



**T. C.**

**ORDU ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TOPLUMUMUZDA AĞRI KESİCİ İLAÇ OLARAK  
KULLANILAN BAZI İLAÇLARIN ANTİMİKROBİYAL VE  
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ**

**AYFER DEĞİRMENCİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**ORDU 2021**

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

**Ayfer DEĞİRMENCİ**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

### TOPLUMUMUZDA AĞRI KESİCİ İLAÇ OLARAK KULLANILAN BAZI İLAÇLARIN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ

AYFER DEĞİRMENCİ

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 97 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. Ömer ERTÜRK)

Ağrı kesici olarak kullanılan ve ticari olarak üretilen ve içlerinde bulunan etken maddelerin ilaç formundaki bu etken (Tramadol HCl, 100 mg/2 ml), (Diklofenak sodyum, 75 mg/3 ml), (Meloksikam, 15 mg/1.5 ml), (Deksketoprofen trometamol, 50 mg/2 ml), (Metamizol sodyum, 1 g/2 ml), (Diklofenak sodyum, 75 mg/3 ml), (Deksiketoprofen trometamol, 50 mg/2 ml) ve (Parasetamol, 1 g/1 ml) maddelerinin sitotoksitesi insan akciğer epitel hücreleri (BEAS-2B) kullanılarak değerlendirildi. 24, 48 ve 72 saatlik maruziyetlerin MTT test sonuçlarına göre her bir ilacın seyreltilerek uygulanan konsantrasyonlarında hücre canlılığında konsantrasyona artışına bağlı bir azalma gözlemlendi. Sadece, Novalgin adlı ilaçta MTT test sonuçları, oluşan mor renkten dolayı doğru okuma yapılamadığı için sağlıklı sonuçlar vermedi ve değerlendirilmeye alınmadı. Novalgin hariç test edilen tüm ilaçlarda sitotoksitenin de doza bağlı bir şekilde artış gösterdiği görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** Ağrı kesici ilaçlar, Antimikrobiyal, sitotoksite.

## **ABSTRACT**

### **ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SOME DRUGS USED AS PAIN-KILLING MEDICINES IN OUR SOCIETY**

**AYFER DEĞİRMENCİ**

**ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS**

**MASTER THESIS, 97 PAGES**

**(SUPERVISOR: Assoc. Prof. Dr. Ömer ERTÜRK**

This active ingredient in drug form (Tramadol HCl, 100 mg / 2 ml), (Diclofenac sodium, 75 mg / 3 ml), (Meloxicam, 15 mg / 1.5 ml) , (Dexketoprofen trometamol, 50 mg / 2 ml), (Metamizole sodium, 1 g / 2 ml), (Diclofenac sodium, 75 mg / 3 ml), (Dexketoprofen trometamol, 50 mg / 2 ml) and (Paracetamol, 1 g / 1 ml) were evaluated using human lung epithelial cells (BEAS-2B). According to the MTT test results of 24, 48 and 72 hours exposures, a decrease in concentration-dependent decrease in cell viability was observed in the diluted applied concentrations of each drug. MTT test results of the drug named Novalgin did not give healthy results and were not evaluated because correct reading could not be made due to the purple color. Cytotoxicity was also increased in a dose-dependent manner in all drugs tested except Novalgin.

**Keywords:** Pain killer drugs, Antimicrobial, Cytotoxicity

## TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, çalışmanın yürütülmesi ve yazımı esnasında başta danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ömer ERTÜRK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca desteklerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Melek ÇOL AYVAZ ve Doç. Dr. Zülal ATLI ŞEKEROĞLU hocalarıma çok teşekkür ederim. Tez çalışmalarım boyunca gerek Laboratuvar gerekse diğer aşamalarda yardım ve desteğini esirgemeyen Alev ÇALDAŞ'a teşekkür ederim.

Aynı zamanda, manevi desteklerini her an üzerimde hissettiğim aileme teşekkürü bir borç bilirim.



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

|                                                                                                                       |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>TEZ BİLDİRİMİ</b> .....                                                                                            | I   |
| <b>ÖZET</b> .....                                                                                                     | II  |
| <b>ABSTRACT</b> .....                                                                                                 | III |
| <b>TEŞEKKÜR</b> .....                                                                                                 | IV  |
| <b>İÇİNDEKİLER</b> .....                                                                                              | V   |
| <b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....                                                                                            | VII |
| <b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....                                                                                          | IX  |
| <b>SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ</b> .....                                                                          | X   |
| <b>1. GİRİŞ</b> .....                                                                                                 | 1   |
| 1.1 Ağrı .....                                                                                                        | 1   |
| 1.2 Ağrının Algılanması.....                                                                                          | 2   |
| 1.3 Ağrının Sınıflandırılması .....                                                                                   | 5   |
| 1.4 Ağrı Üzerinde Non-steroid Anti-İnflamatuar İlaçlar (NSAİİ)'ın Etkisi .....                                        | 8   |
| 1.5 Non-steroid Anti-İnflamatuar İlaçlar ve Özellikleri .....                                                         | 8   |
| 1.6 Non-steroid Anti-İnflamatuar İlaçların Yararlı Özellikleri .....                                                  | 12  |
| 1.7 Etken Maddesi Metamizol Olan Opioid Olmayan Analjezikler, Özellikleri, Etki, Mekanizması ve Yan Etkileri .....    | 13  |
| 1.8 Etken Maddesi Diklofenak Sodyum Olan (NSAİ) İlaçlar, Özellikleri, Etki Mekanizması ve Yan Etkileri .....          | 16  |
| 1.9 Etkin Maddesi Parasetamol Olan Analjezikler, Özellikleri, Etki Mekanizması, Yan Etkileri .....                    | 18  |
| 1.10 Etken Maddesi Deksketoprofen Olan (NSAİ) İlaçlar, Özellikleri, Etki Mekanizması .....                            | 22  |
| 1.11 Etken Maddesi Tramadol Olan İlaçlar, Özellikleri, Mekanizması ve Yan Etkileri .....                              | 22  |
| 1.12 Etken Maddesi Meloksikam (NSAİ) İlaçlar, Özellikleri, Mekanizması ve Yan Etkileri .....                          | 24  |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....                                                                                        | 27  |
| <b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....                                                                                    | 31  |
| 3.1 Besiyerleri .....                                                                                                 | 31  |
| 3.2 Mikroorganizmalar.....                                                                                            | 31  |
| 3.3 Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması ve Ağrıkesici İlaçların Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi..... | 31  |
| 3.4 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)' nun Mikrodilüsyon Yöntemiyle Belirlenmesi.....                           | 32  |
| 3.5 DPPH Serbest Radikalı Temizleme Aktivitesinin Belirlenmesi.....                                                   | 33  |
| 3.6 FRAP Metodu ile Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi .....                                                        | 34  |
| 3.7 ABTS <sup>+</sup> Testi ile Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....                                             | 35  |
| 3.8 Hücre Kültürü ve Tedavisi .....                                                                                   | 35  |
| 3.9 Hücrelerin Pasajlanması.....                                                                                      | 36  |
| 3.10 Deney Gruplarının Oluşturulması .....                                                                            | 36  |
| 3.11 Hücre Canlılığı ve Sitotoksite .....                                                                             | 39  |
| 3.12 İstatistiksel Analiz.....                                                                                        | 39  |
| <b>4. BULGULAR ve TARTIŞMA</b> .....                                                                                  | 40  |

|                                                                                     |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.1 Ağrı Kesici İlaçların Antimikrobiyal Aktivite Açısından Değerlendirilmesi ..... | 40        |
| 4.2 Sitotoksosite ve Antioksidan Değerlendirme.....                                 | 52        |
| 4.3 Hücre Canlılığı ve Sitotoksosite Bulguları .....                                | 58        |
| <b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>                                                    | <b>81</b> |
| <b>6. KAYNAKLAR .....</b>                                                           | <b>83</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>                                                                | <b>97</b> |



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

|            |                                                                                                                                               |    |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.1  | Metamizol metabolizması.....                                                                                                                  | 15 |
| Şekil 1.2  | Diklofenak sodyumun moleküler yapısı.....                                                                                                     | 16 |
| Şekil 1.3  | Parasetamolün kimyasal formülü. ....                                                                                                          | 19 |
| Şekil 3.1  | Disk difüzyon deneyi.....                                                                                                                     | 32 |
| Şekil 3.2  | Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC)'nun mikrodilüsyon .....                                                                               | 33 |
| Şekil 4.1  | Tüm ilaçların 24 saatteki kontrol görüntüsü.....                                                                                              | 59 |
| Şekil 4.2  | Tüm ilaçların 48 saatteki kontrol görüntüsü.....                                                                                              | 59 |
| Şekil 4.3  | Tüm ilaçların 72 saatteki kontrol görüntüsü.....                                                                                              | 59 |
| Şekil 4.4  | Metamizol etken maddeli 1 numaralı ilacın, BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. ....                                             | 60 |
| Şekil 4.5  | Metamizol etken maddeli 1 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....            | 60 |
| Şekil 4.6  | Metamizol etken maddeli 1 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....            | 61 |
| Şekil 4.7  | Metamizol etken maddeli 1 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....            | 61 |
| Şekil 4.8  | Tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilacın, BEAS-2 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. ....                                   | 62 |
| Şekil 4.9  | Tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). .... | 63 |
| Şekil 4.10 | Tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). .... | 63 |
| Şekil 4.11 | Tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). .... | 64 |
| Şekil 4.12 | Diklofenak sodyum-1 etken maddeli 3 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. ....                                    | 65 |
| Şekil 4.13 | Diklofenak sodyum-1 etken maddeli 3 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....  | 65 |
| Şekil 4.14 | Diklofenak sodyum-1 etken maddeli 3 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....  | 66 |
| Şekil 4.15 | Diklofenak sodyum-1 etken maddeli 3 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....  | 66 |
| Şekil 4.16 | Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. ....                                             | 67 |
| Şekil 4.17 | Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....           | 68 |
| Şekil 4.18 | Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....           | 68 |
| Şekil 4.19 | Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....           | 69 |
| Şekil 4.20 | Deksketoprofen-1 etken maddeli 5 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. ....                                       | 70 |
| Şekil 4.21 | Deksketoprofen-1 etken maddeli 5 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....     | 70 |

|                                                                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 4.22</b> Deksketoprofen-1 etken maddeli 5 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....            | 71 |
| <b>Şekil 4.23</b> Deksketoprofen-1 etken maddeli 5 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....            | 71 |
| <b>Şekil 4.24</b> Diklofenak sodyum-2 etken maddeli 2 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. ....                                           | 72 |
| <b>Şekil 4.25</b> Diklofenak sodyum-2 etken maddeli 2 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....         | 73 |
| <b>Şekil 4.26</b> Diklofenak sodyum-2 etken maddeli 2 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....         | 73 |
| <b>Şekil 4.27</b> Diklofenak sodyum-2 etken maddeli 2 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....         | 74 |
| <b>Şekil 4.28</b> Deksketoprofen trometanol-2 etken maddeli 6 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. ....                                   | 75 |
| <b>Şekil 4.29</b> Deksketoprofen trometanol-2 etken maddeli 6 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). .... | 75 |
| <b>Şekil 4.30</b> Deksketoprofen trometanol-2 etken maddeli 6 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). .... | 76 |
| <b>Şekil 4.31</b> Deksketoprofen trometanol-2 etken maddeli 6 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). .... | 76 |
| <b>Şekil 4.32</b> Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. ....                                                   | 77 |
| <b>Şekil 4.33</b> Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....                 | 78 |
| <b>Şekil 4.34</b> Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....                 | 78 |
| <b>Şekil 4.35</b> Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar). ....                 | 79 |

## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

|                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Çizelge 1.1</b> Çalışma kapsamında incelenen ilaçların etkin madde içerikleri.....                                    | 13 |
| <b>Çizelge 3.1</b> Oluşturulan deney grupları. ....                                                                      | 38 |
| <b>Çizelge 4.1</b> Bazı ağrı kesici ilaçların bazı patojen mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkileri. ....       | 47 |
| <b>Çizelge 4.2</b> Tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilacın IC <sub>50</sub> değeri. ....                    | 64 |
| <b>Çizelge 4.3</b> Diklofenak sodyum-1 etken maddeli 3 numaralı ilacın IC <sub>50</sub> değeri. ....                     | 67 |
| <b>Çizelge 4.4</b> Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilacın IC <sub>50</sub> değeri. ....                              | 69 |
| <b>Çizelge 4.5</b> Deksketoprofen-1 etken maddeli 5 numaralı ilacın IC <sub>50</sub> değeri. ....                        | 72 |
| <b>Çizelge 4.6</b> Diklofenak sodyum-2 etken maddeli 2 numaralı ilacın IC <sub>50</sub> değeri. ....                     | 74 |
| <b>Çizelge 4.7</b> Deksketoprofen trometanol-2 etken maddeli 6 numaralı ilacın IC <sub>50</sub> değeri. ....             | 77 |
| <b>Çizelge 4.8</b> Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın IC <sub>50</sub> değeri. ....                             | 79 |
| <b>Çizelge 4.9</b> BEAS-2B hücrelerinin ilaçlar ile muamele edilmesi sonucu elde edilen IC <sub>50</sub> değerleri. .... | 80 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

---

|              |                                                   |
|--------------|---------------------------------------------------|
| <b>AA</b>    | : Araşidonik Asit                                 |
| <b>COX</b>   | : Siklooksigenaz                                  |
| <b>GST</b>   | : Glutasyon-S-transferaz                          |
| <b>IASP</b>  | : International Association For The Study Of Pain |
| <b>LDH</b>   | : Laktat Dehidrogenaz                             |
| <b>LPS</b>   | : Lipopolisakkarit                                |
| <b>KYY</b>   | : Kaudal Yüzgeç Yüksekliği                        |
| <b>MAA</b>   | : N-metil-4-aminoantipirine                       |
| <b>NAPQI</b> | : N-asetil-p-benzoquinimin                        |
| <b>NSAID</b> | : Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar             |
| <b>ROT</b>   | : Reaktif Oksijen Türleri                         |

---

# 1. GİRİŞ

## 1.1 Ağrı

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (*International Association for the Study of Pain=IASP*) tarafından 1979 yılında yapılan tanıma göre ağrı; “gerçek bir doku hasarı veya olası bir doku hasarına eşlik eden, bu hasar ile ilişkili hoş olmayan duyuşsal ve duygusal bir deneyim” olarak tarif edilmiştir (Merskey ve Bugduk, 1994). Bu tanımdan, ağrının birden fazla boyut içeren karmaşık bir deneyim olduğu ve ayrıca öznel bir durum olduğu anlaşılmaktadır.

Ağrı çok geniş tanımları olabilen karmaşık bir durumdur. Ayrıca ağrı ölçülebilen bir olgu değildir ve kişiden kişiye büyük farklılıklar gösterir. Bunun sebebi de birçok faktörün (din, dil, ırk, cinsiyet, sosyokültürel çevre vb.) ağrı eşiğini, dolayısıyla da ağrılı uyarana tepkiyi belirlemesidir (Zimmermann, 2001). Ağrı tek bir faktöre göre sınıflandırılmamaktadır. Ağrının anatomik yerleşimi, ağrıdan müzdarip olma süresi, ağrının şiddeti, ağrının sıklığı ve etyolojiye göre sınıflandırılmaktadır (Thienhaus ve Cole, 2002). Tüm bunlara ek olarak kültür, kişilik özellikleri, psikososyal stres faktörleri, beslenme durumu ve diğer hastalık durumları gibi birçok faktör, algılanan ağrının derecesini etkileyebilir ve ağrının nedensel faktörlerinin anlaşılmasını kompleks hale sokabilir.

İnsanoğlunun en yakından bildiği, en rahatsız edici tecrübelerden bir tanesi ağrıdır. İnsanlık tarihi boyunca en önemli sağlık sorunlarından biri olmuş, günümüzde de hem gelişmiş, hem de gelişmekte olan toplumlarda sağlık yardımı arama sebepleri arasında ilk sıralara yükselmiştir. Dünya çapında sağlık giderlerinin önemli bir kısmı ağrı kesici ilaçlara harcanmaktadır. Geçmişte sadece çeşitli hastalıkların bir bulgusu olarak kabul görmüş olsa da Ağrı (özellikle kronik ağrı), günümüzde artık başlı başına bir hastalık, bir sendrom olarak kabul edilmektedir. Kronik ağrı, aylar hatta yıllar boyunca süren ve uzun süreli tedavi gerektiren, duyuşsal, duygusal, davranışsal ve bilişsel bileşenleri içeren öznel ve çok boyutlu ağrı olarak tanımlanmaktadır. Bu ağrı durumu tüm klinisyenlerin çok kez karşılaştığı ciddi bir sağlık sorunudur. Sağlık harcamalarında önemli derecedeki artışın yanı sıra hastanın işlevselliğinin bozulmasına, işgücünün düşmesine yol açmaktadır (Mersky, 1994; Gonzales ve ark., 2000). Kronik ağrı sendromları yüzünden pek çok insan acı çekmekte ama pek azı doğru ve yeterli tedavi görmektedir. Kronik ağrı dünya çapında önemli bir halk sağlığı

sorunudur ve yılda 100 milyar doları aşan muazzam bir sosyoekonomik maliyet uygulamaktadır (Mc Carberg ve Billington, 2006).

Ağrı, hayatta kalmak için gerekli olan önemli, evrimsel olarak korunan bir fizyolojik fenomendir. Aynı zamanda ağrı, çeşitli patolojik bozuklukların en sık görülen semptomlarından biridir (Gangadharan ve Kuner, 2013). Günümüzde ağrının kontrolünde yaygın olarak farmakolojik yöntem olarak ilaçlar kullanılmaktadır. Ağrı kontrolünde analjezik tedavisi, çabuk etki göstermesi ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle ağrının giderilmesinde en çok tercih edilen tedavi yöntemidir. Analjeziklerin bilinçsiz ve yoğun bir şekilde kullanılmasının birey ve ülke ekonomisine getirdiği yük, bazı fizyolojik fonksiyonlara olumsuz etkisi ve özellikle narkotiklerin kullanıldığı durumlarda her defasında dozun artırılması nedeniyle tolerans gelişmesi gibi olumsuz yönleri vardır (McCarberg ve Billington, 2006).

## **1.2 Ağrının Algılanması**

Doku hasarı ve ağrı sürecinin oluştuğu bu karmaşık elektrokimyasal olay bütünü nosisepsiyon olarak tanımlanmaktadır. Nosisepsiyon, doku hasarı ile ilgili bilgilerin merkezi sinir sistemine (MSS) iletildiği süreci ifade eder. Bu bilginin nihayetinde tam olarak nasıl acı verici olarak algılandığı belirsizdir. Ağrı algılayan olarak bilinen ve çeşitli uyarılarla cilt ve diğer dokularda bulunan ağrı algılayıcılara nosiseptör adı verilmektedir. Ek olarak, nosisepsiyon olmaksızın ağrı (Örneğin, fantom uzuv ağrısı) ve ağrı olmadan nosisepsiyon olabilir. Herhangi bir uyarı ile nosiseptörlerin uyarılır ve oluşan ağrı durumu çeşitli aşamalar ile MSS'ne iletilir ve algı oluşturur (Woolf, 1989).

Ağrının algılanması aşağıdaki dört aşamayı içermektedir (Fields, 1987; Besson ve Chaouch, 1987; Chapman ve Nakamura, 1999; Pasero ve ark., 1999).

Transdüksiyon, Enerjinin, nosiseptörler adı verilen duyuşal reseptörler tarafından zararlı bir termal, mekanik veya kimyasal uyarıdan elektrik enerjisine (sinir uyarıları) dönüştürülmesidir. Stimulusun, sinirlerin sensoryal ucunda elektriksel aktiviteye dönüştüğü bir aşamadır (Byers ve Bonica, 2001). Nosiseptörler, doku travmasına veya uzun süre dokuya zarar verebilecek bir uyarıya tercihen duyarlı olan duyuşal reseptörlerdir (Merskey ve Bugduk, 1994). Bu reseptörler, çeper boyunca dağılmış (birincil iletilici) sinir liflerinin serbest uçlarıdır. Bu nosiseptörlerden gelen

sinyaller esas olarak iki fiber türü boyunca hareket eder: yavaşça iletilen miyelinsiz C-lifleri ve küçük, miyelinli ve daha hızlı ileten A-delta lifleri. Doku hasarı, hücrelerin parçalanmasına ve çeşitli doku yan ürünlerini ve inflamasyon araçlarını (Örn., prostaglandinler, P maddesi, bradikinin, histamin, serotonin, sitokinler) salmasına neden olur (Byers ve Bonica, 2001; Meyer ve ark., 1994). Bu maddelerin bazıları nosiseptörleri aktive eder (yani, sinir uyarıları oluşturmalarına neden olur) ve çoğu nosiseptörü hassaslaştırır (yani uyarılabilirliklerini ve boşaltma sıklıklarını artırır) (Woolf, 1989; Costigan ve Woolf, 2000). Nosiseptörlerin devam eden aktivasyonu, nosiseptif ağrıya neden olabilir. Periferik (nosiseptör) duyarlılık, sinyal iletimini güçlendirir ve böylece merkezi hassasiyete ve klinik ağrı durumlarına katkıda bulunur (Woolf, 1993). Bu aşamada ki klinik yaklaşımlara bakılacak olursa bazı analjezikler, hassaslaşmaya sebep olan iltihaplanma sürecini hedef alır. Örneğin, nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar (NSAID'ler) siklooksijenazı (COX) inhibe ederek prostaglandinlerin sentezini azaltır (Vane, 1971; Simith ve Willis, 1971). Diğer analjezikler (Örn., antiepileptik ilaçlar, lokal anestetikler) kanalları bloke eder veya modüle eder, böylece sinir uyarılarının oluşumunu engeller.

İletim, bu nöral sinyallerin transdüksiyon bölgesinden (periferiden) omuriliğe ve beyne iletilmesidir. Duyusal sinir uyarılarının çoğu, birincil afferent nöronların sinir süreçleri (aksonlar) yoluyla omuriliğin dorsal boynuzuna (DH) gider (Craig, 1991). Orada, birincil afferent nöronlar, hücreler arasındaki sinapslarda (bağlantılar) uyarıcı amino asitlerin (EAA'lar) (Örn., glutamat, aspartat) ve nöropeptitlerin (Örn., P maddesi) salınması yoluyla sinir uyarılarını DH nöronlarına yayarlar (Terman ve Bonica, 2001). Aktifleştirilmiş DH projeksiyon nöronları, beyne doğru nosiseptif dürtüleri iletir. Bununla birlikte, DH'deki tüm olaylar nosisepsiyonu kolaylaştırmaz. Spinal internöronlar, primer afferent ve DH nöronları üzerindeki reseptörlere bağlanan ve presinaptik ve postsinaptik mekanizmalarla nosiseptif iletimi inhibe eden inhibe edici amino asitler (Örn., Aminobutirik asit [GABA]) ve nöropeptitler (endojen opioidler) salgılar (Terman ve Bonica, 2001; Jeftiniaja 1988; Hori ve ark., 1992; Schneider ve ark., 1998). Beyinden azalan inhibitör girdi de DH nosiseptif iletimini modüle eder. Bu nedenle, DH'deki nosiseptif trafik yalnızca daha yüksek merkezlere iletilmez, bunun yerine büyük ölçüde modüle edilir. Bu inhibe edici olaylar, nosiseptif sinyal verme sisteminin aktivitesini dengeleyen doğal bir nosiseptif modüle edici

sistemin parçasıdır. DH projeksiyon nöronlarının sinir süreçleri, yükselen yollar adı verilen demetler halinde beyne yansıtılır. Bazı DH bölgelerinden gelen projeksiyon nöronları, nosiseptif sinyalleri spinotalamik yol (STT) yoluyla talamusa iletir (Terman ve Bonica, 2001; Guilbaud ve ark., 1994). Diğerleri nosiseptif bilgiyi spinoretiküler, spinomesensefalik ve spinohipotalamik yollar aracılığıyla retiküler oluşum, mezensefalon ve hipotalamusa iletir (Chapman ve Nakamura, 1999; Wills ve Westlund 1997). Omurilikten merkezi yapılara (beyne) çok sayıda nosiseptif geçiş yolu vardır. Bu aşamadaki klinik yaklaşıma baktığımızda; bazı analjezikler DH'de nosisepsiyonu engeller. Örneğin, opioid analjezikler, birincil aferent ve DH nöronları üzerindeki opioid reseptörlerine bağlanır ve endojen opioidlerin inhibe edici etkilerini taklit eder. Aynı zamanda beyindeki opioid reseptörlerine bağlanırlar ve DH nosiseptif iletimini daha da engelleyen alçalan yolları aktive ederler (Duggan, 1983). Bir GABA agonisti olan baklofen isimli ilaç, GABAB reseptörlerine bağlanır ve GABA'nın nosiseptif iletim üzerindeki inhibe edici etkilerini taklit eder (Portenoy, 1996).

Modülasyon, Omurilik seviyesinde nosiseptif iletimi etkileyen (modüle eden) beyinden azalan inhibitör ve kolaylaştırıcı girdi. Nosiseptif iletimin modülasyonu, çoklu (periferik, spinal, supraspinal) seviyelerde meydana gelir. Yine de, tarihsel olarak, modülasyon, beyinden azalan inhibitör girdiyle DH iletiminin zayıflaması olarak görülmüştür. Melzack ve Wall's Gate Kontrol Teorisi bu görüşü 1965'te öne çıkardı (Melzack ve Wall, 1965). Azalan ağrı sistemlerinin modelleri artık hem engelleyici hem de kolaylaştırıcı alçalan yolları içermektedir. Birden fazla beyin bölgesi, azalan engelleyici yollara katkıda bulunur (Terman ve Bonica, 2001). Bu yollardan gelen sinir lifleri, DH'deki diğer nöronlarla sinapslarda inhibe edici maddeler (Örn., endojen opioidler, serotonin, norepinefrin, GABA) salgılar. Bu maddeler, birincil aferent ve/veya DH nöronları üzerindeki reseptörlere bağlanır ve nosiseptif iletimi inhibe eder. Bu tür endojen modülasyon, benzer yaralanmaları olan hastalar arasında gözlemlenen ağrı algısındaki geniş varyasyonlara katkıda bulunabilir. (Fields, 1987; Basbaum ve Fields, 1984; Hammond, 1986). Bu aşamadaki klinik yaklaşım baktığımızda; bazı analjezikler, azalan inhibitör girdinin etkilerini artırır. Örneğin, bazı antidepresanlar, sinapslarda serotonin ve norepinefrinin geri alımına müdahale ederek, göreceli interstisyel konsantrasyonlarını (mevcudiyetlerini) (Wallace, 1992; Walsh, 1983) ve endojen ağrı modüle edici yolların aktivitesini artırır (Besson ve

Chaouch, 1987; Basbaum ve Fields, 1984; Yaksh, 1979). Bu nedenle, tümü olmasa da antidepresanlar bazı kronik ağrı türlerini tedavi etmek için kullanılır.

Algı, Daha yüksek yapılara gelen sinyallerin acı olarak değerlendirilmesidir. Ağrı algısı, vücudun bir kısmının rahatsız edici bir farkındalığıdır ve belirgin şekilde hoş olmayan bir his ve en iyi tehdit olarak tanımlanan olumsuz duygu ile karakterize edilir. Hem kortikal hem de limbik sistem yapıları söz konusudur (Chapman, 2001). Bazı DH projeksiyon nöronlarından gelen nosiseptif bilgiler, talamus yoluyla kontralateral somatosensoriyel kortekse (Terman ve Bonica, 2001), ağrının yeri, yoğunluğu ve kalitesi hakkındaki bilgileri korumak için girdinin somatotopik olarak haritalandığı yere gider (Guilbaud ve ark., 1994; Covington, 2000). Talamus, limbik sisteme diğer nosiseptif girdileri aktarır (Willis ve Westlund, 1997). Bu girdi, ağrının duygusal yönlerine aracılık etmek için spinoretiküler ve spinomesensefalik yollardan gelen girdileri birleştirir (Fields, 1987). Anlık sosyal ve çevresel bağlam, geçmiş deneyim ve kültürde olduğu gibi ağrı algısını etkiler. Sonuç olarak, standart bir ağrı nedeni (Örn., ameliyat), ağrı algısında muazzam bireysel farklılıklar oluşturabilir.

### **1.3 Ağrının Sınıflandırılması**

Ağrı sınıfları tanı koymasa da, ağrıyı kategorize etmek tedaviye rehberlik etmeye yardımcı olur. Ağrıyı sınıflandırmak için birden fazla sistem mevcuttur. Bunlar, IASP Kronik Ağrı Sınıflandırması (Merskey ve Bugduk, 1994) gibi çok boyutlu sınıflandırma sistemlerini ve ağrı deneyiminin tek bir boyutuna dayanan çeşitli sistemlerini içerir.

Ağrı farklı şekillerde sınıflandırılabilir. En yaygın olarak, süreye göre (akut ve kronik), patofizyolojik mekanizmaya göre (nosiseptif ve nöropatik ağrı), etiyolojiye göre (kötü huylu ve kötü huylu olmayan) ve Ağrının anatomik konumuna göre, olmak üzere sınıflandırılabilir.

Ağrının başlama süresine göre sınıflandırılması;

1) Akut ağrı: bir zamanlar basitçe süre açısından tanımlanmıştı. Artık "doku travmasına yanıt olarak ortaya çıkan duygusal ve bilişsel ve ayrıca duyuşal özelliklerle karmaşık, hoş olmayan bir deneyim" olarak görülüyor (Chapman ve Nakamura, 1999). Kronik ağrının tersine, göreceli olarak yüksek seviyelerde patoloji genellikle akut ağrıya eşlik eder ve ağrı, altta yatan yaralanmanın iyileşmesiyle düzelir. Akut ağrı

genellikle nosiseptiftir ancak nöropatik olabilir. Yaygın akut ağrı kaynakları arasında travma, ameliyat, doğum eylemi, tıbbi prosedürler ve akut hastalık durumları bulunur. Akut ağrı, yaralanma potansiyeli veya boyutu konusunda uyarıda bulunduğundan önemli bir biyolojik işleve hizmet eder. Bir dizi koruyucu refleks (Örn., hasarlı bir uzvun çekilmesi, kas spazmı, otonomik tepkiler) sıklıkla buna eşlik eder. Ancak akut yaralanmanın yol açtığı "stres hormonu tepkisi" de olumsuz fizyolojik ve duygusal etkilere sahip olabilir (Jacox ve ark., 1992). Ağrılı uyarımın kısa aralıkları bile acıya, nöronal yeniden şekillenmeye ve kronik ağrıya neden olabilir; (Carr ve Goudas, 1999) ilişkili davranışlar (Örn., destekleme, anormal duruşlar, aşırı uzanma) kronik ağrı gelişimine daha da katkıda bulunabilir. Bu nedenle, kronik ağrı durumlarına ilerleme dahil komplikasyonları azaltmak için akut ağrının agresif bir şekilde önlenmesine ve tedavisine artan ilgi odaklanmaktadır (Coda ve Bonica, 2001).

2) Kronik Ağrı, bir zamanlar beklenen iyileşme döneminin başlangıcından 3 veya 6 ay sonrasına uzanan ağrı olarak tanımlanmıştı (Turk ve Okifuji, 2001). Bununla birlikte, yeni tanımlamalar kronik ağrıyı akut ağrıdan zamandan daha fazlasına dayalı olarak ayırmaktadır. Kronik ağrı artık, genellikle düşük olan ve ağrının varlığını ve / veya kapsamını açıklamak için yetersiz olan tanımlanmış patoloji seviyeleriyle birlikte iyileşme döneminin ötesine uzanan ağrı olarak kabul edilmektedir (Jacobsen ve Mariano, 2001). Kronik ağrı, "uykuyu ve normal yaşamı bozan, koruyucu bir işlev görmeyi bırakan ve bunun yerine sağlığı ve işlevsel kapasiteyi azaltan" kalıcı bir ağrı olarak da tanımlanır (Chapman ve Stillman, 1996). Bu nedenle, akut ağrının aksine, kronik ağrı uyarlanabilir bir amaca hizmet etmez. Kronik ağrı nosiseptif, nöropatik veya her ikisi olabilir ve yaralanma (Örn., travma, cerrahi), habis koşullar veya çeşitli kronik yaşamı tehdit etmeyen koşullardan (Örn., artrit, fibromiyalji, nöropati) kaynaklanabilir. Bazı durumlarda, kronik ağrı, görünürde bir neden olmaksızın de novo mevcuttur. Yaralanma sıklıkla kronik ağrıyı başlatsa da, patojenetik ve fiziksel olarak nedeninden uzak faktörler ağrıyı devam ettirebilir (Turk ve Okifuji, 2001). Çevresel ve duygusal faktörler de kronik ağrıyı şiddetlendirebilir ve devam ettirerek sakatlığa ve uyumsuz davranışlara yol açabilir.

## Ağrının patofizyolojik mekanizmaya göre sınıflandırılması

1) Nöreseptif ağrı, nöreseptif sinir liflerinin fiziksel doku tahribatı veya kimyasal, basınç veya termal işlemlerle aktivasyonundan kaynaklanır. Nöreseptif somatik ağrı; deri, kas, yumuşak doku veya kemiğin yaralanmasından kaynaklanabilir ve güçlü bir olay veya hareketle ilgili bileşene sahip olabilir. Genellikle iyi lokalizedir, sabit veya aralıklı olabilir ve genellikle hareketle keskinleşebilen kemiren veya ağrıyan ağrı olarak tanımlanır. Nöreseptif viseral ağrı tipik olarak daha az lokalizedir, genellikle sabittir ve yönlendirilebilir (Örn., Diyafram ağrısı omuz ağrısı olarak ortaya çıkabilir). Genellikle ağrı, sıkma ve kramp gibi çeşitli terimlerle tanımlanır. Karaciğer metastazlarından kaynaklanan ağrı, nöreseptif viseral ağrıya bir örnektir (Emanuel ve Librach, 2011). Ek olarak Nöreseptif ağrı somatik veya viseral ağrı olarak sınıflandırılır: Somatik ağrı, yüzeysel dokularda (Örn., deri ve mukoza) nöreseptörlerin uyarılmasından kaynaklanır. Genellikle iyi lokalize edilmiş ağrılardır, Somatik sinir lifler ile iletilen aniden başlayan ve keskin olup, sızlama, zonklama hissedilen ağrı tipidir (Lidbeck ve ark., 1998). Ayrıca derin dokular (Örn., kemik, eklemler ve kaslar), genellikle iyi lokalize ve doğası gereği donuk veya ağrılıdır ve cilde yönlendirilebilir. Visseral ağrı, iç organlardaki nöreseptörlerin uyarılmasından kaynaklanır (Örn., İç karın organları). Genellikle iyi lokalize olmayan, dağınık ve donuk olarak tabir edilen ağrı tipidir ve yavaş yavaş artarak vücudun farklı bölgelerine yayılır. Bu ağrı, hastalıklı organla aynı duyu kökleri tarafından sağlanan deri parçalarına işaret edilebilir.

2) Nöropatik ağrı, merkezi veya periferik sinir sistemi ve hatta otonomik sistem dahil olmak üzere sinir dokusunun yaralanmasından kaynaklanır. Nöropatik ağrı sıklıkla yanma olarak tanımlanır ve sıklıkla sinirler veya sinir kökleri boyunca yayılır. Ayrıca disestezi (uyuşma ve karıncalanma), hiperaljezi (ağrılı bir uyarana abartılı yanıt), lansinasyon ağrısı ve allodini (normalde ağrı üretmeyen bir uyarandan kaynaklanan ağrı ile de ilişkilendirilebilir (Emanuel ve Librach, 2011).

