

Kurkumin u istraživanju i razvoju antitumorskih lijekova

Božičević, Katarina

Professional thesis / Završni specijalistički

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:034553>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Katarina Božičević

**KURKUMIN U ISTRAŽIVANJU I RAZVOJU
ANTITUMORSKIH LIJEKOVA**

Specijalistički rad

Zagreb, 2020.

Poslijediplomski specijalistički studij: Razvoj lijekova

Mentor rada: prof.dr.sc. Sanda Vladimir-Knežević

Specijalistički rad obranjen je dana 30. rujna 2020. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Željka Vanić
Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet
2. prof. dr. sc. Sanda Vladimir Knežević,
Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet
3. dr. sc. Marjana Durrigl, znanstvena suradnica, PLIVA

Rad ima 50 listova.

PREDGOVOR

Specijalistički rad na poslijediplomskom specijalističkom studiju „Razvoj lijekova“ prijavljen je na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Sande Vladimir Knežević.

Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Sandi Vladimir Knežević na korisnim savjetima i stručnom vodstvu tijekom pripreme i pisanja ovog rada.

Zahvaljujem mojoj obitelji, osobito suprugu, na strpljenju, pomoći i ljubavi pruženoj prilikom pisanja ovog rada.

SAŽETAK

KURKUMIN U ISTRAŽIVANJU I RAZVOJU ANTITUMORSKIH LIJEKOVA

Cilj istraživanja

Cilj ovog specijalističkog rada je sveobuhvatan pregled znanstvenih spoznaja o antitumorskim svojstvima kurkumina, posebice rezultata kliničkih istraživanja i razvoja novih formulacija.

Materijali i metode

Istraživanje u okviru ovog rada je teorijskog karaktera i uključuje pregled dostupne znanstvene i stručne literature o predloženoj temi. U pretraživanju su korištene bibliografske baze podataka PubMed, Medline, Scopus, Science Direct i Cochrane Library.

Rezultati

Kurkumin je glavna bioaktivna sastavnica podanka kurkume (*Curcuma longa* L.) koja djeluje antitumorski, protuupalno i antioksidacijski. Mehanizmi antitumorskog djelovanja kurkumina uključuju induciranje apoptoze kroz regulaciju različitih signalnih putova i zaustavljanje staničkog ciklusa tumorskih stanica. Kliničke studije su ukazale na njegov veliki potencijal u prevenciji i liječenju različitih vrsta tumora te dobar sigurnosni profil. Medicinska primjena kurkumina ograničena je slabom bioraspoloživosti, brzim metabolizmom i eliminacijom. Istraživanja novih formulacija lijekova poput nanočestica, liposoma, micela, fosofolipidnih kompleksa i hibridnih molekula pokazala su značajno poboljšanje farmakokinetičkih svojstava kurkumina.

Zaključak

Potrebna su daljna klinička istraživanja koja će pružiti veću razinu dokaza o terapijskom potencijalu kurkumina u onkologiji.

SUMMARY

CURCUMIN IN RESEARCH AND DEVELOPMENT OF ANTITUMOR DRUGS

Objectives

The aim of this research is to provide a comprehensive overview of the scientific knowledge on the anticancer properties of curcumin, especially the results of clinical studies and new formulations development.

Materials and methods

Research in this paper is a theoretical one and includes a detailed overview of the available professional and scientific data on the topic. Relevant bibliographic database such as *Current Contents*, *ScienceDirect*, *Scopus*, *PubMed*, *Medline* and *Cocharen Library* are searched.

Results

Curcumin is the main bioactive compound of turmeric (*Curcuma longa* L.) with anticancer, antiinflammatory and antioxidant properties. Mechanisms of curcumin anticancerogenic action include the induction of apoptosis by various signal pathways regulation and blocking tumor cell cycle. Clinical studies indicated its great potential in the prevention and treatment of various cancers and a good safety profile. The medicinal use of curcumin is limited by its low bioavailability, rapid matabolism and systemic elimination. Investigations of novel drug formulations such as nanoparticles, liposomes, micelles, phospholipid complexes and hybrid molecules showed a significant improvement in pharmacokinetic properties of curcumin.

Conclusion

Further clinical studies are required to provide a higher level of evidence of curcumin therapeutic potential in oncology.

SADRŽAJ

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA.....	5
1.1. Kurkumin – prirodna molekula u otkrivanju novih antitumorskih lijekova	7
1.2. Mehanizmi antitumorskog djelovanja kurkumina.....	9
1.3. Bioraspoloživost kurkumina	12
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	15
3. MATERIJALI I METODE	16
4. REZULTATI I RASPRAVA	17
4.1. Kliničke studije o antitumorskom djelovanju kurkumina	17
4.2. Novi pristupi poboljšanja antitumorskog učinka kurkumina	27
4.2.1. Strukturne modifikacije kurkumina	27
4.2.2. Kombinacija kurkumina sa specifičnim adjuvansima	28
4.2.3. Nanoformulacije kurkumina	31
4.2.4. Kurkumin u hibridnim sustavima	35
5. ZAKLJUČCI.....	38
LITERATURA.....	39
ŽIVOTOPIS	48

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

Tumori ili neoplazme su velika skupina proliferativnih bolesti koje mogu pogoditi bilo koji dio tijela u kojem se nalaze žive, metabolički aktivne stanice. Dijelimo ih na dobroćudne i zloćudne. Zloćudni tumori koji nastaju od epitelnih stanica zovu se karcinomi. Jedna od definirajućih značajki karcinoma je stvaranje abnormalnih stanica koje se brzo dijele i rastu izvan svojih uobičajenih granica, a mogu se proširiti na susjedne dijelove tijela i na druge organe procesom koji se zove metastaziranje. Metastaze su glavni uzrok smrti onkoloških bolesnika. Karcinom nastaje transformacijom normalne stanice u tumorsku stanicu kroz više stadija koji napreduju od prekanceroze do malignog tumora. Te promjene su rezultat interakcije između genetskih čimbenika i vanjskih kancerogenih čimbenika. Karcinomi su drugi vodeći uzrok smrti na globalnoj razini i odgovorni su za 9,6 milijuna smrtnih slučajeva u 2018. godini. Približno 1 od 6 smrtnih slučajeva posljedica je karcinoma, a predviđa se da će broj novih slučajeva karcinoma značajno porasti u sljedeća dva desetljeća. Najveća je incidencija raka pluća, dojke, debelog crijeva, prostate i kože, a se za svaku navedenu skupinu broj oboljeih kreće se u granicama od 2,09 milijuna do 1,04 milijuna. Smrt najčešće uzrokuju karcinom pluća (1,76 milijuna umrlih), debelog crijeva (862 000 umrlih), abdomena (783 000 umrlih), jetre (782 000 umrlih) i dojke (627 000 umrlih). Utjecaj karcinoma na ekonomske čimbenike je također značajan i u sve većem porastu. Sveukupni godišnji ekonomski troškovi vezani uz dijagnostiku i liječenje karcinoma u 2010. godini iznosili su 1,16 trilijuna američkih dolara (1).

U svrhu pronalaska novih molekula s potencijalom primjene u prevenciji i liječenju karcinoma često se istražuju biljke i njihovi aktivni metaboliti. Kurkuma (*Curcuma longa* L.) je ljekovita biljka iz porodice Zingiberaceae (Slika 1). Sadrži više od 300 biološki aktivnih sastavnica, a među njima je najvažniji kurkumin koji daje žutu ili narančastu boju podanka te značajno doprinosi ljekovitim svojstvima ove biljke (Slika 2). Kurkumin je poznat kao indijski šafran, *haridra* ili *haldi*, prehrambeno bojilo (E100) i glavni sastojak *curry* začina. Primjena kurkume

poznata je već 2500 godina u Aziji, posebice u Indiji, Kini i Japanu. U tradicionalnoj Ayurvedskoj medicini kurkuma služi u liječenju različitih bolesti vezanih za dišni sustav, jetru, probavne tegobe, šećernu bolest, reumatizam, cijeljenje rana i kožne bolesti (2, 3).



Slika 1. *Curcuma longa* L.

(<https://shop.theherbshoppepdx.com/products/curcuma-longa-turmeric-tincture>)

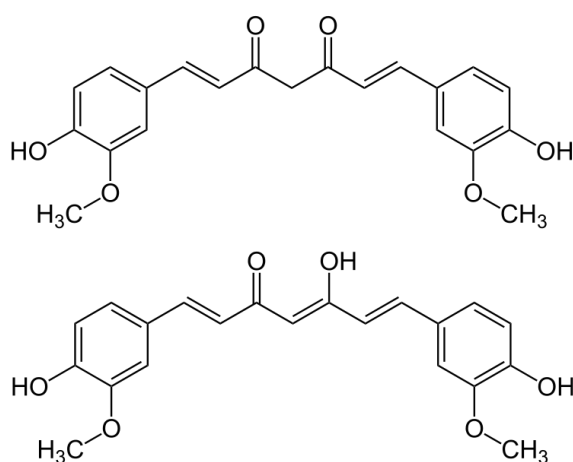


Slika 2. Kurkumin podanak

(<http://www.medicinaintegratanews.it/primi-freddi-infezioni-invernali-e-fitoterapia-per-bambini-e-adulti/>)

1.1. Kurkumin – prirodna molekula u otkrivanju novih antitumorskih lijekova

Kurkumin (Slika 3) je prirodna supstancija koja je posljednjih je godina u središtu znanstvenih istraživanja, osobito onih povezanih s karcinomom. Brojna *in vitro* i animalna istraživanja potvrdila su antioksidativna, protuupalna i antitumorska svojstva kurkumina, a djelovanje je bilo ovisno o tipu tumorskih stanica, koncentraciji kurkumina (IC_{50} 2-40 $\mu\text{g/mL}$) i trajanju terapije (4).



Slika 3. Kurkumin u keto i enolnim oblicima (<https://lt.wikipedia.org>)

Molekulu kurkumina prvi su put otkrili znanstvenici Vogel i Pelletier (*Harvard College*) iz podanka biljke *Curcuma longa* L. prije dva stoljeća. Izolacija iz kurkume provedena je 1815., a struktura određena 1910. godine. Procjenjuje se da podanak kurkume sadrži 2-5% kurkumina te manje količine demetoksikurkumina i bisdemetoksikurkumina (3). Dugo vremena istraživači nisu uspijevali razjasniti biosintezu kurkuminoida. Godine 1973. Roughley i Whiting su predložili dva moguća puta biosinteze koja se temelje na kondenzaciji fenilpropanoida i malonil-CoA. Nakon više od tri desetljeća Kita i suradnici su objavili rezultate istraživanja te zaključili da u biosintezi kurkuminoida sudjeluju dvije molekule cinamoil-CoA i jedna

molekula malonil-CoA te da su hidroksilne i metoksi funkcionalne skupine na benzenskim jezgrama uvedene nakon stvaranja kurkuminoidnog skeleta (5).

Iako je medicinska primjena kurkume poznata još od 1748. godine, prvu studiju na ljudima objavio je Oppenheimer godine 1937. Ispitan je učinak 0,1-0,25 g natrijevog kurkumina i 0,1 g kalcijevog kolata u humanim bilijarnim bolestima. Intravenska primjena 5%-tne otopine natrij kurkumina u zdravih osoba rezultirala je bržim pražnjenjem žučnog mjehura. U daljnje istraživanje uključeno je 67 pacijenata sa subakutnim, rekurentnim ili kroničnim kolecistitisom. Izuzev jednog pacijenta, svi su se ispitanici izliječili u razdoblju od tri mjeseca do tri godine. Od tada se povećao interes za kliničkim istraživanjima kurkumina, pa su do srpnja 2012. objavljeni rezultati 67 studija, a još je 35 bilo u tijeku (6).

Ustanovljeno je da kurkumin ostvaruje antitumorske učinke različitim biološkim mehanizmima koji su uključeni u mutagenezu, apoptozu, tumorogenezu, regulaciju staničnog ciklusa i metastaziranje (7). Kurkumin može djelovati na vitalne stanične odgovore poput zaustavljanja staničnog ciklusa, apoptoze i diferencijacije stanica, tako što aktivira kaskadu molekularnih događaja (8). Glavni je cilj kemoterapije selektivno uništavanje stanica karcinoma apoptozom bez uništavanja normalnih, zdravih, stanica. Stoga je važno shvatiti mehanizme odgovorne za izazivanje apoptoze. Tumorske stanice izbjegavaju apoptozu jednim od sljedećih mehanizama: poticanjem antiapoptotskih čimbenika, mutacijom ili smanjenjem proapoptotskih faktora. Progresija tumora može biti povezana i s povećanjem broja proteina staničnog ciklusa ili onkogeni, pa je potrebna učinkovita strategija u borbi protiv karcinoma poticanjem proapoptotskih molekula ili ciljanim smanjenjem antiapoptotskih proteina (9).

