislipidemi riski de fazla olmasıdır. Yapılan ankette tedavi sonrası 6 hafta ve 3 ay sonrasında dispepsi semptomları rapor edilmiştir. Lipit metabolizması performansı hakkında da datalar toplanmıştır. Uygulama sırasında hasta uyumu yüksek olmuştur. Sonuçlara göre zerdeçal ekstresinin yenmesi problem oluşturmadığı gibi abdominal semptomlarda da iyileşme gösterdiği gözlenmiştir. Sonuç olarak zerdeçal ekstresinin düzenli tüketimi dijestif parametreleri düzenleyebileceği ve yüksek kolesterol düzeylerini (Ör: LDL) düşürebileceği öne sürülmüştür. Bu etkilerinin zerdeçal ekstresinin uçucu yağı ve kurkuminoitlerden ileri geldiği düşünülmektedir (227).

Kurkuminin ülseratif kolitli bir modelde olası pozitif etkileri incelenmiştir. Kolit albino erkek sıçanlarda, 5 ardışık gün boyunca dekstran sülfid sodyumun (DSS, % 3W/V) suyla alınması ile indüklenmiştir. DSS uygulanması mukozal ödem ve kanlı dışkıyla, kolon genişliğinde büzölmeye ve kolon ağırlık/genişlik değerinde yükselmeye neden olmaktadır. Dokusal olarak DSS; mukozalarda erozyonlara, ülserasyonlara, enflamatuvar hücre infiltrasyonlarına neden olmaktadır. Biyokimyasal olarak yapılan ölçümlerde ise, serum TNF- α değeri ve miyoloperoksidazların kolondaki aktiviteleri yükselmiştir. Kolonik glutatyon-S-transferaz (GST) ve onun substratı GSH önemli ölçüde azalmıştır. Lipit peroksidasyonu artarken, malonildialdehit ve toplam nitrik oksit seviyeleri de artmıştır. Kurkuminin (100 mg/kg, IP), DSS uygulanmasından 7 gün önce uygulanması sonucunda bütün biyokimyasal parametrelerin hafiflediği gözlenmiştir. Sonuçlar göstermektedir ki, kurkumin ülseratif kolitte oksidan/antioksidan dengesini sağlayarak ya da TNF- α , nitrik oksit gibi sitokinlerin salıverilmesini düzenleyerek koruyucu etki gösterebilmektedir (228).

2.3.8. Anjiyogenezin Düzenlenmesi Üzerindeki Etkisi

Anjiyogenez var olan damarlar içinde yeni kılcal kanalların oluşması ile tanımlanan ve embriyonik gelişim, yeniden üretilme, yara iyileşmesi, kemik onarımı gibi çeşitli fiziksel olaylarda temel öneme sahip olan bir durumdur. Diğer taraftan kontrol edilemeyen anjiyogenez patolojik bir durumdur ve tümör büyümesi, romatoid artrit, diyabetik retinopati gibi hastalıklarla ilişkilidir. Son zamanlarda yapılan anjiyogenez çalışmaları daha çok birincil tümörlerin uzak organlardaki metastazlarıyla ilgilidir (229,230).

Yapılan çalışmalarda kurkuminin insan damar endotel hücrelerinde (HUVEC), tıkaçlarda anjiyogenik farklılaşmayı inhibe ederek endotel hücre infiltrasyonunu ve damar dönüşümünü engelleyerek, anti-anjiyogenik aktivite gösterdiği gözlenmiştir (135).

Birçok çalışmada metaloproteinazlar (MMPs) ve onların spesifik inhibitörlerinin anjiyogenezin tetiklenmesinde rol oynadığı gözlenmiştir (231). Sonuç olarak kurkumin ve analoglarının MMPs'yi inhibe ederek anjiyogenezini düşürdüğü gösterilmiştir (135,232,233).

Kurkuminin fare korneasında, temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF)-indüklü kornea damarlanmasını inhibe ettiğini gösterilmiştir (27). Farelerde korneadaki bu anjiyogenik etkinliğin kurkuminoitlerin kullanılmasından ileri geldiği gözlenmiştir (28).

Embriyo koriyoallantoik membran, invazyon ve tüp oluşum modeli gibi pek çok çalışmada kurkumin analogları anjiyogenezini inhibe edici etki göstermiştir (234). Kurkumin analoglarının bu etkisinin, damar endotel büyüme faktörü (VEGF) ve MMP-9 gibi anjiyogenezle ilgili gen ekspresyonunu azalttıkları için olduğu gösterilmiştir (232).

2.3.9. Yara İyileştirici Etki

Doku onarımı ve yara iyileştirici etki enflamasyon, granülasyon ve doku modellerini de kapsayan kompleks bir süreçtir. Yaralanma hücreler arası etkileşim, çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri, onların mediatörlerini ve ekstraselüler matriks proteinlerini (ECM) tetikleyen birçok olayı başlatır. Zerdeçal Hindistan'da doku hasarı, böcek ısırıkları ve suçiçeği gibi hastalıkların lokak tedavisinde kullanılmaktadır (235).

Zerdeçalın geleneksel kullanımından yola çıkarak yara iyileştirici etkisini geliştirmek amaçlı çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada yaranın biyopsisi incelendiğinde, kurkuminle tedavi edilen grup, tedavi edilmeyen grupla karşılaştırılmıştır ve tedavi edilen grupta çok sayıda makrofaj, nötrofil ve fibroblasta rastlanmıştır. Kurkuminle tedavide var olan miyofibroblastlar daha hızlı yara iyileşmesine neden olmuştur (176).

Yara iyileşmesi sırasında biyolojik faktörlerin düzenlenmesi için gerekli büyüme faktörleri çeşitli hücrelerin göçü ile sağlanır. *In vivo* olarak yapılan çalışmalarda fibroblastlarda büyüme faktörünün (TGF- β 1) transferinin, fibronektin (FN) ve kollojen ekspresyonunu uyararak ve granülasyon dokusunu artırarak doku iyileşmesinde önemli rol oynadığı gözlenmiştir (236,237). Kurkumin tedavisi sonucunda fibronektin (FN) ve kollojen ekspresyonu artmıştır (176). Bunun yanında yara iyileşmesi sürecinde büyüme faktörünün, reseptörlerinin ve nitrik oksit sentazın ekspresyonunun düzenlenmesi ile hem diyabetik yaralarda hem de hidrokortizonla oluşan yaralarda granülasyon dokusunda; yeniden damarlanma, hızlı epitel doku ve hücre içeriği oluşumu artmıştır (175,238).

Diğer *in vivo* bir çalışmada kurkuminin yararlı etkilerini, sistemik uygulanması sonucunda NF- κ B aktivitesini modüle ederek travma sonrası kas yenilenmesinde artış sağlayarak gösterdiği gözlenmiştir (239).

Kurkuminin insan keratinosit ve fibroblast hücrelerinde hidrojen peroksitle oluşan hasarı inhibe ettiği gözlenmiştir. Bu etki yara iyileşmesinde antioksidan mekanizmanın etkin olabileceğini desteklemektedir (240).

Benzer şekilde kollojenle tedavi edilen sıçanlarda kurkumin uygulaması sonucu, kontrol ve kollajen verilen gruplarla karşılaştırıldığında kurkumin yarada küçülme, hücre çoğalmasında artış ve serbest radikal süpürücü etki de artış gözlenmiştir (241).

Kurkumin ön tedavisi sonucu kollojen, heksozamin, DNA, nitrit sentezi artmıştır ve yara biyopsi örneklerinin değerlendirilmesinde kollojen depolanmasını geliştirdiği, fibroblast ve damar yoğunluğunu artırdığı gösterilmiştir. Bu nedenle kurkuminin radyasyon indüklü yara iyileşmesindeki gecikmeyi düzeltmek için kullanılması önerilebilir (242).

Başka bir çalışmada akut ülser modelinde kurkuminin, sıçanlarda antiülser aktivitesi; glutasyon eksikliği, lipit peroksidasyonu ve protein oksidasyonu gibi durumlardan koruyuculuğu bakımından incelenmiştir. Gastrik lümenin hasarı sırasında epitelyum hücrelerde oluşan aşınmalar, kurkumin tarafından tekrar epitelyum oluşumu ile geri çevrilmiştir. Bu sebeple kurkuminin hem oral hem de introperitoneal uygulaması doz bağımlı olarak gastrik ülseri bloke ettiği ve iyileşme sürecini hızlandırdığı görülmüştür (243). Bu çalışmalar açıkça desteklemektedir ki, kurkumin tedavisi yaralarda hızla kapanmaya, granülasyon dokusunun oluşmasının daha iyi düzenlenmesine ve büyüme faktörlerinin indüklenmesine neden olmaktadır. Farklı seviyelerde yara iyileşmesini artırdığı ileri sürülebilir.

Yapılan çift körlü klinik çalışmada, 84 tane 17-35 yaş arası normal doğum yapacak olan anneler seçilmiştir. Seçim kriteri olarak doğum aralığı 37-42 haftalık olanlar, canlı ve tekli doğum yapanlar ve yara iyileşmesini geciktirebilecek diyabet gibi kronik hastalığı olanlar dikkate alınmıştır. Kadınlar çalışma ve kontrol grubu olmak üzere iki gruba bölünmüştür. *C. longa* merhemi vazelin bazlı % 5 lik *C. longa* rizom tozunun etanolik ekstresini içerirken plasebo, vazelin bazlı birkaç damla *C. longa* rizom tozunun konsantre hidroalkolik ekstresini içermektedir. Çalışma grubundaki farmakologlar tarafından hem *C. longa* merhemi hem de plasebo merhemleri hazırlanmış, paketlenmiş ve benzer tüplerin içinde kodlanmıştır. Doğumu kolaylaştırmak için yapılan kesitlerde oluşan yaralar için kadınlara 12±2 saatte bir 10 gün boyunca *C. longa* merhemi ya da plasebo kullanılması tavsiye edilmiştir. İyileşme süreci doğumdan sonraki 7., 10., 14. günde REEDA skoru (kızarıklık, ödem, ekimoz, boşalma, yapışkanlık gibi özellikleri) yönünden değerlendirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda çalışma grubunda REEDA skorları açısından bakıldığında kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ve 14. güne doğru azaldığı gözlenmiştir. Herhangi bir yan etki de gözlenmemiştir. Sonuç olarak *C. longa* merheminin yara iyileşmesini hızlandırdığı ve süresini kısalttığı gözlenmiştir. Bu nedenle tedavide önerilebileceği düşünülmektedir (244).

2.3.10. Antimikrobiyal Aktivite

Curcuma longa L. uçucu yağı *Staphylococcus albus*, *S. aureus* ve *Bacillus typhosus* kültürlerine karşı karşı denenmiştir. *S. albus* ve *S. aureus*'u 1'den 5000'e kadar konsantrasyonlarda inhibe etmiştir.

Yapılan *in vitro* çalışmada *C. longa* fraksiyonlarının bazı bağırsak bakterilerine karşı etkinliği araştırılmıştır. Bütün turmerik içeriği varlığında 4,5-90 µL/100 mL konsantrasyonda *Lactobacilli* büyümesinin toplam inhibisyonu gözlenmiştir. Diğer bir fraksiyonda, alkolik ekstresi 10-200 mg/mL konsantrasyonda etkili bulunmuştur. Ancak inhibisyon bütün turmerik ekstresinde eşit değildir. Kurkumin 2,5-50 mg/mL konsantrasyonda sadece *S. aureus*'u inhibe etmiştir.

Kobaylar *C. longa* rizom tozu (% 2,5 kurkumin içeren, 100 mg günlük) ve onun alkol ekstresi (kurkumin ve uçucu yağ içeren, 20 mg günlük) ile beslenmiştir. Kör bağırsak içeriği 3 ay sonra ve 2 yıl sonra incelenmiştir. *C. longa* ve alkollü ekstresinin diyetle kullanılmasından 3 ay sonra kör bağırsak içeriğindeki *Lactobacillus* ve toplam aerob bakteri miktarı ve koliformları azalmıştır, toplam anerob bakteriler ve *Clostridium perfringens* artmıştır. İki yıllık beslenme sonucunda da benzer sonuçlar gözlenirken koliform miktarı açıkça azalmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında eş zamanlı olarak gaitada deakzokolik asit miktarı yükselirken, serum globulünleri de düşmüştür (3).

Curcuma longa L. uçucu yağı üzerinde yapılan bazı çalışmalarda droğun antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Uçucu yağ *Curcuma longa* L. oleorezininden ekstre edilmiştir ve kolon kromatografisiyle üç fraksiyona ayrılmıştır. Bu fraksiyonların tabaka dökme metodu ile *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *Escherichia coli*, ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel aktivitesi test edilmiştir. % 5 etil asetatlı hekzan fraksiyonu en aktif fraksiyon olarak bulunmuştur. Uçucu yağ fraksiyonları GC ve GC-MS ile analiz edilmiştir ar-turmeron, turmeron, ve kurlon ana komponentler olarak bulunmuştur (3).

Curcuma longa L. uçucu yağı ile yapılan başka bir çalışmada kurkumin izole edildikten sonra kalan ana çözeltide antifungal aktiviteye rastlandığı bildirilmiştir. Uçucu yağ vakum altında fraksiyonel distilasyon yöntemi kullanılarak iki fraksiyona ayrılmıştır. Bu fraksiyonların *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *Fusarium moniliforme* ve *Penicillium digitatum*'a karşı spor çimlenmesi metoduyla antifungal aktiviteleri ölçülmüştür. Bu fraksiyonlar 110-120 °C vakum altında daha aktif bulunmuştur. Uçucu yağın kimyasal yapısı GC ve GC-MS cihazlarıyla

tanımlanmıştır. Ar-turmeron, turmeron, ve kurlon ana komponentler olarak bulunmuştur (245).

Yapılan çalışmada *Leishmania amazonensis*'in hücre içi ve hücre dışı formlarına karşı kurkumin ve bazı yarı-sentetik türevlerinin etkisi incelenmiştir. İn vitro deneylerde hücre dışı formlara karşı kurkumin çok iyi aktivite ($LD_{50} = 24 \mu M$ ya da 9 mg/mL) gösterirken, yarı sentetik türevi olan metil kurkumin (nonfenolik kurkuminoit) en iyi aktiviteyi $LD_{50} < 5 \mu g/mL$ ve $LD_{90} = 35 \mu M$ göstermiştir. Bu türev ile yapılan *in vivo* çalışmalarda parazitin yalnız ekim yapıldığı kontrol grubuna göre, farelerde lezyon büyüklüğünde % 65 inhibisyon gerçekleşmiştir (246). Maddelerin enjeksiyonu ile herhangi bir enflamatuvar reaksiyon görülmediği buna da kurkuminoitlerin enflamasyonu inhibe edici özelliklerinin neden olabileceği düşünülmüştür. *Curcuma longa* etanolik ekstresinin *Plasmodium falciparum* ve *L. major*'e karşı etkinliği ölçüldüğünde *in vitro* olarak parazitlerin büyümesini inhibe ettiği gözlenmiştir (247).

Giardia lamblia protozoalar tarafından üretilen dünya çapında en çok bağırsak enfeksiyonlarını oluşturan nedenlerden biridir. Bu nedenle bu parazitik hastalığın tedavisinde yeni yaklaşımlar çok önemlidir. Bu enfeksiyonu kontrol etmek ve uzaklaştırmak için kullanılan çoğu ilaç, yan etkileri nedeniyle hastalar tarafından tedavinin bırakılmasına neden olmaktadır. Bu çalışmada *C. longa* ana etken maddesi olan kurkuminin anti-prozoal aktivitesini değerlendirmek için yapılmıştır. Axenic *G. lamblia* kültürlerine değişik konsantrasyonlarda kurkumin uygulanmıştır. Kurkuminin etkinliği parazit büyümesi, adezyon kapasitesi ve parazit morfolojisi açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca kurkuminin apoptoz benzeri etkinliği de araştırılmıştır. Doz ve zamana bağlı olarak tüm kurkumin konsantrasyonları, tropozit büyümesini ve adezyonunu % 50'den daha fazla inhibe etmiştir. Sitoplazmik membran altında oluşan çıkıntılar, hücrelerde şişme ve çökme gibi deformasyonlar morfolojik değişiklikler olarak tanımlanmışlardır. Kurkumin doz ve zamana bağlı olarak apoptoz benzeri etkiyi indüklemiştir (248).

2.3.11. Nematosidal Aktivite

Curcuma yağı 1-2000'den 1-5000'e kadar değişik konsantrasyonlarda *Paramecium caudatum* üzerinde çalışılmıştır. Nematodlarda halsizlik ve ölümlere neden olmuştur (3). Başka bir çalışmada *Toxocara canis*'e karşı *Curcuma longa*

ekstrelerinin (metanolik ve kloroform) aktivitesi gösterilmiştir. Bu çalışmada siklokurkumin adında yeni bir kurkuminoit izole edilmiştir. Bütün maddeler tek tek uygulandığında aktivite göstermezken, karışım halinde kullanıldıklarında aktivite gözlenmiştir. Bu sonuçlar da sinerjistik etkiyi desteklemektedir (249).

2.3.12. Antivenom Aktivite

Curcuma longa'dan izole edilen ar-turmeron içeren fraksiyon, farelerde yılan zehirinin hem hemorojik hem de öldürücü etkisini nötralize etmiştir. Bu çalışmada ar-turmeron *Bothrops* venomunun hemorojik etkisini ve % 70 oranında *Crotalus* venomunun öldürücü etkisini tamamen ortadan kaldırmıştır. Ar-turmeron venom enzimlerinin proteolitik ve hemorojik aktivitelerini bir enzim inhibitörü gibi davranarak inhibe edebilir (250).

2.3.13. Anti-HIV Aktivite

Neredyse non-toksik doğal bir bileşik olan kurkumin iddiasız bir HIV-1 ($IC_{50}=100 \mu M$) ve HIV-2 ($IC_{50}=250 \mu M$) proteaz inhibitörüdür. Yapıdaki modifikasyonlar IC_{50} değerini artırmaktadır ancak merkezi dihidroksil gruplarının borla oluşturdukları kompleksler IC_{50} değerini $6 \mu M$ gibi olduğunca düşük bir değere indirgemektedir. Bor kompleksi aynı zamanda HIV proteazı zamana bağlı olarak inaktive etmektedir (251).

Kurkuminin HIV-1 integras inhibitör ($IC_{50} = 40 \mu M$) aktivite göstererek antiviral etkinliğe neden olduğu ve kurkumin analoglarının Anti-Aids ilaçları olarak geliştirilebileceği öne sürülmüştür. Veriler kurkuminin HIV-1 integras proteininin çoğalmasını inhibe ettiğini göstermiştir (252). Başka bir çalışmada da kurkuminin Anti-HIV-1 ve Anti-HIV-2 aktivite gösterdiği iddia edilmiştir (2).

Kurkuminin AIDS tedavisinde etkili olabileceğine dair pek çok araştırma vardır. Kurkuminin HIV uzun uç zincir tekrarlarını, HIV proteazı, HIV-1 integrası, p300/CREB- bağlı protein spesifik asetiltransferazı inhibe ederek, histon/nonhiston proteinlerin asetilasyonunu ve histon asetiltransferaz bağımlı kromatin transkripsiyonu baskılayarak, HIV virüsünün replikasyonunu baskıladığı gözlenmiştir (253-256).

2.3.14. Enflamatuvar Bağırsak Hastalıkları Üzerindeki Etki

Kurkuminin 2,4,6-trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS)-indüklü kolite karşı etkisi fareler üzerinde araştırılmıştır. Bağırsak lezyonları nötrofil infiltrasyonu, yükselmiş serin proteaz aktivitesi ve yüksek malonildialdehit seviyeleri ile ilişkilidir. Farelerin (günlük 50 mg/kg intragastrik, 10 günlük) kurkuminle ön tedavisi önemli ölçüde daireyi ve kolon yapısındaki bozulmaları hafifletmiştir. Yüksek dozlarda (100 ve 300 mg/kg) karşılaştırılabilir etkilere sahiptir. Kurkuminle ön tedavi yapılan farelerde, lipid peroksidasyonu ve nötrofil infiltrasyonunda önemli azalmalar gözlenirken serin proteaz aktivite de azalmıştır. Kurkumin ayrıca Th1 ve Th2 sitokinlerinin ve iNOS uygun ekspresyonu ile NO ve O₂ (-) seviyelerini azaltmıştır. Bu gözlemlere göre, kurkumin tedavisi olan farelerde kolonik mukozada NF-κB aktivasyonu baskılanmıştır. Kurkuminin deneysel kolitte yararlı etkilerinden dolayı enflamatuvar bağırsak hastalığının tedavisinde önerilebilir (32).

Benzer bir çalışmada (TNBS)-indüklü kolitten korunmada ve tedavide kurkuminin etkisi incelenmiştir. (TNBS)-indüklü kolit olan 60 fare % 2 kurkumin içeren diyetle tedavi edilmiştir. Pozitif kontrolde 30 fare % 0,5 sülfasalazin ile tedavi edilmiştir. 30 negatif kontrole ise genel diyet uygulanmıştır. (TNBS)-indüklü bağırsak enflamasyonunda kurkumin tedavisi hem boş hem de histopatolojik belirtilerden korumuştur ve tedavi etmiştir. Ayrıca kurkumin tedavisi olan farelerde kolonik mukozada NF-κB aktivasyonu baskılanmıştır. Kolonik mukozada enflamasyon öncesi salgılanan sitokin mRNA ekspresyonu da baskılanmıştır (257).

Bağırsak enflamasyon hastalığı olan kişilerde kurkuminle klinik bir çalışmaya yapılmıştır. Açık etiketli bir şekilde 5 ülseratif proktitli ve 5 Crohn hastalığı olan kişiye saf kurkumin uygulaması yapılmıştır. Tüm proktitli hastaların dördünde eşlik eden ilaçlarla birlikte gelişme görülmüştür. Crohn hastalığı olan 5 kişiden dördünde CDAI skorları ve sedimentasyon düşmüştür (258).

Başka bir çalışmada kurkuminin dekstran sülfat sodyum (DSS)-indüklü deneysel kolit üzerine etkisi değerlendirilmiştir. BALB/c farelerde % 3,5 (a/a) DSS ya da % 3,5 DSS+ % 2 kurkumin içeren bir diyetle beslenmişlerdir. Vücut ağırlığı kaybı DSS ile tedavi edilen farelerde DSS+kurkuminle tedavi edilenlere göre daha bariz gözlenmiştir. DSS ile tedavi edilen farelerde bu hastalıktaki aktivite indeksi, histolojik kolit skoru ve miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi önemli ölçüde daha

yüksek çıkmıştır. Mikroskopik olarak mukozal ödem, hüresel infiltrasyon ve epitel bozunma DSS ile tedavi edilen farelerde daha şiddetlidir. Ayrıca kurkumin tedavisi olan farelerde kolonik mukozada NF- κ B aktivasyonu baskılanmıştır (259).

2.3.15. Romotoid Artrit Üzerindeki Etki

Yapılan birçok çalışma kurkuminin artrit tedavisinde potansiyel etkili bir madde olabileceğini desteklemektedir. Bu çalışmada kurkuminin adjuvan-indüklü artritte asidik glikoprotein üzerine etkisi sıçan serumlarında incelenmiştir. Artritli sıçan serumlarında yükselmiş glikoprotein seviyeleri (GpA72), asidik protein ve antitriptik aktivite gözlenmiştir. Serumda GpA72 gözlenmesi artritli sıçanlarda pençe ödemi başlangıcının öncesinde olur ve devamında kronik faz gözlenir. Kurkuminin oral uygulanması ile artritli sıçanlarda, GpA72 seviyeleri ile buna eşlik eden pençe ödemi azalmıştır (260). Klinik bir çalışmada pilot bir gruba 1200 mg/günlük kurkumin uygulanması sonucunda anti-romatizmal aktivite gözlenmiştir (261).

Kurkuminin adjuvan indüklü kronik enflamasyonda immün yanıtları nasıl etkilediği araştırılmıştır. Adjuvan enjeksiyonundan 21 ve 35 gün sonra enflamatuvar mediyatörler ölçülmüştür. 21. günde CRP seviyeleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında % 200 yükselmiştir ve daha sonra 35. günde % 50'ye düşmüştür. Kurkumin yükselen seviyeleri her iki zaman aralığında daha da azaltmıştır. Haptoglobün seviyesi 21. günde % 42 ye düşmüştür fakat 35. günde kontrol grubuna göre 5 kez daha yüksek bulunmuştur. Kurkumin 35. günde yükselen seviyeleri düşürmüştür. Prostaglandin- E (PGE) 2, lökotrien B4 ya da lenfosit çoğalmasında önemli bir değişim gözlenmemiştir. TNF- α seviyesi 21. günde üç kat artmıştır ancak 35. günde % 88 azalmıştır. İbuprofen tedavisi 21. günde yükselmiş olan seviyeyi düşürürken, 35. günde düşmüş olan seviyeyi artırmıştır. Kurkumin tarafından önemli ölçüde azaltılan IL-1- β seviyesi 21. günde 2 kez daha fazla artarken 35. günde 10 kez fazla artmıştır (262). Başka bir çalışmada kurkuminin birincil kondrositlerde TNF- α - indüklü MMP-13 ekspresyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Bu nedenle artrit tedavisinde kurkumin MMP-13 ile kırıldaktaki kırılmaları azaltabilir (263).

Osteoartrit Batı dünyasında sakat kalmanın en önemli nedenlerinden bir tanesidir. COX-2 inhibitörleri osteoartrit tedavisinde kullanılan en önemli antienflamatuvar ajanlardandır. Fakat bunların uzun zamanlı kullanımları kardiyovasküler toksisitelere neden olabilmektedir. Kurkumin osteoartritte sinoviyal

yapışkan hücrelerde, selekoksibin büyüme-inhibitör ve pro-apoptotik etkilerini artırabileceği yapılan bir çalışmayla incelenmiştir. Snoviyal yapışkan hücreler diz protez ameliyatı boyunca insan sinoviyal dokusundan alınmıştır. Hücre büyümesinin inhibisyonu üzerine sinerjistik etkisi selekoksib ile birlikte kurkuminin kombine uygulanması sonucunda ölçülmüştür. Hücre büyümesinde ilaçların kombine kullanılması ile inhibitör etki, apoptozun uyarılması sonucu gerçekleşmiştir. Sinerjistik etki mekanizması COX-2 aktivitesinin inhibisyonu içermektedir. Bu nedenle selekoksibin düşük dozlarda ve güvenli kullanımı kurkumin kombinasyonu ile osteoartrit ve diğer romatolojik hastalıklarda kombine tedavi imkanı sağlayabilmektedir (264).

Yapılan *in vivo* bir çalışmada kurkuminin *streptococcal* hücre duvarı-indüklü artrit koruma ve tedavide etkisi bir hayvan modeli üzerinde incelenmiştir. Eklem romatizmasında artritik indeks, eklemlerde şişme, ekstremin enflamasyondaki etkisini değerlendirmede birincil önemli noktalar. Kurkuminin tedavi öncesinde uygulandığında eklem romatizmasında koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur. Bu sonuçlar kurkuminin anti-artritik etkinliğini göstermektedir (265).

2.3.16. Böbrekler Üzerindeki Etki

Kurkuminin iskemi-reperfüzyon (I/R) üzerine etkisi sıçanlarda araştırılmıştır. Kurkuminle ön tedavi sonrası histolojik bütünlüğün korunması, tübüler hasarın azalması ve intertisyel enflamasyon ve kreatinin seviyelerindeki tersine değişikliklerle sonuçlanır. İskemi-reperfüzyon böbreklerde RANTES, MCP-1 ve AIF protein seviyelerinin artmasına neden olurken, kurkuminle ön tedavi sonucunda bunların ekspresyonu güçlü bir şekilde azamıştır (266).

Sinerjistik olarak enflamatuvar yanıtları da oluşturabilen kronik renal allograft nefropati hem immün hem de iskemik hasarlarla ilişkilidir. Yapılan bir çalışmada kurkuminin bu hasarı iyileştirebileceği gösterilmiştir. Kurkuminin etkisi iskemik renal hasarı ve deri nakli reddi olan modellerde incelenmiştir. Kurkumin tübüler hasarı, renal enflamasyonu azaltmıştır ve deri naklinde hayatta kalma süresini uzatmıştır. Ayrıca serum kreatinini düşürmüştür, apoptozu 2. günde inhibe etmiştir ve RANTES, MCP-1 ve AIF proteinlerinin ekspresyonunu azaltmıştır. Bu nedenle kurkumin böbrekleri koruyucu etkili olarak bulunmuştur (267).

Kurkumin (200 mg/kg p.o.), gentamisin (100 mg/kg i.p.) uygulanmasından 2 hafta önce ve 1 hafta gentamisine birlikte uygulanmıştır. Tuz uygulanan fareler kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Gentamisin verilen sıçanlarda kreatinin klirensi düşerken, serum kreatinin, kanda üre (BUN), üriner protein, glukoz, ürin gama glutamil transferaz ve idrar hacmi artmıştır. Böbrek histolojik muayenesinde tübül nekroz geliştiği gözlenmiştir. Kurkumin yükselen parametreleri önemli ölçüde düşürmüştür. Gentamisin katalaz aktivitesini (CAT), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve glutatyon seviyesini (GSH) düşürken, bakır-çinko-süperoksit dizmutaz (Cu, Zn-SOD) aktivitesi değişmemiştir. Kurkumin, gentamisin-indüklü CAT, GSHPx ve GSH seviyelerindeki redüksiyonu % 31, % 55 and % 74 oranlarında azaltmıştır. Kurkumin gentamisin-indüklü plazma malondialdehit (MDA) ve böbrek MDA seviyelerindeki artışı % 57 ve % 62 oranlarında azaltmıştır. Kurkumin eksojen oksidanlar varlığında (1 mM FeSO₄, 1 mM askorbat, 0,2 mM H₂O₂) böbreklerde ve plazmada gentamisin-indüklü lipid hidroperoksidaz oluşumunu azaltmamıştır (268).

Reaktif oksijen türleri miyoglobinin salınması ile renal yetmezlik oluşumunda önemli rol oynar. Bu çalışmada, *C. longa*'dan izole edilen kurkuminin deneysel miyoglobürik akut böbrek yetmezliği modelinde etkisi incelenmiştir. Sıçanlara oral olarak 100 mg/kg günlük dozda 30 gün boyunca kurkumin verilmiştir. Arka bacak kasında renal hasar hipertonic gliserol (10 mL/kg % 50 solüsyon) enjeksiyonu ile indüklenmiştir. 48 saat sonra sıçanlar ayrıştırılarak serum, böbrek ve karaciğerdeki tiyobarbitürik asit (TBARS), glutatyon, karbonil miktarları ölçülmüştür. Gliserol yanında kurkuminde alan farelerde serumdaki TBARS miktarı önemli oranda azalırken, böbreklerde ve karaciğerde bu etki gözlenmemiştir. Gliserol ile kurkuminde alan farelerde böbrek ve karaciğerdeki karbonil miktarı önemli ölçüde yükselmiştir. Gliserolde olduğu gibi kurkumin tedavisinde de, böbrek korteks enzimleri, aminopeptidaz N, anjiotensinaz A ve dipeptidil peptidaz IV azalmıştır. Sonuçlara göre kurkuminin antioksidan aktivitesine rağmen, miyoglobürik akut böbrek yetmezliği modelinde koruyucu etki göstermediği bulunmuştur (269).

Benzer bir çalışmada kurkuminin sıçanlarda üreter tıkanıklık ya da iskemi-reperfüzyon hasarında antioksidan genlerin ekspresyonunu artırabileceği gösterilmiştir. Hem kendi hem nakil böbreklerde renal iskemiye reperfüzyon ve renal

yetmezlik takip etmiştir. Kurkumin iskemi-reperfüzyon indüklü, üre ve sistatin C seviyelerindeki ve GSH-Px teki ters değişimleri önemli ölçüde geliştirmiştir. Bununla birlikte madde süperoksit dizmutaz enzim aktivitesi üzerine etkili bulunmamıştır. Kurkumin tedavisi ayrıca doku ve serum malonildialdehit, nitrikoksit seviyelerinde önemli azalmalara neden olmuştur (270). Kurkuminle tedavi edilen sıçanlarda böbrekler incelendiğinde neredeyse normal böbrek morfolojisi görülmüştür. Bu sonuçlardan kurkuminin antioksidan etkisi nedeniyle böbreklerde koruyucu etki gösterdiği açıkça görünmektedir (271).

2.3.17. Psöriazis Üzerindeki Etki

Pek çok yayın göstermektedir ki kurkuminin psöriaziz tedavisinde etkili olabilir. % 1 kurkumin içeren jelin uygulanması sonucunda psöriatik alanlarda tedavi edilmeyen alanların CD8+T hücre yoğunluğu fazlayken, tedavi edilmesi sonucunda CD8+T hücrelerinin yoğunluğu azalmıştır. Bu sonuçlar göstermektedir ki kurkumin psöriaziz tedavisinde etkili bir madde olabilir ve fosforil kinaz aktivitesini azaltabilir. Kurkumin ve kalsipotriol ile tedavi edilen psöriazizli hastalarda azalan fosforilkinaz aktivitesi, keratinosit transferin reseptör ekspresyonu, parakeratoz şiddeti ve epidermal CD8+T hücreleri yoğunluğu ile ilişkilidir. Kurkumin indüklü fosforil kinaz aktivitenin baskılanması klinik, histolojik ve immünohistokimyasal kriterlere göre değerlendirilmiştir. Kurkumin çok düşük konsantrasyonlarda, *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* gibi bakterileri öldürmede fotosensitizan gibi etki göstermiştir (272).

Kurkuminin fotosensitizan etkileri psöriaziz tedavisindeki etkinliğini açıklayabilir. Psöriaziste farmakolojik tedaviler genellikle antiproliferatif, anti-enflamatuvar ya da farklılaşma-modifikasyon aktivitelerini ya da bunların kombinasyonlarını temel almaktadır. Birçok antipsöriatik ilaç gibi kurkuminin de keratinosit çoğalmasını inhibe ettiği gözlenmiş olup psöriaziste potansiyel bir baskılama ajanı olarak kullanılması önerilebilir (273).

Yapılan bir çalışmada oral olarak alınan kurkuminin psöriazis tedavisindeki etkinliği ve güvenilirliği araştırılmıştır. Psöriazis plaklı hastalarda faz iki safhasında yürütülen deneyde iki aşamalı olarak 4,5 g/gün kurkumin açık etiketli olarak uygulanmıştır. Çalışmanın bitiş noktasında gelişme skorları psöriazis alanı, şiddet indeksi ve güvenlik ölçülmüştür. Tedaviye yanıt oranı % 16,7 (% 95 güven aralığı)

ve psöriazis alanı ve şiddet indeks skoru 75 bulunmuştur. Katılımcılar arasında yan etki gözlenmemiştir. Araştırmacılar psöriazis tedavisinde tavsiye edilmeden önce büyük plasebo-konrollü gruplarda denenmesi gerektiğini düşünmektedirler (274).

2.3.18. Skleroderma Oluşumu Üzerindeki Etki

Skleroderma kollojen birikimindeki fazlalıktan ve fibroblastların aşırı çoğalmasından oluşan bir hastalıktır. Kurkuminin, protein kinaz C epsilonu (PKC ϵ) inhibe ederek akciğer fibroblastlarındaki çoğalmayı baskılayarak tedavide yarar sağlayabileceği düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada kurkuminin sklerodermalı akciğer fibroblastlarında protein kinaz C epsilonun ekspresyonu yoluyla apoptozu indüklediği ancak normal fibroblastlarda apoptozun olmadığı bulunmuştur. PKC epsilon ve faz 2 detoksifikasyon enzimlerinin, normal ve bozuk sklerodermalı akciğer fibroblastlarını apoptoza karşı koruyucu etki gösterdikleri gözlenmiştir. Çalışmalar sonucunda kurkuminin skleroderma tedavisinde etkili olabileceği öne sürülmüştür, zaten sıçanlarda yapılan birçok çalışmada çeşitli ajanlarla indüklenen akciğer fibrozisine karşı koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur (216,275-277).

2.3.19. Alerjik Reaksiyonlar ve Astım Üzerindeki Etki

Kobaylarda yapılan *in vivo* ve bazofillerdeki *in vitro* deneylerde kurkuminin hava yollarını temizlemeye yardımcı olabileceği ve antioksidan seviyeleri artırabileceği gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada sıçanlarda 5 hafta boyunca diyetle alınan kurkuminin (1, 20 ya da 40 mg/kg) antikor (IgG) üretimi üzerine etkisi, hipersensitivitedeki gecikme ve doğal öldürücü hücreler üzerindeki etkisi incelenmiştir. Yüksek dozlarda kurkumin IgG seviyelerini önemli ölçülerde artırmıştır fakat düşük dozlarda bu etki gözlenmemiştir. Herhangi bir kurkumin konsantrasyonunda gecikmeli hipersensitivitede ve doğal öldürücü hücre konsantrasyonunda kontrol grubuna göre bir değişiklik olmamıştır (278).

Ev tozu akarlarına karşı oluşan atopik astmada kurkuminin potansiyel etkisini gözlemlemek için lenfositlerdeki; IL-2, IL-5, granülosit makrofaj-kolon stimüle edici faktör (GM-CSF) ve IL-4 üretimine etkisi incelenmiştir. Kurkumin ev tozu akarlarıyla indüklenen lenfosit çoğalmasını ve IL-2 üretimini inhibe etmiştir. Ayrıca kurkumin IL-5, GM-CSF ve IL-4 üretimini inhibe etmiştir. Bu sonuçlar göstermiştir

ki kurkumin sitokinlerin üretimini inhibe ederek, eozinofil fonksiyonunu ve IgE sentezini etkileyerek alerji kontrolünde potansiyel etkili olabilir (279).

Başka bir çalışmada kobaylarda kurkuminin hava yolu aşırı duyarlılık-cevaplarına karşı anti-astım özellikleri incelenmiştir. Kobaylar ovalbumin ile duyarlı hale getirilerek astımın karakteristik özellikleri: alerjene bağlı hava yolu daralması ve histamine karşı hiper-reaksiyon geliştirmiştir. Kurkumin tedavisi duyarlılaşma sırasında ya da hava yolu reaksiyonları olduktan sonra yapılmıştır. Kurkumin tedavisi (20 mg/kg vücut ağırlığı) OVA-kaynaklı hava yollu daralmasını ve hiper-reaksiyonunu önemli ölçüde engellemiştir (280).

Kurkuminin sıçanlarda lateks alerjisine karşı immünomodülatör etkisi araştırılmıştır. Fareler lateks alerjenlerine maruz bırakılarak lateks alerjisi ve tiroid hormon (Th) 2-tipi bağışıklık yanıtı geliştirmiştir. Bu hayvanlar kurkuminle tedavi edilmiştir ve immünolojik, enflamatuvar cevapları değerlendirilmiştir. Latekse maruz bırakılan hayvanlar artan serum IgE, lateks spesifik IgG1, IL-4, IL-5, IL-13 ve eozonofil ve akciğerlerde enflamasyon oranı artmıştır. Kurkuminle intragastrik yoldan tedavi edilen farelerde akciğer inflamasyonu ve Th2 yanıtı eşzamanlı olarak azalmıştır. Bu sonuçlara göre kurkuminin alerjenlere maruz kalmada alerji kontrolü için potansiyel tedavi edici ajan olabileceği öne sürülebilir (281,282).

2.3.20. Antiplatelet Aktivite

Curcuma longa ekstresi, araşidonat indüklü platelet agregasyonunu araşidonik asit iletişimini ve deaçilasyonu bozarak inhibe etmiştir. Ekstre tromboksan B₂ üretimini inhibe ederken lipooksijenaz türevli bileşiklerin oluşumunda artışlar meydana gelmiştir. Turmerik'in antienflamatuvar aktivitesinin bir nedeni eikozonoit biyosentezindeki bu etkisinden kaynaklanıyor olabilir. Kurkuminle yapılan diğer bir çalışmada da benzer aktivite gösterdiği gözlenmiştir (283,284).

Kurkumin platelet agonisti epinefrin (200 µM), ADP (4 µM), platelet aktive edici faktör (PAF; 800 nM), kollojen (20 µg/mL) ve araşidonik asit (AA: 0.75 mM) kaynaklı platelet agregasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Kurkumin (IC₅₀; 25–20 µM), konsantrasyonda PAF ve AA-indüklü agregasyonu inhibe ederken daha yüksek konsantrasyonda diğer platelet agonistlerinin etkisini de inhibe etmiştir. Kurkumin

(IC₅₀; 70 µM) ayrıca plateletlerde tromboksan A₂ oluşumunu da inhibe etmiştir (285).

Ar-turmeron'un antiplatelet aktivitesi araştırılmıştır. Kollojen ve araşidonik asit kaynaklı platelet agregasyonunda güçlü inhibitör aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Yüksek dozda kurkumininde aynı etkiyi gösterdiği gözlenmiştir. PAF ya da trombin indüklü platelet agregasyonunda ise çok zayıf inhibitör aktivite gözlenmiştir ya da hiç gözlenmemiştir. Etanolik ekstrede, diğer komponentler hiç aktivite göstermemiştir. Aspirin ve ar-turmeronun platelet agregasyonu üzerindeki inhibitör etkisi karşılaştırılmıştır. Ar-turmeron kollojenle indüklenen platelet agregasyonunda daha etkin aktivite gösterirken, araşidonik asitle indüklenen platelet agregasyonunda aspirin 1,2 kez daha aktif bulunmuştur (286).

3. MATERYAL, GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Bitkisel Materyal

Curcuma longa L. rizomları Ankara'dan, İstanbul'un Avrupa ve Anadolu yakasından seçilen üç farklı aktardan toz edilmeden satın alınmış, morfolojik yapılarının farmakope ve monograftaki kayıtlı özelliklere uygun olup olmadıkları kontrol edilmiştir. Uygun olduğu saptanan numuneler daha sonra değirmende kaba toz haline getirilmiş ve Ankara'daki aktardan satın alınan numune NU-1, İstanbul Avrupa yakasından alınan NU-2 ve Anadolu yakasından temin edilen NU-3 olarak kodlanmıştır.

Gıda takviyesi olarak İstanbul'da satılan ve formülünde etken madde olarak toz *Curcuma longa* L. rizomunu bulunduran 2 farklı ticari markadan örnek alınmış, sert kapsüller açılmış ve içindeki toz numuneler NU-4 ve NU-5 olarak kodlanmıştır.

Numuneler analiz yapılacak yöntemlere göre uygun çözücülerle tüketilerek materyal olarak kullanılmıştır. Materyallerin hazırlanışı her kısımda ayrı ayrı açıklanmıştır.

3.2. Fitokimyasal Çalışmalar

3.2.1. Bitkisel Materyalden Tüketme

Bölüm 3.1'de belirtildiği şekilde hazırlanan materyallerden kurkuminoitler yönünden zengin ekstreleri elde etmek amacıyla 2 farklı yöntem uygulanmıştır.

- 1- NU-1'den 250 g tartılır. 250 mL kloroform ile 2 kez 50° C de 4 saat tüketilir. Kloroform (CHCl₃) uçurulur (287).
- 2- NU-1'den 250 g tartılır. Metanol (CH₃OH) ile 2 kez 50° C de 4 saat tüketilir. Metanol uçurulur.