## Etiyolojiye Göre Ağrının Sınıflandırılması

1) Kötü huylu ağrı, Kanserle ilişkili ağrı türüdür. Ağrı, malignitenin kendisinden veya ilgili tedaviden (kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi) kaynaklanabilir. Örneğin, kemoterapi periferik nöropatiye neden olur. Hastalarda ayrıca kronik olmaya

devam edebilen ameliyat sonrası ağrı veya radyasyon sonrası ağrı gelişebilir (Emanuel ve Librach, 2011).

2) Kötü huylu olmayan ağrı, Basitçe malignite ile ilişkili olmayan ağrıya işaret eder (Emanuel ve Librach, 2011).

#### **1.4 Ağrı Üzerinde Non-steroid Anti-İnflamatuvar İlaçlar (NSAİİ)’in Etkisi**

Ağrı, muhtemel bir doku hasarına karşı vücudumuzun uyarımını sağlamak için sinyaller üreten sinir sisteminin hayati fonksiyonlarından (Aydın and Narin, 2017). Ağrı, geçmişten günümüze birçok kez farklı algılarla deneyimlenmiştir. Ağrı keskin sınırları olmayan subjektif değerlendirmelerle, sensöryal, emosyonel, hoş olmayan bir duygu olarak tanımlanır. Ağrı nosiseptif, nöropatik ve psikojenik olabilir. Ağrı algısını gidermek üzere birçok ilaç ve yöntem başvurulmaktadır.

Son on yıldır, inflamasyonun patofizyolojisini ve reaktif oksijen türlerinin inflamasyonun patojenezindeki rolünü anlamak için büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. İnflamasyon, lökositlerin, potansiyel olarak doku hasarına neden olabilecek ajanları yok etmek için vaskülatürden hasarlı dokulara göç ettiği karmaşık bir savunma mekanizmasıdır (Abbas et al., 2014).

#### **1.5 Non-steroid Anti-İnflamatuvar İlaçlar ve Özellikleri**

Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) ağrı kesici özellikleri ile etkin bir şekilde kullanılmaktadır. NSAİİ’ler analjezik, antipiretik ve anti-inflamatuvar etki göstererek semptomatik iyileşme sağlarlar. İnflamasyon, dokunun maruz kaldığı yıpratıcı etkenlere karşı gelişen koruyucu özellikte bir cevaptır. Uyarıcı özelliği, meydana gelen doku hasarı ve gelişen cevaba bağlı olarak kronik veya akut olabilir. Hızlı başlayan akut faz kısa süreli olup, tipik olarak kızarıklık, ödem, ağrı, ısı oluşumu ve lökosit cevabı ile karakterizedir. Kronik inflamatuvar süreç ise daha uzun süre, makrofaj yanıtı ile karakterize ve çoğu kez ateroskleroz, obezite, kardiyovasküler hastalıkların yanı sıra romatoid artrit, kanser gibi patolojik ve immünolojik rahatsızlıklarda kendini göstermektedir. İnflamatuvar uyarıya maruz kalan bir dokuda inflamasyon gelişiminde prostaglandinler öncülük ederler. Prostaglandin üretiminde, siklooksijenaz (COX) izoenzimi arakidonik asit üzerinden önemli bir role sahiptir. NSAİİ’ler inflamasyon sürecinde anti-inflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkilerini siklooksijenaz enzimi (COX) inhibisyonunu göstererek böylece prostaglandin sentezini

baskılayarak sağlamaktadır. COX enzimleri (COX-1 ve COX-2), araşidonik asidi iltihaplanma, kanser ve embriyonik gelişimde rol oynayan prostaglandinlere (PG) ve tromboxan'a (Tx) dönüştüren bir dizi enzimde ilk sıradadır (Mihara and Uchiyama, 1983). Prostaglandinlerin (PG) sentez kontrolörü olan COX, COX-1 ve COX-2 olarak iki izoforma sahiptir (Yaman et al., 2017).

Daha önceki çalışmalar, Araşidonik asit (AA) yolunun aktivasyonunun, inflamasyon ve tümör oluşumunun patofizyolojik süreçlerinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Nakanishi and Rosenberg, 2013). Membran salınlı AA, derhal daha sonra Prostaglandin H<sub>2</sub>'ye (PGH<sub>2</sub>) indirgenecek olan kısmen kararsız metabolit Prostaglandin G<sub>2</sub>'ye (PGG<sub>2</sub>) oksitlenir ve bu her iki aşama siklooksijenaz (COX'ler) enzimleri tarafından katalize edilir. COX-1 ve COX-2 iki önemli izoformdur, ancak COX-2 çeşitli patofizyolojik süreçlerde rol oynayan en bol izoformdur. Birçok doku, sitokinler ve büyüme faktörleri dahil olmak üzere proenflamatuar ve mitojenik uyarılarla yüksek oranda indüklenebilir olan COX-2'yi serbest bırakır (Wang and Dubois, 2006). COX'ler ve prostaglandin (PG) endoperoksit H sentazları AA kaskadının ve steroid olmayan anti-enflamatuar ilaçların (NSAID'ler) kritik enzimleridirler ve siklooksijenazların aktif bölgesine AA'ya erişime yol açmadan primer prostanoidlerin üretiminin inhibisyonunda önemli fonksiyonlara sahiptirler (O'Banion, 1999). Kolorektal kanser (KRK) için karsinogenez stratejilerinin önlenmesine yönelik çalışmalar güçlüdür. NSAID'ler ve seçici COX-2 inhibitörleri dahil olmak üzere antienflamatuar ajanların klinik olarak umut verici olduklarını ve CRC'nin önlenmesi için en ilginç adayların gösterildiği gösterilmiştir. Bazı doğal bileşikler CRC için kemopreventif ajan olarak bildirilmiştir (Kısmalı et al., 2019).

COX1 temel olarak böbrekte eksprese edilir ve çoğunlukla böbrek hemodinamiğinin ve glomerüler filtrasyon hızının (GFR) kontrolünde fonksiyon gösterir. Yaralanma veya iltihaplanmaya yanıt olarak çoğu dokuda indüklenebilir olan COX2 ise normal yetişkin memeli böbreklerinde tespit edilebilir seviyelerde mevcut olup su ve tuz atılımında başlıca rol oynar. Ekspresyonu damar içi hacime yanıt olacak şekilde düzenlenir.

Bu enzimlerin herhangi birinin veya her ikisinin tıkanması böbrek fonksiyonu üzerinde çeşitli etkilere sahip olabilir. Prostaglandinler çok çeşitli böbrek

fonksiyonlarını kontrol eder. PGE2'nin birincil tübüler bir PG olduğu düşünülmektedir ve Henle kulpunda sodyum ve klorid taşınmasını düzenler ve su naklini ve böbrek medüller kan akışını ayarlar. Vasküler bir prostaglandin olan PGI2 ise böbrek vasküler tonusu, glomerüler filtrasyon hızını kontrol eder. Renin salımı COX-2, renin-anjiyotensin sistemini uyarırken, renin-anjiyotensin sisteminin artan aktivitesi, COX-2'yi inhibe eder. PGI2 ve PGE2, öncelikle renin salgılanmasını uyararak ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini aktive ederek potasyum sekresyonunu artırır (Dhanvijay ve ark., 2013).

Eikosanoidlerin blokajı sonucunda merkezi ateş, ağrı, yangı ve preagregasyon engellenmektedir. NSAID'ların antipiretik, analjezik, antiinflamatuvar, antiendotoksemik, antitrombik, kanser önleyici ve kondroprotektif etkileri bulunmasına rağmen (McKellar ve ark., 1994), özellikle gastrointestinal kanalda olmak üzere çeşitli organlarda da arzu edilmeyen yan etkileri oluşabilmektedir (Mc Kellar ve ark., 1991; Deaton ve ark., 2002).

Dünyanın dört bir yanındaki milyonlarca insan hayatlarında uzun yıllar boyunca büyük miktarlarda anti-inflamatuvar ajanlar (seçici olmayan bir siklooksijenaz [COX] inhibitörü) kullanmalarına neden olacak şekilde inflamatuvar rahatsızlıklardan muzdarip olmaktadır. Nefrotoksik etkileri iyi bilinen NSAİİ ler inflamasyon ve ağrı için yaygın olarak reçete edilen ilaçlardır (Abiola ve ark., 2019). Hatta karaciğer üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle çeşitli NSAID türleri üretilmiş ve piyasadan çekilmiştir (Bessone, 2010). NSAID kullanan hasta sayısı günlük olarak 30 milyonu aşmaktadır ve ABD'de yılda bir milyondan fazla reçete yazılmaktadır (Owumi ve Dim, 2019). Ancak bu tür ajanların ciddi yan etkileri ve artmış intoleransları söz konusudur (Abbas ve ark., 2014). Ancak nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçların reaktif oksijen türlerini süpürme etkileri de gösterilmiştir (Costa ve ark., 2006).

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimi ile biyolojik bir sistemin onları enzimatik ve / veya enzimatik olmayan antioksidan aktivite yoluyla nötralize etme kabiliyeti arasında bir dengesizlik olarak tanımlanır. Çok miktarda reaktif ara ürün, hücre bileşeni hasarına ve ikincil toksik bileşiklerin, Örneğin, reaktif aldehidler ve ketonların üretilmesine ve sonuç olarak, kanser de dahil olmak üzere birçok hastalık riskinin artmasına neden olur. Serbest radikallerin ve diğer ROT'nin

vücuttan atılmasında bir dizi sistem yer alır, ancak bu tür mekanizmalar tamamen verimli değildir. Solunum süreci ROT üretiminin kaynağıdır ve hücre içi DNA ve lipoprotein ile müteakip ROT reaksiyonları, hücresel fonksiyonun değişmesine yol açar. ROT, oksijen iyonları, serbest radikaller ve hem inorganik hem de organik peroksitler gibi çok küçük ve oldukça reaktif türleri içerir. DNA'nın hasarı, lipitlerde poli doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ve proteinlerdeki amino asitlerin oksidasyonu gibi zararlı hücresel etkiler ROT ile yakından ilişkilidir. Peroksil radikalleri (ROO<sup>•</sup>), hidroksil radikalleri (HO<sup>•</sup>), süperoksit iyonu (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) ve singlet oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) gibi ROT'nin yaşlanma patofizyolojisinde ve kanser, Alzheimer hastalığı ve Parkinson hastalığı gibi çeşitli hastalıklarda rol aldığı belirtilmiştir (Bodera ve ark., 2013). Oksidanların veya reaktif oksijen türlerinin, inflamatuvar genlerinin transkripsiyonunu ve çoklu inflamatuvar araçların müteakip üretimini aktive eden redoks duyarlı bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör-kappaB'yi (NF-κB) aktive edebilmesi yoluyla kronik inflamasyon ve kanser gelişiminde rol oynadığını gösterilmiştir (Ohshima ve Bartsch, 1994). ROS üretimini provoke etmenin yanı sıra, opioid reseptör agonistlerine maruz kalma aktif apoptotik mekanizmalarla ilişkilendirilmiştir (Rashad ve ark., 2008). Gerçekten de, tümör promotörleri, ROT üretmek için bağışıklık hücrelerini uyarma yeteneğine sahiptir. Enflamatuvar bir uyarı takiben, ROT aracılı karsinojenetik süreçlerin başlatılması doğrudan enflamatuvar uyarandan kaynaklanabilir. Buna ek olarak, ROT spesifik sinyal yollarını doğrudan aktive edebilir ve böylece hücresel proliferasyon ve anjiyogenezin aktivasyonu ve metastaz yoluyla tümör gelişimine yol açabilir (Reuter ve ark., 2010).

İnflamatuvar bölgelerde oluşan süperoksit, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hidroksil (HO<sup>•</sup>) ve hipokloröz asit (HOCl) gibi oksidanların bazı akut ve kronik enflamatuvar hastalıklarda doku hasarına katkıda bulunduğu görülmektedir (Borges ve ark., 2014). Öte yandan, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçların (NSAID) güçlü bir serbest radikal temizleyici olduğu gösterilmiştir. Kılıç ve Kozacı (2016) tarafından yapılan çalışmanın sonuçlarında elde edilen veriler NSAID'lerin oksidatif stresi farklı yollarla azaltma olasılığını düşündürmektedir, bu nedenle antioksidatif etkilerini arttırmak ve kronik kullanıma bağlı istenmeyen yan etkileri önlemek için tedavi seçimi bu ilaçların kombine veya alternatif rejimleri şeklinde olmalıdır.

Daha önce yapılan çalışmalar nonsteroid antiinflatuar ilaçların (NSAID) daha çok terapötik ve yan etkilerini araştırmayı amaçlamıştır. Bununla birlikte NSAID ve oksidatif denge arasındaki bağlantıları ortaya koyan çalışmalar sınırlı sayıda olup son yıllarda araştırılan konulardan birisi haline gelmiştir (Özşentürklü, 2015).

### **1.6 Non-steroid Anti-İnflamatuar İlaçların Yararlı Özellikleri**

NSAID'lar çok iyi bilinen COX ve lipoksigenaz enzim aktiviteleri üzerindeki inhibitör etkilerine ilave olarak, hücre membranı, lenfosit, nötrofil fonksiyonları, ve lizozomal enzim salınımı gibi diğer bazı prosesleri de etkileyebilmektedir. NSAID'ların bilinen terapötik etkilerinin oluşumunda oksijen radikallerinin parçalanması ve daha az zararsız moleküllerin oluşumunda rollerinin de olabileceği bildirilmiştir. Çeşitli araştırmacılar doku hasarlarında indüklenen reaktif oksijen türlerinin engellenmesinde NSAID'ların etkili oranda rol alabildiklerini bildirmişlerdir. Bazı NSAID'ların aktive edilmiş fagositler tarafından üretilen süperoksid radikallerini in vitro olarak azalttığı rapor edilmiştir. Hidroksil radikallerinin temizlenmesi NSAID'ların antioksidant bir mekanizmaya sahip olduğunu düşündürmektedir (Özşentürklü, 2015).

**Çizelge 1.1** Çalışma kapsamında incelenen ilaçların etkin madde içerikleri.

| İlaç No | İlacın Ticari İsmi (Kısaltma) | Etkin Madde                                           | Yardımcı Madde                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------|-------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1       | NOVALGİN (NV)                 | Metamizol ya da dipiron (opioid olmayan analjezikler) | Mısır nişastası talk, laktoz, sodyum bikarbonat, magnezyum stearat                                                                                                                                                                                     |
| 2       | DİKLORON (DK)                 | Diklofenak sodyum-2 (NSAII)                           | Sakkaroz<br>Setil alkol<br>Koloidal silikon dioksit<br>Polivinilpirolidon K 25<br>Polietilen glikol 6000<br>Magnezyum stearat<br>Opadry Beyaz OY-LS-28913<br>HPMC 2910/ Hipromelloz 15cP<br>Titanyum dioksit<br>Laktoz monohidrat<br>Makragol/PEG 4000 |
| 3       | VOLTAREN (VT)                 | Diklofenak sodyum-1 (NSAII)                           | Sukroz, setil alkol, povidon (polivinilpirolidon K 30), magnezyum stearat, koloidal susuz silika (aerosil 200), hidroksipropilmetilselüloz, talk, polisorbat 80, titanyum dioksit (E 171), kırmızı demir oksit (E 172), polietilen glikol 8000         |
| 4       | PARTEMOL (PT)                 | Parasetamol                                           | Mannitol (E 421)<br>Sodyum metabisülfid (E 223)<br>Disodyum fosfat dihidrat<br>Sodyum hidroksit<br>Hidroklorik asit<br>Enjeksiyonluk su                                                                                                                |
| 5       | METADEM (MM)                  | Deksketoprofen-1 (NSAI)                               | Etanol (%96)<br>Sodyum klorür<br>Sodyum hidroksit<br>Enjeksiyonluk su                                                                                                                                                                                  |
| 6       | ARVELES (AS)                  | Deksketoprofen-2 (NSAI)                               | Etanol (%96)<br>Sodyum klorür<br>Sodyum hidroksit (pH ayarlaması için)<br>Enjeksiyonluk su                                                                                                                                                             |
| 7       | MADOL (ML)                    | Tramadol hidroklorür                                  | Sodyum asetat<br>Enjeksiyonluk su                                                                                                                                                                                                                      |
| 8       | MELOX (MX)                    | Meloksikam                                            | Meglumine,<br>Glikofurol<br>poloxamer 188<br>glisin<br>sodyum klorür<br>sodyum hidroksit veya hidroklorik asit<br>Steril Enjeksiyonluk su                                                                                                              |

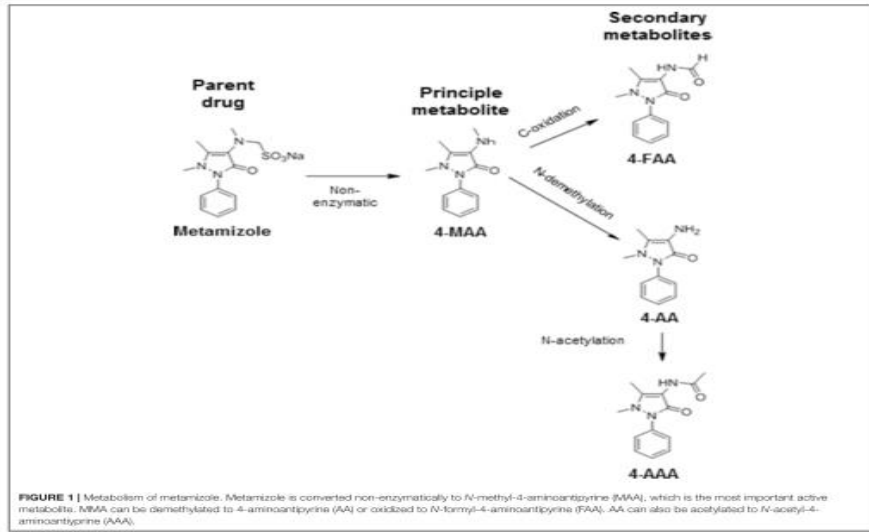
### **1.7 Etkin Maddesi Metamizol Olan Opioid Olmayan Analjezikler, Özellikleri, Etki, Mekanizması ve Yan Etkileri**

Bu çalışma kapsamında incelenmiş olan ve etkin madde olarak Metamizol yada dipiron içerdiği bilinen pirazolon grubuna ait olan 1 numaralı ilaç analjezik ve antipiretik etkileri sayesinde travma sonrası veya ameliyat sonrası orta veya şiddetli ağrı ve spazmları tedavi etmek için kullanılmaktadır. Ayrıca diğer önlemlere veya antipiretik ilaçlara cevap vermeyen yüksek ateş vakalarında da reçete edilmektedir.

Metamizol, parasetamolden daha güçlü, ibuprofenle hemen hemen aynı güçte (Krisai ve ark., 2019) asidik olmayan, opioid olmayan analjezikler grubuna ait bir pirazol türevidir (Jasiecka ve ark., 2014). Dipiron veya metamizol, siklo-oksijenazın

etkisini inhibe ederek etkisini göstermektedir. Bu nedenle, ağrı giderici ve antipiretik özellikleri sayesinde prostaglandin sentezini inhibe eder. Ancak anti-enflamatuar aktivitesinin yüksek olmadığı bilinmektedir. Ayrıca metamizol, gastrointestinal ve uterus düz kasının gevşemesini ve aktivitesini azaltır. Dipiron veya metamizol oral, intramüsküler veya intravenöz olarak uygulanabilir. 1 ile numaralandırılan bu ilaç karaciğer tarafından hızlıca metabolize edilir. Karaciğerde, idrarla atılan aktif metabolitlere dönüşür.

Çizelge 1.1'de gösterildiği gibi, metamizol, % 100'e yakın bir oral biyoyararlanımı olan N-metil-4-aminoantipirine (MAA) enzimatik olmayan bir şekilde neredeyse nicel olarak metabolize olan bir ön ilaçtır. MAA ise N-demetilasyon ile 4-aminoantipirine (AA), formilasyon yoluyla N-formil-4-aminoantipirine (FAA) metabolize edilir. AA, N-asetilasyon ile N-asetil-4-aminoantipirine (AAA) metabolize edilebilir. Hem MAA hem de AA aktiftir, ancak AA'ya maruz kalma MAA'dan yaklaşık beş kat daha düşüktür, bu da metamizolün analjezik aktivitesinin esas olarak MAA'ya bağlı olduğunu gösterir. Metamizol genellikle iyi tolere edilir, ancak nadiren yaşamı tehdit edebilecek nötrojeni ve agranülositoza yol açabilir (Blaser ve ark., 2015). Agranülositoz riski, birçok ülkede metamizolün piyasadan çekilmesinin nedenidir. Diğer yan etkiler arasında cilt döküntüleri olarak ortaya çıkan alerjik reaksiyonlar veya arteriyel hipotansiyonlu anafilaksi bulunur (Blanca-Lopez ve ark., 2016; Andrade ve ark., 2016). Karaciğer hasarı bildirilmiştir, ancak oldukça nadir görülmektedir (Herdeg ve ark., 2002). Ayrıca, hasta özellikle oküler mukoza zarlarında ve nazofaringeal bölgede ciltle ilişkili aşırı duyarlılık reaksiyonlarından muzdarip olabilir. Diğer bilinen reaksiyonları arasında lökopeni, trombositopeni ve hemolitik anemi sayılabilir. Mevcut pazarda pirazolon türevlerinden oluşan fenazon (1), metamizol (2) aminoprin (3) ve selekoksib (4) gibi çok sayıda ilaç bulunmaktadır (Puttaswamy ve ark., 2018).



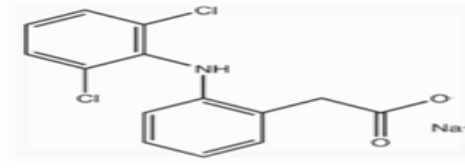
**Şekil 1.1** Metamizol metabolizması.

Metamizol gibi pirazolonlar, hem ani hem de gecikmiş alerjik yanıtlara neden olabilecek iyi kurulmuş alerjenlerdir. Acil alerjik reaksiyonlar çoğunlukla ürtiker, anjiyoödem ve anafilaktik şoku içerirken, gecikmiş reaksiyonlar çoğunlukla cilde bağlıdır (Blanca-Lopez ve ark., 2016). İlginç bir şekilde, ani pirazolon aşırı duyarlılığı, genetik yatkınlığı düşündüren HLA-DQ ve DR antijenleri ile ilişkilendirilmiştir (Kowalski ve ark., 1998). Benzer şekilde, metamizole bağlı agranülositozu olan hastalarda diğer agranülositoz ve sağlıklı kontrol tiplerine kıyasla daha yüksek HLA-DQw1 antijeni görülmüştür (Vlahov ve ark. 1996). Buna karşılık, pirazolonun neden olduğu gecikmiş cilt reaksiyonları veya hepatotoksisite için şimdiye kadar HLA ile bir ilişki rapor edilmemiştir. Metamizol dahil pirazolon türevlerinin gecikmiş cilt reaksiyonları ile ilişkili olması, metamizol ile ilişkili hepatotoksisitenin reaktif T hücrelerinden kaynaklanabileceği varsayımını desteklemektedir. Bu nedenle, etkilenen hücre tipine bağlı olarak, metamizolün immünolojik veya toksikolojik mekanizmalar ile sitotoksik olması mümkündür (Krisai ve ark., 2019).

Metamizol, çoğu AB ülkesi ve Latin Amerika ülkesi gibi dünyanın birçok yerinde tercih edilen birinci basamak opioid olmayan analjeziktir. Bununla birlikte, Amerika Birleşik Devletleri, İngiltere, İsveç ve son zamanlarda Hindistan gibi diğer ülkeler yan etkileri (agranülositoz, lökopeni ve böbrek fonksiyonunda bozulma) nedeniyle metamizolü yasaklamıştır (Lampl ve Likar, 2014; Kötter ve ark., 2015). Bu ülkelerde, hastalara tercihen bir aminofenol türevi olan parasetamol (asetaminofen) verilir.

### 1.8 Etken Maddesi Diklofenak Sodyum Olan (NSAİ) İlaçlar, Özellikleri, Etki Mekanizması ve Yan Etkileri

İncelenen 8 ilacın 2 isinin etken maddesi bir fenil asetik asit türevi olan Diklofenak sodyum (DCF) olup bu 2 ilacın yardımcı maddeleri de hemen hemen benzerdir (Abiola et al., 2019). Diklofenak, ilk olarak reaktif glukronit metabolitlerinin oluşumunda substrat olan karboksilik asit kısmıyla bir fenilasetik asit türevidir. İkinci olarak, oksidoredüktif stres oluşumuna neden olan sekonder aminin yer aldığı difenilamin iskeletine sahiptir (Boelsterli, 2003).



**Şekil 1.2** Diklofenak sodyumun moleküler yapısı.

Diklofenak sodyum (DCF), inflamasyonu azaltmak ve ağrıyı dindirmek için en yaygın ve her yerde bulunan tezgah üstü olarak kabul edilen artrit ve akut sakatlanmalarda kullanılan fibrinolitik bir etkiye sahip non steroid antiinflatuardır (Diken Allahverdi ve ark., 2014; He ve ark., 2017; Moore ve ark., 2015). Bu durum kolayca kötüye kullanılmalarını teşvik eder (Owumi ve Dim, 2019). Âdet sancısı ve ağrılı âdet görme gibi durumlarda tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Diklofenak en güçlü analjezik etkiye sahip narkotik olmayan bir ağrı kesicidir. Söz konusu ilaçlar (2 ve 3 ile numaralandırılmış) osteoartrit (kireçlenme), romatoid artrit (eklemlerde ağrı ve şekil bozukluğu) ve ankilozan spondilit (sırt, boyun ve göğüs kafesi eklemlerinde sertleşme ile seyreden ağrılı ilerleyici romatizma) belirti ve bulgularının tedavisi ile akut gut artrit (akut guta bağlı eklem iltihabı), akut kas-iskelet sistemi ağrıları, postoperatif ağrı (ameliyattan sonraki ağrı) ve dismenore (ağrılı adet görme) tedavisinde kullanılmaktadır.

DCF'nin Metabolize Olma Mekanizması, Tüketimden sonra hızla ve tamamen emilir ve plazmada albümine bağlanır. Yan etkileri arasında nefrotoksisite ve karaciğer toksisitesi bilinmektedir. Karaciğerde DCF, CYP2C9 ile 4-hidroksidiklofenak ve CYP3A4 ile daha az miktarda bir metabolit olan 5-hidroksidiklofenak ve diğer hidroksillenmiş formlara metabolize olmaktadır. Bu metabolitler idrar (% 65) ve

safrada (% 35) atılmadan önce glukuronidasyon ve sülfatlama gibi ikinci aşama bir reaksiyona maruz kalırlar. 4-hidroksidiklofenak ve 5-hidroksidiklofenak CYP450C9 ile yüksek derecede reaktif benzokinon iminlere metabolize olur. Bu reaktif ara ürün, sıçanların karaciğerlerine zarar vererek protein sistein ile seçici bir şekilde reaksiyona girer. DCF, ağırlıklı olarak insan karaciğer mikrozomlarında CYP 3A4 tarafından metabolik olarak aktive edilir ve protein eklentileri oluşturur. DCF konsantrasyonundaki artış, hepatik transaminazlar, laktat dehidrojenaz (LDH) ve DCF reaktif metabolitlerinin aktivitelerinde artışa yol açar. CYP'lerin inhibisyonunun sıçan hepatositleri üzerinde koruma sağladığı rapor edilmiştir; bununla birlikte, DCF kinoniminlerinin glutatyon (GSH) ve indirgeme reaksiyonu konjügasyonu ile glutatyon-S-transferazları (GST'ler), NAD (P) H: kinon oksidoredüktaz1 ile etkisiz hale getirildiği gösterilmiştir. Daha önceki çalışmalar DCF toksisitesi mekanizmalarını oksidatif stresin indüklenmesi, mitokondriyal hasar ve reaktif metabolitin hücrel makromoleküllerle etkileşimi ile ilişkilendirerek protein bütünlüğünün değişmesine dayandırmaktadır. Nikotinamid adenin dinükleotid (NADH), glutatyon (GSH), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ve diğer indirgeyici maddelerin düşük hücre içi seviyesi DCF'nin makromoleküllere ve önemli hepatik proteinlere bağlanmasını güçlendirir (Owumi ve Dim, 2019).

DCF'nin Dokulara Zararı, Böbrekler ve gastrointestinal sistem, NSAID'lerin kullanımı ile ilişkili istenmeyen klinik olaylar için ana odaklardır. DCF terapötik dozda uygulandığında güvenlidir, ancak uzun süre uygulanan daha yüksek DCF dozları, hepato, nefron ve kemik iliği toksisitesine ve enteropatiye yol açar, bu da gastrointestinal kanama, ülserasyon, fulminan hepatik yetmezliği, aplastik anemi ve akut böbrek hasarı ile sonuçlanır (Owumi ve Dim, 2019).

Bazı serum parametreleri organ hasarını değerlendirmek için kullanılır. Artan serum üre ve kreatinin konsantrasyonları böbrek hasarının göstergesi olarak kabul edilir. Normalde, biyokimyasal ve fizyolojik fenomen kombinasyonları böbrek hassasiyeti ve böbrek toksisitesinde anahtar rol oynar. Genellikle diklofenak toksisitesinin, lipid peroksidasyonuna ve hücrel makromoleküllere zarar veren oksidatif stresle güçlü bir şekilde bağlantılı olduğuna inanılmaktadır. Abiola ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmanın sonuçlarına göre diklofenak kullanımının böbrek malondialdehit ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seviyelerini artırdığı ortaya konulmuştur. Lipid

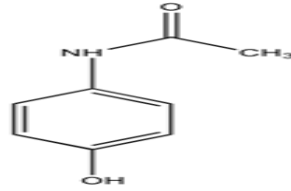
peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA, böbrek zarlarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA'lar) oksidatif bozulmasına yanıt olarak üretilir. Bu durumda, böbrek dokularının zarlarında lipit peroksitler üretilir.  $H_2O_2$ , hayvanlarda normal bir aerobik metabolizma ürünüdür; bununla birlikte, reaktif oksijen türlerinin (ROS) konsantrasyonunun hücre içi oluşumu sırasında seviyesi artar (Abiola ve ark., 2019).

### **1.9 Etkin Maddesi Parasetamol Olan Analjezikler, Özellikleri, Etki Mekanizması, Yan Etkileri**

Fenasetin ailesinden parasetamol (Asetaminofen, N-asetil-p-aminofenol, N-(4-hidroksifenil) asetamid, APAP), 1950'den beri analjezik ve antipiretik ajanlar olarak yaygın olarak kullanılan non-steroidal antiinflatuar bir ilaçtır. Ağrı eşiğini yükseltmek yoluyla analjezik, hipotalamustaki termoregulasyon merkezi üzerindeki etkisi yolu ile de antipatik bir etki gösterir. Yaygın bir şekilde ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak kullanılan Parasetamol uygun olmayan saklama koşullarında 4-aminofenol ve asetik aside dönüşmektedir. Parasetamol benzeri diğer analjezik ilaçlardan farklı olarak hipotalamus ve omurilik gibi peroksitlerden az olan ortamda prostaglandin sentezini inhibe edebilir ve etkisi erken başlar; plazma düzeyi 30-60 dak içinde maksimuma erişir. Absorpsiyonu besinler tarafından azaltılır. İlk dozdan sonra analjezik etkisi 3-4 saat kadar devam eder. Mutat dozda eliminasyon yarılanma ömrü 2.4 saattir, non-lineer eliminasyon kinetiği göstermesi nedeniyle aşırı dozda 7.3 saate kadar çıkabilir. Parasetamolun solunum, kardiyovasküler sistem ve asit-baz dengesi üzerinde belirgin bir etkisi yoktur. Midede irritasyon yapmaz. Protrombin sentezini pek etkilemez. Plazma proteinlerine fazla bağlanmaz. Parasetamol, aynı etkiye sahip aspirine bir alternatiftir. Çünkü parasetamol, aspirinin yan etkilerinin çoğunu içermez. Ucuz ve kolay erişilebilir olması ve reçetesiz satın alınabilmesi, parasetamol kullanımını artırdı ve beraberinde toksisite riski getirdi (Kuruved Karabağ Çoban, 2019). Aspirinin aksine oral antikoagulanlarla belirgin bir etkileme göstermez. Aspirinden farklı olarak ürik asit ıtrahını etkilemez ve urikozurik ilaçların etkinliğini azaltmaz. Parasetamolu sıvı farmasötik şekiller içinde vermek mümkündür. Bundan dolayı, parasetamol özellikle bebek ve çocuklar için hazırlanan eliksir, suspansiyon vb. şekillerdeki sıvı analjezik etkili müstahzarların yapımında kullanılır.

Parasetamol, terapötik dozlarda alındığında güvenli bir ilaç olarak kabul edilir, ancak aşırı doz toksisiteye neden olur. Parasetamol oral yoldan 500-1000 mg dozda

verilir. Gerekirse bu doz 4-6 saatte bir tekrarlanır. Günlük maksimum dozu genellikle 4 g olarak kabul edilir. Bazı kaynaklarda 3 g hatta 2.6 g olarak belirtilmiştir. Böbrek yetmezliği olanlarda ve alkoliklerde bu doz azaltılmalıdır. Yukarıda belirtilen dozda 5-10 günden fazla kullanılması tavsiye edilmez. Çocuklarda, hepatoksisite potansiyeli daha düşük olduğu için kg başına verilen doz daha yüksektir; bir defada 10 mg/kg dozunda verilir 6-12 yaşlar arasında bir defalık dozun 20-30 mg/kg çıkartılabileceği bildirilmiştir. Parasetamol, yemek arasında veya yemekten sonra alınırsa, biyoyararlanım belirgin şekilde azalır; onun için aç karnına alınması tercih edilir. Parasetamol oral dozuna eşit dozlarda rektal yoldan da verilebilir (Selimoğlu, 2013).



**Şekil 1.3** Parasetamolün kimyasal formülü.

4 ile numaralandırdığımız ilacın etken maddesi olan parasetamol, ağrının ya da hipertermisinin tedavisi için intravenöz yolun klinik olarak gerekli görüldüğü acil durumlarda ve/veya diğer uygulama yollarının mümkün olmadığı durumlarda (özellikle cerrahi girişimden sonra, orta şiddette ağrının ve ateşin kısa süreli tedavisinde) tercih edilmektedir.

Parasetamolün hem insanlarda hem de hayvanlarda yüksek dozlarda ciddi hepatik nekroza neden olabileceği bilinmektedir, çünkü sitokrom P-450 üreten her ikisi de aktif oksijen serbest radikal türleri olan kinon ve semikinon formlarının peroksidazları ile aktive edilebilir. Ayrıca, parasetamol toksisitesinin ana etkilerinden birinin, lipid peroksidasyonunun antioksidan savunma olarak sonlandırma adımı için gerekli bir bileşik olan hücrel glutathione (GSH) tükenmesi olduğu gösterilmiştir. Parasetamol toksik doz tedavisinin eritrositleri hemolize eğilimli hale getiren metabolik ve membran değişikliğine neden olduğu ileri sürülmüştür (Borges ve ark., 2014).

