

# Skualen: Biyolojik Etkileri ve Uygulama Alanları: Geleneksel Derleme

## Squalene: Biological Effects and Applications: Traditional Review

Ahsen Sevde ÇINAR<sup>a,b</sup>, Özge YILMAZ<sup>b</sup>, Alev ÖNDER<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Lokman Hekim Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi/Farmasötik Botanik ABD, Ankara, TÜRKİYE

<sup>b</sup>Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi ABD, Ankara, TÜRKİYE

**ÖZET** Doğal kaynaklardan elde edilen ham maddeler; fitokimyasal yapıları ve biyolojik aktiviteleri ile her zaman ilgi çekici olmuştur. Bu ham maddeler, hem hayvanlardan hem de bitkilerden elde edilmekte olup, farklı yapı ve özellikte olmaktadır. Triterpenler de doğada bulunan önemli bir grup sekonder bileşiklerdir. Triterpen yapısında olan "skualen"; insanlar, hayvanlar ve bitkiler tarafından sentezlenebilen biyosentetik bir ara üründür. Skualen, yapısal olarak 6 izoprenmolekülünden oluşan ve 6 çift bağ bulunan, 30 karbonlu doymamış bir hidrokarbon, izoprenoit yapısına sahip, triterpenler sınıfında yer alan lipofilik bir biyomolekül, kokusuz, renksiz sıvı bir yağ olarak tanımlanmaktadır. Bu bileşik, ilk defa, Squalidae familyasına ait bir köpek balığının karaciğer yağından izole edildiği için, familyasına atfen "Skualen" ismini almıştır. Daha sonraları pek çok bitkide de bulunduğu tespit edilmiştir. Hem doğal hem de sentetik yöntemlerle üretilen bu metabolit, sahip olduğu önemli etkiler sebebiyle özellikle kozmetik, ilaç ve diğer farmasötik alanlarda oldukça yaygın kullanılmaktadır. Skualen, emilim ve dağılım veriminin yüksek olması, farklı yollarla uygulandığı zaman vücut tarafından iyi tolere edilebilmesi, toksisite profilinin güvenilir olması sebebiyle farklı alanlarda ve birden fazla uygulama yöntemine sahiptir. Özellikle terapötik uygulamalarda farklı şekillerde kullanımı bulunan bu bileşiğin, tarihçesi, elde edildiği kaynakları, etkileri ve kullanım alanları, bu derleme ile birlikte değerlendirilmiş olup; detaylı literatür incelemesinin ardından kapsamlı bir şekilde sunulmuştur. Bu bilgiler ışığında, skualen hakkında genel bilgilerin yanı sıra kozmetik ve farmasötik alanda kullanımına ve üretimine yönelik tüm bilgiler, bu derlemede sunulacak ve böylece bu konuya dair yeni bir pencere açılacaktır.

**ABSTRACT** Raw materials obtained from natural resources have always been fascinating with their phytochemical structures and biological activities. These raw materials are obtained from animals and plants and have different forms and properties. Triterpenes are an important group of secondary compounds found in nature. Squalene, a triterpene structure, is a biosynthetic intermediate that humans, animals, and plants can synthesize. Squalene is defined as a 30-carbon unsaturated hydrocarbon with six double bonds, structurally composed of 6 isoprene molecules and a lipophilic biomolecule with an isoprenoid structure. It is an odorless, colorless liquid oil. Because this compound was first isolated from the shark's liver oil belonging to the Squalidae family, it was named "Squalene" as a reference to its family. The squalene, produced by both natural and synthetic methods, is widely used in cosmetics, medicine, and other pharmaceutical fields due to its important effects. Squalene has more than one application method in different areas due to its high absorption and distribution efficiency, well tolerated by the body when applied in different ways, and its reliable toxicity profile. In this review, this compound's history, sources, effects, and usages, especially in therapeutic applications, have been evaluated and debated comprehensively after a detailed literature screening. In light of this information and general information about squalene, all data about its use and production in cosmetics and pharmaceutical fields will be presented in this review, thus opening a new window on this subject.

**Anahtar Kelimeler:** Skualen; triterpen; antioksidan; antikanser; adjuvan

**Keywords:** Squalene; triterpene; antioxidant; anticancer; adjuvant

Terpenler, 30.000'den fazla kimyasal yapıya ve fonksiyona sahip olan sekonder metabolitlerin bir grubu olarak bilinmektedir.<sup>1</sup> Skualen, C<sub>30</sub>H<sub>50</sub> kapalı formülü ile bilinen, "(E)-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene" kimyasal ismi ile yapısal olarak 6 izopren biriminden oluşan, 6 çift

bağı bulunan, 30 karbonlu doymamış bir hidrokarbon ve izoprenoid yapısına sahip, triterpenler sınıfında yer alan lipofilik bir biyomolekül, kokusuz, renksiz sıvı bir yağ olarak tanımlanmaktadır (Şekil 1).<sup>2-4</sup> Bu bileşik, ilk defa Squalidae familyasına ait bir köpek balığının (*Squalus mitsukurini*) karaciğer yağından izole

**Correspondence:** Ahsen Sevde ÇINAR

Lokman Hekim Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi/Farmasötik Botanik ABD, Ankara, TÜRKİYE/TURKEY

**E-mail:** ahsen.cinar@lokmanhekim.edu.tr



Peer review under responsibility of Journal of Traditional Medical Complementary Therapies.

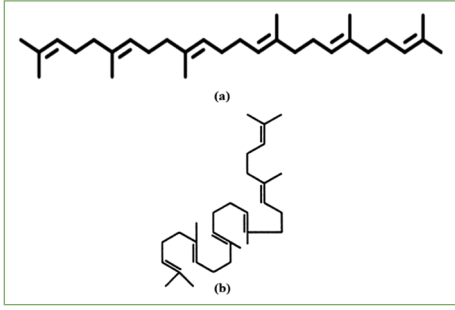
**Received:** 25 May 2021

**Received in revised form:** 12 Sep 2021

**Accepted:** 13 Sep 2021

**Available online:** 24 Sep 2021

2630-6425 / Copyright © 2021 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



ŞEKİL 1: Skualenin yapısı: a) Düzlemsel yapısı; b) Halkalı formu ile yapısal formülü.

edildiği için familyasına atfen “skualen” ismini almıştır.<sup>5</sup> Daha sonraları pek çok bitkide de bulunduğu tespit edilmiştir.<sup>4</sup> Skualenin bitkilerdeki rolü incelendiğinde, doymamış lipidlerin hücre zarlarındaki difüzyonunu ve dinamik membran organizasyonunu düzenlediği görülmektedir.<sup>6</sup> Bu derlemede, skualen hakkında detaylı ve geniş bilgiler, bilimsel yayınlar incelenerek sunulmuştur. Skualen ile ilgili veri tabanları (PubMed, ScienceDirect, Google Scholar vb.) tarandığında çok fazla çalışmaya rastlanmaktadır. Burada kazanılan bilgiler derlenerek çalışma tamamlanmıştır.

## TARİHÇE

İlk olarak 1906 yılında Tokyo Endüstriyel Test İstasyonunda yağlar üzerinde uzman olarak çalışan Japon endüstri mühendisi ve araştırmacı Dr. Mitsumaru Tsujimoto tarafından izole edilmiş olan skualen, 10 yıl aranın ardından tanımlanabilmiştir.<sup>7</sup> Daha sonraları Samedawa tarafından bu bileşiğin, yüksek oranda doymamış bağlar içerdiği tespit edilmiş ve 1930 yılında skualenin sağlık üzerine yararlı etkileri konusunda birçok çalışma yapılmıştır. Nobel ödüllü araştırmacı Paul Karrer tarafından 1936 yılında skualenin biyokimyasal yapısı tanımlanmıştır. Skualenin, insan vücudunda bulunduğu ise 1963 yılında yapılan araştırmalar sonucunda keşfedilmiştir.<sup>8</sup>

## BİYOSENTEZ

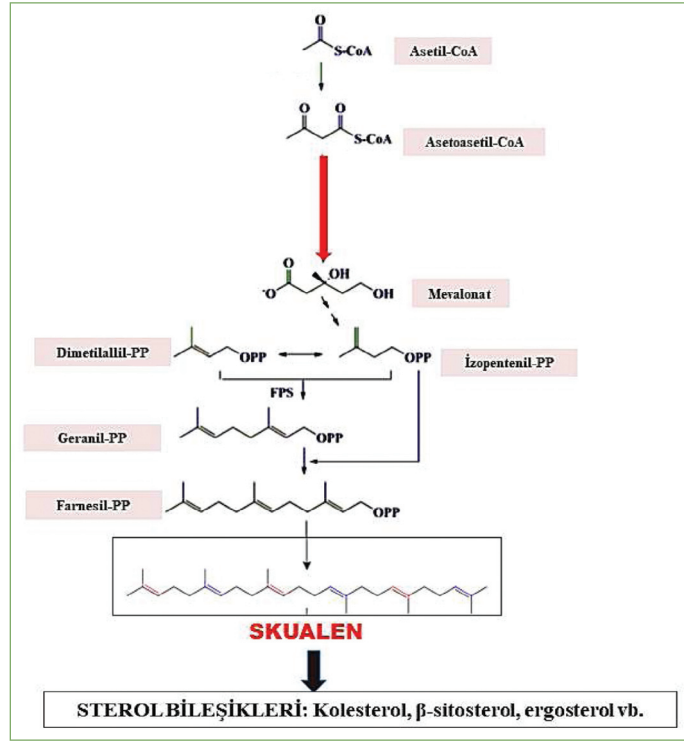
Skualen; tüm insanlar, hayvanlar ve bitkiler tarafından sentezlenebilen kolesterol ve fitosterol gibi maddelerin biyosentezinde kullanılan bir ara ürün olarak bilinmekte olup, hayati önem taşımaktadır.<sup>4</sup> Kolesterol biyosentezinin bir aracı olan skualen, yalnızca me-

valonik asit veya 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfat yolları ile doğal olarak oluşan, yüksek oranda doymamış bir triterpenik hidrokarbon bileşiğidir.<sup>9</sup> Doğal olarak skualenin mevalonat yolağı ile sentezi, 2 asetil koenzim A'nın (asetil-CoA) birleşerek, “asetoasetil-CoA” oluşturması ile başlamaktadır (Şekil 2). Skualenin oluşumu, Şekil 2’de kısaca özetlenmektedir.<sup>3,10</sup>

Konakçı olarak *Saccharomyces cerevisiae* ve *Escherichia coli* gibi mikroorganizmalar kullanılarak skualenin kombine biyosentezi, yeni uygulamalar arasında göze çarpmaktadır.<sup>11,12</sup>

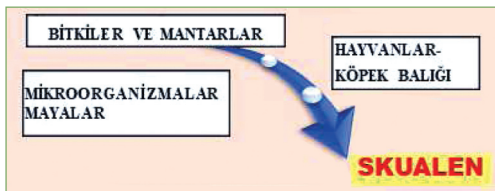
## SKUALEN KAYNAKLARI VE İZOLASYON YÖNTEMLERİ

Skualen eldesi için hayvanlar, bitkiler ve sentetik yollar olmak üzere 3 önemli kaynak bulunmaktadır. Bitkiler, hayvanlar, mikroorganizmalar, maya ve mantarlar bu bileşiği içeren doğal kaynaklar arasında yer almaktadır (Şekil 3).<sup>3,7,9</sup> Skualenin ana kaynağı, toplam yağın %79’unu içeren ve lipidler açısından zengin olan deniz hayvanlarının karaciğeri olarak belirtilmektedir. Bu deniz hayvanlarının, basıncın çok yüksek olduğu derin sularda hayatta kalabilmesi için bu yağlı maddelerin önemli olduğu düşünülmektedir. Bitkisel kaynaklı skualeni incelediğimizde; zeytinyağı (564 mg/100 g), soya yağı (9,9 mg/100 g), pirinç, buğday tohumu, üzüm çekirdeği yağı (14,1 mg/100 g), yer fıstığı (27,4 mg/100 g), mısır ve horozibiği (5.942 mg/100 g) skualen bakımından en önemli kaynaklar olarak gösterilmektedir. Zeytinin, ticari olarak skualen eldesinde kullanılan başlıca bitkisel kaynak olduğu da bilinmektedir. Zeytinyağındaki skualen içeriği, diğer yağlara ve insan diyet yağlarına kıyasla daha yüksek oranda bulunmaktadır.<sup>2</sup> Skualen, ayrıca insan vücudunda da bulunmakta, sebum (%12), epidermis (<%0,5) ve yüzey lipidlerinin (%10) bileşenlerinden birisi olarak bilinmektedir. Karaciğer tarafından sentezlenir ve büyük ölçüde yağ bezlerinden salgılanır.<sup>7</sup> Salgılanan skualen miktarı, bireye ve diyetlerine bağlı olarak günde 125-475 mg arasındadır.<sup>9</sup> Özellikle cildin korunması amacıyla yağ bezleri tarafından salgılanmakta olup; cilt yüzeyinde 300-500 µg/g konsantrasyonda lipidlerin %10-15’ini oluşturacak şekilde bulunmaktadır. Karaciğer ve ince bağırsakta ise 75 µg/g’den daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu belirtilmektedir.<sup>13</sup>

ŞEKİL 2: Skualenin doğal biyosentezi.<sup>3</sup>

Günümüzde sağlık, kozmetik ve gıda endüstrisinde yaygın kullanımı olan skualenin üretimi oldukça önemlidir. Biyoteknolojik yaklaşımlar, skualenin endüstriyel üretimi için farklı yöntemler geliştirilmesini sağlamıştır. Ancak mikroorganizmalar kullanılarak elde edilen skualen veriminin, bitkilere kıyasla düşük olduğu bulunmuştur. Zeytinyağı deodorizasyon distilatı, bu anlamda en fazla miktarda skualen içeren distilatıdır. Diğer skualen kaynağı, soya fasulyesi yağı rafinasyonunun deodorizasyon adımında elde edilen bir yan ürün olan soya fasulyesi yağı deodorant ürünüdür. Kısaca *Olea europaea* (zeytin), *Amaranthus* sp. (horozibiği), *Glycine max* (soya), *Zea mays* (mısır) skualen kaynakları olarak bilinmektedir.<sup>6,7</sup> Bununla birlikte bitkilerden elde edilen skualen miktarı, bitki türüne, hasat mevsimine, hasat sonrası koşullara, eks-

traksiyon yöntemine ve ekstraksiyon sonrası fiziko-kimyasal işlemlere bağlı olarak değişmektedir. Skualen, bitkisel yağların doğrudan distilasyonu, organik çözücülerle ekstraksiyon ve mekanik basınç yöntemleriyle elde edilebilmektedir. Ancak skualen, doymamış zinciri nedeniyle ısıya dayanıksız olduğundan doğrudan distilasyon, skualen elde etmek için uygun bir yöntem değildir. Bitki yağlarının mekanik presleme ile elde edilmesi maksimum %80 verimle sonuçlanırken, kimyasal ekstraksiyon (çözücüler kullanılarak) ile verim %98'den bile fazla olabilir. Ayrıca kimyasal ekstraksiyon durumunda kalan artığın %0,5'ten az olduğu da belirtilmiştir.<sup>7</sup> Hekzan gibi toksik çözücülerin kullanılmasından ve yağın uzun süre yüksek sıcaklıklara maruz kalmasından kaçınmak için günümüzde "green teknoloji", süperkritik sıvı ekstraksiyonu tercih edilmektedir. Bu yöntemin dezavantajı ise ekipmanın yüksek maliyeti, çalışma parametrelerinin karmaşıklığı ve bazı durumlarda çalışma sürelerinin çok uzun olmasıdır.<sup>14</sup> Kısaca endüstride de uygulanabilen yöntemlerden biri organik çözücüler kullanılarak ekstraksiyon, diğeri de tohumlardan yağ ekstraksiyonu, ardından süperkritik bir sıvı kullanılarak skualenin elde edilmesidir.<sup>7</sup>



ŞEKİL 3: Skualenin başlıca doğal kaynakları.

Amarant (Horozibiği, *Amaranth*, *Amaranthus* sp.) tohumlarından skualen eldesi ile ilgili ilk deneysel raporlardan biri 1987 yılında yayımlanmıştır. Bu işlem basamakları; hekzan ile ekstraksiyon, çözücü uzaklaştırılması ve asit, zambak, reçine gibi maddelerin ayrılması ve vakumla distilasyon saflaştırma işlemidir. Distilasyon işlemi 180 °C ve 3 mTorr'da gerçekleştirilerek, %76'lık verimle skualen elde edilmiştir.<sup>15</sup> Czapliski ve ark., sırasıyla soğuk basınç, çözücü ve süperkritik sıvı ile ekstre edilen bu bitkiden, 5.740, 6.000 ve 6.500 mg/100 g yağ verimi elde etmiş ve sonucunda da süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile en yüksek verim sağlandığı belirtilmiştir. Böylece organik çözücü kalıntısı olmadan, düşük sıcaklıklarda skualenin ayrılması sağlanabilmiştir.<sup>16</sup> Ayrıca amarant bitkisinin ekstresinde bulunan skualen konsantrasyonu, süperkritik karbondioksit yöntemi (50 °C; 200 bar) ile %15,3 olarak; çözücü ekstraksiyonu ile %6 olarak tespit edilmiştir.<sup>17</sup> Krulj ve ark. yaptıkları bir çalışmada, 3 amarant genotipinden skualen eldesini gerçekleştirmiştir. Deneyde, petrol eteri ile ekstraksiyon ve süperkritik sıvı ekstraksiyon yöntemi arasında farklılıklar bulunmuştur. Elde edilen verim sırasıyla 450 ve 350 mg/100 g olarak kaydedilmiş, değişikliğin ise ekstraksiyon koşullarına ve genotipine de bağlı olduğu öne sürülmüştür.<sup>18</sup> Başka bir çalışmada, süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile 1.200-9.000 mg/100 g verimli amarant yağından skualen %60 verimle elde edilmiştir. Ekstraksiyon süresinin uzatılması, verimin %90'ın üzerine çıkmasını sağlamıştır.<sup>19</sup>

## SKUALENİN BİYOLOJİK ETKİLERİ VE KULLANIMI

Skualen, sahip olduğu önemli biyolojik etkiler sebebiyle ilaç ve kozmetik endüstrisinde oldukça yaygın kullanılan bir moleküldür. Skualenin, biyolojik etkilerine sahip birçok çalışmada bulunmaktadır.<sup>9,20-22</sup> Bu çalışmalara ait bilgiler aşağıda özetlenmektedir.

### ANTIOKSİDAN ETKİ

Skualen, antioksidanlar ve lif bakımından zengin bir diyet veya çok miktarda zeytinyağı tüketen popülasyonlarda, ölüm oranındaki düşüş ile ilişkilendirilen bir molekül olarak göze çarpmaktadır.<sup>8</sup> Skualenin antioksidan etkisinin kanser hücreleri ile ilişkisi pek çok

çalışmada paralel sonuç gösterse de seçici etkisi sebebiyle tersi durumlarda yaşanmıştır. İnsan meme epitel hücrelerinde, reaktif oksijen türleri [reactive oxygen species (ROS)] düzeylerini azalttığı ve oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu olduğu bulunan bir çalışmada, bu durumun meme tümör hücrelerinde görülmediği bildirilmektedir.<sup>23</sup> Skualenin, deri yüzeyindeki lipidler üzerine önemli bir fotoprotektif etkisi olduğu, derinin hücresel bileşenlerinde ultraviyole (UV) kaynaklı lipid peroksidasyonunu engellediği de yapılan bir çalışmada belirtilmiştir.<sup>24</sup>

*Caulerpa racemosa* bitkisinin %70 etanol kullanılarak hazırlanan ekstresinden elde edilen hekzan fraksiyonundan skualen izole edilmiştir. Elde edilen skualen, belirgin antioksidan ve antiinflamatuvar aktivite göstermiştir. Yapılan çalışma incelendiğinde, 2,2'-azobis dihidroklorür (AAPH) ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen hücre içi reaktif oksijen türleri (ROS) seviyelerini azalttığı gözlemlenmiştir. Böylece keratinositlerde, UV kaynaklı hücre hasarına karşı koruyucu etkileri artırmaktadır.<sup>25</sup> Klinik araştırma verilerine göre oral yoldan uygulanan toplam skualenin yaklaşık %60-85'i, serbest radikallere ve çevresel oksidatif strese karşı koruma için bir antioksidan olarak rol oynamakla beraber deri gibi farklı dokularda etkili bir şekilde emilip, dağılmaktadır. Genellikle 30 yaşından sonra skualen konsantrasyonu düşmeye başladığı için sağlıklı bir yaşam tarzı sürdürmede dışarıdan alınması gereken skualen yaklaşık 500 mg/gün olarak tercih edilebilmektedir.<sup>9</sup>

### ANTIİNFLAMATUAR ETKİ

Skualen, lipopolisakkarid kaynaklı RAW 264.7 makrofaj hücrelerinde nitrik oksit, inhibe edici nitrik oksit sentaz, prostaglandin E2, siklooksijenaz seviyelerini ve bazı önemli proinflamatuvar sitokinleri azaltabilmektedir.<sup>25</sup>

### ANTİKANSER ETKİ

Son yıllarda skualen, çeşitli kanser türlerinde adjuvan tedavi olarak kullanılmakta ve oral olarak alınan skualenin belirgin etkileri arasında yer almaktadır. Çeşitli çalışmalarda, skualenin kemirgenlerde; akciğer, cilt ve kolonun indüklenmiş tümör oluşumunu etkili bir şekilde engelleyebilen potansiyel farmasötik bir ürün olduğu belirtilmektedir.<sup>3</sup> Özellikle balık

ve zeytinyağı tüketimi ile skualen ve fenolik bileşiklerin alımını sağlayan Akdeniz tipi beslenmenin, kanserde olduğu gibi dejeneratif hastalıkların insidansını da azalttığı bilinmektedir. Köpek balıklarındaki yüksek skualen seviyesi, bu balık türünde kanserin görülmemesi ile ilişkilendirilmektedir.<sup>8</sup> Dişi farelere intraperitoneal uygulanan skualenin, sarkoma-180 hücrelerine karşı antitümör aktivite ve konak immün cevabında retiküloendotelial sistemi iyileştirdiği ve farelerin hayatta kalma süresini uzattığı gözlenmiştir.<sup>26</sup> Ayrıca adriamisin, 5-florourasil, bleomisin ve sisplatin gibi güçlü ilaçların, skualen ile birlikte uygulanmasının sitotoksik etkiyi arttırdığı da bildirilmektedir. Bu mekanizma için skualenin, farnesil pirofosfat seviyelerini düşürerek, kanser hücresi çoğalmasını inhibe ettiği öne sürülmektedir.<sup>27</sup> Özellikle meme, pankreas, kolon karsinomları ve ras onkojen mutasyonları ile ilişkili benzer tümörler için potansiyel bir kemopreventif ajan olarak önerilmektedir.<sup>2</sup> Skualenin tek başına zayıf bir inhibitör olmasına rağmen çeşitli tümör modellerinde antikanser ilaçlarla birlikte tümör büyümesini önlediği veya durdurduğu gözlenmektedir. Skualenin tümör hücreleri üzerindeki etkisi araştırıldığında, hücre döngüsünü G1 fazında durdurduğu görülmektedir. Smith'e göre skualen, karsinogenezi HMGR'nin etkisini engelleyerek, HMG-CoA'nın mevalonik aside dönüşümünü önlemeyerek, diğer süreçte yer alan enzimlerin biyosentezini modüle ederek, ksenobiyotik bileşiklerin metabolizmasını düzenleyerek ve kansere yol açan serbest radikalleri ve tekli reaktif oksijeni temizleyerek önlemektedir.<sup>28</sup> Sıçanlara oral yoldan 0,4 mL/gün dozda uygulama yapılan bir çalışmada ise skualen; kalp, karaciğer ve böbrekte siklofosfamid kaynaklı toksisiteye karşı etkili koruma göstermektedir. Bu bulgular, kemoterapinin neden olduğu yan etkileri engellemek ya da azaltmak adına heyecan verici bulgular olarak değerlendirilmiştir.<sup>29</sup> Yapılan başka bir çalışmada ise skualenin, kemoterapötik toksisiteden etkilenen hücreler üzerinde değil, etkilenmemiş normal hücreler üzerinde seçici sitoprotektif aktivite sergilediği de literatüre kayıtlıdır.<sup>30</sup> Kolesterol biyosentezinde yer alan lipidlerin oluşumunu düzenleyen ve akciğer kanseri metastazında rolü olan skualen sentaz [squalene synthase (SQS)] üzerinde yapılan bir çalışmada, akciğer kanserinde SQS'nin lipit salgılarıyla ilişkisi araştırılmıştır. Bulgulara dayanarak

SQS'nin, akciğer kanseri için terapötik bir stratejiyi temsil edebileceği söylenmektedir.<sup>31</sup> Skualen epoksidaz (SE) enzimi, kolesterol sentezindeki hız sınırlayıcı basamaklardan biri olup, insanlarda *SQLE* geni tarafından kodlanmaktadır. SE inhibitörleri, antifungal ve antihiperlipidemik etkilerinden dolayı kullanılmaktadır. Antifungal olarak kullanılan SE inhibitörlerinin, yüksek dozlarda kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla SE inhibitörlerinin, kanser tedavisinde metabolik hedefler olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca SE enzimini kodlayan *SQLE* geni, kanser hastalığı için potansiyel bir biyobelirteç olarak değerlendirilmektedir.<sup>32,33</sup>

### CİLT ÜZERİNE ETKİLERİ

Skualenin, insan sebumunun önemli bir bileşeni olduğu 1950'li yılların başında keşfedilmiştir. Ciltte nemi tutma ve yumuşatıcı etki, hasarlı cildin onarımı ve yaşlanma etkilerinin giderilmesi, cilt üzerindeki başlıca etkileri olarak bilinmektedir. Tüm bu özellikler, skualenin egzama, saç ve saç derisi bakımı, kırıklık giderme amacıyla kullanımını için iyi bir seçenek olduğunu göstermektedir.<sup>21</sup> Ayrıca yine cilt üzerinde yapılan bir çalışmada, skualen ve alkilgliserol kaynağı olan köpek balığı karaciğeri yağının, özellikle kseroz ve cilt lezyonlarının neden olduğu atopik dermatitten muzdarip hastalara uygulandığında, bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara karşı koruma sağladığı da bilinmektedir.<sup>34</sup> Bu konu üzerine yapılan bir çalışmada, prokollajen aktivitesinin arttığı, fasiyal eritemin ve UV ile indüklenen keratinositik apoptozun azaldığı raporlanmaktadır.<sup>20</sup> Yapılan in vivo çalışmada, yanmış dokuların tedavisi için geliştirilmiş olan emülgatör olarak lesitin kullanılan, skualen yüklü agar bazlı emulgel yapısı, hasarlı cilt kısımlarının yeniden epitelizasyonunu sağlamış, yanmış deri dokusuna komşu dokulara benzer yapı ve işlev kazandırmıştır.<sup>35</sup>

### DETOKSİFİKASYON ETKİSİ

Vücudumuz, ksenobiyotikler yani doğada bulunmayan insan yapımı karmaşık kimyasalları biriktirmektedir.<sup>36,37</sup> Genellikle lipofilik yapıda olan bu kimyasallar için skualen yüksek bir afiniteye sahiptir ve bu nedenle ksenobiyotik bileşiklerin vücuttan çıkarılmasını kolaylaştırmaktadır.<sup>38</sup> Yağ hücrelerinde



depolanan skualen, bu bileşikleri temizleyerek detoksifiye edici bir ajan olarak işlev görebilmektedir.<sup>39,40</sup> Bu nedenle skualenin detoksifikasyon gücünün, biyolojik sistemleri temizleme ve bu yeteneğinin bir işlevi olduğu varsayılabilir. Pediatrik hastalarda yapılan daha güncel bir çalışmada, skualenin P450 enzimi gibi karaciğer detoksifikasyon enzimlerinin uyarılmasına veya kurşun ve diğer toksik maddelerin detoksifikasyonuna yardımcı olduğu belirlenmiştir. Bebeklerde skualen tüketiminin, boyda daha fazla büyüme ve daha iyi nöromotor gelişim gösterdiğini belirten bir araştırma da bulunmaktadır.<sup>41</sup>

### KALP ÜZERİNE ETKİLERİ

Sıçanlara düzenli oral yolla skualen uygulamasının, kardiyoprotektif aktivite sağladığı bilinmekte olup; izoprenalin toksisitesine karşı önemli kardiyoprotektif etki gösterdiği söylenebilmektedir.<sup>42</sup> Skualenin kardiyoprotektif özelliğinin antioksidan etkisinden kaynaklandığı düşünülmeyle birlikte kardiyovasküler sistem ROS ve reaktif azot türleri yapımı üzerinde hücresel düzeyde çalışmalar yapılması gerektiği vurgulanmaktadır.<sup>4</sup>

### ANTİLİPİDEMİK ETKİ

Skualen (860 mg)-düşük doz pravastatinin (10 mg) kombine tedavisi, 102 hastada 20 hafta denenmiş ve süre sonunda toplam kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol ve trigliserid düzeylerini düşürdüğü gözlemlenmiştir.<sup>43</sup> Farvin ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, skualeni 45 gün boyunca %2'lik bir dozda uygulamış, plazma ve kalp dokularındaki kolesterol, trigliseridler ve yağ asitleri seviyelerinin önemli ölçüde azaldığını rapor etmişlerdir.<sup>44</sup> Başka bir çalışmada, 1.000 mg/kg'lık bir dozun, 4 hafta sonra kan plazmasındaki leptin düzeyleri, kolesterol, trigliseridler ve glukozu düşürdüğü bulunmuştur.<sup>45</sup>

### SKUALENİN TERAPÖTİK AMAÇLI KULLANILAN ÜRÜN FORMLARI VE UYGULAMA ŞEKİLLERİ

Skualenin biyolojik kökenli olması, farklı uygulama yolları ile vücut tarafından tolere edilebilmesi, emilim ve dağılım veriminin yüksek olması, terapötik uygulamalarda yaygın olarak farklı şekillerde kullanılması

sına olanak sağlamaktadır.<sup>2</sup> Skualen, dışarıdan oral uygulanması sonrasında vücutta %60-80 emilim ve dağılım gerçekleşmektedir. Endojen skualen ise ilk olarak karaciğerde sentezlenip, daha sonra kan yoluyla cilde veya organlara taşınmaktadır. Skualenin dolaşım sisteminde kolesterolden daha hızlı emildiği, yağ dokusunda veya kas dokusunda daha fazla biriktiği tespit edilmiştir.<sup>2,46</sup> Skualenin çok düşük yoğunluklu lipoproteinde (%50,8), düşük yoğunluklu lipoproteinde (%25,6) ve yüksek yoğunluklu lipoproteinde (%23,6) etkili bir şekilde emiliminin olması, oral olarak kullanılan molekülleri vermek için bir taşıyıcı olarak kullanılmasını desteklemektedir.<sup>47</sup>