3.2.2. Kromatografi

Numunelerden hazırlanan ekstreler içerdikleri etken maddeler yönünden İnce Tabaka Kromatografisi ile kontrol edilmiştir. Ekstredeki etken maddenin izolasyonu amacıyla değişik dolgu maddelerinin ve farklı solvan sistemlerinin kullanıldığı kolon kromatografisi yöntemleri ve fraksiyonların takibinde İnce Tabaka Kromatografisi kullanılmıştır. Saflaştırma işlemleri arasında preparatif ince tabaka kromatografisi

(pİTK) tercih edilmiştir. Preparatif ince tabaka kromatografisi, kromatografik yöntem ile birbirinden ayrılan lekelerin ayrı ayrı izole edilmesini sağlayan bir yöntemdir.

a) İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

SİSTEM-1

Adsorban: Kieselgel GF₂₅₄ (Merck Art 5554) 0.20 mm Alüminyum tabanlı

Solvan sistemi: Kloroform: Metanol: Su (61:32:7)

Revelasyon: UV₂₅₄; UV₃₆₆ Vanilin H₂SO₄ % 1

SİSTEM-2

Adsorban: Kieselgel GF₂₅₄ (Merck Art 5554) 0.20 mm Alüminyum tabanlı

Solvan sistemi: Kloroform: Metanol: Su (80:20:2)

Revelasyon: UV₂₅₄; UV₃₆₆ Vanilin H₂SO₄ % 1

SİSTEM-3

Adsorban: Kieselgel GF₂₅₄ (Merck Art 5554) 0.20 mm Alüminyum tabanlı

Solvan sistemi: Kloroform: Metanol: Su (90:10:1)

Revelasyon: UV₂₅₄; UV₃₆₆ Vanilin H₂SO₄ % 1

Yöntem: Ekstrelerin analizi ve kolon kromatografisi sırasında elde edilen fraksiyonların takibi standart maddeler ile karşılaştırılarak yürütülmüştür. Ayrımda kullanılacak solvan sistemi genellikle yarı yarıya oranlarda hazırlanır, kuru ve temiz kromatografi küvetine konular. Yeterli süre beklenerek doyunluğa erişmesi sağlanır. Hazır alüminyum tabanlı adsorbanlara nokta veya bant tatbik yapılır, 7-10 cm sürüklenmesi beklenir. Kurutulduktan sonra lekeler belirlenir.

b) Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Adsorban: Kieselgel PF₂₅₄ Merck 7749

Adsorban kalınlığı: 0,60 mm kalınlığında cam tabanlı

Solvan sistemi: Kloroform: Metanol: Su (90:10:1)

Yöntem: CAMAC adsorban kaplayıcı alet ile 20x20 cm'lik cam plaklara adsorban 0.6 mm kalınlığında kaplanır. Bir süre beklendikten sonra plaklar 110° C etüvde 20 dakika bekletilerek aktive edilir. Daha sonra soğutulduktan sonra NU-1 kodlu numuneden Silikajel kolon kromatografisi ile alınan etken maddeyi içeren fraksiyonun tamamı bant şeklinde plağa tatbik edilir. Solvan sisteminde sürüklenir,

kurutulur, UV lamba altında belirlenen aktif maddeyi tutmuş olan adsorban kısmı bir behere kazınır. Uygun bir solvan ile tüketilerek etken madde adsorbandan ayrılır, süzülür ve solvan uçurulur.

c) Kolon Kromatografisi

İzolasyon çalışmaları Ankara'dan alınan aktar numunesi üzerinden yürütülmüş diğer numunelerden elde edilen ekstreler aynı maddeleri taşıdığı için çalışılmamıştır. Denenen tüketme işlemleri içinde kurkuminoitler için geliştirilmiş olan tüketme işlemi (287) sonunda elde edilen 1.56 g ekstre 200 g silika jel bulunan 3 cm çapında 65 cm uzunluğundaki cam kolona tatbik edilir. Kloroform ile başlanır. Metanol miktarı artırılarak devam edilir.

Kolon-1 (KK-1)

Kolon: Cam (3cm çap x 65cm uzunluk)
 Adsorban: Kieselgel G 60 (Merck 6634) (200 g)
 Numune : Kloroform ekstresi (1,56g)
 Solvan sistemi: Kloroform; Kloroform: Metanol (95:5; 90:10; 85:15; 80:20, 70:30; 60:40); Metanol
 Fraksiyon : 15 mL fraksiyonlar halinde deney tüplerine toplanmıştır.

Kolonun Hazırlanması: Yeterli miktarda silikajel elüsyona başlanacak solvan sistemi ile süspansiyon haline getirilir ve bu karışım, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş olan cam kolona aktarılır. Kolondan yeterli miktarda solvan sistemi geçirilerek dolgu materyalinin yerleşmesi sağlanır ve adsorbanın üzerinde birkaç mm solvan kalıncaya kadar beklenerek kolon numunenin tatbik edilmesi için hazır duruma getirilir.

Numunenin Tatbiki: Numune elüsyona başlanacak solvan sisteminin uygun miktarı içinde çözülür ve bir pastör pipeti yardımıyla cam kolona uygulanır. Kolonun musluğu açılarak çözeltinin tamamının adsorbana geçmesi sağlanır. Yüzeyin bozunmasını önlemek amacıyla tatbikten sonra silikajelin üzerine pamuk yerleştirilir ve solvan sistemi yavaşça ilave edilerek elüsyona başlanır.

Kolon -2 (SK-1)

Kolon: Cam (1,5cm çap x 30cm uzunluk)

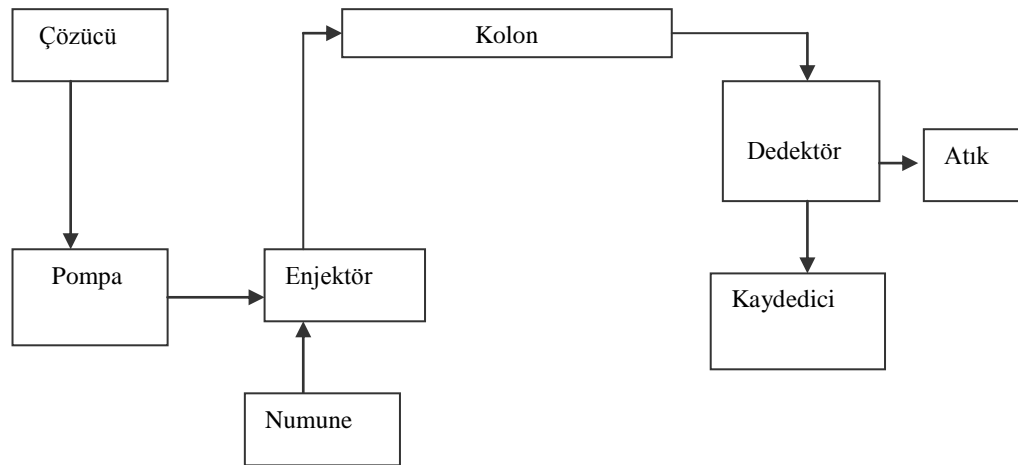
Adsorban: Sefadeks LH- 20 (Pharmacia)
 Solvan sistemi: Metanol
 Fraksiyon : 5 mL

Kolonun Hazırlanması: Yeterli miktarda sefadeks LH-20 uygun miktardaki metanol ile bir beherde karıştırılarak şişmeye bırakılır. Yeterli süre karıştırıldıktan sonra alt ucuna pamuk yerleştirilmiş olan cam kolona aktarılır. Kolondan yeterli miktarda metanol geçirilerek dolgu materyalinin yerleşmesi sağlanır ve adsorbanın üzerinde birkaç mm solvan kalıncaya kadar beklenerek kolon numunenin tatbik edilmesi için hazır duruma getirilir.

Numunenin Tatbiki: Numune yeterli miktarda metanol içinde çözülür ve bir pastör pipeti yardımıyla cam kolona uygulanır. Kolonun musluğu açılarak çözeltinin tamamının adsorbana geçmesi sağlanır. Yüzeyin bozunmasını önlemek amacıyla tatbikten sonra silikajelin üzerine pamuk yerleştirilir ve metanol yavaşça ilave edilerek elüsyona başlanır.

d) Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Duyarlılığı, uçucu olmayan veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen maddelerin ayrılmasını sağlaması, doğruluk dereceleri ve kesinlikleri yüksek sonuçlar vermesi nedeniyle, bütün analitik ayırma teknikleri arasında en yaygın kullanılanıdır. Bir HPLC cihazı temel olarak, hareketli faz haznesi, pompa, enjektör, kolon, dedektör ve kaydediciden oluşur. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatograf (HPLC) ana hatlarıyla Şekil 3.1'de şematik olarak gösterilmiştir (288,289).



Şekil 3.1 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatograf (HPLC) Cihazının Şematik Gösterimi

Kullanılan Cihaz:

- Agilent 1200 series
- G1311A dörütlü gradient pompa
- G1322A degaser
- G1329A otosampler
- G1330B termostat
- G1314B UV-dedektör
- Enjeksiyon hacmi: 100 µL
- G1316A sistem kontrolör

Uygulama Şartları

Tablo 3.1 HPLC Uygulama Şartları

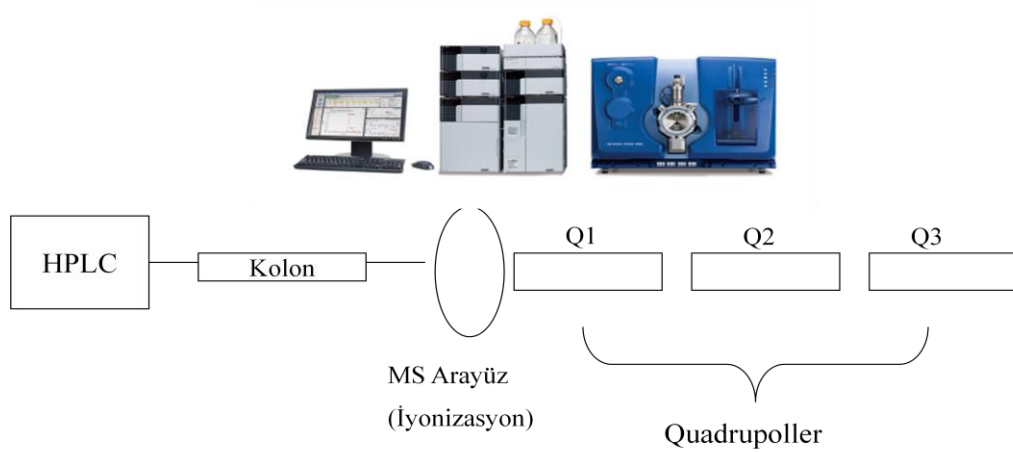
Kolon	Zorbax SB- C ₁₈ (4,6 x 75 mm i.d., 3,5 µm)
Mobil faz	Asetonitril : % 2 asetik asit : (40:60)
Sıcaklık	33°C
Örnek hacmi	20µL
Akış hızı	2 mL/dak
Dalga boyu	425 nm

Standart çözeltinin hazırlanması: NU-1 kodlu numuneden elde edilişi ve yapı tayini deneysel kısımda ayrıntılı olarak açıklanan kurkumin maddesi standart madde olarak kullanılır. Kurkumin asetonitrilde çözülerek 440 µg/mL konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlanır. Standart çözelti stok çözeltiden % 50 asetonitril kullanılarak ara stoklar 88, 44, 22 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanır. Kalibrasyon için tekrar % 50 asetonitrille seyreltmeler yapılarak 0,088, 0,176, 0,352 µg/mL (ppm) konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanır (290,291).

Numune hazırlanması: Bölüm 3.1 de belirtilen numunelerden (20 mg) tartılarak 50 mL lik balon jöjelere alınır. Üzerine yaklaşık 20 mL asetonitril ilave edilerek 10 dakika ultrasonik su banyosunda karıştırılır. Daha sonra 50 mL'ye tamamlanır (400 µg/mL). Bu stok çözeltidir. Bu çözeltiden 10 kez % 50 asetonitrille seyreltme yapılarak son konsantrasyonlara ulaşılır (40 µg/mL). Numune tartımlarındaki farklılıklar hesaplamalarda konsantrasyonlara yansıtılmıştır.

e) Sıvı Kromatografisi Tandem Kütle Spektroskopisi (LC-MS-MS) Yöntemi

Fizikokimyasal özelliklerine göre ayrılan moleküller kütle dedektöründe kütle/yük oranlarına göre parçalanmaktadır. İkinci kütle dedektöründe yüksek saflıktaki gaz ile iyonlarına dönüştürülmektedir. Duyarlılık ve hassasiyet sınırları çok gelişmiş olduğu için çok küçük konsantrasyonlarda bile moleküllerin miktar tayinlerine olanak sağlamaktadır (292).



Şekil 3.2 LC-MS-MS Cihazının Şematik Gösterimi

Kullanılan LC-MS-MS Cihazı

- API 5500
- Spark UPLC, SPH 1240
- Tarama tipi: MRM
- Polarite: pozitif
- Tarama modu: N/A
- İyon kaynağı: Turbo Spray
- Enjeksiyon hacmi: 100µl Curtain gas (CUR) : 20,0
- Çarpışma gazı (CAD): 7
- İyonsprey Voltaj (S): 5500,0
- Sıcaklık (TEM): 500,0
- İyon kaynağı Gaz 1 (GS1): 50,0
- İyon kaynağı Gaz 2 (GS2): 50,0

- Kolon: Zorbax SB-C₁₈ (4,6 x 75 mm i.d., 3,5 µm)

Uygulama Şartları:

Tablo 3.2 LC-MS-MS Uygulama Şartları

Su fazı (Pomp. A): % 2 asetik asit, Organik faz (Pomp. B): ACN

Zaman	Akış (mL/dk)	Pompa A %	Pompa B %
00:00:01	0.50	40	60
00:07:02	0.50	40	60

Standart çözeltinin hazırlanması: NU-1 kodlu numuneden elde edilişi ve yapı tayini deneysel kısımda ayrıntılı olarak açıklanan kurkumin maddesi standart madde olarak kullanılır. Kurkumin asetonitrilde çözülerek 440 µg/mL konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlanır. Standart çözelti stok çözeltilerden % 50 asetonitril kullanılarak seyreltilir ve kalibrasyon için 0.88, 1.76, 3.52 ppb konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanır.

Numune hazırlanması: Bölüm 3.1 de belirtilen numunelerden (20 mg) tartılarak 50 mL'lik balon jöjelere alınır. Üzerine yaklaşık 20 mL asetonitril ilave edilerek 10 dakika ultrasonik su banyosunda karıştırılır. Daha sonra 50 mL'ye tamamlanır (400 µg/mL). Bu stok çözeltilerdir. Bu stoklardan % 50 asetonitrille 1/1000, 1/2500 seyreltmeler yapılır.

f) Gaz Sıvı Kromatografisi ve GC-MS Uygulamaları

Curcuma longa L. rizomlarının taşıdığı uçucu yağ miktarını ve uçucu bileşiklerinin yapılarını tayin etmek amacıyla uygulanmıştır (293-295).

Materyal: Bölüm 3.1 de belirtilen numunelerden NU-1 kullanılır.

Yöntem: BP 1980 de ve Avrupa Farmakopesinde kayıtlı olan Clevenger cihazı ile 3 saat su buharı distilasyonuna tabi tutulur. Elde edilen uçucu yağ enjektörle alınır ve susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılır. Ağzı sıkı kapatılmış kaptaki buzdolabında saklanır.

GC Analiz Koşulları

Sistem	: Agilent 6890N GC
Kolon	: HP-Innowax (60m x 0.25mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı)
Taşıyıcı Gaz	: Helyum (0.8 mL/dak)
Sıcaklıklar	:
Enjeksiyon	: 250 °C
Kolon	: 60 °C'de 10 dak, 4 °C /dak artışla 220 °C'ye, 220 °C'de 10 dak, 1 °C /dak artışla 240 °C'ye
Dedektör	: 300 °C, FID (Flame Ionization Detector)

Bağıl tutunma indislerinin (RRI) hesaplanmasında *n*-alkanlar referans olarak kullanılır.

GC/MS Analiz Koşulları

Sistem	: Agilent 5975 GC-MSD
Kolon	: HP-Innowax (60m x 0.25mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı)
Taşıyıcı Gaz	: Helyum (0.8 mL/dak)
Sıcaklıklar	:
Enjeksiyon	: 250 °C
Kolon	: 60 °C'de 10 dak, 4 °C/dak artışla 220 °C'ye, 220 °C'de 10 dak, 1 °C/dak artışla 240 °C'ye
Split Oranı	: 40:1
Elektron Enerjisi	: 70eV
Kütle Aralığı	: 35-450 <i>m/z</i>

3.2.3. Kullanılan Cihaz ve Gereçler

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi	: Agilent 1200
Sıvı Kromatografisi–MS/MS	: API 5500
Gaz Kromatografisi	: Agilent 6890 N
Gaz Kromatografisi–Kütle Spektroskopisi	: Agilent 5975 GC/MSD
UV Spektrofotometresi	: Agilent 8453
Kütle Spektrometresi	: Water Zq
NMR Spektrometresi	: Bruker Avance 400 MHz; Varian Unity Inova 500 MHz Varian Mercury Plus 400 MHz

Liyofilizatör	: Virtis Freezemobile 6 Virtis 145 Mr Ba
Rotavapor	: Büchi R-200, Heidolph Laborota 4000
UV Lambası	: Camag
Kromatografi Tankı	: Camag (cam küvet, 22 x 23 x 8 cm)
Clevenger Cihazı:	: BP1980 - EuPharm
Ultrasonik Banyo:	: Transsonic 570

3.3. Standart Renk Tayin Yöntemi

Standart renk tayin yöntemi olarak Uluslararası Standart ISO 5566:1982 (E) Metodu (Turmerik renk maddeleri tayini) kullanılmıştır (40).

3.3.1. Uygulama alanı ve kapsam

Curcuma longa L. rizomlarının renk maddelerinin tanımlanması için spesifik bir spektrofotometrik yöntemdir.

3.3.2. Referanslar

ISO 948, Baharat ve çeşniler-örneklem

ISO 2825, Baharat ve çeşniler-Toprak altı bitkilerinin analizi için örnek hazırlama

3.3.3. Tanımlama

Curcuma longa L. (Turmerik) renk maddeleri: *Curcuma longa* L. rizomlarının kurkuminoit içeriği, kütlece yüzde olarak kurkumin cinsinden ifade edilir.

3.3.4. İlkeler

Curcuma longa L. renk pigmentlerinin sıcak etanol ile ekstraksiyonu, dilüsyonu ve maksimum dalga boyunda (425 nm) spektrofotometrik ölçümüne dayanır.

3.3.5. Reaktif

Etanol % 96 (v/v)

3.3.6. Aparatlar

Genel laboratuvar araçları:

- Yuvarlak tabanlı ekstraksiyon balonu, 100 mL kapasiteli geri soğutucu ile takılmış
- 1 mL lik pipet
- 100 mL, 250 mL lik balon jöjeler
- Spektrofotometre: Shimadzu UV- 2450 spektrofotometresi
- Optik genişliği 1 cm olan cam (silika) spektrofotometrik küvetler
- Analitik terazi

3.3.7. Örnek alma

Örnek 0,001 g hassasiyette yaklaşık 0,5 g tartılır, ekstraksiyon balonuna konur ve 30 mL etanol eklenerek geri çeviren soğutucu altında 2,5 saat kaynatılır. Ekstre soğutulularak 100 mL'lik balonjöjeye süzülür. Kalıntı da yıkanarak süzülür, balon jöjeye alınır. Etanol ile hacme tamamlanır. Ekstreden 5 mL alınarak 250 mL'ye seyreltilir. Dilüsyon etanol ile yapılır. Spektrofotometrik hücrelere alınarak etanole karşı 425 nm'de absorbans okunur.

3.4. Mineral Analizleri

3.4.1. Bitkisel Materyal

Bölüm 3.1 de belirtilen numuneler materyal olarak kullanılır.

Örnek Hazırlama

Her bir numune 3 seri halinde 0,5 gram mikrodalga kanallarının içine tartılarak kanalların 6'şar mL nitrik asit ve 4'er mL HCl eklenir ve Antonpaar Multiwave 3000 Mikrodalga çözümleme ünitesine konulur. Cihaz içinde materyallere 240° C sıcaklık ve 60 bar basınç 35 dakika sürecince uygulanır. Çözümleme işleminden sonra numuneler 2 saat oda sıcaklığında soğumaya bırakılır. Soğuyan numuneler 50 mL'ye bidistile su ile tamamlanır. Böylece analitik cihazlarımızda eser element bakılabilecek çözeltiler hazırlanmış olur.

3.4.2. Tanımlar

ASTM Standardı: American Society for Testing Materials tarafından kabul edilen standart maddeler

Çalışma Standardı: Ölçüm cihazını kalibre/kontrol etmek için rutin olarak kullanılan Sertifikalı Standard Referans Madde

Mix Standard Çözelti: Çalışma Standardından belli konsantrasyonlarda seyreltilerek hazırlanan Na, K, Ca, Mg, Al, Zn, Fe, Sb, Se, Cd, Hg, Pb, Ni, As, Mn, Cr, Cu elementlerinin kapsadığı çözelti

Cihaz Kontrol Standardı (TUNE): Cihazın performansının her çalışmada takip etmek amacıyla kullanılan sertifikalı bilinen konsantrasyonlardaki çoklu element standardıdır.

İnternal Standard: İnternal standart ICP-MS tekniğinde ölçüm doğruluğunun kontrol edilmesi amacıyla örneklere eklenen, tercihen örnekte bulunmayan bir elementin en bol bulunan izotopunu içeren çözeltidir.

Referans Standart Materyal (CRM): Kalibrasyon standartlarının kontrolü amacıyla, çalışma standartlarından farklı ve konsantrasyonları bilinen sertifikalı çözeltiler.

Boş Numune: Ultra saf su ile hazırlanan, matriks ile aynı asitlendirmeye tabi tutulan kalibrasyon başlama noktasını gösteren çözelti.

3.4.3. Kullanılan Gereç ve Sarf Malzemeleri

- Otomatik pipetler (5-50 µL, 10-100 µL, 100-1000 µL, 1-5 mL) ve uçları
- ICP- MS 7500 CE cihazı
- Bilgisayar ve Yazıcı
- Soğutma sistemi (çiller)
- Otomatik örnekleyici (oto sampler)
- Likit Argon Gazı (% 99.999 min. Saflıkta)
- Helyum Gazı (% 99.999 min. Saflıkta)
- USS cihazı
- Polipropilen (PP) balon joje (50, 100, 250 mL)
- Falkon tüpü (15, 50 mL)
- Pudralı eldiven ve pudrasız eldiven
- USS: ASTM Standartlarına uygun olarak type-1 kalitede üretilen su
- HNO₃ : % 60 Ultrapur, EPA-200.8, Ultrapur HNO₃ 1,37kg/L
- HCl : % 30 Ultrapur, EPA -200.8, Ultrapur HCl 1,15kg/L

3.4.4. ICP-MS Yöntemi

ICP-MS İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP) ve Kütle Spektrometresi (MS) olmak üzere iki ünitenin bileşiminden oluşur. Numunedeki elementler ICP'de iyonlaştırıldıktan sonra kütle spektroskopisine (MS) gönderilir ve burada kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılıp ölçülür. Numunelerin, ICP-MS Metodu ile Teknik elektromanyetik indüksiyonla 10,000°K sıcaklığa ulaştırılan argon plazması tarafından iyonize edilmesi, iyonize elementlerin kütle spektrometresi tarafından ayrıştırılması ve Na, K, Ca, Mg, Al, Zn, Fe, Sb, Se, Cd, Hg, Pb, Ni, As, Mn, Cr, Cu elementlerin miktarlarının elektron çoklayıcı bir detektör tarafından ölçülmesi prensibine dayanır (296).

Analiz Parametreleri:

a) Genel Bilgiler

Cihaz adı : Agilent ICP MS (İndüktif Eşleşmiş Plazma ve Kütle Spektrometresi)

b) İşlevsel Bilgiler

External sensitivite 500 Mcps/ppm Y değerinden büyük olmalıdır.

Sıcaklık aralığı 15-30°C aralığında olmalıdır.

Çalışılan kütle aralığı 2-260 amu arasındadır.

c) Metod Parametreleri

Tablo 3.3 ICP-MS Metod Parametreleri

Plasma Flow	15,0 L/min.
Aux Gas Flow	0,9 L/min.
Make Up	0,15 L/min.
Carrier gas Flow	0,9 L/min.
RF Power	15
Sampling Depth	8,0 mm
Pump rate	0.1 rps
Spray Chamber Quartz	2 °C
Nebulizer	Babington

d) Standartların Hazırlanması

Referans Standart Materyal (CRM)

- Tuncel Standard Çözeltisi: Stok çözültiden 1 µg/L olacak şekilde % 1 HNO₃ ilavesi ile hazırlanır.
- İnternal Standard Çözelti: Stok çözültiden 1 mg/L olacak şekilde % 5 HNO₃ ilavesi ile hazırlanır.
- % 2 HNO₃ yıkama çözeltisi: 100 mL'lik balon jöjeye yarısına kadar ultra saf su konur, ultra saf HNO₃ den 2 mL eklenir, ultra saf su ile 100 mL'ye tamamlanır.
- % 1 HNO₃ yıkama çözeltisi: 100 mL'lik balon jöjeye yarısına kadar ultra saf su konur, ultra saf HNO₃ den 1 mL eklenir, ultra saf su ile 100 mL'ye tamamlanır.
- Boş numune: 50 mL'lik balon jöjeye yarısına kadar ultra saf su konur, % 1 HNO₃ ve % 0,5 HCl (ultra saf) olacak şekilde asitlendirilerek 50 mL'ye USS ile tamamlanır.
- Çalışma Standard Çözültileri: Mix çözeltisinin konsantrasyonları sırasıyla: Na, K, Ca, Mg (100 mg/L), Hg(50 µg/L), Se, As, Sb, Cd (100 µg/L) ve Fe, Cu, Cr, Mn, Ni, Al, Pb, Zn (1000 µg/L)'dir. ICP-MS cihazına uygun stok çözültileri piyasadan ticari olarak temin edilir.

Karışım Standart Çözültilerinin Hazırlanması:

Çalışma standardından sırası ile;

- Standart 1 Çalışma standardından 0,25 mL, (Sadece Hg standart'ı için 0.5 mL);
- Standart 2 Çalışma standardından 1 mL;
- Standart 3 Çalışma standardından 2 mL;
- Standart 4 Çalışma standardından 3 mL;
- Standart 5 Çalışma standardından 4 mL;
- Standart 6 Çalışma standardından 5 mL alınır,
- % 1 HNO₃ ve % 0,5 HCl (ultrapur asitlerle) olacak şekilde asitlendirilerek 50 mL'ye USS ile tamamlanır.

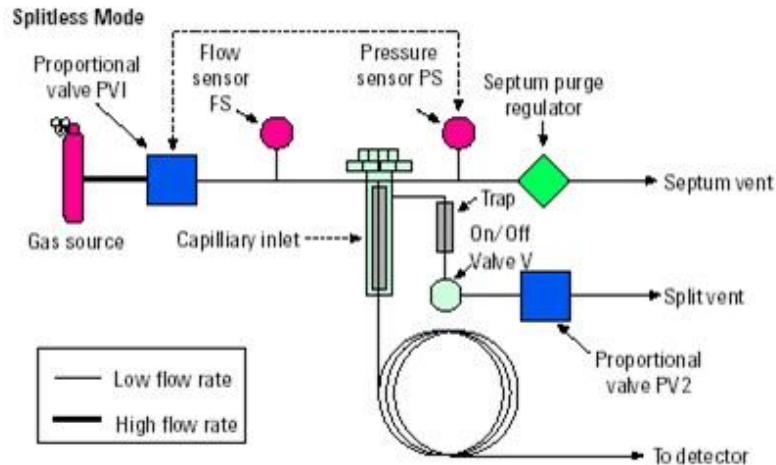
Hazırlanan standart çözeltilerinin konsantrasyonu aşağıdaki Tablo 3.4'te gösterilmiştir.

Tablo 3.4 Mineral içeren Standart Çözeltilerin Konsantrasyonları

KARIŞIMLAR	1. ÇÖZELTİ	2. ÇÖZELTİ	3. ÇÖZELTİ	4. ÇÖZELTİ	5. ÇÖZELTİ	6. ÇÖZELTİ
Se, As, Sb, Cd	0,5 µg/L	2 µg/L	4 µg/L	6 µg/L	8 µg/L	10 µg/L
Fe, Cu, Cr, Mn, Ni, Al, Pb, Zn	5 µg/L	20 µg/L	40 µg/L	60 µg/L	80 µg/L	80 µg/L
Na, K, Ca, Mg	0,5 mg/L	2 mg/L	4 mg/L	6 mg/L	8 mg/L	10 mg/L
Hg	0,5 µg/L	1 µg/L	2 µg/L	3 µg/L	4 µg/L	5 µg/L

3.5. Pestisit Analizleri

Modern kromatografide karışımın ayrıştırılmasında iki farklı faz kullanılır, bunlar sabit faz ve hareketli fazlardır. Sabit faz sıvı da olabilir katı faz da olabilir. Hareketli veya taşıyıcı denilen faz ise hem sıvı hem de gaz fazında olabilir. Kromatografik analizlerde hareketli fazın gaz olması durumunda sistem Gaz Kromatografisi (GC) diye tanımlanmaktadır. Uçucu organik bileşiklerin tespitinde oldukça yaygın olarak kullanılan GC, Çevre Mühendisliği alanında 1951 yılından itibaren gelişerek ve oldukça çok yönlü kullanımı olan bir teknolojidir. Özellikle rutin analiz yöntemleri ile belirlenmesi güç ve zaman alan kirleticilerin bu yöntemle belirlenmesi öncelikli tercih nedenidir. Gaz kromatografisinde analizi yapılacak bileşiğin mutlaka buharlaştırılması gerekmektedir. Bunun için bir GC cihazı toplamda 6 ana parçadan oluşmaktadır. Bunlar, taşıyıcı gazın basınç ayarını yapacak bir regülatör ve valf ünitesi, enjeksiyon sistemi, ayırma kolonu, dedektör, dedektörün içine konduğu ve sabit sıcaklığı sağlayan bölge ve bir kaydediciden oluşmaktadır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Enjektör yardımı ile gazların cihaza verildiği düzenek

Taşıyıcı gaz genelde Helyum, Hidrojen veya Azot olur. Belirli bir sıcaklıkta ve akım hızında karışımı kolon içinden süpürerek buharlaştırır. Numuneler genelde kolona bozunmaya neden olmayacak kadar kısa sürede ve küçük hacimlerde (μL) enjekte edilirler. Numune buharlaştırılarak gaz fazına dönüştürülür ve taşıyıcı gaz ile birlikte kolon içinde sürüklenir. Kolon boyunca kolon içinde ilk olarak adsorbe edilen madde sonradan gelen gaz ile tekrar desorbe edilir ve böylece kolonun değişik noktalarında ve değişik zamanlarda kolon içinde ortaya çıkan gazdaki pestisit parametresi bir dedektör yardımı ile kaydedilir. Çıkışlar kaydedicide pik şeklinde grafiğe dökülür. Her bir pik bir pestisit parametresini ifade eder. Gaz kromatografisinde farklı türden dedektörler kullanılmaktadır. Bunlar anaerobik gazların analizinde tavsiye edilen Termal İletkenlik Dedektörleri (TCD) yüksek hassasiyetteki inorganik ve organik bileşiklerin tespitinde kullanılan Alev İyonizasyon Dedektörleri (FID), çift bağlı küçük organik moleküllerin tespitinde ise Foto İyonizasyon Dedektörleri (PID), pestisit, trihalometan ve μg mertebesinde bulunan klorlu solventlerin tesbitinde ise Elektron Yakalama Dedektörleri (ECD) veya Elektrik İletkenlik Dedektörleri (ECD) gibi dedektörler kullanılmaktadır. Dedektör kompartımanının sıcaklığı örnek buharının yoğuşmasını önlemek amacı ile yeteri kadar yüksek sıcaklıkta olmalıdır. Dedektörler, üzerine gelen pikleri 1 sn ve daha kısa sürede yakalayabilmesi için kararlı, doğrusal ve üniform tepki vermelidir (297).

3.5.1. Materyal

a) Bitkisel Materyal

Bölüm 3.1 de belirtilmiş olan numuneler kullanılır.

b) Pestisit Standartları

Denemelerde fosforlu bileşik yapısında olan: diazinon, metalaksil, pirimifos-metil, kinalfos, ethion isimli pestisitler; klorlu bileşik yapısında olan: α -hch, hcb, γ -hch (lindan), heptaklor, aldrin, heptaklorekzoepoksit, α -endosülfan, pp-dde, dieldrin, pp-ddd, op-ddt isimli pestisitler kullanılır ve bu kimyasallar Dr. Ehrensorfer GmbH (Augsburg, Almanya) firmasından tedarik edilmiştir.

Tablo 3.5 Kullanılan Pestisit Standartlarının Özellikleri

Pestisit Standartları	Moleküler Ağırlığı (g/mol)	Sudaki Çözünürlüğü (g/100mL)	CAS Numarası
Diazinon	96.0874	0.004	333-41-5
Metalaksil	279.3315	0.84	57837-19-1
Pirimifos-metil	305.3336	-	29232-93-7
Kinalfos	298.2979	22	13593-03-8
Ethion	384.4761	-	563-12-2
α -hch	290.8298	-	319-84-6
Hcb (heksaklorobenzen)	528.5062	-	118-74-1
γ -hch (lindan)	290.83	-	58-89-9
heptaklor	373.3177	-	76-44-8
Aldrin	364.9099	-	309-00-2
heptaklorekzoepoksit	389.3171	-	1024-57-3
α -endosülfan	406.9251	0.32	959-98-8
pp-dde	318.02	0.00000013	72-55-9
dieldrin	380.9093	-	60-57-1
pp-ddd	320.04	-	72-54-8
op-ddt	354.4863	-	89-02-6
β -endosülfan	406.9251	<0.1	33213-65-9
pp-ddt	354.4863	0.00000017	50-29-3

c) Kullanılan Gereç ve Sarf Malzemeleri

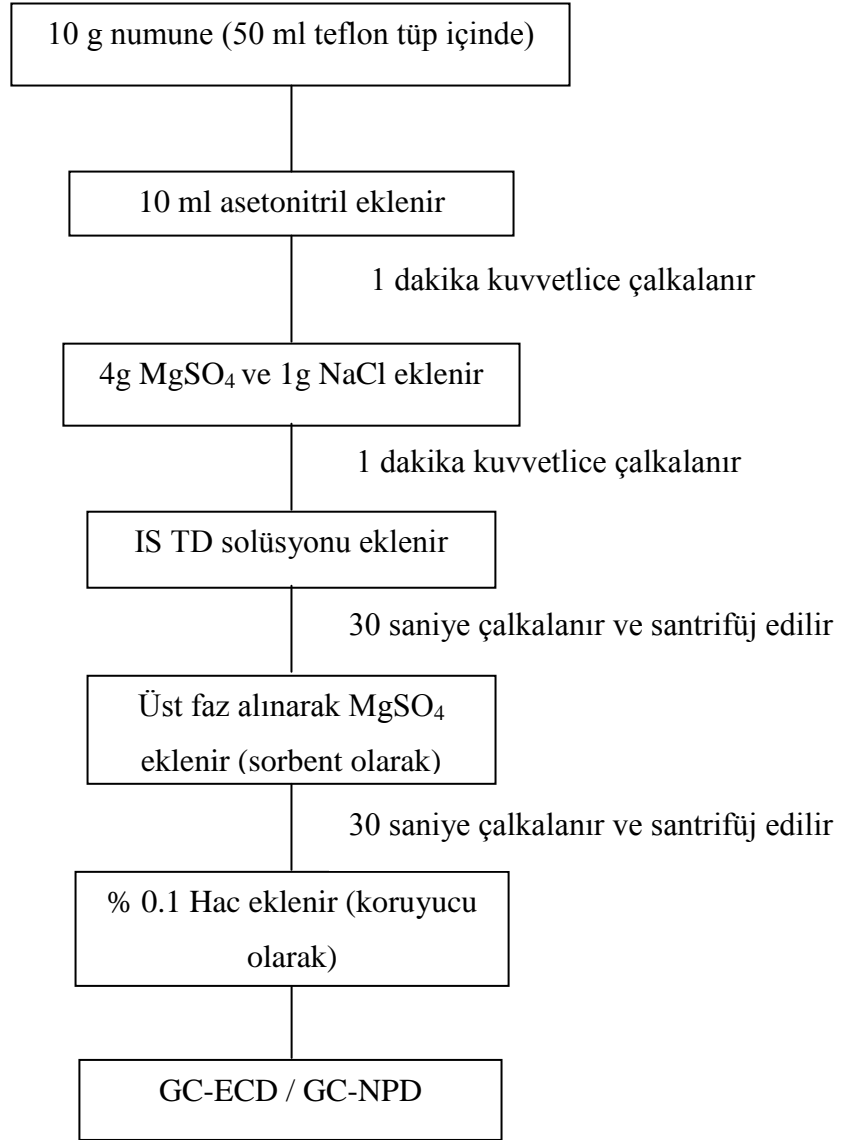
- Agilent 6890N GC-ECD cihazı
- NPD dedektörlü Gaz Kromatografi Cihazı
- Azot gazı
- Genel laboratuvar cam malzemeleri (A kalite)
- Mikro pipet
- 2 mL'lik vial
- MeoH
- Hekzan
- Distile su
- Sertifikalı Klorlu; α -hch, hcb, γ -hch (lindan), heptaklor, aldrin, heptaklorekzoepoksit, α -endosülfan, pp-dde, dieldrin, pp-ddd, op-ddt ve fosforlu; diazinon, metalaksil, pirimifos-metil, quinalfos, ethion standartları
- Asetonitril (>% 99,8)
- Magnezyum sülfat
- Sodyum klorür

3.5.2. Ekstraksiyon

Yiyeceklerdeki ve diğer matrikslerdeki pestisit kalıntılarının önemi anlaşılmaya başladığı andan itibaren pek çok ekstraksiyon yöntemi geliştirilmeye başlanmıştır. Bu yöntemler içinde geniş pestisit aralığında çalışılabilmesiyle ve yüksek kalitede sonuçlar vermesi nedeniyle QuEChERS yöntemi başarı kazanmıştır. Pestisit analizleri için hızlı, kolay, ucuz bir yöntemdir. Daha sonraki çalışmalarla yöntem 200'den fazla pestisit için valide edilmiştir (298,299).

Kuru toz halindeki örneklerin ekstraksiyonu QUECHERS yöntemine göre gerçekleştirilir. Yöntemin ayrıntıları Şekil 3.4'tedir. Buna göre Bölüm 3.1'de belirtilen örneklerden 1 g alınır, 10 mL asetonitril ilave edilir ve 1 dakika süreyle karıştırıcıda karıştırılır. 0.4 g MgSO₄ ve 0.1 g NaCl ilave edilerek 1 dakika daha karıştırılır. Karıştırma işleminden sonra 5 dakika 3000 rpm'de santrifüj edilir. Üst faz alındıktan sonra 0.1 g MgSO₄ ilave edilerek 30 saniye karıştırılır ve aynı şartlarda tekrar santrifüj edilmiştir. Daha sonra elde edilen üst faz pastör pipeti yardımıyla bir

viale alınır ve GC'ye enjekte edilir. Fosforlu ve klorlu pestisitler için aynı ekstraksiyon yöntemi kullanılır (Yöntemden uyarlanmıştır).



Şekil 3.4 Ekstraksiyon yöntemi (Mini-çoklu kalıntı metod-Quechers)

3.5.3. Analizler

Klorlu pestisitler

a) Analiz Parametreleri

- Kullanılan Cihaz: HP Agilent 6890 model elektron yakalayıcı dedektörlü (GC-ECD) gaz kromatografisi.

Çalışma koşulları:

- Kolon: Restek Rtx-CL pestisit 11323 kapiler kolon (30 m x 250 µm x 0,2 µm)
- Taşıyıcı Gaz : Helyum: 2,7 mL/dk
- Make up : Azot: 60 mL/dk
- Sıcaklıklar
 - İnlet sıcaklığı : 250°C
 - Dedektör (ECD) : 300°C
 - Oven

Tablo 3.6 Klorlu pestisitler fırın Sıcaklık çizelgesi

Oven Ramp	(°C/min)	Next(°C)	Hold(min)
Initial		70	2.00
Ramp 1	25	150	0.00
Ramp 2	3	200	0.00
Ramp 3	8	280	10

- Enjeksiyon Tipi : Splitless
- Enjekte Edilen Miktar: 1 µL
- Dedektör Tipi : Elektron Yakalayıcı Dedektör (ECD) (300)

b) Alıkonma Zamanlarının Belirlenmesi

Her bir alıkonma süresi önce ayrı ayrı, daha sonra da 13 pestisit standardının 5-10-47,4 µg/L konsantrasyonundaki çözeltilerinden enjekte ederek hazırlanan karışımın aynı koşullarda gaz kromatografisine enjeksiyonu sonucu belirlenir.

c) Kalibrasyon Eğrileri

Gaz kromatografisinde nicel analiz yapmak için hcb, α -hch, γ -hch (lindan), heptaklor, aldrin, heptaklorekzoepoksit, α -endosülfan, pp-dde, dieldrin, pp-ddd, op-ddt, β -endosulfan, pp-ddt pestisitlerinin karışımından oluşan bir stok çözelti hazırlanır. Bu stok çözülden 5 ppb, 10 ppb, 47,4 ppb konsantrasyonlarda ara stok çözeltiler hazırlanarak gaz kromatografisine enjekte edilir ve elde edilen piklerin alanları temel alınarak kalibrasyon grafikleri oluşturulur.

Fosforlu pestisitler

a) Analiz Parametreleri

- Kullanılan Cihaz: HP Agilent 6890 model Azot Fosfor Dedektörlü gaz kromatografisi (GC-NPD)

Çalışma Koşulları:

- Kolon: Agilent 19091J-413 HP-5 % 5 Fenil Metil Siloksan(30 m x 320 μ m x 0.25 μ m)
- Akış Hızları
 - Taşıyıcı Gaz He : 0.7 mL/dk
 - H₂ akış : 2 mL/dk
 - Air flow : 120 mL/dk
 - Make up Flow : 5 mL/dk
- Sıcaklıklar
 - İnlet sıcaklığı : 90 °C
 - Dedektör (NPD) : 300°C
 - Oven

Tablo 3.7 Fosforlu pestisitler fırın Sıcaklık çizelgesi

Oven Ramp	(°C/min)	Next(°C)	Hold(min)
Initial		100	0.5
Ramp 1	20	140	0.00
Ramp 2	4	210	1.0
Ramp 3	30	280	20.0

- Enjeksiyon Tipi: PTV
- Enjekte Edilen Miktar : 40 µL
- Dedektör Tipi: Azot Fosfor Dedektörü (GC-NPD) (301)

b) Alıkonma Zamanları

Her bir pestisit çözeltisi gaz kromatografisine tek tek enjekte edilir, daha sonra ayunu koşullarda 6 pestisit standardının 100-1000 ppb konsantrasyon aralığında hazırlanmış çözeltilerinden 3'er kez enjekte edilerek hazırlanmış karışımdan tatbik yapılır.

c) Kalibrasyon Çözeltileri

Gaz kromatografisinde nicel analiz yapmak için diazinon, metalaksil, primifosmetil, kinalfos, ethion, E-klorprifos pestisitlerinin karışımından oluşan bir stok çözelti hazırlanır. Bu stok çözeltilerden 100-1000 ppb konsantrasyon aralığında stok çözeltiler hazırlanarak gaz kromatografisine enjekte edilir ve elde edilen piklerin alanları temel alınarak kalibrasyon grafikleri oluşturulur.

İstatistiksel Değerlendirme

Güvenilirlik, bir değişkenin çoklu ölçümlenmeleri arasındaki tutarlılık ve bağlılık derecesini göstermektedir. İncelenmek istenen konu için benzer ölçütler kullanılarak benzer sonuçların alınması, bu ölçümlemenin de tesadüfi olmaması ve yanılğılardan uzak olması gerekmektedir. Güvenilirlik analizindeki amaç, alınan ve ölçümlenen cevapların farklı zamanlarda ya da örneklerde çok fazla değişkenlik göstermesinin engellenerek, ölçümlemenin güvenilir olmasının sağlanmasıdır (302).

Güvenilirlik analizi ölçümünde öğelerin özet ölçek skoru ile ve kendi aralarındaki korelasyon katsayılarının incelenmesi gerekmektedir. Burada öğelerin toplama olan korelasyonun 0.50, kendi aralarındaki korelasyonun ise 0.30 sınırının üstünde olması tavsiye edilmektedir (302).