Bununla birlikte, parasetamol ile zehirlenme karaciğer ve böbrek toksisitesine neden olabilir. Parasetamol esas olarak karaciğerde, glukuronik asit ve sülfat ile konjugasyon yoluyla, idrar yoluyla atılan iki ana toksik olmayan metabolite

dönüştürülür. Normalde CYP450 yoluyla yüksek derecede reaktif N-asetil-p-benzoiquinimin (NAPQI) metabolitine dönüştürülür. Bu metabolit genellikle glutatyon (GSH) konjugasyonu ile stabilize edilir ve böbrek yoluyla atılır. Bununla birlikte, aşırı doz parasetamol alımında, bu mekanizma doymuş hale gelir ve NAPQI üretimini detoksifiye etme kapasitesini aşar. Fazla NAPQI, oksidatif stresle ilişkili toksisiteye neden olur (Özkan ve Karabağ Çoban, 2020). NAPQI reaktif bir elektrofilik molekül olduğundan, hücre içi proteinlerin sistein kısımlarına kovalent olarak bağlanır ve 3- (sistein-S-il) şelatlar oluşturur. Bu şelatlar doku hasarına neden olur. Terapötik dozlarda NAPQI, glutatyon ile reaksiyona sokulur ve safra yoluyla atılır. Bununla birlikte, aşırı doz alımı NAPQI miktarını artırır ve karaciğerdeki glutatyon depolarını tüketir. Serbest bırakılan NAPQI, hücre içi proteinlerin sistein kısımlarına kovalent olarak bağlıdır ve bu mekanizma, parasetamol kaynaklı hepatotoksisite için ana yol olarak kabul edilir. Renal kortekste N-asetilasyon ile oluşturulan NAPQI ve p-aminofenol, glutatyon depolarının tükenmesine bağlı olarak birikebilir. Böbrek hasarı, membranlara ve sülfhidril proteinlerine NAPQI bağlanmasından ve p-aminofenolün renal makromoleküllere kovalent bağlanmasından kaynaklanabilir.

Parasetamolün nefrotoksik etkileri, akut veya kronik alımına bağlı olarak değişebilir. Akut doz aşımı parasetamol alımı (10-15 g) proksimal tübül hasarı ve nekroz ile akut toksisiteye neden olabilirken, çok düşük dozlar (5000-1000 mg) analjezik nefropatiye neden olan böbrek hasarına neden olabilir. Parasetamol toksisitesi ile yapılan çalışmaların çoğu, vücutta doğal bir antioksidan olan glutatyonun, toksik maddeler nedeniyle aşırı derecede azaldığını ve antioksidan savunma sisteminin zayıflamasına ve dolayısıyla hasara neden olduğunu göstermektedir. Parasetamol esas olarak karaciğerde metabolize olduğundan, aşırı doz alımı önce hepatotoksisiteye neden olur. Böbrekler karaciğer hasarının ileri evrelerinde veya karaciğer hasarı olmadan nadiren tek başına etkilenir. Bu nedenle, parasetamolün hepatotoksisite ile ilişkisini araştıran az sayıda çalışma vardır, parasetamol ve nefrotoksisite arasındaki ilişkiyi araştıran az sayıda çalışma vardır. Böbrekteki toksisite akut tübüler nekroz şeklinde ortaya çıkar. Aşırı doz parasetamol alımı olan hastaların % 1-2'sinde böbrek yetmezliği geliştiği gözlenmiştir. Böbrekte parasetamol kaynaklı toksisite mekanizması hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Aşırı

doz parasetamolde, glutatyon ve sülfatlama reaksiyonları doygunluğa ulaşır ve bu sitokrom P-450 enzim sistemini aktive eder. CYP2E1 izoenzimi böbrekte biyotransformasyondan sorumludur. NAPQI ve p-aminofenol gibi toksik metabolitler Prostaglandin sentetaz, N-deasetilaz enzimleri ve sitokrom P-450 enzim sistemleri tarafından oluşturulur. Bu toksik metabolitler, hücre proteinlerinde sülfhidril ve glutatyon ile birleşerek konjugatlar oluşturur. Glutatyonun tükenmesinin oksidatif strese yol açtığı düşünülmektedir. Sonuç olarak, lizozomal enzimlerin ve kaspazların aktivasyonuna neden olduğu ve dokuya zarar vererek hemostaz ve böbrek fonksiyonunda hasara yol açtığı düşünülmektedir. Parasetamol kaynaklı böbrek hasarında, CYP-450 enzim sistemlerinin yardımıyla oluşturulan NAPQI'nin temel görevi olduğu düşünülmektedir. Bu metabolitler, konjugatları oluşturmak için hücresel proteinlerdeki sülfhidril ve glutatyon ile birleşir ve bu konjugelerin oksidatif stresi arttırdığı ve olası toksisite mekanizmalarından biri olduğu düşünülmektedir. Oksidatif stresin artması ve bu nedenle antioksidan savunma sisteminin zayıflaması parasetamol kaynaklı böbrek toksisitesinde de önemlidir (Özkan ve Karabağ Çoban, 2020).

Parasetamol tüketimi ile astım arasında bir bağlantı olabileceğini gösteren artan epidemiyolojik kanıtlar vardır. Son çalışmalar, yüksek dozda parasetamol tüketiminin artmış şiddet ve astım atak sıklığı ile ilişkili olduğunu ve hamilelik sırasında parasetamol kullanımının çocuklarda hırıltıdan sorumlu olabileceğini göstermiştir (Nuttall ve ark., 2003). Parasetamol ve astım arasındaki bağlantı için olası bir açıklama, astımdaki hasar verici süreçlere kısmen oksidatif stresin aracılık etmesi, yani serbest radikal hasarının etkileri olabilir. Sık parasetamol tüketiminin akciğerlerdeki önemli bir antioksidan ve anti-inflamatuvar ajan olarak görev yapan glutatyon konsantrasyonlarını azaltabileceği varsayılmaktadır. Çünkü, akciğerdeki azalmış glutatyon kaynağı epitelde oksidatif hasara yol açabilir ve bu nedenle duyarlı bireylerde astım ataklarının sıklığı ve şiddeti artabilir (Nuttall ve ark., 2003).

Etken madde olarak 2 mL sinde 50 mg deksketoprofen içerdiği bilinen nonsteroid antiinflamatuvar (NSAİİ) ilaç grubuna dahil analjezik, antiinflamatuvar ve antipiretik ağrı kesici olan 5 ve 6 numaralı ilaçların enjeksiyonluk çözelti içeren ampül formlarının vücutta iltihap ve ağrıya sebep olan belirli biyolojik etkenleri azalttığı, iltihap giderici ve ağrı kesici etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Ampul formundaki bu ilaç tablet olarak ağızdan ilaç alması mümkün olmayan hastalarda osteoartrit

(kireçlenme), romatoid artrit ve ankilozan spondilitin belirti ve bulgularının tedavisi ile bel ağrısı, sırt ağrısı gibi akut kas-iskelet sistemi ağrıları, akut gut artriti (gut hastalığına bağlı eklem iltihabı) ağrıları, eklem ve kaslardaki incinme/burkulma/zorlanmaya bağlı ağrılar, bayanlarda adet dönemi (dismenore) sancıları, baş ağrısı, diş ağrısı, orta ve şiddetli ameliyat sonrası ağrılar ve şiddetli derecedeki böbrek ağrılarının (renal kolik) giderilmesinde kullanılmaktadır.

#### **1.10 Etken Maddesi Deksketoprofen Olan (NSAİ) İlaçlar, Özellikleri, Etki Mekanizması**

Deksketoprofen de diğer NSAİİ sınıfı ilaçlarda olduğu gibi, siklo-oksijenaz (COX) enzimleri adı verilen doğal kimyasalların etkisini bloke ederek çalışır. Deksketoprofen içeren bu ağrı kesiciler COX enzimlerinin etkisini bloke ederek prostaglandin üretimini azaltırlar. Böylece iltihap ve ağrı kontrol altına alınabilir.

Özellikle, prostaglandinler PGE1, PGE2, PGF2a, ve PGD2 ve aynı zamanda prostasiklin PGI2 ve tromboksanlar (TxA2 ve TxB2) oluşturan, arasidonik asitin sıklık endoperoksitlere, PGG2 ve PGH2, transformasyonunun inhibisyonu ile gerçekleşir. Ayrıca, prostaglandin sentezinin inhibisyonu, kinin gibi diğer inflamasyon mediyatörlerini de etkileyerek, direkt etkiye ilaveten indirekt bir etkiye de neden olur. Deksketoprofen prostaglandin sentezini merkezi ve periferik olarak inhibe etmektedir. Çeşitli ağrı modellerinde yapılan klinik çalışmalar, deksketoprofen trometamolün etkin analjezik etkisi olduğunu göstermiştir. Analjezik aktivitenin başlaması bazı çalışmalarda uygulandıktan sonra 30 dakika içinde elde edilmiştir. Analjezik etki 4-6 saat sürmektedir.

#### **1.11 Etken Maddesi Tramadol Olan İlaçlar, Özellikleri, Mekanizması ve Yan Etkileri**

Bu çalışmamızda incelediğimiz ilaçlardan 7 ile numaralandırılan orta veya şiddetli ağrıların tedavisinde kullanıldığı bilinen ilacın etken maddesi olan tramadolün santral sinir sistemine etki eden bir ağrı kesici olduğu bilinmektedir. Omurilik ve beyinde özel sinir hücreleri üzerine etkiyerek ağrıyı giderir (Anonim, 2018a). Detaylıca açıklayacak olursak, Tramadol, NMDA (N-metil-D-aspartat) antagonistik ve GABA (γ-aminobutirik asit) agonistik özelliklerine sahip olduğu düşünülen, ilave

iyon kanalı bloke etme aktivitesine sahip merkezi etkili bir opioid analjeziktir. Yakın zamanda sunulan bir çalışma, bir sıçan modelinde geçici ön beyin iskemisi durumunda tramadol hidroklorürün olası nöroprotektif etkisini ortaya koydu (Nagakannan ve ark., 2012).

Tramadol ön tedavisi, iskemik motor bozukluğunu hafifletti ve iskemik kontrol grubunda daha yüksek olan lipid peroksidasyon derecesini önemli ölçüde azalttı ( $p<0.001$ ). Ayrıca Tramadol hidroklorür, diyabetik nöropati, nöropatik ağrı ve perioperatif ağrı gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili orta ila şiddetli şiddetli akut ve kronik ağrıların tedavisinde de yaygın olarak kullanılan bir analjeziktir. Erken boşalma ve antidepresan olarak da kullanılır. Ek olarak, diyabetik nöropati ve postherpatik nevraljinin tedavisinde kullanılır. Uzun süreli tramadol uygulamasının karaciğer, böbrek, tiroid bezi ve testis gibi birçok organ üzerinde olumsuz etkileri vardır (Soliman ve ark., 2020).

Son yıllarda, Mısır ve Orta Doğu ülkelerinde tramadol kötüye kullanımı giderek artmaktadır. Bu ülkelerde tramadol prevalansı ucuz fiyatı, geniş bulunabilirliği ve yasadışı kaçakçılığa bağlanabilir (Mohamed ve Mahmoud, 2019).

Tramadol doz aşımının kötüye kullanılması şiddet ve şiddet olayları, trafik kazaları ve kendinden kaynaklanan kasıtsız yaralanmalarla ilişkilendirilmiştir. Tramadol kötüye kullanımının yan etkileri arasında kafa karışıklığı, baş dönmesi, nöbetler, uyuşukluk ve solunum depresyonu vardır. Ek olarak, tramadol kötüye kullanımı serotonin sendromuna (SS) yol açabilir, aşırı serotonerjik aktivite nedeniyle ciddi bir durum ortaya çıkar ve değişen zihinsel durum, ajitasyon, titreme, dilate öğrenciler, artmış refleks ve diğer semptomlarla karakterizedir. Opioidlerin uzun süreli kullanımı nöronların yapısal değişikliklerine ve apoptozuna neden olabilir (Mohamed ve Mahmoud, 2019).

Bağımlılık, tüm önleme ve kontrol çabalarına rağmen dünya çapında artan bir sosyal ve sağlık sorunudur. Analjezikler istismar edilen en popüler ilaçlar arasındadır (Rafati ve ark., 2006). Doğal (Örn., morfin, kodein) ve sentetik opioidlerin (Örn., tramadol, eroin, oksikodon ve buprenorfin) kötüye kullanım yükümlülüğü iyi bilinmektedir. Tramadol orta ila şiddetli ağrı tedavisinde kullanılan merkezi etkili bir opioid analjeziktir. Kodeine ve morfininkinin arasında ve pethidininkine benzer bir

parenteral güçle ile doza bağımlı bir standart morfinin yaklaşık% 10- 20'si eşdeğerine analjezik etkinliğe sahiptir. Tramadolun çift etki modu söz konusudur. Analjezik etkinliği, miyopiat reseptörü için kısmi afinitesine ve norepinefrin ve serotonin geri alımını inhibe etmesine bağlanır (Hussein ve ark., 2017).

Tramadol vücutta karaciğer enzimleri tarafından etkin hale getirilir. Bu enzimlerin eksikliğinin söz konusu olduğu hastalarda yeterli bir ağrı kesici etki elde edilemeyebilir. Bu durumun tersi olarak eğer genetik olarak bu enzimler çok hızlı iş görüyorsa (Kafkas ırkında %3,6 ila 6,5 oranında bu enzimler hızlı iş görür) önerilen olağan dozlarda opioid zehirlenmesi riski vardır. Opioid zehirlenmesinin genel belirtileri arasında kafa karışıklığı, uyuklama, yüzeysel solunum, küçülmüş göz bebekleri, bulantı, kusma, kabızlık ve iştahsızlık sayılabilir. Ayrıca solunumumuzun ağır bir şekilde baskılanması da görülebilir.

### **1.12 Etken Maddesi Meloksikam (NSAİ) İlaçlar, Özellikleri, Mekanizması ve Yan Etkileri**

Ampül formundaki 8 ile numaralandırmış olduğumuz bu ilaç ise etken madde olarak eklem ve kaslardaki iltihap ve ağrıyı azaltmak için kullanılan steroid içermeyen iltihap giderici ilaçlar (non-steroidal antiinflatuar ilaçlar-NSAİİ) grubuna dahil olan meloksikam içermektedir ve vücutta iltihaba ve ağrıya sebep olan hormonları azaltmaktadır. Osteoartrit (kireçlenme), romatoid artrit, ankilozan spondilit belirti ve bulgularının tedavisinde ve bel ağrısı, sırt ağrısı gibi akut kas-iskelet sistemi ağrıları, Eklemdeki ürik asit birikimine bağlı olarak özellikle ayak ve bacaklardaki eklemlerde ani ağrı nöbetleri şeklinde seyreden akut gut artriti ağrıları, ameliyat sonrası şişlik ve ağrı ya da kaza veya spor yaralanmalarına bağlı burkulma, incinme ve ezilmelerde görülen şişlik ve ağrılar ile bayanlarda adet dönemi (Dismenore) ağrıların tedavisinde kullanılmaktadır (Anonim, 2018b). Enfeksiyon, mikroorganizmaların konak dokularında bulunmasına tepki olarak canlıda gelişen yangısal cevaptır (Doğanay 1996). Enfeksiyon etkenleri (prionlar, viroidler, viruslar, bakteriler, mikoplazmalar, mantarlar, protozoonlar, helmintler, artropotlar), konakta yerleşen, çoğalabilen ve sonuçta immünolojik, enflamatuar ve dejeneratif yanıtların oluşmasına neden olan canlılardır (Hasçelik 1996). Dolaşımda canlı bakteri bulunması bakteriyemi, yeterli sıvı-elektrolit tedavisi yapılmasına rağmen düzeltilemeyen düşük tansiyon ve organ yetmezlikleri bulunmasına ise septik şok adı verilir. Gram (-) bakter

duvarında bulunan lipopolisakkarit (LPS, endotoksin)'in, dolaşım sisteminde bulunması endotoksemiye neden olur. Dolaşımda bulunan LPS, makrofajlar ve endotel hücrelerini etkileyerek sitokinler, eikozanoidler, serbest oksijen radikalleri ile platelet aktive edici faktörün salgılanmasına neden olur ve gelişen bu olaylar septik şokun patofizyolojisinde rol alır (Sparrow ve Willis 2004, Sanchez 2005, Jean-Baptiste 2007).

Yurt tarafından 2012 yılında yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre endotoksemilerde oluşan vitamin kayıpları ile kalp hasarını engellemede meloksikamın faydalı olabileceği ve endotoksemilerin akut döneminde nonsteroid antiinflammatuar ilaç ile vitamin takviyesinin faydalı olabileceği kanaatine varılmıştır. COX-2 nin keşfedilmesi ile yeni sınıf NSAID'ların geliştirilmesi sağlanmıştır. İlk geliştirilen ve onaylanan selektif COX-2 inhibitörleri insan hekimliğinde romatoid artrit, osteoartrit ve diş cerrahisi ile ilişkili akut ağrıların rahatlatılması amacıyla kullanılan Rofecoxib ve Celecoxib'tir. 1980'lerde Nimesulid, Etodolak ve Meloksikam düşük ülserojenik aktiviteleri ile potansiyel bir antienflamatuar ilaç olarak tanımlanmıştır. Meloksikam son yıllarda veteriner hekimliğin kullanım alanına girmiş bir NSAID'dır. Meloksikam, inflamasyon cevabın en önemli bileşenlerinden biri olan COX-2 için selektif ajan olup COX-2 inhibisyonunu sağlar ve COX1 için de nonselektif baskılama gerçekleştirir (Yaman ve ark., 2017).

Kronik inflamasyonun, kalıcı hepatit B, Helicobacter pylori enfeksiyonları veya karaciğer ve gastrointestinal kanserlerin gelişme potansiyeli olan bir immünopati gibi farklı hastalıklarda veya bozukluklarda artan kanser riski ile ilişkili olduğu iyi bilinmektedir. Kronik inflamasyonun dünya çapında% 15 oranında malignite gelişimine yol açtığı bildirilmiştir. Bu nedenle, inflamasyon ve kanser arasındaki ilişki, NSAID'ler gibi antienflamatuar ilaçların antineoplastik tedavi olarak kullanılıp kullanılamayacağı sorusunu arttırmaktadır (Kuper et al., 2000). Akut ağrı ve kronik enflamatuar hastalıklarda ortaya çıkan semptomları hafifletmek için birkaç NSAID keşfedilmiştir ve hala kullanılmaktadır. İn vivo ve in vitro çalışmalar, meloksikamın COX-2'nin inhibisyonu üzerindeki yeteneğinin COX-1'den daha fazla olduğunu göstermektedir.

Klinik alışmalar, meloksikamın iyi tolere edilebilirliğe ve daha az yan etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Del Tacca et al., 2002). NSAID'ler birincil olarak siklooksijenaz (COX) aktivitesini inhibe ederek, inflamasyonun merkezi düzenleyicileri olarak prostaglandinlerin sentezini etkiler (Kang ve ark., 2007). Bununla birlikte, pankreas karsinomu riski ne antioksidanların eklenmesiyle (Bjelakovic ve ark., 2004) ne de steroidal olmayan anti-romatizmal ilaçların uygulanmasıyla azalmaz (Harris ve ark., 2005; Jacobs ve ark., 2004). Bu nedenle, bu tür ilaçların önleyici alımı, pankreas karsinomunun tedavisi için mevcut kılavuzlarda önerilmemektedir (Anonim, 1). 1999 yılında Tucker ve ark. pankreas karsinomunda artmış COX-2 düzeyleri göstermiştir. Diğer insan tümör hücre dizilerinde de benzer artışlar bulunmuştur, böylece siklooksijenaz 2'nin maligniteler bağlamında inhibisyonu, literatürdeki yayın sayısıyla gösterilen tümör araştırmasının odağı haline gelmiştir (Malsy et al., 2017).

## 2. GENEL BİLGİLER

Bütün bu veriler ve literatür bilgileri ışığında ağrı kesicilerin ülkemizde ve toplumda çok fazla tercih edilen ilaç grubunu oluşturduğunu görmekteyiz. Bu çalışmanın amacı toplumda gerek reçeteli gerekse reçetesiz ağrı kesici kullanıldığı göz önüne alındığında ve sistemik kullanıldığında faydasının olup olmadığı incelenmesidir. Bunun için ağrı kesici ilaçlar olarak bilinen Metamizol etken maddeli 1 numaralı ilaç, Diklofenak etken maddeli 2 numaralı ilaç, Diklofenak sodyum etken maddeli 3 numaralı ilaç, parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilaç, Deksketoprofen etken maddeli 5 ve 6 numaralı ilaçlar, tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilaç ve Meloksikam etken maddeli 8 numaralı olmak üzere toplam 8 adet ağrı kesici ilaç in vivo ortamda bazı insan patojeni olan bakteri ve funguslara karşı antimikrobiyal etkisi ve antioksidant özelliği araştırılmıştır.

Daha önce yapılan çalışmalarda, Mouithys-Mickalad ve arkadaşları 2000 yılında bir grup nonsteroid antiinflatuar ilaçların antioksidan aktivitelerinin Kemilüminesans ve elektron spin rezonans teknikleri aracılığıyla belirlenmesine yönelik bir araştırma gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmanın sonuçları göstermiştir ki Diklofenak  $Fe^{2+}$ /askorbat sistemi ile indüklenen lipid peroksidasyonunu azaltmakta ayrıca, peroksinitritin ayrışmasını hızlandırmaktadır. Böylelikle peroksinitriti süpürebilecek potansiyele sahip olduğu ortaya konulmuştur.

Diken Allahverdi ve arkadaşları (2014) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise karın cerrahisinden sonra sık görülen ve ciddi komplikasyonlara neden olabilen peritoneal adezyonlar durumunda diklofenak ve ellagik asidin sıçanlarda ki postoperatif adezyonlar üzerindeki etkileri karşılaştırılmıştır. Çünkü antiinflatuar ve antioksidan özelliklere sahip maddelerin oksidatif stresi azaltarak adezyonu engellediği bilinmektedir. Çalışmanın sonuçlarında diklofenak sodyumun adezyonu belirli bir ölçüde azaltmış olmasına rağmen ellagik asidin peritoneal adezyonun önlenmesi üzerindeki etkilerinin diklofenak sodyumdan daha güçlü olduğu bulunmuştur.

Diklofenak üzerinde yapılan bir başka çalışma da wistar sıçanlarının diklofenak ile indüklenen böbrek hasarının ortaya konulması için antioksidan mekanizmanın işleyişi incelenmiş ve elde edilen bulgular diklofenak verilmesinin,

oksidatif stresin indüklenmesi yoluyla böbrek fonksiyonlarını bozabileceğini göstermektedir (Abiola et al., 2019). Buna benzer yapılan pek çok in vivo çalışmada diklofenak kullanımının oluşturduğu oksidatif stres üzerinde olumlu etkileri olabilecek başka kaynaklar araştırılmıştır (Owumi ve Dim, 2019; Erkmen, 2017; El-Hadary ve Ramadan, 2019).

Yaman ve arkadaşları 2017 yılında yapmış oldukları bir çalışmada klinik uygulamalarda romatoidartrit, osteoartrit ve miyalji gibi kas ve iskelet sistemine bağlı ağrı ve inflamasyonlu durumlarda tercih edilebilen bir non-streoid olan Meloksikam (MLX)'ı, ve meloksikamın Platin (Pt) ile oluşturulacak kompleksini (MLX+Pt) inflamasyon üzerindeki etkisi incelenmiş ve hem MLX hem de MLX+Pt kompleksinin sağlıklı sıçanlarda doza ve zamana bağlı olarak anlamlı anti nosiseptif etkiler oluşturduğu gözlenmiştir. Hayvan nakilleri sırasında oksidatif stresin gelişebileceği bildirilmektedir (Adenkola ve Ayo, 2010). Bu bilginin üzerine Özşentürlü yapmış olduğu çalışmada besi sığırlarında uzun süreli karayolu nakillerinden sonra nonsteroid iki antienflamatuvar ilacın (Ketoprofen ve Meloksikam) oksidatif sistem parametreleri (süperoksit dismutaz ve MDA seviyeleri) üzerindeki olumlu ya da olumsuz etkilerinin belirlemeye çalışmıştır ve tek doz Meloksikam uygulamasının Ketoprofen uygulamasına göre daha etkili olduğu görülmüştür. Meloksikam uygulamasının nakil sonrası oluşabilecek oksidatif sürecin lehine faydalı etkiler oluşturacağı kararına varılmıştır. Bir NSAID olan meloksikam seçici olarak COX-2'yi inhibe eder. COX-2 inhibitörleri, prostanooid ve serbest radikal sentezinde azalmaya neden olarak ve alternatif metabolik yollar yoluyla araşidonik asit metabolizmasında değişiklikler uygulayarak anti-tümöral etkilere sahip olabilir. ROS üretiminin en yaygın sonuçlarından biri, kanserin gelişiminde önemli rol oynayan iltihaptır. Birçok çalışma seçici COX-2 inhibitörlerinin antitümör aktivitesi olabileceğini göstermiştir (Hwang ve ark., 1998; Watkins ve ark., 1999).

Soliman ve arkadaşları tarafından 2020 yılında yapılan çalışma tramadolün sıçanların testisleri üzerinde zararlı etkisi olduğunu ancak bu etkinin tramadol uygulaması durdurulduğunda geri dönüşümlü olduğunu ancak tam iyileşme sağlanamadığını ortaya koymuştur. C vitamini ve tramadolün kombinasyon halinde iyileşme göstertirdiği de bu çalışmanın bulguları arasındadır. Tramadol kullanımının oksidatif hasarı indüklemek yoluyla pek çok zararlı etkisinin olduğunu gösteren sayısız

Çalışma mevcuttur (Mohamed ve Mahmoud, 2019). Bunların yanı sıra tramadol kullanımının olumsuz etkilerinin, antioksidan etkinliği olduğu bilinen gallik asit, kurkumin veya üzm çekirdeği ekstresi gibi kaynaklarla önlenebileceğine ilişkin çalışmalar da mevcuttur (Sheweita ve ark., 2018; Nada ve ark., 2014).

Borges ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmanın sonuçları insan eritrositlerindeki parasetamolün antioksidan aktivitesinin salisilik asitten daha etkileyici olduğunu göstermektedir. Ayrıca parasetamolün çeşitli oksidatif stres-zorlamalı modellerde salisilik asitten daha fazla antioksidan özelliğe sahip olduğu ve salisilik asitten daha gl bir lipid peroksidasyon inhibitörü olduğu ortaya konulmuştur. Bu etkiler, parasetamolün orto veya para pozisyonundaki elektron verici gruplar olan fenol ve asetamidin varlığına atfedilmiştir.

Malsy ve arkadaşları tarafından 2017 yılında yapılan çalışmanın sonuçlarına göre metamizol ve parasetamolün terapötik dozlarının, pankreas kanseri hücre dizisi olan PaTu 8988t üzerinde proliferasyonu inhibe ettiği ortaya konulmuştur. Mevcut çalışmada benzer bir inceleme yapılmış ancak Diklofenak sodyum içeren 2 numaralı ilacın insan bronşiyal epitel hücreleri (BEAS-2B) zerindeki sitotoksik etkilerinin diğer ilaçlar arasında en etkin olduğu ve aynı etken maddeyi içeren 3 numaralı ilacında hemen hemen aynı ölçüde yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Soliman ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise tramadol ile tedavi edilen sıçanların testislerinde, spermatojenik hücrelerin dejenerasyonu ve düzensizliği ile seminifer tübüllerin düzensizliği gözlenmiştir (Soliman ve ark., 2020). Youssef ve Zidan bu bulguları, özellikle testiste olmak üzere tramadolün oksidatif hasarına ve serbest radikal oluşumuna bağladılar çünkü testiküler doku ve spermier plazma zarlarında bol miktarda çoklu doymamış yağ asidi içerirler. Ahmed ve Kurkar tramadolün lipid peroksidasyonuna neden olduğunu, antioksidan enzim aktivitelerini azalttığını ve testiküler dokunun hasarına destek olan nitrik oksitin testiküler seviyesini artırdığını önermişlerdir. Tramadolün etkilerinin bir başka açıklaması Abou El Fatoh ve ark. (2014) tarafından rapor edilmiştir. Tramadolün erkek sıçanlarda kontrollere kıyasla seks hormonu seviyesini azalttığını gösterdiler. Tramadolun testis üzerindeki kötü etkilerinden sorumlu olabilecek luteinize edici hormon, folikül uyarıcı hormon ve testosteronun plazma seviyelerinde azalma olmuştur.



### 3. MATERİYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 Besiyerleri

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde kullandığımız disk difüzyon ve agar dilüsyon yönteminde; bakteriler için Müller Hinton Agar, funguslar (mantarlar) için Sabouraud Dekstroz Agar besiyerleri kullanıldı. Mikroorganizmaların üremesini sağlamak için Müller Hinton Broth ve Sabouraud Dekstroz Broth besiyerleri kullanıldı. Minimum inhibisyon konsantrasyonu çalışmada yukarıda belirtilen agar besiyerleriyle birlikte, Tris Buffer ¼ oranında kullanıldı.

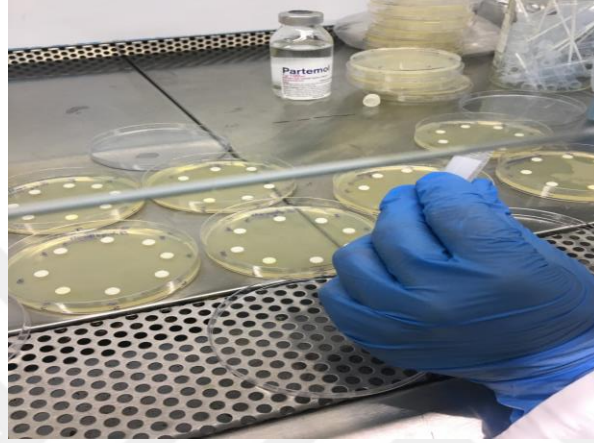
#### 3.2 Mikroorganizmalar

Antibakteriyel etki belirlemede ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853 Gram (-), *Escherichia coli* ATCC®25922 Gram (-), *Klebsiella pneumoniae* ATCC®13883 Gram (-), *Citrobacter freundii* ATCC® 43864 (-), *Bacillus subtilis* B209, Gram (-), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Gram (+), *Yersinia enterocolitica* ATCC®27729 Gram (-), *Bacillus cereus* ATCC®10876 Gram (+), *Enterococcus faecalis* ATCC® 29121 Gram (+), *Aspergillus niger* ATCC®9642, *Listeria monocytogenes* ATCC®7677, *Salmonella enteric* ATCC 14028 Gram (-), *Saccharomyces cerevisiae* ATCC®9763, *Bacillus subtilis* B209 Gram (+), *Proteus vulgaris* (ATCC 7829) bakterileri ve fungusları kullanıldı.

#### 3.3 Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması ve Ağırkesici İlaçların Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlemesi

Bakteri suşları Müller Hinton Broth'a aşılanarak 37±0.1°C'de 24 saat süreyle, fungus suşları da Sabouraud Dekstroz Broth'a aşılanarak 25±0.1°C'de 48 saat süreyle inkübe edildi. Çalışmada kullanılan besiyerleri çalışmaya başlamadan önce otoklavda sterilize edildi ve 45-50°C'ye kadar soğuması beklendi. Daha sonra agar besiyerleri 10 cm çapındaki steril petri kutularına steril pipetler ile 20 ml dağıtıldı. Besiyerinin homojen bir şekilde dağılması sağlandı. Mikroorganizmaların çalışmaya başlanmadan önce spektrofotometre ile besiyeri içerisindeki yoğunlukları istenilen değerde tespit edildi (Mc Farland No:0,5). Bakteri için 10<sup>8</sup> cells/ml ve funguslar için 10<sup>7</sup> cells/mL katılan agar üzerine swap yöntemi ile mikroorganizma ekimi yapıldıktan sonra sıvı formdaki ağır kesicilerden petriye hafifçe bastırılarak yerleştirilen diskler üzerine 30'er µl damlatıldı. Bu şekilde hazırlanan petri kutuları 4°C'de 2 saat bekletildikten sonra bakteri aşılanan petri kutuları 37±0.1°C'de 24 saat, fungus aşılanan petri kutuları

ise  $25\pm0.1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübe edildi. Süre sonunda besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak değerlendirildi (Şekil 3.1). Antimikrobiyal aktiviteyi belirlemede genel olarak kullanılan teknikler, agar difüzyon yöntemi, broth dilüsyon yöntemi ve disk difüzyon yöntemidir. Uygun sıcaklık ve inkübasyon süresi sonunda inhibisyon zon çapları ölçülerek değerlendirildi. Deneyler 3'er kez paralel olarak tekrarlandı.

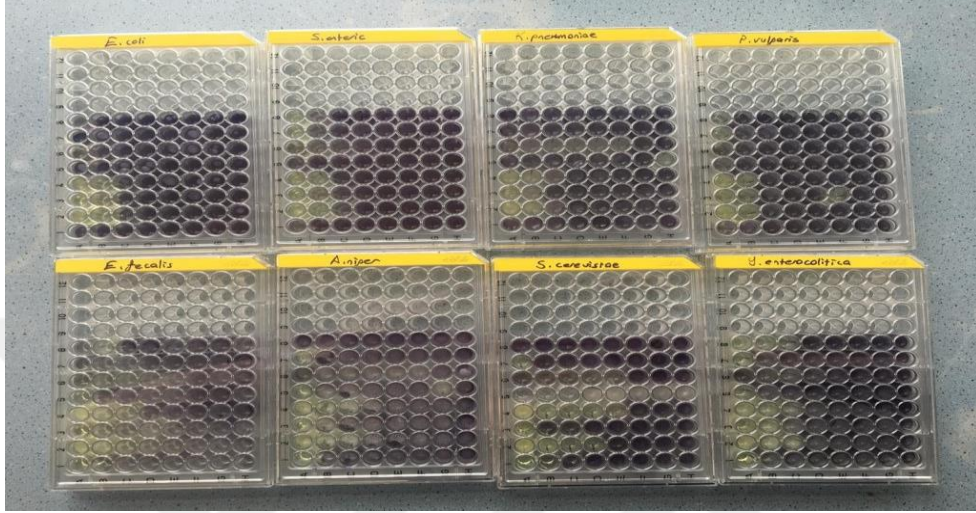


Şekil 3.1 Disk difüzyon deneyi.

#### 3.4 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)' nun Mikrodilüsyon Yöntemiyle Belirlenmesi

Mikroorganizmaların büyümesini tamamen engelleyen en düşük ağırsıcı ilaçların ekstraksiyon konsantrasyonunu temsil eden minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri, bir mikro kuyucuk seyreltme yöntemiyle belirlendi (Ertürk, 2006; Wade, ve ark., 2001; Sökmen, 2004). Bütün ağırsıcılar sulu formda olduğu için tekrar suda çözmeye gerek yoktu daha sonra seyreltme serileri 96 oyuklu bir plakada (Corning) hazırlandı. Tris tamponu (Amresco 0826-500G) karışımı (1:4) ve  $30^{\circ}\text{C}$ 'de, eşit miktarda broth çözeltisi Sabouraud Dekstroz Agar (Oxoid) ve mantarlar için Müller Hinton Broth (Merck) ile karıştırıldı. Ağırsıcı ilaçların ekstresi numuneleri 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 ve 1.562  $\mu\text{l}$  konsantrasyonlarında test edildi. İnokula, test organizmasının bir gecelik broth kültüründen elde edildi. 0.5 McFarland standartlarının bulanıklığını (genellikle 24-48 saat) elde edinceye kadar  $350^{\circ}\text{C}$ 'de kuluçkalandı. Her bakterinin aşı maddesi hazırlandı ve süspansiyonlar bakteriler için ve mantarlar  $10^7$  CFU/ml için ayarlandı. Çözündürmeden sonra, her bir oyuk 10  $\mu\text{l}$  taze hazırlanmış  $1 \times 10^8$  bakteri,  $1 \times 10^7$  mantar/ml bakteri süspansiyonu ile aşılandı ve 24 saat  $37^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edildi. Bundan sonra, her kuyucuğa taze hazırlanmış su içinde

0.5 mg / ml nihai konsantrasyonda 30 ul 3-(4,5-dimetil-tiyazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazolyum bromür (MTT) ilave edildi ve 30 dakika süreyle inkübe edilir. Mor renge geçiş, bakterilerin biyolojik olarak aktif olduğunu gösterdi. MIC, MTT'nin renginde bir değişiklik gözlenmeyen kuyuya alındı. MİK değerleri üç kopya halinde yapıldı.