Potencijal kurkumina u liječenje raka gušterače, jetre, želuca, dojke, prostate, kože, pluća i debelog crijeva te multiplog mijeloma klinički je istraživani (10). Ustanovljena je učinkovita, sigurna i dobro podnošljiva primjena kurkumina u dozi 8 g dnevno kad se primjenjuje zajedno s gemcitabinom kod raka gušterače (6). Slični rezultati su ostvareni i pri zajedničkoj primjeni

kurkumina s docetakselom kod raka jajnika i dojke ili s oksaliplatinom kod karcinoma kolona (10-12). Kurkumin se pokazao dobro podnošljivim i kada je primijenjen u dozi 12 g dnevno u terapiji multiplog mijeloma (10). U dnevnoj dozi od 1,5 g tijekom mjesec dana primjene, kurkumin je značajno smanjio razinu mutagena u urinu pušača, pokazavši time potencijal u prevenciji karcinoma pluća (6).

Dosadašnje znanstvene spoznaje ukazuju na veliki potencijal kurkumina u prevenciji i liječenju karcinoma. Kurkumin ima dokazani antitumorski učinak i dobar sigurnosni profil; međutim, njegovu terapijsku učinkovitost ograničava slaba topljivost u vodi i niska bioraspoloživost. Stoga su današnja istraživanja velikim dijelom usmjerena na pronalaženje novih formulacija kurkumina kojima bi se povećala njegova bioraspoloživost i na taj način pospješio terapijski učinak (13, 14). Osim toga, provedena je i sinteza strukturnih analoga kurkumina te istražena njihov antitumorski potencijal u animalnim i kliničkim studijama (15-17).

1.2. Mehanizmi antitumorskog djelovanja kurkumina

Brojne studije su pokazale da kurkumin posjeduje antioksidacijska, protuupalna i antitumorska svojstva. Posebice se ističe sposobnost induciranja apoptoze u tumorskim stanicama. Kurkumin inducira apoptozu regulirajući različite signalne putove i zaustavljanjem ciklusa rasta tumorskih stanica (18).

a) Učinak kurkumina na čimbenike transkripcije

Nuklearni faktor kapa B (NF- κ B) je transkripcijski čimbenik koji regulira mnoge gene uključene u regulaciju rasta, upalu, karcinogenezu i apoptozu. U *in vitro* i *in vivo* uvjetima je ustanovljeno da aktivacija ovog transkripcijskog čimbenika dovodi do inhibicije apoptoze brojnih tumorskih stanica koja je kemoterapijski izazvana. Signalni pretvarač i aktivator transkripcije 3 (STAT3) je jedan od glavnih medijatora karcinogeneze koji utječe na staničnu proliferaciju, angiogenezu i izbjegavanje imunskog sustava, a novija istraživanja ukazuju da

je uključen u rezistenciju tumorske stanice na apoptozu (18). Kurkumin inhibira STAT3 i NF- κ B signalne putove koji su uključeni u nastanak i progresiju karcinoma, što je pokazano na staničnim modelima kronične mijeloidne leukemije (KBM5), karcinoma kolona (HCT116) i hepatocelularnog karcinoma (HCC) (19, 20).

Sp-1 faktor transkripcije aktivira mnoge biološke funkcije poput staničnog ciklusa i karcinogeneze te je vrlo izražen u stanicama tumora dojke, želuca ili štitnjače u usporedbi s normalnim stanicama. Istraživanja su rezultirala spoznajama da kurkumin suprimira aktivaciju SP-1 i nizvodnog dijela gena u stanicama kolorektalnog karcinoma, karcinoma pluća nemalih stanica i fibrosarkoma te negativnom regulacijom ovog faktora transkripcije inhibira stvaranje metastaza (18, 21). Aktivirajući protein-1 (AP-1) je još jedan čimbenik transkripcije koji regulira ekspresiju različitih gena uključenih u proliferaciju i apoptozu stanice. Kurkumin suprimira aktivaciju AP-1 tako što sprječava vezanje s DNA te inhibira aktivaciju c-Jun N-terminalne kinaze u stanicama karcinoma kolona (18, 22).

b) Učinak kurkumina na adheziju stanica

Kurkumin inhibira fosforilaciju kinaza fokalne adhezije (FAK) i pojačavaju ekspresiju komponenti izvanstaničnog matriksa s ključnom ulogom u invaziji karcinoma i stvaranju metastaza. Povećava sposobnost adhezije stanica kroz indukciju kolagena I, III, IV, IX, laminina i fibronektina. Navedenim mehanizmima kurkumin pojačava adheziju stanica karcinoma te posljedično njihovu migraciju i invazivnost. Nadalje, dokazano je da kurkumin inhibira antigene SD24 na površini tumorskih matičnih stanica kolorektalnog karcinoma te potiče ekspresiju proteina E-kaderina odgovornog za adheziju epitelnih stanica (18, 21).

c) Učinak kurkumina na endoplazmatski stres i autofagiju

Različiti patološki uvjeti mogu poremetiti sintezu i sazrijevanje proteina na endoplazmatskom retikulumu. Istraživanja su pokazala da kurkumin i neki njegovi analozi mogu inducirati

endoplazmatski stres, autofagiju i apoptozu stanica karcinoma jajnika i kolorektalnog karcinoma (23). Nadalje, kurkumin može potaknuti autofagiju u metastatskom karcinomu glija stanica (24).

d) Učinak kurkumina na proupalne citokine

Kronična upala je čimbenik rizika za nastanak karcinoma, primjerice, CXCL1 i CXCL2 koji potiču angiogenezu ili migraciju tumorskih stanica. Bachmeier i suradnici (25) su ove citokine identificirali kao osnovne mete antitumorskog djelovanja kurkumina u metastatskim stanicama karcinoma dojke (MDA-MB-231). Ustanovljeno je da NF- κ B direktno inducira ekspresiju kemokinskih receptora CXCR4, što potiče migraciju stanica i metastaziranje. Budući da kurkumin inhibira aktivaciju NF- κ B, ujedno utječe i na ekspresiju ovih proupalnih citokina (26). Taj se mehanizam antitumorskog učinka kurkumina smatra odgovornim za smanjenje metastaza karcinoma prostate u plućima u *in vivo* uvjetima (27). Interleukini (IL) su također vrsta citokina koji moduliraju imunološku reakciju povezanu s upalom. Ustanovljena je prekomjerna ekspresija citokina IL-8 u stanicama karcinoma koji je negativan na estrogenski receptor te pozitivna korelacija ekspresije IL-8 s progresijom i invazivnosti tumora, primjerice, karcinoma kolona (28). Kurkumin je smanjio induciranu ekspresiju IL-8 u stanicama karcinoma kolona te gušterače (22, 29).

e) Učinak kurkumina na metaloproteinaze matriksa

Metaloproteinaze matriksa su skupina endopeptidaza koje sadrže cink. Mogu uzrokovati degradaciju proteina izvanstaničnog matriksa i bazalnih membrana te poticati migraciju tumora u okolna tkiva i druge organe ulazeći u krvotok i limfni sustav. Ustanovljena je njihova pretjerana ekspresija u mnogim vrstama karcinoma, poput MMP-2 i MMP-9. Dokazano je da kurkumin smanjuje induciranu ekspresiju metaloproteinaza matriksa u *in vitro* i *in vivo* uvjetima te da snažnije inhibira MMP-9 u uporedbi s MMP-2 (18, 30).

f) Učinak kurkumina na urokinazni aktivator plazminogena

Plazminogen aktiviraju serinske proteaze urokinaza (uPA) koje se oslobađaju iz tumorskih stanica. Vežu se za uPA receptor i aktiviraju proteolizu čime dolazi do degradacije izvanstaničnog matriksa. Opsežna razgradnja matriksa tumorske stanice je kritična faza koja utječe na invaziju i metastaziranje karcinoma. NF- κ B je odgovoran za regulaciju izlučivanja uPA. S tim u vezi, ustanovljeno je da kurkumin suprimira adheziju i invaziju karcinoma dojke (MCF-7) regulirajući ekspresiju uPA-e kroz inhibiciju aktivacije NF- κ B (31).

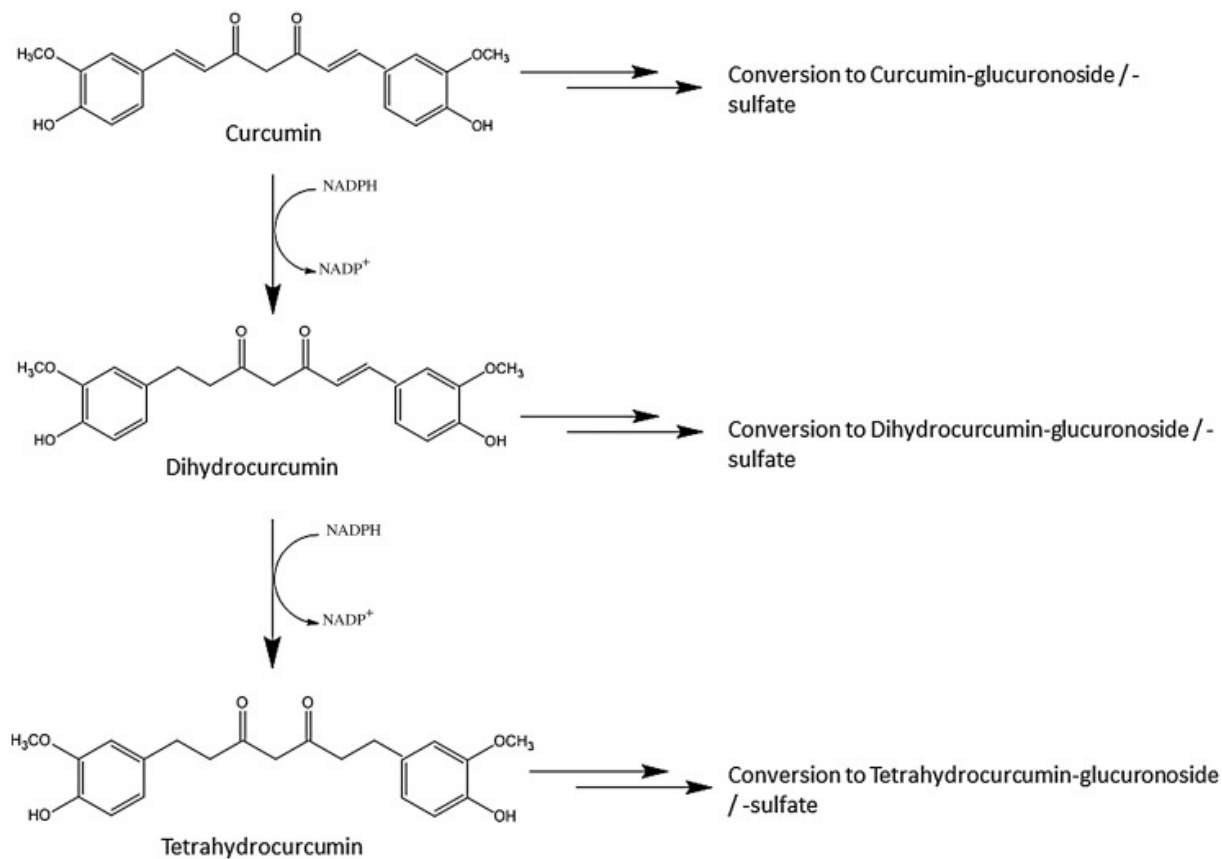
g) Učinak kurkumina na regulaciju mikroRNA

Kod svih vrsta tumora promijenjena je ekspresija miRNA, kratkih i nekodirajućih RNA molekula koje imaju specifičnu ulogu u regulaciji genske ekspresije te utječe na proliferaciju, diferencijaciju i apoptozu stanica. Može poticati rast tumora ili ga suprimirati. miR-21 je uglavnom deregulirana u svim tumorima te potiče staničnu proliferaciju, invaziju i metastaziranje djelujući na tumorske supresore, uključujući protein programirane stanične smrti 4 (PDCD4) i homolog fosfataza i tenzina (PTEN). Ustanovljeno je da kurkumin inhibira ekspresiju miR-21 u stanicama kolorektalnog karcinoma inhibicijom vezanja AP-1 za promotor primarnog transkripta miR-21 (pri-miR-21) te da inducira ekspresiju PDCD4. Navedenim mehanizmima djelovanja kurkumin značajno smanjuje invaziju i metastaziranje karcinoma kolona u *in vitro* i *in vivo* uvjetima (32).

1.3. Bioraspoloživost kurkumina

Iako znanstvena istraživanja ističu antitumorski potencijal kurkumina, njegova je primjena u praksi ograničena vrlo slabom bioraspoloživosti. Kurkumin je gotovo netopljiv u vodi, što rezultira slabom apsorpcijom iz crijeva. Najveći udio oralno primijenjenog kurkumina se izlučuje fecesom u nemetaboliziranom obliku. Farmakokinetičke studije su potvrdile izrazito

brz metabolizam i sistemsku eliminaciju. Apsorbirani kurkumin i njegovi demetoksilirani derivati vrlo brzo prelaze u vodi topljive metabolite, glukuronide i sulfate (slika 4) (33-35).