Güvenilirlik analizinde kullanılabilen en yaygın ölçüt ise Cronbach Alfa değeridir. Formül (3.1'de de görülebileceği gibi benzer özellik gösteren öğelerin alfa katsayısı da yüksek olacaktır. Literatürde genel olarak katsayı için alt limit 0.70 olarak kabul görmek ile birlikte, araştırmalarda bu değer 0.60'a kadar düşebilmektedir.

$$Cronbach \alpha = \left(\frac{k}{k-1} \right) \left(1 - \frac{\sum_{i=1}^k S_i^2}{S_p^2} \right) \quad (3.1)$$

k = ölçek içindeki öğe sayısı

S_i^2 = öğe i'nin varyansı

S_p^2 = toplam skorun varyansı

3.6. Aktivite Çalışmaları

3.6.1. Kurkuminin Lenfosit DNA Hasarına Etkilerinin İncelenmesi, Alkali Tek hücre Jel Elektrofrez (Comet Assay)

Bu çalışmada kurkuminin çeşitli dozlarının genotoksik ve hidrojen peroksit karşı antigenotoksik etkileri insan lenfositlerinde comet yöntemi ile araştırılmıştır. Yapılan literatür taramaları sonucunda 2.5, 5, 7.5, 10, 25, 50 μ M konsantrasyonları uygulama konsantrasyonları olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar lenfositlere hem tek başına uygulanarak bu bileşiğin genotoksik etkisi araştırılmış hem de madde uygulamasının hemen ardından hidrojen peroksit hasarı oluşturulan hücrelerde DNA hasarına karşı olası koruyucu etkileri araştırılarak antigenotoksik etkileri belirlenmiştir. Deneylerde kurkuminin DNA hasarını nasıl etkilediğinin belirlenmesi için bir kontrol grubu, bir de pozitif kontrol grubu oluşturulmuştur. Deneyler üç ayrı zamanda üç kez tekrarlanmış ve yine her bir çalışmada tüm konsantrasyonlar iki tekrarlı olarak çalışılmıştır (303,304).

a) Deneyin Yapılışı

Lenfositlerde DNA hasarının tek hücre jel elektrofrez tekniği ile *in vitro* tayini için; içinde heparin bulunan steril bir enjektörle sağlıklı vericiden kan örneği alınmıştır. Alınan kan örneği 1:1 oranında PBS ile seyreltilmiştir. Seyreltilmiş kan örneği lenfosit ayırıcı solüsyon ficoll (Lymphoprep) eklenerek 20 dakika 2400 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonunda ficoll üzerinde ince bir tabaka halinde bulunan lenfositler alınarak lenfosit izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Alınan lenfositler steril tüpe konarak üzerine PBS eklenmiş, tekrar 20 dakika 2400 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant atılarak dipteki hücreler PBS içinde karıştırılarak homojen bir çözelti elde edilmiştir. Ependorflara alınan hücrelere

kurkuminin 6 farklı konsantrasyonu eklenerek PBS ile son hacim 1 mL'ye tamamlanmıştır. Kontrol grupları ve kurkuminin farklı dozlarını içeren hücre süspansiyonları 37 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra hücrelere pozitif kontrol olarak 50 µM H₂O₂ eklenerek 5 dakika buz banyosunda inkübe edilmiştir. Hücreler düşük erime ısı agar ile karıştırılarak daha önceden normal erime ısı agar ile kaplanmış olan lamlara yayılarak üzerine lamel kapatılmıştır. Lamlar buz üzerinde bekletilerek agarın katılaşması sağlanıp agar üzerindeki lamel agar tabakası bozulmadan dikkatlice alınmıştır. Lamlar daha önceden hazırlanarak buzdolabında bekletilen soğuk lizis çözeltisi içine daldırılarak en az 1 saat süreyle buzdolabında bekletilmiştir. Lizis işlemi sonrası lamlar elektroforez tankında soğuk elektroforez tamponu içinde 20 dakika bekletilmiş, takiben 25 V 300 mA akım verilerek 20 dakika elektroforez işlemi uygulanmıştır. Elektroforezden sonra lamlar 15 dakika süreyle nötralizasyon tampon çözeltisinde bekletilmiştir. Bu işlemler ek bir DNA hasarını önlemek üzere karanlıkta yapılmıştır. Lamlar üzerine etidyum bromür çözeltisi ilave edilip lamel kapatıldıktan sonra floresan mikroskop altında 40x büyütmede incelenmiştir. Her preparatta 100 hücre (her konsantrasyon için toplam 300 hücre) comet bilgisayar analiz programı ile değerlendirilerek DNA hasar derecesi kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti olarak değerlendirilmiştir. Tüm veriler SPSS 15.0 bilgisayar programında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak değerlendirilmiş, uygulama grupları kontrol ve pozitif kontrol ile karşılaştırılarak istatistiksel anlamlılıkları belirlenmiştir.

b) Kullanılan çözeltiler

Normal Erime Noktalı Agar (NMPA) Çözeltisi: 500 mg NMPA tartılır. Kaynar su banyosu kullanılarak 50 mL PBS içinde çözülür. Küçük hacimler halinde buzdolabında saklanır.

Düşük Erime Noktalı Agar (LMPA) Çözeltisi: 125 mg LMPA tartılır. Kaynar su banyosu kullanılarak 25 mL PBS içinde çözülür. Küçük hacimler halinde buzdolabında saklanır.

Elektroforez Tampon Çözeltisi: 1705 mL soğuk distile su, 52.8 mL 10 N NaOH, 8.8 mL 200 mM EDTA çözeltisi karıştırılır. Deney günü taze hazırlanır.

Etanol Çözeltisi (% 75): % 99.8'lik mutlak etanol çözeltisinden 225.5 mL alınır, 300 mL'ye distile suyla tamamlanır.

Etanol Çözeltisi (% 50) : % 99.8'lik mutlak etanol çözeltisinden 150.3 mL alınır, 300 mL'ye distile suyla tamamlanır.

Etidiyum Bromür Çözeltisi: 10 mg etidiyum bromür 50 mL distile suda çözülerek 200 µg/mL'lik stok etidiyum bromür çözeltisi hazırlanır. Oda sıcaklığında saklanır. Stok etidiyum bromür çözeltisinden 1 mL alınıp distile su ile 10 mL'ye tamamlanarak 20 µg/mL'lik etidiyum bromür çözeltisi hazırlanır. Oda sıcaklığında saklanır.

200 mM EDTA Çözeltisi: 14.89 g EDTA 200 mL distile suda çözülüp pH 10'a ayarlanır. Oda sıcaklığında saklanır.

Fosfat Tamponlu Serum Fizyolojik Çözeltisi (PBS) : 1 PBS tableti 200 mL distile suda çözülür. 4⁰C'de saklanır.

H₂O₂ Çözeltisi : % 35'lik H₂O₂ çözeltisinden 9.7 µL alınır, 4⁰C'de 991.3 µL distile suyla 1 mL'ye tamamlanır. Çözelti 1 hafta buzdolabında saklanabilir. Deney günü 0.1 M H₂O₂ çözeltisinden 20 µL alınıp 4⁰C'de 1980 µL PBS ilave edilerek 1 mM H₂O₂ çözeltisi hazırlanır.

Lizis Çözeltisi: 146.1 g NaCl, 37.2 g EDTA, 1.2 g Tris tartılıp 500 mL distile suda çözülür. 10 g NaOH eklenerek pH 10'a ayarlanır. 10 g N-Lauril sarkosinat sodyum tuzu eklenir. Distile suyla 890 mL'ye tamamlanıp çözününceye kadar karıştırılarak stok lizis çözelti hazırlanır. Oda sıcaklığında saklanır. 178 mL stok lizis çözelti, 2 mL Triton x-100 ve 20 mL DMSO ile karıştırılır. Deney günü taze hazırlanır, kullanılacağı zamana kadar buzdolabında tutularak soğuk çözeltisi kullanılır.

Nötralizasyon Tampon Çözeltisi: 48.5 mg tris 750 mL distile suda çözülüp pH 7.5'e ayarlanır. Distile suyla 1000 mL'ye tamamlanır. Oda sıcaklığında saklanır.

10 N NaOH: 200 g NaOH 500 mL distile suda çözülür. Oda sıcaklığında saklanır.

3.6.2. DNA Kurkumin Etkileşimi

Bölüm 3.1 de açıklanan NU-1 materyalinden elde edilen ve yapısı aydınlatılan kurkumin 50-05 µM konsantrasyonlarda hazırlanmış ve plazmid DNA ile 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. Değişik konsantrasyonlarda hazırlanmış kurkuminin DNA zincirinde kırılmalara neden olup olmadığı araştırılmıştır.

Kurkuminin DNA üzerine etkisinin bağlanma şeklinde olup olmadığını ayrıca DNA'ya bağlanıyorsa hangi nükleotide bağlandığını anlamak için kurkumin ile inkübe edilmiş DNA BamHI ve HindIII enzimi ile kesime tabi tutulmuştur. Etkiler elektroforez yöntemi ile kontrol edilmiştir.

3.6.3. Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) Yöntemi ile Kurkuminin Antioksidan Aktivite Tayini

TEAC yöntemi total antioksidan kapasite ölçümünde en sık kullanılan spektrofotometrik bir yöntemdir. Sentetik 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)'in (ABTS) bir elektron ile oksidasyonu sonucu 700-750 nm'de yüksek absorban veren $ABTS^+$ radikali oluşur ve yöntem bu radikalın nötralizasyonuna dayanır. $ABTS^+$ radikali, potasyum persülfat veya hidrojen peroksit ile enzimatik peroksidaz reaksiyonu sonucu okside edilmiş methemoglobin ile ABTS arasındaki oksidasyon reaksiyonu sonucunda oluşturulur. Radikal hızlıca renksiz ABTS oluşturmak üzere elektron/hidrojen donörü olarak hareket eder. Reaksiyon pH'dan bağımsızdır. $ABTS^+$ konsantrasyonu antioksidan konsantrasyonuna bağlı olarak lineer şekilde azalır. Kalibrasyon standardı olarak (vitamin E) kullanılır (305).

a) Deneyin Yapılışı

1 mL 14 mM ABTS ve 1 mL 4.9 mM potasyum peroksidisülfat karışımı bir gece buzdolabında bekletilir. Bu çözelti karışımı 734 nm'de UV floresan spektrofotometrede yaklaşık 1,4 absorban değeri verecek şekilde mutlak etanolle dilüe edilir. Kör olarak mutlak etanolle sıfır ayarı yapılır. 100 µL mutlak etanolle 100 µL dilüe ABTS-potasyum peroksidisülfat karışımının 734 nm'de UV floresan spektrofotometrede absorban değeri ölçülür. 100 µL dilüe ABTS-potasyum peroksidisülfat ile 100 µL troloksun etanoldeki çözelti karışımının 734 nm'de UV floresan spektrofotometrede absorban değeri ölçülür. 100 µL 2, 2.5, 5, 7.5, 10, 25, 50, 100 ve 200 µM konsantrasyonlarda troloks ile bitkisel ekstreden elde edilen kurkuminin 734 nm'de UV floresan spektrofotometrede 100 µL dilüe ABTS-potasyum peroksidisülfata karşı absorban değeri ölçülür.

b) Kullanılan Çözeltiler

4.9 mM Potasyum peroksidisülfat: 6.66 mg potasyum peroksidisülfat 5 mL distile suda çözülür.

5 mM Troloks Çözeltisi: 12.5 mg troloks 10 mL etanolde çözülür. Çözelti karanlıkta taze hazırlanır.

50 µM Troloks Çözeltisi: 5 mM'lık troloks çözeltisinden 20 µL alınır 1980 µL etanolde çözülür. Çözelti karanlıkta taze hazırlanır.

1 mg/mL Troloks Çözeltisi: 10 mg troloks 10 mL etanolde çözülür. Çözelti karanlıkta taze hazırlanır.

10 µg/mL Troloks Çözeltisi: 1 mg/mL troloks çözeltisinden 10µL alınır 990 µL etanolde çözülür. Çözelti karanlıkta taze hazırlanır.

3.6.4. Antimikrobiyal Aktivite

Disk Difüzyon Yöntemi

Müeller-Hinton Agar ve Nutrient Broth bakteriler 37 °C'de, mayalar 30 °C'de çoğaltılmıştır. Çalışmada 10^6 - 10^7 cfu/mL hücre konsantrasyonunu ihtiva eden bakteri süspansiyonu besiyerinin yüzeyine homojen bir şekilde yayılmıştır. Daha sonra besiyerine açılan kuyucuklara çeşitli konsantrasyonlarda kurkumin çözeltisi ilave edilmiştir. Belli bir süre (2 saat) buzdolabında 4 °C de bekletildikten sonra petri kapları 37 °C ve 30 °C de 24 (bakteri)/48 saat (maya) inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda oluşan zon çapları milimetrik olarak ölçülmüştür. Çalışma üç kez tekrarlanmış, negatif kontrol olarak DMSO, pozitif kontrol olarak kloramfenikol ve ampisilin standard antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Çalışmada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (G+), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (G-), *Escherichia coli* ATCC 25922 (G-), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Bacillus cereus* NRRL-B-3711 (G+), ve *Enterococcus faecalis* ATCC 292112 (G+) bakterisi, *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803 mayası kullanılmıştır.

3.6.5. İstatistiksel Yöntemler

Tek hücre jel elektroforez deneyinde sonuçlar negatif kontrol (% 1 DMSO) ve pozitif kontrol (H₂O₂) ile karşılaştırıldı. Her uygulamada 100 hücre (toplam 300 hücre), floresan mikroskobunda değerlendirilerek, bilgisayarlı görüntüleme sistemi ile (Comet Analysis Software, version 3.0) DNA hasar derecesi kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti olarak değerlendirildi. Lenfositlerde DNA

hasarının tek hücre jel elektroforezi ile istatistiksel değerlendirmesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA), LSD testi kullanılmıştır.

Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) yönteminde kurkumin ile troloks karşılaştırılmıştır. Kurkuminin belli konsantrasyonuna karşı aynı konsantrasyonlarda troloksun absorbans değerlerinin istatistiksel karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA), LSD testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmalarımızda elde edilen bulgular fitokimyasal ve aktivite olarak iki ana başlıkta incelenmiştir.

4.1. Fitokimyasal Bulgular

Bu başlık altında incelenen 4.1.3. Kurkuminoitlerin Yapı tayini alt başlığında analizlerde kullanılan etken maddeler Bölüm 3. Materyal Gereç ve Yöntemler kısmında açıklanan şekilde yürütülmüştür. Burada KK-1 kolonundan 95:5 (Kloroform: Metanol) solvan sistemiyle elde edilen fraksiyon 8-18 yoğunlaştırılmış, İTK ile kontrol edildikten sonra uçurularak metanolde çözülmüş ve buzdolabında kristalizasyona bırakılmıştır. Saflaştırma işlemi için SK-1 kolonu kullanılmış, İTK ile saf gözüken CL-1 ve CL-2 elde edilmiştir. Maddeler preparatif ince tabaka kromatografisine tatbik edilmiş ve daha sonra yapı tayini analizlerine uygulanmıştır.

4.1.1. Uçucu Yağ

Aktarda satılmakta olan *Curcuma longa* L. rizomlarından satın alınan NU-1 numunesi morfolojik kontrolleri yapıldıktan sonra kabaca toz edilmiştir. 3 saat su buharı distilasyonuna tabi tutulmuştur. Biriken uçucu yağ alınmış, suyundan kurtarılarak verim hesaplanmıştır. % 1,2 (h/a) olarak saptanan yağ daha sonra yapı analizine tabi tutulmuştur.

Elde edilen uçucu yağın yapısı gaz kromatografisi ve GC-MS ile aydınlatılmıştır. Sonuçlar Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Değerlendirme işlemleri "Baser Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi"nin yanı sıra Wiley GC/MS, Adams ve MassFinder 3 Kütüphane Tarama Yazılımları kullanılarak yapılmıştır.

Tablo 4.1 *Curcuma longa* L. uçucu yağı analiz sonuçları

RRI: Polar kolon için Kovats indisi; %: Alev İyonlaşma Dedektör (FID) ile sonuçlarıdır.

RRI	Bileşik	%
1176	α -Fellandren	0.6
1203	Limonen	0.1
1213	1,8-Sineol	0.8
1280	<i>p</i> -Simen	0.6
1612	β -Karyofillen	0.3
1668	(<i>Z</i>)- β -Farnesen	0.2
1706	α -Terpineol	0.2
1726	α -Zingiberen	1.3
1741	β -Bisabolen	0.4
1758	(<i>E,E</i>)- α -Farnesen	0.2
1783	β -Seskifellandren	1.1
1786	<i>ar</i> -Kurkumen	1.2
1797	<i>p</i> -Metil asetofenon	0.1
1823	<i>p</i> -Menta-1(7),5-dien-2-ol	0.3
1845	(<i>E</i>)-Anetol	0.1
1864	<i>p</i> -simen-8-ol	0.2
1871	Traginon	0.1
2096	<i>cis</i> -Seskisabinen hidrat	0.7
2191	Zingiberenol	1.1
2200	Turmeron	17.7
2214	Ar-Turmerol	1.7
2268	Turmerol	16.8
2282	<i>ar</i> -Turmeron	38.4
2312	Bisakumol (Izomer II)	2.2
2324	(6 <i>S</i> ,7 <i>R</i>)-Bisabolen	1.2
2353	<i>trans</i> - α -Atlanton	2.5
2354	Bisakumol (Izomer I)	0.5
2360	Bisakurol	0.8
2640	Kurkufenol	0.3
	Tayin edilen total bileşik	91.7

Uçucu yağın kimyasal yapısı incelendiğinde *ar*-turmeron, turmeron ve turmerol yapısının ana maddeler olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar literatür bulgularıyla örtüşmektedir.

4.1.2. Kurkuminoitlerin Miktar Tayini Çalışmaları

a) Spektrofotometrik Yöntemle Kurkuminoitlerin Miktar Tayinine Ait

Bulgular

Uluslararası Standart ISO 5566:1982 (E) Metodu (Turmerik renk maddeleri tayini) ile yürütülen deney sonucu elde edilen *Curcuma longa* L. renk pigmentleri (kurkuminoitler) kütlece yüzde kurkumin cinsinden ifade edilmiştir. Hesaplama kullanılan formül (4.1) aşağıda gösterilmiştir:

$$\frac{A \times D \times 100}{E_{1\text{cm}\%} \times m} \Rightarrow \frac{A \times D \times 100}{1607 \times m} \quad (4.1)$$

A: Ölçülen Absorbans

D: Ekstraktın dilüsyon faktörü:

$$100/1 \times 50/100 = 50 \text{ (NU1 – NU4 numunelerinde kullanılmıştır)}$$

$$100/1 \times 250/100 \times 10 = 2500 \text{ (NU 5 için kullanılmıştır)}$$

$E_{1\text{cm}\%}$: 1cm lik küvette 425 nm de kurkuminin verdiği spesifik absorbans değeri:
1607

m: kütle, gram cinsinden test materyali

Buna göre **NU-1** örneği için:

$$\begin{aligned} \text{Toplam kurkuminoit yüzdesi} &= 0,2012 \times 50 \times 100 / 1607 \times 0,5325 \\ &= \% 1,18 \end{aligned}$$

Çalışılan numunelerde bulunan total kurkuminoit değerleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2 Spektrofotometrik Yöntemle Hesaplanmış Zerdeçal Numunelerindeki Total Kurkuminoit Miktarları

NU-1: Ankara'daki aktar numunesi, NU-2: İstanbul Avrupa yakasından alınan aktar numunesi; NU-3: İstanbul Anadolu yakasından alınan aktar numunesi; NU-4: Gıda takviyesi numunesi; NU-5: Gıda takviyesi numunesi. *: (1/10 seyreltik)

	Tartım Miktarı (g)	Absorbans	Total kurkuminoit %
NU-1	0,5325	0,2012	% 1,18
NU-2	0,5093	0,2224	% 1,13
NU-3	0,5129	0,1356	% 0,82
NU-4	0,5094	0,2573	% 1,57
NU-5	0,5020	0,2932*	% 91

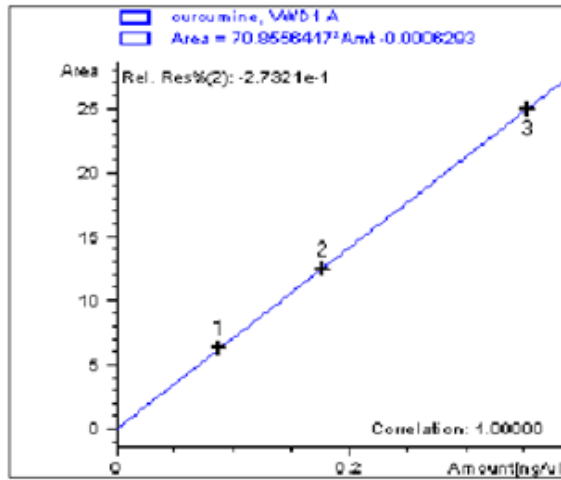
Elde edilen sonuçlara göre piyasada aktarlarda ve bitkisel ürün olarak dükkanlarda satılan zerdeçal örneklerinin tümü belli bir miktarda kurkuminoit taşımaktadır.

b) Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Yapılan Çalışmalara ait Bulgular

Numunelerin ve standart çözeltilerin hazırlanışı ile ilgili bilgiler detaylı olarak Materyal Yöntem kısmında açıklanmıştır.

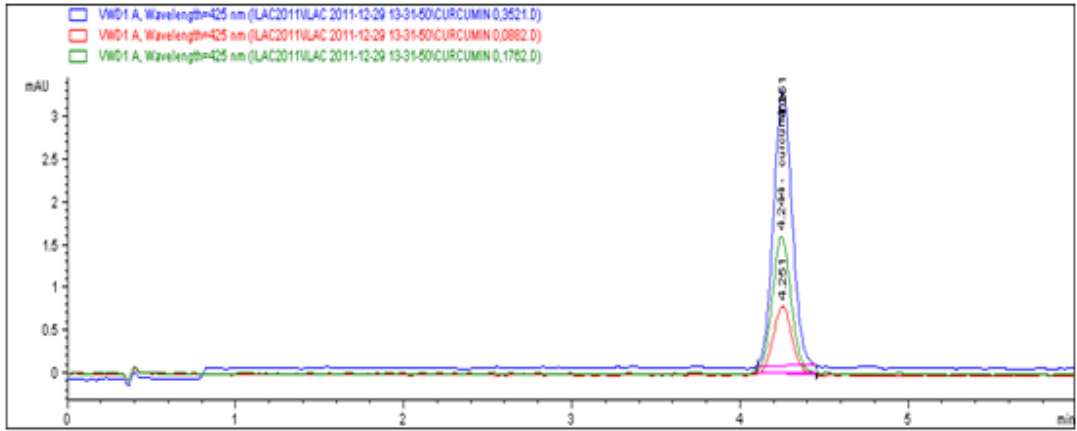
Kalibrasyon Eğrisi

Çalışılan numunelerdeki konsantrasyon alanlarının standart maddeye göre düşük olması nedeniyle kalibrasyon eğrisi için standart madde asetonyril ile tekrar seyreltilmiş 0,088, 0,176, 0,352 µg/mL (ppm) konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır. Standart kromatogramları Kromatogram 4.1'de, kalibrasyon eğrisi de Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

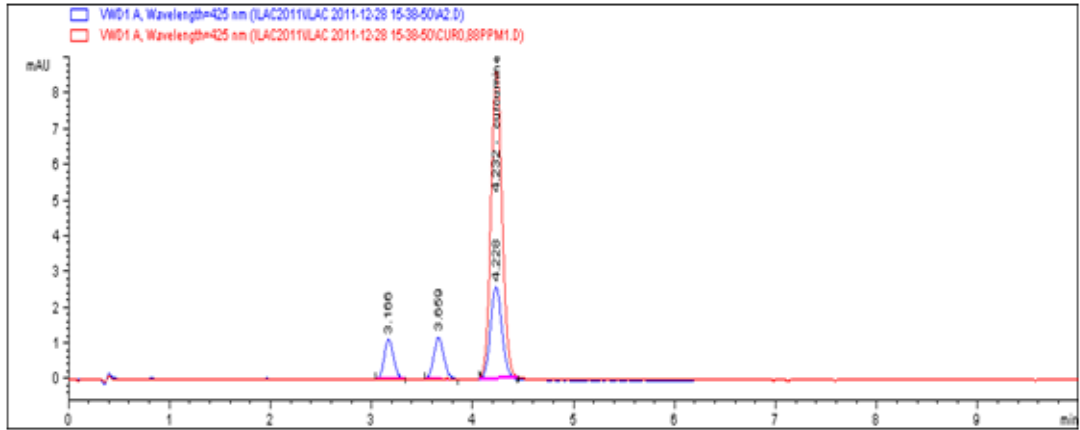


Şekil 4.1 HPLC kalibrasyon eğrisi

Zerdeçal üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda, tekrarlanabilir sonuç veren analiz yöntemi geliştirilmiş ve hassasiyet oranı yüksek bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. ($Y=70,85564x - 0,000629330$ $r = 0,99992$, $r^2 = 0,02978$)



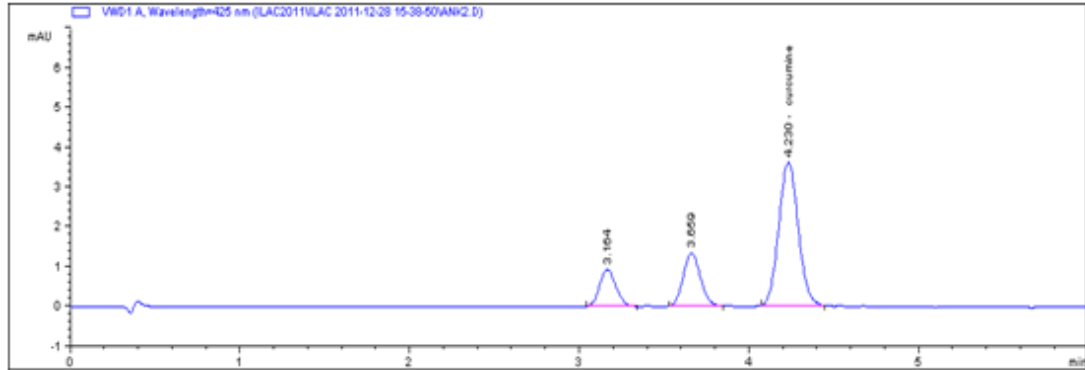
Kromatogram 4.1 Kurkumin HPLC Standart Kromatogramları (0,088 / 0,176 / 0,352 ppm konsantrasyonlarda)



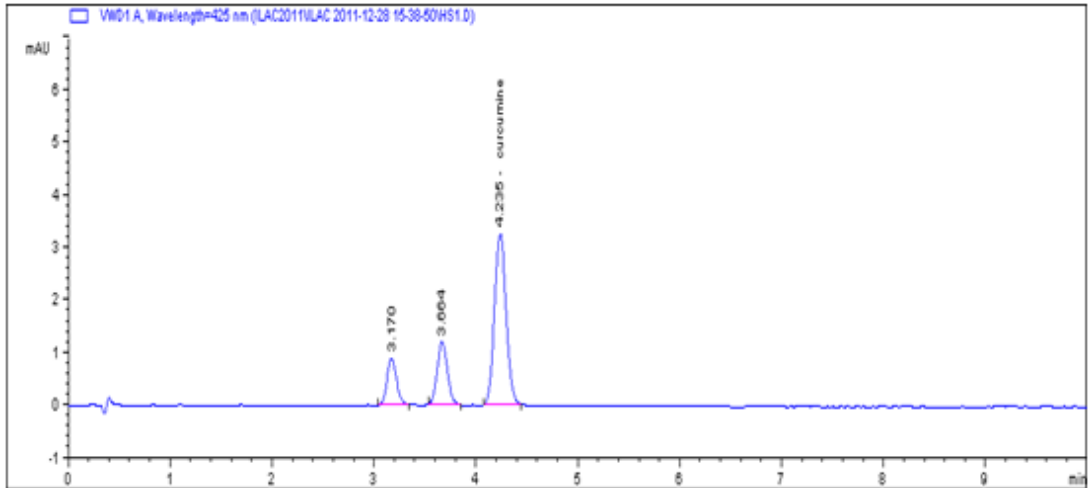
Kromatogram 4.2 Numune-3/standart HPLC kromatogramı

Numune hazırlanması

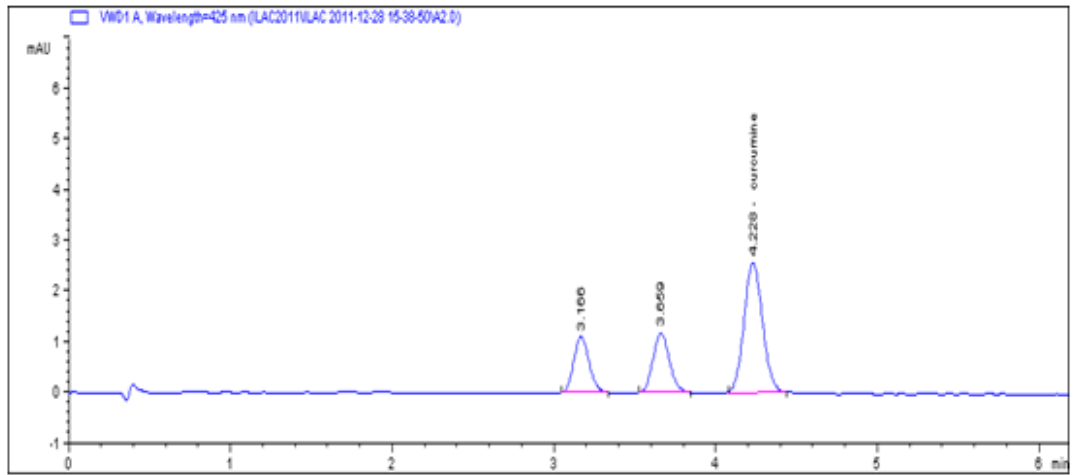
Curcuma longa numuneleri asetonitril ile 400 µg/mL konsantrasyonda hazırlanmış ve stok çözelti olarak kullanılmıştır. Bu stok çözeltilerden % 50 asetonitrille yapılan seyreltmelerle son konsantrasyona ulaşılmıştır (40 µg/mL). Numune tartımlarındaki farklılıklar hesaplamalarda konsantrasyonlara yansıtılmıştır.



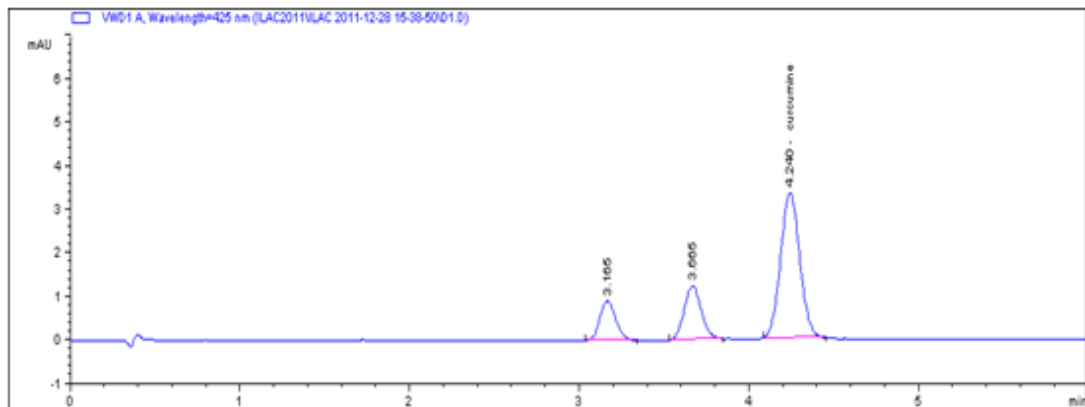
Kromatogram 4.3 Numune-1 HPLC kromatogramı



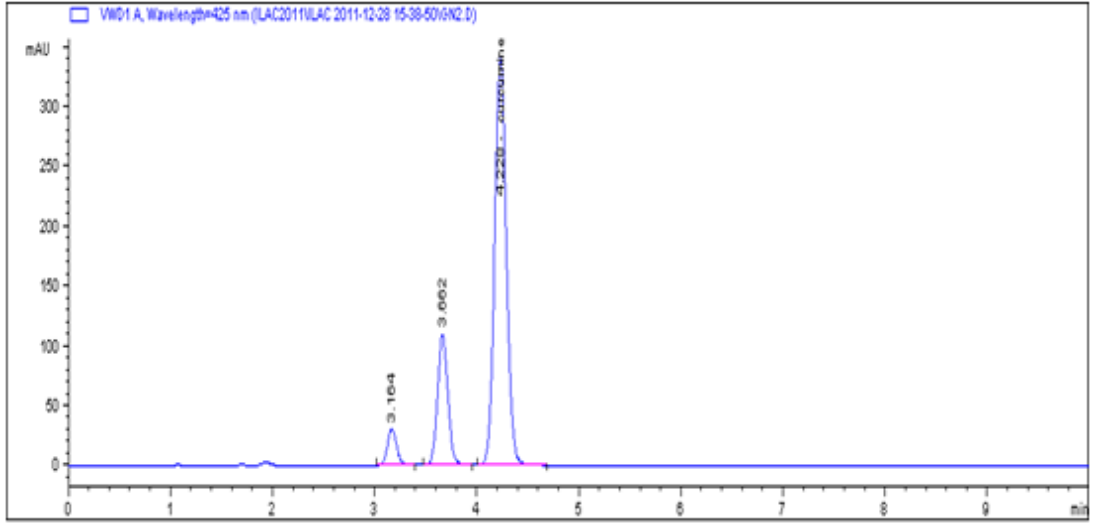
Kromatogram 4.4 Numune-2 HPLC kromatogramı



Kromatogram 4.5 Numune-3 HPLC kromatogramı



Kromatogram 4.6 Numune-4 HPLC kromatogramı



Kromatogram 4.7 Numune-5 HPLC kromatogramı

Hesaplamalar:

Örnek hesaplama:

Tartılan numune (NU-2) miktarı: 21,2 mg

Kromatogramda kalibrasyona göre okunan miktar: 0,366 $\mu\text{g/mL}$

Numunelerdeki seyreltme faktörü: 50x10

$0,366 \times 10 \times 50 / 21,2 = 8,63 \text{ mg/g}$

Tablo 4.3 HPLC Yöntemiyle Hesaplanmış Zerdeçal Numunelerindeki Kurkumin Miktarları

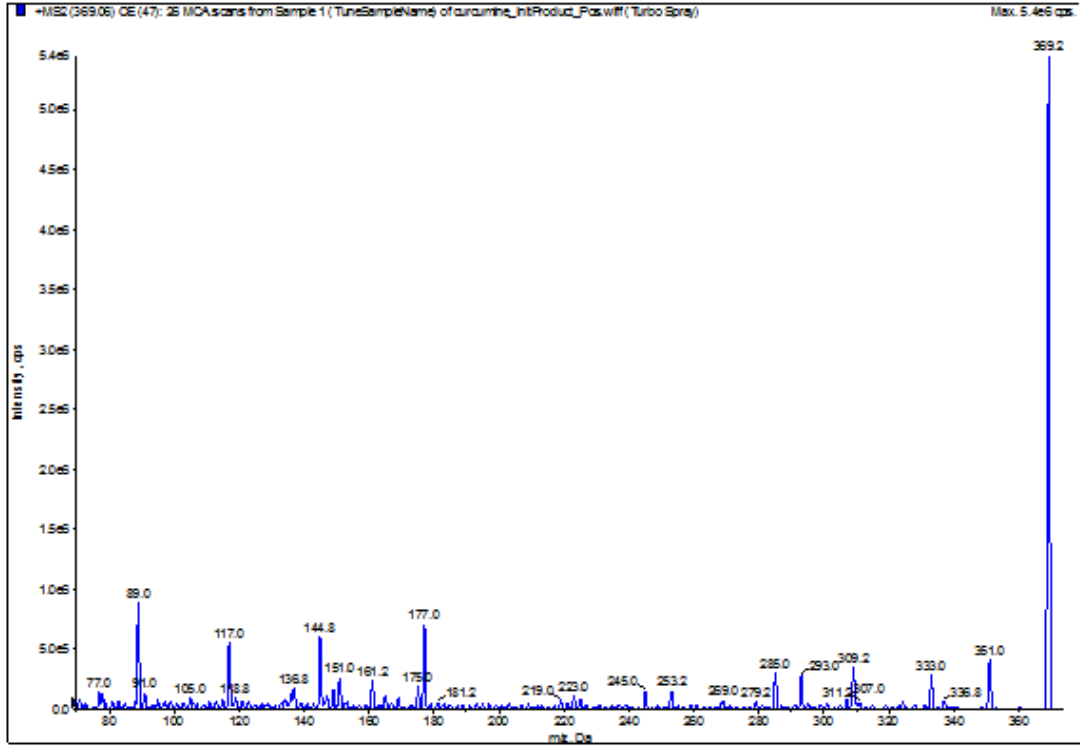
NU-1: Ankara'daki aktar numunesi, NU-2: İstanbul Avrupa yakasından alınan aktar numunesi; NU-3: İstanbul Anadolu yakasından alınan aktar numunesi; NU-4: Gıda takviyesi numunesi; NU-5: Gıda takviyesi numunesi.

	Alan	Miktar ($\mu\text{g/mL}$)	Sonuç (mg/g)	% Kurkumin (g/g)
NU-1	28,94	$4,08 \cdot 10^{-1}$	7,15	0,71
NU-2	25,93	$3,66 \cdot 10^{-1}$	8,63	0,86
NU-3	20,52	$2,89 \cdot 10^{-1}$	6,64	0,66
NU-4	26,50	$3,74 \cdot 10^{-1}$	9,07	0,90
NU-5	2719,65	34,90	663,49	66,34

Her bir numune standart kurkumin maddesi ile aynı koşullarda denenmiş ve aynı alıkonma süresinde çıkan pikin alanlarından miktarlar hesaplanmıştır. Sonuçlar bir önceki çalışmayı doğrulamış ve zerdeçal örneklerinin tümünün kurkumin taşıdıkları gösterilmiştir.

c) LC-MS-MS çalışmalarına ait bulgular

Önce cihaza doğrudan enjeksiyon yaparak bir tarama yapılmıştır. Yapılan tarama sonucunda moleküler iyon piki 369, en yüksek yarımlama pikleri ise Spektrum 4.1'de gösterildiği gibi 89, 117, 144.8 ve 177 olarak bulunmuştur. Miktar tayini için aranacak kütle sinyalleri Mass(es): 369/89,117,144.8,177 olarak seçilmiştir. Yöntem ile ayrıntılı bilgiler Materyal Yöntem kısmında verilmiştir.



Spektrum 4.1 Kurkumin LC-MS-MS kütle spektrumu

Tablo 4.4 Kurkumin parçalanma pikleri

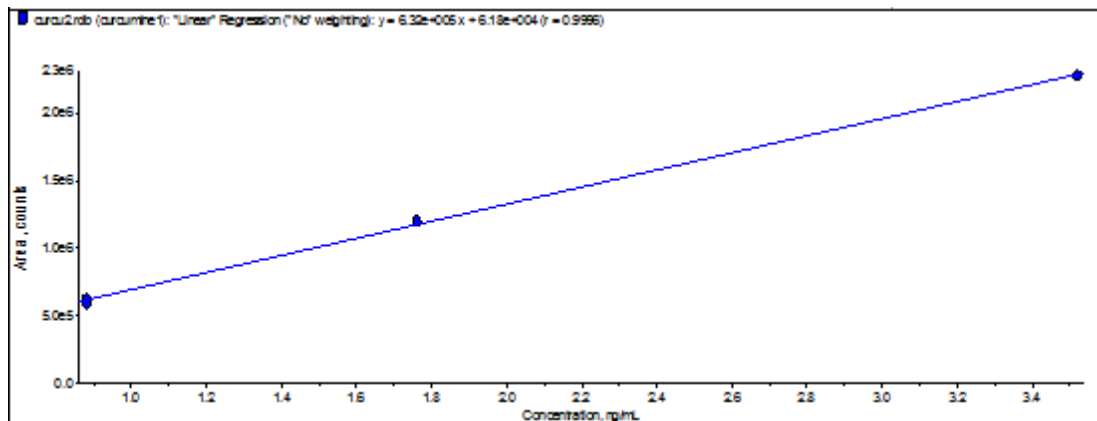
	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID
1	369.058	177.000	150.0	Curcumine1
2	369.058	145.000	150.0	Curcumine2
3	369.058	88.900	150.0	Curcumine3
4	369.058	117.000	150.0	Curcumine4

Standart çözeltilerinin hazırlanması

Curcuma longa rizomlarından izole edilen kurkumin maddesi standart olarak kullanılmıştır. Kurkumin asetonitrilde çözülerek 440 µg/mL konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlanmıştır. Standart çözeltiler stok çözeltiliden % 50 Asetonitril kullanılarak seyreltilmiş ve kalibrasyon için 0.88, 1.76, 3.52 ppb konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır (Tablo 4.5, Şekil 4.2).

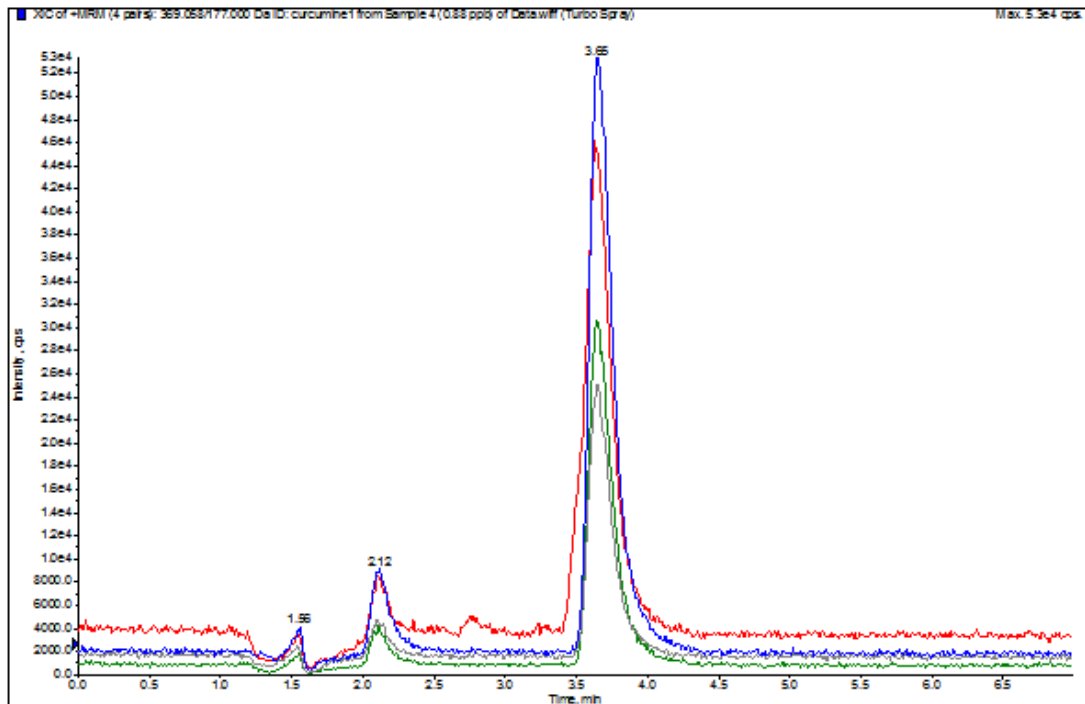
Tablo 4.5 Kurkumin standart konsantrasyonları ve alanları

	Sample Name	Sample Type	File Name	Analyte Peak Area (counts)	Analyte Peak Height (cps)	Analyte Concentration (µg/mL)	Standard	Use Record	Record Modified	Calculated Concentration (µg/mL)	Accuracy (%)
1	0.88 ppb	Standard	Data.wiff	6.25e+005	5.13e+004	0.880	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.892	101.
2	0.88 ppb	Standard	Data.wiff	5.86e+005	4.28e+004	0.880	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.976	111.
3	0.88 ppb	Standard	Data.wiff	3.58e+005	2.98e+004	0.880	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.877	99.7
4	0.88 ppb	Standard	Data.wiff	2.82e+005	2.37e+004	0.880	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.901	102.
5	1.76 ppb	Standard	Data.wiff	1.20e+006	1.01e+005	1.76	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1.80	103.
6	1.76 ppb	Standard	Data.wiff	8.31e+005	6.88e+004	1.76	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1.60	91.2
7	1.76 ppb	Standard	Data.wiff	7.03e+005	5.93e+004	1.76	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1.81	103.
8	1.76 ppb	Standard	Data.wiff	5.29e+005	4.32e+004	1.76	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1.78	101.
9	2.52 ppb	Standard	Data.wiff	2.28e+006	1.83e+005	3.52	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.51	99.6
10	2.52 ppb	Standard	Data.wiff	1.60e+006	1.33e+005	3.52	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.57	101.
11	2.52 ppb	Standard	Data.wiff	1.33e+006	1.06e+005	3.52	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.50	99.5
12	2.52 ppb	Standard	Data.wiff	1.02e+006	8.55e+004	3.52	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.51	99.9
13	0.88 ppb	Standard	Data.wiff	5.92e+005	5.04e+004	0.880	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.838	95.3
14	0.88 ppb	Standard	Data.wiff	5.52e+005	4.10e+004	0.880	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.888	101.
15	0.88 ppb	Standard	Data.wiff	3.48e+005	2.96e+004	0.880	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	0.849	96.5

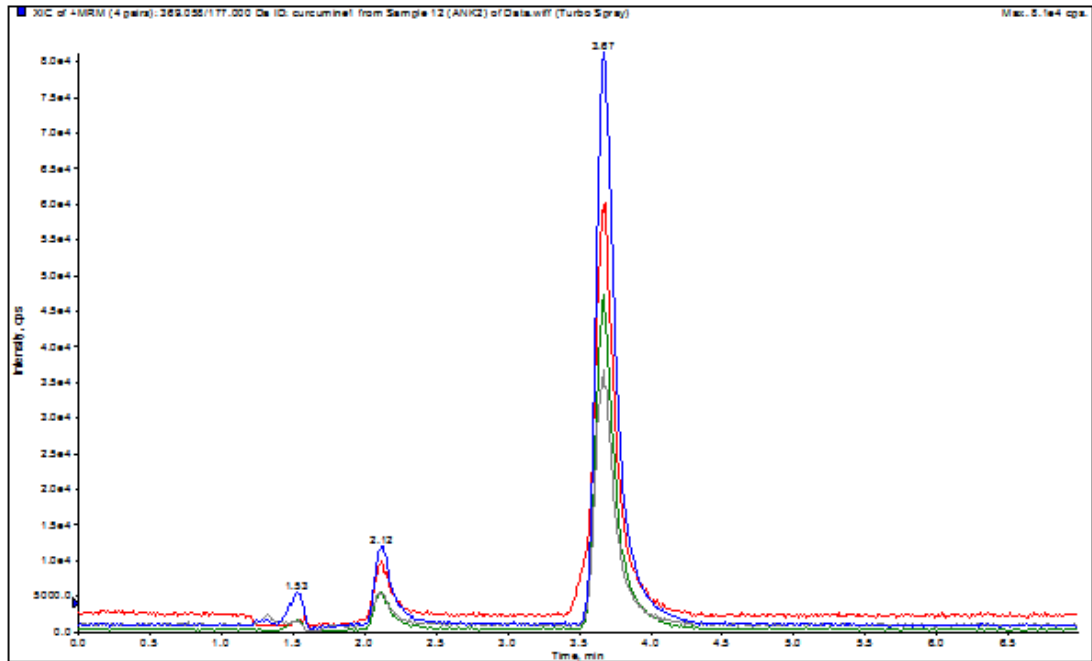
**Şekil 4.2** LC-MS-MS kalibrasyon eğrisi

Numune hazırlanması:

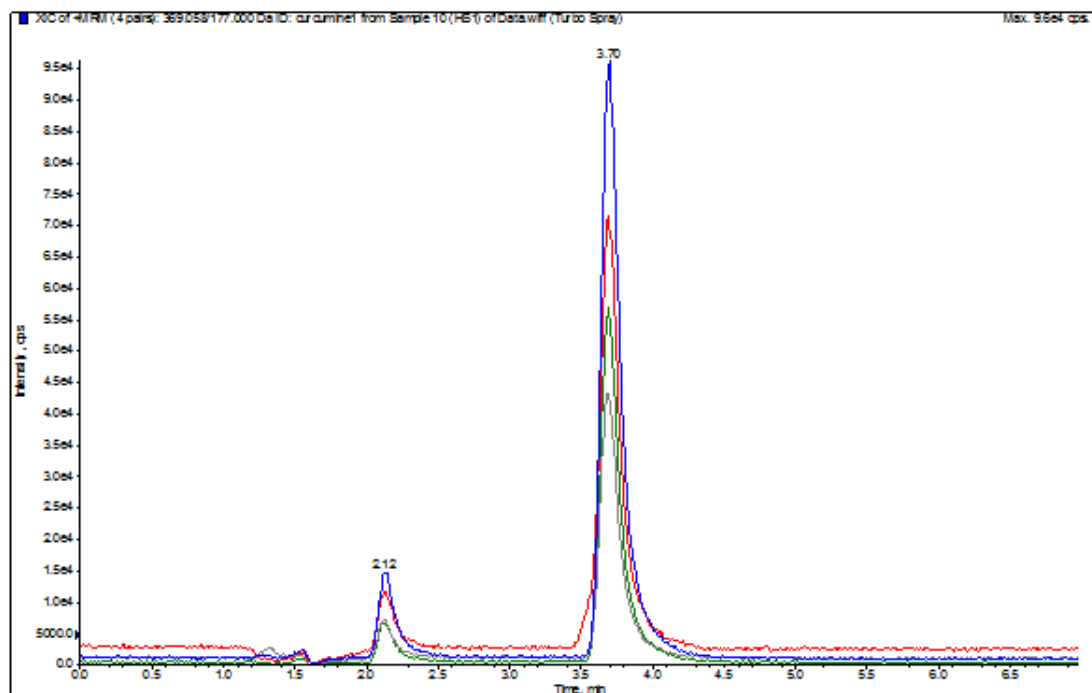
Curcuma longa numuneleri (20 mg) tartılarak 50 mL lik balon jodelere alınmıştır. Yaklaşık 20 mL asetonitril ilave edilerek 10 dakika ultrasonik su banyosunda sonike edilmiştir. Daha sonra 50 mL'ye asetonitril ile tamamlanmıştır (400 µg/mL). Bu stoklardan % 50 asetonitrille 1/1000, 1/2500 seyreltmeler yapılmıştır. Numune tartımlarındaki farklılıklar hesaplamalarda konsantrasyonlara yansıtılmıştır.