**Şekil 3.2** Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC)'nın mikrodilüsyon yöntemi.

### 3.5 DPPH Serbest Radikali Temizleme Aktivitesinin Belirlenmesi

DPPH Aktivitenin Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler: 1,1'-difenil-2-pikrilhidrazil ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$ , DPPH) çözeltisi 517 nm deki absorbanısı 1.200'nin altında olacak şekilde yeterli miktardaki DPPH katısının kullanımdan hemen önce metanol içinde çözülmesi ile taze olarak hazırlandı.

DPPH Radikal Giderme Aktivitesi Tayini: DPPH testi, serbest radikallerin süpürülmesi açısından antioksidan aktiviteyi değerlendirmek amacıyla kullanılan hızlı bir spektroskopik metoddur. Mor rengi ile kararlı bir serbest radikal olan DPPH, radikal süpürücü bileşenler varlığında sarı renkli difenilpikrilhidrazine indirgenir (Eren, 2011). İncelenecek olan ilaç örneklerinin serbest radikal süpürme etkinlikleri Sánchez-Moreno ve ark., (1998) tarafından kullanılan metoda göre tespit edildi. Bu amaçla ilaç örneklerinden alınan uygun miktarların metanolde hazırlanmış DPPH çözeltisi ile birleştirilmesiyle oluşan karışım 30 dakika karanlıkta bekletildi ve 517 nm de metanole karşı absorbanı kaydedildi. Aşağıdaki eşitlik kullanılarak her bir ilaç numunesinin test edilen farklı konsantrasyonları için süpürme aktivitesi değerleri hesaplandı. Hesaplanan süpürme aktiviteleri konsantrasyona karşı grafiğe

geçirildikten sonra SC<sub>50</sub> değeri (ortamdaki serbest radikallerin %50 sini süpüren ilaç miktarı) belirlendi. Kör olarak DPPH çözeltisi ile metanol karışımının absorbansı kaydedildi.

$$\text{Süpürme Aktivitesi (\%)} = [A (\text{kör}) - A (\text{numune})]/A (\text{kör}) \times 100$$

### 3.6 FRAP Metodu ile Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

FRAP Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler: 0.3 M Asetat Tamponu (pH: 3.6): 4 g sodyum asetat tri hidrat (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>.3H<sub>2</sub>O) bir miktar destile suda çözülüp, pH metre kullanılarak asetik asit ile pH'sı 3.6'ya ayarlandı ve toplam hacim destile suyla 100 mL'ye tamamlandı. 40 mM HCl çözeltisi: 12 M'lık derişik HCl çözeltisinden 0.33 mL alınarak son hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı. 10 mM TPTZ (2,4,6-Tris (2-Piridil)-S-triazin) çözeltisi: 0.312 g TPTZ alınarak 40 mM HCl içinde son hacim 100 mL olacak şekilde çözülerek hazırlandı. 20 mM FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O çözeltisi: 0.54 g FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O alınarak son hacim 100 mL olacak şekilde suda çözülerek hazırlandı. FRAP Reaktifinin Hazırlanması: Daha evvel hazırlanmış olan 2.5 mL FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O, 2.5 mL TPTZ ve 25 mL 0.3 M asetat tamponu (pH=3.6) karıştırılarak taze olarak hazırlandı. 25 mM Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) çözeltisi: Standart olarak kullanılan troloksun 25 mM'lık stok çözeltisi 0.626 g troloksun son hacim 100 mL olacak şekilde etanol içerisinde çözülmesiyle hazırlandı. Kalibrasyon eğrisinin oluşturulması sırasında metanol/su ile uygun konsantrasyona seyreltilerek kullanıldı.

FRAP Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini: Demir indirgeme antioksidan kapasitesi yöntemi ucuz, tekrarlanabilir ve basit bir antioksidan aktivite tayin yöntemi olup seçilen ilaç numunelerinin FRAP değerlerinin belirlenmesi amacıyla Habib ve arkadaşları (2013)'nın, geliştirdiği yöntem takip edildi. FRAP metodu Fe(III)-TPTZ kompleksinin antioksidanlar varlığında indirgenerek mavi renkli kompleks Fe(II)-TPTZ oluşturması ve bu kompleksin 595 nm'de maksimum absorbans vermesi esasına dayanır (Oyaizu, 1986). Bu amaçla taze olarak hazırlanmış 1.2 mL FRAP reaktifi ilaç numunelerinin uygun miktarları ile birleştirildi ve 37 °C'da 30 dakika inkübasyonun sonrasında 595 nm'de absorbans değerleri okundu. Sonuçlar standart antioksidan troloksun kullanılmasıyla aynı deneme şartlarında elde edilen standart kalibrasyon

grafiğinden yararlanarak troloks eşdeğeri cinsinden etken maddenin 1 gramı başına  $\mu\text{mol}$  troloks olacak şekilde ifade edildi.

### 3.7 ABTS<sup>•+</sup> Testi ile Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Test edilen ilaç numunelerinin toplam antioksidan aktivitesi ABTS radikal katyonunun (ABTS<sup>•+</sup>) renginin açılmasıyla takip edilen yöntemle de (Re ve ark., 1999) belirlendi. Bu amaçla ilk olarak 7 mM ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) çözeltisi su ile hazırlandı. ABTS radikal katyonu ise ABTS stok çözeltisinin final konsantrasyonu 2,45 mM olan potasyum persülfat ile reaksiyonu ve karışımın kullanılmadan önce oda sıcaklığında karanlıkta 12-16 saat bekletilmesiyle oluşturuldu. ABTS'in oksidasyonu hemen başlamaktadır ancak absorbanı yaklaşık 6 saat geçmeden maksimuma ulaşmamakta ve kararlı olmamaktadır. Aktivite testinden önce çözelti 734 nm de 0,7 absorban verecek şekilde etanolle (yaklaşık 1:88, v/v) seyreltilip, tüm denemelerin gerçekleştirileceği 30°C de dengeye getirildi. Troloks standart olarak kullanıldı. Bu nedenle test edilecek numunenin uygun miktarı üzerinde 1,2 mL ABTS<sup>•+</sup> çözeltisi eklenip karıştırıldıktan sonra 30 dakika 30 °C de inkübe edildi. Paralel olarak çözücü körü de hazırlanıp aynı işlemlere tabii tutuldu. Aynı şekilde standart olarak kullanılan troloksun farklı konsantrasyonları ile de aynı şartlar altında deneme gerçekleştirildi ve FRAP testinde anlatıldığı şekilde Troloks konsantrasyonuna karşı 734 nm deki absorban grafiğinden yararlanarak ilaç örneklerinin Troloks eşdeğer antioksidan kapasite ( $\mu\text{mol TX/g}$  etken madde) cinsinden ifade edildi.

### 3.8 Hücre Kültürü ve Tedavisi

Çalışmamızda BEAS-2B (insan sağlıklı bronşial epitel hücre hattı) kullanılmıştır. Hücreler, LHC-8 besiyerinde %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde, 37°C'de ve %95 nemli ortamda inkübasyona bırakılmıştır. İnsan akciğer epitel hücre hattı (BEAS-2B), LHC-8 besiyerinde CO<sub>2</sub> atmosferi içinde 37°C' de büyütüldü. Deneyler gerçekleştirilmeden önce hücreler hücre kültürü şişesi içerisinde %70-80 oranında dolana kadar çoğaltıldı. 3 günde bir besiyeri değiştirildi. Hücreler kültür şişesini %70-80 oranında doldurduklarında split işlemi gerçekleştirildi. Öncelikle, besiyeri aspire edildi ve hücreler ultrasalin ile yıkandı. Sonra tripsin eklenerek 5 dk inkübatörde 37°C' de bekletildi. Ardından, TNS eklendi ve santrifüj edildi. Süpernatant kısmı atıldıktan sonra taze besiyeri eklendi. Bir miktar hücre ile tripan blue karıştırılarak hücre sayım

cihazına yüklendi. Hücre sayısı bulundu ve 96 kuyucuklu kültür plakalarına ekim yapıldı. Hücreler, bir dizi seyreltme işlemi uygulanan Madol (Tramadol HCl, 100 mg/2 ml), Voltaren (Diklofenak sodyum, 75 mg/3 ml), Melox (Meloksikam, 15 mg/1.5 ml), Metadem (Deksketoprofen trometamol, 50 mg/2 ml), Novalgin (Metamizol sodyum, 1 g/2 ml), Dikloron (Diklofenak sodyum, 75 mg/3 ml), Arveles (Deksiketoprofen trometamol, 50 mg/2 ml) ve Partemol (Parasetamol, 1 g/1 ml) ile birlikte 24, 48 ve 72 saatlik maruziyette tedavi edildi.

### **3.9 Hücrelerin Pasajlanması**

Hücreler konfluent olduğunda besiyeri aspire edilip hücreler ultrasalin ile yıkanmıştır. Hücreleri flask yüzeyinden kaldırmak için tripsin solüsyonu kullanılmıştır. Hücreler 3-4 dakika inkübatörde bekletilerek hücrelerin flasktan kalkması sağlanmıştır. Süre sonunda hücrelerin üzerine tripsin ile eşit miktarda tripsin nötralize edici solüsyon eklenmiş ve hücreler santrifüj 1000 rpm' de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı atıldıktan sonra hücrelerin bulunduğu pellet kısmına taze besiyeri eklenmiştir. Hücre süspansiyonunun 10 µl'si eşit hacimde tripan mavisi ile karıştırılarak hücre sayım lamalarına yüklenmiş ve hücre sayım cihazında mililitredeki hücre sayısı tespit edilmiştir. Sayımı yapılan hücreler, hem çoğaltılmak üzere hem de deneylerde kullanmak amacıyla yeni kültür kaplarına ekilmiştir. Kalan hücreler ise ileride kullanılmak üzere dondurularak sıvı azot buhar fazında saklanmıştır.

### **3.10 Deney Gruplarının Oluşturulması**

Ticari olarak satılan Madol (Tramadol HCl, 100 mg/2 ml), Voltaren (Diklofenak sodyum, 75 mg/3 ml), Melox (Meloksikam, 15 mg/1.5 ml), Metadem (Deksketoprofen trometamol, 50 mg/2 ml), Novalgin (Metamizol sodyum, 1 g/2 ml), Dikloron (Diklofenak sodyum, 75 mg/3 ml), Arveles (Deksiketoprofen trometamol, 50 mg/2 ml) ve Partemol (Parasetamol, 1 g/100 ml) ilaçları temin edildikten sonra deneylerde kullanılacak konsantrasyonları hazırlanmıştır. Herbir ilaçtan 100 µl alınarak 100 µl besiyeri ile karıştırılmıştır. Daha sonra her bir ilaç için seri sulandırma işlemi yapılarak toplam 8 farklı konsantrasyon hazırlanmıştır. Her bir seyreltme işlemi besiyeri ile yapılmıştır. Madol için 0.07, 0.15, 0.30, 0.59, 1.18, 2.36, 4.73, 9.45 mM; Voltaren için 0.03, 0.07, 0.13, 0.26, 0.53, 1.06, 2.11, 4.22 mM; Melox için 0.01, 0.02, 0.04, 0.09, 0.18, 0.35, 0.70, 1.40 mM; Metadem için 0.04, 0.08, 0.15, 0.31, 0.61, 1.23, 2.45, 4.90 mM; Novalgin için 0.63, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 mM; Dikloron

için 0.03, 0.07, 0.13, 0.26, 0.53, 1.06, 2.11, 4.22 mM; Arveles için 0.04, 0.08, 0.15, 0.31, 0.61, 1.23, 2.45, 4.90 mM ve Partemol için 0.05, 0.10, 0.21, 0.41, 0.83, 1.65, 3.30, 6.60 mM konsantrasyonlarda solüsyonlar hazırlanmıştır.



**Çizelge 3.1** Oluşturulan deney grupları.

|   | 1                | 2                    | 3          | 4                            | 5                   | 6                     | 7                               | 8           | 9       | 10    |
|---|------------------|----------------------|------------|------------------------------|---------------------|-----------------------|---------------------------------|-------------|---------|-------|
|   | Tramadol<br>HCl, | Diklofenak<br>sodyum | Meloksikam | Deksketoprofen<br>trometamol | Metamizol<br>sodyum | Diklofenak<br>sodyum, | Deksiketoprofen<br>trometamol s | Parasetamol | Kontrol | Blank |
| A | 83,5 mM          | 39,5 mM              | 14 mM      | 33,5 mM                      | 750 mM              | 39,5 mM               | 100 mM                          | 33 mM       | Kontrol | Blank |
| B | 41,75 mM         | 19,75 mM             | 7 mM       | 16,75 mM                     | 375 mM              | 19,75 mM              | 50 mM                           | 16,5 mM     | Kontrol | Blank |
| C | 20,88 mM         | 9,88 mM              | 3,5 mM     | 8,38 mM                      | 187,5 mM            | 9,88 mM               | 25 mM                           | 8,25 mM     |         |       |
| D | 10,44 mM         | 4,94 mM              | 1,75 mM    | 4,19 mM                      | 93,75 mM            | 4,94 mM               | 12,5 mM                         | 4,13 mM     |         |       |
| E | 5,22 mM          | 2,47 mM              | 0,88 mM    | 2,1 mM                       | 46,88 mM            | 2,47 mM               | 6,25 mM                         | 2,07 mM     |         |       |
| F | 2,61 mM          | 1,24 mM              | 0,44 mM    | 1,05 mM                      | 23,44 mM            | 1,24 mM               | 3,13 mM                         | 1,35 mM     |         |       |
| G | 1,31 mM          | 0,62 mM              | 0,22 mM    | 0,53 mM                      | 11,7 mM             | 0,62 mM               | 1,57 mM                         | 0,68 mM     |         |       |
| H | 0,66 mM          | 0,31 mM              | 0,11 mM    | 0,27 mM                      | 5,8 mM              | 0,31 mM               | 0,79 mM                         | 0,34 mM     |         |       |

Hücre Canlılığı (%) = (Doz uygulanan kuyucuğun ortalama absorbens değeri/ kontrol kuyucuğun ortalama absorbens değeri) x 100. Sitotoksisite (%) = 100 - (Doz uygulanan kuyucuğun ortalama absorbens değeri/ kontrol kuyucuğun ortalama absorbens değeri) x 100.

### 3.11 Hücre Canlılığı ve Sitotoksosite

İlaçların BEAS-2B hücrelerinin canlılığı ve sitotoksitesi üzerindeki etkileri MTT (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il] -2,5-difenil tetrazolium bromür) testi ile belirlenmiştir. Suda çözünen bir tetrazolium tuzu olan MTT sarımsı bir çözelti oluşturur. Tetrazolium halkasının dehidrojenaz enzimleri tarafından parçalanması sonucu mor suda çözünmeyen formazana dönüşmektedir. Oluşan formazan bir çözücü yardımı ile çözünebilir hale getirilir ve oluşan renk spektrofotometrik olarak okunup kantite edilir (Doyle ve Griffiths, 1998). BEAS-2B hücreleri, her kuyucukta 8000 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu kültür plakalarında çoğaltıldıktan sonra, bir dizi seyreltme işlemi uygulanan Madol (0, 0.07, 0.15, 0.30, 0.59, 1.18, 2.36, 4.73, 9.45 mM), Voltaren (0.03, 0.07, 0.13, 0.26, 0.53, 1.06, 2.11, 4.22 mM), Melox (0, 0.01, 0.02, 0.04, 0.09, 0.18, 0.35, 0.70, 1.40 mM), Metadem (0, 0.04, 0.08, 0.15, 0.31, 0.61, 1.23, 2.45, 4.90 mM), Novalgin (0, 0.63, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 mM), Dikloron (0, 0.03, 0.07, 0.13, 0.26, 0.53, 1.06, 2.11, 4.22 mM), Arveles (0, 0.04, 0.08, 0.15, 0.31, 0.61, 1.23, 2.45, 4.90 mM) ve Partemol (0, 0.05, 0.10, 0.21, 0.41, 0.83, 1.65, 3.30, 6.60 mM) ilaçlarının 8 farklı konsantrasyonu ile 24, 48 ve 72 saatliğine muamele edilmiştir.

Maruziyet süreleri sonrasında, her bir bölmeye MTT çözeltisi (5 mg/ml) ilave edildi ve hücreler 37 °C'de 4 saat inkübe edildi. Süre sonunda besiyeri aspire edildi ve her bölmeye 100 µl DMSO ilave edildi. 15 dakika sonra her bir bölmenin absorbans değeri Eliza cihazı ile 570 nm de ölçüldü. Elde edilen veriler ile hücre canlılığı (%) ve sitotoksosite (%) değerleri belirlenmiştir. Kontrol kuyucuklarından elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması %100 canlı hücre olarak kabul edilmiştir. Ayrıca her ilaç için 24, 48 ve 72 saatlik maruziyetler sonrası IC<sub>50</sub> değerleri de belirlenmiştir.

### 3.12 İstatistiksel Analiz

Tüm veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SE) olarak gösterilmiştir. Deney gruplarından elde edilen ortalamalar Student-t testi ile karşılaştırılmıştır.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında ticari olarak üretilen ağrı kesici ilaçlar olarak satın alınan bazı ilaçların etkin maddelerinin Deksketoprofen etken maddeli 5 numaralı ilaç, eksketoprofen trometamol (50 mg deksketopropene eşdeğer), Diklofenak sodyum etken maddeli 3 numaralı ilaç (Her fitil 100 mg diklofenak sodyum), Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilaç ( Bir Melox Tablet 7.5 mg meloksikam), Diklofenak sodyum etken maddeli 2 numaralı ilaç (bir tablet 100 mg diklofenak sodyum içerir), Deksketoprofen etken maddeli 6 numaralı ilaç (25 mg deksketoprofen), Metamizol etken maddeli 1 numaralı ilaç (Metamizol sodyum 500 mg), Tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilaç ( tramadol HCl), ve Parasetamol (her 1 ml çözelti 10 mg parasetamol içerir) ağrı kesicilerinin in vivo ortamda 12 insan patojeni olan bakteri ve 2 funguslara karşı antimikrobiyal etkisi ve antioksidant özelliği araştırılmıştır. Aktivitelerini farklı metodlara dayanan yöntemlerle belirlenmeye çalışılmıştır.

##### 4.1 Ağrı Kesici İlaçların Antimikrobiyal Aktivite Açısından Değerlendirilmesi

Penisilinin keşfi ile birlikte antimikrobiyal araştırmalar hız kazanmış ve mikroorganizmalardan streptomisin, aureomisin, kloromisetin gibi sayısız antibiyotikler keşfedilmiştir. Klinik olarak kullanılan mikroorganizma kaynaklı bu antibiyotikler genellikle toprak mikroorganizmalarından ve funguslardan üretilmektedir. Doğal antibiyotiklerin üretildiği mikroorganizmalar çoğunlukla Actinomycetes (*Streptomyces* spp.) ve Penicillium türlerinden oluşmaktadır. Biyoaktif mikrobiyal ürünlerin araştırılması yıldınyıla süreklilik arz etmektedir ve bitki temelli antimikrobiyal bileşenler (fitokimyasallar), nicelik olarak gösterdikleri terapötik potansiyel ile zengin bir alternatif sunmaktadırlar (Shinji, 1993) Peki bu antimikrobiyal özellikteki bitki bileşenleri mikroorganizmalar ile nasıl bir etkileşim içerisindedir? Bu sorumuzun yanıtı ile ilgili birçok hipotez öne sürülmektedir. Araştırmacılara göre, doğal bileşikler hücrelerde doğrudan ya da dolaylı olarak hücrelerin biyokimyasal süreçlerini etkilemekte, fizikokimyasal bütünlüğünü bozmaktadır. Özellikle hidrofobik yapıda olan terpenler, hücre duvarı ile etkileşime geçerek hücre duvar bütünlüğünü hasara uğratmaktadır. Terpenlerin hidrofobik özelliği hücre duvarındaki lipitler ile interaksyonu lipitlerin bir arada toplanmasına ve zarın geçirgenliğinin artmasına neden olmaktadır. Doğal olarak fizikokimyasal yapının bozulması, hücrede proton hareketi ve elektron akışının ve dolayısıyla

taşımasını aksaklıklarına ve hücre içeriğinin koagülasyonuna neden olacaktır. Herhangi bir doğal bileşenin hedef bölgeyi etkilemesiyle oluşabilecek zincirleme reaksiyonlar da hücrenin başka bir bölgesinde benzer hücre tahribatına neden olabilecektir. Antimikrobiyal bileşenlerin ayrıca hücre duvarında bulunan proteinleri de etkiledikleri bilinmektedir (Silva ve Fernandes, 2010). Cowan (1999), antimikrobiyal fitokimyasalları fenolikler, terpenoidler-ucucu yağlar, alkaloidler, lektinler-poli-peptidler ve poliasetilenler olmak üzere beş grupta toplamıştır. Proteinlere ve poliamid polimerlere karşı oldukça reaktif olan hidroksillenmiş bileşenleri içeren fenoller, bitkisel antimikrobiyal ajanların en geniş grubunu oluşturmaktadır (Karou, 2007). Gram negatif bakteriler, Gram pozitiflerden farklı olarak ikincil bir dış membrana sahiptir. Gram negatiflerde, stoplazmik membran, ince bir peptidoglikan tabaka ve tekrar bir dış membran bulunmaktadır. Peptidoglikan tabaka Gram negatiflerde, Gram pozitiflere göre çok ince bir tabaka iken, esas farklılığı oluşturan en dış membran LPS (lipopolisakkarit) tabakasıdır. LPS tabakası, bakterinin hidrofobitesini arttıran, ozmotik basınca karşı daha dayanıklı olmasını sağlayan ve bakterilerin patojenik etkisine neden olan bir tabakadır (Beveridge, 1997; Navarre ve Schneewind, 1999). LPS, aşırı hidrofobik (lipofilik) moleküllerin hücreye girişini belirgin biçimde yavaşlatırken, porin kanal proteinlerindeki değişiklikler hidrofilik moleküllerin de girişinde bir engel oluşturmaktadır. Ancak son yıllarda, doğal dirençte etkili mekanizmanın stoplazmik membrana yerleşim gösteren aktif pompa proteinleri olduğu bulunmuştur ve Gram pozitiflerde de yaygın olarak saptanmıştır (Hasdemir, 2007).

**Çizelge 4.1** Bazı ağrı kesici ilaçların bazı patojen mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkileri.

| Bakteriler              | Metadem    | Voltaren   | Melox     | Dikloron   | Arveles   | Novalgin    | Madol     | Partemol  | Ampicillin  | Cephazolin  | Nystatin   | Ortalama   |
|-------------------------|------------|------------|-----------|------------|-----------|-------------|-----------|-----------|-------------|-------------|------------|------------|
| <i>C.freundii</i>       | 10.46±0.23 | 11.17±0.55 | 6.00±0,00 | 10.86±1.65 | 6.00±0,00 | 6.00±0,00   | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | 15.23±0.12  | 17.86±0.59  | NT         | 8.81±0.76  |
| <i>K. pneumoniae</i>    | 11.45±0,00 | 9.53±0.71  | 6.00±0,00 | 12.69±0.78 | 6.00±0,00 | 15.00±0,12  | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | 15,34±0.23  | 17,27±0,10  | NT         | 9.01±0,23  |
| <i>Y.enterocolitica</i> | 6.00±0,00  | 9.63±0.84  | 6.00±0,00 | 8.16±0.95  | 6.00±0,00 | 6.00±0,00   | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | 26,66 ±0.57 | 34,33 ±0 57 | NT         | 5.97±0,88  |
| <i>L.monocytogenes</i>  | 6.00±0,00  | 16.64±0,12 | 6.00±0,00 | 15.40±0,00 | 6.00±0,00 | 20.87±0,23  | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | 29,76 ±0.67 | 33,67±0.78  | NT         | 10.36±0.65 |
| <i>E. coli</i>          | 6.00±0,00  | 8.98±0.91  | 6.00±0,00 | 12.20±0.40 | 6.00±0,00 | 6.00±0,00   | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | 20,00±0,23  | 19,00±0.00  | NT         | 6.39±8.57  |
| <i>S. enteric</i>       | 6.00±0,00  | 8.65±0.43  | 6.00±0,00 | 10.56±0.76 | 6.00±0,00 | 6.00±0,00   | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | 34,68 ±0 34 | 36,23±0.35  | NT         | 6.90±0,56  |
| <i>P.vulgaris</i>       | 8.67±0,22  | 14.52±0.65 | 7.06±0,73 | 10.87±0.66 | 9.34±0,56 | 7.77±0,88   | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | 28.00±0.34  | 6*.00±0.00  | NT         | 8.84±0,43  |
| <i>S. cerevisiae</i>    | 6.00±0,00  | 20.86±1.89 | 6.00±0,00 | 18,65±0.76 | 6.00±0,00 | 24,77 ±0.56 | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | NT          | NT          | 17,56±0,78 | 11.78±0,23 |
| <i>S. aureus</i>        | 6.00±0,00  | 23.88±1.67 | 6.00±0,00 | 21.87±0.03 | 6.00±0,00 | 22.84 ±0.57 | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | 10,76±0.54  | 6.00±0,00   | NT         | 12.32±0,68 |
| <i>E. fecalis</i>       | 6.00±0,00  | 10.53±0,00 | 9.32±0,12 | 10.23±0.12 | 6.00±0,00 | 10.30±0.13  | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | 33.50±0.023 | 24.27±0.21  | NT         | 8.04±0,93  |
| <i>P. aeruginosa</i>    | 6.00±0,00  | 12.52±0.65 | 6.00±0,00 | 9.87±0.66  | 6.00±0,00 | 6.00±0,00   | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | 33,67±0.15  | 27,33±0,23  | NT         | 7.29±0,60  |
| <i>B. ceraus</i>        | 6.00±0,00  | 10.24±1.84 | 6.00±0,00 | 10.86±1.84 | 6.00±0,00 | 6.00±0,00   | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | 26,59±0.23  | 28,50±0,21  | NT         | 7.13±0,62  |
| <i>A. niger</i>         | 6.00±0,00  | 16.80±0.67 | 6.00±0,00 | 18.65±0.93 | 6.00±0,00 | 23.13±0,94  | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | NT          | NT          | 17,83±0,63 | 11.07±0,82 |
| <i>B. subtilis</i>      | 6.00±0,00  | 19.56±0.53 | 6.00±0,00 | 21.12±0.86 | 6.00±0,00 | 23.14±0,56  | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 | 33,56±0.45  | 35,67±0,42  | NT         | 11.72±0,57 |
| <b>Ortalama</b>         | 6.89±0,85  | 13.80±1.74 | 6.32±2.58 | 12.94±4.14 | 6.23±8.57 | 12.70±1.42  | 6.00±0,00 | 6.00±0,00 |             |             |            |            |

Ortalama değerler üçlü ± SD (Standart Sapma) ortalaması olarak ifade edilir. NT, test edilmedi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853 Gram (-), *Escherichia coli* ATCC®25922 Gram (-), *Klebsiella pneumoniae* ATCC®13883 Gram (-), *Citrobacter freundii* ATCC® 43864 Gram (-), *Bacillus subtilis* B209 Gram (+), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Gram (+), *Yersinia enterocolitica* ATCC®27729 Gram (-), *Bacillus cereus* ATCC®10876 Gram (+), *Enterococcus faecalis* ATCC® 29121(+), *Aspergillus niger* ATCC®9642., *Listeria monocytogenes* ATCC®7677, *Salmonella enteric* ATCC 14028 Gram (-), *Saccharomyces cerevisiae* ATCC®9763, *Proteus vulgaris* (ATCC 7829).

Çalışmamızda kullanılan ağrıkesici ilaçların antimikrobiyal etkileri çizelge 4.1 de özetlenmiştir. Çizelge 4.1' de görüldüğü üzere 2 numaralı ve 3 numaralı ilaçların etken maddeleri her tablette 100 mg etkin madde (diklofenak sodyum) içerir. 1 numaralı ilacın etken maddesi Metamizol sodyum'dur. Özellikle bu ilaçlar tüm mikroorganizmalar üzerinde ortalama olarak en yüksek etkiyi gösterdiler. Sırasıyla  $13.80 \pm 1.74$ ,  $12.94 \pm 4.14$  ve  $12.70 \pm 1.42$  mm. Diğer ağrı kesicilerden 5 numaralı ilaç, 8 numaralı ilaç ve 6 numaralı ilaç tüm mikroorganizmalar üzerinde bir birine çok yakın antimikrobiyal etki gösterdiler, sırasıyla  $6.89 \pm 0.85$ ,  $6.32 \pm 2.58$  ve  $6.23 \pm 8.57$  mm. Diğer yandan çalışmamıza konu olan 7 numaralı ilaç ve 4 numaralı ilaç tüm mikroorganizmalar üzerinde hiçbir etki gösteremediler ortalama olarak  $6.00 \pm 0.00$  mm zon çapı gösterdiler. Bu değer mikroorganizmaların herhangi bir etkinin olmadığını göstermektedir. Bu kullanılan steril antibiyotik diskinin çapıdır. Kullanılan ilaçlardan 1 numaralı ilaç mikroorganizmalar üzerinde gram negatif olan *K. pneumoniae* karşı 15mm zon çapıyla en yüksek etkiyi gösterdi. Buna karşılık Gram pozitif ve funguslara çok yüksek etki göstermiştir. Özellikle Gram pozitif *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *B. subtilis* 'e yaklaşık 20-24 mm zon çapıyla en yüksek etkiyi gösterirken aynı şekilde *S. ceravisiae* ve *A. niger* funguslarına karşı ise yaklaşık 23 mm zon gösterdi. Çalışmamızda etkili olan bir diğer ağrıkesici ilacımız olan 3 numaralı ilaç etken madde olarak diklofenak sodyum içermesi sebebiyle gram negatif bakterilerden olan *P. aeruginosa* bakterisine karşı 12.25 mm lik zon çapı göstermiştir. Bu değer küçük gibi görülebilir fakat kontrol olarak kullanılan antibiyotiklerin gösterdiği değere yaklaşık bir değerdir. Gram pozitif ve funguslara karşı ise 1 numaralı ilaç ağrı kesicinin gösterdiği etkiyi göstermiştir. Özellikle Gram pozitif *S. aureus* ve *B. subtilis* 'e sırasıyla 23-19 mm zon çapıyla en yüksek etkiyi gösterirken aynı şekilde *S. ceravisiae* ve *A. niger* funguslarına karşı ise yaklaşık sırasıyla 20-16 mm zon gösterdi. Bununla birlikte 2 numaralı ilaç her tablet 100 mg etkin madde diklofenak sodyum içeren ağrı kesici ilacımız, gram pozitif olan *E. coli* ve *K. pneumoniae* karşı en yüksek 12mm ve 15 mm zon çapını gösteren ilaç olurken aynı şekilde gram pozitif ve funguslara da yüksek bir zon çapı göstermiştir. Özellikle Gram pozitif *S. aureus* ve *B. subtilis* 'e sırasıyla 21-21 mm zon çapıyla en yüksek etkiyi gösterirken aynı şekilde *S. ceravisiae* ve *A. niger* funguslarına karşı ise yaklaşık sırasıyla 18-18 mm zon gösterdi. Tez çalışmamızda kullandığımız ağrıkesicilerden etkili olanlar özellikle Gram negatiflere

oranla Gram pozitiflere daha etkili olmuştur. Ayrıca bakterilere oranla da funguslara daha etkili olduğu çizelge 4.1' de görülmektedir.

Tüm dünyada her gün çok miktarda diklofenak sodyum, indometasin ve mefenamik asit birçok enflamatuar hastalığın tedavisi için tüketiliyor. Bu tür ilaçların antibakteriyel etkisi ile ilgili veriler bazı etkin faktörlerin değişkenliği nedeniyle hala belirsizdir. Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında, disk difüzyon testi NCCLS tarafından diklofenak sodyum (Dutta ve ark., 2004) ve mefenamik asit (Kruszewska ve ark., 2006) dahil olmak üzere birçok antimikrobiyal maddenin aktivitesinin değerlendirilmesi açısından tavsiye edilmektedir. Diklofenak sodyumun antimikrobiyal olduğu kaydedilmesine rağmen birçok bakteri türü üzerindeki etkisi, (Dutta ve ark., 1999; Dutta ve ark., 2004) diğer çalışmalarda iyileşme Sitophaga'da olduğu gibi, bu aktivitenin olmaması, Flavobacterium ve Y-Proteobacteria grubu (Paje ve ark., 2002) *Listeria monocytogenes* hücrelerinde, etki bölgesi diklofenak DNA'nın inhibisyonu ile belirlenmiştir (Dutta ve ark., 1999).

Ağrı kesici ilaçların 5 numaralı ilaç, eksketoprofen trometamol (50 mg deksketopropene eşdeğer), 3 numaralı ilaç (Her fitil 100 mg diklofenak sodyum), 8 numaralı ilaç ( Bir Melox Tablet 7.5 mg meloksikam), 2 numaralı ilaç (bir tablet 100 mg diklofenak sodyum içerir), 6 numaralı ilaç (25 mg deksketoprofen), 1 numaralı ilaç (Metamizol sodyum 500 mg), 7 numaralı ilaç ( tramadol HCl), ve 4 numaralı ilaç (Her 1 ml çözelti 10 mg parasetamol içerir) etkin maddelerinin ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitesi, antimikrobiyal aktivite için doğal ürünlerin hızlı bir şekilde taranması için yaygın olarak kullanılan bir disk difüzyon yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Daha sonra, disk difüzyon yöntemine göre, ekstrelerin etkili olduğu konsantrasyonu belirlemek için minimal inhibisyon konsantrasyonu tahlili kullanıldı. Ağrı kesici ilaçların etken maddelerinin özleri, *Y. enterocolitica* *S. enteriac* ve *E. coli* hariç, test edilen tüm mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkiler göstermiştir (Çizelge 4.1). Ağrı kesici ilaçların etkin maddelerinin etkinliği ile ilgili olarak, en duyarlı mikroorganizma,  $20.86 \pm 1.89$  mm'lik bir inhibisyon zonu ve  $0.3125 \leq \text{mg /ml}$  bir MİK değeri in vitro olan *S. cerevisiae* ve  $23.88 \pm 1.67$  mm'lik bir inhibisyon zonu ve  $0.3125 \leq \text{mg /ml}$  bir MİK değeri in vitro olan idi. Sadece 2 numaralı ilaç ve 1 numaralı ilaç etken maddelerinin ekstreleri hem antifungal aktivite hemde antibakteriyal gösterdi; diğer ilaçlarının etkin maddeleri özütleri için inhibisyon

bölgeleri bir birine yakın tespit edildi. İlaç hammaddelerinin ekstreleri, test edilen tüm insan patojenik bakterilerine karşı 4 numaralı ilaç ve 7 numaralı ilaç hariç benzer antimikrobiyal aktiviteye sahipti. Ağrı kesici ilaçların etkin maddelerinin özellikle 1 numaralı ilacın, 2 numaralı ilaç ve 3 numaralı ilaçların etkin maddeleri özleri, *A. niger* 'ye ve *S. cerevisiae* (23.13±0,94; 24,77 ±0.56 mm inhibisyon bölgesi; 0.3125≤ mg / mL, 0.0625≤mg /ml MİK) antifungal etki gösterdi. Bununla birlikte ve *S. aureus*'a (22.84 ±0.57 mm inhibisyon bölgesi; 0.0625≤ mg / mL MİK) antibakteriyal etki gösterdi. Diğer iki ağrı kesici ilaç etkin maddesinde benzer özellikleri gösterdi.