Slika 4. Metabolizam kurkuminoida (33)

Slaba oralna bioraspodjelivost kurkumina potvrđena je u jednoj animalnoj studiji u kojoj je određena maksimalna serumska koncentracija 0,36 $\mu\text{g/mL}$ kod intravenske primjene 10 mg/kg, dok je oralno primijenjena 50 puta veća koncentracija rezultirala sa svega 0,06 $\mu\text{g/mL}$ kurkumina u serumu (36). Cheng i suradnici (37) proveli su kliničku studiju na 25 onkoloških bolesnika koji su uzimali kurkumin tijekom 3 mjeseca u dozama koje su progresivno rasle od 0,5 do 12 g na dan. Koncentracije u serumu postizale su najveće vrijednosti između prvog i drugog sata nakon uzimanja, a iznosile su 0,51-1,55 μM za doze 4-8 g. Pritom kurkumin nije detektiran u urinu ispitanika. U daljnjim istraživanjima ispitivan je antitumorski učinak

kurkumina na 15 pacijenata s karcinomom debelog crijeva. Bolesnici su primali 0,45-3,6 g kurkumina tijekom 4 mjeseca, a razine kurkumina određivane su u plazmi, urinu i fecesu. Za razliku od nižih doza, primjena 3,6 g kurkumina generirala je razine kurkumina i njegovih metabolita koje je bilo moguće detektirati u plazmi i urinu. Nakon jednog sata od početka terapije, plazmatska koncentracija kurkumina iznosila je 11,1 nmol/L, a kurkumin glukuronida i sulfata 15,8 i 8,9 nmol/L. U urinu su određene visoke razine kurkumina (0,1-1,3 μ mol/L), kurkumin glukuronida (210-510 nmol/L) i kurkumin sulfata (19-45 nmol/L). Istraživanje je pokazalo da se određena količina kurkumina ipak apsorbira nakon oralne primjene, metabolizira u jetri i izlučuje u urinu pacijenata koji uzimaju najmanje 3,6 g kurkumina na dan (38).

Distribucija kurkumina u tkivima je također vrlo važna za postizanje biološkog učinka. Oralno primijenjen u štakora (400 mg), kurkumin je jedino detektiran u tragovima u jetri i bubrezima. U prvih 30 minuta 90 % kurkumina je bilo u želucu i crijevu, a 1 % nakon 24 sata. Na mišjem modelu ustanovljeno je da se najviše kurkumina može detektirati u crijevu (117 μ g/g) jedan sat nakon intraperitonealne primjene (0,1 g/kg), dok je koncentracija u slezeni (26,1 μ g/g), jetri (26,9 μ g/g) i bubrezima (7,5 μ g/g) manja (35). U kliničkoj studiji pacijenti s kolorektalnim karcinomom su primali 0,45, 1,8 i 3,6 g kurkumina sedam dana prije operativnog zahvata. Kurkumin i njegovi metaboliti su detektirani u portalnoj cirkulaciji, tkivu jetre i kolorektalnom tkivu. Kurkumin (1,8 i 3,6 g) je određen u benignom i malignom kolorektalnom tkivu (19,6-6,7 nmol/g), kao i njegovi metaboliti. No, nisu detektirani u žuči niti u zdravom i malignom tkivu jetre (39).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Istraživanja prirodnih produkata rezultirala su razvojem važnih antitumorskih lijekova koji se danas u velikoj mjeri primjenjuju u liječenju onkoloških bolesnika. Značajna *in vitro* i *in vivo* antitumorska aktivnost te dobar sigurnosni profil kurkumina potaknuli su provedbu kliničkih studija, ali i razvoj novih formulacija sa svrhom da se poboljšaju njegova farmakokinetička svojstva. Stoga ovaj rad donosi nove spoznaje o kurkuminu i njegovoj mogućoj primjeni u onkologiji i istraživanju novih antitumorskih lijekova.

3. MATERIJALI I METODE

Istraživanja u okviru ovoga specijalističkog rada teorijskog su karaktera i uključuju pregled dostupne literature o suvremenim znanstvenim istraživanjima antitumorskog djelovanja kurkumina. U pretraživanju su korištene elektronske bibliografske baze podataka kao što su: *Current Contents*, *ScienceDirect*, *Scopus*, *PubMed*, *Medline* i *Cocharen Library*. Prikupljeni podaci su proučeni i sistematično prikazani, a obuhvaćaju relevantna animalna i klinička istraživanja kurkumina i njegovih formulacija.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Kliničke studije o antitumorskom djelovanju kurkumina

Unatoč ogromnim naporima zdravstvenih sustava, prevalencija karcinoma nije se značajno smanjila. Iako su u terapiju uvedeni i tzv. „pametni“ lijekovi s ciljanim djelovanjem na tumorske stanice (stanice karcinoma), činjenica je da karcinom nastaje kao posljedica djelovanja raznih čimbenika koji unakrsno reagiraju, pa napad na samo jedan čimbenik u signalnim putevima smanjuje vjerojatnost završavanja pozitivnog ishoda. Osim toga, pametni lijekovi su često vrlo skupi te mogu izazvati nuspojave. Dosadašnja istraživanja ukazuju na veliki terapijski potencijal kurkumina i njegovu interakciju s brojnim signalnim molekulama. Karcinom je rezultat procesa s nizom događaja koji rezultiraju disregulacijom više od 500 gena u staničnom signalnom putu s puno koraka. Trenutačna paradigma za liječenje karcinoma je ili kombinacija nekoliko ciljanih lijekova ili dizajniranih lijekova koji djeluju na više meta, a kurkumin je upravo molekula koja antitumorski učinak ostvaruje istovremeno djelujući različitim mehanizmima.

Prvo kliničko istraživanje provedeno je 1987. godine na 62 pacijenta s vanjskim kanceroznim lezijama. Primjena topikalnog pripravka kurkumina rezultirala je vidnim poboljšanjem simptoma poput smanjenja svrbeža, veličine lezije, razine boli i neugodnog mirisa, a nuspojave je iskusio samo jedan pacijent. Primijenjen samostalno ili u kombinaciji s drugim tvarima kurkumin je pokazao povoljan učinak na brojne vrste tumora, uključujući karcinom debelog crijeva, gušterače, dojke, prostate, pluća te multiplog mijeloma, oralnog karcinoma i planocelularnog karcinoma glave i vrata (6).

Kolorektalni karcinom jedan je od vodećih uzroka smrtnosti onkoloških bolesnika, uz približno 1,2 milijuna novotkrivenih slučajeva i 600 000 umrlih godišnje. Može nastati zbog genetske predispozicije, no većina kolorektalnih karcinoma nastaje u osoba u kojih ne postoji

nasljedna osnova (40). Trenutačno nema potpuno učinkovite terapije, a zadovoljavajući ishodi se mogu očekivati kod resekcije u vrlo ranom stadiju s ili bez kemoterapije. Kurkumin je pokazao potencijal u liječenju kolorektalnog karcinoma u brojnim kliničkim ispitivanjima. U jednoj od provedenih studija, 15 pacijenata je uzimalo kapsule kurkumina u različitim dozama (3,6; 1,8 i 0,45 g/dnevno) tijekom sedam dana. U zdravom i maligno zahvaćenom kolorektalnom tkivu pacijenata koji su primali 3,6 g kurkumina dnevno određene su koncentracije kurkumina od $12,7 \pm 5,7$ i $7,7 \pm 1,8$ nmol/g. U uzorcima tkiva detektirani su kurkumin sulfat te kurkumin glukoronid, dok su tragovi kurkumina detektirani u perifernoj cirkulaciji. Razine DNA adukta M(1)G u malignom tkivu debelog crijeva također su bile snižene zahvaljujući kurkuminu, no nije bilo učinka na COX-2. Rezultati su pokazali da se sa dnevnim dozom od 3,6 g kurkumina postižu farmakološki djelotvorne razine kurkumina u kolonu, sa zanemarivom raspodjelom djelatne tvari izvan kolona (41).

Kurkumin je pokazao i potencijal u prevenciju kolorektalnog karcinoma u kombinaciji s drugim čimbenicima. FAP (*Familial Adenomatous Polyposis*) je autosomni dominantni poremećaj karakteriziran stotinama kolorektalnih adenoma koji se s vremenom razvijaju u kolorektalni karcinom. Nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAID) i inhibitori COX-2 reduciraju adenome u ovom sindromu, ali istovremeno izazivaju i različite nuspojave. Jedno od provedenih istraživanja procjenjivalo je može li kombinacija kurkumina i kvercetina suprimirati adenome u pacijenata s FAP-om. Pet pacijenata na kojima je prethodno izvršena kolektomija primalo je kombinaciju kurkumina (480 mg) i kvercetina (20 mg) peroralnim putem, tri puta dnevno. Broj i veličina polipa procjenjivala se prije i nakon završetka terapije. Nakon 6 mjeseci kombinirane terapije, smanjila se veličina i broj polipa, bez izraženih nuspojava u svih pet pacijenata. Iako su rezultati ohrabrujući, potrebno ih je validirati kroz buduće opsežnije studije (42).

U kliničkom ispitivanju provedenom na pušačima kurkumin je reducirao stvaranje tubularnih žlijezda (*Aberrant Crypti Foci*, ACF) kao prekursora nastanka kolorektalnih polipa. U

navedenom istraživanju 44 ispitanika peroralno je uzimalo kurkumin u dvije različite doze kroz 30 dana. Primjena 2 g kurkumina dnevno nije pokazala učinak; međutim, u dozi od 4 g dnevno kurkumin je značajno smanjio stvaranje tubularnih žlijezda, a autori studije učinak su povezali s 5 %-tnim povećanjem koncentracije kurkumina i njegovih konjugata u plazmi nakon tretmana (43).

U studiji koju su proveli He i suradnici (44) kurkumin je primijenjivan u bolesnika s kolorektalnim karcinomom prije operativnog zahvata u dozi tri puta dnevno po 360 mg kroz 10-30 dana. Tretman je rezultirao smanjenjem količine TNF- α u serumu, povećanjem apoptoze stanica i ekspresije p53 u tumorskom tkivu, a došlo je i do povećanja tjelesne mase ispitanika. Autori su istaknuli da kurkumin može poboljšati zdravstveno stanje pacijenata s kolorektalnim karcinomom pomoću mehanizma povišenja ekspresije p53 u tumorskim stanicama. Mudduluru i sur. (45) dokazali su da kurkumin djeluje na ekspresiju miRNA u stanici, direktno inhibira transkripciju miRNA vežući se na promotor, što onemogućava vezanje transkripcijskog faktora AP1 (aktivirajući protein 1), suprimira staničnu proliferaciju, rast tumora, invaziju i *in vivo* metastaziranje, te stabilizira ekspresiju tumorskog supresora Pcd4 kod kolorektalnog karcinoma.

Karcinom gušterače se također ubraja u najčešće uzroke smrti od posljedica karcinoma diljem svijeta, ali i među najletalnije karcinome s vrlo lošom prognozom jer većina pacijenata umre kroz godinu dana. Često se razvije bez početnih simptoma pa dijagnoza uslijedi u uznapređovalom stadiju. Brojna istraživanja pokazala su da je faktor transkripcije NF- κ B vrlo aktivan u pacijenata s karcinomom gušterače. Vrlo dobro je dokumentirana uloga navedenog faktora u supresiji apoptoze, rastu tumora, invaziji, angiogenezi i metastaziranju posredovanjem različitim čimbenicima. Stoga je kurkumin, koji može utjecati na NF- κ B, znanstvenicima vrlo interesantan u terapiji karcinoma gušterače (46). Tropski pankreatitis je učestali tip kroničnog pankreatitisa u populaciji tropskih krajeva. Ako traje duže vrijeme, može prijeći u karcinom

gušterače. Vjeruje se da je jedan od uzroka ove bolesti oksidacijski stres. Jednostruko slijepo, nasumično, pomoću placeba kontrolirano istraživanje izvedeno u Indiji procjenjivalo je učinak peroralno primjenjenog kurkumina u kombinaciji s piperinom, vezano uz bol i markere oksidacijskog stresa u pacijenata s tropskim pankreatitisom. Dvadeset pacijenata primalo je dnevno 500 mg kurkumina s 5 mg piperina ili placebo tijekom 6 tjedana te su procjenjivani učinci vezani uz bol, razine malonildialdehida (MDA) u crvenim krvnim stanicama i razine glutationa (GSH). Rezultati su pokazali značajno smanjenje koncentracije MDA u eritrocitima i povećanje GSH, u usporedbi s placebom; međutim, nije bilo utjecaja na razinu boli. Autori su zaključili da peroralna primjena kurkumina s piperinom može spriječiti lipidnu peroksidaciju u pacijenata s tropskim pankreatitisom (47).