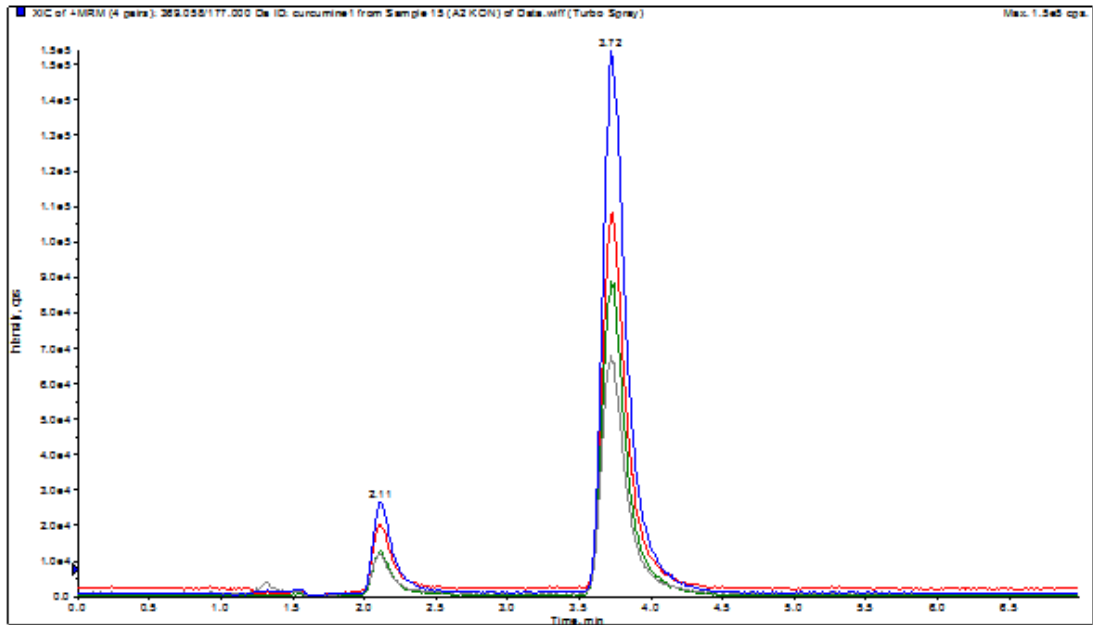
Kromatogram 4.8 Kurkumin standart LC-MS-MS kromatogramı



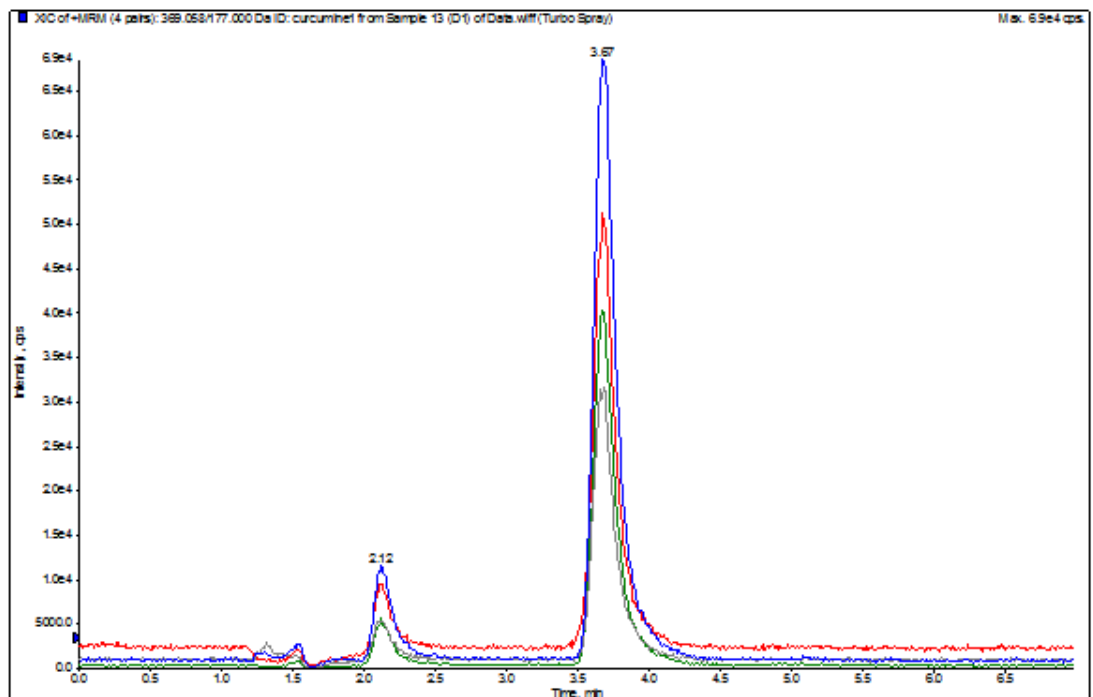
Kromatogram 4.9 Numune-1 LC-MS-MS kromatogramı



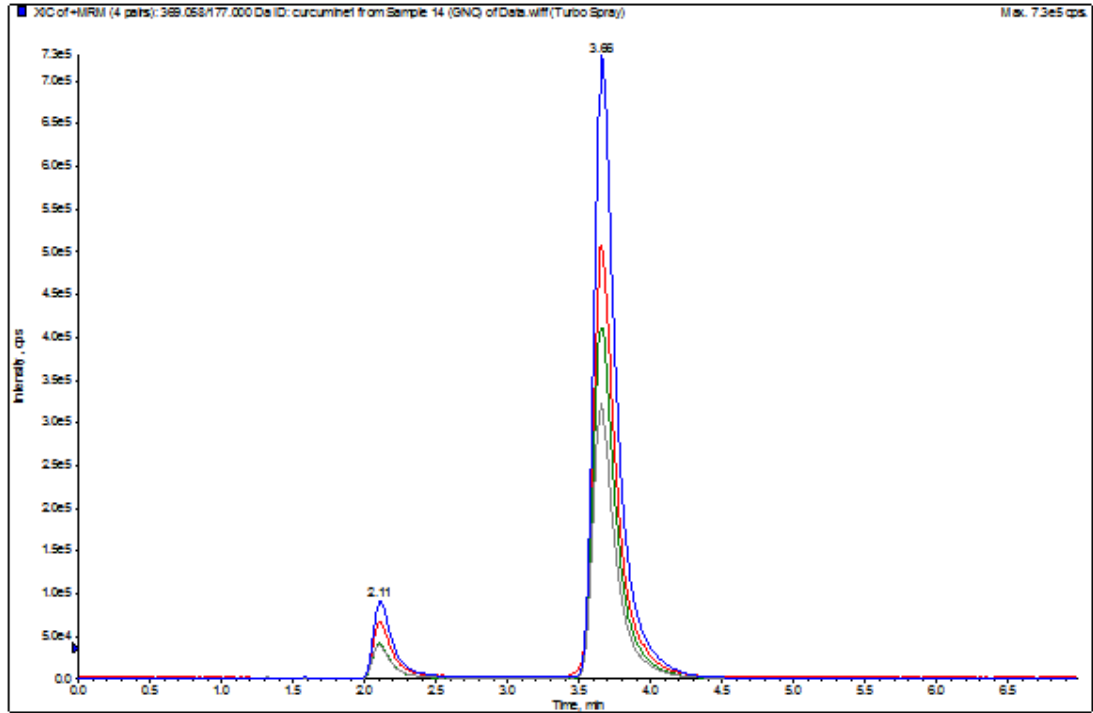
Kromatogram 4.10 Numune-2 LC-MS-MS kromatogramı



Kromatogram 4.11 Numune-3 LC-MS-MS kromatogramı



Kromatogram 4.12 Numune-4 LC-MS-MS kromatogramı



Kromatogram 4.13 Numune-5 LC-MS-MS kromatogramı

Hesaplamalar:

Örnek hesaplama:

Tartılan numune (NU-2) miktarı: 21,2 mg

Kromatogramda kalibrasyona göre okunan miktar: 1,44 ppb = 0,00144 $\mu\text{g/mL}$

Numunedeki seyreltme faktörü: 50x10x250

$0.00144 \times 10 \times 50 \times 250 / 21,2 = 8,49 \text{ mg/g}$

Hesaplama sonuçları Tablo 4.6'da gösterilmiştir.

Tablo 4.6 LC-MS-MS Yöntemiyle Hesaplanmış Zerdeçal Numunelerindeki Kurkumin Miktarları

NU-1: Ankara'daki aktar numunesi, NU-2: İstanbul Avrupa yakasından alınan aktar numunesi; NU-3: İstanbul Anadolu yakasından alınan aktar numunesi; NU-4: Gıda takviyesi numunesi; NU-5: Gıda takviyesi numunesi.

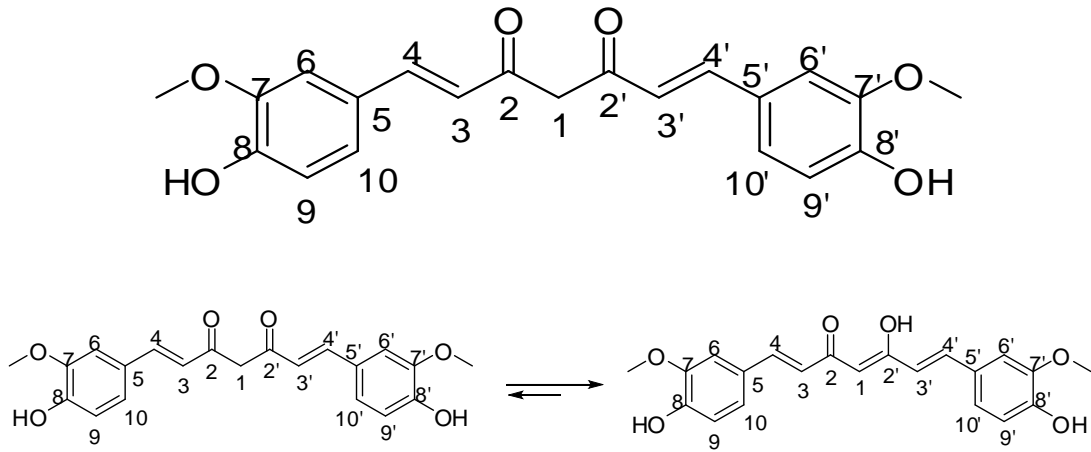
	Alan	Miktar ($\mu\text{g/mL}$)	Sonuç (mg/g)	Yüzde Kurkumin (g/g)
NU-1 SF: 50.10.250	$8,19 \times 10^5$	$1,20 \cdot 10^{-3}$	5,28	0,52
NU-2 SF: 50.10.250	$9,74 \times 10^5$	$1,44 \cdot 10^{-3}$	8,49	0,84
NU-3 SF: 50.10.100	$1,81 \times 10^6$	$2,77 \cdot 10^{-3}$	6,41	0,64
NU-4 SF: 50.10.250	$7,70 \times 10^5$	$1,12 \cdot 10^{-3}$	6,80	0,68
NU-5 SF:50.10.250.10	$8,15 \times 10^6$	$12,8 \cdot 10^{-3}$	608,36	60,36

Sıvı kromatografisi ile tandem kütle spektroskopisi cihazını kullanarak laboratuvarında uygulanmakta olan mevcut yöntem zerdeçal örneklerine göre tekrar düzenlenmiştir. Buna göre hassas ve tekrarlanabilir sonuçlar veren yöntem ile örnekler ayrı, ayrı ve birlikte tatbik edilerek çalışılmış ve kurkumin miktarları hesaplanmıştır. Bulgular zerdeçal örneklerindeki kurkumin oranlarının bir önceki çalışma ile uyumlu olduğunu göstermiştir.

4.1.3. Kurkuminoitlerin Yapı Tayinleri

Doğal kaynaktan tüketme yoluyla elde edilen ve kurkumince zengin fraksiyondan saflaştırılan maddelerin yapıları spektroskopik yöntemler ile aydınlatılmıştır.

Kurkumin (CL1)



$C_{21}H_{20}O_6$ (MA:369)

UV $\lambda_{\text{maks.}}$ (MeOH) nm	IR $\nu_{\text{maks.}}$ (% 1 KBr) cm^{-1}
425	1600 ve 1510 (C=C)
	2980-2850 (Alifatik C-H)
	3400 (OH)

1H NMR Spektrumu (d_6 -DMSO, 400 MHz)	: Spektrum 4.2, Spektrum 4.3
	: Tablo 4.7
^{13}C NMR Spektrumları (CD_3OD , 100 MHz)	: Spektrum 4.4
	: Tablo 4.7

Sarı amorf toz halinde bir madde olan **CL1** bileşiği, İTK'da revelatör püskürtmeden önce, gözle sarı, UV altında turuncu renkte görülmüştür. % 1 Vanilin/H₂SO₄ püskürtüldüğünde ise kurkuminoitlere ait kahverengi leke saptanmıştır.

CL1 bileşiğinin UV spektrumunda metanolde 425 nm'de maksimum absorpsiyon gösterdiği gözlenmiştir. IR spektrumunda da hidroksil gruplarına ait absorpsiyon bantı (3400 cm⁻¹), alifatik C-H grubuna ait absorpsiyon bantı (2980-2850), aromatik C=C fonksiyonuna ait absorpsiyon bantı (1600 ve 1510 cm⁻¹) gözlenmiştir.

CL1 bileşiği LC-MS-MS çalışması ile pozitif iyon ESI kütle spektrumunda m/z 369 bulunmuştur. ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları ile karşılaştırıldığında bileşiğin C₂₁H₂₀O₆ kapalı formülüne sahip olduğu bulunmuştur.

CL1 bileşiğinin spektrumundaki veriler incelendiğinde 1,3-diketon yapısına sahip simetrik bir molekül olduğu görülmüştür. 1,3-diketonlar tautomerizm göstererek daha kararlı oldukları enol formunda bulunabilirler. 1,3-diketon yapısındaki **CL1** bileşiği de daha konjuge ve daha kararlı olduğu enol formunu tercih etmektedir. Bileşiğe ait NMR spektrumunda da veriler bu formda olduğunu desteklemektedir. ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde öncelikle δ 3,79 civarında (6H, s, 2xOMe) 2 adet metoksil grubuna ait bir pik gözlenmektedir. 6,01 ppm'de gözlenen ve 1 protona denk gelen sinyal yapının enol formunda olduğu anlaşılmaktadır. Zira 6,01 ppm'de gözlenen bu pik enol formuna geçen bileşikte olefinik proton haline gelen H-1 no'lu protona ait olması gerekmektedir.

6,71 ppm ve 7,50 ppm'de dublet olarak görülen pikler 4 olefinik protona ait olmalıdır. Yapıda var olan H-3, H-3', ve H-4, H-4' nolu protonlar olefinik protonlardır. H-3' ve H-3 protonları ketona göre α, γ konumlarında yer aldıklarından daha fazla elektron yoğunluğuna sahiptirler. Bu nedenle β, δ konumunda bulunan ve dolayısıyla daha az elektron yoğunluğuna sahip H-4' ve H-4 protonlarına göre yukarı alanda rezonans olmaları beklenmektedir. Bu durumda 6,71 ppm'de gözlenen ve alan olarak iki protona denk gelen dublet piki H-3 ve H-3' protonlarına ait olmalıdır. 7,50 ppm'de gözlen diğer dublet pik ise H-4 ve H-4' protonlarını işaret etmektedir. Bu sinyallerin olefinik protonlara ait olduğunu gösteren diğer bir kanıtta 3 bağ üzerinden gerçekleşen H-3, H-4 ve H-3', H4' etkileşme sabiti 15,7 Hz (³J_{trans} =12,0-

18,0 Hz) olarak hesaplanmıştır. Spektrumda 6,78 ppm'de dublet ve 7,10 ppm'de dublet olarak gözlenen ve ikiyeşer protona denk gelen pikler ise birbirlerine *orto* konuşlanmış olan H-9,H-9' ve H-10, H-10' aromatik protonlarına aittir. Bu protonlar için etkileşme sabiti 8,2 Hz ($^3J_{orto}=6,0-10,0$ Hz) olarak hesaplanmış olup 3 bağa işaret etmektedir. 7,10 ppm'de gözlenen pik meta konumunda yer alan protonla etkileşme göstererek sinyalin dubletin dubletine yarılmasını göstermekte ve H-10 ve H-10' protonlarına ait olduğunu düşündürmektedir. Sinyallerin etkileşme sabitinin 1.7 Hz olarak hesaplanması ($^4J_{meta}=1-3$ Hz) bunu doğrulamaktadır. 7.27 ppm'de elde edilen ve etkileşme sabiti 1.7 Hz olan dublet piki H-10 ve H-10' protonlarına meta komşuluğunda bulunan H-6 ve H-6' protonlarına ait olmalıdır. H-6, H-6' ve H-10, H-10' protonlarının H-9 ve H-9' protonlarına göre daha düşük ppm'de rezonans olmasının sebebi; benzen halkasına bağlı çift bağda meydana gelen manyetik anizotropiden H-9 ve H-9' göre daha fazla etkilenmelerinden dolayı 7.10 ve 7.27 ppm'de sinyal vermişlerdir.

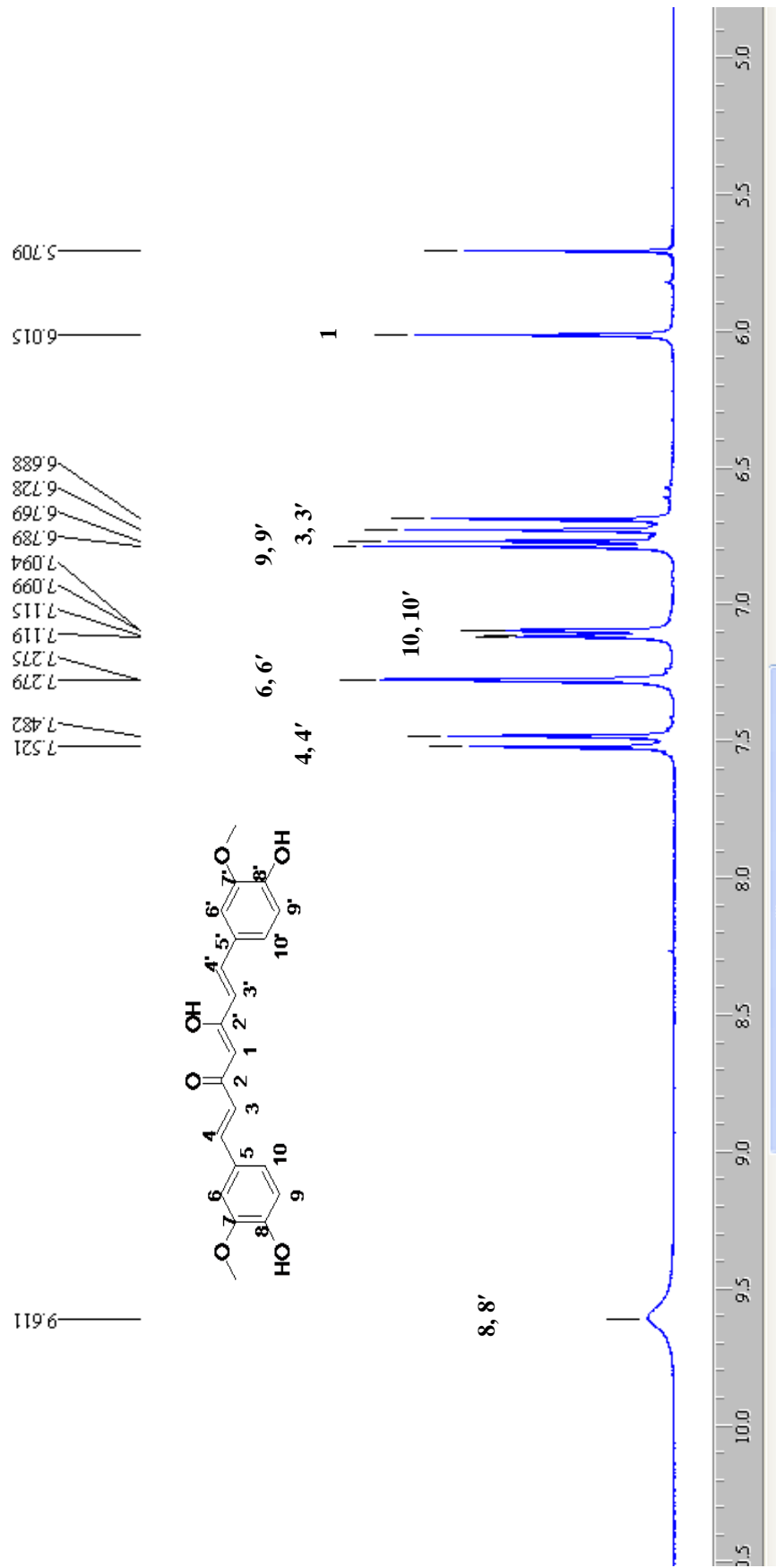
Benzen halkalarına bağlı olan metoksi gruplarına ait protonlar yukarıda belirtildiği gibi 3,79 ppm'de sinyal verirken, hidroksi gruplarına ait yayvan pik 9,61 ppm'de gözlenmiştir.

^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde 21 karbon atomlu bir diferuloilmetan iskeleti olduğunu göstermiştir. İncelemelerde 55,7 ppm'de çıkan metoksil grubuna ait pik ile 183 ppm'de görülen karbonil grubuna ait pikler de 1,3 diketon yapısı için karakterizedir.

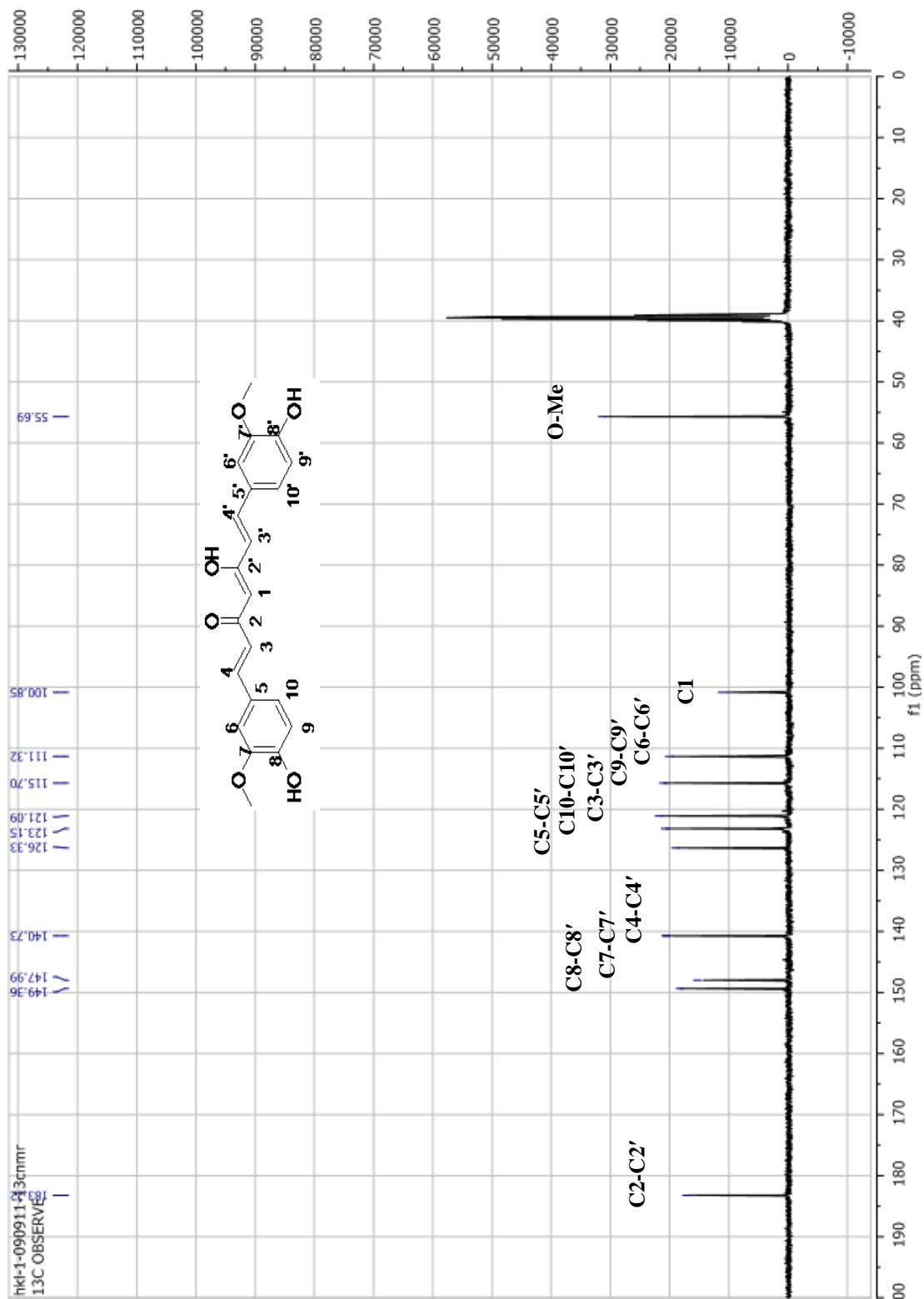
1H - ve ^{13}C - NMR verileri literatürler ile karşılaştırıldığında kurkumin için kayıtlı bulgularla uyum göstermiştir, ilaveten kromatografik ve kimyasal özelliklerinin aynı olması **CL-1** bileşiğinin, **Kurkumin** olduğunu göstermiştir (306,307).

Tablo 4.7 Kurkumin (CL1) bileşiminin ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) ve ^1H (400 MHz, d_6 -DMSO) NMR spektroskopik değerleri

C/H	δ_{C} (ppm)	d_{H} (ppm)	J (Hz)
O-Me	55.7	3.79	
1	100.8	6.01 s	
2	183		
3	121	6.71 d	15.7
4	140.7	7.50 d	15.7
5	126.3		
6	111.3	7.27 d	1.7
7	147.9		
8-OH	149.3	9.61 s	
9	115.7	6.78 d	8.2
10	123.1	7.10 dd	8.2 , 1.7
2'	183		
3'	121	6.71 d	15.7
4'	140.7	7.50 d	15.7
5'	126.3		
6'	111.3	7.27 d	1.7
7'	147.9		
8'-OH	149.3	9.61 s	
9'	115.7	6.78 d	8.2
10'	123.1	7.10 dd	8.2 ,1.7

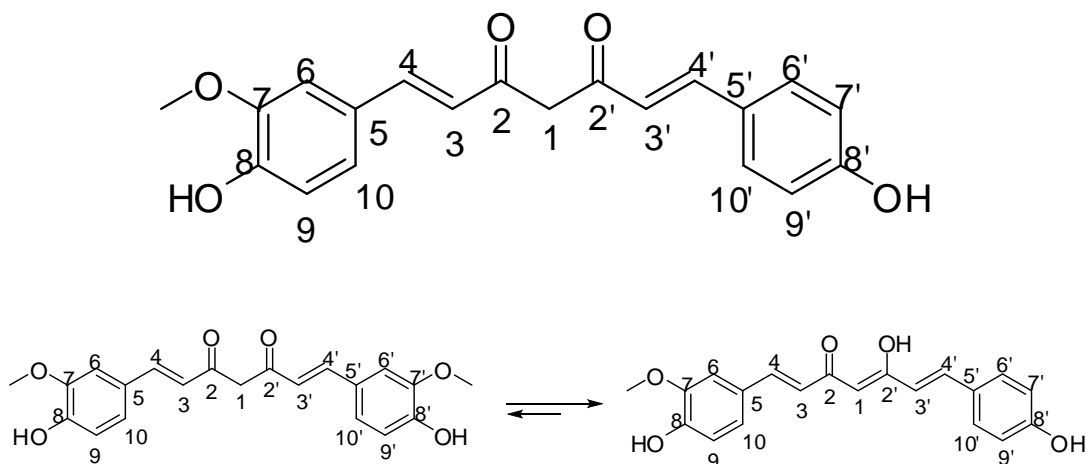


Spektrum 4.3 Kurkumin in (CL-1) ¹H NMR Spektrumu (*d*₆-DMSO, 400 MHz)



Spektrum 4.4 Kurkumin'in (CL-1) ¹³C NMR Spektrumları (CD₃OD, 100 MHz)

Demetoksikurkumin (CL2)

 $C_{20}H_{17}O_5$ (MA:339)

UV $\lambda_{\text{maks.}}$ (MeOH) nm	IR $\nu_{\text{maks.}}$ (% 1 KBr) cm^{-1}
420	1600 ve 1510 (C=C)
	2980-2850 (Alifatik C-H)
	3400 (OH)

^1H NMR Spektrumu (d_6 -DMSO, 400 MHz) : Spektrum 4.5, Spektrum 4.6

: Tablo 4.8

^{13}C NMR Spektrumları (CD_3OD , 100 MHz) : Spektrum 4.7

: Tablo 4.8

Sarı amorf toz halinde bir madde olan **CL2** bileşiği, İTK'da revelatör püskürtmeden önce, gözle sarı, UV altında turuncu renkte görülmüştür. % 1 Vanilin/H₂SO₄ püskürtüldüğünde ise kurkuminoitlere ait kahverengi leke saptanmıştır.

CL2 bileşiğinin UV spektrumunda metanolde 420 nm'de maksimum absorpsiyon gösterdiği gözlenmiştir. IR spektrumunda da hidroksil gruplarına ait absorpsiyon bantı (3400 cm⁻¹), alifatik C-H grubuna ait absorpsiyon bantı (2980-2850), aromatik C=C fonksiyonuna ait absorpsiyon bantı (1600 ve 1510 cm⁻¹) gözlenmiştir.

CL2 bileşiği LC-MS-MS çalışmasında, iyon ESI kütle spektrumunda m/z 339 bulunmuştur. Bu molekül ağırlığı C₂₀H₁₇O₅ kapalı formülüne uymaktadır. ¹H- ve ¹³C- NMR spektrumları ile karşılaştırıldıktan sonra bileşiğin aynı formüle sahip olduğu gösterilmiştir.

CL2 bileşiğinin ¹H-NMR ve ¹³C NMR sonuçları incelendiğinde yapının kurkumine benzer olduğu görülmüştür. 3,79 ppm'de görülen ve alan olarak üç protona denk gelen bir sinyal gözlenmektedir. Bu da bize yapıda tek metoksil grubu olduğunu göstermektedir. İlaveten ¹H-NMR spektrumunda 7,52 ppm, 6,78 ppm ve 7,52 ppm yüksek alanda çıkan proton sinyalleri kurkuminden farklı olarak asimetric bir molekülün varlığını göstermektedir. Elektronca daha zengin olan benzen halkasında oluşan manyetik anizotropi sonucu halka protonları daha güçlü perdelenir ve buna bağlı olarak kimyasal kayma değerleri daha yukarı alanda gözlenir. Bu nedenle formülde H-6', H-9' ve H-10' pozisyonlarındaki proton sinyalleri daha düşük alan ve daha yüksek ppm'de çıkmaktadır. 7,27 ppm, 6,77 ppm ve 7,09 ppm'de görülen proton sinyallerinin de elektronca daha zengin olan benzen halkasına ait protonlara aittir ve H-6 (7,27 ppm), H-9 (6,77 ppm) ve H-10 (7,09 ppm) protonlarına ait olması gerekmektedir. Spektrumda 6,77 ppm'de *d*, ve 7,09 ppm'de *dd* olarak görülen sinyaller, metoksil ve hidroksil gruplarının bağlı olduğu benzen halkasında birbirlerine göre orto komşusu olan H-9 ve H-10 protonlarına aittir, bu protonlar 3 bağ üzerinden etkileşirler ve bu nedenle etkileşme sabitleri 8,0 Hz olarak hesaplanmıştır. H-10 protonu H-6 protonuyla meta pozisyonundadır ve bu protonla 4 bağ üzerinden etkileşmektedir, etkileşme sabiti bu nedenle 1,8 Hz olarak hesaplanmaktadır. Metoksil grubunun yer almadığı diğer benzen halkasında 4 adet

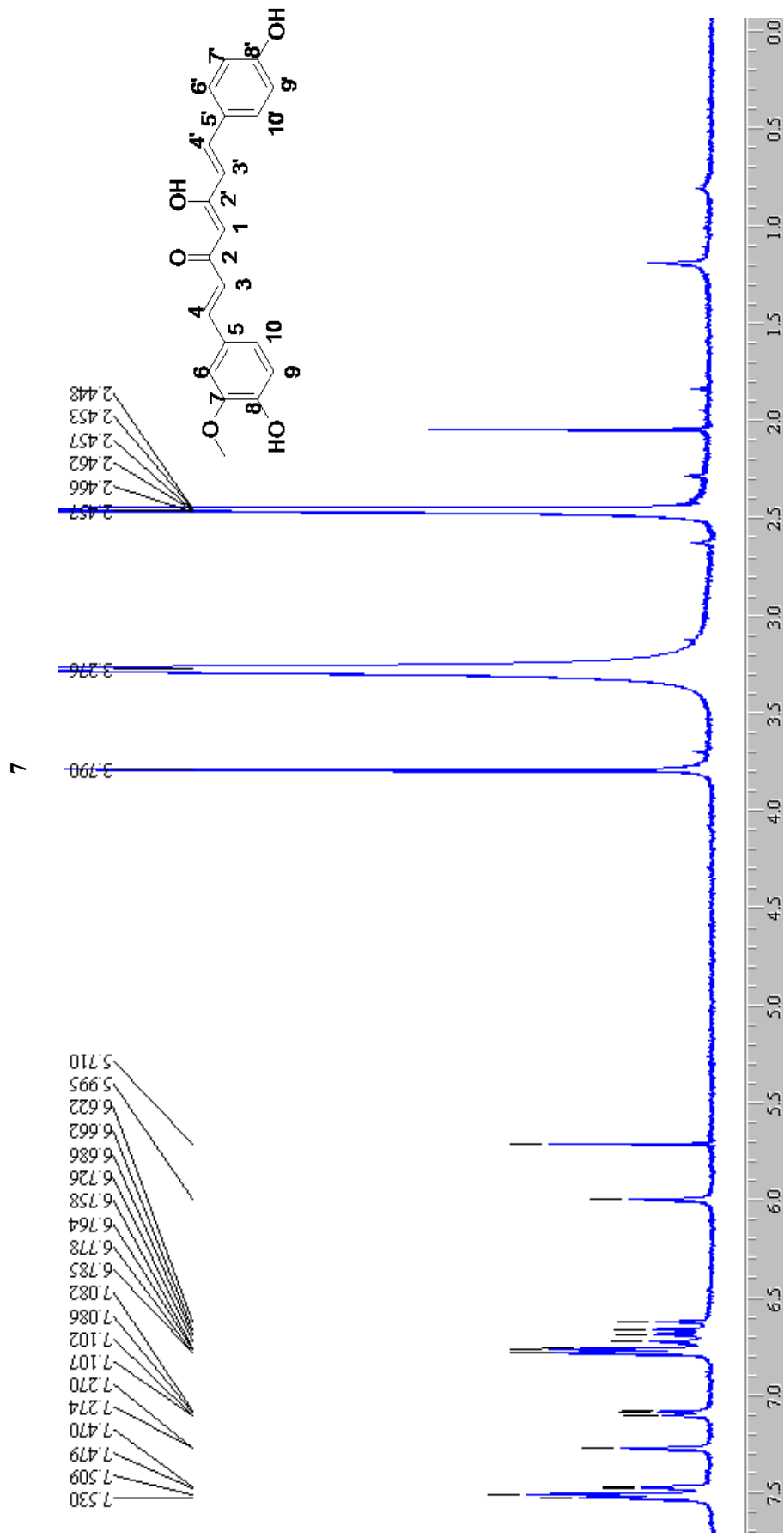
aromatik proton bulunmaktadır. Bu protonlardan H-6', H-10' (7,52 ppm) ile H7', H9' (6,78 ppm) ile aynı kimyasal çevreye sahip olduklarından hesaplanan etkileşme sabiti orto etkileşme sabitidir ve 8,4 Hz olarak hesaplanmaktadır. Olefinik H-3, H-3', H-4 ve H4' protonları ayrı ayrı yerlerde rezonans olmuşlardır. Benzen halkasındaki metoksi grubu elektron yoğunluğunu artırarak daha yüksek bir antiperdeleme bölgesi oluşturmaktadır ve bu nedenle bölgede kalan H-3 ve H-4 protonlarının kimyasal kaymaları daha düşük alanda ve daha yüksek ppm'de gözlenmektedir. 6,64 ppm'de H-3' sinyalleri 6,70 ppm'de H-3 görülürken, 7,49 ppm'de H-4'; 7,50 ppm'de H-4 rezonans olmaktadır.

¹³C NMR spektrumunda 20 karbon atomuna ait sinyal bulunduğu, 55,7 ppm'deki pikin metoksil grubundan, 183 ppm'deki sinyalin de C-2'deki karbonil grubundan kaynaklandığı gözlenmektedir. Yapı kurkumin ¹³C-NMR spektrumu ile çok benzerdir. C-6, C-7 ve C-8 pozisyonuna karşılık gelen sinyaller ile C-6', C-7' ve C-8' deki piklerin kurkumin deki sinyaller ile karşılaştırıldığında C-7' nün daha yüksek ppm'de çıkmasının nedeni metoksi grubunun yapıdan ayrılması nedeniyle elektronca fakir bölge oluşması ve düşük alana kaymasıdır.

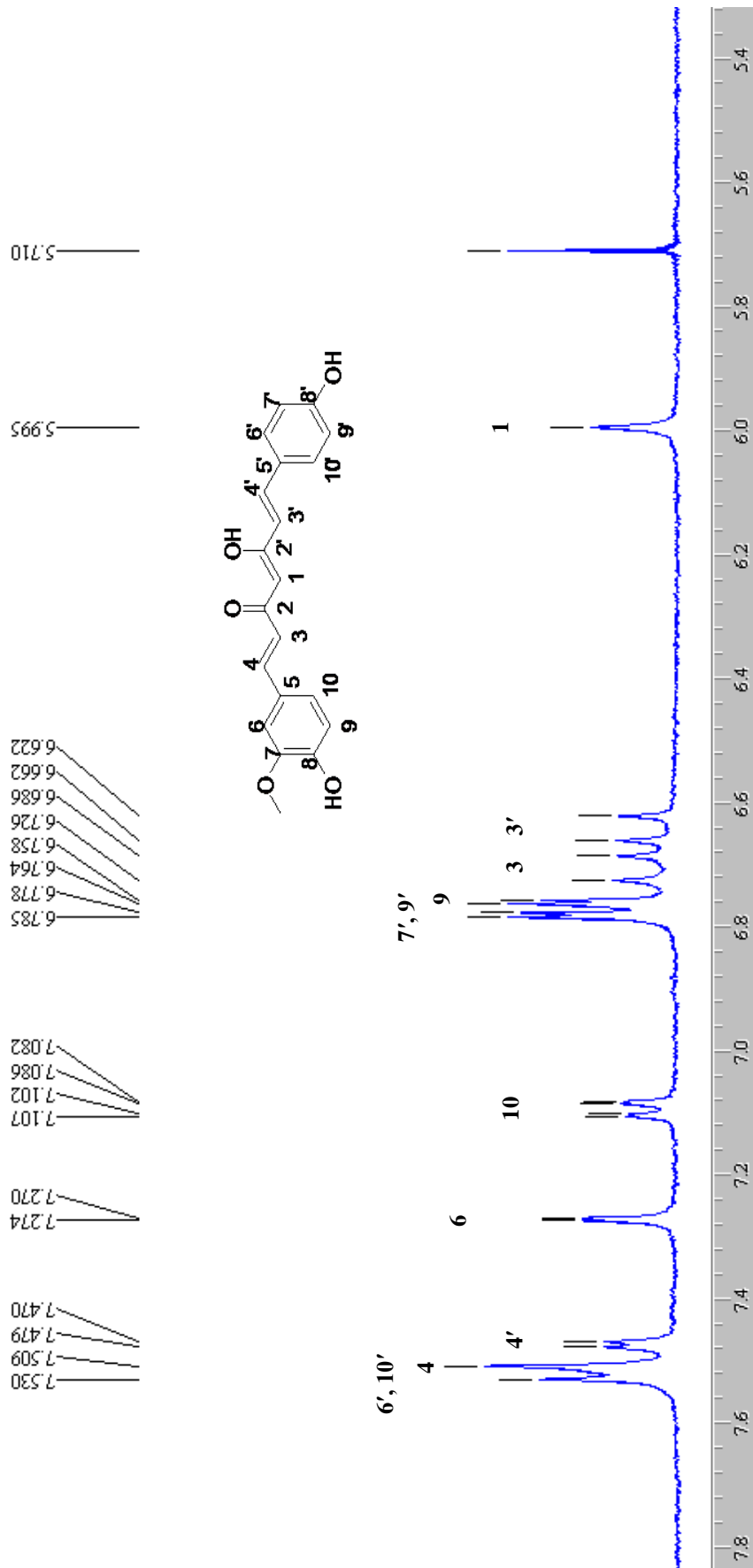
¹H- ve ¹³C- NMR spektrum sonuçları, kimyasal ve kromatografik özellikleri literatürde kayıtlı bulgularla uyum göstermesi **CL-2** bileşiğinin, **Demetoksikurkumin** olduğunu göstermiştir (306,307).