### SKUALEN EMÜLSİYONLARI

#### Adjuvan Olarak Skualen

Adjuvanlar, yıllardır kullanılmalarına rağmen birçok güvenlik endişesi barındırmaktadır. İmmünolojik bir adjuvan, antijene karşı bağışıklık tepkisini artırmak veya modüle etmek için kullanılan bir maddedir.<sup>48</sup> Skualenin antijen indüksiyon etkisiyle ilgili insanlarda yapılan bir çalışmada, skualene karşı hem immünglobulin (Ig) M hem de IgG yapısında antikorlar, ELISA kitleri kullanılarak araştırılmış ve skualen içeren aşılardan kullanmayan kişilerde bile antiskualen antikorlar tespit edilmiştir.<sup>49</sup> Skualen-bazlı olan ve influenza aşılarda kullanılan lisanslı MF59, AS03 ve AF03 adjuvanlarının onayı da bulunmaktadır.<sup>50</sup> MF59'un, insanlarda kullanılan aşılarda adjuvan olarak kullanımı ilk 1997 yılında İtalya'da onaylanmıştır.<sup>51</sup> MF59; skualen, polioksietilen sorbitan monooleat ve sorbitan trioleat içeren mikroakışkanlaştırılmış emülsiyon esaslı bir adjuvandır.<sup>52</sup> Yapılan bir çalışmada, MF59 kullanılan bir adjuvan olan Ad-aVax'ın subkütanöz uygulamasının, cilt ve cildi drene eden lenf nodülleri üzerindeki immünolojik etkisi araştırılmış ve humoral bağışıklık yanıtının arttığı gözlemlenmiştir.<sup>53</sup> Metaanaliz bir çalışmada, MF59 adjuvanının kullanıldığı influenza aşılarının farklı yaş gruplarındaki sağlıklı erişkinlerde, adjuvan kullanılmayan aşılara göre immüniteyi artırdığı gösterilmiştir.<sup>54</sup> Zarflı virüslerin neden oldukları enfeksiyonlara karşı geliştirilen aşı çalışmalarının stratejik hedeflerinden biri de prefüzyon antijeninin stabilizasyonudur. Şiddetli akut solunum sendromu-koronavirüs-2 (koronavirüs hastalığı-2019) aşı geliştirilmesi için ya-

pılan bir çalışmada, prefüzyonla stabilize edilmiş S proteininin (Sclamp), MF59 ile kombinasyonu incelenmiştir. Çalışmanın sonunda, deney hayvanlarında tek doz MF59 ile adjuvanlanmış Sclamp'ın, hastalık şiddetine karşı önemli derecede koruma sağladığı gösterilmiştir.<sup>55</sup>

### Kanser Tedavisinde Koruyucu ve Önleyici Bir Ajan Olarak Skualen

Skualenin karsinogeneze karşı koruyucu etkisi; Ras onkoprotein farnesillenmesinin inhibisyonunun, HMG-CoA redüktazının dolaylı olarak inhibe edilmesiyle DNA sentezi ve hücre proliferasyonu için gerekli olan mevalonata dönüşümünün kısıtlanması; ksenobiyotik metabolize edici enzimlerin biyosentezini ve işlevini modüle ederek karsinojenlerin metabolik aktivasyonunu değiştirmesi; serbest radikal süpürücü olarak işlevsel olması ile 3 mekanizmaya dayandırılmaktadır.<sup>28</sup> Bu amaçla yapılan bir çalışmada, skualen, cansız mikobakteri aşılı ile emülsifiye edildiğinde, farelerde mineral yağ formülasyonuna kıyasla fibrosarkomun etkili bir şekilde gerilemesine neden olduğu belirtilmektedir.<sup>56</sup> Ayrıca P388 fare tümör modelinde yapılan in vivo bir çalışmada, skualenin, 3-[(4-amino-2-metil-5-pirimidinil) metil]-1-(2-kloroetil)-1-nitrosourea ile birlikte uygulanmasının, antitümör aktiviteyi önemli ölçüde güçlendirdiği rapor edilmektedir.<sup>57</sup>

#### **İlaç taşıyıcısı olarak skualen**

İlaç taşıyıcıları, zayıf çözünür bileşiklerin uygulanmasına olanak sağlaması, ilaçları istenmeyen plazmatik metabolizmadan koruması, yarılanma ömrünü iyileştirmesi, biyolojik dağılımı değiştirmesi, toksisiteyi azaltması ve ilaç hedeflemeyi kolaylaştırması gibi avantajlar sağlamaktadır.<sup>58</sup> Fosfatidiletanolamin veya pluronik F68 ile stabilize edilmiş bir skualen emülsiyonunun, bir morfin ön ilacının in vitro salınımını uzattığı ve intravenöz olarak in vivo uygulanan bu ön ilaç yüklü skualen emülsiyon formülasyonları, sıçanlarda uzun süreli analjezik aktivite sağladığı belirlenmiştir.<sup>59</sup>

#### **Gen transfer uygulamalarında skualen**

Skualen, daha çok aşı ve oral ilaç uygulamada kullanılıyor olsa da gen iletim uygulamalarında da skualen emülsiyon formülasyonları kullanılmaktadır.

Bu amaçla gen transfeksiyonu için kullanılan skualen-DOTAP (1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-trimethylammonium propane) emülsiyonları, soya fasulyesi yağı-DOTAP veya keten tohumu yağı-DOTAP emülsiyonlarına kıyasla daha küçük partikül boyutuna ve daha fazla stabiliteye sahip olmasının yanında bu emülsiyonlara veya DOTAP lipozomlarına göre in vitro ve in vivo transfeksiyon etkinliğinde daha etkili ve daha az sitotoksik özellik göstermektedir.<sup>60</sup> İlgili bir çalışmada, %10 a/h skualen-%2,4 a/h DOTAP emülsiyonunun, lipozom veya polietilenimin araçlara kıyasla daha iyi in vivo transfeksiyon verimine ve minimal toksisiteye sahip olduğu belirtilmektedir.<sup>61</sup> Ayrıca değişen konsantrasyonlarda lesitin içeren %10 h/h skualen emülsiyonları, soya fasulyesi ve keten tohumu yağı emülsiyonlarına kıyasla daha iyi bir stabilite ve lipofilik bir ilaç rifampisin en yavaş salınımını göstermektedir.<sup>62</sup> Başka bir çalışmada da skualen emülsiyonu, *E. coli* gen ekspresyon plazmidini kodlayan bir pCMV-beta ile yüklendiğinde, farelere intravenöz uygulamadan sonra daha yüksek gen transfeksiyon aktivitesi in vitro ve in vivo olarak gözlemlenmiştir.<sup>61</sup>

## SKUALEN VE NANOFORMÜLASYONLAR

Skualenlenmiş nanopartiküllerin kullanımı, antikanser ve antiviral ilaçların daha güvenli ve etkili olmasını sağlayan bir yöntemdir.<sup>63</sup> Kısa yarı ömre sahip bir  $\kappa$ -opioid reseptör agonistinin, lipofilik ester ön ilaçlarını uygulamak için benzer emülsiyonların başarıyla kullanıldığı bilinmektedir.<sup>2</sup>

Gemsitabinin; pankreatik, küçük hücreli akciğer, mesane ve meme kanserleri de dâhil olmak üzere çeşitli tümör tiplerine karşı etkin aktivite sergilediği gösterilmiş olsa da bazı önemli sınırlamalara sahiptir. Gemsitabinin bu sınırlamaları, skualen oil-gemsitabin biyokonjugatı ile aşılmıştır.<sup>64</sup> Sülfasalazin (SZS), artrit tedavisinde kullanılan bir ilaç olup; apoptozisi indüklediği de bilinmektedir. SZS'nin nanoformülasyonunun kanser hücreleri üzerinde IC<sub>50</sub> değerini en az 5 kat azaltarak, apoptozisi artırdığı gösterilmiştir.<sup>65</sup> Morfin kullanımının bağımlılık potansiyeli ve yan etkilerinden dolayı günümüzde endojen nöropeptidler öne çıkmaktadır. Bir çalışmada, Leu-enkafalin (LENK)-skualen nanoformülasyonunun LENK'in plazmadaki hızlı degradasyonunu önlediği ve sıçan-

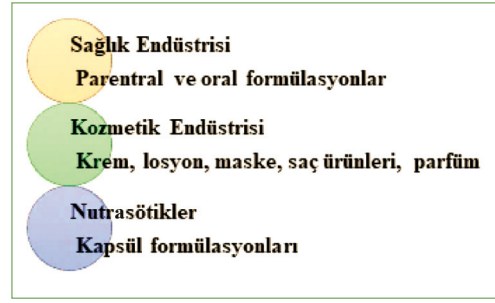
larda yapılan Hargreaves testinde morfinden daha uzun süreli antihiperaleji etki gösterdiği saptanmıştır.<sup>66</sup>

## TOKSİSİTE

Skualen, her yaşta ve geniş kullanım alanına sahip terapötik bir ajan olduğu için güvenilir olması oldukça önemlidir. Genel olarak tahriş edici ve alerjik olmaması, farklı yollarla emilim göstermesi, tüm uygulama yollarında düşük toksisiteye sahip olması sebebiyle skualen iyi bir güvenlik profiline sahiptir.<sup>60</sup> Skualen güvenliği hakkında en güçlü çalışmanın, MF59®'un (Novartis, İsviçre) belgelenmiş güvenlik kaydı olduğu söylenebilmektedir. MF59™ içeren çeşitli aşılar kullanılarak yapılan klinik çalışmalardan elde edilen bulgular, hayvan çalışmalarında da olduğu gibi toksisite göstermemekte ve en yaygın şikâyet olarak da enjeksiyon bölgesinde ağrı oluştuğu belirtilmektedir.<sup>67</sup> Bunun yanında skualen emülsiyon enjeksiyon bölgelerinin, daha hızlı iyileşme ve daha küçük skarlaşma ve mineral yağ emülsiyonlarına kıyasla daha az doku reaksiyonu gösterdiği de bilinmektedir.<sup>60</sup> Başka bir çalışmada, Intralipid® (Pharmacia, Stockholm, İsveç) emülsiyonu ile birlikte 21 mg skualenin insanlar üzerinde intravenöz enjeksiyon uygulamasının hiçbir yan etki yaratmadığı rapor edilmiştir.<sup>68</sup> Ayrıca daha önce tarif edildiği gibi hiperkolesterolemi tedavisi için pravastatin ile kombinasyon hâlinde skualen, düşük yan etkiler göstermektedir.<sup>43</sup> Bununla birlikte 20.447 MF59 pozitif ve 7.526 MF59 negatif olgu ile araştırmaları da yapılmıştır. Bağışıklama sonrası yaygın yan etkiler, MF59 pozitif grupta daha sık ortaya çıkmış, ancak lokal ve hafif/orta şiddette seyretmiştir. Ayrıca MF59 pozitif grupta kardiyovasküler yan etkiler, yeni kronik hastalık başlangıçları, hospitalizasyon ve ölüm gelişimi, MF59 negatif gruba göre daha az rastlanmıştır.<sup>69,70</sup> Yapılan bir çalışmada da biyosentetik triterpenlerin nanoemülsiyon formunda kullanılan adjuvanlarının birçok özellikleri yönünden köpek balığı skualeni ile eşit derecede performans gösterdiği saptanmıştır.<sup>71</sup>

## ENDÜSTRİYEL ALANDA KULLANIMI

Skualen, günümüzde kozmetik, gıda desteği, sağlık hizmetleri gibi endüstriyel alanlarda kullanılmakta-



ŞEKİL 4: Skualenin endüstride kullanım alanları.

dır (Şekil 4). Kaynağın büyük bir kısmı köpek balığı karaciğerinden sağlanmakta olup, skualenin bitkilerden %90'a varan verimlerle geri kazanılabilir olması, çevre ve ekosistemler hakkındaki farkındalığın göz önünde bulundurulması sebebiyle üretimi için katı kurallar ve düzenlemeler getirmiştir.<sup>4,72</sup> Dünya üzerinde Kuzey Amerika, Avrupa, Asya Pasifik, Latin Amerika, Ortadoğu ve Afrika, skualen pazarının en yaygın olduğu bölgelerdir. Pazarın %90'ı, kozmetik sektörü üzerinde dönmektedir.<sup>73</sup>

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Skualen; bitkiler, hayvanlar, mikroorganizmalar, maya ve mantarlardan elde edilebilen doğal kaynaklı bir triterpendir. Pek çok kaynaktan elde edilmesine rağmen bitkiler, skualen üretiminde önemli bir yere sahiptir. Bitkiler arasında da zeytinyağı en uygun ve zengin skualen kaynağı olarak belirtilmektedir. Bitkilerden farklı yöntemlerle elde edilen skualen için ısıdan etkilenmesi sebebiyle süperkritik sıvı ekstraksiyonu en uygun yöntem olarak görülmektedir. Kullanım alanı ve uygulama yöntemleri çeşitliliği ile skualenin, özellikle aşılarla kullanımı üzerinde pek çok tartışma bulunmaktadır. Aşılarla skualen kullanımının antiskualen antikoru oluşumunu destekleyen araştırmaların yanında böyle bir ilişkinin kurulamayacağı belirtilen pek çok araştırma da bulunmaktadır. Bu sebeple hem aşı hem de diğer terapötik özelliklerine bakıldığında güvenilirliği yüksek düzeyde olan bir madde olduğu söylenebilmektedir. Skualen, çeşitli biyolojik etkilere sahip bir bileşiktir, özellikle çeşitli kanser türleri üzerine yapılan araştırmaların sayısı fazladır. Akdeniz diyeti tarzında beslenen toplumlarda çok tüketilen ve zengin bir skualen kaynağı olan zeytinyağına dikkat çekilmekte ve kan-



serin daha az görülmesinin bu beslenme şekline bağlı olduğu belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda, olumlu sonuçlar oldukça umut verici gözükse de insanlarda kanser önleme ve tedavisi için etkili dozlarla skuale- nin etkinliğini ve güvenlik sorunlarını belirlemek için daha çok klinik öncesi çalışmaya ihtiyaç duyulmak- tadır. Ülkemiz, zeytinyağı üretimi açısından zengin ülkeler arasında olması nedeni ile skuale- nin de üre- timinin değerlendirilmesi faydalı olacaktır. Bunun ya- nında etkileri ve kullanımı incelendiğinde en çok aşı ve kozmetik alanında kullanımı ile göze çarpan skuale- nin, ilaç ve gen transferinde klinik öncesi aşama- daki çalışmalarının ise heyecan verici olduğu söylenebilir.

### Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet,

gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

### Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üye- liği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

### Yazar Katkıları

**Fikir/Kavram:** Alev Önder; **Tasarım:** Ahsen Sevde Çınar; **De- netleme/Danışmanlık:** Alev Önder; **Veri Toplama ve/veya İş- leme:** Alev Önder, Ahsen Sevde Çınar, Özge Yılmaz; **Analiz ve/veya Yorum:** Alev Önder, Ahsen Sevde Çınar, Özge Yılmaz; **Kaynak Taraması:** Ahsen Sevde Çınar, Özge Yılmaz; **Makalenin Yazımı:** Alev Önder, Ahsen Sevde Çınar; **Eleştirel İnceleme:** Alev Önder, Özge Yılmaz.

## KAYNAKLAR

- Bergman ME, Davis B, Phillips MA. Medically useful plant terpenoids: biosynthesis, occurrence, and mechanism of action. *Molecules*. 2019;24(21):3961. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Reddy LH, Couvreur P. Squalene: A natural triterpene for use in disease management and therapy. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009;61(15): 412-26. [Crossref] [PubMed]
- Ghimire GP, Thuan NH, Koirala N, Sohng JK. Advances in biochemistry and microbial production of squalene and its derivatives. *J Microbiol Biotechnol*. 2016;26(3):441-51. [Crossref] [PubMed]
- Micera M, Botto A, Geddo F, Antoniotti S, Berteza CM, Levi R, et al. Squalene: more than a step toward sterols. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(8):688. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Wolosik K, Knaś M, Zalewska A, Niczyporuk M, Przystupa AW. The importance and perspective of plant-based squalene in cosme- tology. *J Cosmet Sci*. 2013;64(1):59-66. [PubMed]
- Lozano-Grande A, Gorinstein S, Espitia- Rangel E, Dávila-Ortiz G, Martínez-Ayala A. Plant sources, extraction methods, and uses of squalene. *Int J Agron*. 2018;13. [Crossref]
- Popa O, Băbeanu NE, Popa I, Niță S, Dinu- Părvu CE. Methods for obtaining and deter- mination of squalene from natural sources. *Biomed Res Int*. 2015;2015:367202. [Cross- ref] [PubMed] [PMC]
- Bozbulut R, Akbulut G. Kansere karşı ko- ruyucu yeni bir öge: skuale- n [A new item for protection against cancer: squalene]. *Bes Diy Der*. 2016;44(2):160-8. [Link]
- Gohil N, Bhattacharjee G, Khambhati K, Brad- dick D, Singh V. Engineering strategies in mi- croorganisms for the enhanced production of squalene: advances, challenges and opportu- nities. *Front Bioeng Biotechnol*. 2019;7:50. Er- ratum in: *Front Bioeng Biotechnol*. 2019;7:114. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Xu R, Fazio GC, Matsuda SP. On the origins of triterpenoid skeletal diversity. *Phy- tochemistry*. 2004;65(3):261-91. [Crossref] [PubMed]
- Mantzouridou F, Tsimidou MZ. Observations on squalene accumulation in *Saccharomyces cerevisiae* due to the manipulation of HMG2 and ERG6. *FEMS Yeast Res*. 2010;10(6):699- 707. [Crossref] [PubMed]
- Katabami A, Li L, Iwasaki M, Furubayashi M, Saito K, Umeno D. Production of squalene by squalene synthases and their truncated mu- tants in *Escherichia coli*. *J Biosci Bioeng*. 2015;119(2):165-71. [Crossref] [PubMed]
- Kostyuk V, Potapovich A, Stancato A, De Luca C, Lulli D, Pastore S, et al. Photo-oxidation products of skin surface squalene mediate metabolic and inflammatory responses to solar UV in human keratinocytes. *PLoS One*. 2012;7(8):e44472. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Kraujalis P, Venskutonis PR. Supercritical car- bon dioxide extraction of squalene and toco- pherols from amaranth and assessment of extracts antioxidant activity. *J Supercrit Fluids*. 2013;80:78-85. [Crossref]
- Lyon CK, Becker R. Extraction and refining of oil from amaranth seed. *J Am Oil Chem Soc*. 1987;64:233-6. [Crossref]
- Czaplicki S, Ogródowska D, Zadernowski R, Derewiaka D. Characteristics of biologically- active substances of amaranth oil obtained by various techniques. *Pol J Food Nutr Sci*. 2012;62(4):235-9. [Crossref]
- He HP, Corke H, Cai JG. Supercritical carbon dioxide extraction of oil and squalene from amaranthus grain. *J Agric Food Chem*. 2003;51(27):7921-5. [Crossref] [PubMed]
- Kruij J, Brlek T, Pezo L, Brkljača J, Popović S, Zeković Z, et al. Extraction methods of Ama- ranthus sp. grain oil isolation. *J Sci Food Agric*. 2016;96(10):3552-8. [Crossref] [PubMed]
- Wejnerowska G, Heinrich P, Gaca J. Separation of squalene and oil from Amaranthus seeds by supercritical carbon dioxide. *Sep Purif Technol*. 2013;110:39-43. [Crossref]
- Cho S, Choi CW, Lee DH, Won CH, Kim SM, Lee S, et al. High-dose squalene ingestion in- creases type I procollagen and decreases ul- traviolet-induced DNA damage in human skin in vivo but is associated with transient adverse effects. *Clin Exp Dermatol*. 2009;34(4):500-8. [Crossref] [PubMed]

21. Huang ZR, Lin YK, Fang JY. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology. *Molecules*. 2009;14(1):540-54. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
22. Lacatusu I, Badea N, Ovidiu O, Bojin D, Meghea A. Highly antioxidant carotene-lipid nanocarriers: synthesis and antibacterial activity. *J Nanopart Res*. 2012;14(6). [[Crossref](#)]
23. Warleta F, Campos M, Allouche Y, Sánchez-Quesada C, Ruiz-Mora J, Beltrán G, et al. Squalene protects against oxidative DNA damage in MCF10A human mammary epithelial cells but not in MCF7 and MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Food Chem Toxicol*. 2010;48(4):1092-100. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
24. Kabuto H, Yamanushi TT, Janjua N, Takayama F, Mankura M. Effects of squalene/squalane on dopamine levels, antioxidant enzyme activity, and fatty acid composition in the striatum of Parkinson's disease mouse model. *J Oleo Sci*. 2013;62(1):21-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
25. Fernando IPS, Sanjeeva KKA, Samarakoon KW, Lee WW, Kim HS, Jeon YJ. Squalene isolated from marine macroalgae *Caulerpa racemosa* and its potent antioxidant and anti-inflammatory activities. *J Food Biochem*. 2018;42(5):e12628. [[Crossref](#)]
26. Ohkuma T, Otagiri K, Tanaka S, Ikekawa T. Intensification of host's immunity by squalene in sarcoma 180 bearing ICR mice. *J Pharmacobiodyn*. 1983;6(2):148-51. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
27. Nakagawa M, Yamaguchi T, Fukawa H, Ogata J, Komiyama S, Akiyama S, et al. Potentiation by squalene of the cytotoxicity of anticancer agents against cultured mammalian cells and murine tumor. *Jpn J Cancer Res*. 1985;76(4): 315-20. [[PubMed](#)]
28. Smith TJ. Squalene: potential chemopreventive agent. *Expert Opin Investig Drugs*. 2000; 9(8):1841-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
29. Senthilkumar S, Yogeeta SK, Subashini R, Devaki T. Attenuation of cyclophosphamide induced toxicity by squalene in experimental rats. *Chem Biol Interact*. 2006;160(3):252-60. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
30. Das B, Antoon R, Tsuchida R, Lotfi S, Morozova O, Farhat W, et al. Squalene selectively protects mouse bone marrow progenitors against cisplatin and carboplatin-induced cytotoxicity in vivo without protecting tumor growth. *Neoplasia*. 2008;10(10):1105-19. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
31. Yang YF, Chang YC, Jan YH, Yang CJ, Huang MS, Hsiao M. Squalene synthase promotes the invasion of lung cancer cells via the osteopontin/ERK pathway. *Oncogenesis*. 2020; 9(8):78. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
32. Cirmena G, Franceschelli P, Isnaldi E, Ferrando L, De Mariano M, Ballestrero A, et al. Squalene epoxidase as a promising metabolic target in cancer treatment. *Cancer Lett*. 2018;425:13-20. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
33. Chua NK, Coates HW, Brown AJ. Squalene monooxygenase: a journey to the heart of cholesterol synthesis. *Prog Lipid Res*. 2020;79:101033. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
34. Nowicki R, Barańska-Rybak W. Olej z wątroby rekina jako terapia wspomagająca w atopowym zapaleniu skóry [Shark liver oil as a supporting therapy in atopic dermatitis]. *Pol Merkur Lekarski*. 2007;22(130):312-3. Polish. [[PubMed](#)]
35. Shanmugarajan TS, Selvan NK, Uppuluri VNVA. Development and characterization of squalene-loaded topical agar-based emulgel scaffold: wound healing potential in full-thickness burn model. *Int J Low Extrem Wounds*. 2020:1534734620921629. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
36. Omiecinski CJ, Vanden Heuvel JP, Perdew GH, Peters JM. Xenobiotic metabolism, disposition, and regulation by receptors: from biochemical phenomenon to predictors of major toxicities. *Toxicol Sci*. 2011;120 Suppl 1(Suppl 1):S49-75. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
37. Mackowiak B, Wang H. Mechanisms of xenobiotic receptor activation: Direct vs. indirect. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1859(9):1130-40. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
38. Kelly GS. Squalene and its potential clinical uses. *Altern Med Rev*. 1999;4(1):29-36. [[PubMed](#)]
39. Richter E, Fichtl B, Schäfer SG. Effects of dietary paraffin, squalane and sucrose polyester on residue disposition and elimination of hexachlorobenzene in rats. *Chem Biol Interact*. 1982;40(3):335-44. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
40. Queirolo IAE, Morales MG, Sussanick AI. plombemia y squalene. *Tendencias, Actualidad en pedia-tría*. 2007;10:131-7. [[Link](#)]
41. Ronco AL, De Stéfani E. Squalene: a multi-task link in the crossroads of cancer and aging. *Func Foods Health Dis*. 2013;3(12): 462-76. [[Crossref](#)]
42. Sabeena Farvin KH, Anandan R, Kumar SH, Shiny KS, Sankar TV, Thankappan TK. Effect of squalene on tissue defense system in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Pharmacol Res*. 2004;50(3):231-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
43. Chan P, Tomlinson B, Lee CB, Lee YS. Effectiveness and safety of low-dose pravastatin and squalene, alone and in combination, in elderly patients with hypercholesterolemia. *J Clin Pharmacol*. 1996;36(5):422-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
44. Farvin KH, Anandan R, Kumar SH, Shiny KS, Mathew S, Sankar TV, et al. Cardioprotective effect of squalene on lipid profile in isoprenaline-induced myocardial infarction in rats. *J Med Food*. 2006;9(4):531-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
45. Liu Y, Xu X, Bi D, Wang X, Zhang X, Dai H, et al. Influence of squalene feeding on plasma leptin, testosterone & blood pressure in rats. *Indian J Med Res*. 2009;129(2):150-3. [[PubMed](#)]
46. Güneş FE. Medical use of squalene as a natural antioxidant. *MÜSBED*. 2013;3(4):220-8. [[Link](#)]
47. Saudek CD, Frier BM, Liu GC. Plasma squalene: lipoprotein distribution and kinetic analysis. *J Lipid Res*. 1978;19(7):827-35. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
48. Mesa C, Fernández LE. Challenges facing adjuvants for cancer immunotherapy. *Immunol Cell Biol*. 2004;82(6):644-50. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
49. Del Giudice G, Fragapane E, Bugarini R, Hora M, Henriksson T, Palla E, et al. Vaccines with the MF59 adjuvant do not stimulate antibody responses against squalene. *Clin Vaccine Immunol*. 2006;13(9):1010-3. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
50. Nguyen-Contant P, Sangster MY, Topham DJ. Squalene-based influenza vaccine adjuvants and their impact on the hemagglutinin-specific B cell response. *Pathogens*. 2021;10(3):355. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
51. Wang S, Yang G, Nie J, Yang R, Du M, Su J, et al. Recombinant Erns-E2 protein vaccine formulated with MF59 and CPG-ODN promotes T cell immunity against bovine viral diarrhoea virus infection. *Vaccine*. 2020;38(22): 3881-91. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
52. Seubert A, Monaci E, Pizza M, O'Hagan DT, Wack A. The adjuvants aluminum hydroxide and MF59 induce monocyte and granulocyte chemoattractants and enhance monocyte differentiation toward dendritic cells. *J Immunol*. 2008;180(8):5402-12. Erratum in: *J Immunol*. 2009;182(1):726. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
53. Schetters STT, Kruijssen LJW, Crommentuijn MHW, Kalay H, den Haan JMM, van Kooyk Y. Immunological dynamics after subcutaneous immunization with a squalene-based oil-in-water adjuvant. *FASEB J*. 2020;34(9):12406-18. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
54. Yang J, Zhang J, Han T, Liu C, Li X, Yan L, et al. Effectiveness, immunogenicity, and safety of influenza vaccines with MF59 adjuvant in healthy people of different age groups: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(7):e19095. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
55. Watterson D, Wijesundara DK, Modhiran N, Mordant FL, Li Z, Avumegah MS, et al. Pre-clinical development of a molecular clamp-stabilised subunit vaccine for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Clin Transl Immunology*. 2021;10(4):e1269. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]

56. Desai KN, Wei H, Lamartiniere CA. The preventive and therapeutic potential of the squalene-containing compound, Roidex, on tumor promotion and regression. *Cancer Lett.* 1996;101(1):93-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
57. Yamaguchi T, Nakagawa M, Hidaka K, Yoshida T, Sasaki T, Akiyama S, et al. Potentiation by squalene of antitumor effect of 3-[(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl]-1-(2-chloroethyl)-nitrosourea in a murine tumor system. *Jpn J Cancer Res.* 1985;76(10):1021-6. [[PubMed](#)]
58. Soppimath KS, Aminabhavi TM, Kulkarni AR, Rudzinski WE. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *J Control Release.* 2001;70(1-2):1-20. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
59. Wang JJ, Sung KC, Yeh CH, Fang JY. The delivery and antinociceptive effects of morphine and its ester prodrugs from lipid emulsions. *Int J Pharm.* 2008;353(1-2):95-104. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
60. Fox CB. Squalene emulsions for parenteral vaccine and drug delivery. *Molecules.* 2009;14(9):3286-312. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
61. Kwon SM, Nam HY, Nam T, Park K, Lee S, Kim K, et al. In vivo time-dependent gene expression of cationic lipid-based emulsion as a stable and biocompatible non-viral gene carrier. *J Control Release.* 2008;128(1):89-97. Erratum in: *J Control Release.* 2009;140(1):74. Kim, Jun [corrected to Kim, Joon]. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
62. Chung H, Kim TW, Kwon M, Kwon IC, Jeong SY. Oil components modulate physical characteristics and function of the natural oil emulsions as drug or gene delivery system. *J Control Release.* 2001;71(3):339-50. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
63. Desmaële D, Gref R, Couvreur P. Squalenoylation: a generic platform for nanoparticulate drug delivery. *J Control Release.* 2012;161(2):609-18. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
64. Reid JM, Qu W, Safgren SL, Ames MM, Krailo MD, Seibel NL, et al. Phase I trial and pharmacokinetics of gemcitabine in children with advanced solid tumors. *J Clin Oncol.* 2004;22(12):2445-51. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
65. Aghaei M, Erfani-Moghadam V, Daneshmandi L, Soltani A, Abdolahi N, Cordani M, et al. Non-ionic surfactant vesicles as novel delivery systems for sulfasalazine: evaluation of the physicochemical and cytotoxic properties. *J Mol Struct.* 2021;1230. [[Crossref](#)]
66. Feng J, Lepetre-Mouelhi S, Gautier A, Mura S, Cailleau C, Coudore F, et al. A new painkiller nanomedicine to bypass the blood-brain barrier and the use of morphine. *Sci Adv.* 2019;5(2):eaau5148. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
67. Schultze V, D'Agosto V, Wack A, Novicki D, Zorn J, Hennig R. Safety of MF59 adjuvant. *Vaccine.* 2008;26(26):3209-22. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
68. Ketomäki A, Gylling H, Miettinen TA. Removal of intravenous Intralipid in patients with familial hypercholesterolemia during inhibition of cholesterol absorption and synthesis. *Clin Chim Acta.* 2004;344(1-2):83-93. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
69. Pellegrini M, Nicolay U, Lindert K, Groth N, Della Cioppa G. MF59-adjuvanted versus non-adjuvanted influenza vaccines: integrated analysis from a large safety database. *Vaccine.* 2009;27(49):6959-65. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
70. Yaman G, Berktaş M, Güdücüoğlu H. Tartışılan adjuvan: skualen [Squalene: the controversial adjuvant]. *ANKEM Derg.* 2012;26(1):46-54. [[Crossref](#)]
71. Tateno M, Stone BJ, Srodulski SJ, Reedy S, Gawriluk TR, Chambers TM, et al. Synthetic biology-derived triterpenes as efficacious immunomodulating adjuvants. *Sci Rep.* 2020;10(1):17090. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
72. Popa I, Băbeanu NE, Niță, S, Popa O. Squalene-natural resources and applications. *Far-macia.* 2014;62(5):840-62. [[Link](#)]
73. Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, (2014-2022). Squalene Market by Source. [[Link](#)]