Uočeno je da je kurkumin siguran za primjenu i da ga pacijenti s uznapredovalim karcinomom gušterače dobro podnose. Od ukupno 25 pacijenata uključenih u istraživanje, 21 je bio dostupan za procjenu. Pacijenti su peroralno uzimali 8 g kurkumina dnevno do progresije bolesti, s procjenom stadija tijekom dva mjeseca. Kurkumin i njegovi metaboliti detektirani su u niskim koncentracijama, što potvrđuje slabu bioraspoloživost kurkumina primjenjenog peroralno. Jedan pacijent pokazao je stabilno stanje bolesti kroz period duži od 18 mjeseci, dok je jedan imao kratku, ali značajnu regresiju karcinoma praćenu povišenjem serumskih citokina (IL-6, IL-8, IL-10 i antagonista receptora IL-1). U pacijenata nisu bili izraženi znakovi toksičnosti primjene kurkumina. Nakon uzimanja kurukumina primjećena je smanjena regulacija ekspresije NF- κ B, COX-2 i PSTAT 3 u perifernim krvnim mononuklearnim stanicama. Značajno su varirale koncentracije kurkumina u plazmi, a razine lijeka dosegle su vrhunac od 22-41 ng/mL i ostale relativno konstantne tijekom prvih 4 tjedna. Istraživanje je pokazalo da pacijenti dobro podnose kurkumin primijenjen peroralnim putem te, unatoč slaboj apsorpciji, kurkumin je pokazao biološku aktivnost u pacijenata s karcinomom gušterače (46).

Karcinom dojke drugi je načešći uzrok smrti u žena kao posljedice karcinoma, a vrlo rijetko se javlja u muškaraca. To je vrlo heterogeni tumor koji se klasificira u nekoliko podtipova na osnovi molekularnih karakteristika istih. Podtip koji zadaje najviše problema je onaj koji nema estrogenske receptore na površini stanice, tzv. ER-negativni tumor. Ti tumori se ponašaju vrlo agresivno i otporni su na hormonsku terapiju, pogotovo ER-modulatore (47). Sposobnost kurkumina da inducira smrt stanica karcinoma apoptozom, bez citotoksičnog učinka na normalne stanice ukazuje na mogućnost njegove primjene (13). Docetaksel, inhibitor mikrotubula, korišten je samostalno u metastaskom obliku bolesti ili u kombinaciji s drugim kemoterapeutskim čimbenicima u ranom stadiju bolesti. Kombinacija docetaksela i kurkumina ispitana je u prvoj fazi kliničkog ispitavanja u pacijenata s uzapredovalim karcinomom i metastazama, a uključivala je 14 pacijenata. Docetaksel (100 mg/m^2) je apliciran u obliku jednosatne intravenske infuzije svaka tri tjedna, ukupnom trajanju od šest ciklusa. Kurkumin je primijenjen peroralno u dozi od 0,5 g dnevno kroz sedam uzastopnih dana po ciklusu (4 dana prije terapije i 2 dana nakon). Primarni cilj bio je odrediti maksimalnu podnošljivu dozu kombinacije kurkumina i docetaksela, a sekundarni cilj uključivao je ispitivanje toksičnosti, sigurnosti primjene, mjerenje endotelnih faktora rasta u krvi i tumorskih markera te procjenu objektivnih kliničkih odgovora na kombiniranu terapiju. Maksimalna podnošljiva doza kurkumina iznosila je 8 g dnevno, dok je preporučena doza za sedam uzastopnih dana svaka tri tjedna iznosila 6 g dnevno, u kombinaciji sa standardnom dozom docetaksela (12).

Karcinom prostate najčešća je maligna bolest u muškaraca. Bolest se obično kontrolira preko antigena specifičnog za prostatu (*Prostate Specific Antigen*, PSA). Povišene vrijednosti PSA testa govori o riziku razvoja karcinoma prostate. Randomizirana, dvostruko slijepa, kontrolirana studija provedena je s ciljem utvrđivanja učinka sojinih izoflavona u kombinaciji s kurkuminom na serumske koncentracije PSA u muškaraca koji su bili podvrgnuti biopsiji prostate zbog povišenih PSA vrijednosti, ali s negativnim nalazom karcinoma prostate. U

istraživanju je sudjelovalo 85 ispitanika kojima je nasumično dodjeljen placebo ili kombinacija sojinih izoflavona s kurkuminom. PSA vrijednosti mjerene su prije i nakon 6 mjeseci tretmana. U odnosu na placebo, razine PSA smanjile su se u pacijenata ispitivane skupine s PSA vrijednostima većim od 10 ng/mL, što je pokazalo da kombinacija izoflavona i kurkume može modulirati serumske koncentracije PSA (49).

Multipli mijelom je malignost plazma stanica, a očituje se raznim kliničkim znakovima uključujući lezije na kostima, hiperkalcemiju, anemiju i zatajenje bubrega. Iako postoji napredak u liječenju koji uključuje upotrebu bortezomiba (Velcade®), talidomida i lenalidomida (Revlimid®), multipli mijelom još uvijek ostaje neizlječiva bolest za većinu pacijenata. Vadhan-Raj i sur. (50) procjenjivali su sigurnost, podnošljivost i kliničku učinkovitost kurkumina u 29 pacijenata a asimptomatskim multiplim mijelomom u fazi relapsa ili u plato fazi. Kurkumin je apliciran samostalno (peroralno 2, 4, 6, 8 ili 12 g dnevno u dvije doze) ili u kombinaciji s bioperinom (10 mg dnevno u dvije podijeljene doze) kroz 12 tjedana. Pacijenti su dobro podnosili navedenu kombinaciju i nije bilo prijavljenih neželjenih učinaka. Od 29 pacijenata, 12 je nastavilo istraživanje u razdoblju dužem od 12 tjedana, a 5 pacijenata (jedan na dozi od 4 g dnevno, dva na dozi od 6 g dnevno i 2 na dozi od 8 g dnevno) završili su testiranje u trajanju od jedne godine sa stabilnom bolešću. Peroralna primjena kurkumina uzrokovala je smanjenje aktivacije NF- κ B i STAT3, uz suprimiranu ekspresiju COX-2 u većine pacijenata, što je ukazalo na potencijal kurkumina u borbi protiv multiplog mijeloma, no potrebna su dodatna klinička ispitivanja s većim brojem pacijenata da se potvrdi učinak.

Karcinom pluća

Pušači izlučuju značajne količine mutagena u urinu i imaju velik rizik od razvoja karcinoma pluća. Proučeni su antimutageni učinci kurkume u 16 kroničnih pušača i 6 nepušača koji su služili kao kontrolna grupa. Primjena kurkume u dozi od 1,5 g dnevno tijekom mjesec dana

značajno je smanjila urinarnu ekskreciju mutagena u pušača u odnosu na kontrolnu skupinu u kojoj nisu zabilježene promjene, što je ukazalo na antimutagena svojstva kurkumina (6).

Kancerogene lezije

Oralni karcinom vrlo je čest na Indijskom subkontinentu. Najčešće prekancerozne oralne lezije poput oralne submukozne fibroze, oralne leukoplakije i oralnog *lichen planusa* povezane su sa žvakanjem duhana. Brojni drugi čimbenici mogu doprinijeti navedenim lezijama uključujući upotrebu nesteroidnih protupalnih lijekova, sulfoniluree, antimalarika i β -blokatora, uključujući nasljedne čimbenike te izloženost stresnim situacijama. Pacijenti s lezijama imali su također veći broj mikronukleusa u oralnim mukoznim stanicama i u cirkulacijskim limfocitima. Stoga takve stanice mogu poslužiti kao biomarkeri za predviđanje kliničkog tijeka oralne prekanceroze i ranog invazivnog karcinoma, kao i za procjenu potencijala raznih bioaktivnih supstancija. Ispitano je djelovanje alkoholnih ekstrakata i oleorezina kurkume na broj mikronukleusa u zdravih ispitanika i u ispitanika s oralnom submukoznom fibrozom. Niti jedan od ekstrakata nije imao nikakvog utjecaja na broj mikronukleusa u zdravih ispitanika. No, navedeni ekstrakti pokazali su da protektivno djeluju protiv povećanja broja mikronukleusa u limfocitima pacijenata koje je izazvano benzo(a)pirenom. U sličnom eksperimentu, pacijentima sa submukoznom fibrozom davana je dnevna peroralna doza kurkuminog ulja (600 mg) u kombinaciji s kurkuminom (3 g), oleorezinom kurkume (600 mg) i kurkumom (3 g) ili samo kurkumom (3 g) kroz tri mjeseca. Rezultati su pokazali da su svi tretmani smanjili broj mikronukleusa u oljuštenim stanicama oralne mukoze i u cirkulacijskim limfocitima te da ekstrakti kurkume mogu inhibirati stvaranje mikronukleusa u pacijenata s oralnim prekanceroznim lezijama (51).

Osim navedenog, pokazalo se da primjena 1 g kurkumina dnevno u obliku tableta (900 mg kurkumina, 80 mg demetoksikurkumina i 20 mg bisdemetoksikurkumina) kroz jedan tjedan utječe na povećanje vitamina C i E te smanjnje razine malonildialdehida (MDA) i 8-

hidroksideoksigvanozina (8-OHdG) u serumu i slini pacijenata s prekanceroznim lezijama. Istraživanje je pokazalo da kurkumin posjeduje potencijalna kemopreventivna svojstva protiv kanceroznih lezija (52).

Planocelularni karcinom glave i vrata je šesti najčešći karcinom širom svijeta s približno 600.000 dijagnoza godišnje. Radi se o heterogenoj bolesti koja uključuje oralne, laringealne i faringealne maligne promjene s oko 40%-tnom pojavom istih u usnoj šupljini. Petogodišnje preživljavanje u pacijenata s navedenom dijagnozom kreće se između 40-50 %. Istraživanja su pokazala da NF- κ B i upalni čimbenici poput IL-6, IL-8 i VEGF imaju ulogu u patogenezi bolesti, stoga bi ciljano djelovanje na te signalne molekule moglo biti od koristi u borbi protiv planocelularnog karcinoma glave i vrata. Istraživano je može li kurkumin inhibirati aktivnost I κ B kinaze β (IKK β), enzima koji je uključen u aktivaciju NF- κ B koji suprimira ekspresiju upalnih citokina u pacijenata s navedenom dijagnozom. Ukupno 39 pacijenata sudjelovalo je u istraživanju (13 sa dentalnim karijesom, 21 sa planocelularnim karcinomom glave i vrata i 5 zdravih volontera). Slina je prikupljena prije i jedan sat nakon što su sudionici žvakali dvije tablete kurkumina tijekom pet minuta. Kurkumin je utjecao na redukciju aktivnosti IKK β kinaze u slini pacijenata s planocelularnim karcinomom glave i vrata. Smanjenje IL-8 otkriveno je u slini pacijenata s dentalnim karijesom nakon žvakanja tableta kurkumina. Autori istraživanja zaključili su da bi IKK β kinaza mogla poslužiti kao biomarker za detekciju učinka kurkumina kod planocelularnog karcinoma glave i vrata (53).

Hu i suradnici (54) su dokazali da kurkumin inhibira proliferaciju i inducira apoptozu staničnih linija planocelularnog karcinoma glave i vrata, tako što inhibira migraciju i formiranje tubula u stanicama karcinoma.

Cervikalni karcinom i HPV (humani papilloma virus)

HPV je virus koji izaziva otprilike 90 % cervikalnih karcinoma, osobito HPV tipovi 16 i 18. Ne postoji specifična terapija infekcije HPV-om, već samo cjepiva za prevenciju infekcije. Mishra

i Das (55) proveli su *in vitro* istraživanje u kojem je kurkumin pokazao učinak na stanice karcinoma cerviksa i stanice karcinoma usne šupljine izazvane HPV infekcijom. Istraživanje je rezultiralo anti-HPV učinkom u visokom postotku (80%).

Kurkumin je pokazao sinergijsko djelovanje u kombinaciji s paksiklatelom u smislu poboljšanja paksiklatelom inducirane apoptoze HPV pozitivnih staničnih linija karcinoma cerviksa, tako što utječe na NF- κ B, p53 i puta kaspaze-3. Osim navedenog, kurkumin smanjuje ekspresiju miRNA-21 u stanicama cervikalnog karcinoma preko AP-1 koji se veže na njegov promotor (56).

Osteosarkom je maligni tumor kosti i predstavlja najčešći primarni maligni tumor kosti u djece i adolescenata. Prognoza ovog karcinoma je loša zbog visokog stupnja malignosti i sposobnosti invazije uz metastaziranje. MikroRNA (miRNA) je vrsta ne-kodirajuće RNA koja je duga otprilike 17-25 nukleotida. Sudjeluje u mnoštvu važnih procesa poput stanične diferencijacije, proliferacije, apoptoze i razvoja tumora. Iako njena sekvenca zauzima samo 1 % ljudskog genoma, sudjeluje oko 30 % u regulaciji ekspresije gena. U osteosarkomu je detektirana abnormalna ekspresija miRNA. Yu i suradnici su istražili abnormalnu ekspresiju miRNA u MG-63 stanicama nakon tretmana kurkuminom i istražili su djelovanje kurkumina na MG-63 stanice koristeći Affermix čip i bioinformatičku analizu. Potvrdili su da kurkumin inhibira proliferaciju i invazivnost stanične linije MG-63 humanog osteosarkoma tako što regulira miR-138 (57).

Maligni gliom je najčešći primarni maligni tumor mozga. Iako je uvođenjem liječenja temozolamidom, uz zračenje, i kirurške resekcije poboljšana stopa preživljenja u pacijenata s glioblastomom, povratak istog je neizbježan. Nakon relapsa, kemoterapija može pomoći, no ukupno preživljenje je slabo. Pretklinički podaci su pokazali da kurkumin može inhibirati stvaranje tumora i djelovati na mnoštvo molekularnih meta uključenih u razvoj karcinoma. Transferin receptor (TfR) je jače izražen na stanicama koje se ubrzano dijele, a jako visoke

razine su identificirane kod mnogih tumora. Istraživanjem učinka anti-TfR protutijela i kurkumina na stanice glioma *in vitro* pokazalo se da je navedena kombinacija učinkovitija u odnosu na pojedinačno testiranje te na potencijal kurkumina u ciljanoj molekularnoj terapiji (58).

Hepatocelularni karcinom je maligna bolest čija je petogodišnja stopa preživljenja manja od 9 %, a transplatacija jetre jedina terapija, iako rizik od pojave i razvoja metastaza ostaje prisutan i nakon transplantacije. U slučaju neoperabilnog tumora terapija je vrlo ograničena budući da kemoterapija ima minimalni učinak na hepatocelularni karcinom, a osim toga jetra ne tolerira veće doze zračenja. U pacijenata s hepatocelularnim karcinomom značajno su povišene serumske koncentracije TNF α i IL-6. Smatra se da je upalna kaskada glavni posrednik u patogenezi kroničnih i neoplastičnih bolesti, uključujući hepatocelularni karcinom. Istraživanja su pokazala da je tretman kurkuminom reducirao razinu TNF α i IL-6 te tako suprimirao upalu. Taj učinak nastaje jer kurkumin suprimira NF- κ B koji je glavni okidač upalne kaskade (59). U djece su maligni tumori jetre vrlo rijetki, ako se pojave uglavnom se radi o hepatoblastomima (91%), dok se hepatocelularni karcinom javlja u 1 % slučajeva. Iako je kurkumin jedna od najbolje istraženih biljnih sastavnica vezano uz onkologiju, vrlo je malo podataka o tome kako kurkumin utječe na maligne bolesti jetre u djece. Bortel i sur. (60) istražili su učinke kurkumina u kombinaciji s cisplatinom na dvije epitelne stanične linije pedijatrijskih tumora. Uočena je inhibicija NF- κ B, β -katenina i smanjenje ciklina D1. Nađene su značajne koncentracije kurkuminoida u uzorcima krvi i tumorskom tkivu nakon oralne primjene kurkumina u micelarnom obliku. Autori su zaključili da bi micelarni kurkumin u kombinaciji s cisplatinom mogao biti važan čimbenik u liječenju pedijatrijskih hepatocelularnih karcinoma.

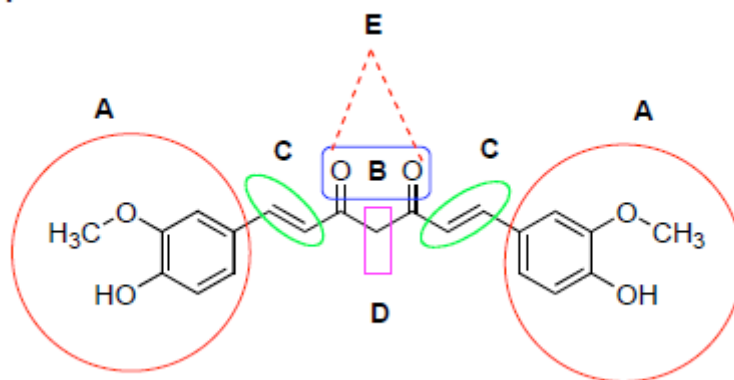
4.2. Novi pristupi poboljšanja antitumorskog učinka kurkumina

Kurkumin je u brojnim znanstvenim istraživanjima potvrdio dobar sigurnosni profil (ne uzrokuje štetne učinke niti pri dozama od 8 g na dan). S obzirom na slabu bioraspoloživost kurkumina i brz metabolizam istražuju se nove strategije koje obuhvaćaju modifikacije kemijske strukture kurkumina, kombinacije kurkumina s adjuvansima, liposomske ili micelarne nanoformulacije kurkumina ili hibridne molekule sastavljene od konjugata kurkumina s adjuvansom, protutijelima ili prirodnim supstancijama (Tablica 1). Ovisnost biološke aktivnosti o strukturnim obilježjima istražena je usporedbom učinka kurkumina s njegovim sintetskim i prirodnim analogima kao što su demetoksilirani derivati (demetoksikurkumin i bisdemetokskurkumin) i aktivni hidrogenizirani metaboliti (tertrahidrokurkumin, heksahidrokurkumin i oktahidrokurkumin). Ustanovljena je povezanost protuupalnog i antitumorskog potencijala kurkumina s niskom razinom hidrogenacije i visokom razinom metoksilacije i nezasićenosti diketonske skupine (16, 61).

4.2.1. Strukturne modifikacije kurkumina

Kurkumin je jednostavan, simetričan β -diketon s nekoliko funkcionalnih skupina. Dva aromatska prstena s fenolnim skupinama povezana su s dvije α,β -nezasićene karbonilne skupine. Podliježe keto-enolnoj tautomeriji pa dolazi u dva oblika (Slika 5). Keto oblik je dominantan u kiselim i neutralnim uvjetima, dok enolni oblici dominiraju u lužnatom mediju. Enolni oblik je energetski stabilniji u čvrstoj fazi i u kiselim otopinama, no vrlo lako ga se može deprotonizirati u blago alkalnim uvjetima. Smatra se da su ovi krhki tautomerički oblici razlog brzog metabolizma kurkumina (16, 62).

Na Slici 5 su prikazane strukturne modifikacije koje uključuju modifikaciju arilnog postranog lanca (A), diketo funkcionalnih skupina (B), dvostrukih veza (C), aktivne metilenske funkcionalne skupine (D), metalne kompleksacije (E) (16).



Slika 5. Mogućnosti strukturne modifikacije kurkumina (16)

Strukturne modifikacije kurkumina izvedene su s ciljem poboljšanja njegove bioraspoloživosti povećanjem hidrofilitnosti, olakšavanjem transmembranskog prolaza kurkumina i usporavanjem metabolizama. Od dizajniranih analoga najuspješnijima su se pokazali dimetilkurkumin s boljom bioraspoloživosti u odnosu na prirodnu supstanciju, bolja obilježja vezana uz izazivanje apoptoze u stanicama kolorektalnog karcinoma i snažna protuupalna svojstva u limfocitima glodavaca i ljudi. Zatim je dizajniran 1,5-diarilpentadienon koji je pokazao 30 puta veću supresivnu aktivnost tumorskog rasta nego kurkumin, bez izražene toksičnosti. Ovi analozi smanjuju ekspresiju onkoproteina (beta-katenin, Ki-Ras, ciklin D1 i ErbB-2) pri koncentracijama mnogo nižim od onih potrebnih za sam kurkumin u HCT116 stanicama karcinoma debelog crijeva (16, 61).

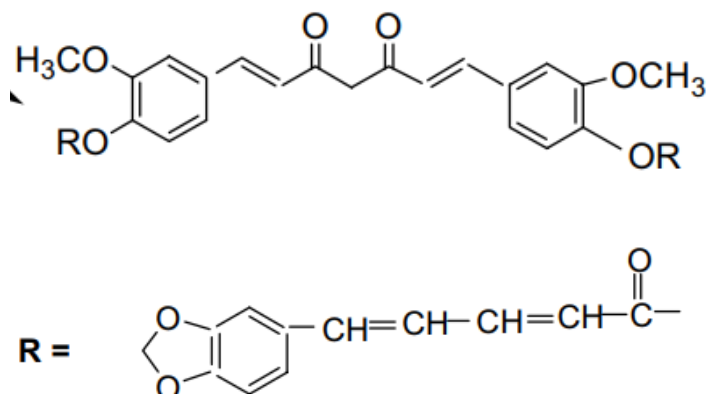
4.2.2. Kombinacija kurkumina sa specifičnim adjuvansima

Kombinacija s adjuvansima predstavlja još jedan način povećanja bioraspoloživosti kurkumina nakon oralne primjene, a podrazumijeva blokiranje metaboličkih dijelova ove molekule upotrebom adjuvansa sposobnih za inhibiranje detoksifikacijskih enzima uključenih u metabolizam kurkumina (61).

Piperin (1-piperil piperidin), molekula izolirana iz crnog papra, djeluje na crijevne resice, što rezultira boljom apsorpcijom molekule. Piperin utječe i na stanični metabolizam kroz inhibiciju glukoroniltransferaza i citokroma p450, kao i na P-glikoprotein uključen u rezistenciju na protutumorske lijekove. Uporaba kurkumina u kombinaciji s piperinom u životinja i ljudi povećava serumsku koncentraciju kurkumina 2000 puta zahvaljujući poboljšanju apsorpcije i bioraspoloživosti, bez štetnih učinaka (61).

Mishra i suradnici (55) dizajnirali su bikonjugate kurkumina s glicinom i piperinom za koje su ustanovili da u niskim koncentracijama uzrokuju apoptozu tumorskih stanica, primjerice 4,4-di-(O-piperil) kurkumin (Slika 6). Apoptotička aktivnost tih derivata korelirala je s stvaranjem ROS-a u tumorskim stanicama, dok su razine GSH ostale nepromijenjene. Ujedno je dokazana smanjena regulacija Bcl-2 i sudjelovanje kaspaze-3 u apoptotičnoj smrti tumorskih stanica.

Ispitan je učinak istih konjugata na E6 protein humanog papilloma virusa tip 16 (HPV-16 E6) koji ciljano djeluje na tumorske supresore p53 i pRb. Rezultati su pokazali da se kurkumin i njegovi konjugati vežu na različite aktivne strane HPV-16 E6 proteina, kao idealnu metu za obnovu tumorske supresorske funkcije p53 i na taj način potiču apoptozu. No, u ovom je slučaju kurkumin primijenjen samostalno te je pokazao veću učinkovitost u odnosu na konjugate (63).



Slika 6. Konjugat 4,4-di-(O-piperil) kurkumin (63)

U drugom slučaju, kurkumin je konjugiran s glicinom, glutaminskom kiselinom, valinom i demetiliranom piperinskom kiselinom. Ove aminokiseline korištene su kao nosači proteina koji preveniraju metaboličku razgradnju kurkumina. Antitumorska svojstva ovih biokonjugata procjenjivana su na staničnim linijama HeLa i KB stanicama. Konjugat s glutaminskom kiselinom pokazao je najbolji antiproliferativni učinak. Konjugati kurkumina sa piperinskom kiselinom dobiveni su esterifikacijom 4 i 4' fenolnih hidroksilnih skupina važnih za sulfataciju i glukuronidaciju sa svrhom da se uspori metabolička razgradnja kurkumina i tako poveća njegova bioraspoloživost (61).

Upotreba epigalokatekin-3-galata (EGCG) kao adjuvansa u kombinaciji s kurkuminom povećava bioraspoloživost kurkumina. Takva kombinacija rezultirala je značajnim smanjenjem proliferacije stanica leiomiosarkoma zbog inhibicije protein kinaze B, fosforilacije S6 kinaze te indukcije apoptoze i to pri mnogo nižim koncentracijama kurkumina od onih kad je kurkumin primjenjivan kao monoterapija (64).

Vežanje kurkumina na β -laktoglobulin povezano je s hidrofobnom interakcijom polifenolnih prstenova kurkumina sa „hidrofobnim džepovima“ β -laktoglobulina koji se djeluje kao nosač polifenola *in vitro*. Ovaj tip interakcije povećava bioraspoloživost kurkumina i poboljšava njegova antioksidacijska svojstva koja se obično povezuju s njegovim fenolnim vodikom (65).

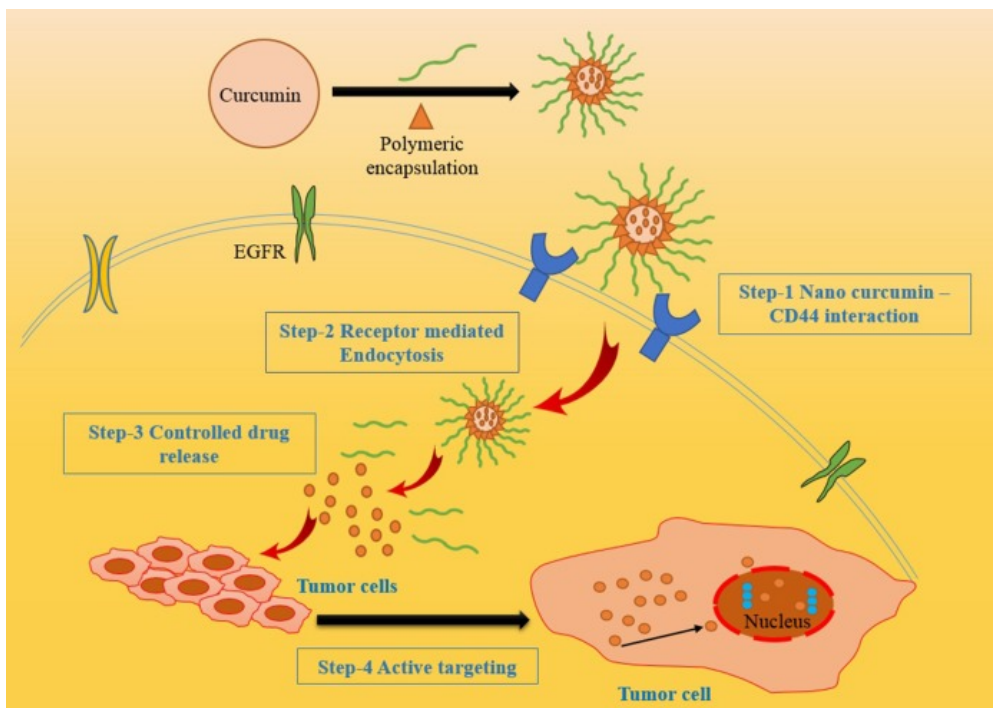
Gonadotropin oslobađajući hormon (GnRH) i njegov receptor (GnRHR) su prekomjerno izraženi u različitim vrstama karcinoma, dok su u zdravom tkivu prisutni u malim količinama. Poznato je da sudjeluju u regulaciji proliferacije stanica humanih malignih solidnih tumora ženskog reproduktivnog sustava i karcinoma gušterače. GnRH je neurohormon koji stimulira sintezu i sekreciju gonadotropina, folikul stimulirajućeg (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH). GnRHR receptori odlikuju se sposobnošću vežanja i analoga GnRH-a, a njihova

aktivacija uzrokuje jaku antitumorsku aktivnost. Analози GnRH-a se mogu vezati na GnRHR receptore u različitim modelima tumorskih stanica i tako dostavljaju antitumorski lijek izravno do tumora. Kurkumin je konjugiran sa sintetičkim GnRH agonistom, [DLys⁶]-LHRH, i učinak takvog hibrida je testiran na stanicama karcinoma gušterače MIAPaCa-2, BxPC-3 i Panc-1. Navedeni hibrid može inhibirati proliferaciju stanica karcinoma gušterače i inducirati apoptozu posredovanu kaspazom-3 i poli(ADP-ribozil)polimerazom (PARP). Ovaj konjugat povećava topljivost u vodi u usporedbi sa slobodnim kurkuminom, što omogućuje njegovu intravensku primjenu (66, 67).

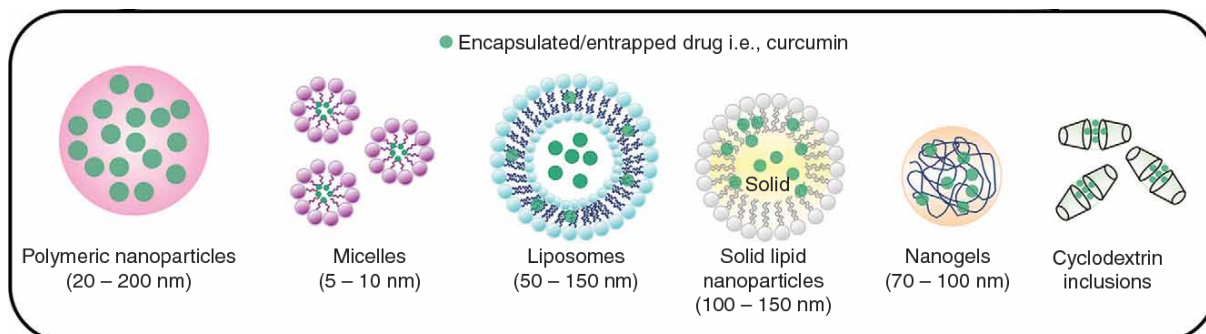
Različiti metali mogu također imati povoljne učinke na molekulu kurkumina, poput povećanja stabilnosti u fiziološkim uvjetima i olakšanja detekcije u *in vivo* uvjetima. Metalni kompleks s rutenijem ispitan je na nekoliko staničnih linija karcinoma. Najbolji rezultati su ostvareni na stanicama kolorektalnog karcinoma HCT 116 te karcinoma dojke MCF-7 i jajnika A2780, dok su stanice humanog glioblastoma U-87 i puća A549 bile manje osjetljive (68).

4.2.3. Nanoformulacije kurkumina

Nanoformulacije imaju za cilj povećati topljivost kurkumina u vodi, zaštititi molekulu od inaktivacije u *in vivo* okruženju, produljiti oslobađanje kurkumina i učiniti vrijeme zadržavanja kurkumina u cirkulaciji optimalnim te omogućiti njegovu dopremu na željeno patološko mjesto u organizmu (69-70) što je posebice važno u terapiji karcinoma (Slika 7). Najčešće korišteni terapijski nanosustavi za dostavu kurkumina prikazani su na Slici 8 i u Tablici 1.



Slika 7. Poboļšani sustav dostave kurkumina u tumorsku stanicu primjenom nanoformulacija (71)



Slika 8. Istraživane nanoformulacije kurkumina (72)

Tablica 1. Najčešće istraživani nanosustavi (nanoformulacije) kurkumina i njihove specifične prednosti nad klasičnim formulacijama kurkumina (69)

Nanosustav	Osnovne značajke
Nanočestice	Nanočestice su većinom pripravljene od biorazgradljivih polimera i korištene su za uklapanje kurkumina zbog svoje biokompatibilnosti i biorazgradljivosti.
Liposomi	Liposomi su nanovezikule građene od fosfolipidnih dvosloja. Veliki dio istraživanja nanoformulacija kurkumina obuhvaćaju liposomske preparacije.
Ciklodekstrini	Ciklodekstrini su ciklički oligosaharidi koji uklapaju slabo topljivi kurkumin u lipofilnoj šupljini, a vanjski hidrofilni sloj omogućuje dobro miješanje s hidrofilnim (vodenim) medijem.
Konjugati	Konjugacija kurkumina s malim molekulama i hidrofilnim polimerima je poznata metoda za povećanje topljivosti kurkumina u vodenom mediju.
Micelle	Micelle/polimerne micelle su sastavljene od polimera/kopolimera koji u koncentraciji iznad kritične micelarne koncentracije spontano formiraju micelle veličine 20-100 nm. Pritom je kurkumin uklopljen u hidrofobnu jezgru micela.
Dendrimeri	Dendrimeri su sastavljeni od visokorazgranatih i zvjezdastih mreža polimera u koju se može uklopiti ili vezati molekule kurkumina.
Lipidne nanočestice	Lipidne nanočestice su građene od čvrstog lipidnog matriksa u koji se može uklopiti kurkumin. Lipidnu jezgru stabiliziraju molekule surfaktanta čime se omogućuje dispergiranje lipidnih nanočestica u vodenom mediju.
Nanogelovi	Nanogelovi su nanočestice hidrogela (u vodi izbubrenih i/ili umreženih polimera).
Suspenzije	Suspenzije su disperzije kurkumina u prikladnom inernom matriksu.

Ciklodekstrini su oligosaharidi koji se koriste za povećanje topljivosti i bioraspoloživosti slabo topljivih lijekova u vodi. U jednom od provedenih ispitivanja kurkumin je uklopljen u γ -ciklodekstrine (CW8) te su rezultati istraživanja bioraspoloživosti kurkumina uspoređivani s onima dobivenim primjenom standardnog ekstrakta kurkumina (StdC) te komercijalno dostupnih formulacija fitosoma (CSL) i eteričnog ulja kurkume (CEO). Provedena je dvostruko slijepa, križna studija na 20 zdravih dobrovoljaca. Koncentracije kurkuminoida u plazmi

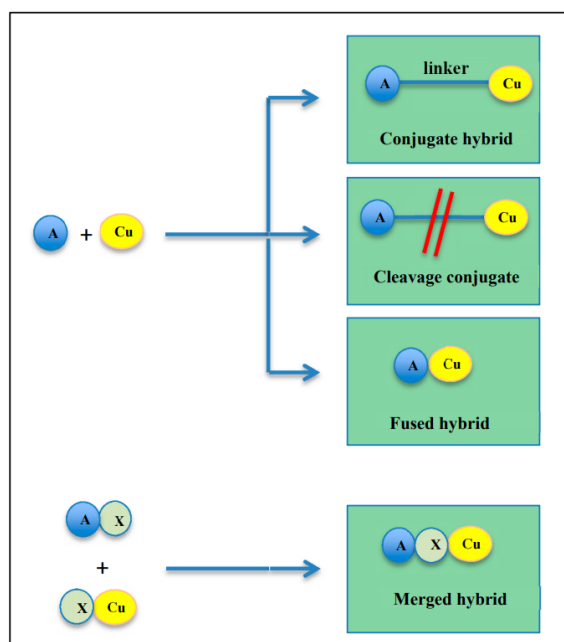
određene su prije i 12 sati nakon oralne primjene kurkumina. Primjena formulacije CW8 u zdravih ljudi rezultirala je najvišim koncentracijama kurkuminoida u plazmi, dok je nakon uzimanja CSL detektirana najviša razina bisdemetoksikurkumina u plazmi. CW8 je pokazao čak 39 puta veću bioraspoloživost ukupnih kurkuminoida u usporedbi sa StdC (33). Zang i suradnici (73) su proveli ispitivanje kemopreventivnog djelovanja formulacije kurkumina s β -ciklodekstrinom (CD15) pri čemu je testirana antitumorska aktivnost na tri različite stanične linije karcinoma pluća. Istraživanje je rezultiralo boljom isporukom kurkumina i poboljšanjem terapijske učinkovitosti CD15 u usporedbi sa slobodnim kurkuminom.

Liposomi su sferične fosfolipidne vezikule građene od jednog ili više fosfolipidnih dvoslojeva koji okružuju unutarnju vodenu fazu. Kao nosači lijekova liposomi se istražuju više od 4 desetljeća te je najveći broj nanoformulacija antitumorskih lijekova baziran upravo na liposomima. Zbog mnogobrojnih povoljnih svojstava liposomi su istraživani kao nanoformulacije kurkumina za različite puteve primjene, većinom topikalno (74). Osim povećanja topljivosti, liposomske nanoformulacije kurkumina su pokazale veću inhibiciju NF- κ B, COX-2 i IL-8 u humanim stanicama karcinoma gušterače (75). U drugoj je studiji liposomski kurkumin značajno smanjio ekspresiju NF- κ B u stanicama karcinoma glave i vrata (CAL27 and UMSCC1) (76). Poboljšana bioraspoloživost kurkumina njegovim uklapanjem u liposome dokazana je u *in vitro* uvjetima na drugim staničnim modelima, poput karcinoma dojke (MCF-7) (77).

Micelle su polimerni nanosustavi srednjeg promjera manjeg od 100 nm. Nekoliko polimera testirano je u svrhu poboljšanja crijevne apsorpcije kurkumina i postizanja bolje bioraspoloživosti. Micelle s kurkuminom pokazale su bolju topljivost u vodi i veću stabilnost kurkumina, ali i njegovu intracelularnu dostavu te posljedičnu citotoksičnost na stanice humanog hepatocelularnog karcinoma HepG2 (78).

4.2.4. Kurkumin u hibridnim sustavima

Koncept „hibridnih molekula“ (sustava) proizašao je iz kombiniranih terapija koje se sastoje od „koktela“ lijekova s različitim mehanizmima djelovanja, a uglavnom ih koriste kliničari u pacijenata koji ne reagiraju na uobičajenu terapiju. Cilj takve terapije je smanjiti štetne učinke lijekova koji se primjenjuju u optimalnoj dozi, uz poboljšanje učinkovitosti i smanjenje rizika moguće rezistencije na lijekove. Osim navedenog, putem hibridnih molekula pokušavaju se poboljšati farmakokinetička i farmakodinamička svojstva kombiniranih komponenti terapijskog sustava, pri čemu svaka molekula u hibridu balanstira štetne učinke druge molekule. Uporabom hibridnih molekula smanjuje se rizik od neželjenih reakcija i potencijalna rezistencija na lijekove. Različiti pristupi u dizajnu hibridnih molekula prikazani su Slikom 9. U nekim slučajevima hibridne molekule ne pojačavaju antitumorski učinak izvornog lijeka. Konjugacija kurkumina s paklitakselom nije poboljšala antioksidacijska niti antitumorska svojstva paklitaksela, dok je konjugacija s kamptotecinom rezultirala 5%-tnim povećanjem antitumorskog učinka na humane stanice karcinoma prostate (PC-3) i smanjenjem toksičnog djelovanja na zdrave stanice (61).



Slika 9. Različiti pristupi formiranja hibridnih molekula/sustava (61)

Cu=kurkumin, A=molekula, X=farmakofora

Kurkumin je konjugiran i s često korištenim antiandrogenima, flutamidom i bikalutamidom, u svrhu ublažavanja njihovih nuspojava. Istovremeno kurkumin inhibira proliferaciju tumorskih stanica u staničnom modelu karcinoma prostate (androgen ovisni LNCaP i androgen neovisni PC-3). Oba konjugata pokazala su snažniji antiproliferativni učinak u usporedbi s primjenom antiandrogena u monoterapiji te su snažno inhibirali stvaranje aktinskih pseudopodija koji su ključni za migraciju stanica i stvaranje metastaza. Kurkumin se uglavnom akumulira u jezgri stanice i inhibira progresiju staničnog ciklusa, dok njegovi konjugati, uglavnom lokalizirani u citosolu, induciraju nepravilna stanična dijeljenja koja vode u apoptozu (79).

Upotreba rekombinantnih protutijela kod dijagnostike i terapije karcinoma dobro je prihvaćeni pristup terapije. Većina protutijela specifično cilja citokine (npr. TNF- α) ili čimbenike rasta (npr. antivaskularni endotelni čimbenici rasta, VEGF) sa svrhom prekidanja određenih molekularskih putova tumorogeneze. U slučaju karcinoma koji ektopično izlučuju gonadotropin β -hCG česta je loša prognoza razvoja bolesti. Stoga su znanstvenici proizveli kimerna

rekombinantna protutijela visokog afiniteta za β -hCG/HhCG te su ih konjugirali s kurkuminom. Taj se imunokonjugat pokazao vrlo citotoksičnim u testiranju na staničnim linijama karcinoma MOLT-4 i U937 te na stanicama s CD33 markerom koji se pojavljuje kod akutne mijeloične leukemije u pacijenata koji imaju β -hCG na staničnoj membrani. Takvi konjugati se ne vežu i ne utječu na periferne krvne stanice zdravih donora. Rezultati potvrđuju činjenicu da konjugati kurkumina s protutijelima poboljšavaju dostavu protutijela do tumorskih stanica u vodenom mediju (80).

Kurkumin smanjuje kemorezistenciju i senzibilizira stanice multiplog mijeloma na talidomid i bortezomid pomoću negativne regulacije NF- κ B faktora i njime reguliranih gena. Dizajnirano je pet hibrida u kombinaciji s kurkuminom, uzimajući u obzir da se fenolni kisik kurkumina može modificirati, a da to nema značajnog utjecaja na njegovu biološku aktivnost. Hibridi su testirani na stanicama multiplog mijeloma MM1S, RPM18226 i U266. Rezultati su pokazali da je 4-hidroksi-3-metoksi fenilni prsten esencijalan za antiproliferativnu aktivnost navedenih hibrida. Oni su se pokazali djelotvornijim nego kurkumin primijenjen sam ili u kombinaciji s talidomidom. Povećale su se razine ROS-a u usporedbi s primjenom kurkumina samostalno. Aktivacija produkcije ROS-a rezultirala je zaustavljanjem ciklusa u S-fazi posljedično vodeći zloćudnu stanicu u apoptozu. Zaključno, ovi novosintetizirani hibridi imaju sva svojstva kurkumina i talidomida ali i poboljšanu biološku aktivnost (81).

Alkaloidi koji potječu iz morskih organizama često pokazuju dobra citotoksična svojstva. Sintetizirani su analozi topsetina indolske strukture, daminoindoliltiazoli (DIT) i diaminocinamiltiazoli (DCT1-2), kao novi hibridi kurkumin-diaminotiazol te su pokazali antitumorsko djelovanje na stanice humanog cervikalnog adenokarcinoma (HeLa stanice). Među testiranim tvarima, DCT1 je najsnažnije inhibirao aktivaciju NF- κ B induciranu s TNF- α (82).

5. ZAKLJUČCI

Kurkumin je glavna bioaktivna sastavnica kurkume (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae), indijske ljekovite i začinske biljke. U posljednje je vrijeme u središtu pozornosti znanstvenih istraživanja zbog potencijalnog antioksidacijskog, protuupalnog i antitumorskog djelovanja.

Mehanizmi antitumorskog djelovanja kurkumina uključuju induciranje apoptoze kroz regulaciju različitih signalnih putova i zaustavljanje staničkog ciklusa tumorskih stanica. Kliničke studije su ukazale na njegov veliki potencijal u prevenciji i liječenju različitih vrsta karcinoma te dobar sigurnosni profil. Primijenjen samostalno ili u kombinaciji s drugim lijekovima (djelatnim tvarima) pokazao je učinak na brojne vrste karcinoma, uključujući karcinom debelog crijeva, gušterače, dojke, prostate, pluća, multiplog mijeloma, oralnog karcinoma i planocelularnog karcinoma glave i vrata.

Medicinska primjena kurkumina ograničena je slabom bioraspoloživosti, brzim metabolizmom i eliminacijom. Istraživanja novih formulacija lijekova poput nanočestica, liposoma, micela i hibridnih sustava pokazala su značajno poboljšanje farmakokinetičkih svojstava kurkumina.

Potrebna je provesti daljna klinička istraživanja koja će pružiti veću razinu dokaza o terapijskom potencijalu kurkumina u onkologiji.

LITERATURA

1. World Health Organization (WHO). Cancer. Dostupno na: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>; pristupljeno: 5. siječnja 2019.
2. Surendran RE i Kimura T. Turmeric in Traditional Medicine. U: Ravindran PN, Nirmal Babu K, Sivaraman K, ur. Turmeric. The genus *Curcuma*. CRC Press 2007;409-436.
3. Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol* 2007;595:1-75.
4. Kuttan G, Kumar KB, Guruvayoorappan C, Kuttan R. Antitumor, anti-invasion, and antimetastatic effects of curcumin. *Adv Exp Med Biol*. 2007;595:173-84.
5. Kita T, Imai S, Sawada H, Kumagai H, Seto H. The biosynthetic pathway of curcuminoid in turmeric (*Curcuma longa*) as revealed by ¹³C-labeled precursors. *Biosci Biotechnol Biochem* 2008;72:1789-1798.
6. Gupta SC, Patchva S, Aggarwal BB. Therapeutic roles of curcumin: lessons learned from clinical trials. *AAPS J* 2013;15:195-218.
7. Perrone D, Ardito F, Giannatempo G, Dioguardi M, Troiano G, Lo Russo L, De Lillo A, Laino L, Lo Muzio L. Biological and therapeutic activities, and anticancer properties of curcumin. *Exp Ther Med*. 2015;10:1615-1623.
8. Shishodia S, Chaturvedi MM, Aggarwal BB Role of curcumin in cancer therapy. *Curr Probl Cancer* 2007;31:243-305.
9. Karunakaran D, Joseph J, Kumar TR. Cell growth regulation. The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease 2007; 245-261.
10. Fadus MC, Lau C, Bikhchandani J, Lynch H. Curcumin: An age-old anti-inflammatory and anti-neoplastic agent. *J Tradit Complement Med* 2017;7:339-346.
11. Zhou D, Ding N, Du Z. Curcumin analogues with high activity for inhibiting human prostate cancer cell growth and androgen receptor activation. *Mol Med Rep Mol Med Rep* 2014;10:1315-1322.

12. Bayet-Robert M, Morvan D. Metabolomics reveals metabolic targets and biphasic responses in breast cancer cells treated by curcumin alone and in association with docetaxel. *PLoS One* 2013; doi: 10.1371/journal.pone.0057971.
13. Khosropanah MH, Dinarvand A, Nezhadhosseini A, Haghighi A, Hashemi S, Nirouzad F, Khatamsaz S, Entezari M, Hashemi M, Dehghani H. Analysis of the antiproliferative effects of curcumin and nanocurcumin in MDA-MB231 as a breast cancer cell line. *Iran J Pharm Res* 2016;15:231-239.
14. Unlu A, Nayir E, Dogukan Kalenderoglu M, Kirca O, Ozdogan M. Curcumin (Turmeric) and cancer. *J BUON* 2016;21:1050-1060.
15. Borik RM, Fawzy NM, Abu-Bakr SM, Aly MS. Design, synthesis, anticancer evaluation and docking studies of novel heterocyclic derivatives obtained via reactions involving curcumin. *Molecules* 2018; doi: 10.3390/molecules23061398.
16. Vyas A, Dandawate P, Padhye S, Ahmad A, Sarkar F. Perspectives on new synthetic curcumin analogs and their potential anticancer properties. *Curr Pharm Des* 2013;19:2047-2069.
17. Allegra A, Innao V, Russo S, Gerace D, Alonci A, Musolino C. Anticancer activity of curcumin and its analogues: Preclinical and clinical studies. *Cancer Invest* 2017;35:1-22.
18. Vallianou NG, Evangelopoulos A, Schizas N, Kazazis C. Potential anticancer properties and mechanisms of action of curcumin. *Anticancer Res* 2015;35:645-651.
19. Anthwal A, Thakur BK, Rawat MS, Rawat DS, Tyagi AK, Aggarwal BB. Synthesis, characterization and in vitro anticancer activity of C-5 curcumin analogues with potential to inhibit TNF- α -induced NF- κ B activation. *Biomed Res Int* 2014; doi: 10.1155/2014/524161.
20. Chiablaem K, Lirdprapamongkol K, Keeratichamroen S, Surarit R, Svasti J. Curcumin suppresses vasculogenic mimicry capacity of hepatocellular carcinoma cells through STAT3 and PI3K/AKT inhibition. *Anticancer Res* 2014;4:1857-1864.
21. Chen CC, Sureshbabul M, Chen HW. Curcumin suppresses metastasis via Sp-1, FAK Inhibition, and E-cadherin upregulation in colorectal cancer. *Evidence-Based Complem Altern Med* 2013; doi: 10.1155/2013/541695.

22. Wang XF, Wang QD, Ives KL, Evers BM. Curcumin inhibits neurotensin-mediated interleukin-8 production and migration of HCT116 human colon cancer cells. *Clin Cancer Res* 2006;12:5346-5355.
23. Zhou T, Ye L, Bai Y, Sun A, Cox B, Liu D, Liotta D, Snyder JP, Fu H, Huang B. Autophagy and apoptosis in hepatocellular carcinoma induced by EF-(GSH)₂: A novel curcumin analog. *PLoS One* 2014; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107876>.
24. Aoki H, Takada Y, Kondo S. 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* 2007;72:29-39.
25. Bachmeier BE, Mohrenz IV, Mirisola V, Schleicher E, Romeo F, Hohneke C, Jochum M, Nerlich AG and Pfeffer U: Curcumin down-regulates the inflammatory cytokines CXCL1 and-2 in breast cancer cells via NF kappa B. *Carcinogenesis* 29: 779-789, 2008.
26. Helbig G1, Christopherson KW, Bhat-Nakshatri P, Kumar S, Kishimoto H, Miller KD, Broxmeyer HE, Nakshatri H. NF-kappaB promotes breast cancer cell migration and metastasis by inducing the expression of the chemokine receptor CXCR4. *J Biol Chem* 2003;278:21631-21638.
27. Killian PH, Kronski E, Michalik KM, Barbieri O, Astigiano S, Sommerhoff CP, Pfeffer U, Nerlich AG, Bachmeier BE. Curcumin inhibits prostate cancer metastasis in vivo by targeting the inflammatory cytokines CXCL1 and -2. *Carcinogenesis* 2012;33:2507-2519.
28. Li AH, Varney ML, Singh RK. Expression of interleukin 8 and its receptors in human colon carcinoma cells with different metastatic potentials. *Clin Cancer Res* 2001;7:3298-3304.
29. Li L, Braiteh FS, Kurzrock R. Liposome-encapsulated curcumin - *In vitro* and *in vivo* effects on proliferation, apoptosis, signaling, and angiogenesis. *Cancer* 2005;104:1322-1331.
30. Cheng TS, Chen WC, Lin YY, Tsai CH, Liao CI, Shyu HY, Ko CJ, Tzeng SF, Huang CY, Yang PC, Hsiao PW, Lee MS. curcumin-targeting pericellular serine protease matriptase role in suppression of prostate cancer cell invasion, tumor growth, and metastasis. *Cancer Prev Res* 2013;6:495-505.

31. Zong H, Wang F, Fan QX, Wang LX. Curcumin inhibits metastatic progression of breast cancer cell through suppression of urokinase-type plasminogen activator by NF-kappa B signaling pathways. *Mol Biol Rep* 2012;39:4803-4808.
32. Mudduluru G, Gerge-William JN, Muppala S, Asangani IA, Kumarswamy R, Nelson LD and Allgayer H: Curcumin regulates miR-21 expression and inhibits invasion and metastasis in colorectal cancer. *Bioscience Rep* 31: 185-197, 2011
33. Purpura M, Lowery RP, Wilson JM, Mannan H3 Münch G, Razmovski-Naumovski V. Analysis of different innovative formulations of curcumin for improved relative oral bioavailability in human subjects. *Eur J Nutr* 2018;57:929-938
34. Vareed SK, Kakarala M, Ruffin MT, Crowell JA, Normolle DP, Djuric Z, Brenner DE. Pharmacokinetics of curcumin conjugate metabolites in healthy human subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17:1411-1417.
35. Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Mol Pharm* 2007;4:807-818.
36. Yang KY, Lin LC, Tseng TY, Wang SC, Tsai TH. Oral bioavailability of curcumin in rat and the herbal analysis from *Curcuma longa* by LC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007;853:183-189.
37. Cheng AL, Hsu CH, Lin JK, Hsu MM, Ho YF, Shen TS, Ko JY, Lin JT, Lin BR, Ming-Shiang W, Yu HS, Jee SH, Chen GS, Chen TM, Chen CA, Lai MK, Pu YS, Pan MH, Wang YJ, Tsai CC, Hsieh CY. Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Res.* 2001;21:2895-2900.
38. Sharma RA, Euden SA, Platton SL, Cooke DN, Shafayat A, Hewitt HR, Marczyklo TH, Morgan B, Hemingway D, Plummer SM, Pirmohamed M, Gescher AJ, Steward WP. Phase I clinical trial of oral curcumin: biomarkers of systemic activity and compliance. *Clin Cancer Res* 2004;10:6847-6854.
39. Hsu C-H, Cheng A-L. Clinical studies with curcumin. U: Aggarwal BB, Young-Joon Surh Y-J, Shishodia S, ur. *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease.* Springer Science and Business Media, 2007;471-480.

40. McFadden RM, Larmonier CB, Shehab KW, Midura-Kiela M, Ramalingam R, Harrison CA, Besselsen DG, Chase JH, Caporaso JG, Jobin C, Ghishan FK, Kiela PR. The role of curcumin in modulating colonic microbiota during colitis and colon cancer prevention. *Inflamm Bowel Dis* 2015;21:2483-2494.
41. Garcea G, Berry DP, Jones DJ, Singh R, Dennison AR, Farmer PB, Sharma RA, Steward WP, Gescher AJ. Consumption of the putative chemopreventive agent curcumin by cancer patients: assessment of curcumin levels in the colorectum and their pharmacodynamic consequences. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:120-125.
42. Cruz-Correa M, Shoskes DA, Sanchez P, Zhao R, Hyland LM, Wexner SD, Giardiello FM. Combination treatment with curcumin and quercetin of adenomas in familial adenomatous polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:1035-1038.
43. Carroll RE, Benya RV, Turgeon DK, Vareed S, Neuman M, Rodriguez L, Kakarala M, Carpenter PM, McLaren C, Meyskens FL Jr, Brenner DE. Phase IIa clinical trial of curcumin for the prevention of colorectal neoplasia. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011;4:354-364.
44. He ZY, Shi CB, Wen H, Li FL, Wang BL, Wang J. Upregulation of p53 expression in patients with colorectal cancer by administration of curcumin. *Cancer Invest* 2011;29:208-213.
45. Mudduluru G, Gerge-William JN, Muppala S, Asangani IA, Kumarswamy R, Nelson LD, Allgayer H. Curcumin regulates miR-21 expression and inhibits invasion and metastasis in colorectal cancer. *Bioscience Rep* 2011;31:185-197.
46. Dhillon N, Aggarwal BB, Newman RA, Wolff RA, Kunnumakkara AB, Abbruzzese JL, Ng CS, Badmaev V, Kurzrock R. Phase II trial of curcumin in patients with advanced pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:4491-4499.
47. Durgaprasad S, Pai CG, Vasanthkumar, Alvres JF, Namitha S. A pilot study of the antioxidant effect of curcumin in tropical pancreatitis. *Indian J Med Res* 2005;122:315-318.
48. Petric RC, Braicu C, Raduly L, Zanoaga O, Dragos N, Monroig P, Dumitrascu D, Berindan-Neagoe I. Phytochemicals modulate cancerogenic signaling pathways in breast and hormone-related cancers. *OncoTar Ther* 2015;8:2053-2066.

49. Ide H, Tokiwa S, Sakamaki K, Nishio K, Isotani S, Muto S, et al. Combined inhibitory effects of soy isoflavones and curcumin on the production of prostate-specific antigen. *Prostate* 2010;7:1127-1133.
50. Vadhan-Raj S, Weber D, Wang M, Giralt S, Alexanian R, Thomas S, et al. Curcumin downregulates NF-KB and related genes in patients with multiple myeloma: results of a phase I/II study. *Blood* 2007;110:1177.
51. Hastak K, Lubri N, Jakhi SD, More C, John A, Ghaisas SD, et al. Effect of turmeric oil and turmeric oleoresin on cytogenetic damage in patients suffering from oral submucous fibrosis. *Cancer Lett* 1997;116:265-269.
52. Rai B, Kaur J, Jacobs R, Singh J. Possible action mechanism for curcumin in pre-cancerous lesions based on serum and salivary markers of oxidative stress. *J Oral Sci* 2010;52:251-256.
53. Kim SG, Veena MS, Basak SK, Han E, Tajima T, Gjertson DW, Starr J, Eidelman O, Pollard HB, Srivastava M, Srivatsan ES, Wang MB. Curcumin treatment suppresses IKKbeta kinase activity of salivary cells of patients with head and neck cancer: a pilot study. *Clin Cancer Res* 2011;17:5953-5961.
54. Hu A, Huang JJ, Li RL, Lu ZY, Duan JL, Xu WH, Chen XP, Fan JP. Curcumin as therapeutics for the treatment of head and neck squamous cell carcinoma by activating SIRT1. *Sci Rep* 2015; doi: 10.1038/srep13429.
55. Mishra A, Das BC. Curcumin as an anti-human papillomavirus and anti-cancer compound. *Future Oncol* 2015; 11: 2487-2490.
56. Dang YP, Yuan XY, Tian R, Li DG, Liu W. Curcumin improves the paclitaxel-induced apoptosis of HPV-positive human cervical cancer cells via the NF-κB-p53-caspase-3 pathway. *Exp Ther Med* 2015;9:1470-1476.
57. Yu D, An F, Cao X. Curcumin inhibits the proliferation and invasion of human osteosarcoma cell line MG-63 by regulating miR-138. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8:14946-14952.
58. Wen X, Cheng X, Hu D, Li W, Ha J, Kang Z, Zhang M, Huang Y, Wu S. Combination of curcumin with an anti-transferrin receptor antibody suppressed the growth of malignant gliomas *in vitro*. *Turk Neurosurg* 2016; 26: 209-214.

59. Tork OM, Khaleel EF, Abdelmaqsoud OM. Altered cell to cell communication, autophagy and mitochondrial dysfunction in a model of hepatocellular carcinoma: potential protective effects of curcumin and stem cell therapy. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;16:8271-8279.
60. Bortel N, Armeanu-Ebinger S, Schmid E, Kirchner B, Frank J, Kocher A, Schiborr C, Warmann S, Fuchs J, Ellerkamp V. Effects of curcumin in pediatric epithelial liver tumors: inhibition of tumor growth and alpha-fetoprotein *in vitro* and *in vivo* involving the NFkappaB- and the beta-catenin pathways. *Oncotarget* 2015; 6:40680-40691.
61. Teiten MH, Dicato M, Diedrich M. Hybrid curcumin compounds: A new strategy for cancer treatment. *Molecules* 2014;19:20839-20863.
62. Nelson KM, Dahlin JL, Bisson J, Graham J, Pauli GF, Walters MA. The essential medicinal chemistry of curcumin. *J Med Chem* 2017;60:1620-1637.
63. Singh AK, Misra K. Human papilloma virus 16 E6 protein as a target for curcuminoids, curcumin conjugates and congeners for chemoprevention of oral and cervical cancers. *Interdiscip Sci* 2013;5:112-118
64. Kondo A, Takeda T, Li B, Tsuiji K, Kitamura M, Wong TF, Yaegashi N. Epigallocatechin-3-gallate potentiates curcumin's ability to suppress uterine leiomyosarcoma cell growth and induce apoptosis. *Int J Clin Oncol* 2013;18:380-388.
65. Li M1 Ma Y, Ngadi MO. Binding of curcumin to β -lactoglobulin and its effect on antioxidant characteristics of curcumin. *Food Chem* 2013;141:1504-1511.
66. Limonta P, Montagnani Marelli M, Mai S, Motta M, Martini L, Moretti RM. GnRH receptors in cancer: from cell biology to novel targeted therapeutic strategies. *Endocr Rev* 2012;33:784-811.
67. Aggarwal S, Ndinguri MW, Solipuram R, Wakamatsu N, Hammer RP, Ingram D, Hansel W. [DLys(6)]-luteinizing hormone releasing hormone-curcumin conjugate inhibits pancreatic cancer cell growth *in vitro* and *in vivo*. *Int J Cancer* 2011;129:1611-1623.
68. Pröhl M, Schubert US, WolfgangW, Gottschaldt M. Metal complexes of curcumin and curcumin derivatives for molecular imaging and anticancer therapy. *Coord Chem Rev* 2016; 307:32-41.

69. Yallapu MM, Nagesh PKB, Jaggi M, Chauhan SC. Therapeutic applications of curcumin nanoformulations. *APS J* 2015;17:1341-1356.
70. Naksuriya O, Okonogi S, Schiffelers RM, Hennink WE. Curcumin nanoformulations: a review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment. *Biomaterials* 2014;35:3365-3383.
71. Gera M, Sharma N, Ghosh M, Huynh DL, Lee SJ, Min T, Kwon T, Jeong DK. Nanoformulations of curcumin: an emerging paradigm for improved remedial application. *Oncotarget* 2017;8:66680-66698.
72. Lee WH, Loo CY, Young PM, Traini D, Mason RS, Rohanizadeh R. Recent advances in curcumin nanoformulation for cancer therapy. *Expert Opin Drug Deliv* 2014;11:1183-11201.
73. Zhang L, Man S, Qiu H, Liu Z, Zhang M, Ma L, Gao W. Curcumin-cyclodextrin complexes enhanced the anti-cancer effects of curcumin. *Environ Toxicol Pharmacol* 2016;48:31-38.
74. Feng T, Wei Y, Lee RJ, Zhao L. Liposomal curcumin and its application in cancer. *Int J Nanomedicine* 201;12:6027-6044.
75. Li L, Braiteh FS, Kurzrock R. Liposome-encapsulated curcumin - *In vitro* and *in vivo* effects on proliferation, apoptosis, signaling, and angiogenesis. *Cancer* 2005;104:1322-1331.
76. Wang D, Veena MS, Stevenson K, Tang C, Ho B, Suh JD, Duarte VM, Faull KF, Mehta K, Srivatsan ES, Wang MB. Liposome-encapsulated curcumin suppresses growth of head and neck squamous cell carcinoma *in vitro* and *in xenografts* through the inhibition of nuclear factor kappa B by an AKT independent pathway. *Clin Cancer Res* 2008;14:6228-62236.
77. Sharma S, Kumar V. *In vitro* cytotoxicity effect on MCF-7 cell line of co-encapsulated artesunate and curcumin liposome. *Int J Pharma Pharm Sci* 2017;9:123-128.
78. Lee WH, Loo CY, Young PM, Traini D, Mason RS, Rohanizadeh R. Recent advances in curcumin nanoformulation for cancer therapy. *Expert Opin Drug Deliv* 2014;11:1183-1201.

79. Shi Q, Wada K, Ohkoshi E, Lin L, Huang R, Morris-Natschke SL, Goto M, Lee KH. Antitumor agents 290. Design, synthesis, and biological evaluation of new LNCaP and PC-3 cytotoxic curcumin analogs conjugated with anti-androgens. *Bioorg Med Chem* 2012;20:4020-4031.
80. Vyas HK, Pal R, Vishwakarma R, Lohiya NK, Talwar GP. Selective killing of leukemia and lymphoma cells ectopically expressing hCGbeta by a conjugate of curcumin with an antibody against hCGbeta subunit. *Oncology* 2009; doi: 10.1159/000188665.
81. Liu K, Zhang D, Chojnacki J, Du Y, Fu H, Grant S, Zhang S. Design and biological characterization of hybrid compounds of curcumin and thalidomide for multiple myeloma. *Org Biomol Chem* 2013;11:4757-4763.
82. Juneja M, Vanam U, Paranthaman S, Bharathan A, Keerthi VS, Reena JK, Rajaram R, Rajasekharan KN, Karunagaran D. 4-Amino-2-arylamino-5-indoloyl/cinnamoythiazoles, analogs of topsentin-class of marine alkaloids, induce apoptosis in HeLa cells. *Eur J Med Chem* 2013 May;63:474-483.