Tablo 4.8 Demetoksikurkumin (CL2) bileşiminin ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) ve ^1H (400 MHz, d_6 -DMSO) NMR spektroskopik değerleri

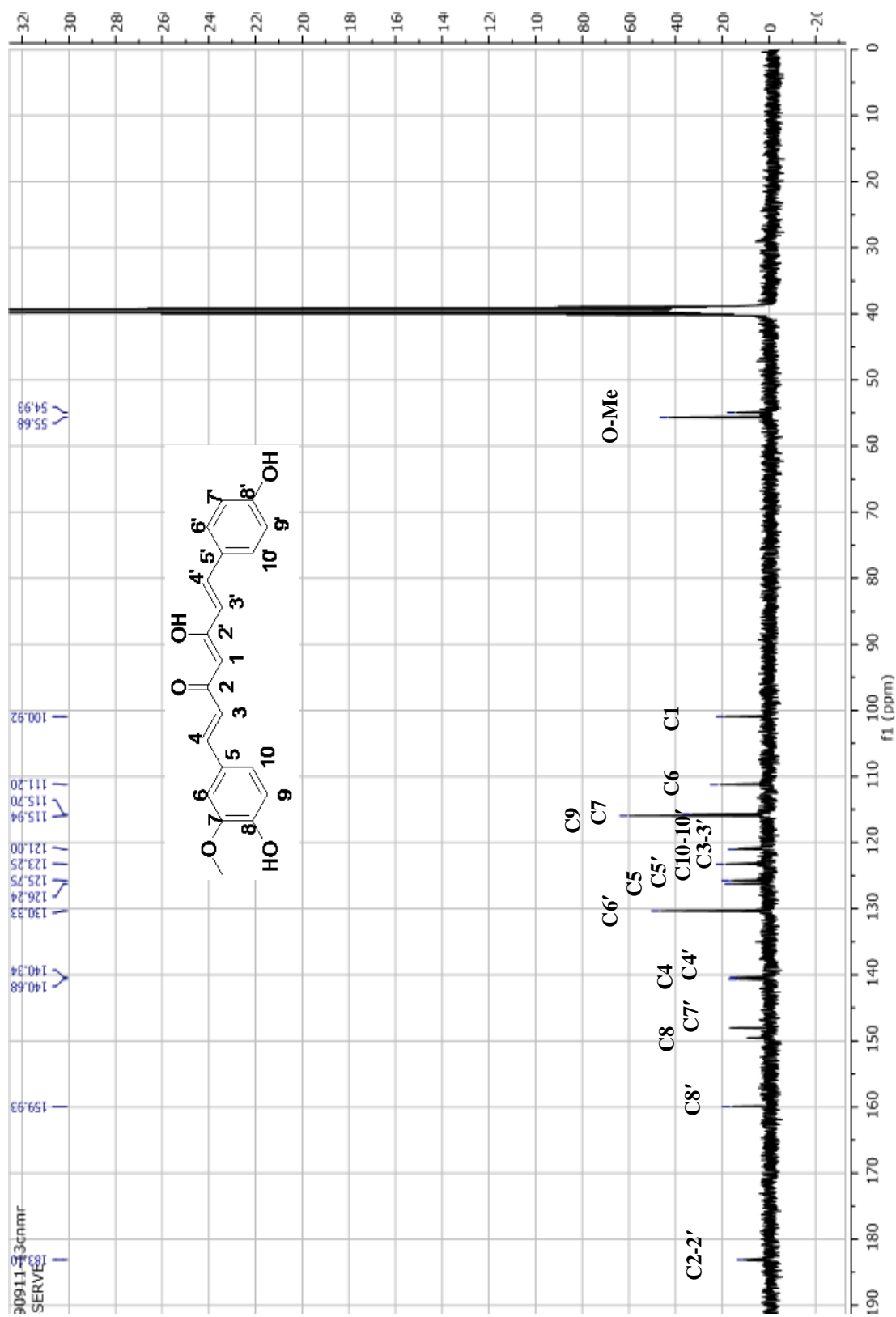
C/H	δ_{C} (ppm)	d_{H} (ppm)	J (Hz)
O-Me	55.7	3.79	
1	100.9	5.99 s	
2	183		
3	121	6.70d	15.8
4	140.7	7.50 d	15.8
5	126.2		
6	111.2	7.27 d	1.8
7	115,7		
8-OH	149.3		
9	115.9	6.77 d	8.0
10	123.2	7.09 dd	8.0, 1.8
2'	183.1		
3'	121	6.64 d	15.7
4'	140.3	7.49 d	15.7
5'	125.7		
6'	130.3	7.52 d	8.4
7'	147.9	6.78 d	8.2
8'-OH	159.9	9.61 s	
9'	115.9	6.78 d	8.2
10'	123.2	7.52 d	8.4



Spektrum 4.5 Demetoksikurkumin in (CL-2) ¹H NMR Spektrum (d₆-DMSO, 400 MHz)



Spektrum 4.6 Demetoksikurkumin' in (CL-2) ¹H NMR Spektrumu (*d*₆-DMSO, 400 MHz)



Spektrum 4.7 Demetoksikurkumin'in (CL-2) ¹³C NMR Spektrumları (CD₃OD, 100 MHz)

4.1.4. Pestisit Analiz Sonuçları

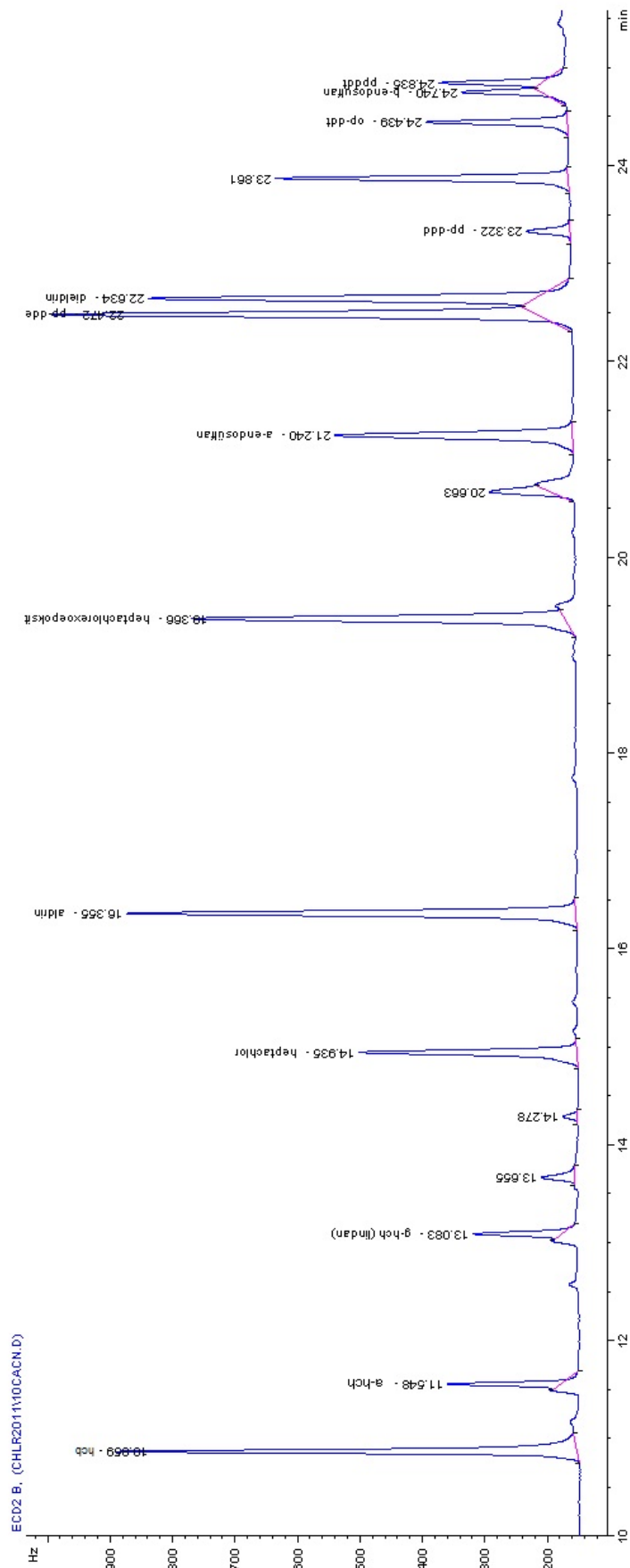
Ülkemizde satılan zerdeçal rizomları ithal edilmekte olduğundan kullanılmakta olan rizomların sağlık açısından önemli olabilecek pestisitleri taşıyıp taşımadıklarını, piyasada bulunan preparatlarda pestisit bulunup bulunmadığını incelemek amacıyla mevcut laboratuvarındaki olanaklar zerdeçal rizom ve preparatlar için yeniden düzenlenmiştir. Geliştirilen yöntemin tekrarlanabilir sonuç verip vermediği standartların aynı yöntemle geri kazanım istatistikleri ile kontrol edilmiştir.

a) Klorlu Pestisitler

Pestisitlerin alıkonma zamanları önce her bir pestisit çözeltisi gaz kromatografisine tek tek enjekte edilerek daha sonra da 13 pestisit standardının 5-10-47,4 µg/L konsantrasyonundaki çözeltilerinden 3'er kez enjekte ederek belirlenmiştir. Elde edilen veriler Kromatogram 4.14'te ve alıkonma zamanları Tablo 4.9'da verilmiştir.

Tablo 4.9 Klorlu Pestisitlerin Alıkonma Zamanları

Pestisitler	Alıkonma Zamanları (dk.)
hcb	10.859
α -hch	11.548
γ -hch (lindan)	13.08
heptaklor	14.93
aldrin	16.35
heptaklorekzoepoksit	19.36
α -endosülfan	21.2
pp-dde	22.47
dieldrin	22.63
pp-ddd	23.32
op-ddt	24.43
β -endosulfan	24.74
pp-ddt	24.83



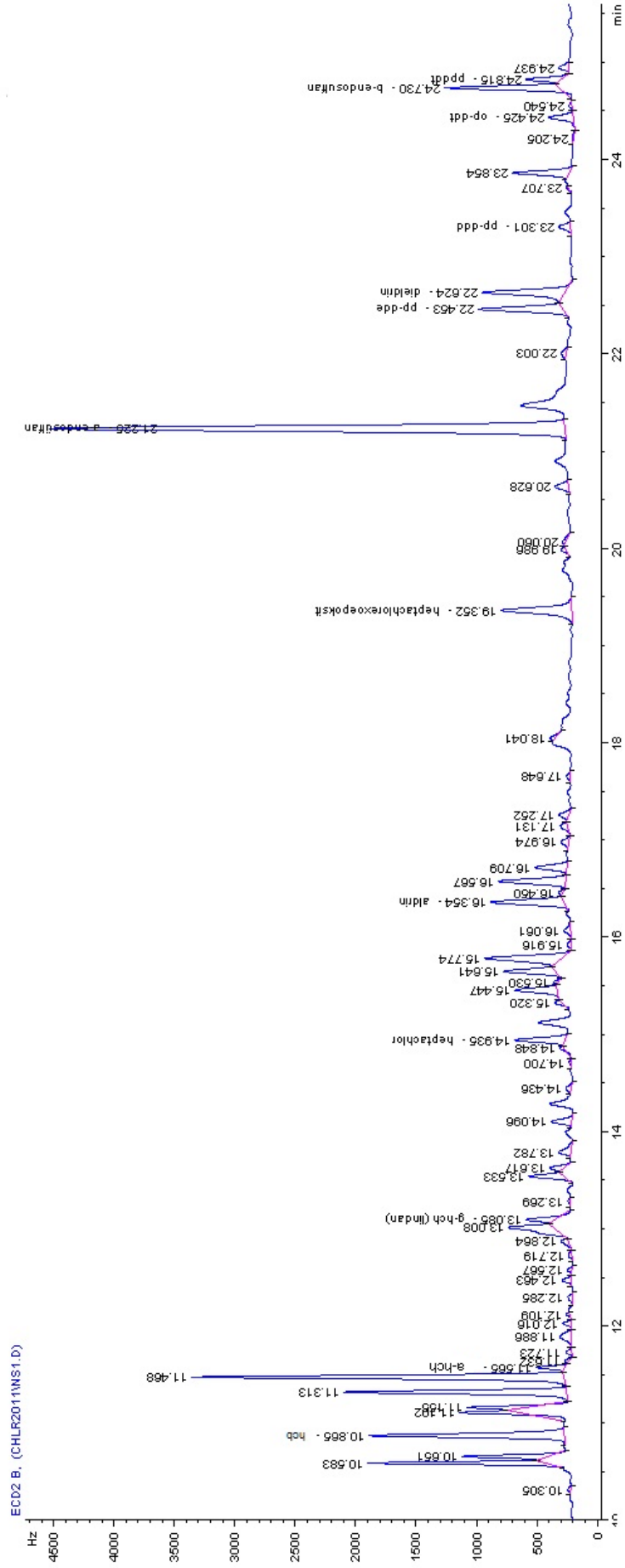
Kromatogram 4.14 Klorlu Pestisit Standartları Kromatogramı

Kalibrasyon Çözeltilerinin Hazırlanması

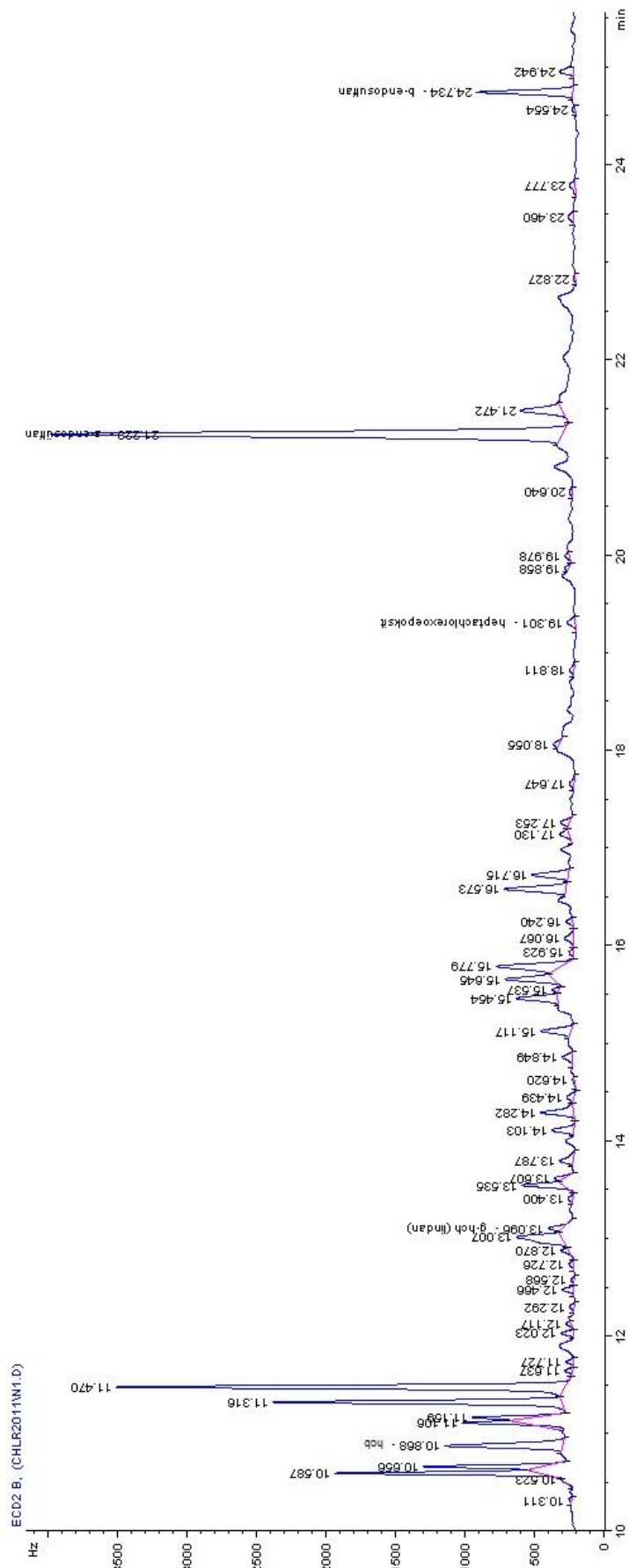
Gaz kromatografisinde nicel analiz yapmak için hcb, a-hch, g-hch (lindan), heptaklor, aldrin, heptakloreksoepoksit, a-endosülfan, pp-dde, dieldrin, pp-ddd, op-ddt, b-endosulfan, pp-ddt pestisitlerinin karışımından oluşan bir stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden 5 ppb, 10 ppb, 47,4 ppb, konsantrasyonlarda ara stok çözeltiler hazırlanarak gaz kromatografisine enjekte edilmiştir ve elde edilen piklerin alanları temel alınarak kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Kalibrasyon grafiklerinin değerlendirilmesi ile elde edilen veriler Tablo 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.10 Kalibrasyon Verileri

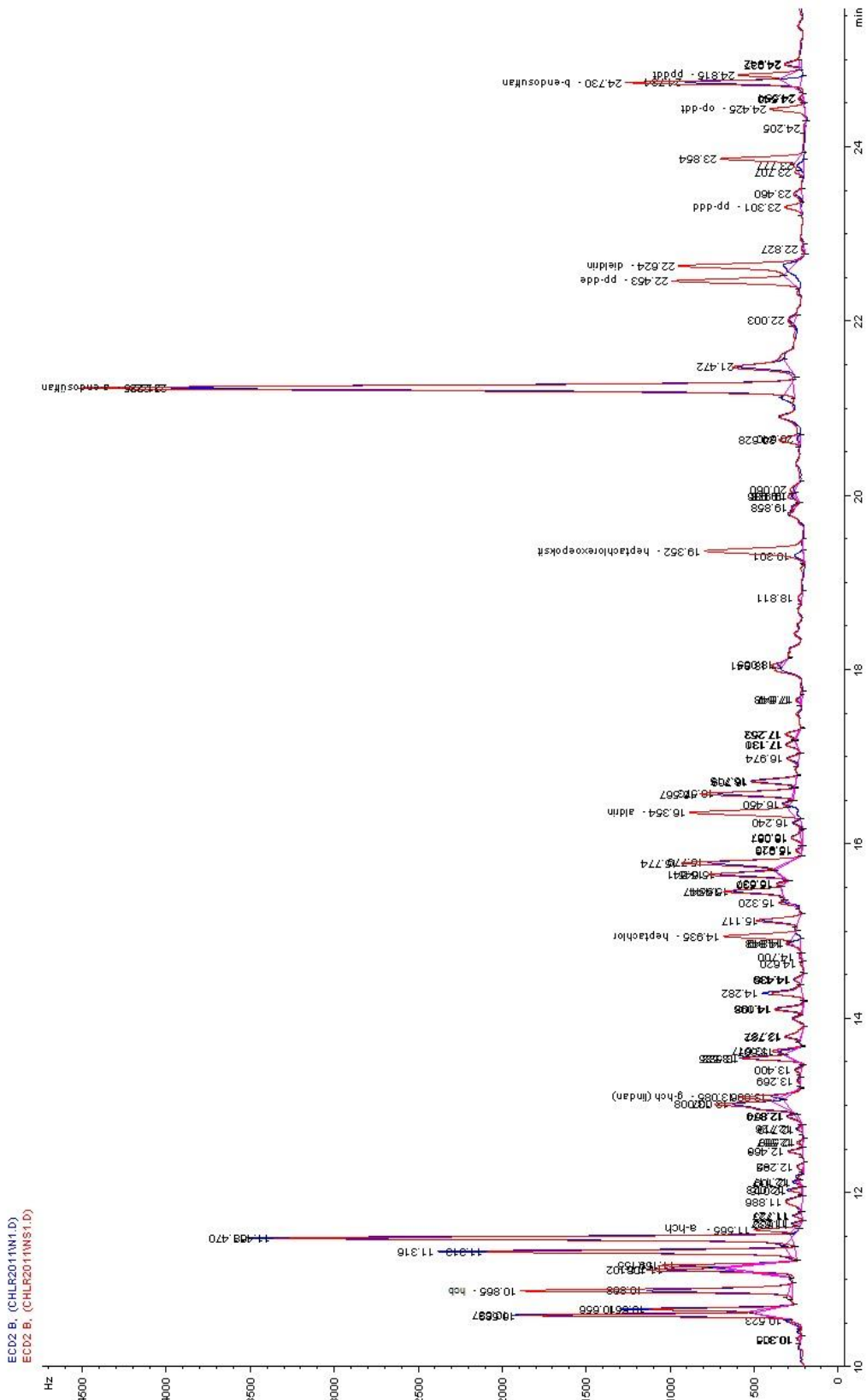
Pestisitler	Korelasyon	Standart Sapma	Doğrusal Kalibrasyon Grafiği
hcb	0.9982	2.99	$y = 1.9166648x + 2.90778442$
α -hch	0.9942	2.76	$y = 0.9681002x - 2.6324254$
γ -hch (lindan)	0.9951	2.22	$y = 0.8486662x - 2.1424875$
heptaklor	0.9999	1.95	$y = 1.4720608x - 0.0996449$
aldrin	0.9989	2.85	$y = 2.3984863x + 2.7445153$
heptakloreksoepoksit	0.9979	3.44	$y = 2.0362650x + 3.6079634$
α -endosülfan	0.9999	0.56	$y = 1.8303642x + 0.5413714$
pp-dde	0.9985	3.52	$y = 2.4918447x + 3.1710044$
dieldrin	0.9999	4.56	$y = 2.1662753x + 0.4892007$
pp-ddd	0.9936	0.54	$y = 0.1804914x + 0.4339914$
op-ddt	0.9996	0.55	$y = 0.7502382x + 0.5259946$
β -endosulfan	0.9954	1.99	$y = 0.7839649x - 1.7494732$
pp-ddt	0.9969	1.61	$y = 0.7736215x - 1.4431022$



Kromatogram 4.15 Standart eklenmiş numune Kromatogramı



Kromatogram 4.16 Numune Kromatogramı



Kromatogram 4.17 Standart ekleilmiş numune/ numune Kromatogramı

Tanımlama ve Hesaplama

Pestisit standartlarının gaz kromatografisindeki alıkonma zamanları Tablo 4.9 \pm % 5 hata payı dikkate alınarak pestisitler tanımlanmıştır. Pestisitlerin konsantrasyonları ise her bir pestisit için 3 farklı noktada (5-10-47,4 ppb değerlerinde) hazırlanan kalibrasyon grafiklerinden elde edilen veriler Tablo 4.11 dikkate alınarak dış standart yöntemi ile hesaplanmıştır.

Tablo 4.11 Pestisit miktarları hesaplama tablosu

***SF:** Bulunan değerler 10 ile çarpılmıştır, Yönteme göre 10 g üzerinden yapılan çalışmayı 1 g üzerinden yaptığımız için.

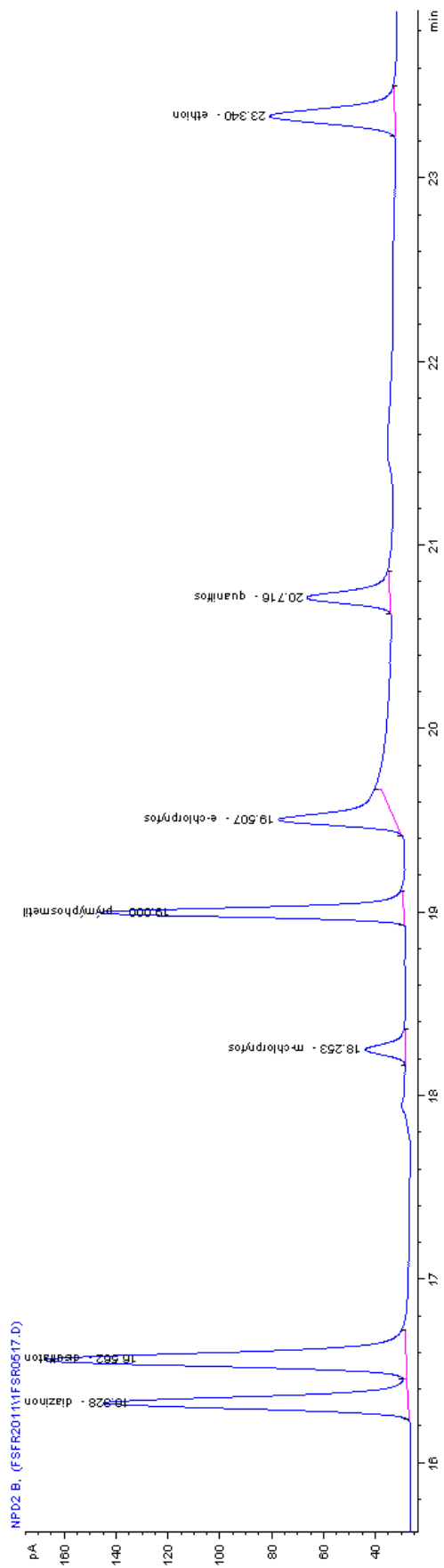
Pestisitler	NS (std eklenen numune ort.)	N (numune ort.) /*10SF	NS-N (ort.)	Eklenen std
hcb	24.89 ppb	13.17/131.7 ppb	11.72 ppb	10 ppb
α -hch	8.64 ppb	-	8.64 ppb	10 ppb
γ -hch	8.37 ppb	4.99/49.9 ppb	3.38 ppb	10 ppb
heptaklor	10.10 ppb	-	10.10 ppb	10 ppb
aldrin	8.63 ppb	-	8.63 ppb	10 ppb
heptaklorepoksit	12.77 ppb	-	12.77 ppb	10 ppb
α -endosülfan	103.85 ppb	85.62/856.2 ppb	18.23 ppb	10 ppb
pp-dde	8.86 ppb	-	8.86 ppb	10 ppb
dieldrin	12.71 ppb	-	12.71 ppb	10 ppb
pp-ddd	19.01 ppb	-	19.01 ppb	10 ppb
op-ddt	10.24 ppb	-	10.24 ppb	10 ppb
β -endosülfan	45 ppb	32 / 320 ppb	13 ppb	10 ppb
pp-ddt	12.21 ppb	-	12.21 ppb	10 ppb

b) Fosforlu Pestisitler

Pestisitlerin alıkonma zamanları önce her bir pestisit çözeltisi gaz kromatografisine tek tek enjekte edilerek daha sonra da 6 pestisit standardının 100-1000 ppb konsantrasyon aralığında çözeltilerinden 3'er kez enjekte ederek belirlenmiştir. Elde edilen veriler Kromatogram 4.18'de ve alıkonma zamanları Tablo 4.12'de verilmiştir.

Tablo 4.12 Fosforlu pestisitlerin alıkonma zamanları

Pestisitler	Alıkonma Zamanları (dk.)
Diazinon	18.25
Metalaksil	18.61
Pirimifos-metil	18.99
Kinalfos	19.50
Ethion	20.69
E-klorprifos	23.33



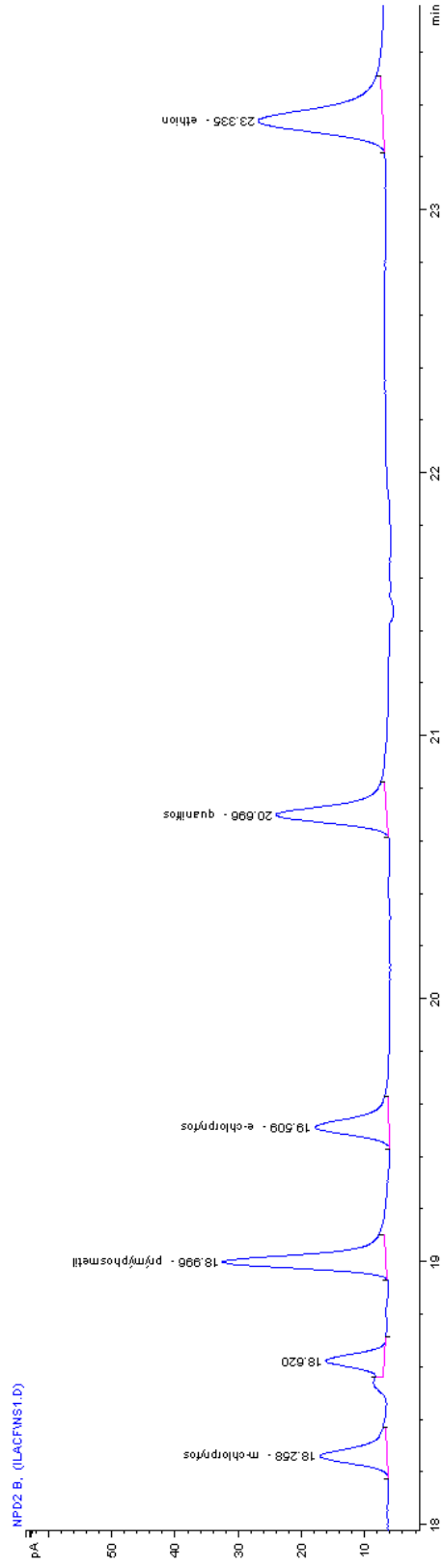
Kromatogram 4.18 Fosforlu Pestisit Standartları Kromatogramı

Kalibrasyon Çözeltilerinin Hazırlanması

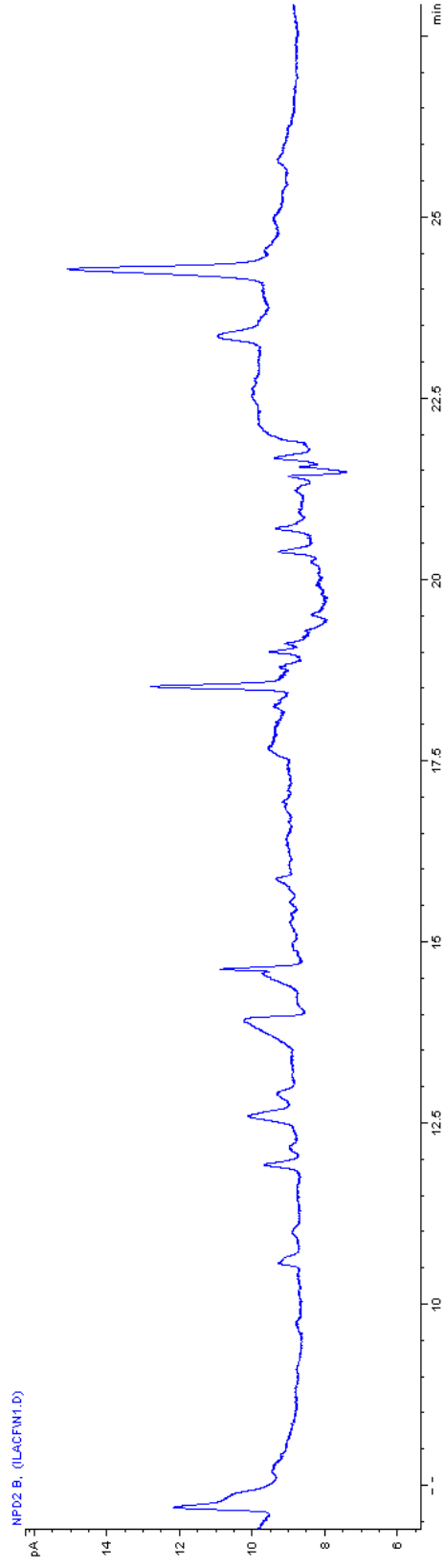
Gaz kromatografisinde nicel analiz yapmak için diazinon, metalaksil, pirimifosmetil, kinalfos, ethion, E- klorprifos pestisitlerinin karışımından oluşan bir stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden 100-1000 ppb konsantrasyon aralığında stok çözeltiler hazırlanarak gaz kromatografisine enjekte edilmiştir ve elde edilen piklerin alanları temel alınarak kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Kalibrasyon grafiklerinin değerlendirilmesi ile elde edilen veriler Tablo 4.13’de verilmiştir.

Tablo 4.13 Kalibrasyon Verileri

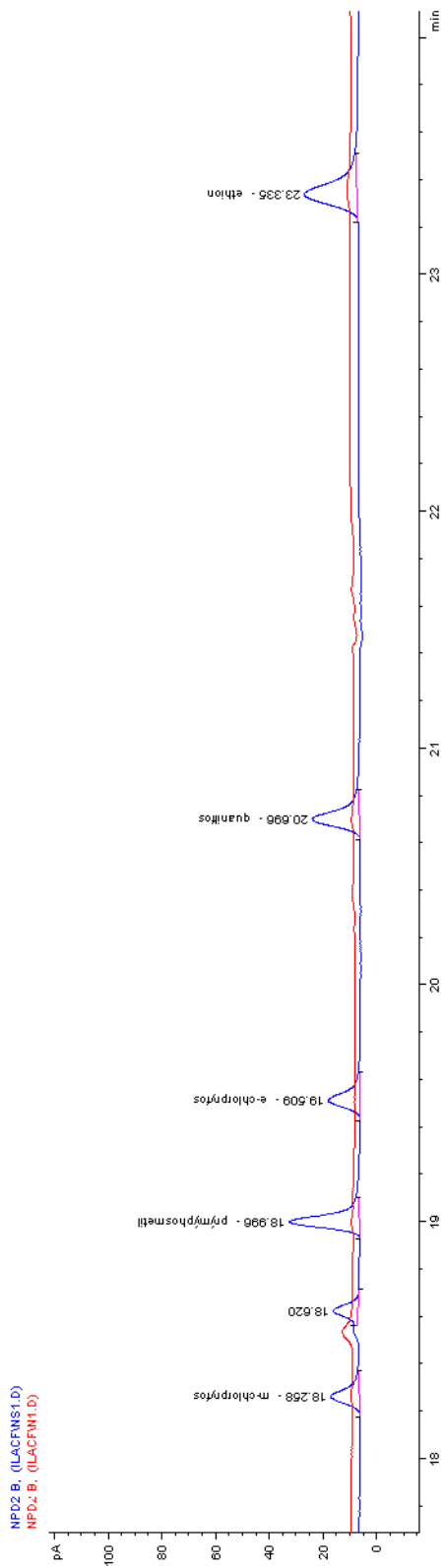
Pestisitler	Korelasyon	Standart Sapma	Doğrusal Kalibrasyon Grafiği
diazinon	0.99953	9.44	$y = 0.662115x + 8.40957$
metalaksil	0.99987	1.46	$y = 0.354521x + 0.48715$
pirimifos-metil	0.99456	40.80187	$y = 1.47253x + 31.64888$
kinalfos	0.99931	13.84	$y = 1.40963x + 13.84118$
ethion	0.99981	12.42	$y = 2.41150x + 8.87572$
e-klorprifos	0.99985	7.34	$y = 0.920619x + 4.76928$



Kromatogram 4.19 Standart eklenmiş numune kromatogramı



Kromatogram 4.20 Numune kromatogramı



Kromatogram 4.21 Standart eklenmiş numune / numune kromatogramı

Tanımlama ve Hesaplama

Pestisit standartlarının gaz kromatografisindeki alıkonma zamanları Tablo 4.12 \pm % 5 hata payı dikkate alınarak pestisitler tanımlanmıştır. Pestisitlerin konsantrasyonları ise her bir pestisit için 3 farklı noktada (100-1000 ppb aralığında) hazırlanan kalibrasyon grafiklerinden elde edilen veriler Tablo 4.14 dikkate alınarak dış standart yöntemi ile hesaplanmıştır.

Tablo 4.14 Fosforlu pestisitler hesaplama tablosu

Pestisitler	NS (numune eklenen std ort.)	N (numune ort.)	NS-N (ort.)	Std (Eklenen std)
Diazinon	47.11 ppb	-	47.11 ppb	50 ppb
Metalaksil	94.97 ppb	-	94.97 ppb	100 ppb
Pirimifos-metil	38.60 ppb	-	38.60 ppb	50 ppb
E-klorprifos	44.81 ppb	-	44.81 ppb	50 ppb
kinalfos	45.05 ppb	-	45.05 ppb	50 ppb
Ethion	43.78 ppb	-	43.78 ppb	50 ppb

Sonuçlar

Yapılan analizler sonucunda bulunan ölçüm değerleri SPSS 17.0 paket program kullanılarak güvenilirlik analizine tabi tutulmuştur. Fosforlu ve klorlu pestisitler için yapılan 6 ölçüm sonucu elde edilen veriler için analiz yapılmıştır. Buna göre hem fosforlu hem de klorlu pestisitler için yapılan ölçümlerin güvenilirlik düzeyi istatistiksel olarak kabul edilebilir seviyede bulunmuştur (Tablo 4.15).

Tablo 4.15 Fosforlu ve klorlu pestisitleri için güvenilirlik analiz sonuçları

	Cronbach Alfa	Cronbach Alfa (Standardize edilen öğeler üzerinden)	Öge (Pestisit) Sayısı
Fosforlu Pestisitler	0.986	0.993	6
Klorlu Pestisitler	0.700	0.915	13

Yapılan klorlu pestisit analizleri sonucunda numunelerin hepsinde hcb bulunmuştur. Bazılarında endosülfanlarında kullanıldığı saptanmıştır. Bir tane

numune örneğinde de ddt kullanıldığı saptanmıştır. Fosforlu pestisitlere ise rastlanmamıştır. Sonuçlar Tablo 4.16’te gösterilmiştir.

Tablo 4.16 Uluslararası Standartlara göre Çalışılan Numunelerdeki Pestisit Miktarları

NU-1: Ankara’daki aktar numunesi, NU-2: İstanbul Avrupa yakasından alınan aktar numunesi; NU-3: İstanbul Anadolu yakasından alınan aktar numunesi; NU-4: Gıda takviyesi numunesi; NU-5: Gıda takviyesi numunesi.

PESTİSİTLER (ppm)	NU-1	NU-2	NU-3	NU-4	NU-5
hcb	0.131	0.655	0.627	0.741	0.764
γ -hch	0.0499	-	-	-	-
α -endosülfan	0.821	-	-	-	0.448
β -endosülfan	0.32	-	1.2	-	-
pp-dde	-	-	0.587	-	-
pp-ddd	-	-	3.283	-	-

4.1.5. Mineral ve Ağır Metal Analiz Sonuçları

Ülkemizde satılan zerdeçal rizomları ithal edilmekte olduğundan kullanılmakta olan rizomların ve rizomlardan hazırlanan preparatların sağlık açısından önemli olabilecek mineral ve ağır metalleri taşıyıp taşımadıklarını, taşıyorsa oranlarını saptamak amacıyla mevcut laboratuvarındaki olanaklar zerdeçal rizom ve preparatlar için yeniden düzenlenmiştir.

Geliştirilen yöntemin tekrarlanabilir sonuç verip vermediği standartların aynı yöntemle geri kazanım istatistikleri ile kontrol edilmiştir.

Tablo 4.17 Numunelerdeki mineral ve ağır metal miktarları

NU-1: Ankara'daki aktar numunesi, NU-2: İstanbul Avrupa yakasından alınan aktar numunesi; NU-3: İstanbul Anadolu yakasından alınan aktar numunesi; NU-4: Gıda takviyesi numunesi; NU-5: Gıda takviyesi numunesi.

ppm	NU-1	NU-2	NU-3	NU-4	NU-5
B	5.23	5.49	5.58	7	1.46
Mg	2170.12	2298.97	2614.02	2475.97	1435.9
Al	360.88	335.04	886.42	387.81	36.37
K	287533	330082	239276	333953	1797.21
Ca	19282.7	18033.7	17128.8	20140.4	1641.8
Mn	88.45	41.32	320.95	39.11	1.09
Fe ⁵⁶	254.97	222.36	391.93	287.14	27.15
Ba	19.66	10.47	15.25	10.11	2.11
Na	220.72	583.17	36.54	361.63	58.4
Cr	1.14	0.58	3.32	0.75	0.88
Ni	1.32	0.93	2.65	0.93	0.51
Cu	2.86	3.81	6.57	4.17	2.52
Zn	7.31	8.78	45.83	8.8	1
As	0.082	0.062	0.33	0.051	<0.04
Se	0.061	0.077	0.15	0.091	<0.05
Cd	<0.04	<0.04	0.9	<0.04	<0.04
Sn	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Sb	<0.04	<0.04	0.085	<0.04	<0.04
Hg	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
Pb	4.29	0.16	1.36	0.31	0.09

Sonuçlar Tablo 4.17'da gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm örneklerde potasyum, kalsiyum ve magnezyum mineral olarak önemli miktarda bulunmaktadır. Ağır metaller arasında ise kurşun dışında risk taşıyan miktarda bir başka maddeye rastlanmamıştır.

4.2. Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

Son yıllarda kullanımı yaygınlaşmaya başlayan tek hücre alkali jel elektroforezi ile doğal bileşiklerin toksik etkileri ve koruyucu etkileri araştırılmaya başlanmıştır. Bu çalışmada da kurkuminin değişik dozlarda genotoksik ve koruyucu etkileri araştırılmıştır.

4.2.1. Sağlıklı Lenfositlerde ve H₂O₂ ile Oksidatif Hasar İndüklenen Lenfositlerde DNA Hasarına Karşı Etkilerine ait Bulgular

Kurkuminin 2.5, 5, 7.5, 10, 25, 50 µM konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerinin tek başına genotoksik etkileri ve H₂O₂ ile indüklenen oksidatif hasara

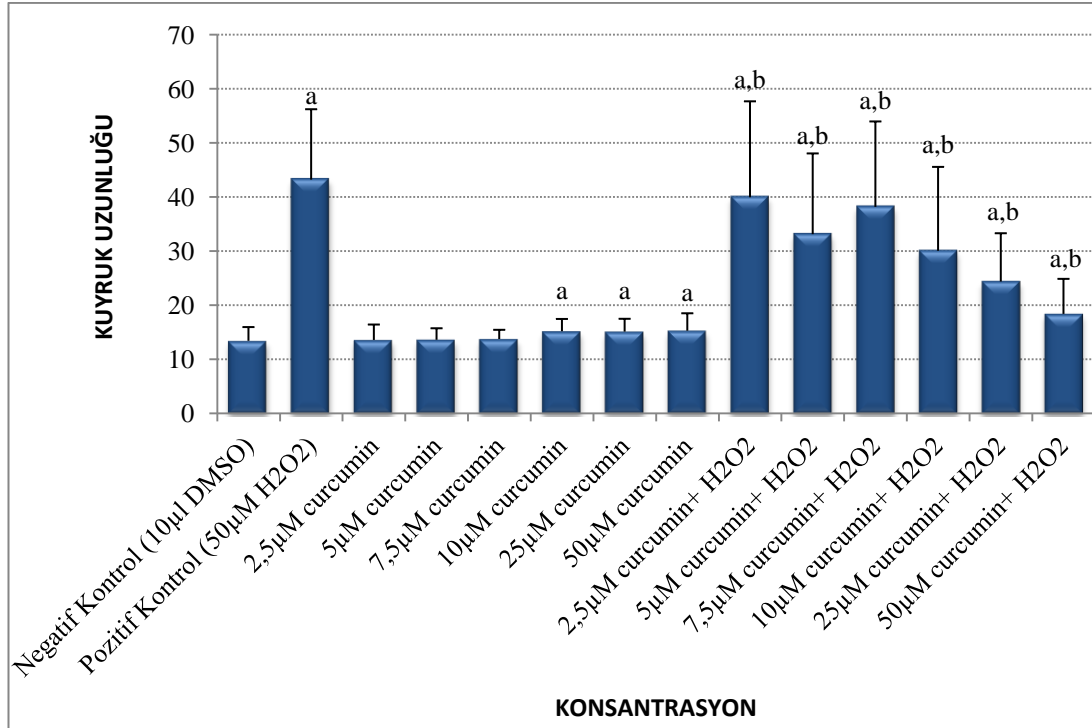
karşı antijenotoksik etkileri insan periferel lenfositlerinde gösterilmiştir. Tabloda DNA hasarının göstergesi olan kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti parametreleri kullanılmış ve istatistiksel olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.18).

Tablo 4.18 Kurkuminin sağlıklı lenfositlerde ve H₂O₂ ile oksidatif hasar indüklenen lenfositlerde DNA hasarına karşı etkileri

* Üç çalışmanın ortalama değerleridir ^a Kontrolle göre p<0.05 düzeyinde anlamlı ^b Pozitif kontrole göre p<0.05 düzeyinde anlamlı

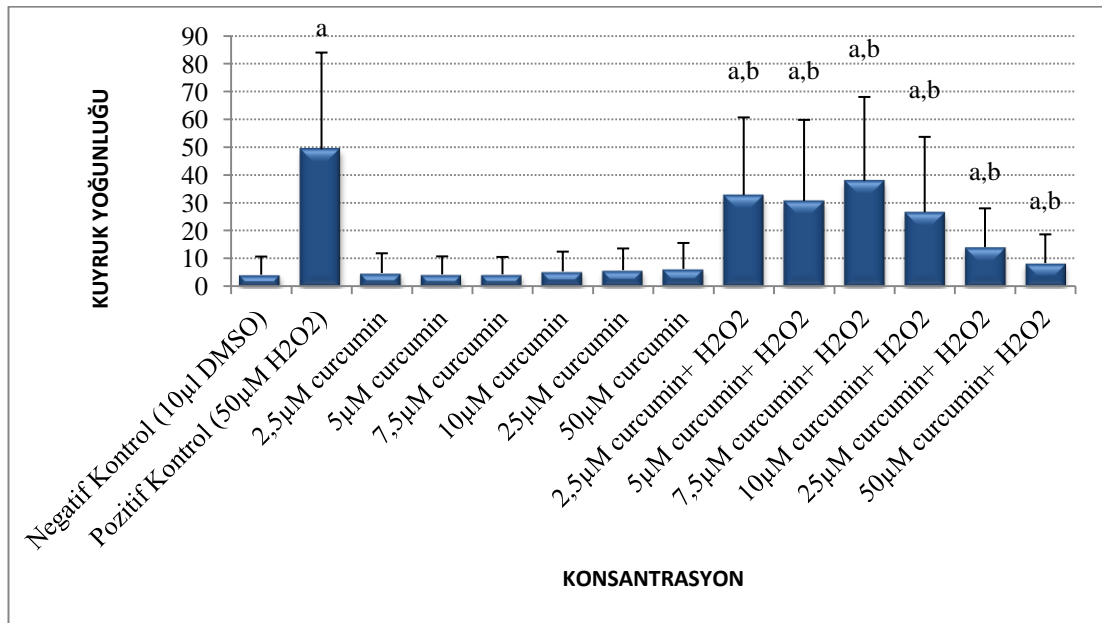
Uygulama Grubu	Kuyruk Uzunluğu	Kuyruk Yoğunluğu	Kuyruk momenti
	± standart sapma*	± standart sapma*	± standart sapma*
Negatif Kontrol (% 1 DMSO)	13.41±2.54	4.11±6.52	0.40±0.73
Pozitif kontrol (H ₂ O ₂)	43.20±13.01 ^a	49.23±34.80 ^a	13.19±10.14 ^a
2,5 µM Kurkumin	13.57±2.85	4.72±7.09	0.48±0.87
5 µM Kurkumin	13.60±2.13	4.22±6.49	0.41±0.74
7,5 µM Kurkumin	13.74±1.70	4.22±6.28	0.42±0.69
10 µM Kurkumin	15.18±2.27 ^a	5.28±7.13	0.55±0.83
25 µM Kurkumin	15.11±2.37 ^a	5.75±7.80	0.60±0.91
50 µM Kurkumin	15.28±3.22 ^a	6.22±9.31	0.71±1.30
2,5 µM Kurkumin +H ₂ O ₂	39.94±17.73 ^{ab}	32.76±27.94 ^{ab}	7.84±8.57 ^{ab}
5 µM Kurkumin +H ₂ O ₂	33.12±14.93 ^{ab}	30.66±29.16 ^{ab}	6.95±8.06 ^{ab}
7,5 µM Kurkumin +H ₂ O ₂	38.16±15.79 ^{ab}	37.93±30.13 ^{ab}	8.69±8.47 ^{ab}
10 µM Kurkumin +H ₂ O ₂	30.05±15.50 ^{ab}	26.62±27.08 ^{ab}	5.46±6.84 ^{ab}
25 µM Kurkumin +H ₂ O ₂	24.37±8.91 ^{ab}	14.02±13.96 ^{ab}	2.04±2.30 ^{ab}
50 µM Kurkumin +H ₂ O ₂	18.38±6.47 ^{ab}	8.27±10.35 ^{ab}	1.02±1.47 ^b

Kurkuminin genotoksik etkilerinin incelenmesinde 2.5-50 µM konsantrasyonlarda insan lenfositlerine tek başına uygulamasında, kuyruk uzunluğu değerlendirmesine göre düşük konsantrasyonlarda kontrole kıyasla herhangi bir hasara neden olmadığı bununla birlikte yüksek konsantrasyonlar olan 10, 25 ve 50 µM konsantrasyonlarda DNA hasarının başladığı belirlenmiştir (Şekil 4.3). Bununla birlikte değerlendirme verileri olarak kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti sonuçları alındığında kurkuminin tüm konsantrasyonlarında DNA hasarı oluşturmadığı görülmüştür.



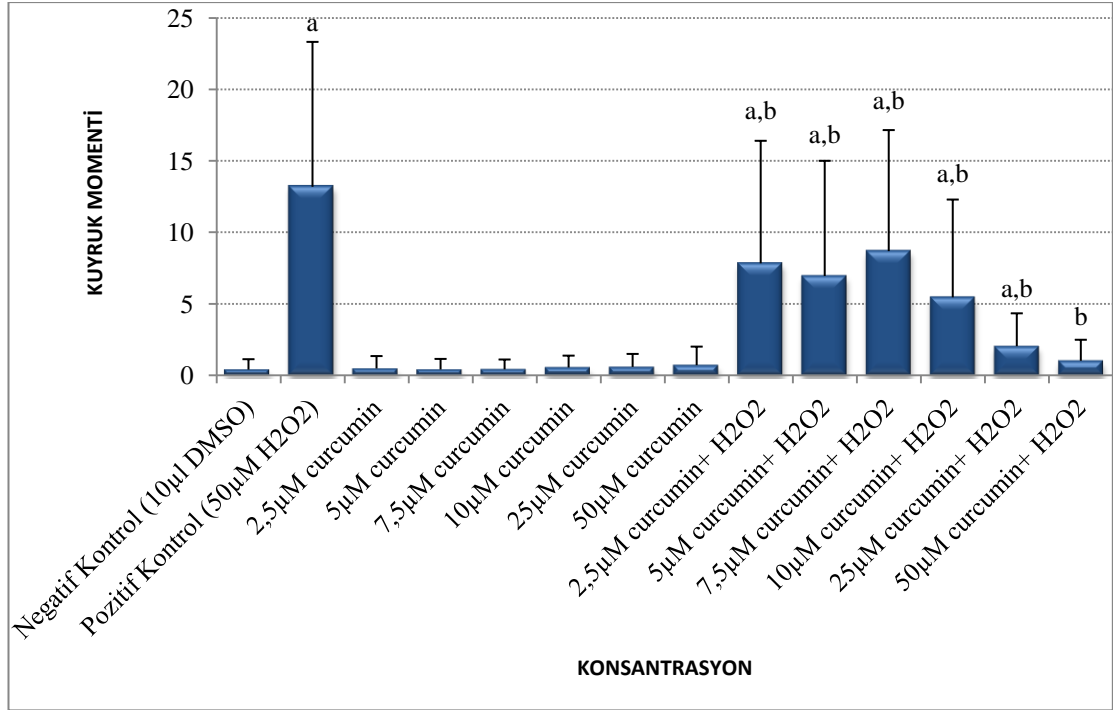
Şekil 4.3 Kurkuminin DNA kuyruk uzunluğu üzerine etkisi

- a) Negatif kontrole göre istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı b) Pozitif kontrole göre istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı



Şekil 4.4 Kurkuminin DNA kuyruk yoğunluğu üzerine etkisi

- a) Negatif kontrole göre istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı b) Pozitif kontrole göre istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı



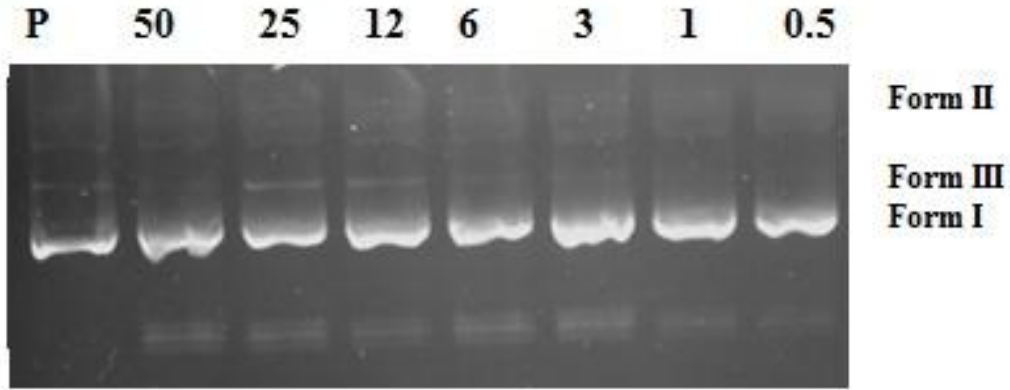
Şekil 4.5 Kurkuminin DNA kuyruk momentı üzerine etkisi

- a) Negatif kontrole göre istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı b) Pozitif kontrole göre istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı

Koruyucu etkisi araştırıldığında ise Kurkumin konsantrasyonları ile beraber hidrojen peroksit uygulanan tüm gruplarda ise tek başına hidrojen peroksit uygulanmış olan pozitif kontrol grubuna kıyasla DNA hasarında bir azalma olduğu yani kurkuminin oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 4.18 ve Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te gösterilmiştir.

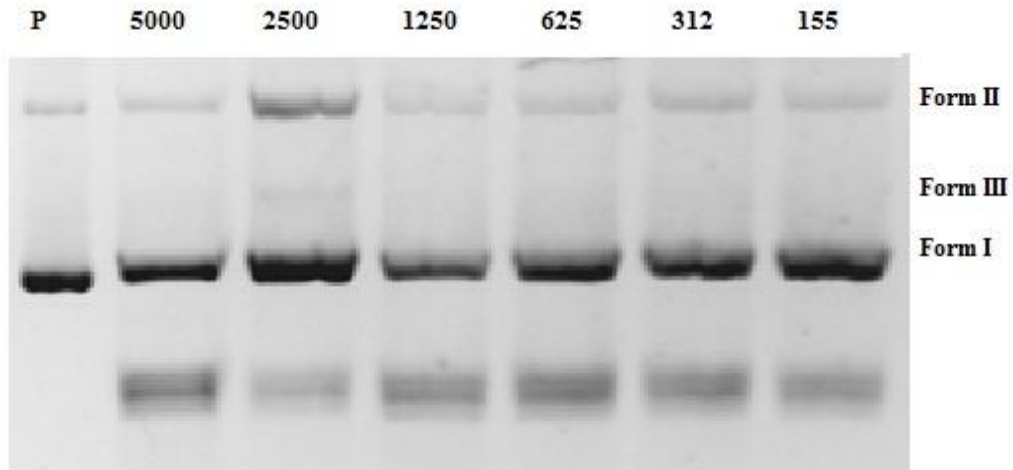
4.2.2. DNA Kurkumin Etkileşim Sonuçları

0.5-50 µM konsantrasyonlarda hazırlanan kurkumin plazmid DNA ile 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. Şekil 4.6'da görüldüğü gibi Kurkumin yüksek konsantrasyonlarda DNA harabiyetine neden olmuştur. Form I DNA tüm konsantrasyonlarda gözlenmiştir. Form II yüksek dozlarda görülürken Form III tüm denenen dozlarda belirgin olarak görülememiştir. Ayrıca yüksek konsantrasyondan düşüğe doğru DNA'nın hareketliliğinde az da olsa bir azalma gözlenmiştir.



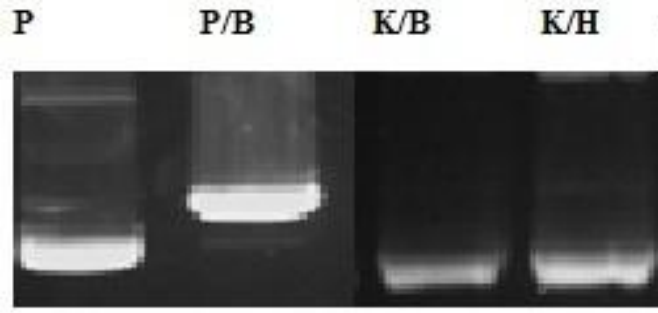
Şekil 4.6 50-0.5 μM konsantrasyonda 24 saat inkubasyon sonucu DNA kurkumin etkileşimi
(Form I supercoiled DNA, form III doğrusal DNA, form II nicked plazmid DNA)

Şekil 4.7’de 5000 μM -155 μM arasında değişen yüksek konsantrasyonlarda kurkumin DNA etkileşmesi DNA kesimi şeklinde gözlenmiştir. Ayrıca form I yoğunluğunda yüksek konsantrasyondan düşüğe doğru artış gözlemlendi.



Şekil 4.7 5000-155 μM konsantrasyonda 24 saat inkubasyon sonucu DNA kurkumin etkileşimi
(Form I supercoiled DNA, form III doğrusal DNA, form II nicked plazmid DNA)

Kurkuminin DNA üzerine etkisinin bağlanma şeklinde olup olmadığını ayrıca DNA’ya bağlanıyorsa hangi nükleotide bağlandığını anlamak için kurkumin ile inkübe edilmiş DNA BamHI ve HindIII enzimleri ile kesime tabi tutulmuştur. Şekil 4.8’de gözleneceği gibi her iki enzimin de DNA’yı kesmediği ve kurkuminin DNA’ya özgün olmayan nükleotidlerden bağlandığı gözlemlendi.



Şekil 4.8 Kurkumin ile etkileşmiş DNA'nın BamHI ve HindIII enzimi ile kesimi.

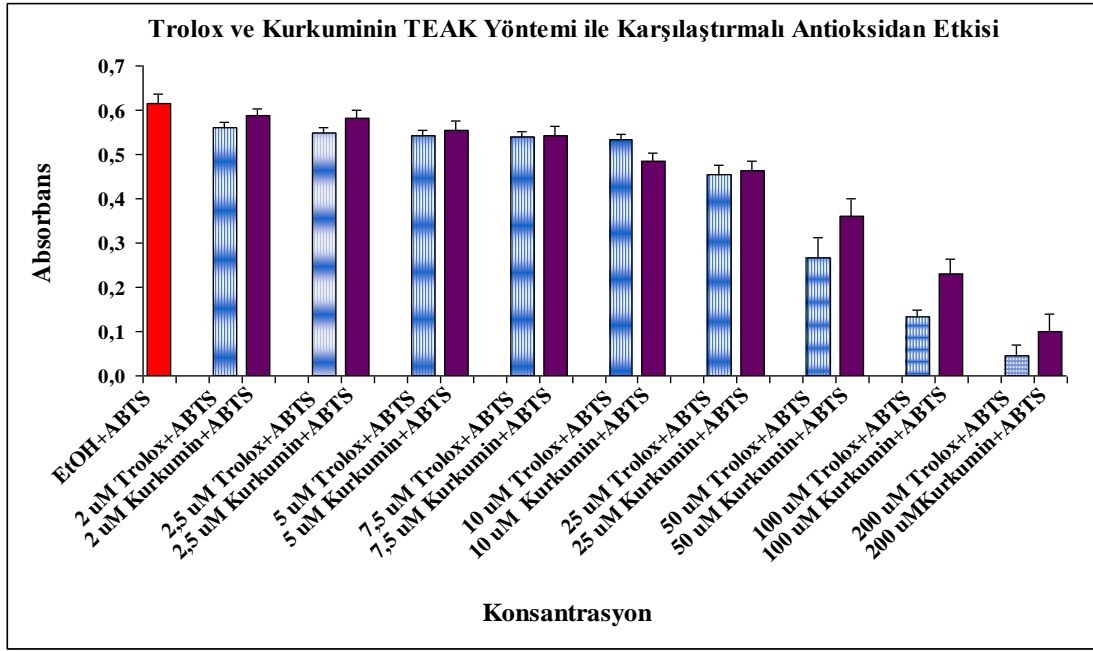
P, kontrol DNA, P/B, P/H, BamHI ve HindIII enzimleri ile kesilmiş DNA'yı K/B ve K/H de kurkumin ile etkileşmiş DNA'ların kesim sonuçlarını göstermektedir.

Elde edilen sonuçlar kurkuminin incelenen konsantrasyonlarda DNA üzerine zararlı etkisi olmadığı, sarmal yapıyı bozmadan bağlandığını farklı bir yöntemle gösterilmiştir. Bu da tek hücre alkali jel elektroforezi deneyinde kurkuminin genotoksik etkisinin görülmediğini doğrulamıştır.

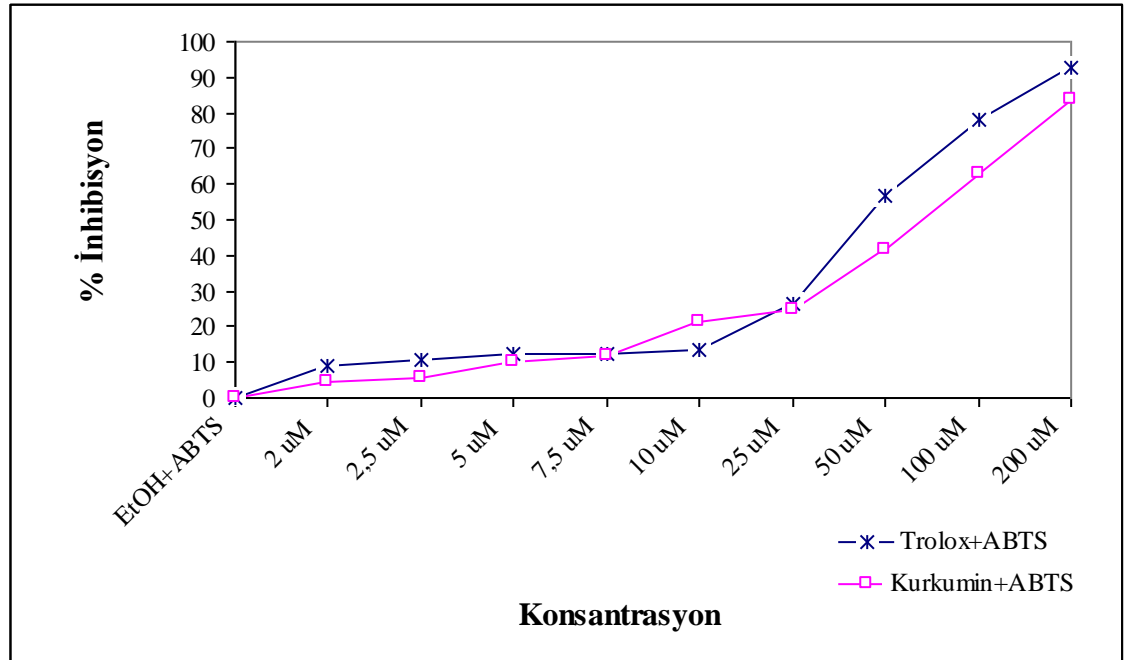
4.2.3. Kurkuminin TEAC Yöntemi ile Antioksidan Aktivitesine ilişkin

Bulgular

2-200 μM konsantrasyon aralığında kurkuminin oksidan olan ABTS çözeltisinin verdiği absorbansa karşı antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Kurkuminin konsantrasyonuna karşı aynı konsantrasyonlarda troloksun absorbans değerleri karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Şekil 4.9, Şekil 4.10).



Şekil 4.9 Troloks ve Kurkuminin TEAC yöntemi ile karşılaştırmalı antioksidan etkisi



Şekil 4.10 Troloks ve kurkuminin konsantrasyona karşı % inhibisyon grafiği

2 μM ve üzerindeki tüm konsantrasyonlarda kurkumin oksidan özellikteki ABTS'ye karşı antioksidan aktivite göstermiştir. Kurkuminin antioksidan aktivitesi

pozitif kontrol olarak denenen troloksa benzer olduğu doza bağlı olarak yüksek antioksidan etki gösterdiği saptanmıştır.

4.2.4. Kurkuminin Antimikrobiyal Aktivitesine İlişkin Bulgular

Çalışmada NU-1 örneğinden hazırlanan kurkumince zengin fraksiyon *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (G+), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (G-), *Escherichia coli* ATCC 25922 (G-), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Bacillus cereus* NRRL-B-3711 (G+), ve *Enterococcus faecalis* ATCC 292112 (G+) bakterisi, *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803 mayasına karşı denenmiştir.

Materyal yöntem kısmında açıklanmış olan disk difüzyon yöntemi kullanılmış, denenen bakteri ve mantarlara karşı 25-50 µM luk dozlarda kurkumin antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Kurkuminin miktarı artırılarak hazırlanan 5000 µM konsantrasyonda da yine hiçbir aktiviteye rastlanmamıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Curcuma longa L., rizomları çok eski zamanlardan beri ilgi duyulan, önceleri baharat olarak gıda endüstrisinde ve ilerleyen zamanlarda etkilerinin fark edilmesiyle ilaç endüstrisinde kullanılmaya başlanan, önemli bir Zingiberaceae familyası üyesidir. Drog Nepal’de halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde zerdeçal diye bilinen ve köri isimli baharatın ana maddesi olan *Curcuma longa* L. bitkisinin rizom tozu, son yıllarda dünyada olduğu gibi ülkemizde de önem kazanmıştır. Gıdalarda koku ve tat düzenleyici olarak kullanımının yanında tozu, ekstresi ya da içerdiği aktif maddeleri halinde birçok *in vitro*, *in vivo* ve klinik araştırmada materyal olarak kullanılmıştır.

Rizomlarının tozu uyarıcı, karminatif, antienflamatuvar, antihelmentik etkiye sahiptir. Aktarlarda parçalanmamış veya tozu halinde satılmakta olan bitkinin rizomları ülkemizde Gıda Tüzüğü’ne bağlı olarak değerlendirilip ithal edilmektedir. Marketler ve bazı dükkanlarda değişik farmasötik şekillerde gıda takviyesi olarak satılmakta olan bitkisel preparatlar ise Gıda takviyelerine ait yayınlanmış tüzük gereği izin almaktadır. Ancak zerdeçal tozunun veya bitkisel ürünün sağlık alanındaki kullanımları giderek yaygınlaşmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada aktarlarda ve dükkanlarda satılan *Curcuma longa* L. rizomlarının ve preparatlarının aktif bileşenleri üzerinde detaylı bir araştırma yapmak, bunlarla ilgili analiz yöntemleri geliştirmek, bazı biyolojik aktivitelerini incelemek, aktif maddeleri, varsa taşıdığı ağır metal ve pestisitleri miktar yönünden araştırarak elde edilen sonuçları halk sağlığı yönünden karşılaştırmak amaçlanmıştır.

Bunu gerçekleştirmek için üç farklı adresteki aktardan *Curcuma longa* L. bitkisinin parçalanmamış rizomları ve piyasada gıda takviyesi olarak bulunan bitkisel preparatlarından iki farklı marka ürün satın alınmıştır. Aktarlardan alınan rizomlar morfolojik yönden karşılaştırıldıktan sonra toz edilmiş ve hepsi aynı yöntemle tüketilmiştir. Kromatografik yöntemle izole edilen ve saflaştırılan fraksiyonlar kurkuminoitler yönünden incelenmiştir.

Ankara’daki aktardan alınan materyalin ithal belgeleri kontrol edilerek farmakope ve standartlarda belirtilen şekilde ekstre edilmiştir. Kurkumince zengin olan fraksiyon seçilerek kurkumin, kromatografik yöntemlerle saf olarak elde edilmiş, NMR ve diğer spektroskopik yöntemlerle yapısı tayin edilmiştir. Literatür

bulgularıyla da kontrol edilen saf kurkumin standart madde olarak diğer analizlerde kullanılmıştır.

Tez çalışmamızda *Curcuma longa* L. rizomları ve rizom tozlarını içeren kapsüller aktarlardan, standardize edilmiş kurkuminoitleri içeren bir piyasa preparatı da bitkisel ürün satan bir dükkandan satın alınarak değerlendirilmiştir. *Curcuma longa* L. rizomlarında bulunan kurkuminoitlerin miktar tayinleri spektrofotometrik olarak yapılmış, izole edilen kurkuminoitlerin yapıları aydınlatılmıştır, ayrıca kurkumin miktar tayini HPLC ve LC-MS-MS yöntemleri ile karşılaştırmalı olarak çalışılmıştır. Kurkuminoitler içinde en yüksek oranda bulunan ve en çok aktivite gösteren kurkuminin antioksidan, antibakteriyel ve antijenotoksik aktiviteleri araştırılmıştır. Son zamanlarda bitkilerdeki pestisit ve ağır metal oranlarının önemi daha çok araştırılmaya ve anlaşılmaya başladığı için yapılan çalışmamızda tüm örneklerdeki etken maddenin miktar tayini yanında ağır metal ve pestisit oranlarına da bakılmıştır. Ayrıca *Curcuma longa* L. uçucu yağının yapısı incelenerek bulgular yayınlanmış çalışmalarla karşılaştırılmıştır.

Curcuma longa L. rizomlarından su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağının üzerinde yapılan çalışmalarla yağın kimyasal yapısı aydınlatılmıştır. WHO monografındaki verilere göre % 4'ten daha az uçucu yağ bulunmaması gerekirken (1), incelenen numunede uçucu yağ miktarı % 1,2 (h/a) olarak bulunmuştur. Elde edilen yağın kimyasal yapısı Gaz-Kütle ve Gaz Sıvı Kromatografisi ile incelendiğinde ar-turmeron (% 38,4), turmeron (% 17,7) ve turmerol (% 16,8) yönünden zengin olduğu gözlenmiştir. Literatürler incelendiğinde, farklı *Curcuma* türlerinde ana komponentlerin; turmeron, ar-turmeron ve zingiberen olduğu görülmüştür (3). Bizdeki sonuçlarda turmeron ve ar-turmeron miktarları literatürler ile uyum göstermekte iken zingiberen miktarı literatürler ile karşılaştırıldığından düşük kalmaktadır. Uçucu yağdaki bu maddeler antimikrobiyal, antifungal ve antienflamatuvar etkileri nedeniyle önemlidir (149,245).

Curcuma longa L. rizomlarındaki yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda kurkumin ve demetoksikurkumin izole edilerek yapıları literatür bilgileri ile karşılaştırılarak aydınlatılmıştır. Analiz sonuçları tamamlanan ve yapıları tarafımızdan aydınlatılan iki maddenin morfolojik, kromatografik ve

spektrofotometrik özellikleri incelendiğinde diferuloilmetan yapısında oldukları gözlenmiştir.

Sarı amorf toz halinde bir madde olan **CL1** bileşiği, İTK'da revelatör püskürtmeden önce, gözle sarı, UV altında turuncu renkte görülmüştür. % 1 Vanilin/H₂SO₄ püskürtüldüğünde ise kurkuminoitlere ait kahverengi leke saptanmıştır. **CL1** bileşiğinin UV spektrumunda metanolde 425 nm'de maksimum absorpsiyon gösterdiği gözlenmiştir. IR spektrumunda da hidroksil gruplarına ait absorpsiyon bantı (3400 cm⁻¹), alifatik C-H grubuna ait absorpsiyon bantı (2980-2850), aromatik C=C fonksiyonuna ait absorpsiyon bantı (1600 ve 1510 cm⁻¹) gözlenmiştir. LC-MS-MS çalışmasında doğrudan verildiğinde, pozitif iyon ESI kütle spektrumunda m/z 369 bulunmuştur.

¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları karşılaştırıldığında **CL1** kodlu bileşiğin C₂₁H₂₀O₆ kapalı formülünde ve 1,3-diketon yapısına sahip simetrik bir molekül olduğu gözlenmiştir. 1,3-diketon yapıları tautomerizm göstererek daha kararlı oldukları enol formunda bulunabildikleri için **CL1** bileşiğinin NMR spektrumu da daha konjuge ve daha kararlı olduğu enol formuna işaret etmektedir. ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde öncelikle δ 3,79 civarında (6H, s, 2xOMe) metoksil gruplarına ait pik gözlenmektedir. Yapının enol formunda olduğu ise 6.01 ppm'de gözlenen ve 1 protona denk gelen sinyalden anlaşılmaktadır. 15,7 Hz (³J_{trans} =12.0-18.0 Hz) etkileşme sabitine sahip, 6,71 ppm ve 7,50 ppm'de dublet olarak sinyal veren pikler H-3, H-3', ve H-4, H-4' olefinik protonlara aittir. Spektrumda 6.78 ppm'de dublet ve 7.10 ppm'de dublet dublet olarak gözlenen ve ikişer protona denk gelen pikler H-9,H-9' ve H-10, H-10' aromatik protonlarına aittir. 7,10 ppm'de gözlenen pikin H-10 ve H-10' protonlarına ait olduğunun bir göstergesi de dublet dublet yarılmaması ve etkileşme sabitidir (J=1.7 Hz). 7.27 ppm'de elde edilen dublet H-10 ve H-10' protonlarına meta komşuluğunda bulunan H-6 ve H-6' protonudur. Benzen halkalarına bağlı olan metoksi gruplarına ait protonlar 3,79 ppm'de etkileşirken, 9.61 ppm'de görülen yayvan pik hidroksil gruplarına aittir (Tablo 4.7, Spektrum 4.2, Spektrum 4.3).

¹³C NMR spektrumu incelendiğinde 21 karbon atomu taşıdığı ve ortaya çıkan yapıyı doğruladığı görülmüştür. Ayrıca 55.7 ppm'de çıkan metoksil grubuna ait pik

ile 180 civarındaki karbonil grubuna ait karbon piklerinin tanımlanan kimyasal yapıya karakterizedir (Tablo 4.7, Spektrum 4.4).

Elde edilen tüm spektroskopik ve kromatografik bulguların ışığı altında **CL1** bileşiğinin **Kurkumin** olduğu tespit edilmiş ve bu sonuç literatürde kayıtlı verilerle de karşılaştırılarak doğrulanmıştır (306,307).

Kurkuminoitlerce zengin fraksiyondan elde edilen sarı amorf toz halinde bir madde olan **CL2** kodlu bileşik de İTK ve UV spektrumunda **CL1** maddesinden farklılık göstermemiştir. LC-MS-MS ile analizinde pozitif iyon ESI kütle spektrumunda m/z 339 bulunmuştur. ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları ile karşılaştırıldığında bileşiğin C₂₀H₁₇O₅ kapalı formülüne sahip olduğu bulunmuştur.

Bulgular kısmında yapı tayini ayrıntılı biçimde verilmiş olan **CL2** bileşiğinin proton NMR spektrumunda 3.79 ppm'de alan olarak üç protona denk gelen sadece bir sinyal gözlenmektedir. Bu da yapıda tek metoksil grubu olduğunu göstermektedir. Spektrum incelendiğinde asimetric bir molekül olduğu ve buna bağlı olarak elde edilen proton spektrumunda **CL1** maddesine yakın fakat farklılıklar taşıdığı gözlenmektedir. **CL1** kodlu Kurkuminde simetriden dolayı beraber etkileşen olefinik H-3, H-3', H-4 ve H4' protonları ayrı ayrı yerlerde rezonansa uğramışlardır (Tablo 4.8, Spektrum 4.5, Spektrum 4.6).

¹³C NMR spektrumu incelendiğinde Kurkumin spektrumundan farklı olarak C-7' nün daha yüksek ppm'de çıkmasının nedeni metoksi grubunun yapıdan ayrılması nedeniyle elektronca fakir bölge oluşması ve düşük alana kaymasıdır (Tablo 4.8, Spektrum 4.7).

¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları yardımı ile tespit edilen bileşiğin verileri literatürler ile karşılaştırıldığında demetoksikurkumin olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bulguların literatürde kayıtlı bulgularla uyum göstermesi **CL2** bileşiğinin, **Demetoksikurkumin** olduğunu göstermiştir (306,307).

Curcuma longa L. rizomlarından elde edilen kurkuminoitlerce zengin fraksiyondan bir kurkumin türevi daha izole edilmiş ancak bisedemetoksikurkumin yapısına benzer sinyaller olmasına rağmen NMR bulgularının temiz olmaması nedeniyle burada belirtilmemiştir. Konuyla ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Bitkisel materyallerin analizlerinde kullanılmak üzere Halk Sağlığı Laboratuvarlarında bulunan HPLC ve LC-MS-MS cihazları için gıda takviyesi ve

baharat olarak kullanılan zerdeçal örnek alınarak bir yöntem geliştirilmiştir. Literatür bilgilerinden de yararlanılarak yapılan analizlerde hem toz drog, hem de farmasötik preparattaki miktar tayini çalışmaları standart kurkumin miktarı ile karşılaştırmalı olarak yapılmıştır. Sonuçlar kurkuminoit ekstresinin ana bileşiği olan ve aktivite çalışmalarında önemli rol oynayan kurkumin üzerinden hesaplanmıştır. Analizler tekrarlanabilir sonuçlar elde edilene kadar denenmiş, spektroskopik yöntemlerle de kontrol edilmiştir. İzolasyon ve miktar tayini ile ilgili bilgiler Bölüm 3. ve 4.'te ayrıntılı bir şekilde verilmiştir.

Curcuma longa L. rizomlarının taşıdığı kurkumin renk maddesi olarak tanımlanmakta ve özel bir yöntemle miktar tayini yapılmaktadır. Bu amaçla renk maddelerinin tanımlanması için spesifik bir spektrofotometrik yöntem olan, Uluslararası Standart ISO 5566:1982 (E) Metodu kullanılmıştır. İncelenen tüm aktar numuneleri ve kapsüller üzerinde kurkuminoit miktar tayinleri bu yöntemle yapılarak farmakopelerdeki ve yayınlardaki verilerle doğrulukları değerlendirilmiştir (Tablo 5.1).

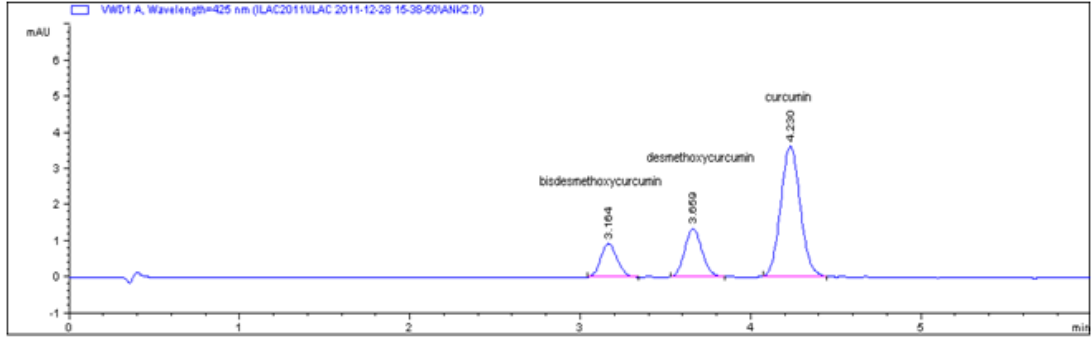
Tablo 5.1 Spektrofotometrik Yöntemle Hesaplanmış Zerdeçal Numunelerindeki Total Kurkuminoit Miktarları

NU-1: Ankara'daki aktar numunesi, NU-2: İstanbul yakasından alınan aktar numunesi; NU-3: Anadolu yakasından alınan aktar numunesi; NU-4: Gıda takviyesi numunesi; NU-5: Gıda takviyesi numunesi *: (1/10 seyreltik)

	Tartım Miktarı (g)	Absorbans	Total kurkuminoit %
NU-1	0,5325	0,2012	% 1,18
NU-2	0,5093	0,2224	% 1,13
NU-3	0,5129	0,1356	% 0,82
NU-4	0,5094	0,2573	% 1,57
NU-5	0,5020	0,2932*	91%

HPLC sisteminde ilk önce standarttan yola çıkarak kurkuminin miktar tayini yapılmış daha sonra yüzde alanlardan toplam kurkuminoit miktarı hesaplanmıştır. Kromatogram 5.1'de kurkuminoit fraksiyonunun alıkonma zamanları, Tablo 5.1 ile

Tablo 5.2’de spektrofotometrik analiz sonuçları, kurkumin ve kurkuminoitlerin g/g üzerinden hesaplanan % miktarları ile verilmiştir.



Kromatogram 5.1 HPLC yöntemi ile toplam kurkuminoitlerin kromatogramı

Tablo 5.2 Zerdeçal Numunelerinde Bulunan Kurkumin, Diğer Kurkuminoitler ve Total Kurkuminoit Miktarları

NU-1: Ankara’daki aktar numunesi, NU-2: İstanbul Avrupa yakasından alınan aktar numunesi; NU-3: İstanbul Anadolu yakasından alınan aktar numunesi; NU-4: Gıda takviyesi numunesi; NU-5: Gıda takviyesi numunesi.

	% kurkumin (HPLC)	% diğer kurkuminoit (HPLC)	% Total kurkuminoit (HPLC)	% Total kurkuminoit Spektrofotometre
NU-1	% 0,715	% 0,39	% 1,1	% 1,18
NU-2	% 0,863	% 0,43	% 1,3	% 1,13
NU-3	% 0,664	% 0,34	% 1,0	% 0,82
NU-4	% 0,907	% 0,51	% 1,41	% 1,57
NU-5	% 66,34	% 23,66	% 90	% 91

Tablo incelendiğinde HPLC analizindeki toplam kurkuminoit miktarları ile spektrofotometrik analiz sonucunda bulunan toplam kurkuminoit miktarları benzer çıkmış ve sonuçlardaki fark oranının en fazla % 0,2 olduğu gözlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre çalışılan tüm numuneler kurkumin ve türevlerini taşımaktadır (Tablo 5.2). Ancak Dünya Sağlık Örgütü (WHO) monografındaki verilere göre % 3’ten daha az kurkuminoit içermemesi gerekirken *Curcuma longa* L. rizomlarında; % 0.82-1.18 oranları arasında kurkuminoit bulunmuştur (1). Gıda takviyesi olarak kullanılan numunelerden biri aktarda satılan rizom tozunun kapsüllere doldurulduğunu ve yeterli oranda kurkuminoit içermediğine işaret

etmektedir. NU-5 numunesi ise kurkumini standardize edilmiş halde içermektedir. Ürün bilgilerinde % 95 kurkuminoit içeriği olduğu belirtilmekte ise de analizlerimizde bu miktar % 91 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 5.3 Zerdeçal Numunelerinde Bulunan Kurkumin ve Diğer Kurkuminoitlerin HPLC Yöntemiyle % Alan Üzerinden Hesaplanmış Miktarları

NU-1: Ankara'daki aktar numunesi, NU-2: İstanbul Avrupa yakasından alınan aktar numunesi; NU-3: İstanbul Anadolu yakasından alınan aktar numunesi; NU-4: Gıda takviyesi numunesi; NU-5: Gıda takviyesi numunesi.

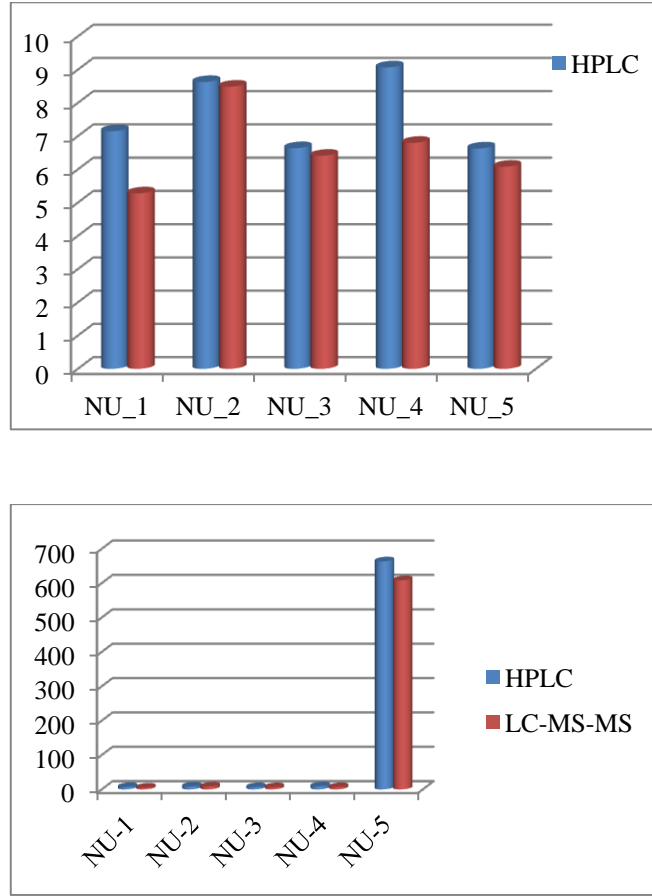
	% Kurkumin (HPLC)	% Diğer kurkuminoitler (HPLC)
NU-1	% 65	% 35
NU-2	% 64	% 36
NU-3	% 56	% 44
NU-4	% 64	% 36
NU-5	% 74	% 26

Tablolar incelendiğinde HPLC analizindeki toplam kurkuminoit miktarları ile spektrofotometrik analiz sonucunda bulunan toplam kurkuminoit miktarlarının benzer oldukları ve birbirlerini destekledikleri görülmektedir. HPLC ve LC-MS-MS yöntemleri karşılaştırıldığında sonuçların birbirini doğruladığı görülmektedir (Tablo 5.4, Şekil 5.1).

Tablo 5.4 Zerdeçal Numunelerinde Bulunan Kurkumin Miktarları

NU-1: Ankara'daki aktar numunesi, NU-2: İstanbul Avrupa yakasından alınan aktar numunesi; NU-3: İstanbul Anadolu yakasından alınan aktar numunesi; NU-4: Gıda takviyesi numunesi; NU-5: Gıda takviyesi numunesi.

	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC)		Sıvı Kromatografisi Tandem Kütle spektroskopisi ile (LC-MS-MS)	
	SONUÇ (mg/g)	% KURKUMİN (g/g)	SONUÇ (mg/g)	% KURKUMİN (g/g)
NU-1	7,15	0,715	5,28	0,528
NU-2	8,63	0,863	8,49	0,849
NU-3	6,64	0,664	6,41	0,641
NU-4	9,07	0,907	6,80	0,68
NU-5	663,49	66,34	608,36	60,36



Şekil 5.1 HPLC ve LC-MS-MS yöntemlerinde hesaplanan kurkumin miktarlarının karşılaştırılması

HPLC sonuçlarındaki yüzde alanlardan yola çıkarak değerlendirildiğinde toplam kurkuminoit içeriğindeki kurkumin oranları % 56-74 arasında değişirken diğer kurkuminoitlerin % 26-44 arasında değiştiği gözlenmektedir (Tablo 5.2). Bu sonuçlar, *Curcuma longa* L. drog tozundaki kurkuminoit oranlarında farklılıklar olduğunu göstermektedir. Yapılan analizler sonucunda kurkumin miktarları % 0,6-0,9 aralığında çıkmıştır. EMEA monografına göre *Curcuma longa* L. türlerinin rizomları arasında kurkumin oranları, % 0,6 ile % 5 oranları arasında bulunmalıdır (308). Bulduğumuz sonuçlarda kurkumin oranlarının alt sınıra yakın ancak kabul edilebilir düzeyde bulunmuştur.

Bitkilerdeki pestisit ve ağır metal oranlarının sağlığı önemli derecede etkilediği son zamanlarda yapılan çalışmalarla bilimsel olarak kanıtlanmıştır. İncelenen numunelerde, pestisit varlığı ve oranları araştırılmış, numunelerin hepsinde heksaklorobenzen (hcb) artığına rastlanmış bazılarında da endosulfanların kullanıldığı saptanmıştır. Bir tane numune örneğinde de diklorodifeniltrikloroetan (ddt) bulunmuştur. Fosforlu pestisitlere ise rastlanmamıştır. Numunelerde çalışılan pestisitlerin miktarları Tablo 5.5’de gösterilmiştir.

Tablo 5.5 Uluslararası Standartlara göre çalışılan Numunelerdeki Pestisit Miktarları
NU-1: Ankara’daki aktar numunesi, NU-2: İstanbul Avrupa yakasından alınan aktar numunesi; NU-3: İstanbul Anadolu yakasından alınan aktar numunesi; NU-4: Gıda takviyesi numunesi; NU-5: Gıda takviyesi numunesi.

PESTİSİTLER (ppm)	NU-1	NU-2	NU-3	NU-4	NU-5
hcb	0.131	0.655	0.627	0.741	0.764
γ-hch	0.0499	-	-	-	-
α-endosulfan	0.821	-	-	-	0.448
β-endosulfan	0.32	-	1.2	-	-
pp-dde	-	-	0.587	-	-
pp-ddd	-	-	3.283	-	-

Sonuçlar incelendiğinde bazı numunelerdeki endosulfan ve ddt miktarları yüksek görünmektedir. Dünya Sağlık rgt (WHO) monografında *Curcuma longa* L. rizomları için kayıtlı pestisitler aldrin ve dieldrin olup kabul edilebilir st limit bu pestisitler için 0.05 mg/kg olarak verilmiştir (1). Çalışmamızda araştırılan numunelerde bu pestisitlere rastlanmamıştır. Bu da farklı bölgelerde yetiştirilen bitkilerde farklı pestisitler kullanılabileceğini düşündürmektedir. Türk Gıda Kodeksi’nde *Curcuma longa* L. ile ilgili herhangi bir pestisit bilgisine rastlanmamıştır.

Toz drog ve bitkisel preparatlarda insan sağlığı için önemli olan eser element ve ağır metal miktarları yönünden değerlendirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda numunelerde çok yüksek oranda potasyum, kalsiyum ve magnezyuma rastlanmıştır. Bunların yanı sıra, numunelerde demir, manganez, çinko ve selenyum da yer almaktadır (Tablo 5.6).

Tablo 5.6 Numunelerde Uluslararası Standartlara Göre Araştırılan Mineral Oranları

NU-1: Ankara'daki aktar numunesi, NU-2: İstanbul Avrupa yakasından alınan aktar numunesi; NU-3: İstanbul Anadolu yakasından alınan aktar numunesi; NU-4: Gıda takviyesi numunesi; NU-5: Gıda takviyesi numunesi.

Mineraller (ppm)	NU-1	NU-2	NU-3	NU-4	NU-5
K	287532.7	330081.76	239276.12	333953.08	1797.21
Ca	19282.67	18033.66	17128.84	20140.35	1641.8
Mg	2170.12	2298.97	2614.02	2475.97	1435.9
Fe ⁵⁶	254.97	222.36	391.93	287.14	27.15
Mn	88.45	41.32	320.95	39.11	1.09
Zn	7.31	8.78	45.83	8.8	1
Se	0.061	0.077	0.15	0.091	<0.05

Numunelerdeki potasyum ve kalsiyum miktarının yüksek oluşu sağlık açısından önemlidir. NU-5 numunesine bakıldığında eser element miktarının düşük olduğu görülmektedir. Bu da NU-5 örneğinin ekstre yerine sadece kurkuminoit içerdiğini desteklemektedir.

Çalışılan numunelerdeki ağır metallerin varlığı ve oranları incelendiğinde (Tablo 5.7) alüminyum içeriğinin yüksek olduğu diğer ağır metal tuzlarının limitlere uygun olduğu gözlenmektedir.

Tablo 5.7 Numunelerde Uluslararası Standartlara Göre Araştırılan Ağır metal Oranları

NU-1: Ankara'daki aktar numunesi, NU-2: İstanbul Avrupa yakasından alınan aktar numunesi; NU-3: İstanbul Anadolu yakasından alınan aktar numunesi; NU-4: Gıda takviyesi numunesi; NU-5: Gıda takviyesi numunesi.

Ağır Metaller (ppm)	NU-1	NU-2	NU-3	NU-4	NU-5
Al	360.88	335.04	886.42	387.81	36.37
As	0.082	0.062	0.33	0.051	<0.04
Cd	<0.04	<0.04	0.9	<0.04	<0.04
Sn	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Hg	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
Pb	4.29	0.16	1.36	0.31	0.09

Türk gıda kodeksine göre değerlendirildiğinde gıda takviyeleri ve tahıllarda maksimum 3 ppm olması gerekirken, bir numunede kurşun oranı yüksek çıkmıştır.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) monografında ağır metaller için kadmiyumu esas almakta ve üst sınırı 0,3 ppm olarak vermektedir (1). Yine çalışılan tüm numunelerde kadmiyum sınırları limitin altındadır. Ancak kurşun seviyesinin bir numunede bile olsa yüksek çıkması ülkemiz açısından tüm ağır metallerin incelenerek kabul edilebilir bir sınırın belirlenmesinin uygun olacağını göstermektedir.

Kurkuminoitler içerisinde en yüksek oranda bulunan ve çok sayıda aktivite çalışmasına sahip olan kurkuminin antigenotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır.

Antigenotoksik etkisi iki ayrı deneyle araştırılmıştır. Comet deneyi ile bitkisel materyalden hareketle elde edilen kurkumin tek hücreli alkali jel elektroforezine uygulanmış ve belirlenen doz aralığında önce insan lenfositlerine genotoksik etkisi olup olmadığı araştırılmış, daha sonra genotoksik etkisi bilinen bir ajanla beraber inkübasyona bırakılarak doza bağlı olarak koruyucu ve/veya düzeltici etkisi istatistiksel olarak incelenmiştir. 2.5-50 μ M konsantrasyon aralığında kurkuminin genotoksik ve H_2O_2 ile indüklenen oksidatif hasara karşı antigenotoksik etkileri; insan periferik lenfositlerinde DNA hasarının göstergesi olan kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti parametreleri kullanılarak Tablo 4.18'de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kurkuminin insan lenfositlerine karşı kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti değerlendirmesinde düşük dozda etki görülmezken yüksek dozda kurkuminin genotoksik etkisi belirlenmiştir (Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5). Koruyucu veya düzeltici etkilerini görmek amacıyla deney koşulları değiştirilmeden hidrojen peroksit çözeltisi ile genotoksik etki tespit edilmiştir. Daha sonra aynı koşullarda kurkuminin çalışılan konsantrasyonları hidrojen peroksit ile birlikte inkübasyona bırakılmıştır. Kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti kontrol edilerek elde edilen sonuçlar pozitif kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve DNA harabiyetine karşı doza bağlı koruyucu etkisi olduğu gözlenmiştir.

İkinci deney ise aynı kaynaktan elde edilen kurkuminin plazmid DNA ile inkübe edilmesine ve etkileşiminin değerlendirilmesine dayanmaktadır. Şekil 4.6'da görüldüğü gibi kurkumin yüksek konsantrasyonlarda DNA kırıklarına neden olmuştur. Form I den daha küçük bir DNA tüm konsantrasyonlarda gözlenmiş, DNA hareketliliğinde yüksek konsantrasyondan düşüğe doğru azalma saptanmıştır.

Yüksek kurkumin konsantrasyonlarının DNA'ya olan etkisi için, 5000 μM -155 μM arasında değişen konsantrasyonlardaki kurkumin çözeltileri kullanılmış ve etki DNA kesimi şeklinde gözlenmiştir (Şekil 4.7). Sonuçta form I yoğunluğunda yüksek konsantrasyondan düşüğe doğru artış gözlenmiştir.

Kurkuminin DNA üzerine etkisinin bağlanma şeklinde olup olmadığını DNA'ya bağlanıyorsa hangi nükleotide bağlandığını anlamak için kurkumin ile inkübe edilmiş DNA BamHI ve HindIII enzimleri ile kesime tabi tutulmuştur. Şekil 4.8'de gözleneceği gibi her iki enzimin de DNA'yı kesmediği dolayısıyla kurkuminin DNA'ya bağlanmasının özgün olmayan nükleotitlerden gerçekleştiği gözlenmiştir.

Antioksidan aktivite çalışmalarında, 2-200 μM konsantrasyon aralığında kurkuminin oksidan olan ABTS çözeltisinin verdiği absorbansa karşı antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Kurkuminin konsantrasyonuna karşı aynı konsantrasyonlarda troloksun absorbans değerleri karşılaştırmalı olarak verilmiştir. 2 μM ve üzerindeki tüm konsantrasyonlarda kurkumin oksidan özellikteki ABTS'ye karşı antioksidan aktivite göstermiştir. Kurkuminin antioksidan aktivitesinin troloksa benzer olduğu saptanmıştır. Antioksidan aktivite için denenen yöntem hassas sonuç vermesi nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir yöntem olup elde edilen doza bağlı olarak yüksek antioksidan sonuç göstermiştir. Bulgularımız literatürlerle uyumlu çıkmıştır (15).

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (G+), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (G-), *Escherichia coli* ATCC 25922 (G-), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (G+), *Bacillus cereus* NRRL-B-3711 (G+), ve *Enterococcus faecalis* ATCC 292112 (G+) bakterisi, *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803 mayası kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite için doğal yolla elde edilen kurkumin incelendiği konsantrasyonlarda denenen bakteri ve mantarlara karşı etkisiz bulunmuştur. Literatürlerde genellikle uçucu yağ yönünden zengin fraksiyonları içeren materyallerde yüksek antimikrobiyal etkinin görüldüğü kayıtlıdır. Literatürlerde uçucu yağ içermeyen saf kurkumin taşıyan numunelerin değişik konsantrasyonlarda farklı bakteri ve mantarlara kullanılmış olması sonuçları tartışmak açısından zorluk yaratmaktadır (3,245).

Sonuç olarak ülkemizde baharat olarak bilinen ve son zamanlarda sağlık alanında da kullanılmaya başlanan *Curcuma longa* L. toz drog ve bitkisel preparatları ile kurkumin üzerinde detaylı bir çalışma yürütülmüştür. Kurkumince zengin fraksiyonlardan kurkumin ve demetoksikurkumin izole edilmiş yapıları proton ve karbon NMR sonuçları ile aydınlatılmıştır. Koku ve tat düzeltici olarak kullanılması nedeniyle uçucu yağı elde edilmiş, GC-MS ve GC yöntemleri kullanılarak analizi gerçekleştirilmiştir. HPLC, LC-MS-MS ve spektroskopik yöntemler kullanılarak kurkumin ve kurkuminoitler için miktar tayini yöntemleri geliştirilmiş ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilmiştir. Miktar tayini çalışmalarının yanında pestisit, mineral ve ağır metal tuzlarının varlığı eş zamanlı araştırılmıştır.

Geliştirilen yöntemler üç farklı adresten alınan toz drog numuneleri ile iki farklı bitkisel ürüne uygulanmış ve elde edilen veriler literatür bulguları ve monograflarla kıyaslanmıştır. Numunelerdeki etken maddelerin varlığı saptanmış ancak miktarlarının Dünya Sağlık Örgütü'nün hazırladığı monograftaki değerlerin altında olduğu gözlenmiştir. Çalışılan tüm numunelerde monograflarda aranılması istenilen ağır metal tuzlarına ve pestisitlere rastlanmamıştır.

Bu çalışmada zerdeçal droğunun endosülfan ve diklorodifeniltrikloroetan gibi pestisitleri taşıdığı, yüksek oranda potasyum, kalsiyum, magnezyum ve kurşun bulundurduğu gösterilmiştir. Monograflar genellikle baharatlarda bazı pestisit ve ağır metallerin limitlerini yayınlamış ve aranmasını zorunlu tutmuştur. Ancak çalışmamızda monografta kayıtlı olmayan maddelere rastlanması risk listesi olmayan ürünlerde detaylı araştırma yapılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur.

İlaveten bu çalışmada formülünde bitkisel ekstre taşıyan gıda takviyesi numunesinin (NU-5) etiketinde standardize edilmiş toz drog ekstresi yazmasına rağmen yüksek oranda kurkuminoit içerdiği ortaya çıkmıştır. Yapılan literatür araştırmalarında yüksek dozda kurkuminoit alınmasına bağlı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak ürünün içerdiği etken madde formülde yazan miktar ile uyumlu olmasına rağmen yüksek miktarda bulunması nedeniyle risk oluşturabilecektir. Bu nedenle yüksek oranda etken madde taşıyan bitkisel ürünlerin etiketlerinde konu ile ilgili uyarıcı bilgilerin yer alması toplum sağlığı açısından yararlı olacaktır. Sonuçlar Halk Sağlığı Laboratuvarlarında bitkisel ürünlerin analizleri için bir referans laboratuvar oluşturulmasının önemini ortaya çıkarmıştır.

KAYNAKLAR

1. Rhizoma *Curcumae Longae*, WHO monographs on selected medicinal plants (C. Vol 1). (1999). World Health Organisation.
2. Eigner, D., Scholz, D. (1999) *Ferula asa-foetida* and *Curcuma longa* in traditional medical treatment and diet in Nepal. *J Ethnopharmacol*, 67 (1), 1-6.
3. Jayaprakasha, G.K., Jagan, L., Rao, M., Sakariah, K.K. (2005) Chemistry and biological activities of *Curcuma longa*. *Trends in Food Science & Technology*, 16 (12), 533-548.
4. Ammon, H.P., Anazodo, M.I., Safayhi, H., Dhawan, B.N., Srimal, R.C. (1992) Curcumin: a potent inhibitor of leukotriene B₄ formation in rat peritoneal polymorphonuclear neutrophils (PMNL). *Planta Med*, 58 (2), 226.
5. Ammon, H.P., Wahl, M.A. (1991) Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Med*, 57 (1), 1-7.
6. Govindarajan, V.S. (1980) Turmeric-chemistry, technology, and quality. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 12 (3), 199-301.
7. Khanna, N. (1999) Turmeric-nature's precious gift. *Current Science*, 76, 1351-1356.
8. Srimal, R.C. (1997) Turmeric: A brief review of medicinal properties. *Fitoterapia*, LXVIII, 483-499.
9. Jitoe, A., Masuda, T., Tengah, I.G.P., Suprpta, D.N., Gara, I.W., Nakatani, N. ve diğ erleri. (1992) Antioxidant activity of tropical ginger extracts and analysis of the contained curcuminoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1337-1340.
10. Masuda, T., Isobe, J., Jitoe, A., Nakatani, N. (1992) Antioxidative curcuminoids from rhizomes of *Curcuma cantorrrhyza*. *Phytochemistry*, 31, 3645-3647.

- 11.Sharma, O.P. (1976) Antioxidant activity of curcumin and related compounds. *Biochem Pharmacol*, 25 (15), 1811-1812.
- 12.Toda, S., Miyase, T., Arichi, H., Tanizawa, H.,Takino, Y. (1985) Natural antioxidants. III. Antioxidative components isolated from rhizome of *Curcuma longa* L. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 33 (4), 1725-1728.
- 13.Reddy, A.C.,Lokesh, B.R. (1992) Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. *Mol Cell Biochem*, 111 (1-2), 117-124.
- 14.Sreejayan,Rao, M.N. (1994) Curcuminoids as potent inhibitors of lipid peroxidation. *J Pharm Pharmacol*, 46 (12), 1013-1016.
- 15.Unnikrishnan, M.K.,Rao, M.N. (1992) Curcumin inhibits nitrite-induced methemoglobin formation. *FEBS Lett*, 301 (2), 195-196.
- 16.Jayaprakasha, G.K., Rao, L.J.,Sakariah, K.K. (2006) Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food Chemistry*, 98 (4), 720-724.
- 17.Kunnumakkara, A.B., Guha, S., Krishnan, S., Diagaradjane, P., Gelovani, J.,Aggarwal, B.B. (2007) Curcumin potentiates antitumor activity of gemcitabine in an orthotopic model of pancreatic cancer through suppression of proliferation, angiogenesis, and inhibition of nuclear factor-kappaB-regulated gene products. *Cancer Res*, 67 (8), 3853-3861.
- 18.Sandur, S.K., Pandey, M.K., Sung, B., Ahn, K.S., Murakami, A., Sethi, G. ve diğ erleri. (2007) Curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, tetrahydrocurcumin and turmerones differentially regulate anti-inflammatory and anti-proliferative responses through a ROS-independent mechanism. *Carcinogenesis*, 28 (8), 1765-1773.
- 19.Sarvalkar, P.P., Walvekar, M.V.,Bhopale , L.P. (2011) Antioxidative effect of curcumin (*Curcuma longa*) on lipid peroxidation and lipofuscinogenesis in

submandibular gland of D-galactose- induced aging male mice. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (20), 5191-5193.

20.Hatcher, H., Planalp, R., Cho, J., Torti, F.M.,Torti, S.V. (2008) Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cell Mol Life Sci*, 65 (11), 1631-1652.

21.Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Newman, R.A.,Aggarwal, B.B. (2007) Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Mol Pharm*, 4 (6), 807-818.

22.Goel, A., Kunnumakkara, A.B.,Aggarwal, B.B. (2008) Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol*, 75 (4), 787-809.

23.Kunnumakkara, A.B., Anand, P.,Aggarwal, B.B. (2008) Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. *Cancer Lett*, 269 (2), 199-225.

24.Shishodia, S., Amin, H.M., Lai, R.,Aggarwal, B.B. (2005) Curcumin (diferuloylmethane) inhibits constitutive NF-kappaB activation, induces G1/S arrest, suppresses proliferation, and induces apoptosis in mantle cell lymphoma. *Biochem Pharmacol*, 70 (5), 700-713.

25.Merrell, J.G., McLaughlin, S.W., Tie, L., Laurencin, C.T., Chen, A.F.,Nair, L.S. (2009) Curcumin-loaded poly(epsilon-caprolactone) nanofibres: diabetic wound dressing with anti-oxidant and anti-inflammatory properties. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 36 (12), 1149-1156.

26.Reddy, B.V., Sivagama Sundari, J., Balamurugan, E.,Menon, V.P. (2010) Antihyperlipidemic effect of bis-1,7-(2-hydroxyphenyl)-hepta-1,6-diene-3,5-dione, a curcumin analog, on nicotine and streptozotocin treated rats. *Mol Cell Biochem*, 335 (1-2), 249-254.

27.Arbiser, J.L., Klauber, N., Rohan, R., van Leeuwen, R., Huang, M.T., Fisher, C. ve diğeri. (1998) Curcumin is an in vivo inhibitor of angiogenesis. *Mol Med*, 4 (6), 376-383.

- 28.Mohan, R., Sivak, J., Ashton, P., Russo, L.A., Pham, B.Q., Kasahara, N. ve diğerleri. (2000) Curcuminoids inhibit the angiogenic response stimulated by fibroblast growth factor-2, including expression of matrix metalloproteinase gelatinase B. *J Biol Chem*, 275 (14), 10405-10412.
- 29.Ishrat, T., Hoda, M.N., Khan, M.B., Yousuf, S., Ahmad, M., Khan, M.M. ve diğerleri. (2009) Amelioration of cognitive deficits and neurodegeneration by curcumin in rat model of sporadic dementia of Alzheimer's type (SDAT). *Eur Neuropsychopharmacol*, 19 (9), 636-647.
- 30.Ma, Q.L., Yang, F., Rosario, E.R., Ubeda, O.J., Beech, W., Gant, D.J. ve diğerleri. (2009) Beta-amyloid oligomers induce phosphorylation of tau and inactivation of insulin receptor substrate via c-Jun N-terminal kinase signaling: suppression by omega-3 fatty acids and curcumin. *J Neurosci*, 29 (28), 9078-9089.
- 31.Yanagisawa, D., Shirai, N., Amatsubo, T., Taguchi, H., Hirao, K., Urushitani, M. ve diğerleri. (2010) Relationship between the tautomeric structures of curcumin derivatives and their Abeta-binding activities in the context of therapies for Alzheimer's disease. *Biomaterials*, 31 (14), 4179-4185.
- 32.Ukil, A., Maity, S., Karmakar, S., Datta, N., Vedasiromoni, J.R.,Das, P.K. (2003) Curcumin, the major component of food flavour turmeric, reduces mucosal injury in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis. *Br J Pharmacol*, 139 (2), 209-218.
- 33.Asai, A.,Miyazawa, T. (2000) Occurrence of orally administered curcuminoid as glucuronide and glucuronide/sulfate conjugates in rat plasma. *Life Sci*, 67 (23), 2785-2793.
- 34.Kress, W.J., Prince, L.M.,Williams, K.J. (2002) The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): evidence from molecular data. *Am J Bot*, 89 (10), 1682-1696.
- 35.Su, R. (2006). Green Culture Singapore 16/09/2012, Ağ Sitesi: http://www.greenculturesg.com/articles/july06/july06_gingerconference.htm

- 36.Scartezzini, P.,Speroni, E. (2000) Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J Ethnopharmacol*, 71 (1-2), 23-43.
- 37.Alhumaidi, M. Habitat of *Curcuma longa* L. 15/09/2012, Ağ Sitesi: http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2012/alhumaid_mary/habitat.htm
- 38.Park, S.Y.,Kim, D.S. (2002) Discovery of natural products from *Curcuma longa* that protect cells from beta-amyloid insult: a drug discovery effort against Alzheimer's disease. *J Nat Prod*, 65 (9), 1227-1231.
- 39.Park, B.S., Kim, J.G., Kim, M.R., Lee, S.E., Takeoka, G.R., Oh, K.B. ve diğ erleri. (2005) *Curcuma longa* L. constituents inhibit sortase A and Staphylococcus aureus cell adhesion to fibronectin. *J Agric Food Chem*, 53 (23), 9005-9009.
- 40.International Organization for Standardization. Turmeric-Determination of colouring power-Spectrophotometric method. (1982) (ISO 5566).
- 41.Hiserodt, R., Hartman, T.G., Ho, C.T.,Rosen, R.T. (1996) Characterization of powdered turmeric by liquid chromatography– mass spectrometry and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, 740, 51-63.
- 42.Konig, W.A., Rieck, A., Hardt, I., Gehrcke, B., Kubeczka, K.H.,Muhle, H. (1994) Enantiomeric comparison of the chiral constituents of essential oils. Part 2. Sesquiterpene hydrocarbons. *Journal of High Resolution Chromatography*, 17, 315-320.
- 43.Kiso, Y., Suzuki, Y., Oshima, Y.,Hikino, H. (1983) Stereostructure of curlone, a sesquiterpenoid of *Curcuma longa* rhizomes. *Phytochemistry*, 22, 596-597.
- 44.Imai, S., Morikiyo, M., Furihata, K., Hayakawa, Y.,Seto, H. (1990) Turmeronol A and turmeronol B, new inhibitors of Soybean lipoxygenase. *Agricultural and Biological Chemistry*, 54, 2367–2371.
- 45.Ohshiro, M., Kuroyanagi, M.,Ueno, A. (1990) Structures of sesquiterpenes from *Curcuma longa*. *Phytochemistry*, 29, 2201–2205.

- 46.Mori, K. (2005) Synthesis of (R)-ar-turmerone and its conversion to (R)-arhimachalene, a pheromone component of the flea beetle: (R)-ar-himachalene is dextrorotatory in hexane, while levorotatory in chloroform. *Tetrahedron: Asymmetry*, 16, 685–692.
- 47.Itokawa, H., Hirayama, F., Funakoshi, K.,Takeya, K. (1985) Studies on the antitumor bisabolane sesquiterpenoids isolated from *Curcuma xanthorrhiza*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 33 (8), 3488-3492.
- 48.Hagiwara, H., Okabe, T., Ono, H., Kamat, V.P., Hoshi, T., Suzuki, T. ve diğeri. (2002) Total synthesis of bisabolane sesquiterpenoids, a-bisabol-1-one, curcumene, curcuphenol and elvirol: Utility of catalytic enamine reaction cyclohexenone synthesis. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions*, 1, 895–900.
- 49.Kouno, I.,Kawano, N. (1985) Structure of a guaiane from *Curcuma zedoaria*. *Phytochemistry*, 24, 1845-1847.
- 50.Shiobara, Y., Asakawa, Y., Kodama, M., Yasuda, K.,Takemoto, T. (1985) Curcumenone, curcumanolide A and curcumanolide B, three sesquiterpenoids from *Curcuma zedoaria*. *Phytochemistry*, 24, 2629-2633.
- 51.Chen, J., Tsai, C., Hwang, T., Shieh, P., Chen, J.,Sung, P. (2010) Sesquiterpenes from the rhizome of *Curcuma longa* with inhibitory activity on superoxide generation and elastase release by neutrophils. *Food Chemistry*, 119, 974-980.
- 52.Chen, J.J., Lin, W.J., Liao, C.H.,Shieh, P.C. (2007) Anti-inflammatory benzenoids from *Antrodia camphorata*. *J Nat Prod*, 70 (6), 989-992.
- 53.Sharma, R.K., Misra, B.P., Sarma, T.C., Bordoloi, A.K., Pathak, M.G.,Leclercq, P.A. (1997) Essential oils of *Curcuma longa* L. from Bhutan. *Journal of Essential Oil Research*, 9, 589–592.
- 54.Chen, J.J., Duh, C.Y.,Chen, I.S. (2005) Cytotoxic chromenes from *Myriactis humilis*. *Planta Med*, 71 (4), 370-372.

55. Machida, K., Kikuchi, M. (1992) Norisoprenoids from *Viburnum dilatatum*. *Phytochemistry*, 41, 1333-1336.
56. Ayer, W.A., Singer, P.P. (1980) Phenolic metabolites of the bird's nest fungus *Nidula niveo-tomentosa*. *Phytochemistry*, 19, 2717-2721.
57. Masuda, T., Jitoe, A., Isobe, J., Nakatani, N., Yonemori, S. (1993) Antioxidative curcuminoids from rhizomes of *Curcuma xanthorrhiza*. *Phytochemistry*, 32, 1557-1560.
58. Srinivas, L., Shalini, V.K., Shylaja, M. (1992) Turmerin: a water soluble antioxidant peptide from turmeric [*Curcuma longa*]. *Arch Biochem Biophys*, 292 (2), 617-623.
59. Tonnesen, H.H., Smistad, G., Agren, T., Karlsen, J. (1993) Studies on curcumin and curcuminoids. XXIII: Effects of curcumin on liposomal lipid peroxidation. *International Journal of Pharmaceutics*, 90, 221-228.
60. Reddy, A.C., Lokesh, B.R. (1994) Effect of dietary turmeric (*Curcuma longa*) on iron-induced lipid peroxidation in the rat liver. *Food Chem Toxicol*, 32 (3), 279-283.
61. Unnikrishnan, M.K., Rao, M.N. (1995) Curcumin inhibits nitrogen dioxide induced oxidation of hemoglobin. *Mol Cell Biochem*, 146 (1), 35-37.
62. Cohly, H.H., Taylor, A., Angel, M.F., Salahudeen, A.K. (1998) Effect of turmeric, turmerin and curcumin on H₂O₂-induced renal epithelial (LLC-PK1) cell injury. *Free Radic Biol Med*, 24 (1), 49-54.
63. Dikshit, M., Rastogi, L., Shukla, R., Srimal, R.C. (1995) Prevention of ischaemia-induced biochemical changes by curcumin & quinidine in the cat heart. *Indian J Med Res*, 101, 31-35.
64. Selvam, R., Subramanian, L., Gayathri, R., Angayarkanni, N. (1995) The antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa*). *J Ethnopharmacol*, 47 (2), 59-67.

65. Grinberg, L.N., Shalev, O., Tonnesen, H.H., Rachmilewitz, E.A. (1996) Studies on curcumin and curcuminoids: XXVI. Antioxidant effects of curcumin on the red blood cell membrane. *International Journal of Pharmaceutics*, 132, 251-257.
66. Manikandan, P., Sumitra, M., Aishwarya, S., Manohar, B.M., Lokanadam, B., Puvanakrishnan, R. (2004) Curcumin modulates free radical quenching in myocardial ischaemia in rats. *Int J Biochem Cell Biol*, 36 (10), 1967-1980.
67. Nirmala, C., Puvanakrishnan, R. (1996) Effect of curcumin on certain lysosomal hydrolases in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Biochem Pharmacol*, 51 (1), 47-51.
68. Nirmala, C., Puvanakrishnan, R. (1996) Protective role of curcumin against isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Mol Cell Biochem*, 159 (2), 85-93.
69. Nirmala, C., Anand, S., Puvanakrishnan, R. (1999) Curcumin treatment modulates collagen metabolism in isoproterenol induced myocardial necrosis in rats. *Mol Cell Biochem*, 197 (1-2), 31-37.
70. Khopde, S.M., Priyadarsini, K.I., Guha, S.N., Satav, J.G., Venkatesan, P., Rao, M.N. (2000) Inhibition of radiation-induced lipid peroxidation by tetrahydrocurcumin: possible mechanisms by pulse radiolysis. *Biosci Biotechnol Biochem*, 64 (3), 503-509.
71. Gaddipati, J.P., Sundar, S.V., Calemene, J., Seth, P., Sidhu, G.S., Maheshwari, R.K. (2003) Differential regulation of cytokines and transcription factors in liver by curcumin following hemorrhage/resuscitation. *Shock*, 19 (2), 150-156.
72. Daniel, S., Limson, J.L., Dairam, A., Watkins, G.M., Daya, S. (2004) Through metal binding, curcumin protects against lead- and cadmium-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates and against lead-induced tissue damage in rat brain. *J Inorg Biochem*, 98 (2), 266-275.

- 73.Thiyagarajan, M.,Sharma, S.S. (2004) Neuroprotective effect of curcumin in middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats. *Life Sci*, 74 (8), 969-985.
- 74.Smitha, S., Dhananjaya, B.L., Dinesha, R.,Srinivas, L. (2009) Purification and characterization of a approximately 34 kDa antioxidant protein (beta-turmerin) from turmeric (*Curcuma longa*) waste grits. *Biochimie*, 91 (9), 1156-1162.
- 75.Sankar, P., Telang, A.G.,Manimaran, A. (2012) Protective effect of curcumin on cypermethrin-induced oxidative stress in Wistar rats. *Exp Toxicol Pathol*, 64 (5), 487-493.
- 76.Singh, G., Kapoor, I.P., Singh, P., de Heluani, C.S., de Lampasona, M.P.,Catalan, C.A. (2010) Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* Linn.). *Food Chem Toxicol*, 48 (4), 1026-1031.
- 77.Kuttan, R., Bhanumathy, P., Nirmala, K.,George, M.C. (1985) Potential anticancer activity of turmeric (*Curcuma longa*). *Cancer Lett*, 29 (2), 197-202.
- 78.Menon, L.G., Kuttan, R.,Kuttan, G. (1995) Inhibition of lung metastasis in mice induced by B16F10 melanoma cells by polyphenolic compounds. *Cancer Lett*, 95 (1-2), 221-225.
- 79.Odot, J., Albert, P., Carlier, A., Tarpin, M., Devy, J.,Madoulet, C. (2004) In vitro and in vivo anti-tumoral effect of curcumin against melanoma cells. *Int J Cancer*, 111 (3), 381-387.
- 80.Ruby, A.J., Kuttan, G., Babu, K.D., Rajasekharan, K.N.,Kuttan, R. (1995) Anti-tumour and antioxidant activity of natural curcuminoids. *Cancer Lett*, 94 (1), 79-83.
- 81.Aggarwal, B.B., Kumar, A.,Bharti, A.C. (2003) Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res*, 23 (1A), 363-398.

- 82.Huang, M.T., Lysz, T., Ferraro, T., Abidi, T.F., Laskin, J.D.,Conney, A.H. (1991) Inhibitory effects of curcumin on in vitro lipoxygenase and cyclooxygenase activities in mouse epidermis. *Cancer Res*, 51 (3), 813-819.
- 83.Huang, M.T., Smart, R.C., Wong, C.Q.,Conney, A.H. (1988) Inhibitory effect of curcumin, chlorogenic acid, caffeic acid, and ferulic acid on tumor promotion in mouse skin by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Cancer Res*, 48 (21), 5941-5946.
- 84.Limtrakul, P., Lipigorngoson, S., Namwong, O., Apisariyakul, A.,Dunn, F.W. (1997) Inhibitory effect of dietary curcumin on skin carcinogenesis in mice. *Cancer Lett*, 116 (2), 197-203.
- 85.Soudamini, K.K.,Kuttan, R. (1989) Inhibition of chemical carcinogenesis by curcumin. *J Ethnopharmacol*, 27 (1-2), 227-233.
- 86.Limtrakul, P., Anuchapreeda, S., Lipigorngoson, S.,Dunn, F.W. (2001) Inhibition of carcinogen induced c-Ha-ras and c-fos proto-oncogenes expression by dietary curcumin. *BMC Cancer*, 1, 1.
- 87.Mohandas, K.M.,Desai, D.C. (1999) Epidemiology of digestive tract cancers in India. V. Large and small bowel. *Indian J Gastroenterol*, 18 (3), 118-121.
- 88.Simon, A., Allais, D.P., Duroux, J.L., Basly, J.P., Durand-Fontanier, S.,Delage, C. (1998) Inhibitory effect of curcuminoids on MCF-7 cell proliferation and structure-activity relationships. *Cancer Lett*, 129 (1), 111-116.
- 89.Kawamori, T., Lubet, R., Steele, V.E., Kelloff, G.J., Kaskey, R.B., Rao, C.V. ve diğçerleri. (1999) Chemopreventive effect of curcumin, a naturally occurring anti-inflammatory agent, during the promotion/progression stages of colon cancer. *Cancer Res*, 59 (3), 597-601.
- 90.Singletary, K., MacDonald, C., Wallig, M.,Fisher, C. (1996) Inhibition of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced mammary tumorigenesis and DMBA-DNA adduct formation by curcumin. *Cancer Lett*, 103 (2), 137-141.

91. Azuine, M.A., Bhide, S.V. (1992) Chemopreventive effect of turmeric against stomach and skin tumors induced by chemical carcinogens in Swiss mice. *Nutr Cancer*, 17 (1), 77-83.
92. Deshpande, S.S., Ingle, A.D., Maru, G.B. (1997) Inhibitory effects of curcumin-free aqueous turmeric extract on benzo[a]pyrene-induced forestomach papillomas in mice. *Cancer Lett*, 118 (1), 79-85.
93. Singh, S.V., Hu, X., Srivastava, S.K., Singh, M., Xia, H., Orchard, J.L. ve diğerleri. (1998) Mechanism of inhibition of benzo[a]pyrene-induced forestomach cancer in mice by dietary curcumin. *Carcinogenesis*, 19 (8), 1357-1360.
94. Mahmoud, N.N., Carothers, A.M., Grunberger, D., Bilinski, R.T., Churchill, M.R., Martucci, C. ve diğerleri. (2000) Plant phenolics decrease intestinal tumors in an animal model of familial adenomatous polyposis. *Carcinogenesis*, 21 (5), 921-927.
95. Collett, G.P., Robson, C.N., Mathers, J.C., Campbell, F.C. (2001) Curcumin modifies Apc(min) apoptosis resistance and inhibits 2-amino 1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) induced tumour formation in Apc(min) mice. *Carcinogenesis*, 22 (5), 821-825.
96. Shukla, Y., Arora, A., Taneja, P. (2002) Antimutagenic potential of curcumin on chromosomal aberrations in Wistar rats. *Mutat Res*, 515 (1-2), 197-202.
97. Thresiamma, K.C., George, J., Kuttan, R. (1998) Protective effect of curcumin, ellagic acid and bixin on radiation induced genotoxicity. *J Exp Clin Cancer Res*, 17 (4), 431-434.
98. Choudhuri, T., Pal, S., Agwarwal, M.L., Das, T., Sa, G. (2002) Curcumin induces apoptosis in human breast cancer cells through p53-dependent Bax induction. *FEBS Lett*, 512 (1-3), 334-340.
99. Perkins, S., Verschoyle, R.D., Hill, K., Parveen, I., Threadgill, M.D., Sharma, R.A. ve diğerleri. (2002) Chemopreventive efficacy and pharmacokinetics of

curcumin in the min/+ mouse, a model of familial adenomatous polyposis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 11 (6), 535-540.

100.Kwon, Y.,Magnuson, B.A. (2007) Effect of azoxymethane and curcumin on transcriptional levels of cyclooxygenase-1 and -2 during initiation of colon carcinogenesis. *Scand J Gastroenterol*, 42 (1), 72-80.

101.Huang, M.T., Lou, Y.R., Ma, W., Newmark, H.L., Reuhl, K.R.,Conney, A.H. (1994) Inhibitory effects of dietary curcumin on forestomach, duodenal, and colon carcinogenesis in mice. *Cancer Res*, 54 (22), 5841-5847.

102.Pereira, M.A., Grubbs, C.J., Barnes, L.H., Li, H., Olson, G.R., Eto, I. ve diğ erleri. (1996) Effects of the phytochemicals, curcumin and quercetin, upon azoxymethane-induced colon cancer and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary cancer in rats. *Carcinogenesis*, 17 (6), 1305-1311.

103.Singletary, K., MacDonald, C., Iovinelli, M., Fisher, C.,Wallig, M. (1998) Effect of the beta-diketones diferuloylmethane (curcumin) and dibenzoylmethane on rat mammary DNA adducts and tumors induced by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Carcinogenesis*, 19 (6), 1039-1043.

104.Sharma, R.A., Gescher, A.J.,Steward, W.P. (2005) Curcumin: the story so far. *Eur J Cancer*, 41 (13), 1955-1968.

105.Chan, M.M. (1995) Inhibition of tumor necrosis factor by curcumin, a phytochemical. *Biochem Pharmacol*, 49 (11), 1551-1556.

106.Surh, Y.J., Han, S.S., Keum, Y.S., Seo, H.J.,Lee, S.S. (2000) Inhibitory effects of curcumin and capsaicin on phorbol ester-induced activation of eukaryotic transcription factors, NF-kappaB and AP-1. *Biofactors*, 12 (1-4), 107-112.

107.Bierhaus, A., Zhang, Y., Quehenberger, P., Luther, T., Haase, M., Muller, M. ve diğ erleri. (1997) The dietary pigment curcumin reduces endothelial tissue factor gene expression by inhibiting binding of AP-1 to the DNA and activation of NF-kappa B. *Thromb Haemost*, 77 (4), 772-782.

- 108.Huang, T.S., Kuo, M.L., Lin, J.K.,Hsieh, J.S. (1995) A labile hyperphosphorylated c-Fos protein is induced in mouse fibroblast cells treated with a combination of phorbol ester and anti-tumor promoter curcumin. *Cancer Lett*, 96 (1), 1-7.
- 109.Park, S., Lee, D.K.,Yang, C.H. (1998) Inhibition of fos-jun-DNA complex formation by dihydroguaiaretic acid and in vitro cytotoxic effects on cancer cells. *Cancer Lett*, 127 (1-2), 23-28.
- 110.Leu, T.H.,Maa, M.C. (2002) The molecular mechanisms for the antitumorigenic effect of curcumin. *Curr Med Chem Anticancer Agents*, 2 (3), 357-370.
- 111.Mukhopadhyay, A., Bueso-Ramos, C., Chatterjee, D., Pantazis, P.,Aggarwal, B.B. (2001) Curcumin downregulates cell survival mechanisms in human prostate cancer cell lines. *Oncogene*, 20 (52), 7597-7609.
- 112.Deeb, D., Xu, Y.X., Jiang, H., Gao, X., Janakiraman, N., Chapman, R.A. ve diğçerleri. (2003) Curcumin (diferuloyl-methane) enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis in LNCaP prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther*, 2 (1), 95-103.
- 113.Hong, J., Bose, M., Ju, J., Ryu, J.H., Chen, X., Sang, S. ve diğçerleri. (2004) Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related beta-diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A(2), cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. *Carcinogenesis*, 25 (9), 1671-1679.
- 114.Iqbal, M., Sharma, S.D., Okazaki, Y., Fujisawa, M.,Okada, S. (2003) Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolizing enzymes in ddY male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Pharmacol Toxicol*, 92 (1), 33-38.
- 115.Krishnaswamy, K., Goud, V.K., Sesikeran, B., Mukundan, M.A.,Krishna, T.P. (1998) Retardation of experimental tumorigenesis and reduction in DNA adducts by turmeric and curcumin. *Nutr Cancer*, 30 (2), 163-166.

- 116.Li, N., Chen, X., Liao, J., Yang, G., Wang, S., Josephson, Y. ve diğerleri. (2002) Inhibition of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced oral carcinogenesis in hamsters by tea and curcumin. *Carcinogenesis*, 23 (8), 1307-1313.
- 117.Ikezaki, S., Nishikawa, A., Furukawa, F., Kudo, K., Nakamura, H., Tamura, K. ve diğerleri. (2001) Chemopreventive effects of curcumin on glandular stomach carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and sodium chloride in rats. *Anticancer Res*, 21 (5), 3407-3411.
- 118.Chuang, S.E., Kuo, M.L., Hsu, C.H., Chen, C.R., Lin, J.K., Lai, G.M. ve diğerleri. (2000) Curcumin-containing diet inhibits diethylnitrosamine-induced murine hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis*, 21 (2), 331-335.
- 119.Rao, C.V., Rivenson, A., Simi, B.,Reddy, B.S. (1995) Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary curcumin, a naturally occurring plant phenolic compound. *Cancer Res*, 55 (2), 259-266.
- 120.Boedefeld, W.M., 2nd, Bland, K.I.,Heslin, M.J. (2003) Recent insights into angiogenesis, apoptosis, invasion, and metastasis in colorectal carcinoma. *Ann Surg Oncol*, 10 (8), 839-851.
- 121.Sreepriya, M.,Bali, G. (2005) Chemopreventive effects of embelin and curcumin against N-nitrosodiethylamine/phenobarbital-induced hepatocarcinogenesis in Wistar rats. *Fitoterapia*, 76 (6), 549-555.
- 122.Sreepriya, M.,Bali, G. (2006) Effects of administration of Embelin and Curcumin on lipid peroxidation, hepatic glutathione antioxidant defense and hematopoietic system during N-nitrosodiethylamine/Phenobarbital-induced hepatocarcinogenesis in Wistar rats. *Mol Cell Biochem*, 284 (1-2), 49-55.
- 123.Mahady, G.B., Pendland, S.L., Yun, G.,Lu, Z.Z. (2002) Turmeric (*Curcuma longa*) and curcumin inhibit the growth of *Helicobacter pylori*, a group 1 carcinogen. *Anticancer Res*, 22 (6C), 4179-4181.
- 124.Yoysungnoen, P., Wirachwong, P., Bhattarakosol, P., Niimi, H.,Patumraj, S. (2006) Effects of curcumin on tumor angiogenesis and biomarkers, COX-2 and

VEGF, in hepatocellular carcinoma cell-implanted nude mice. *Clin Hemorheol Microcirc*, 34 (1-2), 109-115.

125. Busquets, S., Carbo, N., Almendro, V., Quiles, M.T., Lopez-Soriano, F.J., Argiles, J.M. (2001) Curcumin, a natural product present in turmeric, decreases tumor growth but does not behave as an anticachectic compound in a rat model. *Cancer Lett*, 167 (1), 33-38.

126. LoTempio, M.M., Veena, M.S., Steele, H.L., Ramamurthy, B., Ramalingam, T.S., Cohen, A.N. ve diğeri. (2005) Curcumin suppresses growth of head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 11 (19 Pt 1), 6994-7002.

127. Dorai, T., Cao, Y.C., Dorai, B., Buttyan, R., Katz, A.E. (2001) Therapeutic potential of curcumin in human prostate cancer. III. Curcumin inhibits proliferation, induces apoptosis, and inhibits angiogenesis of LNCaP prostate cancer cells in vivo. *Prostate*, 47 (4), 293-303.

128. Li, L., Braitheh, F.S., Kurzrock, R. (2005) Liposome-encapsulated curcumin: in vitro and in vivo effects on proliferation, apoptosis, signaling, and angiogenesis. *Cancer*, 104 (6), 1322-1331.

129. Aggarwal, B.B., Shishodia, S., Takada, Y., Banerjee, S., Newman, R.A., Bueso-Ramos, C.E. ve diğeri. (2005) Curcumin suppresses the paclitaxel-induced nuclear factor-kappaB pathway in breast cancer cells and inhibits lung metastasis of human breast cancer in nude mice. *Clin Cancer Res*, 11 (20), 7490-7498.

130. Bachmeier, B., Nerlich, A.G., Iancu, C.M., Cilli, M., Schleicher, E., Vene, R. ve diğeri. (2007) The chemopreventive polyphenol Curcumin prevents hematogenous breast cancer metastases in immunodeficient mice. *Cell Physiol Biochem*, 19 (1-4), 137-152.

131. Lin, Y.G., Kunnumakkara, A.B., Nair, A., Merritt, W.M., Han, L.Y., Armaiz-Pena, G.N. ve diğeri. (2007) Curcumin inhibits tumor growth and angiogenesis in ovarian carcinoma by targeting the nuclear factor-kappaB pathway. *Clin Cancer Res*, 13 (11), 3423-3430.

132. Aoki, H., Takada, Y., Kondo, S., Sawaya, R., Aggarwal, B.B., Kondo, Y. (2007) Evidence that curcumin suppresses the growth of malignant gliomas in vitro and in vivo through induction of autophagy: role of Akt and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways. *Mol Pharmacol*, 72 (1), 29-39.
133. Li, L., Ahmed, B., Mehta, K., Kurzrock, R. (2007) Liposomal curcumin with and without oxaliplatin: effects on cell growth, apoptosis, and angiogenesis in colorectal cancer. *Mol Cancer Ther*, 6 (4), 1276-1282.
134. Dorai, T., Gehani, N., Katz, A. (2000) Therapeutic potential of curcumin in human prostate cancer-I. curcumin induces apoptosis in both androgen-dependent and androgen-independent prostate cancer cells. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 3 (2), 84-93.
135. Thaloor, D., Singh, A.K., Sidhu, G.S., Prasad, P.V., Kleinman, H.K., Maheshwari, R.K. (1998) Inhibition of angiogenic differentiation of human umbilical vein endothelial cells by curcumin. *Cell Growth Differ*, 9 (4), 305-312.
136. Bush, J.A., Cheung, K.J., Jr., Li, G. (2001) Curcumin induces apoptosis in human melanoma cells through a Fas receptor/caspase-8 pathway independent of p53. *Exp Cell Res*, 271 (2), 305-314.
137. Ranjan, D., Johnston, T.D., Wu, G., Elliott, L., Bondada, S., Nagabhushan, M. (1998) Curcumin blocks cyclosporine A-resistant CD28 costimulatory pathway of human T-cell proliferation. *J Surg Res*, 77 (2), 174-178.
138. Farombi, E.O., Abarikwu, S.O., Adedara, I.A., Oyeyemi, M.O. (2007) Curcumin and kolaviron ameliorate di-n-butylphthalate-induced testicular damage in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 100 (1), 43-48.
139. Ishihara, M., Itoh, M., Miyamoto, K., Suna, S., Takeuchi, Y., Takenaka, I. ve diğ erleri. (2000) Spermatogenic disturbance induced by di-(2-ethylhexyl) phthalate is significantly prevented by treatment with antioxidant vitamins in the rat. *Int J Androl*, 23 (2), 85-94.

140. Shao, Z.M., Shen, Z.Z., Liu, C.H., Sartippour, M.R., Go, V.L., Heber, D. ve diğ erleri. (2002) Curcumin exerts multiple suppressive effects on human breast carcinoma cells. *Int J Cancer*, 98 (2), 234-240.
141. Sharma, R.A., Euden, S.A., Platton, S.L., Cooke, D.N., Shafayat, A., Hewitt, H.R. ve diğ erleri. (2004) Phase I clinical trial of oral curcumin: biomarkers of systemic activity and compliance. *Clin Cancer Res*, 10 (20), 6847-6854.
142. National Institutes of Health, ClinicalTrials.gov. 16/09/2012, Ağ Sitesi: <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=curcumin>
143. Yegnanarayan, R., Saraf, A.P., Balwani, J.H. (1976) Comparison of anti-inflammatory activity of various extracts of *Curcuma longa* (Linn). *Indian J Med Res*, 64 (4), 601-608.
144. Mukhopadhyay, A., Basu, N., Ghatak, N., Gujral, P.K. (1982) Anti-inflammatory and irritant activities of curcumin analogues in rats. *Agents Actions*, 12 (4), 508-515.
145. Rao, T.S., Basu, N., Siddiqui, H.H. (1982) Anti-inflammatory activity of curcumin analogues. *Indian J Med Res*, 75, 574-578.
146. Arora, R.B., Kapoor, V., Basu, N., Jain, A.P. (1971) Anti-inflammatory studies on *Curcuma longa* (turmeric). *Indian J Med Res*, 59 (8), 1289-1295.
147. Ammon, H.P., Safayhi, H., Mack, T., Sabieraj, J. (1993) Mechanism of antiinflammatory actions of curcumine and boswellic acids. *J Ethnopharmacol*, 38 (2-3), 113-119.
148. Kang, B.Y., Chung, S.W., Chung, W., Im, S., Hwang, S.Y., Kim, T.S. (1999) Inhibition of interleukin-12 production in lipopolysaccharide-activated macrophages by curcumin. *Eur J Pharmacol*, 384 (2-3), 191-195.
149. Lantz, R.C., Chen, G.J., Solyom, A.M., Jolad, S.D., Timmermann, B.N. (2005) The effect of turmeric extracts on inflammatory mediator production. *Phytomedicine*, 12 (6-7), 445-452.

- 150.Saja, K., Babu, M.S., Karunagaran, D.,Sudhakaran, P.R. (2007) Anti-inflammatory effect of curcumin involves downregulation of MMP-9 in blood mononuclear cells. *Int Immunopharmacol*, 7 (13), 1659-1667.
- 151.Wang, X., Jiang, Y., Wang, Y.W., Huang, M.T., Hoa, C.T.,Huang, Q. (2008) Enhancing anti-inflammation activity of curcumin through O/W nanoemulsions. *Food Chemistry*, 108, 419-424.
- 152.Kim, K.M., Pae, H.O., Zhung, M., Ha, H.Y., Ha, Y.A., Chai, K.Y. ve diğeri. (2008) Involvement of anti-inflammatory heme oxygenase-1 in the inhibitory effect of curcumin on the expression of pro-inflammatory inducible nitric oxide synthase in RAW264.7 macrophages. *Biomed Pharmacother*, 62 (9), 630-636.
- 153.Kim, A.N., Jeon, W.K., Lee, J.J.,Kim, B.C. (2010) Up-regulation of heme oxygenase-1 expression through CaMKII-ERK1/2-Nrf2 signaling mediates the anti-inflammatory effect of bisdemethoxycurcumin in LPS-stimulated macrophages. *Free Radic Biol Med*, 49 (3), 323-331.
- 154.Kim, D.S., Park, S.Y.,Kim, J.K. (2001) Curcuminoids from *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) that protect PC12 rat pheochromocytoma and normal human umbilical vein endothelial cells from betaA(1-42) insult. *Neurosci Lett*, 303 (1), 57-61.
- 155.Lim, G.P., Chu, T., Yang, F., Beech, W., Frautschy, S.A.,Cole, G.M. (2001) The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. *J Neurosci*, 21 (21), 8370-8377.
- 156.Koo, B.S., Lee, W.C., Chung, K.H., Ko, J.H.,Kim, C.H. (2004) A water extract of *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) rescues PC12 cell death caused by pyrogallol or hypoxia/reoxygenation and attenuates hydrogen peroxide induced injury in PC12 cells. *Life Sci*, 75 (19), 2363-2375.
- 157.Ono, K., Hasegawa, K., Naiki, H.,Yamada, M. (2004) Curcumin has potent anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's beta-amyloid fibrils in vitro. *J Neurosci Res*, 75 (6), 742-750.

158. Baum, L., Ng, A. (2004) Curcumin interaction with copper and iron suggests one possible mechanism of action in Alzheimer's disease animal models. *J Alzheimers Dis*, 6 (4), 367-377; discussion 443-369.
159. Yang, F., Lim, G.P., Begum, A.N., Ubeda, O.J., Simmons, M.R., Ambegaokar, S.S. ve diğerleri. (2005) Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo. *J Biol Chem*, 280 (7), 5892-5901.
160. Atamna, H., Boyle, K. (2006) Amyloid-beta peptide binds with heme to form a peroxidase: relationship to the cytopathologies of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103 (9), 3381-3386.
161. Fiala, J.C. (2007) Mechanisms of amyloid plaque pathogenesis. *Acta Neuropathol*, 114 (6), 551-571.
162. Garcia-Alloza, M., Borrelli, L.A., Rozkalne, A., Hyman, B.T., Bacskai, B.J. (2007) Curcumin labels amyloid pathology in vivo, disrupts existing plaques, and partially restores distorted neurites in an Alzheimer mouse model. *J Neurochem*, 102 (4), 1095-1104.
163. Baum, L., Lam, C.W., Cheung, S.K., Kwok, T., Lui, V., Tsoh, J. ve diğerleri. (2008) Six-month randomized, placebo-controlled, double-blind, pilot clinical trial of curcumin in patients with Alzheimer disease. *J Clin Psychopharmacol*, 28 (1), 110-113.
164. Jagatha, B., Mythri, R.B., Vali, S., Bharath, M.M. (2008) Curcumin treatment alleviates the effects of glutathione depletion in vitro and in vivo: therapeutic implications for Parkinson's disease explained via in silico studies. *Free Radic Biol Med*, 44 (5), 907-917.
165. Bishnoi, M., Chopra, K., Kulkarni, S.K. (2008) Protective effect of Curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*) in haloperidol-induced orofacial dyskinesia and associated behavioural, biochemical and neurochemical changes in rat brain. *Pharmacol Biochem Behav*, 88 (4), 511-522.

- 166.Wang, J., Du, X.X., Jiang, H.,Xie, J.X. (2009) Curcumin attenuates 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity by anti-oxidation and nuclear factor-kappa B modulation in MES23.5 cells. *Biochem Pharmacol*, 78 (2), 178-183.
- 167.Kumar, A., Dogra, S.,Prakash, A. (2009) Protective effect of curcumin (*Curcuma longa*), against aluminium toxicity: Possible behavioral and biochemical alterations in rats. *Behav Brain Res*, 205 (2), 384-390.
- 168.Ahmed, T.,Gilani, A.H. (2009) Inhibitory effect of curcuminoids on acetylcholinesterase activity and attenuation of scopolamine-induced amnesia may explain medicinal use of turmeric in Alzheimer's disease. *Pharmacol Biochem Behav*, 91 (4), 554-559.
- 169.Mehla, J., Reeta, K.H., Gupta, P.,Gupta, Y.K. (2010) Protective effect of curcumin against seizures and cognitive impairment in a pentylenetetrazole-kindled epileptic rat model. *Life Sci*, 87 (19-22), 596-603.
- 170.Pyrzanowska, J., Piechal, A., Blecharz-Klin, K., Lehner, M., Skorzevska, A., Turzynska, D. ve diğeri. (2010) The influence of the long-term administration of *Curcuma longa* extract on learning and spatial memory as well as the concentration of brain neurotransmitters and level of plasma corticosterone in aged rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 95 (3), 351-358.
- 171.Agrawal, R., Mishra, B., Tyagi, E., Nath, C.,Shukla, R. (2010) Effect of curcumin on brain insulin receptors and memory functions in STZ (ICV) induced dementia model of rat. *Pharmacol Res*, 61 (3), 247-252.
- 172.Nishiyama, T., Mae, T., Kishida, H., Tsukagawa, M., Mimaki, Y., Kuroda, M. ve diğeri. (2005) Curcuminoids and sesquiterpenoids in turmeric (*Curcuma longa* L.) suppress an increase in blood glucose level in type 2 diabetic KK-Ay mice. *J Agric Food Chem*, 53 (4), 959-963.
- 173.Kuroda, M., Mimaki, Y., Nishiyama, T., Mae, T., Kishida, H., Tsukagawa, M. ve diğeri. (2005) Hypoglycemic effects of turmeric (*Curcuma longa* L. rhizomes) on genetically diabetic KK-Ay mice. *Biol Pharm Bull*, 28 (5), 937-939.

- 174.Sajithlal, G.B., Chithra, P.,Chandrakasan, G. (1998) Effect of curcumin on the advanced glycation and cross-linking of collagen in diabetic rats. *Biochem Pharmacol*, 56 (12), 1607-1614.
- 175.Sidhu, G.S., Mani, H., Gaddipati, J.P., Singh, A.K., Seth, P., Banaudha, K.K. ve diğerleri. (1999) Curcumin enhances wound healing in streptozotocin induced diabetic rats and genetically diabetic mice. *Wound Repair Regen*, 7 (5), 362-374.
- 176.Sidhu, G.S., Singh, A.K., Thaloor, D., Banaudha, K.K., Patnaik, G.K., Srimal, R.C. ve diğerleri. (1998) Enhancement of wound healing by curcumin in animals. *Wound Repair Regen*, 6 (2), 167-177.
- 177.Jain, S.K., Rains, J.,Jones, K. (2006) Effect of curcumin on protein glycosylation, lipid peroxidation, and oxygen radical generation in human red blood cells exposed to high glucose levels. *Free Radic Biol Med*, 41 (1), 92-96.
- 178.Babu, P.S.,Srinivasan, K. (1997) Hypolipidemic action of curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*) in streptozotocin induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem*, 166 (1-2), 169-175.
- 179.Arun, N.,Nalini, N. (2002) Efficacy of turmeric on blood sugar and polyol pathway in diabetic albino rats. *Plant Foods Hum Nutr*, 57 (1), 41-52.
- 180.Babu, P.S.,Srinivasan, K. (1995) Influence of dietary curcumin and cholesterol on the progression of experimentally induced diabetes in albino rat. *Mol Cell Biochem*, 152 (1), 13-21.
- 181.Mahesh, T., Sri Balasubashini, M.M.,Menon, V.P. (2004) Photo-irradiated curcumin supplementation in streptozotocin-induced diabetic rats: effect on lipid peroxidation. *Therapie*, 59 (6), 639-644.
- 182.Farhangkhoe, H., Khan, Z.A., Chen, S.,Chakrabarti, S. (2006) Differential effects of curcumin on vasoactive factors in the diabetic rat heart. *Nutr Metab (Lond)*, 3, 27.

- 183.Sharma, S., Chopra, K.,Kulkarni, S.K. (2007) Effect of insulin and its combination with resveratrol or curcumin in attenuation of diabetic neuropathic pain: participation of nitric oxide and TNF-alpha. *Phytother Res*, 21 (3), 278-283.
- 184.Sharma, S., Kulkarni, S.K., Agrewala, J.N.,Chopra, K. (2006) Curcumin attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol*, 536 (3), 256-261.
- 185.Kowluru, R.A.,Kanwar, M. (2007) Effects of curcumin on retinal oxidative stress and inflammation in diabetes. *Nutr Metab (Lond)*, 4, 8.
- 186.Suryanarayana, P., Saraswat, M., Mrudula, T., Krishna, T.P., Krishnaswamy, K.,Reddy, G.B. (2005) Curcumin and turmeric delay streptozotocin-induced diabetic cataract in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 46 (6), 2092-2099.
- 187.Suryanarayana, P., Satyanarayana, A., Balakrishna, N., Kumar, P.U.,Reddy, G.B. (2007) Effect of turmeric and curcumin on oxidative stress and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat. *Med Sci Monit*, 13 (12), BR286-292.
- 188.Mrudula, T., Suryanarayana, P., Srinivas, P.N.,Reddy, G.B. (2007) Effect of curcumin on hyperglycemia-induced vascular endothelial growth factor expression in streptozotocin-induced diabetic rat retina. *Biochem Biophys Res Commun*, 361 (2), 528-532.
- 189.Murugan, P.,Pari, L. (2006) Effect of tetrahydrocurcumin on lipid peroxidation and lipids in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 99 (2), 122-127.
- 190.Murugan, P.,Pari, L. (2007) Influence of tetrahydrocurcumin on erythrocyte membrane bound enzymes and antioxidant status in experimental type 2 diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 113 (3), 479-486.
- 191.Murugan, P.,Pari, L. (2007) Influence of tetrahydrocurcumin on hepatic and renal functional markers and protein levels in experimental type 2 diabetic rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 101 (4), 241-245.

- 192.Sharma, S., Kulkarni, S.K.,Chopra, K. (2006) Curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*), ameliorates diabetic nephropathy in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 33 (10), 940-945.
- 193.Murugan, P.,Pari, L. (2005) Effect of tetrahydrocurcumin on erythromycin estolate-induced lipid peroxidation in rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 16 (1), 1-15.
- 194.Best, L., Elliott, A.C.,Brown, P.D. (2007) Curcumin induces electrical activity in rat pancreatic beta-cells by activating the volume-regulated anion channel. *Biochem Pharmacol*, 73 (11), 1768-1775.
- 195.Pugazhenthii, S., Akhov, L., Selvaraj, G., Wang, M.,Alam, J. (2007) Regulation of heme oxygenase-1 expression by demethoxy curcuminoids through Nrf2 by a PI3-kinase/Akt-mediated pathway in mouse beta-cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 293 (3), E645-655.
- 196.Kanitkar, M.,Bhonde, R.R. (2008) Curcumin treatment enhances islet recovery by induction of heat shock response proteins, Hsp70 and heme oxygenase-1, during cryopreservation. *Life Sci*, 82 (3-4), 182-189.
- 197.Meghana, K., Sanjeev, G.,Ramesh, B. (2007) Curcumin prevents streptozotocin-induced islet damage by scavenging free radicals: a prophylactic and protective role. *Eur J Pharmacol*, 577 (1-3), 183-191.
- 198.Weisberg, S.P., Leibel, R.,Tortoriello, D.V. (2008) Dietary curcumin significantly improves obesity-associated inflammation and diabetes in mouse models of diabetes. *Endocrinology*, 149 (7), 3549-3558.
- 199.Tikoo, K., Meena, R.L., Kabra, D.G.,Gaikwad, A.B. (2008) Change in post-translational modifications of histone H3, heat-shock protein-27 and MAP kinase p38 expression by curcumin in streptozotocin-induced type I diabetic nephropathy. *Br J Pharmacol*, 153 (6), 1225-1231.

- 200.Feng, B., Chen, S., Chiu, J., George, B.,Chakrabarti, S. (2008) Regulation of cardiomyocyte hypertrophy in diabetes at the transcriptional level. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 294 (6), E1119-1126.
- 201.Chiu, J., Khan, Z.A., Farhangkhoe, H.,Chakrabarti, S. (2009) Curcumin prevents diabetes-associated abnormalities in the kidneys by inhibiting p300 and nuclear factor-kappaB. *Nutrition*, 25 (9), 964-972.
- 202.Kang, C.,Kim, E. (2010) Synergistic effect of curcumin and insulin on muscle cell glucose metabolism. *Food Chem Toxicol*, 48 (8-9), 2366-2373.
- 203.Na, L.X., Zhang, Y.L., Li, Y., Liu, L.Y., Li, R., Kong, T. ve diğerleri. (2011) Curcumin improves insulin resistance in skeletal muscle of rats. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 21 (7), 526-533.
- 204.El-Moselhy, M.A., Taye, A., Sharkawi, S.S., El-Sisi, S.F.,Ahmed, A.F. (2011) The antihyperglycemic effect of curcumin in high fat diet fed rats. Role of TNF-alpha and free fatty acids. *Food Chem Toxicol*, 49 (5), 1129-1140.
- 205.Srivastava, R., Dikshit, M., Srimal, R.C.,Dhawan, B.N. (1985) Anti-thrombotic effect of curcumin. *Thromb Res*, 40 (3), 413-417.
- 206.Venkatesan, N. (1998) Curcumin attenuation of acute adriamycin myocardial toxicity in rats. *Br J Pharmacol*, 124 (3), 425-427.
- 207.Quiles, J.L., Aguilera, C., Mesa, M.D., Ramirez-Tortosa, M.C., Baro, L.,Gil, A. (1998) An ethanolic-aqueous extract of *Curcuma longa* decreases the susceptibility of liver microsomes and mitochondria to lipid peroxidation in atherosclerotic rabbits. *Biofactors*, 8 (1-2), 51-57.
- 208.Ramirez-Tortosa, M.C., Mesa, M.D., Aguilera, M.C., Quiles, J.L., Baro, L., Ramirez-Tortosa, C.L. ve diğerleri. (1999) Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 147 (2), 371-378.

209. Quiles, J.L., Mesa, M.D., Ramirez-Tortosa, C.L., Aguilera, C.M., Battino, M., Gil, A. ve diğeri. (2002) *Curcuma longa* extract supplementation reduces oxidative stress and attenuates aortic fatty streak development in rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 22 (7), 1225-1231.
210. Ramaswami, G., Chai, H., Yao, Q., Lin, P.H., Lumsden, A.B., Chen, C. (2004) Curcumin blocks homocysteine-induced endothelial dysfunction in porcine coronary arteries. *J Vasc Surg*, 40 (6), 1216-1222.
211. Mohanty, I., Singh Arya, D., Dinda, A., Joshi, S., Talwar, K.K., Gupta, S.K. (2004) Protective effects of *Curcuma longa* on ischemia-reperfusion induced myocardial injuries and their mechanisms. *Life Sci*, 75 (14), 1701-1711.
212. Yeh, C.H., Chen, T.P., Wu, Y.C., Lin, Y.M., Jing Lin, P. (2005) Inhibition of NFkappaB activation with curcumin attenuates plasma inflammatory cytokines surge and cardiomyocytic apoptosis following cardiac ischemia/reperfusion. *J Surg Res*, 125 (1), 109-116.
213. Olszanecki, R., Jawien, J., Gajda, M., Mateuszuk, L., Gebaska, A., Korabiowska, M. ve diğeri. (2005) Effect of curcumin on atherosclerosis in apoE/LDLR-double knockout mice. *J Physiol Pharmacol*, 56 (4), 627-635.
214. Yang, X., Thomas, D.P., Zhang, X., Culver, B.W., Alexander, B.M., Murdoch, W.J. ve diğeri. (2006) Curcumin inhibits platelet-derived growth factor-stimulated vascular smooth muscle cell function and injury-induced neointima formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 26 (1), 85-90.
215. Parodi, F.E., Mao, D., Ennis, T.L., Pagano, M.B., Thompson, R.W. (2006) Oral administration of diferuloylmethane (curcumin) suppresses proinflammatory cytokines and destructive connective tissue remodeling in experimental abdominal aortic aneurysms. *Ann Vasc Surg*, 20 (3), 360-368.
216. Xu, M., Deng, B., Chow, Y.L., Zhao, Z.Z., Hu, B. (2007) Effects of curcumin in treatment of experimental pulmonary fibrosis: a comparison with hydrocortisone. *J Ethnopharmacol*, 112 (2), 292-299.

- 217.Pan, C.J., Shao, Z.Y., Tang, J.J., Wang, J.,Huang, N. (2007) In vitro studies of platelet adhesion, activation, and protein adsorption on curcumin-eluting biodegradable stent materials. *J Biomed Mater Res A*, 82 (3), 740-746.
- 218.Pan, C.J., Tang, J.J., Shao, Z.Y., Wang, J.,Huang, N. (2007) Improved blood compatibility of rapamycin-eluting stent by incorporating curcumin. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 59 (1), 105-111.
- 219.Li, H.L., Liu, C., de Couto, G., Ouzounian, M., Sun, M., Wang, A.B. ve diğerleri. (2008) Curcumin prevents and reverses murine cardiac hypertrophy. *J Clin Invest*, 118 (3), 879-893.
- 220.Morimoto, T., Sunagawa, Y., Kawamura, T., Takaya, T., Wada, H., Nagasawa, A. ve diğerleri. (2008) The dietary compound curcumin inhibits p300 histone acetyltransferase activity and prevents heart failure in rats. *J Clin Invest*, 118 (3), 868-878.
- 221.Fiorillo, C., Becatti, M., Pensalfini, A., Cecchi, C., Lanzilao, L., Donzelli, G. ve diğerleri. (2008) Curcumin protects cardiac cells against ischemia-reperfusion injury: effects on oxidative stress, NF-kappaB, and JNK pathways. *Free Radic Biol Med*, 45 (6), 839-846.
- 222.Sakai, K., Miyazaki, Y., Yamane, T., Saitoh, Y., Ikawa, C.,Nishihata, T. (1989) Effect of extracts of Zingiberaceae herbs on gastric secretion in rabbits. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 37 (1), 215-217.
- 223.Rafatullah, S., Tariq, M., Al-Yahya, M.A., Mossa, J.S.,Ageel, A.M. (1990) Evaluation of turmeric (*Curcuma longa*) for gastric and duodenal antiulcer activity in rats. *J Ethnopharmacol*, 29 (1), 25-34.
- 224.Di Mario, F., Cavallaro, L.G., Nouvenne, A., Stefani, N., Cavestro, G.M., Iori, V. ve diğerleri. (2007) A curcumin-based 1-week triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* infection: something to learn from failure? *Helicobacter*, 12 (3), 238-243.

- 225.Hanai, H., Iida, T., Takeuchi, K., Watanabe, F., Maruyama, Y., Andoh, A. ve diğerleri. (2006) Curcumin maintenance therapy for ulcerative colitis: randomized, multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 4 (12), 1502-1506.
- 226.Chattopadhyay, I., Bandyopadhyay, U., Biswas, K., Maity, P.,Banerjee, R.K. (2006) Indomethacin inactivates gastric peroxidase to induce reactive-oxygen-mediated gastric mucosal injury and curcumin protects it by preventing peroxidase inactivation and scavenging reactive oxygen. *Free Radic Biol Med*, 40 (8), 1397-1408.
- 227.Lechler, T. (2008) The impact of Curcuma as a herbal remedy for the therapy of dispeptic disorders and hyperlipidemia. *Komplement. Integr. Med.*, 11-12, 44-50.
- 228.Arafa, H.M., Hemeida, R.A., El-Bahrawy, A.I.,Hamada, F.M. (2009) Prophylactic role of curcumin in dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis murine model. *Food Chem Toxicol*, 47 (6), 1311-1317.
- 229.Folkman, J. (1995) Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med*, 1 (1), 27-31.
- 230.Folkman, J.,Shing, Y. (1992) Angiogenesis. *J Biol Chem*, 267 (16), 10931-10934.
- 231.Schnaper, H.W., Grant, D.S., Stetler-Stevenson, W.G., Fridman, R., D'Orazi, G., Murphy, A.N. ve diğerleri. (1993) Type IV collagenase(s) and TIMPs modulate endothelial cell morphogenesis in vitro. *J Cell Physiol*, 156 (2), 235-246.
- 232.Hahm, E.R., Gho, Y.S., Park, S., Park, C., Kim, K.W.,Yang, C.H. (2004) Synthetic curcumin analogs inhibit activator protein-1 transcription and tumor-induced angiogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 321 (2), 337-344.
- 233.Kim, J.H., Shim, J.S., Lee, S.K., Kim, K.W., Rha, S.Y., Chung, H.C. ve diğerleri. (2002) Microarray-based analysis of anti-angiogenic activity of demethoxycurcumin on human umbilical vein endothelial cells: crucial involvement

of the down-regulation of matrix metalloproteinase. *Jpn J Cancer Res*, 93 (12), 1378-1385.

234. Shim, J.S., Kim, D.H., Jung, H.J., Kim, J.H., Lim, D., Lee, S.K. ve diğeri. (2002) Hydrazinocurcumin, a novel synthetic curcumin derivative, is a potent inhibitor of endothelial cell proliferation. *Bioorg Med Chem*, 10 (8), 2439-2444.

235. Maheshwari, R.K., Singh, A.K., Gaddipati, J., Srimal, R.C. (2006) Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life Sci*, 78 (18), 2081-2087.

236. Quaglino, D., Jr., Nanney, L.B., Kennedy, R., Davidson, J.M. (1990) Transforming growth factor-beta stimulates wound healing and modulates extracellular matrix gene expression in pig skin. I. Excisional wound model. *Lab Invest*, 63 (3), 307-319.

237. Varga, J., Rosenbloom, J., Jimenez, S.A. (1987) Transforming growth factor beta (TGF beta) causes a persistent increase in steady-state amounts of type I and type III collagen and fibronectin mRNAs in normal human dermal fibroblasts. *Biochem J*, 247 (3), 597-604.

238. Mani, H., Sidhu, G.S., Kumari, R., Gaddipati, J.P., Seth, P., Maheshwari, R.K. (2002) Curcumin differentially regulates TGF-beta1, its receptors and nitric oxide synthase during impaired wound healing. *Biofactors*, 16 (1-2), 29-43.

239. Thaloor, D., Miller, K.J., Gephart, J., Mitchell, P.O., Pavlath, G.K. (1999) Systemic administration of the NF-kappaB inhibitor curcumin stimulates muscle regeneration after traumatic injury. *Am J Physiol*, 277 (2 Pt 1), C320-329.

240. Phan, T.T., See, P., Lee, S.T., Chan, S.Y. (2001) Protective effects of curcumin against oxidative damage on skin cells in vitro: its implication for wound healing. *J Trauma*, 51 (5), 927-931.

241. Gopinath, D., Ahmed, M.R., Gomathi, K., Chitra, K., Sehgal, P.K., Jayakumar, R. (2004) Dermal wound healing processes with curcumin incorporated collagen films. *Biomaterials*, 25 (10), 1911-1917.

242. Jagetia, G.C., Rajanikant, G.K. (2005) Curcumin treatment enhances the repair and regeneration of wounds in mice exposed to hemibody gamma-irradiation. *Plast Reconstr Surg*, 115 (2), 515-528.
243. Swarnakar, S., Ganguly, K., Kundu, P., Banerjee, A., Maity, P., Sharma, A.V. (2005) Curcumin regulates expression and activity of matrix metalloproteinases 9 and 2 during prevention and healing of indomethacin-induced gastric ulcer. *J Biol Chem*, 280 (10), 9409-9415.
244. Tara, F., Golmakani, N., Rabiei Motlagh, E., Assili, J., Shakeri, M. (2009) P284 The effects of turmeric (*Curcuma longa* L) ointment on healing of episiotomy site in primiparous women. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 107, 493-494.
245. Jayaprakasha, G.K., Negi, P.S., Anandharamakrishnan, C., Sakariah, K.K. (2001) Chemical composition of turmeric oil--a byproduct from turmeric oleoresin industry and its inhibitory activity against different fungi. *Z Naturforsch C*, 56 (1-2), 40-44.
246. Araujo, C.A., Alegrio, L.V., Gomes, D.C., Lima, M.E., Gomes-Cardoso, L., Leon, L.L. (1999) Studies on the effectiveness of diarylheptanoids derivatives against *Leishmania amazonensis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 94 (6), 791-794.
247. Rasmussen, H.B., Christensen, S.B., Kvist, L.P., Karazmi, A. (2000) A simple and efficient separation of the curcumins, the antiprotozoal constituents of *Curcuma longa*. *Planta Med*, 66 (4), 396-398.
248. Perez-Arriaga, L., Mendoza-Magana, M.L., Cortes-Zarate, R., Corona-Rivera, A., Bobadilla-Morales, L., Troyo-Sanroman, R. ve diğeri. (2006) Cytotoxic effect of curcumin on *Giardia lamblia* trophozoites. *Acta Trop*, 98 (2), 152-161.
249. Kiuchi, F., Goto, Y., Sugimoto, N., Akao, N., Kondo, K., Tsuda, Y. (1993) Nematocidal activity of turmeric: synergistic action of curcuminoids. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 41 (9), 1640-1643.
250. Ferreira, L.A., Henriques, O.B., Andreoni, A.A., Vital, G.R., Campos, M.M., Habermehl, G.G. ve diğeri. (1992) Antivenom and biological effects of ar-

turmerone isolated from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *Toxicon*, 30 (10), 1211-1218.

251.Sui, Z., Salto, R., Li, J., Craik, C.,Ortiz de Montellano, P.R. (1993) Inhibition of the HIV-1 and HIV-2 proteases by curcumin and curcumin boron complexes. *Bioorg Med Chem*, 1 (6), 415-422.

252.Mazumder, A., Neamati, N., Sunder, S., Schulz, J., Pertz, H., Eich, E. ve diğ erleri. (1997) Curcumin analogs with altered potencies against HIV-1 integrase as probes for biochemical mechanisms of drug action. *J Med Chem*, 40 (19), 3057-3063.

253.Balasubramanyam, K., Varier, R.A., Altaf, M., Swaminathan, V., Siddappa, N.B., Ranga, U. ve diğ erleri. (2004) Curcumin, a novel p300/CREB-binding protein-specific inhibitor of acetyltransferase, represses the acetylation of histone/nonhistone proteins and histone acetyltransferase-dependent chromatin transcription. *J Biol Chem*, 279 (49), 51163-51171.

254.Barthelemy, S., Vergnes, L., Moynier, M., Guyot, D., Labidalle, S.,Bahraoui, E. (1998) Curcumin and curcumin derivatives inhibit Tat-mediated transactivation of type 1 human immunodeficiency virus long terminal repeat. *Res Virol*, 149 (1), 43-52.

255.Vajragupta, O., Boonchoong, P., Morris, G.M.,Olson, A.J. (2005) Active site binding modes of curcumin in HIV-1 protease and integrase. *Bioorg Med Chem Lett*, 15 (14), 3364-3368.

256.Vlietinck, A.J., De Bruyne, T., Apers, S.,Pieters, L.A. (1998) Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Planta Med*, 64 (2), 97-109.

257.Jian, Y.T., Mai, G.F., Wang, J.D., Zhang, Y.L., Luo, R.C.,Fang, Y.X. (2005) Preventive and therapeutic effects of NF-kappaB inhibitor curcumin in rats colitis induced by trinitrobenzene sulfonic acid. *World J Gastroenterol*, 11 (12), 1747-1752.

- 258.Holt, P.R., Katz, S.,Kirshoff, R. (2005) Curcumin therapy in inflammatory bowel disease: a pilot study. *Dig Dis Sci*, 50 (11), 2191-2193.
- 259.Deguchi, Y., Andoh, A., Inatomi, O., Yagi, Y., Bamba, S., Araki, Y. ve diğerleri. (2007) Curcumin prevents the development of dextran sulfate Sodium (DSS)-induced experimental colitis. *Dig Dis Sci*, 52 (11), 2993-2998.
- 260.Joe, B., Rao, U.J.,Lokesh, B.R. (1997) Presence of an acidic glycoprotein in the serum of arthritic rats: modulation by capsaicin and curcumin. *Mol Cell Biochem*, 169 (1-2), 125-134.
- 261.Deodhar, S.D., Sethi, R.,Srimal, R.C. (1980) Preliminary study on antirheumatic activity of curcumin (diferuloyl methane). *Indian J Med Res*, 71, 632-634.
- 262.Banerjee, M., Tripathi, L.M., Srivastava, V.M., Puri, A.,Shukla, R. (2003) Modulation of inflammatory mediators by ibuprofen and curcumin treatment during chronic inflammation in rat. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 25 (2), 213-224.
- 263.Liacini, A., Sylvester, J., Li, W.Q., Huang, W., Dehnade, F., Ahmad, M. ve diğerleri. (2003) Induction of matrix metalloproteinase-13 gene expression by TNF-alpha is mediated by MAP kinases, AP-1, and NF-kappaB transcription factors in articular chondrocytes. *Exp Cell Res*, 288 (1), 208-217.
- 264.Lev-Ari, S., Strier, L., Kazanov, D., Elkayam, O., Lichtenberg, D., Caspi, D. ve diğerleri. (2006) Curcumin synergistically potentiates the growth-inhibitory and pro-apoptotic effects of celecoxib in osteoarthritis synovial adherent cells. *Rheumatology (Oxford)*, 45 (2), 171-177.
- 265.Funk, J.L., Oyarzo, J.N., Frye, J.B., Chen, G., Lantz, R.C., Jolad, S.D. ve diğerleri. (2006) Turmeric extracts containing curcuminoids prevent experimental rheumatoid arthritis. *J Nat Prod*, 69 (3), 351-355.
- 266.Shoskes, D.A. (1998) Effect of bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal injury: a new class of renoprotective agents. *Transplantation*, 66 (2), 147-152.

267. Shoskes, D.A., Jones, E.A., Shahed, A. (2000) Synergy of mycophenolate mofetil and bioflavonoids in prevention of immune and ischemic injury. *Transplant Proc*, 32 (4), 798-799.
268. Farombi, E.O., Ekor, M. (2006) Curcumin attenuates gentamicin-induced renal oxidative damage in rats. *Food Chem Toxicol*, 44 (9), 1443-1448.
269. Vlahovic, P., Cvetkovic, T., Savic, V., Stefanovic, V. (2007) Dietary curcumin does not protect kidney in glycerol-induced acute renal failure. *Food Chem Toxicol*, 45 (9), 1777-1782.
270. Shahed, A.R., Jones, E., Shoskes, D. (2001) Quercetin and curcumin up-regulate antioxidant gene expression in rat kidney after ureteral obstruction or ischemia/reperfusion injury. *Transplant Proc*, 33 (6), 2988.
271. Bayrak, O., Uz, E., Bayrak, R., Turgut, F., Atmaca, A.F., Sahin, S. ve diğ erleri. (2008) Curcumin protects against ischemia/reperfusion injury in rat kidneys. *World J Urol*, 26 (3), 285-291.
272. Tonnesen, H.H., de Vries, H., Karlsen, J., Beijersbergen van Henegouwen, G. (1987) Studies on curcumin and curcuminoids. IX: Investigation of the photobiological activity of curcumin using bacterial indicator systems. *J Pharm Sci*, 76 (5), 371-373.
273. Pol, A., Bergers, M., Schalkwijk, J. (2003) Comparison of antiproliferative effects of experimental and established antipsoriatic drugs on human keratinocytes, using a simple 96-well-plate assay. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 39 (1-2), 36-42.
274. Kurd, S.K., Smith, N., VanVoorhees, A., Troxel, A.B., Badmaev, V., Seykora, J.T. ve diğ erleri. (2008) Oral curcumin in the treatment of moderate to severe psoriasis vulgaris: A prospective clinical trial. *J Am Acad Dermatol*, 58 (4), 625-631.
275. Punithavathi, D., Venkatesan, N., Babu, M. (2000) Curcumin inhibition of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Br J Pharmacol*, 131 (2), 169-172.

276. Thresiamma, K.C., George, J., Kuttan, R. (1996) Protective effect of curcumin, ellagic acid and bixin on radiation induced toxicity. *Indian J Exp Biol*, 34 (9), 845-847.
277. Tourkina, E., Gooz, P., Oates, J.C., Ludwicka-Bradley, A., Silver, R.M., Hoffman, S. (2004) Curcumin-induced apoptosis in scleroderma lung fibroblasts: role of protein kinase cepsilon. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 31 (1), 28-35.
278. South, E.H., Exon, J.H., Hendrix, K. (1997) Dietary curcumin enhances antibody response in rats. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 19 (1), 105-119.
279. Kobayashi, T., Hashimoto, S., Horie, T. (1997) Curcumin inhibition of *Dermatophagoides farinea*-induced interleukin-5 (IL-5) and granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) production by lymphocytes from bronchial asthmatics. *Biochem Pharmacol*, 54 (7), 819-824.
280. Ram, A., Das, M., Ghosh, B. (2003) Curcumin attenuates allergen-induced airway hyperresponsiveness in sensitized guinea pigs. *Biol Pharm Bull*, 26 (7), 1021-1024.
281. Kurup, V.P., Barrios, C.S. (2008) Immunomodulatory effects of curcumin in allergy. *Mol Nutr Food Res*, 52 (9), 1031-1039.
282. Kurup, V.P., Barrios, C.S., Raju, R., Johnson, B.D., Levy, M.B., Fink, J.N. (2007) Immune response modulation by curcumin in a latex allergy model. *Clin Mol Allergy*, 5, 1.
283. Srivastava, K.C., Bordia, A., Verma, S.K. (1995) Curcumin, a major component of food spice turmeric (*Curcuma longa*) inhibits aggregation and alters eicosanoid metabolism in human blood platelets. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 52 (4), 223-227.
284. Srivastava, K.C., Mustafa, T. (1989) Spices: antiplatelet activity and prostanoid metabolism. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 38 (4), 255-266.

285. Shah, B.H., Nawaz, Z., Pertani, S.A., Roomi, A., Mahmood, H., Saeed, S.A. ve diğeri. (1999) Inhibitory effect of curcumin, a food spice from turmeric, on platelet-activating factor- and arachidonic acid-mediated platelet aggregation through inhibition of thromboxane formation and Ca²⁺ signaling. *Biochem Pharmacol*, 58 (7), 1167-1172.
286. Lee, H.S. (2006) Antiplatelet property of *Curcuma longa* L. rhizome-derived ar-turmerone. *Bioresour Technol*, 97 (12), 1372-1376.
287. Çıkrıkçı, S., Moziöğlü, E., Yılmaz, H. (2008) Biological activity of curcuminoids isolated from *Curcuma longa*. *Records of Natural Products*, 2 (1), 19-24.
288. Kılıç, E., Köseoğlü, F., Yılmaz, H. (1988). Enstrümantal analiz ilkeleri. (s. 325)
289. Meyer, V.R. (1988). Practical high performance liquid chromatography. (s. 93): John Wiley & Sons
290. Taylor, S.J., McDowell, I.J. (1992) Determination of curcuminoid pigments in turmeric (*Curcuma domestica* Val) by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Chromatographia*, 34, 73-77.
291. Wichitnithad, W., Jongaroonngamsang, N., Pummangura, S., Rojsitthisak, P. (2009) A simple isocratic HPLC method for the simultaneous determination of curcuminoids in commercial turmeric extracts. *Phytochem Anal*, 20 (4), 314-319.
292. Gören, A.C., Çıkrıkçı, S., Cergel, M., Bilsel, G. (2009) Rapid quantitation of curcumin in turmeric via NMR and LC–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 113, 1239-1242.
293. Adams, R.P. (2001) Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. *Allured Publishing*, 362 South Schmale Road, Carol Stream, IL 60188-2787, USA.
294. Koenig, W.A., Joulain, D., Hochmuth, D.H. (2004) Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils. *MassFinder 3. Hochmuth DH (ed). Convenient and Rapid Analysis of GC-MS, Hamburg, Germany.*

295. McLafferty, F.W., Stauffer, D.B. (1989) The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data. *J. Wiley and Sons, New York, USA*.
296. EPA. Method 200.8 Determination of trace elements in waters and wastes by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry.
297. Yıldız, A., Genç, Ö. (1993). Enstrümantal Analiz Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.
298. Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., Schenck, F.J. (2003) Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *JAOAC Int*, 86 (2), 412-431.
299. Anastassiades, M., Mastovska, K., Lehotay, S.J. (2003) Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *J Chromatogr A*, 1015 (1-2), 163-184.
300. Wong, J.W., Webster, M.G., Halverson, C.A., Hengel, M.J., Ngim, K.K., Ebeler, S.E. (2003) Multiresidue pesticide analysis in wines by solid-phase extraction and capillary gas chromatography-mass spectrometric detection with selective ion monitoring. *J Agric Food Chem*, 51 (5), 1148-1161.
301. Will, F., Kruger, E. (1999) Fungicide residues in strawberry processing. *J Agric Food Chem*, 47 (3), 858-861.
302. Hair, J.F., Black, W.C., Babin, B.C., Anderson, R.E. (2010). *Multivariate Statistical Analysis*, 7e. Pearson.
303. Ostling, O., Johanson, K.J. (1984) Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 123 (1), 291-298.
304. Tice, R.R., Andrews, P.W., Singh, N.P. (1990) The single cell gel assay: a sensitive technique for evaluating intercellular differences in DNA damage and repair. *Basic Life Sci*, 53, 291-301.

- 305.Stratil, P., Klejdus, B.,Kuban, V. (2006) Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables--evaluation of spectrophotometric methods. *J Agric Food Chem*, 54 (3), 607-616.
- 306.Lee, J.H.,Choung, M. (2011) Determination of curcuminoid colouring principles in commercial foods by HPLC. *Food Chemistry*, 124, 1217-1222.
- 307.Peret-Almeida, L., Cherubino, A.P.F., Alves, R.J., Dufosse, L.,Gloria, M.B.A. (2005) Separation and determination of the physico-chemical characteristics of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food Research International*, 38, 1039–1044.
- 308.EMA. (2009) Assessment report on *Curcuma longa* L. rhizoma. *Evaluation of Medicines for Human Use*, EMA/HMPC/456848/2008.

EKLER

EK-1: ÖZGEÇMİŞ

24 Aralık 1982 tarihinde Düzce’de doğdum. İlköğrenimimi Keçiğalı İlköğretim Okulu’nda, orta öğrenimimi Gölyaka ilköğretimokulu’nda ve liseyi Düzce Anadolu Öğretmen Lisesi’nde tamamladım. 2000 yılında H. Ü. Eczacılık Fakültesi’ne girdim. 2004 yılında bu fakülteden mezun oldum; aynı yıl Farmakognozi Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak göreve başladım. 2008 yılında bu görevimden ayrılarak, Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitü Müdürlüğü, İlaç ve Kozmetik Bölümü’nde çalışmaya başladım ve doktora eğitimime dışarıdan devam ettim. 2009 yılı sonunda evlenerek İstanbul’a yerleştim ve İstanbul Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü, Enstrümental Laboratuvarında analist olarak çalışmaya başladım. Halen aynı görevi sürdürmekteyim.