Bizim çalışmamızda Gram pozitif bir bakteri olan *L. monocytogenes* 3 numaralı ilaç, 2 numaralı ilaç ve 1 numaralı ilaç bu bakterinin büyümesini büyük oranda inhibe etmiştir. Bu engelleme büyük bir olasılıkla DNA üzerinde olmuştur.

Sonuç olarak, düşük konsantrasyonlarda sodyum bakteri üremesini engellemede diklofenakın antibakteriyel etkili görünmektedir. Bazı NSAID'lerin etkisi antimikrobiyal ajanlara bağışıklık sistemi üzerinde bileşikler ihtiyacı vardır. Bu faaliyet hakkında net bir görüş oluşturmak için birçok bilimsel kanıt çeşitli mikroorganizmalara karşı çalışılmalıdır (Ali ve Janabi, 2009).

1884'te kokainin kullanılmasından bu yana, lokal anestezikler ağrı yönetiminin temelini oluşturmuştur. Bununla birlikte, son birkaç on yılda yapılan çok sayıda çalışma, lokal anesteziklerin antimikrobiyal ajanlar olarak tamamlayıcı rolünü aydınlatmaktadır. Anestetik özelliklerine ek olarak, bupivakain ve lidokain gibi ilaçların geniş bir mikroorganizma spektrumuna karşı bakteriyostatik, bakterisid, fungistatik ve fungusit özellik gösterdiği gösterilmiştir (Svena ve ark., 2007).

Kanıtlar, bir sınıf olarak lokal anesteziklerin geniş bir yelpazedeki insan patojenlerine karşı doğal antimikrobiyal özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Tipik olarak klinik ortamda kullanılan konsantrasyonlarda çoklu lokal anestezikler (Örn., bupivakain% 0.125 -% 0.75; lidokain% 1 -% 3), çeşitli koşullar altında birçok bakteri ve mantarın büyümesini inhibe eder. (Svena ve ark., 2007).

Koruyucular, opioidler veya propofol gibi intravenöz anestetikler gibi anestetik çözeltilere başka ajanların eklenmesi, sinerjik veya antagonistik etki yoluyla antimikrobiyal aktiviteyi değiştirir. Sınırlı çalışmalar, lokal anesteziklerin antimikrobiyal aktivitesinin, mikrobiyal hücre zarı geçirgenliğinin bozulmasına neden

olduğu, hücresel bileşenlerin sızmasına ve ardından hücre erimesine neden olduğu etki mekanizmasını nitelemektedir. Lokal anestetikler sadece ağrı kontrolü için ajan olarak değil aynı zamanda antimikrobiyal aktiviteye de sahiptir. Böyle bir kapasitede, lokal anestetikler klinik veya laboratuvar ortamında geleneksel antimikrobiyal kullanıma ek olarak kabul edilebilir. Ek olarak, lokal anestetiklerin antimikrobiyal aktivitesi yanlış negatif sonuçlara veya suboptimal kültür verimlerine neden olabileceğinden, kültür örneklerinin alınacağı teşhis prosedürlerinden önce lokal anestezi uygulanırken dikkatli olunmalıdır (Svena ve ark., 2007)

Tramadol opioid ve lokal anestetik özelliklere sahip sentetik bir kodein analogudur. Santral etkili analjezik olarak ve son zamanlarda deri altı veya intradermal enjeksiyonlarda lokal anestetik olarak kullanılır. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Pseudomonas aeruginosa* patojenlerine karşı lokal veya bölgesel anesteziden sonra bulaşıcı patojenlere karşı lokal anestezi olmadan tramadolun antibakteriyel aktivitesini in vitro olarak araştırılmış. Tramadol, *E. coli* ve *S. epidermidis*'e karşı doza ve zamana bağlı bakterisidal aktivitenin yanı sıra, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Tramadolun antibakteriyel özellikleri, lokal veya bölgesel anestezi sonrası bakteriyel enfeksiyon riskini azaltmak için faydalı olabilir (Tamana ve ark., 2007).

Bazı lokal anestetiklerin de bildirildiği insan cildinde yaygın olarak bulunan ve yapılan bakterilere karşı antibakteriyel etkiler nozokomiyal enfeksiyonlara karışmış. Bupivakain % 0.5 konsantrasyon bakteri öldürücü etki yarattı *E. coli* ve *S. epidermidis*'de (Sakuragi ve ark., 1998). Bu bakteri yok edici % 2 prilokain ve % 5 oranında aktivite gözlemlendi *P. aeruginosa*'ya karşı lidokain (Aydin ve ark., 2001). Düşük konsantrasyon bupivakain (% 0.08) ve ropivakain; *E. coli* ve *S. aureus* büyümesi üzerine antibakteriyel etki (Tamanai ve ark., 2004). Bu araştırmalar ilk olarak tramadol'un antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu bildiren çalışmalardır.

Sonuçlarımız göstermiştir ki tramadoliçerikli bazı ağrıkesiciler, *S. aureus* ve *B. subtilis*'e karşı in vitro doza ve zamana bağlı bakterisidal aktiviteye sahiptir ve *L. monocytogenes*, *S. cerevisiae* ve *A. niger* üzerindeki hatırı sayılı antibakteriyel etki gösterdi. Antibakteriyel aktivite *K. pneumoniae* ve *P. vulgaris* 'e karşı tramadolün daha düşüktür. Yapılan bir çalışmada *E. coli* ve *S. aureus* kullanılarak elde edilen sonuçlar çalışmamıza uygundur. (Vo Van ve ark., 2006).

Tramadolun antibakteriyel etkileri; lokal anestezi özellikleri ve tam mekanizması bu lokal anestezi eylem bilinmemektedir, ancak olabilir mikrobiyal hücre zarı üzerindeki etkinin neden olduğu Öyleydi lidokain antibakteriyel aktivitesinin, dışın geçirgenliğinden önce sitoplazmik membranın depolarizasyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Gram negatif bakteriler için membran (Ohsuka ve ark., 1994). prokain, hücre zarı ile etkileşerek, *E. coli*'de ihraç edilen proteinlerin öncüllerinin işlenmesi (Lazdunski ve ark., 1979). Ayrıca, bazı lokal anestezi (nupercaine, tetracaine), membran bağlı enzimatik aktivitelerin inhibe edilmesine ve karakteristik bir ultrastrüktürel yapıya neden oldu. Gram pozitif bakteriyel hücrelerde değişiklikler (Silva ve ark., 1979) Çünkü tramadol yaygın olarak kullanılır. lokal anestezi ile bilmek ilginç olurdu Yerelin antibakteriyel özelliklerini etkileyip etkilemediği anestezi. Daha önceki bir çalışmada, sufentanilin bupivakain'ler üzerinde kısmi bir sinerjistik etkisi olduğunu bulundu. antibakteriyel aktivite ve kısmi bir antagonistik etki ropivakain'in antibakteriyel aktivitesi hakkında (Aydın ve ark., 2001). Tramadol, birkaç analjezik yardımcı maddeden biridir. Periferik sinir bloğu için lokal anestezi eklendiğinde tutarlı bir fayda göstermektedir. Ayrıca, onun potansiyel antibakteriyel aktivite pozitif bir faktör olabilir kısa vadeli kirlenme riskini azaltmak için konut kateterleri. Olası sinir ile ilgili İlacın toksisitesi, doğrudan uygulama olduğu gösterilmiştir sıçanların siyatik sinirinde tramadolun etkisi doza bağımlı olarak somatosensoriyel uyarılmış potansiyeller tavrı. Bu eylem, hiçbir zararlı nörolojik etkisi olmadan geri dönüşümlüdür (Tsai ve ark., 2001).

Sonuç olarak, Türkiye'de ve tüm dünyada kullanılan ağrı kesici ilaçlar, bilinçli ve bilinç dışı şekilde aşırı şekilde kullanılmaktadır. Bu ilaçlar hakkında reçeteleri belli başlı bilgileri içermektedir. Bununla birlikte bu ilaçların içermiş oldukları etkin maddelerin bazı ilaçlarda ortak olmaktadır. Bu etkin maddelerin bazılarının antimikrobal aktivitesi olduğu bazı çalışmalarda ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışma kullanılan ağrı kesici ilaçlar doza ve zamana bağlı bir şekilde, in vitro *S. aureus* *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, ve *B. subtilis* karşı bakterisidal aktivite, ve *A. niger* ve *S. cerevisiae*, 'ye karşı antifungal aktivite gösterdi. Bu etkiler ağrı kesicilerin içerdiği örneğin tramadol ve diklofenak sodyum gibi etken maddelerden dolayı olduğu tahmin edilmektedir. İn vitro antibakteriyel tramadolun ve diklofenak sodyum

aktiviteleri, yerel veya bölgesel olarak bakteri kirlenme riski anestezi belirlemek için ileri çalışmalar gereklidir.

#### **4.2 Sitotoksiste ve Antioksidan Değerlendirme**

Antioksidanlar, serbest radikal reaksiyonlarını inhibe ederek veya söndürerek hücrel hasarı geciktirir veya inhibe eder (Chen ve ark., 2015). Serbest radikallerle, serbest radikal ile substrat arasındaki reaksiyon hızından daha hızlı bir oranda reaksiyona girerler. Bu çalışma kapsamında hemen hemen tamamı ağrı kesici olarak yaygın bir şekilde kullanılan bu 8 ilacın ticari olarak satılan formları antioksidan aktivite açısından değerlendirilmiştir. Antioksidan aktivitenin test edilmesi amacıyla yaygın olarak tercih edilen DPPH serbest radikalinin süpürülmesi, Fe (III) indirgeme potansiyeli ve ABTS radikalini süpürülmesine dayanan metotlar takip edilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelemeye tabii tutulan 8 ilaçtan etken madde olarak metamizol ihtiva eden ilacın hem DPPH hem de FRAP testi sonuçlara göre antioksidan aktivite açısından diğerlerine nazaran oldukça zengin olduğu sonucuna varılmıştır. Aynı ilacın ABTS radikalini süpürme etkinliği de parasetamol ihtiva ettiği bilinen ve DPPH ve FRAP testlerine göre antioksidan aktivitesinin diğer ilaçlara göre 2. sırada olduğu tespit edilen ve ABTS radikalini süpürme aktivitesi en yüksek ilacı takip etmektedir. Yani, özetle metamizol ve parasetamol ihtiva eden bu iki ilaç diğer ilaçlar arasında antioksidan aktiviteleri açısından belirgin bir şekilde öne çıkmıştır.

Öte yandan deksketoprofen içerdiği bilinen ağrı kesici ilacın antioksidan aktivitesi DPPH testine göre belirlenememiş olup bu ilacın ABTS radikalini süpürme aktivitesi de DPPH radikalini süpürme aktivitesiyle orantılı olacak şekilde diğer ilaçlar için hesaplanan değerler arasındaki en düşük değerdir. Test edilen ilaçlar arasında DPPH serbest radikalini süpürme aktivitesi en düşük olarak tespit edilen ilaç 7 ile numaralandırdığımız tramadol etken maddeli ilaçtır. Aynı şekilde bu ilacın FRAP değeride tespit edilen en düşük değerdir. Etken madde olarak deksketoprofen içeren 5 ve 6 ile numaralandırmış olduğumuz iki ilaç için ABTS radikalini süpürme aktivitesi hemen hemen eşdeğerken, etken maddesi diklofenak sodyum olan 2 ve 3 numaralı diğer iki ilacında DPPH radikalini süpürme aktiviteleri aynı derecede eşdeğerdir. Aynı şekilde incelemelerimiz sonrasında bu iki ilacın antimikrobiyal etkinliklerinin de eşdeğer ölçüde olduğu görülmektedir.

Diklofenakın bilinen bir yan etkisi olan böbrek yetmezliğine yol açmasının sonucu olduğu düşünülen ve doğayı etkileyen bir yan etkisi literatüre sunulmuştur. Bu bilgi Hindistan alt kıtasında sığırlarda diklofenak kullanımının eski dünya akbabalarının kitlesel yok olmaları ile sonuçlandığına ilişkindir. Akbabalar veterinerlerin kullandığı hayvan leşlerinden diklofenakı almakta ve diklofenakı parçalayıcı enzimden yoksun olmaları dolayısıyla toksik dozlara ulaşmaktadırlar. Bu durumun önlenmesi amacıyla Hindistan hükümeti 2005'te yapılan bir toplantıda diklofenak'ın veteriner kullanımını kaldırma niyetini deklare etmiştir. Meloksikam bu konuda diklofenaktan daha güvenilir bir alternatiftir. Akbabaların yok olmasının Hindistan'da ki sonuçları; Karkasları tüketen akbabaların tükenmesi vahşi köpek nüfusunun hızlı artışına yol açmış ve sonuçta kuduz riski artmıştır. Bu durum Hindistan alt kıtasında kuduz açısından pandemi riski oluşturabilme potansiyeli taşımaktadır. Akbabaların yok oluşu cesetlerini sessizlik kulesinde akbabaların yemesiyle doğal dönüşüme bırakan Zerdüşt dinine mensup Parsi toplumunu da etkilemiştir. Diklofenakın aynı zamanda bazı alabalık türlerine de zarar verdiği tespit edilmiştir.

Benzer şekilde mevcut çalışmada incelemiş olduğumuz diğer ilaçların etken maddelerine ilişkin de pek çok çalışma literatürde mevcuttur. Deksketoprofenin karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı sırasında endojen leptin ve lipid peroksidasyonuna etkileri incelenmiş ve deksketoprofen uygulamasının, inflamasyon ve lipid peroksidasyonunu azaltarak karaciğeri iskemi reperfüzyon hasarından koruyabildiğini ortaya konulmuştur (Üstün ve ark., 2014). Albino erkek sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışma, kronik tramadol uygulamasının sıçanlarda böbrek fonksiyon bozukluğu, beyin hasarı, oksidatif ve inflamatuvar stresin yanı sıra endojen antioksidan savunma sistemi mekanizmalarının dejenerasyonunu indüklediğini göstermiştir (Hussein ve ark, 2017).

Antioksidan aktivitelerini incelediğimiz sekiz ilaç arasından 4 ile numaralandırmış olduğumuz ve etken madde olarak parasetamol içerdiği bilinen ilacın etken maddesini hesaba katarak değerlendirmiş olduğumuz antioksidan aktivite değerleri önemli ölçüdedir. Bu ilacın DPPH serbest radikalini süpürme aktivitesinin göstergesi olarak hesaplanan SC<sub>50</sub> değeri 0.046 mg/mL'dir. Aynı ilacın 1 gramına denk gelen FRAP değeri 1677 µmol trolaksa eşdeğer olarak hesaplanırken ABTS

radikalini süpürme aktivitesi de yine aynı şekilde 1 gram etken madde için 9330 µmol troloks olarak hesaplanmıştır ve belirtilen bu rakam diğer ilaçlar için hesaplanan değerler arasında en yüksektir. Literatürde de parasetamolün yüksek antioksidan aktivitesini destekleyen raporlar söz konusudur. Ancak söz konusu ilacın antimikrobiyal içeriği antioksidan içerikle uyumlu değildir. Antimikrobiyal analiz testleri sonrasında bu ilacın test edilen bakteri ve mantar türlerinin tamamına karşı herhangi bir etki göstermediği tespit edilmiştir.

Son zamanlarda sıçanlarda parasetamol uygulamasının beyindeki serotonin, norepinefrin ve lipit peroksidasyon düzeylerinde artışa neden olduğu gösterilmiştir. Bu ilaç tek başına veya aspirin ile kombine edildiğinde, sıçan beyni homojenatlarını kullanarak beyinde antioksidan etkiler sergiler (Courade ve ark., 2001; Daya ve Anoopkumar-Dukie, 2000)

Bahsedilen bu çalışmanın dışında metamizolün sıçan yumurtalığında ki iskemi/reperfüzyon hasarı üzerindeki etkisi incelenmiş ve 200 mg/kg lık metamizol dozunun iskemi/reperfüzyon ile indüklenen yumurtalık hasarını önlediği rapor edilmiştir (Kumbasar ve ark., 2016). Bunun aksine literatürde metamizol ile tedavi edilirken akut karaciğer yetmezliği gelişen bir hastaya ilişkin bir bilgi ve bu bilginin devamında yapılan araştırmaların sonucunda elde edilen, etkilenen hücre tipine bağlı olarak, metamizolün immünolojik veya toksikolojik mekanizmalar ile sitotoksik olmasının mümkün olabileceğine ilişkin bilgiler vardır (Krisai ve ark., 2019). Litaratürle uyumlu olabilecek şekilde çalışmamızın diğer kısmında da metamizol ihtiva ettiği bilinen 1 numaralı ilacın antimikrobiyal etkinliği de test edilen birçok mikroorganizmaya karşı diğer ilaçlara nazaran hayli yüksek bulunmuştur.

Tramadolün µ-opioid reseptörlerini bağlayarak ve noradrenerjik, GABAerjik ve serotonerjik sistemleri (Nishi ve ark., (1989); Toyoda ve ark., (2004) modüle ederek veya serotonin-norepinefrin (NE) geri alım inhibitörü olarak hareket ederek analjezik etki yarattığına inanılmaktadır. Hızla emilir ve ağrının giderilmesinin başlangıcı oral alımdan sonraki bir saat içinde ortaya çıkar (Tsujita, ve ark., (2004)). Karaciğer içinde tramadol, sitokrom P450'nin (CYP2B6, CYP2D6 ve CYP3A4) etkisi ile O- ve N-demetillenmiş beş farklı metabolite metabolize olur [6]. O-desmetiltramadol en önemli

metabolittir ve  $\mu$ -opioid reseptörleri için ana tramadol molekülünün 200 katı afiniteye sahiptir ve eliminasyon yarılanma ömrü 9 saattir (Bondock, 2010).

Sonuç olarak, bu çalışma kronik tramadol tüketiminin serebral kortekste oksidatif hasar, inflamasyon, apoptoz ve değişen nörotransmitterleri indüklediğine ilişkin bir kanıt sunmaktadır. Tramadol, lipid peroksidasyonunu, NO, monoamin nörotransmitterlerini arttırdı ve serebrumdaki antioksidan savunma enzimlerinin aktivitesini ve ekspresyonunu azalttı. Kronik tramadol uygulaması, inflamasyon ve apoptoz belirteçlerinin aktivasyonunu/ekspresyonunu indüklerken, sıçan serebrumunda anti-apoptotik proteinleri azaltmıştır (Mohamed ve Mahmoud, 2019).

Tramadol hidroklorür, nöropatik, kanser ve postoperatif cerrahi ağrı gibi şiddetli akut ve kronik ağrı durumlarında kullanılan etkili bir analjeziktir.  $\mu$ -opioid reseptörüne zayıf afinitesi vardır ve merkezi sinir sisteminde monoaminlerin geri alımını engeller, böylece inen inhibitör sistemlerini aktive eder (Driessen ve ark., 1993). Opioid reseptörlerinin aktivasyonunun, nöroproteksiyon ile bağlantılı PI3K / Akt sinyal yolunu aktive ettiği gösterilmiştir (Iglesias ve ark., 2003). Son araştırmalar, tramadolün antioksidan etkileri olduğunu, lipid peroksidasyonunu azalttığını ve noradrenalin alımını düzenlediğini ve bu terapötik özellikleri miyokard iskemisinin yönetimi için kullandığını açıklamaktadır (Bilir ve ark., 2007). Oksidatif stresin iskemi reperfüzyon hasarında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Dahası, nöronlar, serbest radikal saldırısına karşı savunmasız olan ve beyin oksidatif stres tarafından hasara yatkın olmasını sağlayan çoklu doymamış yağ asitleri içerir (Olanow, 1993). tramadol, antioksidan durumunu yükselterek miyokard iskemisine karşı koruyucu etki gösterdi (Bilir ve ark., 2007).

Karaciğer ve böbreğin ilaç metabolizmasındaki merkezi rolü, onları toksik yaralanmaya yatkın hale getirir. Karaciğerdeki tramadol sitokrom P 450 tarafından kendisi aktif bir madde olan ve tramadolden iki ila dört kat daha güçlü olan O-desmetil-tramadole dönüştürülür. Daha ileri, biyotransformasyon aktif olmayan metabolitlerle sonuçlanır ve böbrekler yoluyla atılır. Kalıcı tramadol uygulaması vücutta toksik metabolitlerin birikmesine yol açabilir, toksik kinetik etkileri riskini artırabilir ve / veya tramadolün atılımını azaltabilir, böylece toksisite potansiyelini artırabilir. Tramadol hidroklorürün en sık görülen yan etkileri kabızlık, baş dönmesi,

mide bulantısı, uyku hali, baş ağrısı ve kusmadır. Diğer dozaj toksisitesi semptomları arasında merkezi sinir sistemi ve solunum depresyonu, uyuşukluk-Koma, kalp durması ve ölüm sayılabilir.

İskelet kası iskemisi-reperfüzyona bağlı akut uzaktan yaralanma, aktif nötrofiller ve serbest radikallerin oluşumu ile oluşur. Birçok araştırmacı, opioid yolunun hipoksi veya iskemi sırasında doku korunmasında rol oynadığını göstermiştir. Tramadol hidroklorür, şiddetli akut ve kronik ağrı durumlarında kullanılan etkili bir analjeziktir.

Hem önerilen dozda tramadol alan hastalarda hem de hayvan ve insan çalışmalarında yüksek dozaj tramadol kullanımlarında nörotoksite durumu bildirilmiştir. Tramadolün nörotoksitesi yaygın olarak genel tonik-klonik nöbetler olarak kendini gösterir. Artan dozlarda tramadolün kronik kullanımı sıçan beyinde nöronal dejenerasyona neden olur ve bu da muhtemelen serebral disfonksiyona katkıda bulunur. Tramadol ayrıca beyin nörotransmitter seviyelerini de değiştirir. Ağrı tedavisi için tramadolün uzun süreli uygulanması ve ilaç arama davranışı olan kişilerde kabul edilebilir bir alternatif olarak kullanımı tartışmalıdır. Ayrıca, tramadolün hücresel düzeyde uzun vadeli etkileri açıkça anlaşılmamıştır (Hussein ve ark., 2017). Hussein ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmanın sonuçlarına göre tramadol maruziyetinin serum üre, kreatinin, siyalik asit, interlökin-1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF $\alpha$ ) ve beyin dokusu nükleer faktör kappa B (NF-kB), miyeloperoksidaz (MPO) 'da önemli artışa neden olduğu saptanmıştır. Beyin dokusu glutatyon peroksidazında (GPX), indirgenmiş glutatyonda (GSH) ve CYP 450 2E1'in gen ekspresyonunda belirgin bir şekilde azalma gözlenirken, hem önerilen dozajda hem de yüksek dozaj aralıklarında sıçan karaciğer dokusunda CYP 450 2E1'in gen ekspresyonu azalmaktadır.

Halkada iki azot atomu içeren beş üyeli heterosiklik bileşiklerin (diazoller) çoğu önemli biyolojik aktiviteler sergiler ve bu nedenle önemli bir organik molekül grubunu temsil eder. Pirazoller, üç karbon atomu ve iki bitişik azot atomundan oluşan beş üyeli bir halka içeren bileşiklerdir. Pirazollerin keto (= O) türevleri pirazolonlar olarak bilinir. Pirazollerin anti-in-ammatory, antimikrobiyal, antitüberküloz, antikonvülsan, antidepresan, antiviral, antikanser ve antihepatotoksik gibi farklı

biyolojik aktivitelere sahip olduğu bildirilmektedir (Brown, 1998; Wiley, 1964; Naim ve ark., 2016; Alegaon ve ark., 2014; Bondock ve ark., 2010; Pathak ve ark., 2014; Ahsan ve ark., 2013; Abdel-Aziz ve ark., 2009; Rashad ve ark., 2008; Ali ve ark., 2014; Khalilullah, ve ark., 2011). Pirazolonlar en eski sentetik ilaçlardan birini temsil eder ve turevleri birçok ilacın sentezinde önemli bir rol oynamıştır. 1883'te antipirin Knorr tarafından sentezlendi ve etkili analjezik ve antipiretik olduğu bulundu. Aminoprin, propifenazon ve noraminoprin metansulfonat sodyum gibi çeşitli pirazolon turevlerinin de analjezik ve antipiretik etkilere sahip olduğu bulunmuştur. Pirazolon turevleri antimikrobiyal, antitümör, antiinflamatuvar ve antidiyabetik gibi diğer biyolojik özellikler gösterir. Farklı metal iyonlarının ekstraksiyonu ve ayrılması için, fenol ve siyanrlar ve amonyak tayini için ve analitik reaktifler ve katalitik aktiviteli komplekslerde ligandlar olarak da kullanılmıştır. Aynı zamanda fungusitler, herbisitler ve böcek öldürücüler olarak da kullanılırlar. Bazı pirazolonlar pamuk, yn ve ipek için boya olarak kullanılır (brune, 1997; Knorr, 1883; Heise, ve Hintzmann, 2000; Castagnolo ve ark., 2009; Booker ve ark., 2008; Burli ve ark., 2006; Parmee ve ark., 2005; Trofimov ve ark., 1982; Mahapatra ve ark 1998; Barton ve ark., 1987; Qureshi, ve Patel, 1978; Bao ve ark., 2006; Casas ve ark., 2007; Naylan ve Singh 1999; Ariano ve ark 1996; Kazuo ve ark., 1999; Basaif ve ark., 2007). Ayrıca, bazı çalışmalar bazı pirazolon turevlerinin güçlü antioksidanlar olduğunu göstermiştir (Gaffer ve ark., 2017).

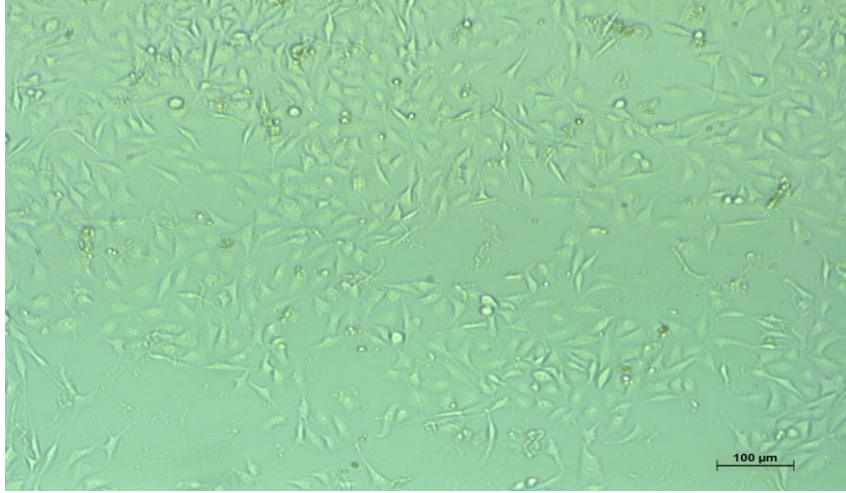
Pirazolon turevleri 2001 nisanından bu yana Japonya'da akut beyin enfarktüsü durumunda kullanılmaktadır. Bu turevlerin hayvan modellerinde ve felçli hastalarda iskemi reperfüzyon hasarı sonrası beyin ödemine karşı etkili olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca bu turevlerin iskemi ve reperfüzyon sonrasında sıçan kalbinde ve akut miyokard infarktüslü hastalarda miyokardial hasarı önleyebileceği de gösterilmiştir (Ottomo, 2003; Nishi ve ark., 1989; Toyoda ve ark., 2004; Yanagisawa ve ark., 1994; Tsujita ve ark., 2004). Bu bilgiler doğrultusunda Mariappan ve arkadaşları pirazolon turevlerinin antioksidan potansiyelini miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarı durumunda lipid peroksidasyonunun belirteçleri olan Malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksil-2-noneal (4-HNE) miktarlarına göre değerlendirmişlerdir ve çalışmanın sonrasında test edilen pirazolon turevlerinin önemli derecede antioksidan aktiviteye

sahip olduğunu göstermişlerdir. MDA ve 4-HNE miktarlarının pirazolon türevlerinin lipid peroksidasyonu inhibisyon potansiyeli ile ilişkili olduğunu saptamışlardır.

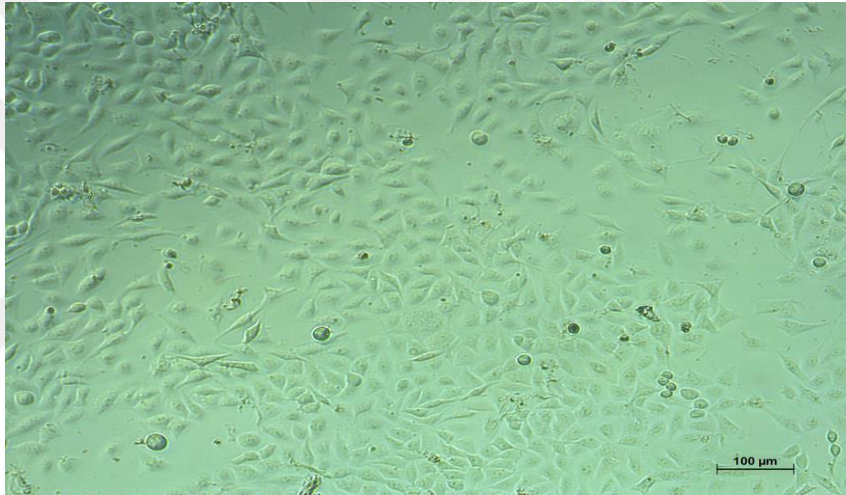
Farklı zaman noktalarında sitotoksisitenin belirlenmesi için uygulanan MTT testinde hücre canlılığında konsantrasyona bağlı bir azalma gözlenmiştir. Çalışılan ağrı kesicilerin insan akciğer hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin ise konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmüştür. Bununla birlikte, Novalgin ile tedavi edilen akciğer hücrelerine MTT çözeltisini ekledikten sonra mor renk oluşmuş ve absorbans değerleri sağlıklı bir şekilde okunamadığı için sonuçlar dikkate alınmamıştır. Son olarak, Madol, Volteren, Melox, Metadem, Dikloron, Arveles ve Partemol' ün belirlenen IC50 değerleri sırasıyla 27 mM, 0,3 mM, 3 mM, 7 mM, 0,5 mM, 13 mM ve 8 mM olarak belirlenmiştir.

#### **4.3 Hücre Canlılığı ve Sitotoksisite Bulguları**

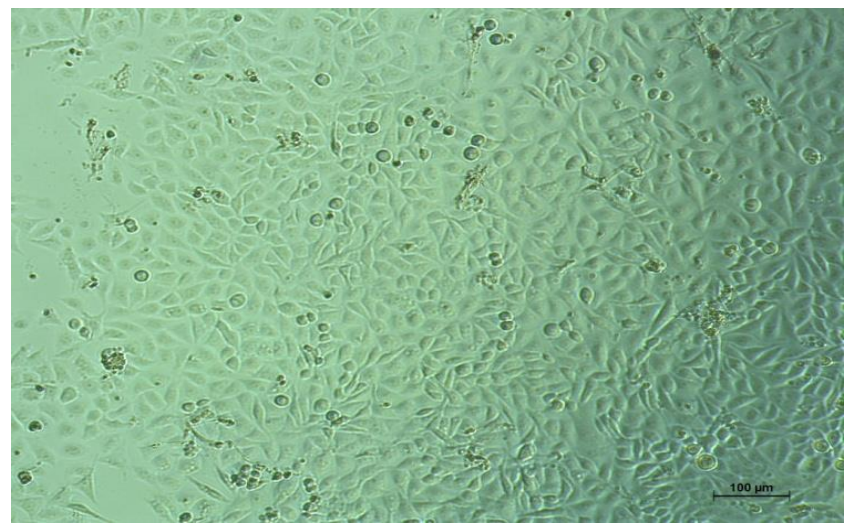
Farklı zaman noktalarında sitotoksisitenin belirlenmesi için uygulanan MTT testinde hücre canlılığında konsantrasyona bağlı bir azalma gözlenmiştir. Çalışılan ağrı kesicilerin insan akciğer hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin ise konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmüştür. Bununla birlikte, Novalgin ile tedavi edilen akciğer hücrelerine MTT çözeltisini ekledikten sonra mor renk oluşmuş ve absorbans değerleri sağlıklı bir şekilde okunamadığı için sonuçlar dikkate alınmamıştır. Son olarak, Tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilaç, Diklofenak sodyum etken maddeli 3 numaralı ilaç, Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilaç, Deksketoprofen etken maddeli 5 numaralı ilaç, Diklofenak Sodyum etken maddeli 2 numaralı ilaç, Deksketoprofen etken maddeli 6 numaralı ilaç Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın belirlenen IC50 değerleri sırasıyla 27 mM, 0,3 mM, 3 mM, 7 mM, 0,5 mM, 13 mM ve 8 mM olarak belirlenmiştir.



**Şekil 4.1** Tüm ilaçların 24 saatteki kontrol görüntüsü.

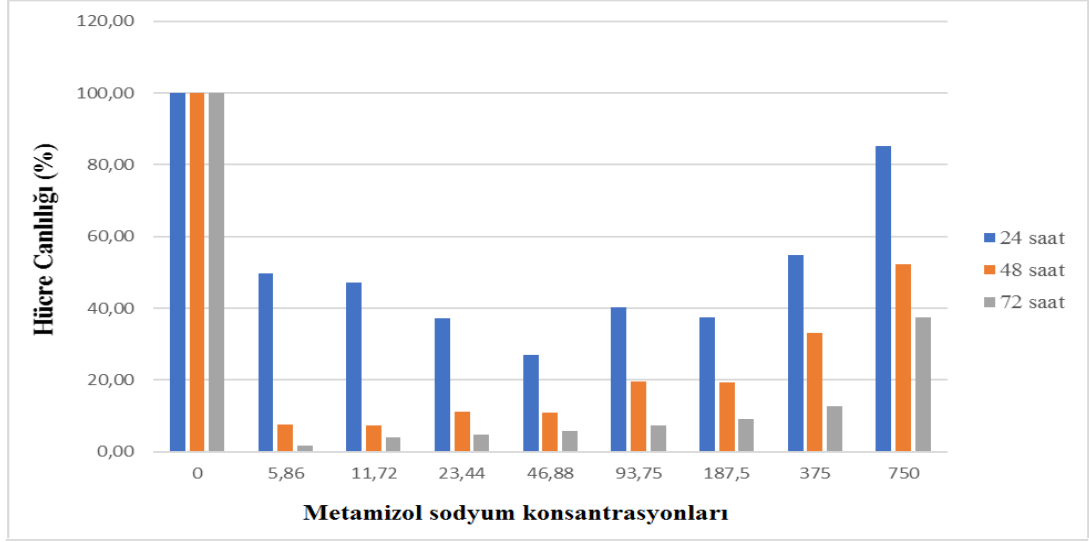


**Şekil 4.2** Tüm ilaçların 48 saatteki kontrol görüntüsü.

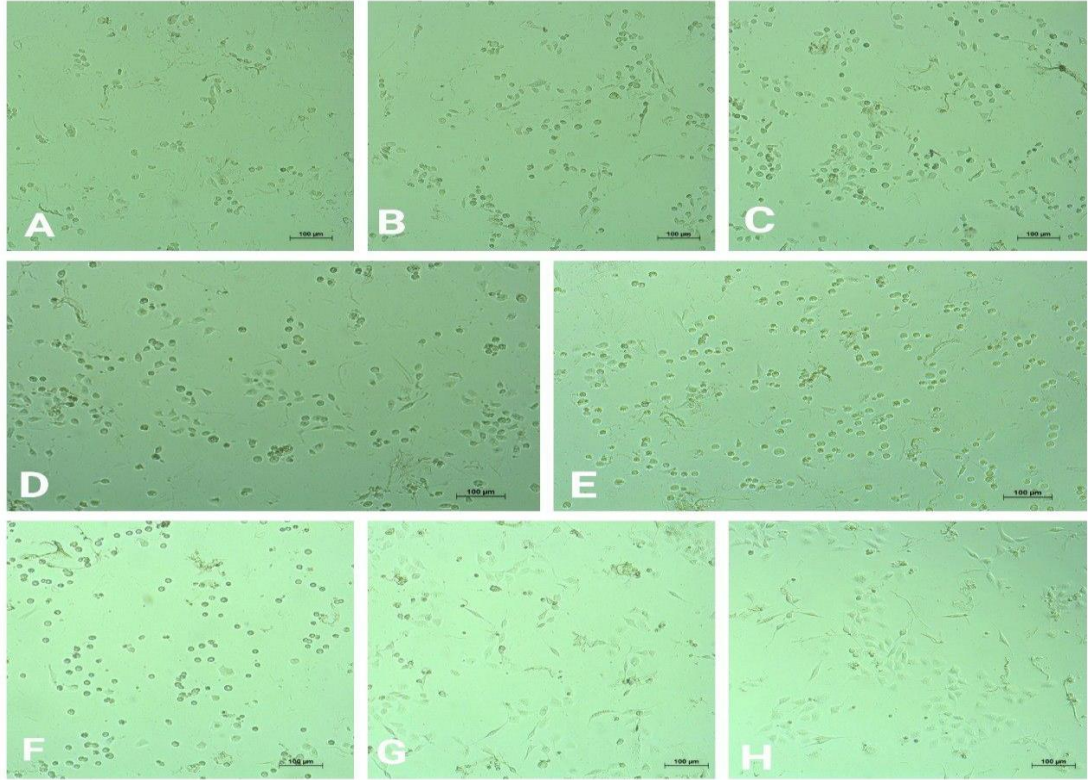


**Şekil 4.3** Tüm ilaçların 72 saatteki kontrol görüntüsü.

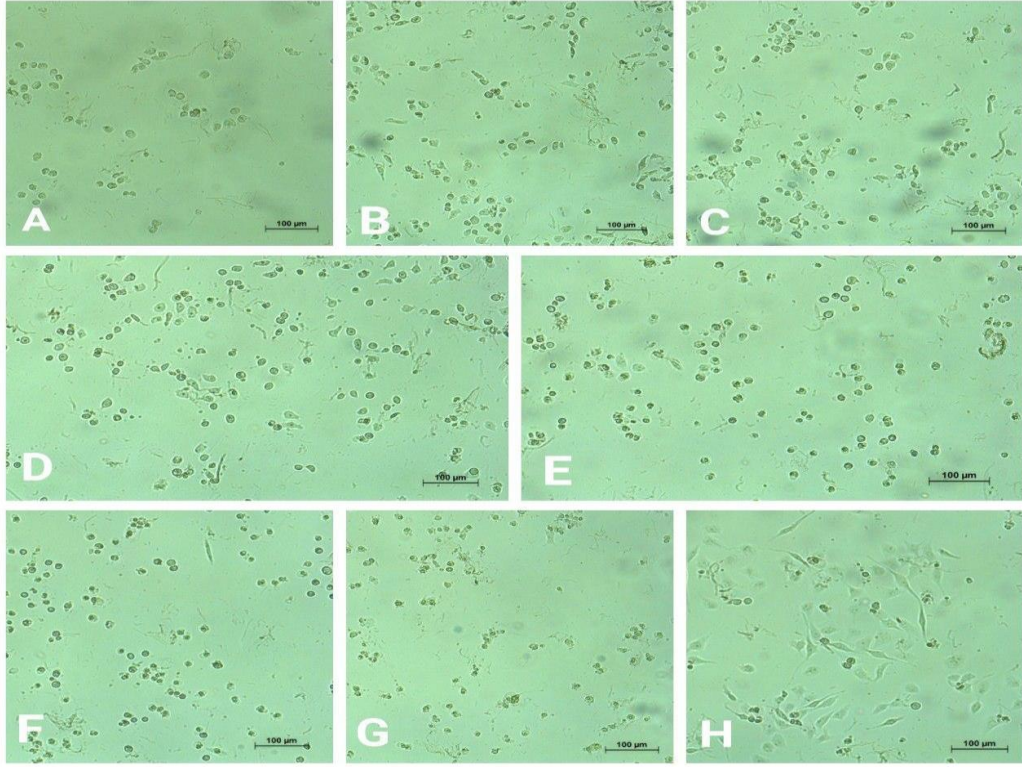
Metamizol etken maddeli 1 numaralı ilaç ile muamele edilen BEAS-2B hücre kültürlerinde, MTT ilavesi sonrasında mor renk ortaya çıkmıştır (Şekil 4.4). Oluşan bu mor renkten dolayı okunan absorbans değerleri sağlıklı ve doğru sonuçlar vermeyeceği için, bu ilaca bağlı MTT sonuçları değerlendirilmeye alınmamıştır.



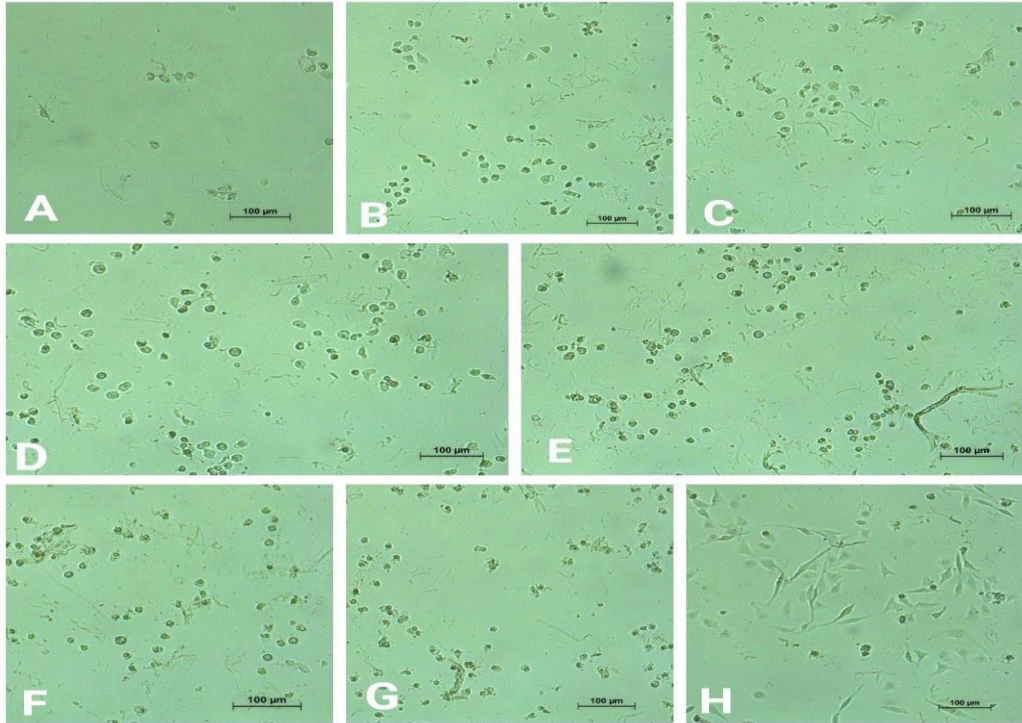
**Şekil 4.4** Metamizol etken maddeli 1 numaralı ilacın, BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi.



**Şekil 4.5** Metamizol etken maddeli 1 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).

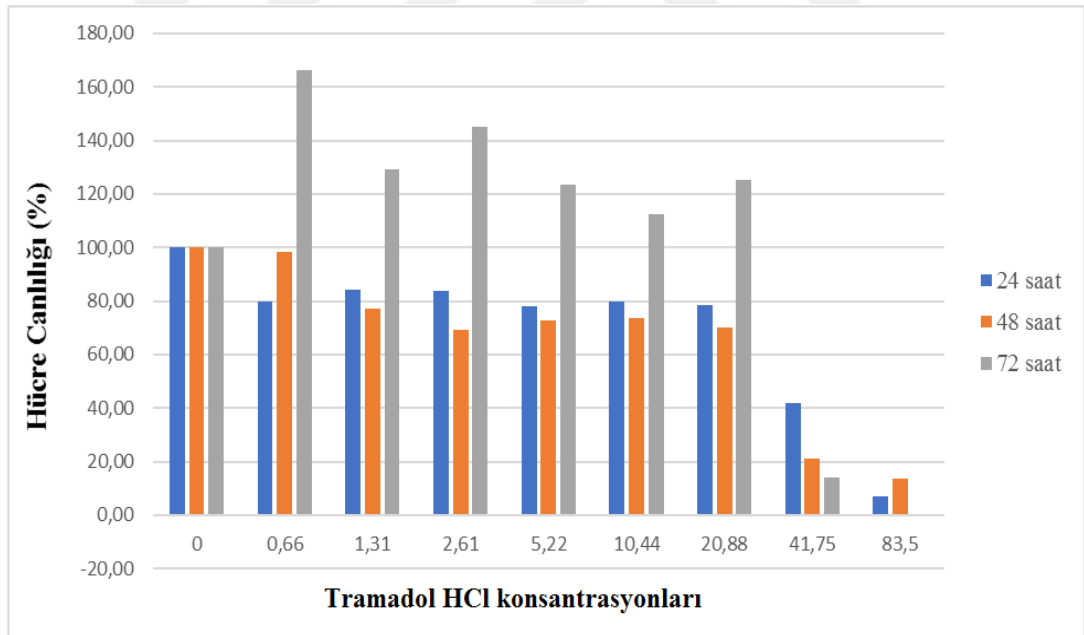


**Şekil 4.6** Metamizol etken maddeli 1 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).

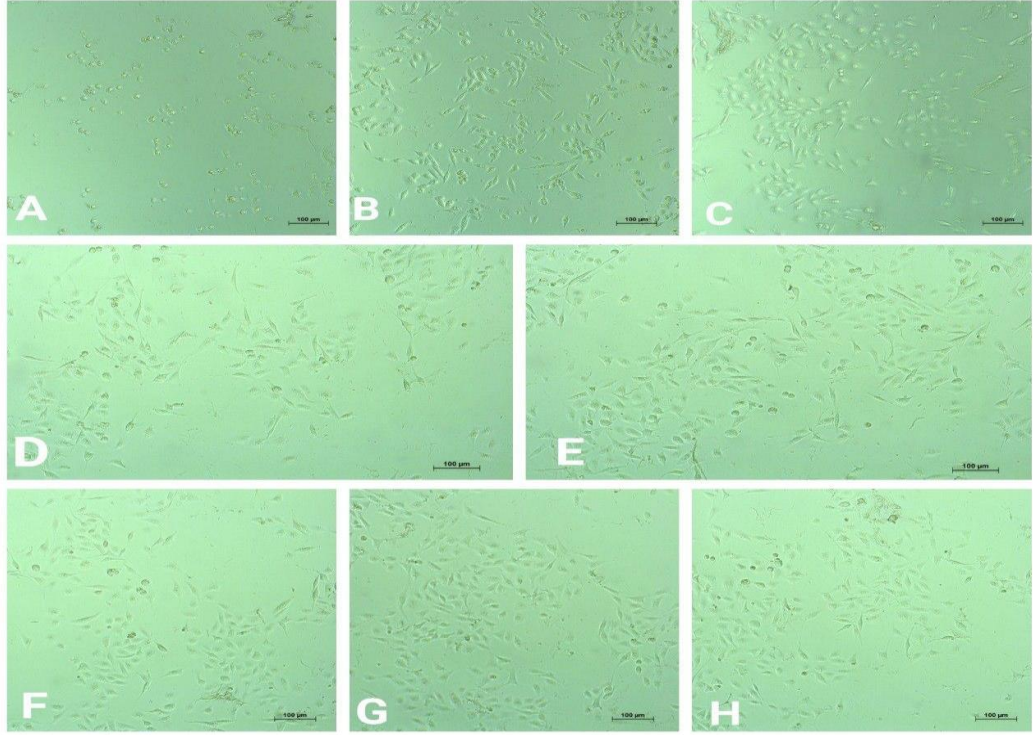


**Şekil 4.7** Metamizol etken maddeli 1 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).

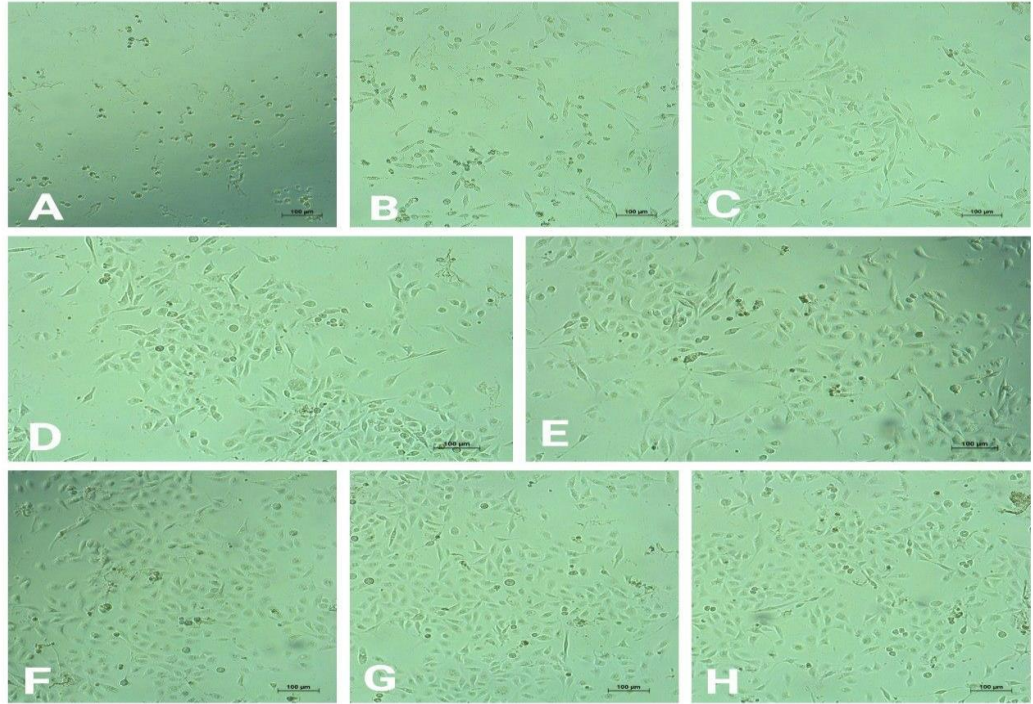
Tramadol etken maddeli 7 numaralı ilaç ile 24 saatlik muamele sonucu test edilen tüm konsantrasyonlarda, hücre canlılığındaki düşüşler istatistiksel olarak anlamlı olmuştur ( $p<0.05$ ). 48 saatlik muamele sonrasında en düşük 7 numaralı ilaç konsantrasyonu dışındaki tüm konsantrasyonlarda görülen azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Hem 24 hem de 48 saatlik uygulamalar sonrasında hücre canlılığında görülen bu azalmalar konsantrasyona bağlı değildi. 72 saatlik muamele sonrasında test edilen ilk dört 7 numaralı ilaç konsantrasyonunda hücre canlılığı kontroldeki değerinin üzerine çıkmıştır. 1.18 mM ve üzerindeki konsantrasyonlar hücre canlılığını azaltmıştır. Kontrole göre kıyaslandığında en yüksek iki konsantrasyonda (4.73 ve 9.45 mM) görülen düşüşler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). 7 numaralı ilaç doz artışına bağlı olarak sitotoksiteyi artırdığı ve özellikle test edilen en yüksek iki konsantrasyonunun BEAS-2B hücreleri için oldukça toksik olduğu görülmüştür (Şekil 4.8). 7 numaralı ilacın 24, 48 ve 72 saatlik uygulaması sonucu belirlenen IC50 değerleri sırasıyla 3.4, 2.9 ve 3.4 mM olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.9).



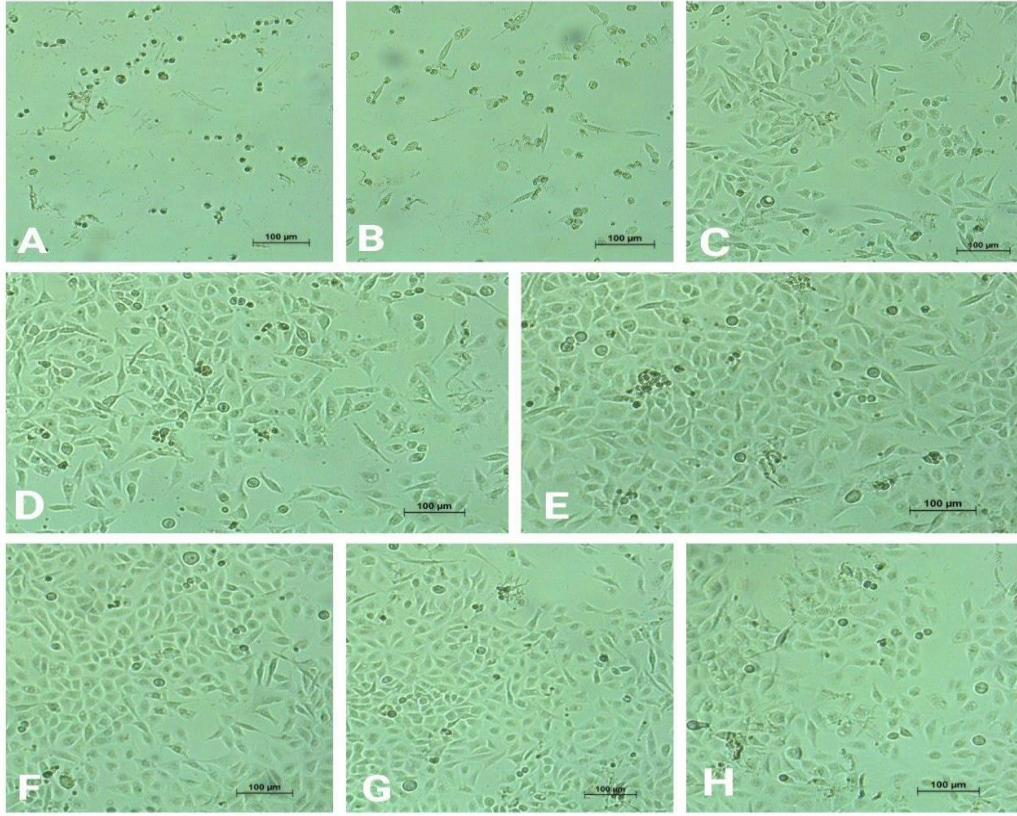
**Şekil 4.8** Tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilacın, BEAS-2 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi.



**Şekil 4.9** Tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).



**Şekil 4.10** Tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).



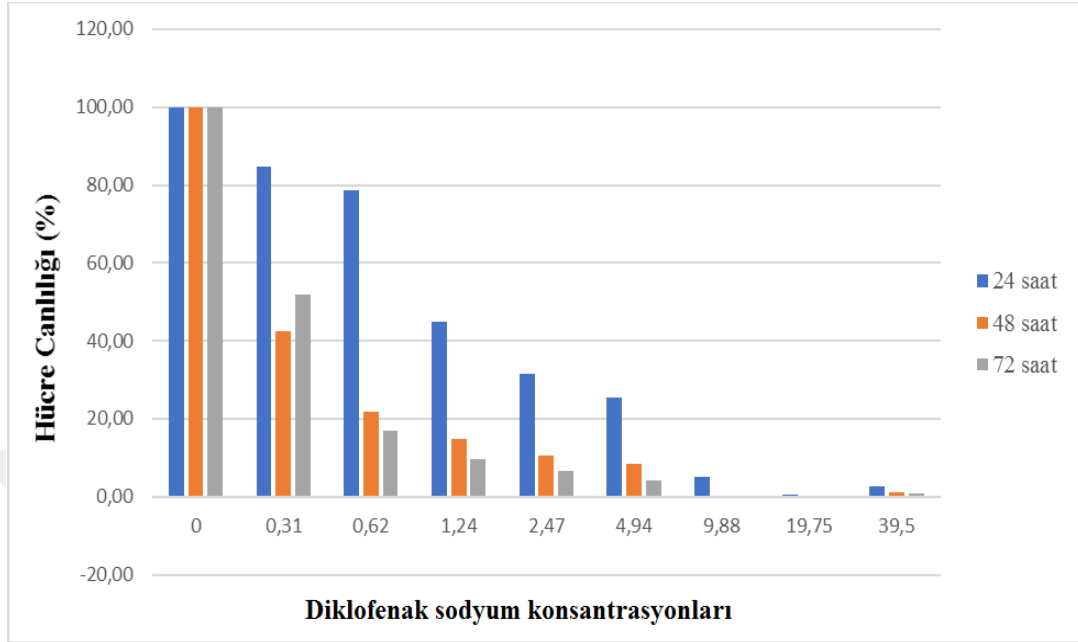
**Şekil 4.11** Tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).

**Çizelge 4.2** Tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilacın IC<sub>50</sub> değeri.

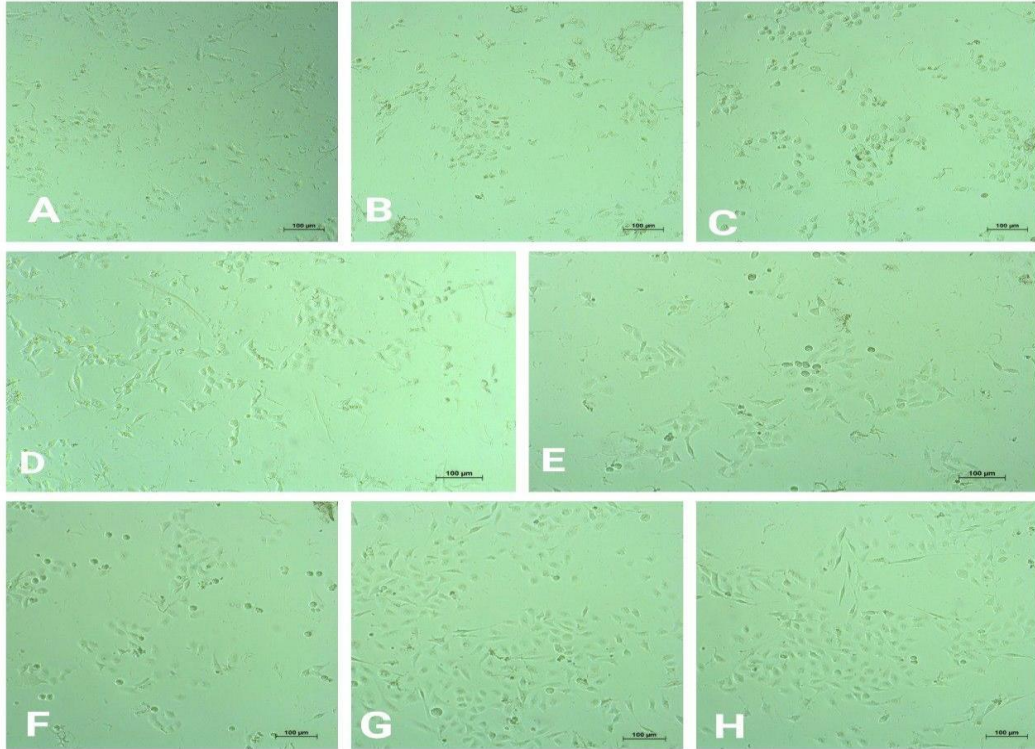
| Tramadol<br>hidroklorür etken<br>maddeli 7 numaralı<br>ilac | Konsantrasyon<br>24 saat | Konsantrasyon<br>48 saat | Konsantrasyon<br>72 saat |
|-------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| IC <sub>50</sub>                                            | 35,08 mM                 | 27,30 mM                 | 33,10 mM                 |
| <b>Belirlenen IC<sub>50</sub> Değeri = 27 mM</b>            |                          |                          |                          |

Diklofenak sodyum- I etken maddeli 3 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerine uygulanması sonucu, test edilen tüm konsantrasyonlarının tüm muamele zamanlarında hücre canlılığını, konsantrasyona ve zamana bağlı olarak düşürdüğü ve sitotoksisiteyi artırdığı belirlenmiştir. 24, 48 ve 72 saatlik muameleler sonucunda hücre canlılığında görülen düşüşlerin tamamı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). 24 saatlik uygulamada 0.07 mM'dan sonraki tüm konsantrasyonlar, 48 ve 72 saatlik uygulamada ise tüm voltaren uygulamaları BEAS-2B hücreleri için oldukça toksik olmuştur (Şekil 4.12). Diklofenak sodyum etken maddeli 3 numaralı ilacın 24, saatlik uygulaması sonucu belirlenen IC<sub>50</sub> değeri 0.1 mM olarak belirlenmiştir

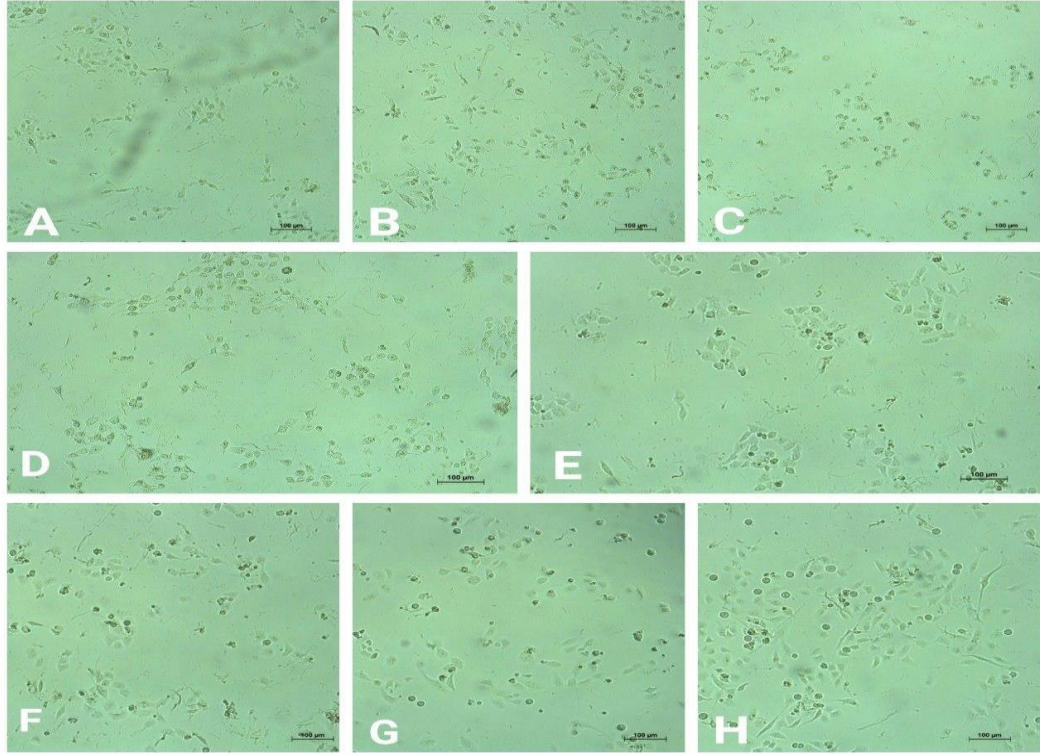
(Çizelge 4.9). 48 ve 72 saatlik uygulamalar sonucu hücre canlılığı değerleri %50'nin altında olduğu için, 48 ve 72 saatlik uygulamalarda IC<sub>50</sub> değeri belirlenememiştir.



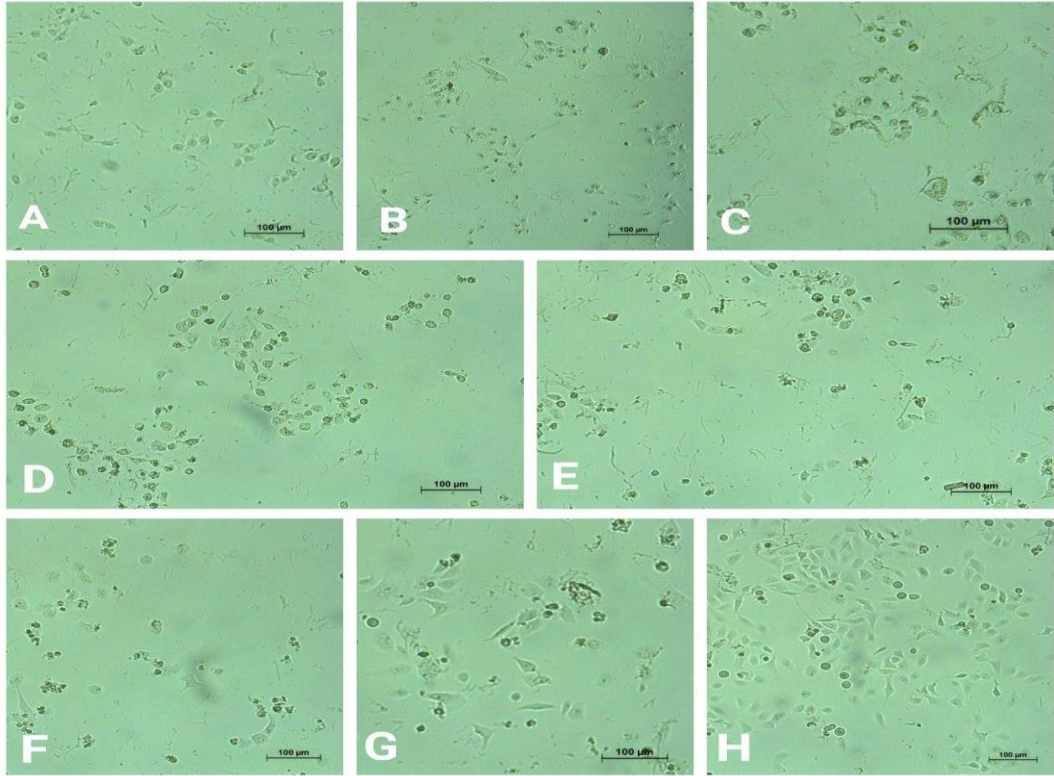
**Şekil 4.12** Diklofenak sodyum-1 etken maddeli 3 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi.



**Şekil 4.13** Diklofenak sodyum-1 etken maddeli 3 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).



**Şekil 4.14** Diklofenak sodyum-1 etken maddeli 3 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).

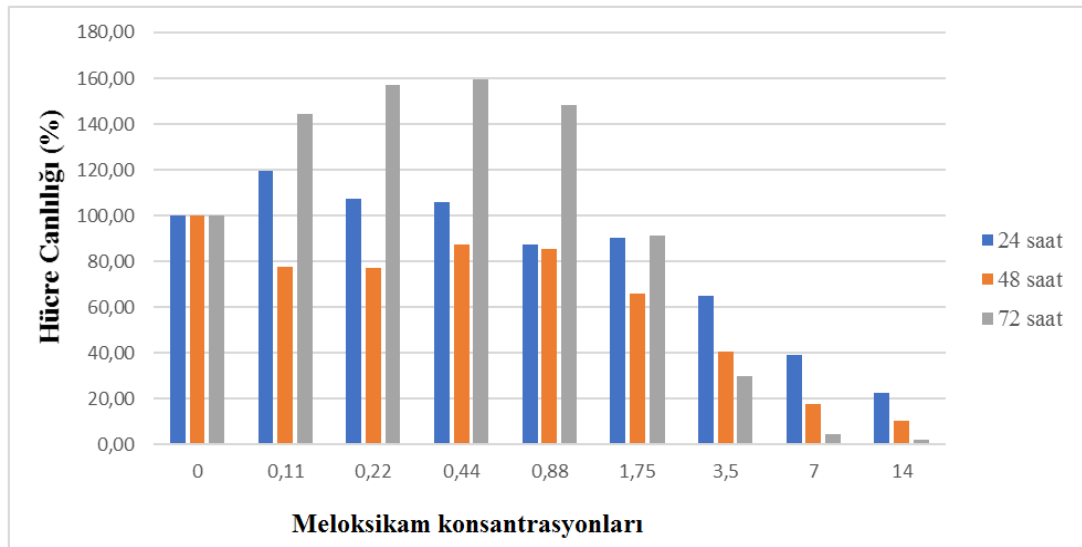


**Şekil 4.15** Diklofenak sodyum-1 etken maddeli 3 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).

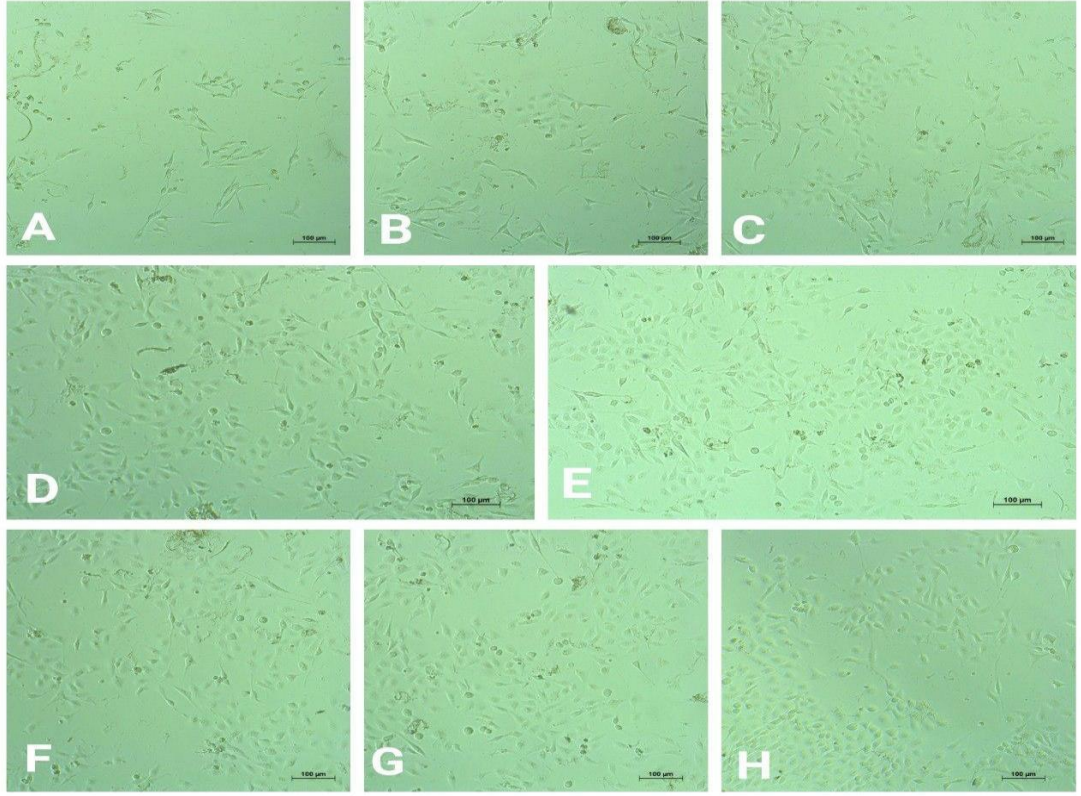
**Çizelge 4.3** Diklofenak sodyum-1 etken maddeli 3 numaralı ilacın IC<sub>50</sub> değeri.

| Diklofenak sodyum etken maddeli 3 numaralı ilacın | Konsantrasyon 24 saat | Konsantrasyon 48 saat | Konsantrasyon 72 saat |
|---------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| IC <sub>50</sub>                                  | 1,12 mM               | -                     | 0,32 mM               |
| Belirlenen IC <sub>50</sub> Değeri = 0,3 mM       |                       |                       |                       |

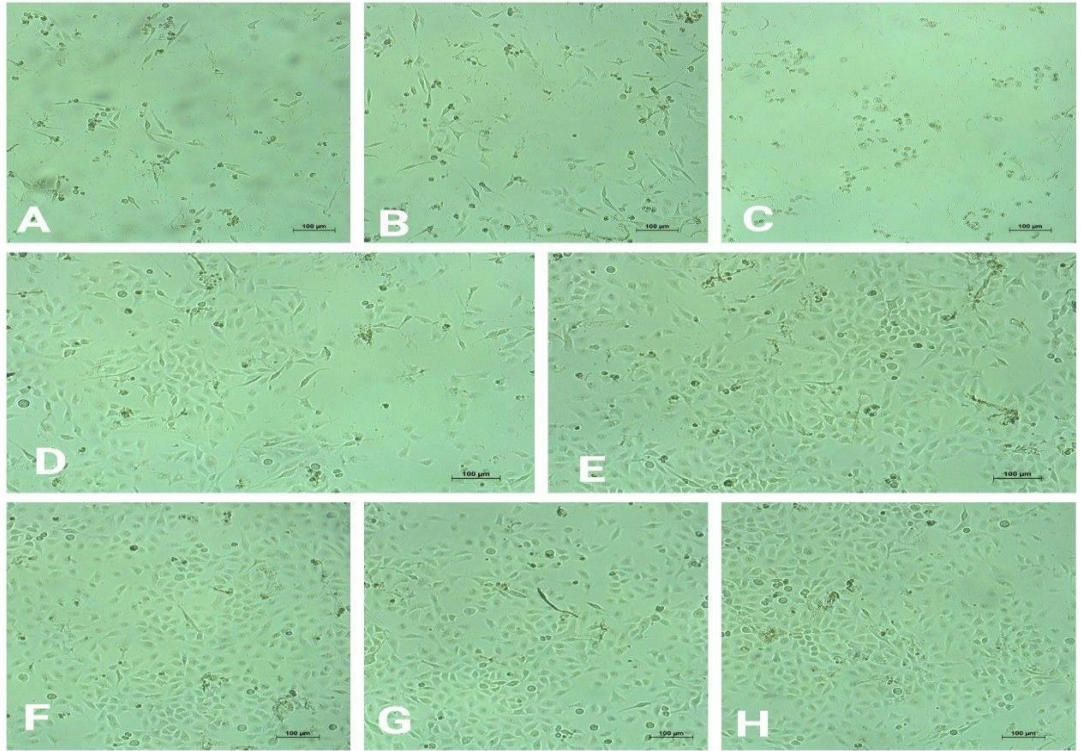
24 ve 48 saatliğine Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilaç ile muamele edilen BEAS-2B hücrelerinin canlılığı azalmış ve sitotoksosite artmıştır. 24 saatlik uygulamada 0.09 ve üzerindeki tüm konsantrasyonlar, 48 saatlik uygulamada ise 0.01, 0.02, 0.09 ve üzerindeki tüm konsantrasyonlarda görülen artmış sitotoksosite seviyeleri kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). 72 saatlik uygulamada test edilen ilk dört konsantrasyonda (0.01, 0.02, 0.04 ve 0.09 mM) hücre canlılığı kontrole göre daha çok artmıştır. 0.18 mM'dan sonra hücre canlılığı değeri azalmaya başlamış ve 0.35 mM'dan itibaren görülen düşüşler kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilacın test edilen en yüksek üç konsantrasyonunun (0.35, 0.70 ve 1.40 mM) tüm muamele sürelerinde sitotoksositeyi önemli ölçüde artırdığı görülmüştür (Şekil 4.16). Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilacın 24, 48 ve 72 saatlik uygulaması sonucu belirlenen IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 0.4, 0.23 ve 0.26 mM olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.9).



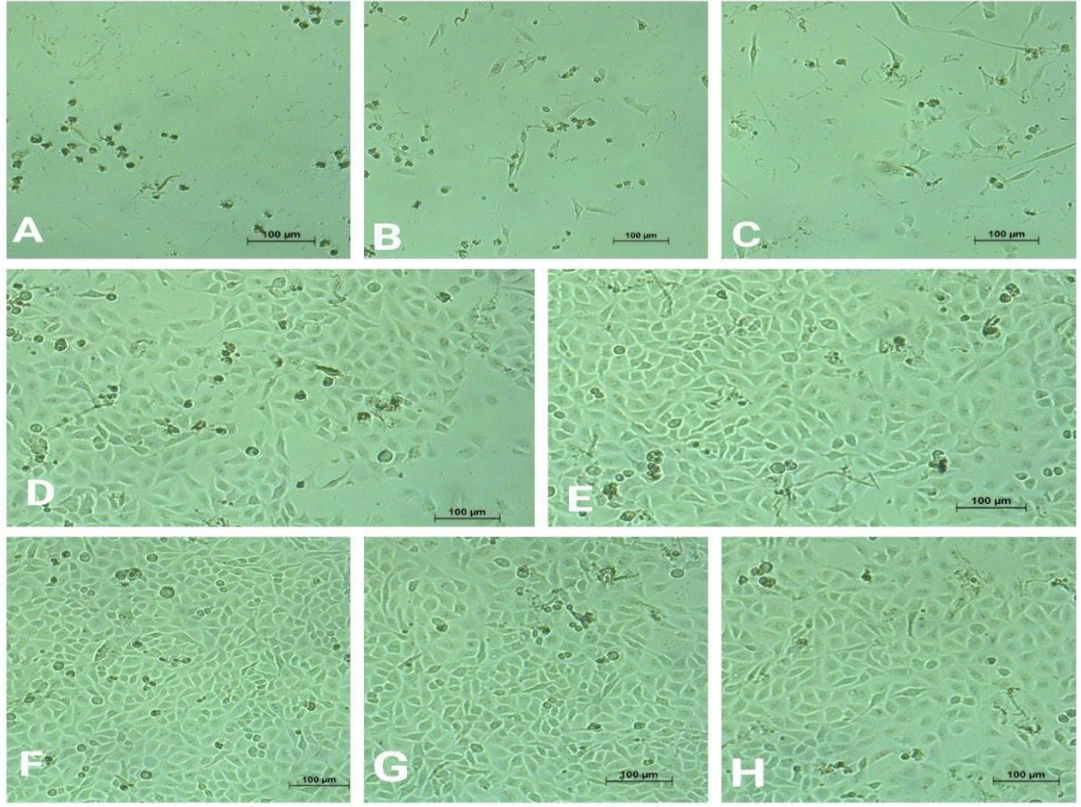
**Şekil 4.16** Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi.



**Şekil 4.17** Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).



**Şekil 4.18** Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).



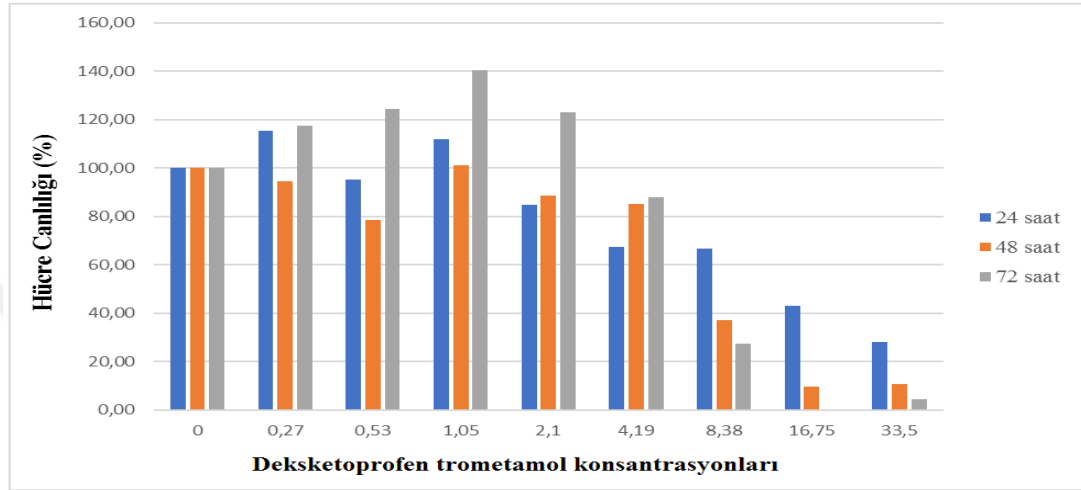
**Şekil 4.19** Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).

**Çizelge 4.4** Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilacın IC<sub>50</sub> değeri.

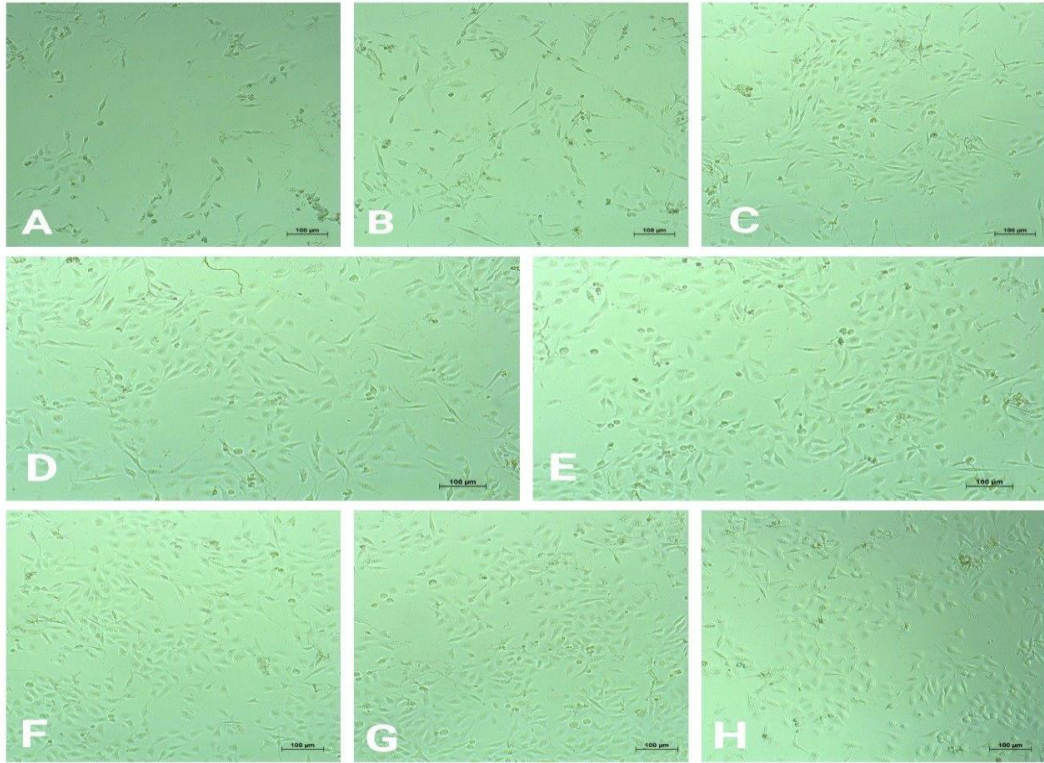
| Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilaç        | Konsantrasyon<br>24 saat | Konsantrasyon<br>48 saat | Konsantrasyon<br>72 saat |
|-------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| IC <sub>50</sub>                                | 5,24 mM                  | 2,63 mM                  | 2,75 mM                  |
| <b>Belirlenen IC<sub>50</sub> Değeri = 3 mM</b> |                          |                          |                          |

Deksketoprofen-1 etken maddeli 5 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerine uygulanması sonucu elde edilen hücre canlılığı verileri meloksun sonuçlarına oldukça benzerlik göstermektedir. 24 ve 48 saatliğine metadem ile muamele edilen BEAS-2B hücrelerinin canlılığı azalmış ve sitotoksosite artmıştır. 24 saatlik uygulamada 0.08 ve üzerindeki tüm konsantrasyonlar, 48 saatlik uygulamada ise 0.08, 0.31 mM üzerindeki tüm konsantrasyonlarda görülen sitotoksosite seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). 72 saatlik uygulamada test edilen ilk dört konsantrasyonda (0.04, 0.08, 0.15 ve 0.31 mM) hücre canlılığı kontrole göre daha çok artmıştır. 0.61 mM'dan sonra hücre canlılığı değerleri düşmeye başlamış ve görülen bu düşüşler kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı olmuştur ( $p<0.05$ ). Deksketoprofen etken

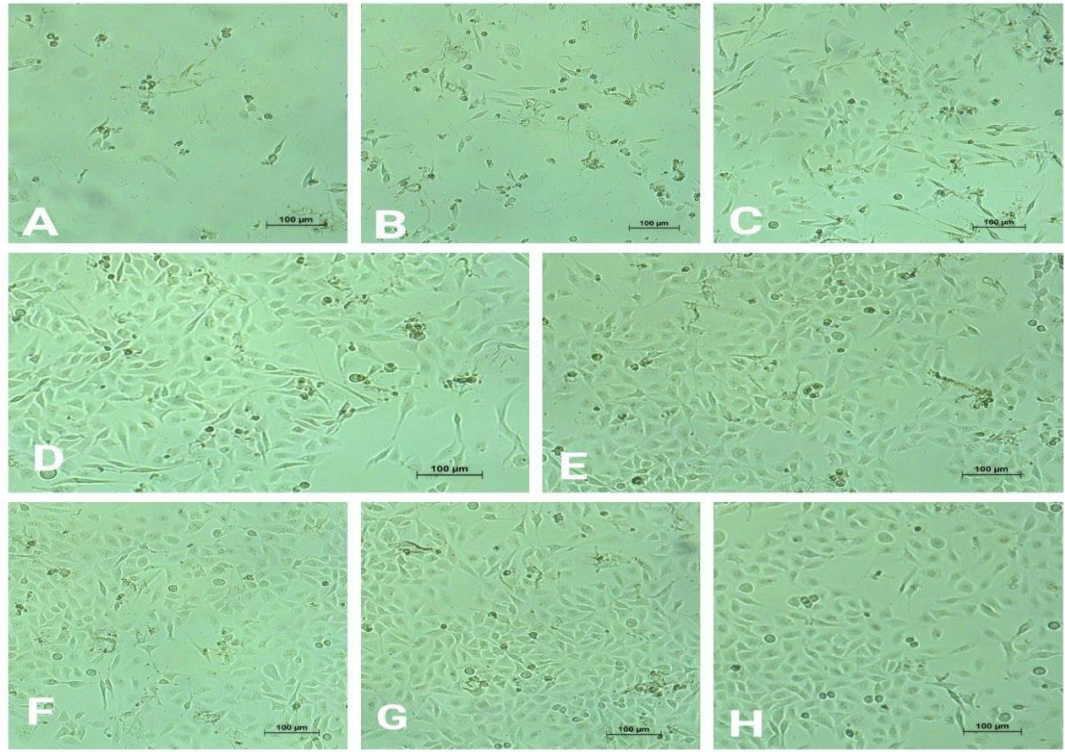
maddeli 5 numaralı ilacın test edilen en yüksek üç konsantrasyonunun (1.23, 2.45 ve 4.90 mM) tüm muamele sürelerinde sitotoksisiteyi önemli ölçüde artırdığı görülmüştür (Şekil 4.20). Deksketoprofen etken maddeli 5 numaralı ilacın 24, 48 ve 72 saatlik uygulaması sonucu belirlenen IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 1.5, 1.1 ve 1.13 mM olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.9).



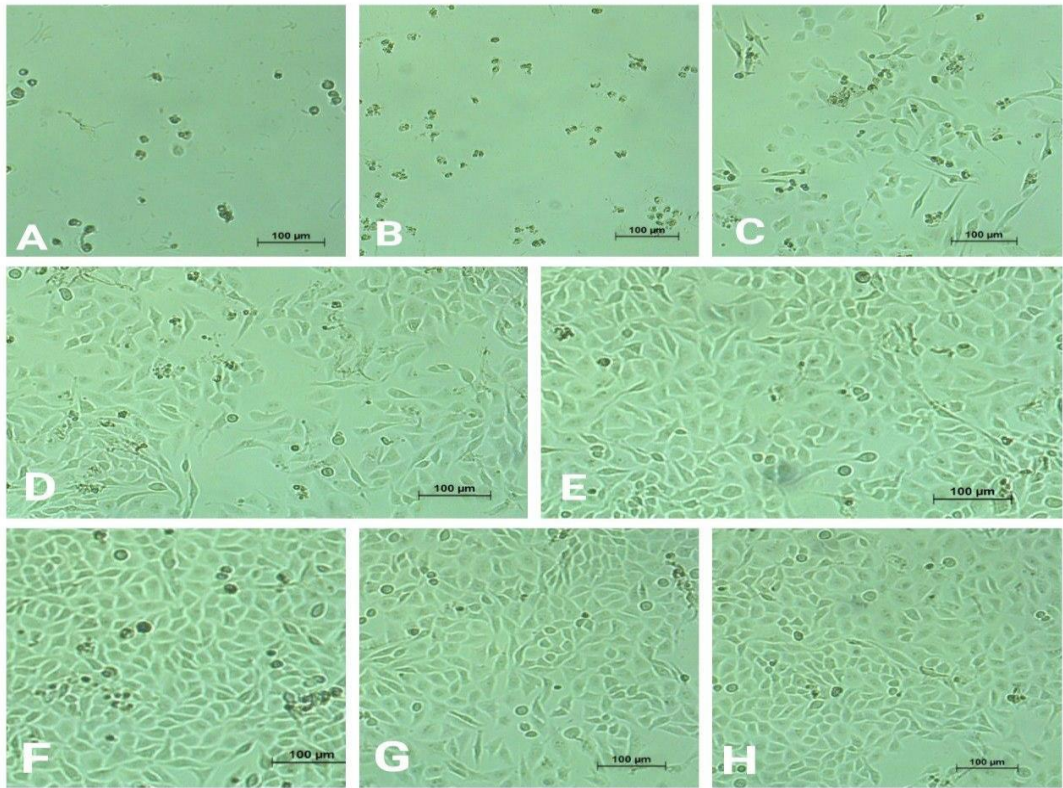
**Şekil 4.20** Deksketoprofen-1 etken maddeli 5 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi.



**Şekil 4.21** Deksketoprofen-ı etken maddeli 5 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).



**Şekil 4.22** Deksketoprofen-1 etken maddeli 5 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).

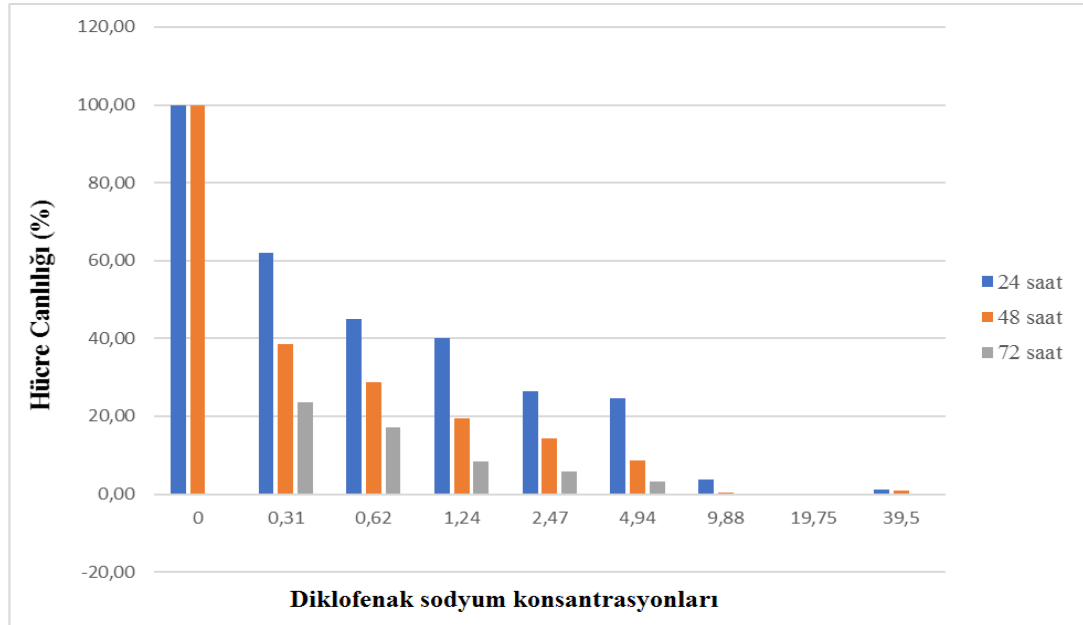


**Şekil 4.23** Deksketoprofen-1 etken maddeli 5 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).

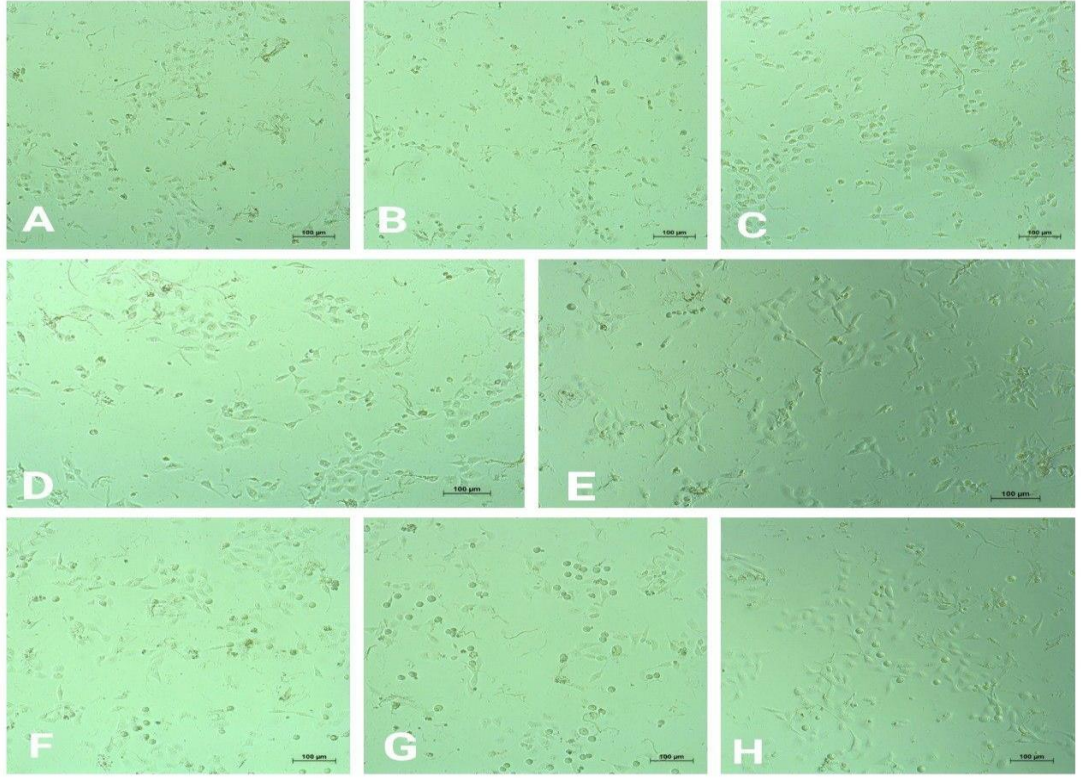
**Çizelge 4.5** Deksketoprofen-1 etken maddeli 5 numaralı ilacın IC<sub>50</sub> değeri.

| Deksketoprofen<br>etken maddeli 5<br>numaralı ilaç | Konsantrasyon<br>24 saat | Konsantrasyon<br>48 saat | Konsantrasyon<br>72 saat |
|----------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| IC <sub>50</sub>                                   | 13,50 mM                 | 7,08 mM                  | 6,60 mM                  |
| Belirlenen IC <sub>50</sub> Değeri = 7 mM          |                          |                          |                          |

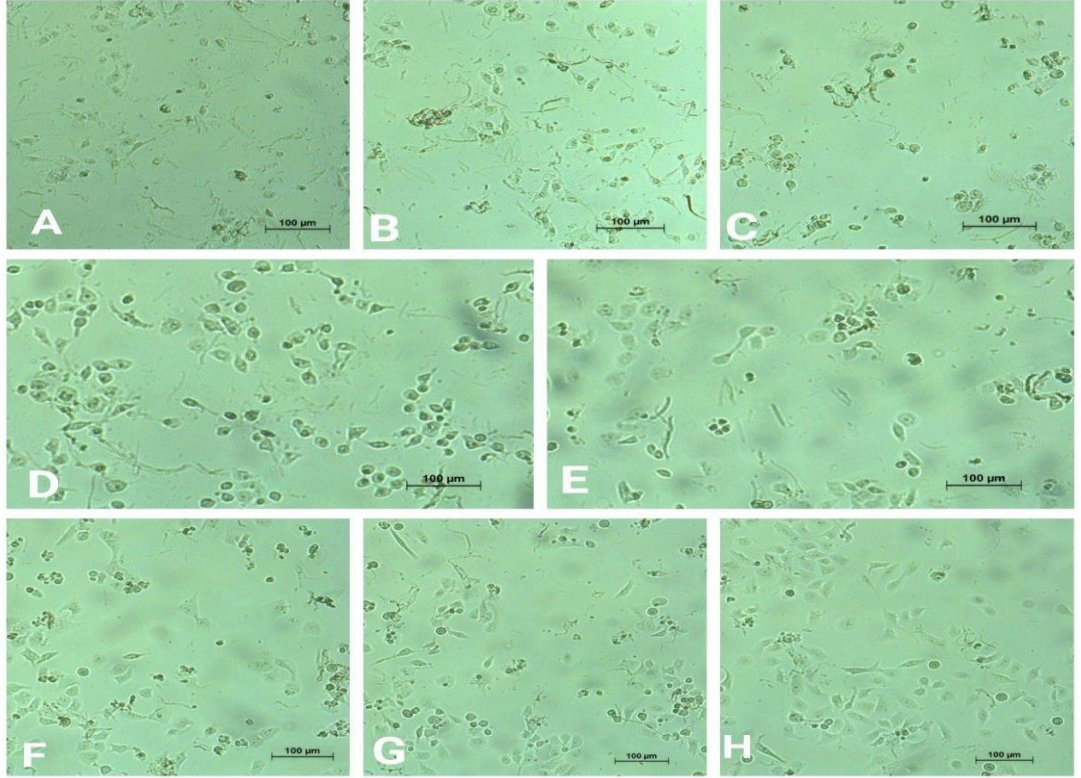
Diklofenak sodyum-1 etken maddeli 3 numaralı ilaç gibi Diklofenak sodyum-2 etken maddeli 2 numaralı ilacın da, test edilen tüm konsantrasyonlarının tüm muamele zamanlarında BEAS-2B hücrelerinin canlılığını, konsantrasyona ve zamana bağlı olarak düşürdüğü ve sitotoksiteyi artırdığı belirlenmiştir. 24, 48 ve 72 saatlik muameleler sonucunda hücre canlılığında görülen bu düşüşlerin tamamı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bu sonuçlar Diklofenak sodyum-2 etken maddeli 2 numaralı ilacın test edilen tüm konsantrasyonlarının BEAS-2B hücreleri için oldukça toksik olduğunu göstermektedir (Şekil 4.24). Diklofenak sodyum-2 etken maddeli 2 numaralı ilacın 24, saatlik uygulaması sonucu belirlenen IC<sub>50</sub> değeri 0.035 mM olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.9). 48 ve 72 saatlik uygulamalar sonucu hücre canlılığı değerlerinin tamamı %50'nin altında olduğu için, 48 ve 72 saatlik uygulamalarda IC<sub>50</sub> değeri belirlenememiştir.



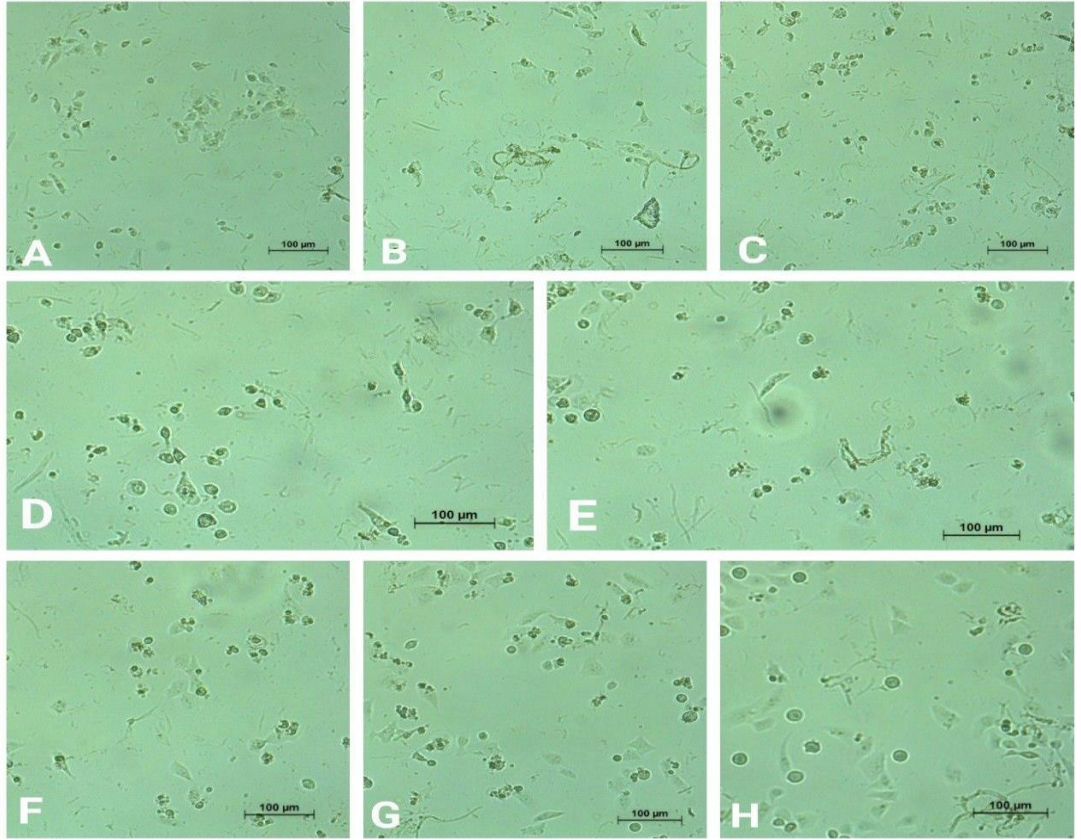
**Şekil 4.24** Diklofenak sodyum-2 etken maddeli 2 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi.



**Şekil 4.25** Diklofenak sodyum-2 etken maddeli 2 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).



**Şekil 4.26** Diklofenak sodyum-2 etken maddeli 2 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).



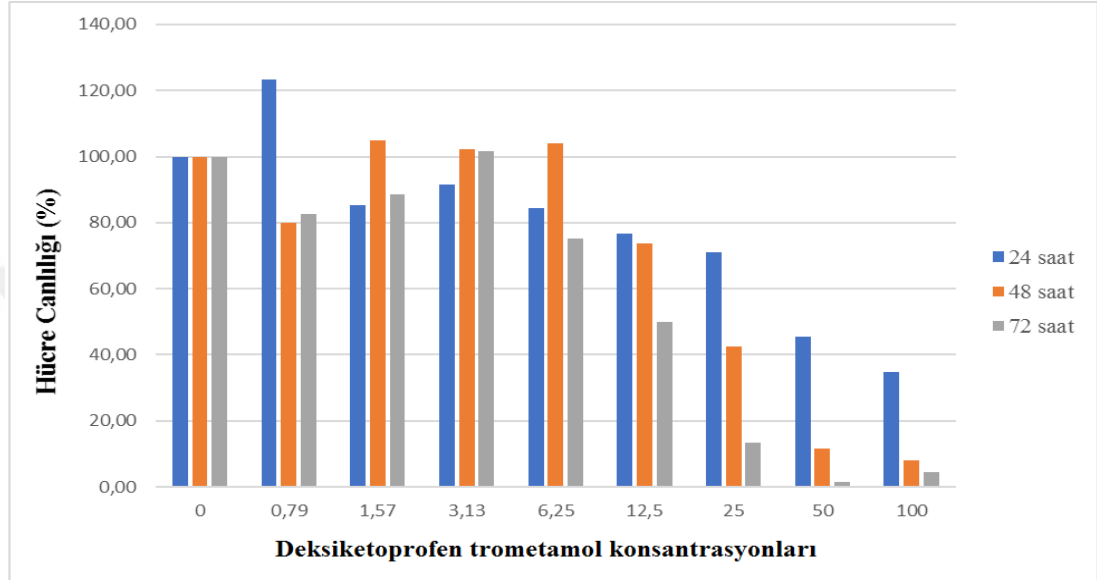
**Şekil 4.27** Diklofenak sodyum-2 etken maddeli 2 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).

**Çizelge 4.6** Diklofenak sodyum-2 etken maddeli 2 numaralı ilacın IC<sub>50</sub> değeri.

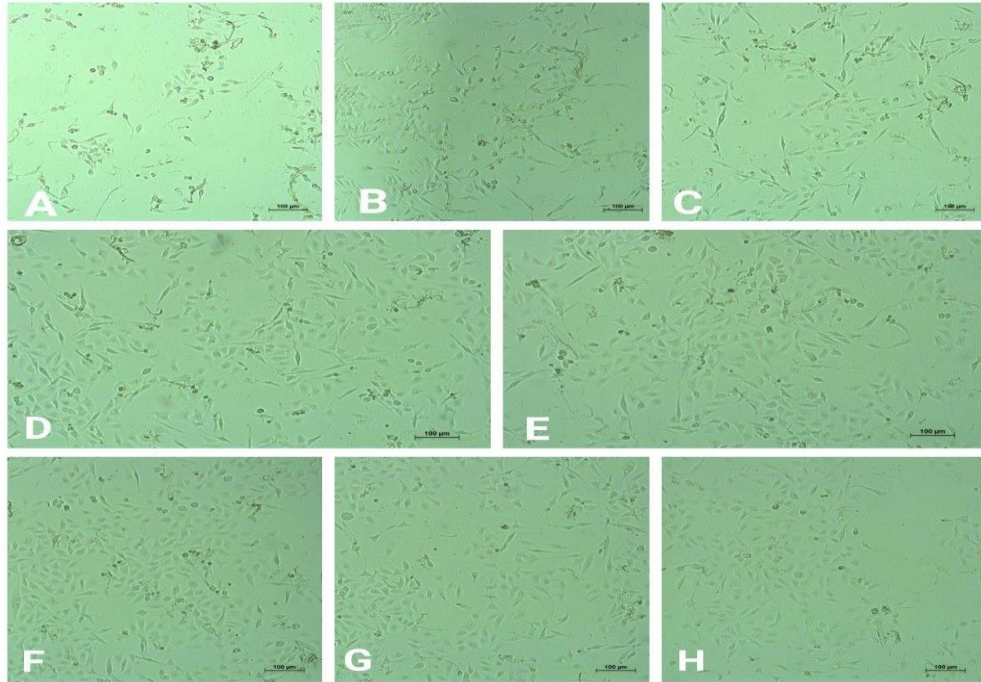
| Diklofenak sodyum<br>etken maddeli 2<br>numaralı ilac | Konsantrasyon<br>24 saat | Konsantrasyon<br>48 saat | Konsantrasyon<br>72 saat |
|-------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| IC <sub>50</sub>                                      | 0,5 mM                   | -                        | -                        |
| <b>Belirlenen IC<sub>50</sub> Değeri = 0,5 mM</b>     |                          |                          |                          |

24 saatliğine Deksketoprofen trometanol-2 etken maddeli 6 numaralı ilaç ile muamele edilen BEAS-2B hücrelerinde en düşük konsantrasyon olan 0.04 mM konsantrasyonda hücre canlılığı artış göstermiştir. 0.08 mM ve üzerindeki tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığı değerleri düşmüş ve sitotoksosite artmıştır. Sitotoksistide görülen tüm artışlar, kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). 48 ve 72 saatliğine Arveles ile muamele edilen hücrelerin canlılığı kontrole göre azalmıştır. 48 saatlik uygulamada 0.04, 0.61 ve üzerindeki tüm konsantrasyonlar, 72 saatlik uygulamada ise 0.08, 0.31 mM ve üzerindeki tüm konsantrasyonlarda görülen artmış sitotoksosite değerleri kontrole göre istatistiksel

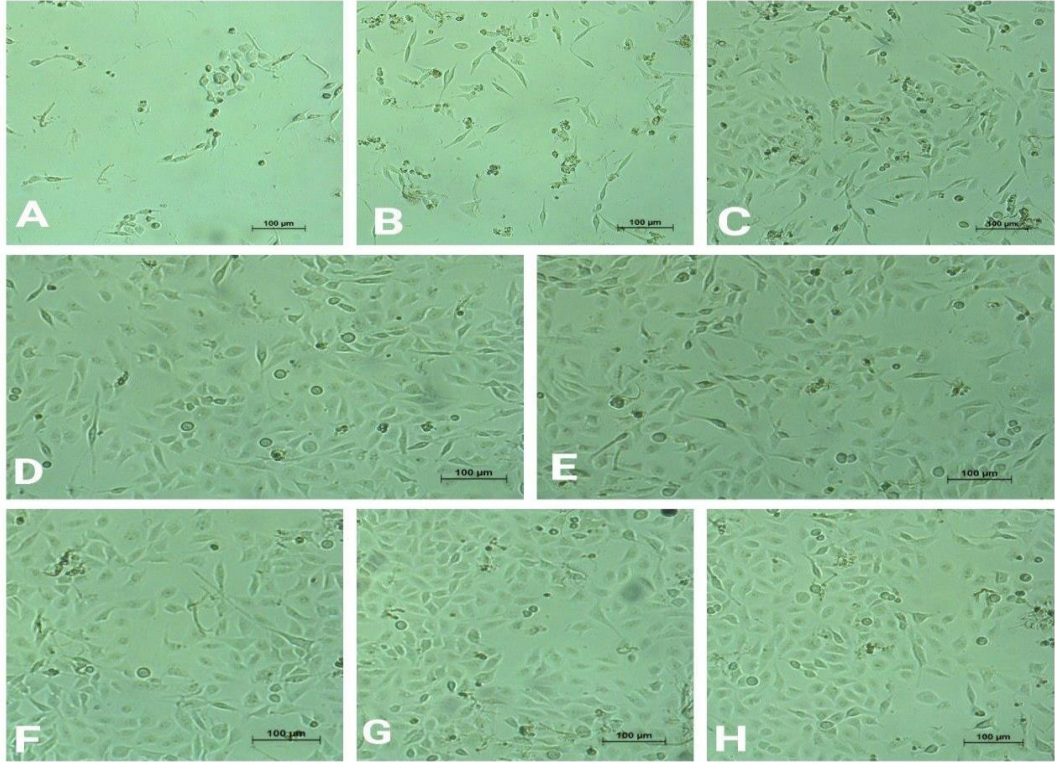
olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Deksketoprofen etken maddeli 6 numaralı ilacın test edilen en yüksek üç konsantrasyonunun (1.23, 2.45 ve 4.90 mM) sitotoksisiteyi daha çok artırdığı görülmüştür (Şekil 4.28). Arvelesin 24, 48 ve 72 saatlik uygulaması sonucu belirlenen  $IC_{50}$  değerleri sırasıyla 1.6, 0.9 ve 0.54 mM olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.9).



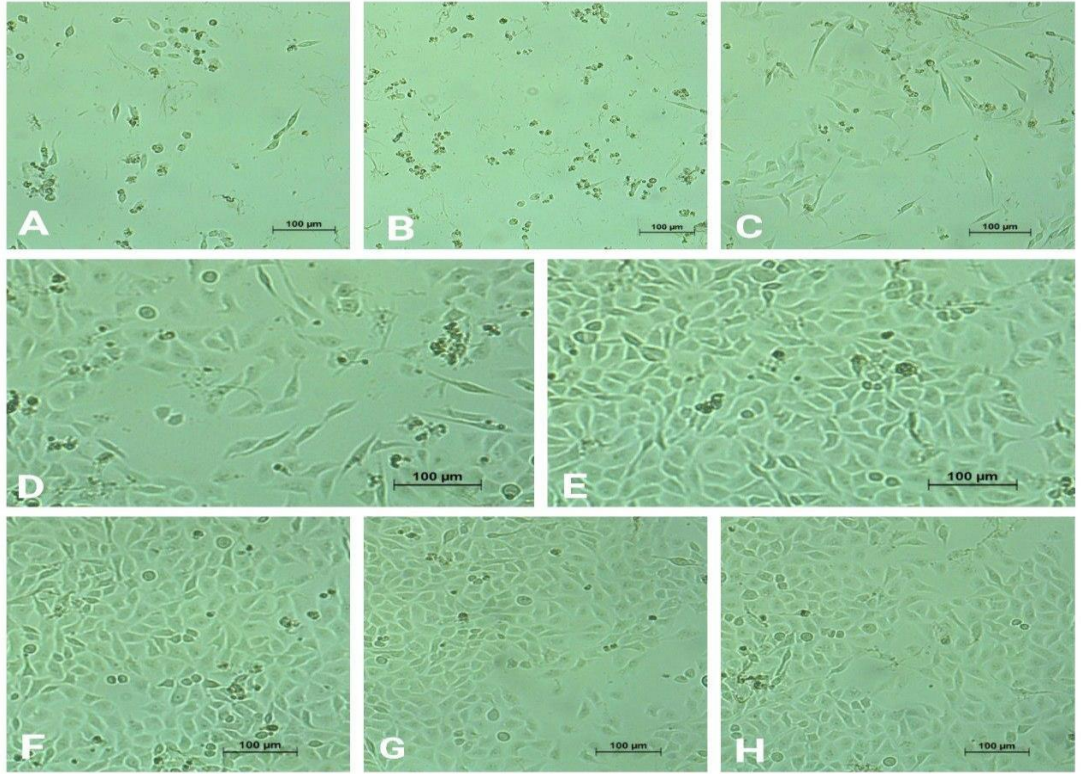
**Şekil 4.28** Deksketoprofen trometanol-2 etken maddeli 6 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi.



**Şekil 4.29** Deksketoprofen trometanol-2 etken maddeli 6 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).



**Şekil 4.30** Deksketoprofen trometanol-2 etken maddeli 6 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).

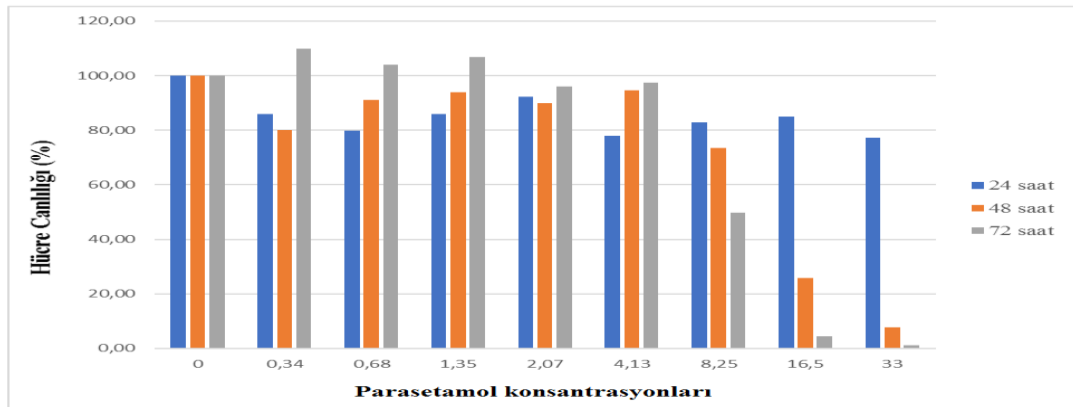


**Şekil 4.31** Deksketoprofen trometanol-2 etken maddeli 6 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).

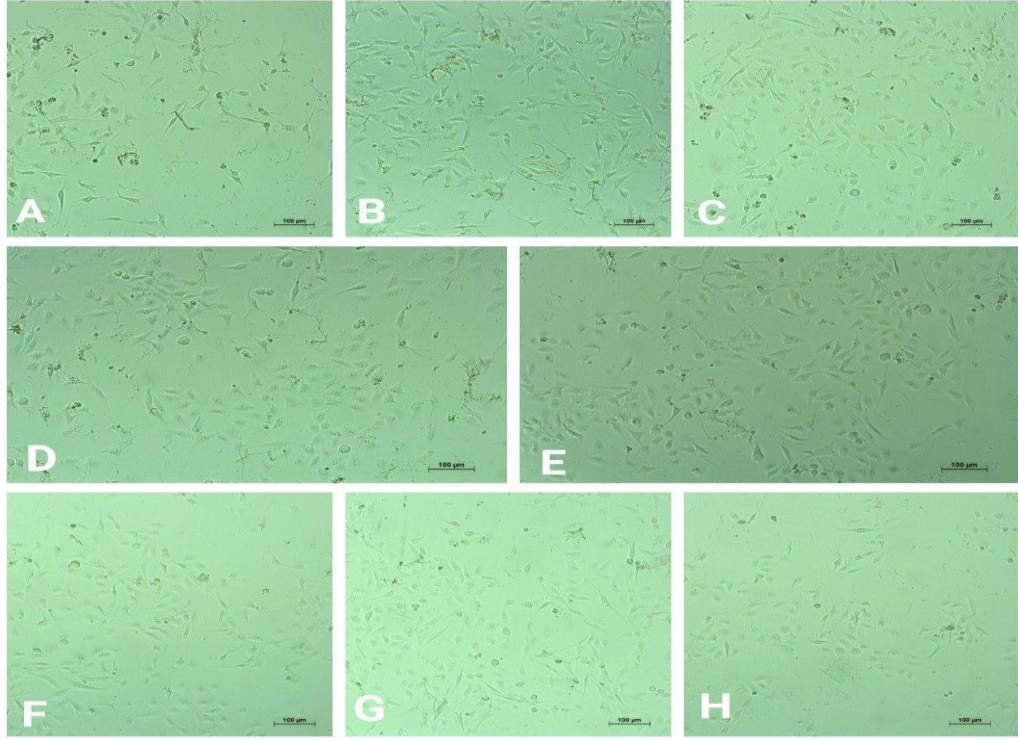
**Çizelge 4.7** Deksketoprofen trometanol-2 etken maddeli 6 numaralı ilacın IC<sub>50</sub> değeri.

| Deksketoprofen etken maddeli 6 numaralı ilacın | Konsantrasyon<br>24 saat | Konsantrasyon<br>48 saat | Konsantrasyon<br>72 saat |
|------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| IC <sub>50</sub>                               | 44,70 mM                 | 20,90 mM                 | 12,60 mM                 |
| Belirlenen IC <sub>50</sub> Değeri = 13 mM     |                          |                          |                          |

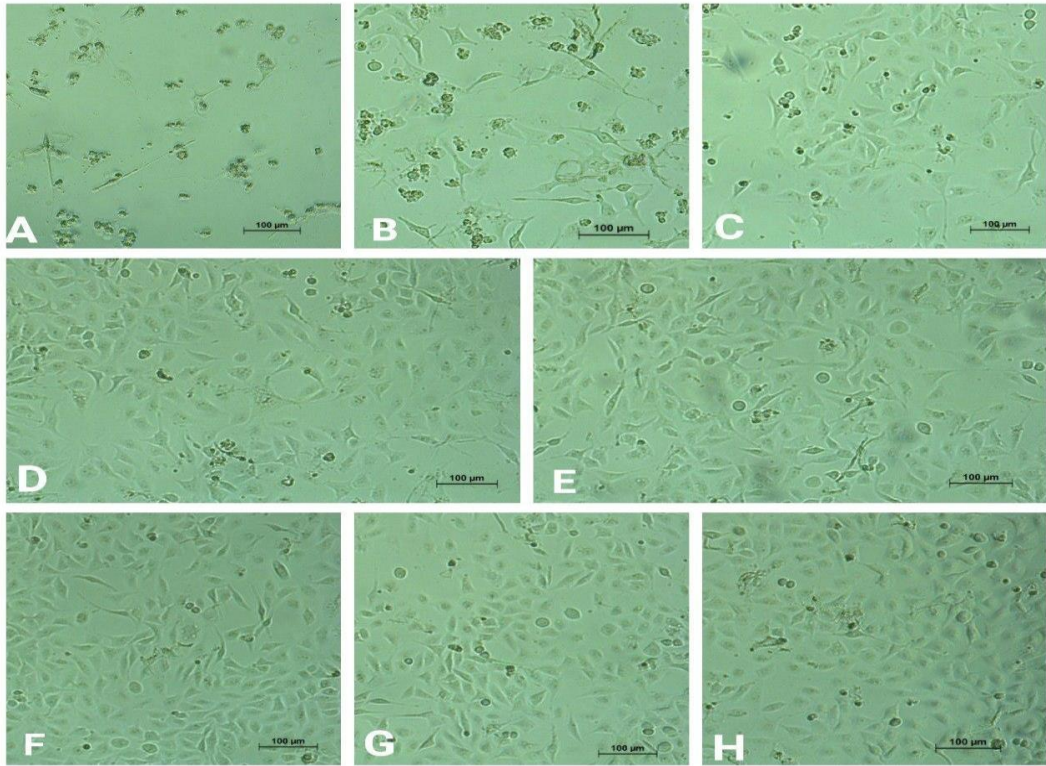
Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerine 24 saatlik uygulaması sonucu test edilen tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığı değerleri düşmüş ve görülen tüm düşüşler kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). 48 saatlik muamelede tüm partemol konsantrasyonları hücre canlılığını kontroldeki değerin altına düşürmüştür. 0.05 mM konsantrasyonda hücre canlılığı istatistiksel olarak azalmış, ancak daha sonraki dört konsantrasyonda tekrar artış göstermiştir. 48 ve 72 saatlik uygulamalarda 1.65 mM ve üzerindeki konsantrasyonlarda hücre canlılığında görülen düşüşler, yani artan sitotoksosite değerleri kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın test edilen en yüksek iki konsantrasyonunun (3.30 ve 6.60 mM) 48 ve 72 saatlik muamelelerinin sitotoksositeyi önemli ölçüde artırdığı görülmüştür (Şekil 4.32). Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın 48 ve 72 saatlik uygulaması sonucu belirlenen IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 2.15 ve 1.50 mM olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.9). 24 saatlik uygulama sonucu elde edilen hücre canlılığı değerlerinin tamamı %50'nin üzerinde olduğu için, 24 saatlik uygulamalarda IC<sub>50</sub> değeri belirlenememiştir.



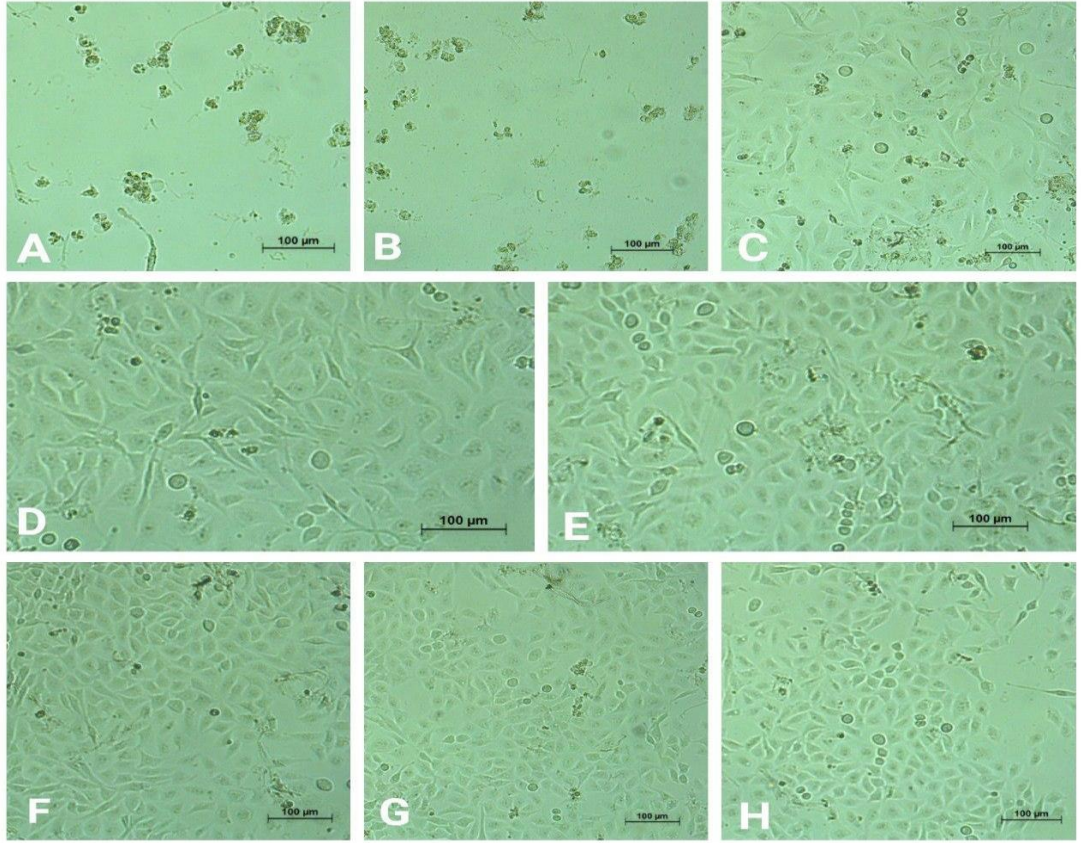
**Şekil 4.32** Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın BEAS-2B hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi.



**Şekil 4.33** Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın 24 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).



**Şekil 4.34** Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın 48 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).



**Şekil 4.35** Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın 72 saat sonundaki mikroskop görüntüleri (a'dan h'ye kadar azalan konsantrasyonlar).

**Çizelge 4.8** Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacın  $IC_{50}$  değeri.

| Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilacı           | Konsantrasyon<br>24 saat | Konsantrasyon<br>48 saat | Konsantrasyon<br>72 saat |
|------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| $IC_{50}$                                            | -                        | 11,47 mM                 | 8,12 mM                  |
| <b>Belirlenen <math>IC_{50}</math> Değeri = 8 mM</b> |                          |                          |                          |

Sonuç olarak test edilen ilaçlardan BEAS-2B hücreleri için en sitotoksik olanı dikloron, daha sonra voltarendir. Akciğer epitel hücrelerinde en az toksisiteye yol açanı ise madoldür. Muameleler sonrasında elde edilen  $IC_{50}$  değerleri dikkate alınarak sitotoksiteleri şu şekilde sıralanabilir: Diklofenak sodyum etken maddeli 2 numaralı ilaç> Diklofenak sodyum etken maddeli 3 numaralı ilaç> Meloksikam etken maddeli 8 numaralı ilaç> Deksketoprofen etken maddeli 6 numaralı ilaç> Dekstekoprofen etken maddeli 5 numaralı ilaç> Parasetamol etken maddeli 4 numaralı ilaç> Tramadol hidroklorür etken maddeli 7 numaralı ilaç.

**Çizelge 4.9** BEAS-2B hücrelerinin ilaçlar ile muamele edilmesi sonucu elde edilen IC50 değerleri.

| <b>İlaçlar</b>     | <b>24 saat muamele sonrası IC<sub>50</sub></b> | <b>48 saat muamele sonrası IC<sub>50</sub></b> | <b>72 saat muamele sonrası IC<sub>50</sub></b> |
|--------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| <b>6 nolu ilaç</b> | 1,6 mM                                         | 0,9 mM                                         | 0,54 mM                                        |
| <b>2 nolu ilaç</b> | 0,04 mM                                        | -                                              | -                                              |
| <b>7 nolu ilaç</b> | 3,4 mM                                         | 2,9 mM                                         | 3,4 mM                                         |
| <b>8 nolu ilaç</b> | 0,4 mM                                         | 0,23 mM                                        | 0,26 mM                                        |
| <b>5 nolu ilaç</b> | 1,5 mM                                         | 1,1 mM                                         | 1,13 mM                                        |
| <b>4 nolu ilaç</b> | -                                              | 2,15 mM                                        | 1,5 mM                                         |
| <b>3 nolu ilaç</b> | 0,1 mM                                         | -                                              | -                                              |

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında 8 adet ağrı kesici ilacın hem antimikrobiyal hem de antioksidan ve sitotoksiste üzerine etkinliği incelenmiştir. Antimikrobiyal açıdan baktığımızda şu sonuçlara ulaşmaktayız; Türkiye’de ve tüm Dünyada kullanılan ağrıkesici ilaçlar, bilinçli ve bilinç dışı şekilde aşırı şekilde kullanılmaktadır. Bu ilaçlar hakkında reçeteleri belli başlı bilgileri içermektedir. Bununla birlikte bu ilaçların içermiş oldukları etkin maddelerin bazı ilaçlarda ortak olmaktadır. Bu etkin maddelerin bazılarının antimikrobal aktivitesi olduğu bazı çalışmalarda ortaya çıkarılmıştır. bu çalışma kullanılan ağrıkesici ilaçlar doza ve zamana bağlı bir şekilde, in vitro *S. aureus* K. *pneumoniae*, *L. monocytogenes*, ve *B. subtilis* karşı bakterisidal aktivite, ve *A. niger* ve *S. cerevisiae*, 'ye karşı antifungal aktivite gösterdi. Bu etkiler ağrı kesicilerin içerdiği örneğin tramadol ve diklofenak sodyum gibi etken maddelerden dolayı olduğu tahmin edilmektedir. İn vitro antibakteriyel tramadolun ve diklofenak sodyum aktiviteleri, yerel veya bölgesel olarak bakteri kirlenme riski anestezi belirlemek için ileri çalışmalar gereklidir.

Sitotoksiste ve antioksidan testlerinin sonuçlarına baktığımızda ise sonuçlar şu şekildedir; metamizol ve parasetamol ihtiva eden bu iki ilaç diğer ilaçlar arasında antioksidan aktiviteleri açısından belirgin bir şekilde öne çıkmıştır.

Öte yandan deksketoprofen içerdiği bilinen ağrı kesici ilacın antioksidan aktivitesi DPPH testine göre belirlenememiş olup bu ilacın ABTS radikalini süpürme aktivitesi de DPPH radikalini süpürme aktivitesiyle orantılı olacak şekilde diğer ilaçlar için hesaplanan değerler arasındaki en düşük değerdir. Test edilen ilaçlar arasında DPPH serbest radikalini süpürme aktivitesi en düşük olarak tespit edilen ilaç 7 ile numaralandırdığımız tramadol etken maddeli ilaçtır. Aynı şekilde bu ilacın FRAP değeride tespit edilen en düşük değerdir. Etken madde olarak deksketoprofen içeren 5 ve 6 ile numaralandırmış olduğumuz iki ilaç için ABTS radikalini süpürme aktivitesi hemen hemen eşdeğerken, etken maddesi diklofenak sodyum olan 2 ve 3 numaralı diğer iki ilacında DPPH radikalini süpürme aktiviteleri aynı derecede eşdeğerdir. Aynı şekilde incelemelerimiz sonrasında bu iki ilacın antimikrobiyal etkinliklerinin de eşdeğer ölçüde olduğu görülmektedir.

Antioksidan aktivitelerini incelediğimiz sekiz ilaç arasında 4 ile numaralandırmış olduğumuz ve etken madde olarak parasetamol içerdiği bilinen ilacın etken maddesini hesaba katarak değerlendirmiş olduğumuz antioksidan aktivite değerleri önemli ölçüdedir. Bu ilacın DPPH serbest radikalini süpürme aktivitesinin göstergesi olarak hesaplanan SC<sub>50</sub> değeri 0.046 mg/mL'dir. Aynı ilacın 1 gramına denk gelen FRAP değeri 1677  $\mu$ mol troloksa eşdeğer olarak hesaplanırken ABTS radikalini süpürme aktivitesi de yine aynı şekilde 1 gram etken madde için 9330  $\mu$ mol troloks olarak hesaplanmıştır ve belirtilen bu rakam diğer ilaçlar için hesaplanan değerler arasında en yüksektir.

Ayrıca mevcut çalışmada Diklofenak sodyum içeren 2 numaralı ilacın insan bronşiyal epitel hücreleri (BEAS-2B) üzerindeki sitotoksik etkilerinin diğer ilaçlar arasında en etkin olduğu ve aynı etken maddeyi içeren 3 numaralı ilacında hemen hemen aynı ölçüde yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Bulgular ve tartışma kısmında ayrıntılı şekilde ortaya konulan literatürle uyumlu olabilecek şekilde çalışmamızın diğer kısmında da metamizol ihtiva ettiği bilinen 1 numaralı ilacın antimikrobiyal etkinliği de test edilen birçok mikroorganizmaya karşı diğer ilaçlara nazaran hayli yüksek bulunmuştur. Ayrıca, bazı çalışmalar bazı pirazolon türevlerinin güçlü antioksidanlar olduğunu göstermiştir (Gaffer ve ark., 2017).

Farklı zaman noktalarında sitotoksitenin belirlenmesi için uygulanan MTT testinde hücre canlılığında konsantrasyona bağlı bir azalma gözlenmiştir. Çalışılan ağrı kesicilerin insan akciğer hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin ise konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmüştür. Bununla birlikte, Novalgin ile tedavi edilen akciğer hücrelerine MTT çözeltisini ekledikten sonra mor renk oluşmuş ve absorbans değerleri sağlıklı bir şekilde okunamadığı için sonuçlar dikkate alınmamıştır. Son olarak, Madol, Volteren, Melox, Metadem, Dikloron, Arveles ve Partemol' ün belirlenen IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 27 mM, 0,3 mM, 3 mM, 7 mM, 0,5 mM, 13 mM ve 8 mM olarak belirlenmiştir.

## 6. KAYNAKLAR

- Abbas, SS., Schaalan, MF., Bahgat, AK. & El-Denshary, ES. (2014). Possible potentiation by certain antioxidants of the anti-Inflammatory effects of diclofenac in rats. *Hindawi Publishing Corporation The Scientific World Journal*, Article ID 731462, 9 pages.
- Abdel-Aziz, M., Abuo-Rahma, Gel-D. & Hassan, AA. (2009). Synthesis of novel pyrazole derivatives and evaluation of their antidepressant and anticonvulsant activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44, 3480–3487.
- Abiola, TS., Adebayo, OC. & Babalola, OO. (2019). Diclofenac-Induced kidney damage in wistar rats: Involvement of Antioxidant Mechanism. *Journal of Biosciences and Medicines*, 7, 44-57.
- Abou El Fatoh, MF., Farag, M., Sayed, AE., Kamel, MA., Abdel-Hamid, N., Hussein, M. & Salem, GA. (2014). Some biochemical, neurochemical, pharmacotoxicological and histopathological alterations induced by long-term administration of tramadol in male rats. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*, 4, 565–571.
- Adenkola, AY. & Ayo, JO. (2010). Physiological and behavioural responses of livestock to road transportation stress. *African Journal of Biotechnology*, 9(31), 4845-4856.
- Ahmed, MA. & Kurkar, A. (2014). Effects of opioid (tramadol) treatment on testicular functions in adult male rats: the role of nitric oxide and oxidative stress. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 41, 317–323.
- Ahsan, MJ., Khalilullah, H., Stables, JP. & Govindasamy, J. (2013). Synthesis and anticonvulsant activity of 3a,4-dihydro-3H-indeno[1,2-c]pyrazole-2-carboxamide/carbothioamide analogues. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 28, 644–650.
- Alegao, SG., Alagawadi, KR., Garg, MK., Dushyant, K. & Vinod, D. (2014). 1,3,4-Trisubstituted pyrazole analogues as promising anti-inflammatory agents. *Bioorganik Chemistry*, 54, 51–59.
- Ali, AHS. & Janabi, AL. (2009). Comparison of the disc diffusion assay with spectrophotometer technique for antibacterial activity of diclofenac sodium, indomethacin and mefenamic acid. *Asian Journal of Pharmaceutics* - April-June.
- Ali, AR., El-Bendary, ER., Ghaly, MA. & Shehata, IA. (2014). Synthesis, in vitro anticancer evaluation and in silico studies of novel imidazo[2,1-b]thiazole derivatives bearing pyrazole moieties. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 75, 492–500.
- Andrade, S., Bartels, DB., Lange, R., Sandford, L., & Gurwitz, J. (2016). Safety of metamizole: a systematic review of the literature. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 41, 459–477.

- Anonim, (2013). 1 3- Leitlinie zum exokrinen Pankreas karzinom. AWMF Register nummer:032/010OL.<https://www.onkopedia.com/de/wissensdatenbank/wissensdatenbank/pankreaskarzinom/AWMFS3Leitlinie203.pdf>- (Erişim Tarihi: 03.08.2020).
- Anonim, (2018a). <https://www.ilacabak.com/pdf/07c42d1ab3cd158.pdf>.(Erişim Tarihi: 03.06.2018)
- Anonim, (2018b). <https://www.ilacweb.com/melox-15-mg-ampul/>;<https://www.ilacrehberi.com/v/melox-15-mg15-ml-ampul-a2a8/kt/nedir-ve-ne-icin-kullanilir/>.(Erişim Tarihi: 03.06.2018).
- Ariano, N., Miura, J., Oda, Y. & Nishioka, H. (1996). Japanese *Kokai*, 217, 777.CA 125, 300995.
- Aydin, İ. & Narin, İ. (2017). Simultaneous analysis of dexketoprofen trometamol and diclofenac sodium in Pharmaceutical Samples using Hplc Method with Diode-Array Detector. *Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Dergisi. Journal of Health Sciences*, 26, 47-51.
- Aydin, ON., Eyiger, M. & Aydin, N. (2001). Antibacterial activity of ropivacaine and other local anaesthetics. *European Journal of Anaesthesiol*, 18, 687–94.
- Bao, F., Lu, X., Kang, B. & Wu, Q. (2006). Vinyl polymerization of norbornene catalyzed by a series of bis(b-ketoiminato) nickel(II) complex esinthe presence of methylaluminoxane. *European Polymer Journal*, 42, 928–934.
- Barton, RJ., Johnson, KE., Robertson, BE., Yerhoff, FW. & Hu, S. (1987). Structures of the pyrazolones formed by oxidative coupling of phenols with 4-aminoantipyrine. *Canadian Journal of Chemistry*, 65, 2082–2088.
- Basaif, SA., Hassan, MA. & Gobouri, AA. (2007). AlCl<sub>3</sub>-Catalyzed diazocoupling of 1-(aryl/hetaryl)-3-phenyl-1H-pyrazol-2-in-5ones in aqueous medium. Synthesis of hetaryl-azopyrazolones and their application as disperse dyes, *Dyes and Pigment*, 72, 387–391.
- Basbaum, AI. & Fields, HL. (1984). Endogenous pain control systems: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. *Annual Review of Neuroscience*, 7, 309-338.
- Besson, JM. & Chaouch, A. (1987). Peripheral and spinal mechanism of nociception. *Physiological Reviews*, 67, 67-186.
- Bessone, F. (2010). Non-steroidal anti-inflammatory drugs: What is the actual risk of liver damage?. *World Journal of Gastroenterology*, 16, 5651–5661.
- Beveridge, T. (1997). Juice extraction from apples and other fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37, 449-469.
- Bilir, A., Erkasap, N. & Koken, T. (2007). Effects of tramadol on myocardial ischemia-reperfusion injur. *Scandinavian Cardiovascular Journal*, 41, 242–247.
- Bjelakovic, G., Nikolova, D., Simonetti, RG. & Gluud, C. (2004). Antioxidant supplements for prevention of gastrointestinal cancers: a systematic review and metaanalysis. *The Lancet*, 364, 1219–28.

- Blanca-Lopez, N., Perez-Sanchez, N., Agundez, JA., Garcia-Martin, E., Torres, MJ. & Cornejo-Garcia, JA. (2016). Allergic reactions to metamizole: immediate and delayed responses. *International Archives of Allergy and Immunology*, 169, 223–230, doi: 10.1159/000444798.
- Blaser, LS., Tramonti, A., Egger, P., Haschke, M., Krahenbuhl, S. & Ratz Bravo, AE. (2015). Hematological safety of metamizole: retrospective analysis of WHO and Swiss spontaneous safety reports. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 71, 209–217, doi: 10.1007/s00228-014-1781-z.
- Boelsterli, UA. (2003). Diclofenac-induced liver injury: a paradigm of idiosyncratic drug toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 192(3), 307–322.
- Bondock, S., Fadaly, W. & Metwally, MA. (2010). Synthesis and antimicrobial activity of some new thiazole, thiophene and pyrazole derivatives containing benzothiazole moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 3692–3701.
- Booker, S., D'Angelo, N., Germain, J., Harmange, JC., Kim, TS. & Potashman, M. (2008). PCT. *International Journal of Applied Exercise Physiology*, WO, 86014.
- Borges, RS., Barros, TG., Pereira, GAN., Batista, J., Beleza Filho, RFGP., Veiga, AAS., Hamoy, M., Mello, VJ., Silva, ABF. & Barros, CAL. (2014). A Structure and Antioxidant Activity Study of Paracetamol and Salicylic Acid. *Pharmacology & Pharmacy*, 5, 1185–1191.
- Brown, EG. (1998). *The Biochemistry of N-Heterocycles*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Brune, K. (1997). The early history of non-opioid analgesics. *Acute Pain*, 1, 33–40.
- Burli, RW., Xu, H., Zou, X., Muller, K., Golden, J., Frohn, M., Adlam, M., Plant, MH., Wong, M., McElvain, M., Regal, K., Viswanadhan, VN., Tagaria, P. & Hungate, R. (2006). Potent hFPRL1 (ALXR) agonists as potential anti-inflammatory agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 16, 3713–3718.
- Byers, M. & Bonica, JJ. (2001). Peripheral pain mechanisms and nociceptor plasticity. In: Loeser JD, Butler SH, Chapman CR, et al, eds. *Bonica's Management of Pain*. 3rd ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins: 26–72.
- Carr, DB. & Goudas, LC. (1999). Acute pain. *Lancet*, 2051–2058.
- Casas, JS., Garcia-Tasende, MS., Sanchez, A., Sordo, J. & Touceda, A. (2007). Coordination modes of 5-pyrazolones: a solid-state overview. *Coordination Chemistry Review*, 251, 1561–1589.
- Castagnolo, D., Manetti, F., