

5S PHARMA İLAÇ, KOZMETİK, TIBBİ CİHAZ, FORMÜLASYON & ARGE & EĞİTİM-DANIŞMANLIK LTD.ŞTİ.

03.12.2020

TEST SONUÇ & DANIŞMANLIK RAPORU

Rapor No: 5S-Eİ-003-3

Talep Eden Kurum: Erciyes İlaç Bitkisel Destek Ürünleri Ar-Ge San. Tic. Ltd. Şti

Talep Edilen Test: Antikanser Etki Potansiyeline Sahip Molekül ve Bitkisel Ekstrelerin Terapötik Etkinliklerinin Değerlendirmesi

Numune Bilgileri: Erciyes İlaç Bitkisel Destek Ürünleri Ar-Ge San. Tic. Ltd. Şti tarafından tarafımıza 20 g Eİ-001 isimli bitkisel ekstre teslim edilmiştir. İlgili firmanın isteği üzerine teslim edilen numunenin içeriği gizli tutulmuştur. Numunelerin tahlil ve tanımlamalarında firmamız herhangi bir çalışma yürütmemiş olup bu konudaki sorumluluk tamamı ile Erciyes İlaç Bitkisel Destek Ürünleri Ar-Ge San. Tic. Ltd. Şti'ye aittir.

Not: Bu rapor 17 sayfadan oluşmaktadır.

Çalışma Koordinatörü:

Dr. Gökhan Ünal

Kurucu ortak, Beşeri Ürünler Direktörü (COO)

5S PHARMA İLAÇ, KOZMETİK, TIBBİ CİHAZ, FORMÜLASYON & ARGE & EĞİTİM-DANIŞMANLIK LTD. ŞTİ.
Yıldırım Beyazıt Mh. Aşık Veysel Blv. E.Ü. TGB İdare ve Kuluçka 4 Apt. No: 67/3/81 Melikgazi / KAYSERİ
ERCİYES İLAÇ ÜRÜNLERİ LTD. ŞTİ. 001 184 9224
Mersis No: 000184922400001 - Tic.Sic.No: 50879

Yıldırım Beyazıt Mh. Aşık Veysel Blv. E.Ü. TGB İdare ve Kuluçka
4 Apt. No: 67/3/81
Melikgazi / KAYSERİ

www.5spharma.com
info@5spharma.com;
5spharma.ltd@gmail.com

5S PHARMA
İlaç, Kozmetik, Tıbbi Cihaz
Formülasyon & Ar-Ge & Eğitim-Danışmanlık
Ltd. Şti.

Giriş, Amaç ve Çalışma Hipotezi: Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümörlerden biri olup kadınlarda görülen tüm kanserlerin %30'undan fazlasını oluşturmaktadır. Kanser, hücrenin normal döngüsünü kaybederek, hücre ölüm yollarına duyarsızlaşması ve kontrolsüz şekilde bölünmesidir. Hücre bölünmesinin her aşamasında genetik kontrol mekanizmaları görev alır. Hücreler davranışlarını düzenlemek için kontrol olarak görev yapan ve nasıl davranmaları gerektiğini anlatan karmaşık sinyaller alır, gönderir ve yorumlarlar. Bunun sonucunda her hücre aldığı sinyaller doğrultusunda gerekli zamanda bölünür, farklılaşır, değişimini durdurur veya ölür. Bir mutasyon ya da bozukluk sonrasında kontrol mekanizmalarındaki bir aksaklık ile daha hızlı ve kontrolsüz olarak bölünmeleri durumunda da kanser hücreleri meydana gelir.

Ehrlich asit hücreleri ilk kez 1948 yılında Ehrlich tarafından fare meme dokusunda spontan olarak oluşan bir tümörden izole edilmiş ve günümüze kadar yaygın olarak farklılaşmamış tümör hücreleridir (1). Ehrlich tümör yüksek transplantasyon oranı, hızlı çoğalabilirlik, kısa yaşam döngüsüne sahip, tümöre özgü transplantasyon antijeni bulunmayan malign bir tümördür. Ehrlich tümör primer olarak spontan fare meme adenokarsinomu olarak tanımlanır ve meme kanserini taklit eder (2-5). İn vivo intraperitoneal pasajlanması nedeni ile insan kaynaklı kanser hücre hatlarına göre farklılık göstermektedir. Ehrlich tümör hücreleri ile deney hayvanlarında 2 farklı şekilde model oluşturulabilmektedir. Bunlar, intraperitoneal enjeksiyon ile hücrelerin karnı boşluğunda çoğalması sonucu sıvı asit karsinoma modeli ve subkütan enjeksiyon ile deri altında katı Ehrlich tümör modelidir (6-8). Ehrlich asit hücreleri periton boşluğuna uygulandıklarında uygulamayı takiben iki fazda gelişirler. Bunlardan ilk faz olan proliferasyon fazında hücre sayısı katlanarak hızla artmaktadır. Plato fazında ise hücre sayısı neredeyse sabit kalmaktadır. Proliferasyon fazında hücre sayısı hızla artarken bununla paralel olarak sıvı nitelikte bir sıvı birikmektedir. Periton içine uygulandıklarında hücre ile birlikte sürekli olarak artan sıvı miktarı periton içi basıncı artırmaktadır ve bir süre sonra (genellikle 6-8 gün) bu artan basınç nedeni ile deney fareler ölmektedir. Subkütan uygulamalarda da benzer bir süreç yaşanmasına rağmen deney hayvanı ölümü genellikle olmamaktadır. Plato faza ulaşıldığında ise Ehrlich hücre sayısında belirgin bir azalma meydana gelmez. Bu aşamada tümör dokusu etrafında artan vaskülerizasyon ile birlikte kılcal damarların miktarı artmaktadır (9-11). Bundan dolayı özellikle tümör dokusuna ait analizler gerçekleştirilecek çalışmalarda genellikle Ehrlich tümörün plato faza ulaşması için bir süre (14 gün) beklenilmektedir. Çalışmamızda da 14 gün plato faz süresi olarak kabul edilmiş olup antitümöral etkinlik değerlendirmeleri bu süreler dikkate alınarak yapılmıştır.

Tıbbi bitkiler çok uzun yıllardır halk arasında çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılmaktadır. Eİ-001 için temel teşkil eden bitki 100-170 alt türü bulunan bir bitkidir. Bu bitkiden elde edilen biyolojik olarak aktif ekstre veya moleküller antikanser, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antifungal, antioksidan, karaciğer koruyucu gibi çeşitli konular için araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Çalışmalar bu bitkiden elde edilen ürünlerin faydalı etkilerinde yapılarında bulundurduğu kersetin, kamferol ve hiperosid gibi etkin maddelerin rollerinin olduğunu göstermektedir. Literatürde bulunan çalışmalar bu ve benzer bitki türlerinin çeşitli kanser türlerine karşı faydalı etkilerini göstermektedir (12-14). Bununla birlikte Erciyes İlaç Bitkisel Destek Ürünleri Ar-Ge San. Tic. Ltd. Şti tarafından daha önce gerçekleştirilen ön çalışmalarda Eİ-001'in MCF-7 ve MDA-MB-231 gibi meme kanserinden elde edilmiş hücreler üzerine orta-yüksek düzeyde etkili oldukları tespit edilmiştir. Bundan dolayı bu çalışmada Ehrlich asit hücreleri ile Balb/C farelerde ektopik olarak meme tümörünün indüklenmesi ve bu işlemi takiben hem proliferasyon fazında (0-14 gün) hem de plato fazında (14-28 gün) Eİ-001'in antitümoral etkinliğinin incelenmesi hedeflenmektedir.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmamızda kullanılmak üzere tarafımıza 20 g Eİ-001 isimli bitkisel ekstre teslim edilmiştir. Eİ-001 eskresi %5 Tween 20 ile fizyolojik sıvı (%0,9 NaCl) içerisinde homojen olarak dağıtılmıştır. Çalışmamızda fareler üzerinde gerçekleştirilen tüm deneyler Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Çalışmamız dışı Balb/C fareler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Deney iş akışı ise aşağıda detaylı olarak anlatıldığı işlemlerin kronolojik uygulanması ile gerçekleştirilmiştir. Bunlar sırası ile akut toksisite testi, subakut toksisite testi, Ehrlich asit hücrelerinin çoğaltılması, Ektopik meme tümörünün indüklenmesi ve tedavi algoritmasının uygulanması şeklindedir.

1. Akut toksisite testi: İn vivo ortamda kullanacağımız bitkisel ekstrenin güven aralığının belirlenmesi için deneylere başlamadan önce akut toksisite testi uygulanmıştır. Bu test farelere tek doz ilaç uygulamasından sonraki 24 saat içerisinde ortaya çıkabilecek etkiyi tanımlamaktadır. Akut toksisite testi kısaca şu şekilde uygulanmıştır; Hepsi aynı cinsiyetten olacak şekilde sağlıklı 5'er fareden oluşan 4 grup oluşturuldu (3 grup 3 farklı doz için, 1 grup kontrol olarak kullanılacaktır). Deney hayvanlarına uygulamak üzere dozlar 500 mg/kg, 1000 mg/kg ve 1500 mg/kg olarak seçilmiştir. Hazırlanan madde oraj gavaj yolu ile deney hayvanlarına uygulanmıştır. Maddeler uygulandıktan 24 saat sonra deney hayvanları gözlemlenerek aşağıdaki değerlendirme yapılmıştır (15).

Beşer hayvandan oluşan gruplardan;

- i) Ölen hayvan olmamışsa o dozda eskre toksik değildir.
- ii) 1 hayvan ölmüşse bu grubun deneyi tekrarlanır.
- iii) 1'den fazla hayvan ölmüşse maddemizin kullanılan dozda toksik etkisi vardır.

2. Subakut Toksikite Testi: Eİ-001'in subakut sistemik toksisitesinin incelenmesi amacıyla deney hayvanlarına 150 mg/kg, 300 mg/kg ve 600 mg/kg dozlarında Eİ-001 14 gün boyunca oral yolla uygulanmıştır. Kullanılan dozlarda deney hayvanlarında uygulama süresi boyunca sistemik toksisitenin bir göstergesi olan deney hayvanı ölümü incelenmiştir. Bunun yanında deney hayvanlarının genel sağlık parametreleri (lokomotor aktivite, kilo kaybı, tüy görünüşleri gibi) de rutin olarak kontrol edilmiştir.

3. Farelerde Ehrlich asit hücrelerinin çoğaltılması: Daha önceki çalışmalarda deney hayvanlarından elde edilen ve -80 °C'de bekletilen Ehrlich asit hücreleri dondurucudan çıkarılarak 37 °C'de bulunan su banyosu üzerinde çözünmesi sağlandı. Bir mikropipet vasıtası ile hücreler nazıkçe pipetlenerek homojen bir süspansiyon oluşturuldu. 3 adet farenin periton içine hücre süspansiyonu uygulandı. Periton içine uygulanan hücrelerin tüm deney hayvanlarında tümör indükleyebilecek miktara ulaşması için 5 gün beklendi. Bu süre sonunda bir enjektör ile farelerin periton içine girilerek karın içindeki Ehrlich asit hücre çözeltisi çekildi ve steril bir tüpe alındı.

4. Farelerde Ehrlich asit hücreleri ile deri altı meme tümörünün indüklenmesi: Daha önce kısıtlı deney hayvanında periton içinde çoğaltılmış ve steril bir tüpe alınmış hücre süspansiyonundaki hücre sayısı hücre sayım cihazları ile otomatik olarak sayıldı. Her bir deney hayvanının deri altına 2×10^6 hücre enjekte edilerek deney hayvanlarının uygun şekilde etiketleme ve gruplama işlemleri gerçekleştirildi.

5. Deney grupları, tedavi protokolü ve tümör büyüklüğünün takibi: Çalışmamızda Ehrlich asit hücrelerinin in vivo çoğaltılmasında 3, in vivo tümör indükleme modelinde 36, akut toksisite testinde 20 adet olmak üzere toplamda 59 adet dişi (12 hafta ve üzeri) Balb/C fare kullanılmıştır. Bunlardan 3 tanesinde daha önce anlatmış olduğumuz protokole göre hücrelerin periton içinde çoğaltılması sağlanmıştır. Çalışma gruplarımız ise kendi içlerinde profektik (önleyici) ve tedavi edici etkinliklerin değerlendirildiği iki alt çalışmaya ayrılmaktadır. Bu alt çalışmaların her biri Ehrlich asit hücresi + serum

fizyolojik, Ehrlich asit hücresi + 300 mg/kg Eİ-001 ve 600 mg/kg Eİ-001 olmak üzere 3 gruptan oluşmaktadır (n=6).

Deney planı 1 (Proflaktik uygulama, 0-14 gün): Bu deney planında gün 0 olarak kabul edilen başlangıç gününde deri altı ektopik tümör indüklenmesi yapılmıştır. Deney hayvanlarına gün 0'dan başlamak üzere 14 gün boyunca günlük olarak serum fizyolojik, 300 mg/kg ekstre ve 600 mg/kg ekstre oral gavaj yoluyla (1 ml/100 g) uygulanmıştır. Bu süre boyunca tümör büyüklükleri dijital kumpas ile dışarıdan ölçülerek tümör boyutundaki değişiklikler kaydedilmiştir. 14 günün sonunda fareler eter anestezisi altında servikal dislokasyon tekniği ile sakrifiye edilerek tümör dokuları çıkarılmıştır. Çıkarılan tümör dokusunun hem ağırlığı hem de hacmi hesaplanmıştır. Bunun ardından tümör dokularında ileri moleküler analizlerin gerçekleştirilmesi için tümör dokuları -80 °C dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Deney planı 2 (Tedavi uygulaması, 14-28 gün): Tedavi edici etkinliğin incelendiği bu deney planında Ehrlich asit hücreleri ile tümör indüklemesini takiben 14 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmamış ve tümör boyutlarının maksimuma ulaşması sağlanmıştır. Bu süre boyunca farelere günde 1 kez serum fizyolojik, 300 mg/kg ekstre ya da 600 mg/kg ekstre oral gavaj yoluyla (1 ml/100 g) uygulanmıştır. 14 günün sonunda fareler eter anestezisi altında servikal dislokasyon tekniği ile sakrifiye edilmiş ve tümör dokuları çıkarılmıştır. Çıkarılan tümör dokusunun hem ağırlığı hem de hacmi hesaplanmıştır. Bunun ardından tümör dokularında ileri moleküler analizlerin gerçekleştirilmesi için tümör dokuları -80 °C dondurucuda muhafaza edilmiştir.

6. İstatistiksel Analizler: İstatistiksel analizler Graph Pad Prism 8.0 ile gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile gerçekleştirilmiş olup post hoc test olarak Dunnett testi kullanılmıştır.

Bulgular

Akut Toksikite Testi: Eİ-001'in toksik etkilerinin incelendiği akut toksisite testinde deney hayvanlarına 500 mg/kg, 1000 mg/kg ve 1500 mg/kg dozlarında Eİ-001 uygulanmıştır. 24 saatlik süre sonunda 500 mg/kg ve 1000 mg/kg dozlarında deney hayvanlarında ölüm görülmezken 1500 mg/kg dozunda 3/5 deney hayvanında ölüm görülmüştür. Bu bulgular 500 mg/kg ve 1000 mg/kg dozlarındaki Eİ-001'in akut uygulamalarının toksik bir etki oluşturmazken 1500 mg/kg dozunun akut sistemik toksisiteye neden olduğunu göstermektedir.

Subakut Toksikite Testi: Eİ-001'in subakut sistemik toksisitesinin incelenmesi amacıyla deney hayvanlarına 150 mg/kg, 300 mg/kg ve 600 mg/kg dozlarında Eİ-001 14 gün boyunca oral yolla uygulanmıştır. Kullanılan dozlarda deney hayvanlarında uygulama süresi boyunca toksik etki gözlemlenmemiştir. Deney hayvanlarının genel sağlık kontrollerinde (lokomotor aktivite, tüy görünüşleri gibi) herhangi bir değişiklik görülmemiştir.

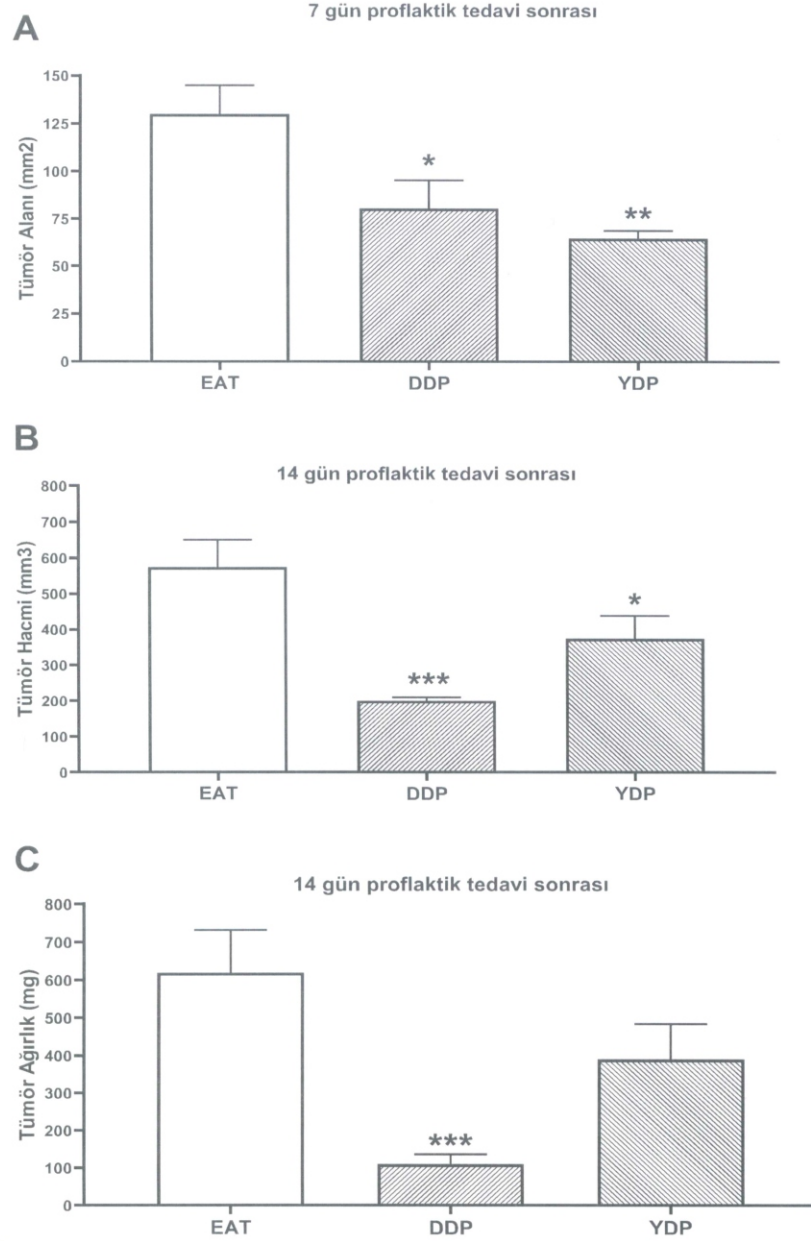
Tablo 1. Akut ve subakut toksisite testlerinde LD50 değerleri

Test	LD50 değeri	Mortalite (x/5)
Akut Toksikite	<1500 mg/kg/gün	0: 500 mg/kg 0: 1000 mg/kg 3: 1500 mg/kg
Subakut Toksikite (14 gün)	>600 mg/kg/gün	0: 150 mg/kg 0: 300 mg/kg 0: 600 mg/kg

Deney Planı 1 (Proflaktik Uygulama, 0-14 gün): Eİ-001'in proflaktik uygulamasının Ehrlich asit tümörü üzerine etkisinin incelenmesi amacı ile tümör indüklemesi ile birlikte 14 gün boyunca deney hayvanlarına düşük doz (300 mg/kg) ve yüksek doz (600 mg/kg) Eİ-001 uygulanmıştır. Tedavinin yedinci gününde tümör büyüklükleri dışarıdan ölçülerek tümör alanı hesaplandığında hem düşük doz

($p<0.05$) hem de yüksek doz ($p<0.01$) profilaktik uygulamanın tümör alanını istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde azalttığı tespit edilmiştir (Şekil 1A, Şekil 2). Bunun yanında 14 günlük profilaktik uygulama sonrasında tümör hacmini hem düşük doz ($p<0,001$) hem de yüksek doz ($p<0,05$) uygulamanın azalttığı görülmüştür (Şekil 1B, Şekil 3). Tümör ağırlıkları incelendiğinde ise düşük doz profilaktik uygulamanın anlamlı bir azalma ($p<0,001$) sağlarken yüksek doz profilaksi uygulamasının azalma eğilimi sağlamasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı bir değişim oluşturmadığı görülmüştür (Şekil 1C).

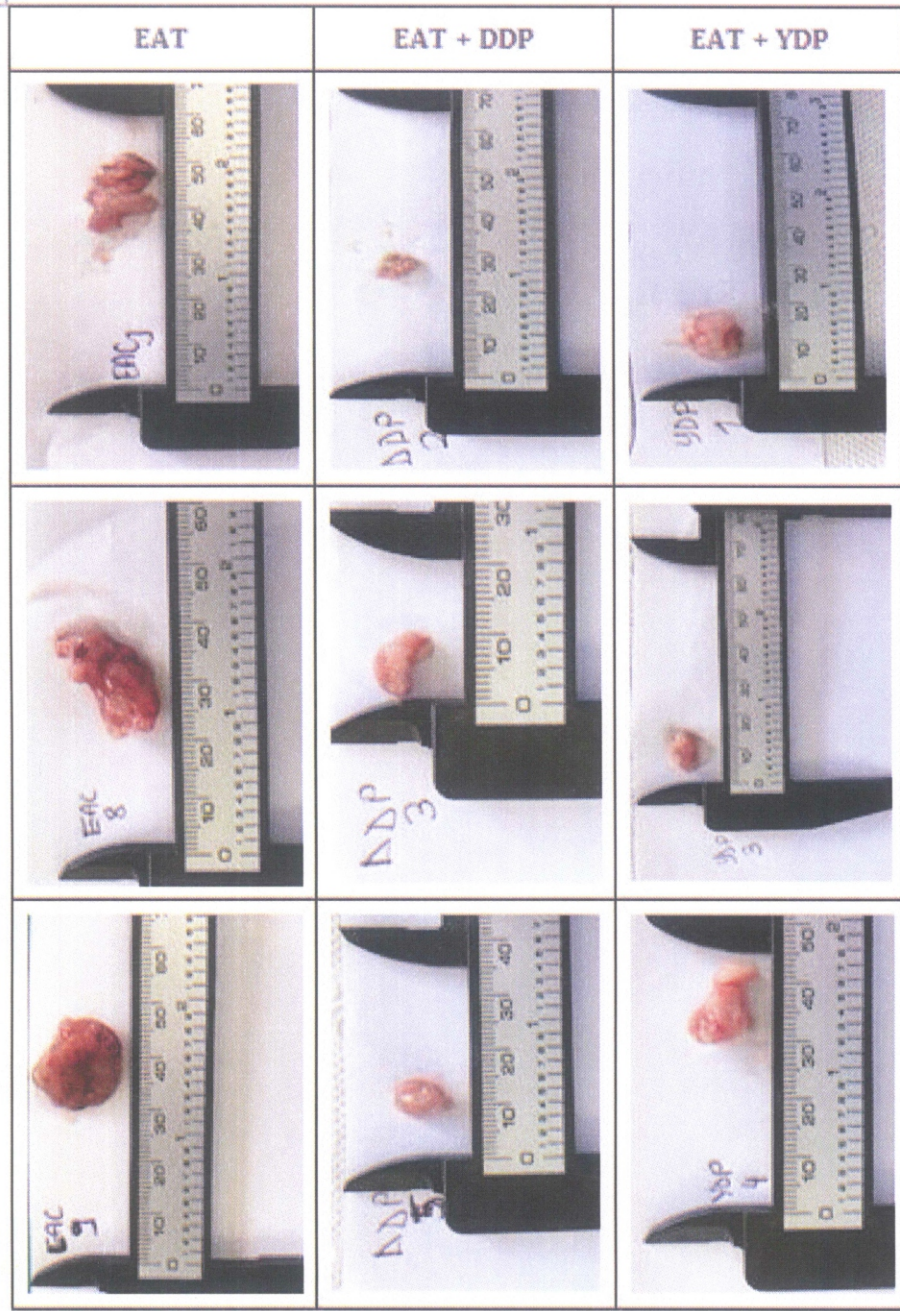
Deney Planı 2 (Tedavi Uygulaması, 14-28 gün): Deney hayvanlarında Ehrlich asit tümörü indüklenmesini takiben tümörün plato faza eriştiği kabul edilen on dördüncü gün tedavi amacı ile 14 gün düşük doz (300 mg/kg) ve yüksek doz (600 mg/kg) Eİ-001 uygulanmıştır (14-28. Gün). 14 gün boyunca uygulanan düşük doz ($p<0.05$) ve yüksek doz ($p<0.01$) tedavilerin tümör alanının küçülmesinde etkili olduğu görülmüştür (Şekil 4A, Şekil 5). Bununla birlikte tümör hacimleri ölçüldüğünde de hem düşük doz tedavi ($p<0.05$) hem de yüksek doz tedavinin ($p<0.01$) tümör hacimlerini Ehrlich asit tümör grubuna kıyasla azalttığı tespit edilmiştir (Şekil 4B, Şekil 6). Tümör ağırlıklarında her iki tedavi grubunun da ciddi bir düşüş eğilimi oluşturmamasına rağmen bu eğilimin istatistiksel anlamlılığı yakalayamadığı görülmüştür (Şekil 4C).



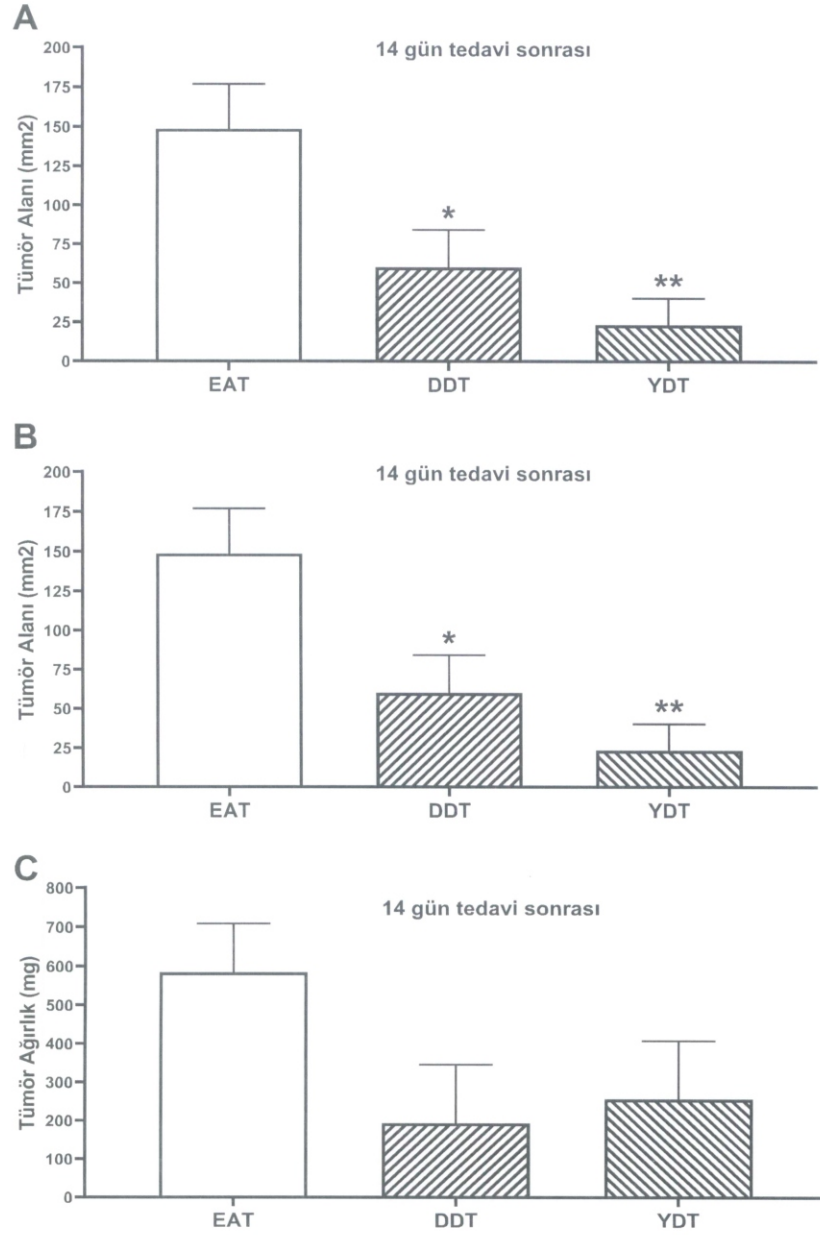
Şekil 1. Profilaktik tedavi olarak uygulanan Eİ-001'in tümör alanı (A), tümör hacmi (B) ve tümör ağırlığı (C) üzerine etkileri. Veriler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur. İstatistiksel analizler tek yönlü varyans analizi ve Dunnett'in post hoc testi ile gerçekleştirilmiştir. EAT grubu ile kıyaslandığında *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ ve ***: $p < 0.001$ 'dir.



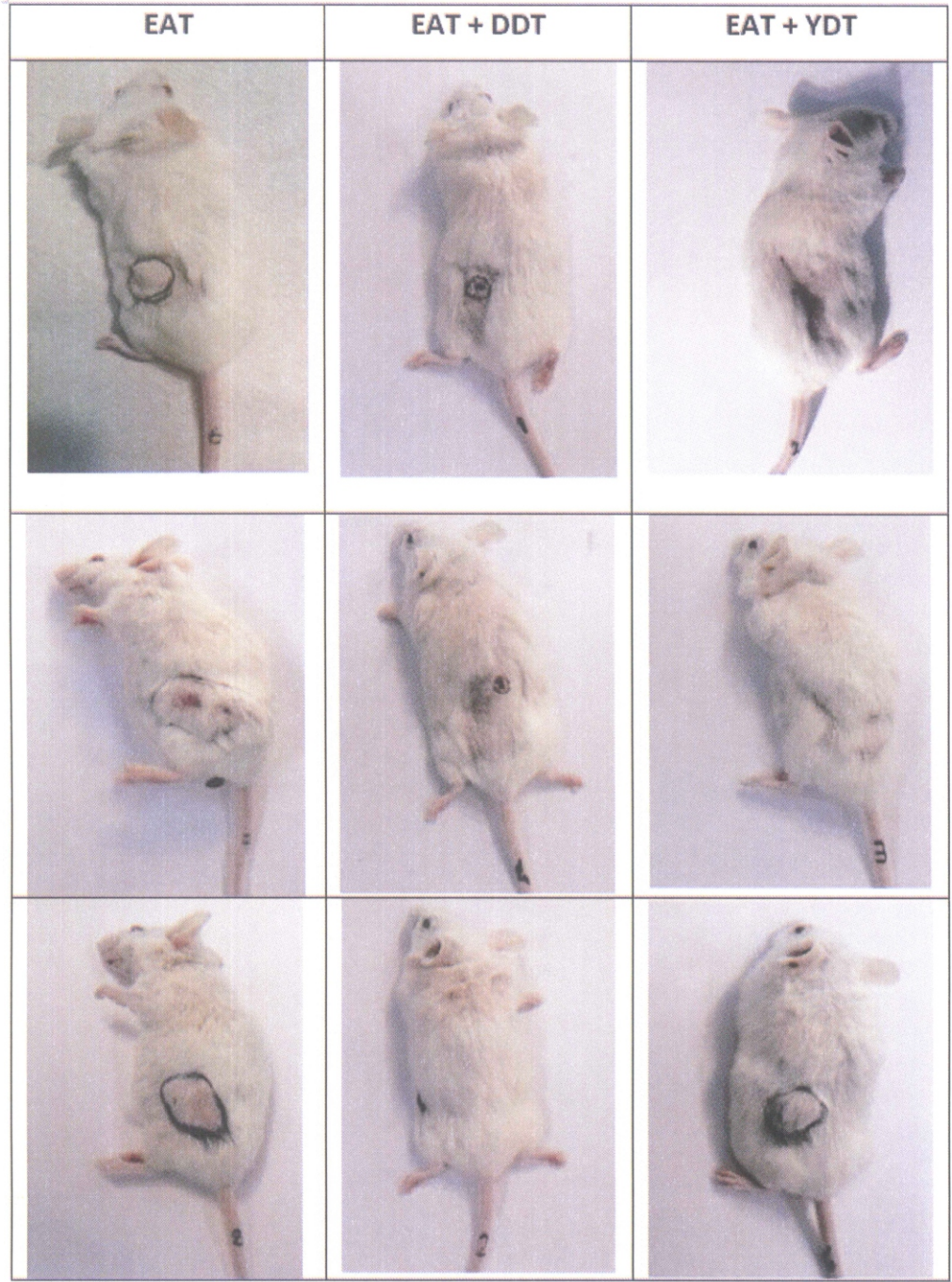
Şekil 2. Ehrlich asit tümör (EAT) indüklenmiş farelerde düşük doz (DDP) ve yüksek doz (YDP) profilaksi uygulamasının tümör alanı üzerine etkilerini gösteren görseller



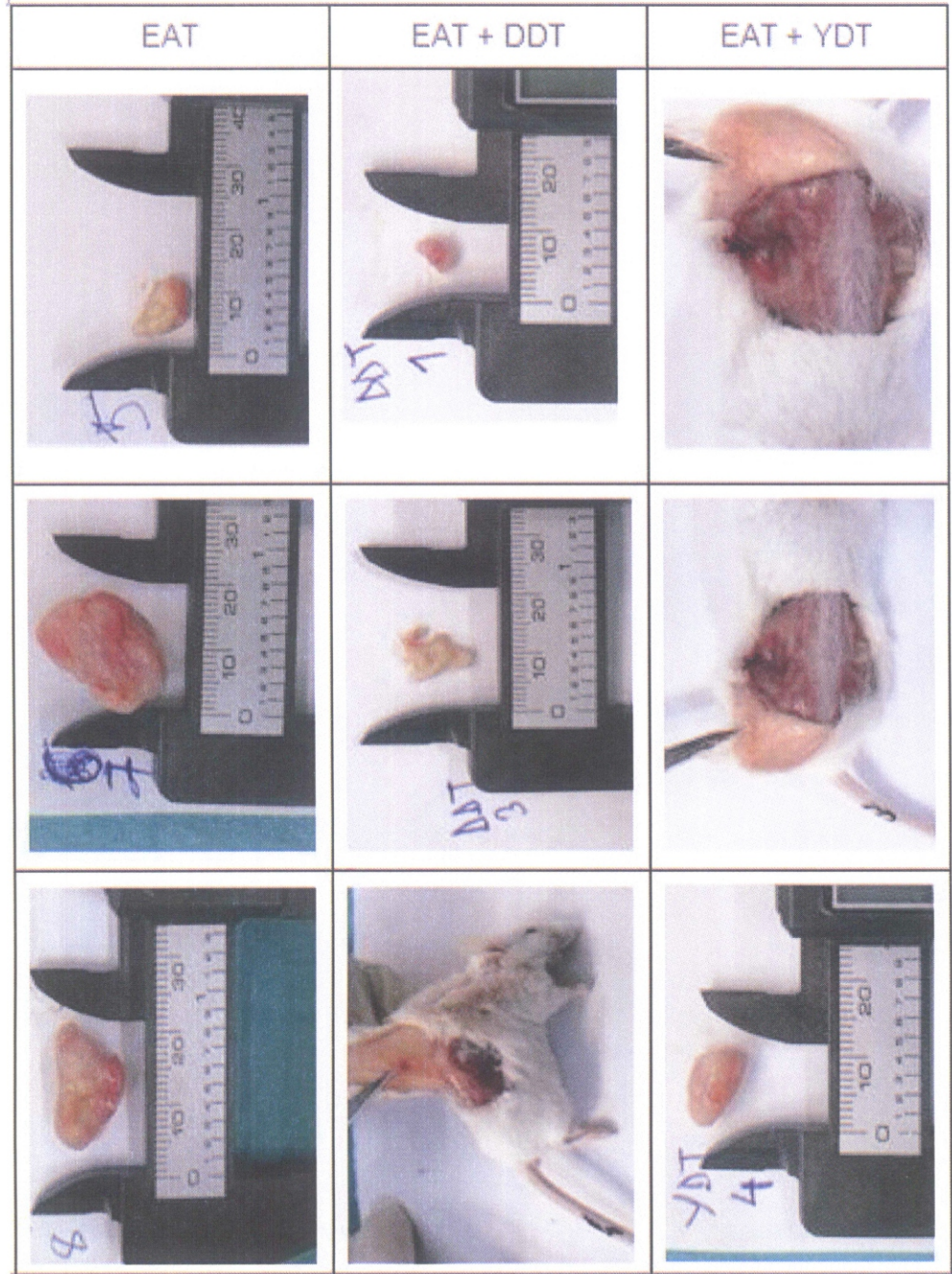
Şekil 3. Ehrlich asit tümörü (EAT) indüklenmiş farelerde 14 günlük profaksi uygulaması sonrası düşük doz (DDP) ve yüksek doz (YDP) profaksi uygulamasının tümör büyüklüğü üzerine etkileri



Şekil 4. Tedavi olarak uygulanan Eİ-001'in tümör alanı (A), tümör hacmi (B) ve tümör ağırlığı (C) üzerine etkileri. Veriler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur. İstatistiksel analizler tek yönlü varyans analizi ve Dunnett'in post hoc testi ile gerçekleştirilmiştir. EAT grubu ile kıyaslandığında *: $p<0.05$, **: $p<0.01$ ve ***: $p<0.001$ 'dir.



Şekil 5. Ehrlich asit tümör (EAT) indüklenmiş farelerde düşük doz (DDT) ve yüksek doz (YDT) tedavi uygulamasının tümör alanı üzerine etkilerini gösteren görseller



Şekil 6. Ehrlich asit tümörü (EAT) indüklenmiş farelerde 14 günlük tedavi uygulaması sonrası düşük doz (DDT) ve yüksek doz (YDT) tedavi uygulamasının tümör büyüklüğü üzerine etkileri

Sonuç ve Yorum: Mevcut çalışmada Ehrlich asit hücreleri ile farelerde deneysel olarak katı meme tümörü modeli oluşturulmuş ve hem tümör indüklemesinin ilk gününden başlamak üzere 14 gün boyunca uygulanan Eİ-001 ile proliferatif fazdaki proflaktik (önleyici) etki hem de tümörün plato faza ulaştığı 14. gün itibari ile uygulamaya başlanan Eİ-001 ile tedavi edici etki incelenmiştir. Bunun yanında çalışmaya başlamadan önce uygulanan akut ve subakut toksisite testleri ile de Eİ-001'in tek ve tekrarlayan uygulamalarda toksik olmayan dozları tespit edilerek çalışmada kullanılacak olan dozlar belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarımız Eİ-001 tek doz uygulamasının 1000 mg/kg dozuna kadar deney hayvanlarında akut sistemik toksisiteye neden olmadığı fakat 1500 mg/kg dozunda akut sistemik toksisiteye neden olduğunu göstermiştir. Tekrarlayan dozlarda ise 600 mg/kg'a kadar belirgin bir sistemik toksisitesinin olmadığı görülmüştür. Bundan dolayı çalışmamızda Eİ-001'in kronik uygulamadaki birikimli etkisi de göz önünde bulundurularak 300 mg/kg ve 600 mg/kg dozları tercih edilmiştir. Antitümöral etkinliğin bir göstergesi olarak deney hayvanları canlı iken tümör büyüklükleri dışarıdan dijital kumpas aracılığı ile ölçülmüş ve tümör alanları hesaplanmıştır. Bunun yanında tümör boyutlarının daha net incelenmesi amacı ile proflaktik uygulamanın son günü (14. gün) ve tedavi uygulamasının son günü (28. gün) tümör dokuları cerrahi yöntemlerle çıkarılarak tümörlerin hacimleri ve ağırlıkları ölçülmüştür. Bulgularımız proflaktik uygulamanın ilk 7 günde tümör büyümesini Eİ-001 uygulanmayan gruba göre anlamlı derecede yavaşlattığını göstermektedir. 14 günün sonunda proflaktik Eİ-001 uygulaması hem düşük dozda (300 mg/kg) hem yüksek dozda (600 mg/kg) tümör grubuna göre daha düşük tümör hacimleri sağlayarak antitümöral etkinlik göstermiştir. Bunun yanında düşük doz Eİ-001 tümör ağırlıklarında önemli azalmalar meydana getirirken yüksek doz Eİ-001 de azalma eğilimi oluşturmuştur. Farelerdeki tümörler plato faza ulaştıktan sonra uygulanmaya başlanılan Eİ-001 tedavisi de proflaktik uygulamaya paralel olarak tümör alanı ve tümör hacminde ciddi bir azalma meydana getirmiştir. Elimizdeki veriler birlikte değerlendirildiğinde Erciyes İlaç Bitkisel Destek Ürünleri Ar-Ge San. Tic. Ltd. Şti tarafından firmamıza teslim edilen Eİ-001 isimli ürünün hem Ehrlich asit tümör hücrelerinin hızlı çoğaldığı proliferatif fazda proflaktik olarak hem de tümör boyutunun en büyük değerlere ulaştığı plato fazında antitümöral etkinlik gösterdiği açıkça görülmektedir. Translasyonel bir bakış açısı ile çalışma sonuçları Eİ-001 isimli ürünün hem kanser hücrelerinin hızlı çoğalma gösterdiği erken evre meme kanserlerinde hem de tümörlerin yaygınlaşarak yüksek boyutlara ulaştığı daha geç evre meme kanserlerinde ümit vaad edebileceğini düşünülmektedir. Bunların yanında Eİ-001'in güvenilirliği toksikolojik açıdan ele alındığında tek doz

uygulamanın farelerde 1000 mg/kg, tekrarlayan doz uygulamaların da 600 mg/kg doza kadar güvenli olduğu çalışmamız ile gösterilmiştir.

Sonuç olarak mevcut çalışma ile Eİ-001'in farelerde Ehrlich asit hücreleri ile oluşturulan katı meme tümörü modelinde belirgin bir antitümöral aktivitesinin bulunduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında antitümöral etki saptanan dozlarda Eİ-001'in akut ve subakut dönemde sistemik toksisitesi bulunmamıştır. Bu bulgularımız kadın kanserleri arasında ilk sırada gelen ve kansere bağlı ölümlerin önemli bir kısmını oluşturan meme kanserinin radikal tedavisinde Eİ-001'in ümit vaad ettiğini göstermektedir.

Kaynaklar

1. Ehrlich Cells (Molecular Biology)". what-when-how.com. Erişim Tarihi 2020-07-31.
2. Esteves-Souza A, Silva TM, Alves CCF, Carvalho MGD, Braz-Filho R, Echevarria A. Cytotoxic activities against Ehrlich carcinoma and human K562 leukaemia of alkaloids and flavonoid from two Solanum species. Journal of the Brazilian Chemical Society. 2002;13(6):838-842.
3. El-Wahab SMA, Fouda FM. Histological and histochemical study on the effect of Ehrlich ascites carcinoma on the liver and kidney of mice and the possible protective role of tetrodotoxin. Egyptian Journal of Biology. 2009;11:13-25.
4. Jaganathan SK, Mondhe D, Wani ZA, Pal HC, Mandal M. Effect of honey and eugenol on Ehrlich ascites and solid carcinoma. BioMed Research International; 2010.
5. Mishra S, Tamta AK, Sarikhani M, Desingu PA, Kizkekra SM, Pandit AS, Kumar S, Khan D, Raghavan SC, Sundaresan NR. Subcutaneous Ehrlich ascites carcinoma mice model for studying cancer-induced cardiomyopathy. Scientific Reports. 2018; 8(1):1-11.
6. Frajacomio FTT, de Souza Padilha C, Marinello PC, Guarnier FA, Cecchini R, Duarte JAR, Deminice R. Solid Ehrlich carcinoma reproduces functional and biological characteristics of cancer cachexia. Life Sciences. 2016;162:47-53.
7. Dhamija I, Kumar N, Manjula SN, Parihar V, Setty MM, Pai KSR. Preliminary evaluation of in vitro cytotoxicity and in vivo antitumor activity of Premna herbacea Roxb. in Ehrlich ascites carcinoma model and Dalton's lymphoma ascites model. Experimental and Toxicologic Pathology. 2013;65(3):235-242.
8. El-Masry TA, Al-Shaalan NH, Tousson E, Buabeid M, Alyousef AM. The therapeutic and antineoplastic effects of vitamin B17 against the growth of solid-form Ehrlich tumours and the associated changes in oxidative stress, DNA damage, apoptosis and proliferation in mice. Pak. J. Pharm. Sci. 2019;32(6):2801-2810.
9. De Fátima Pereira A, da Costa VM, Santos MCM, Pinto FCH, Da Silva GR. Evaluation of the effects of methotrexate released from polymeric implants in solid Ehrlich tumor. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2014;68(3):365-368.
10. Kabeer FA, Rajalekshmi DS, Nair MS, Prathapan R. In vitro and in vivo antitumor activity of deoxyelephantopin from a potential medicinal plant Elephantopus scaber against Ehrlich ascites carcinoma. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2019;19: 101106.

11. Agrawal SS, Saraswati S, Mathur R, Pandey M. Antitumor properties of Boswellic acid against Ehrlich ascites cells bearing mouse. Food and Chemical Toxicology. 2011;49(9):1924-1934.
12. Bu kaynak Erciyes İlaç Bitkisel Destek Ürünleri Ar-Ge San. Tic. Ltd. Şti isteği üzerine gizlenmiştir. Talep edilmesi durumunda ayrıca bildirilecektir.
13. Bu kaynak Erciyes İlaç Bitkisel Destek Ürünleri Ar-Ge San. Tic. Ltd. Şti isteği üzerine gizlenmiştir. Talep edilmesi durumunda ayrıca bildirilecektir.
14. Bu kaynak Erciyes İlaç Bitkisel Destek Ürünleri Ar-Ge San. Tic. Ltd. Şti isteği üzerine gizlenmiştir. Talep edilmesi durumunda ayrıca bildirilecektir.
15. Abnormal Toxicity, European Pharmacopoeia 7.0, p.162.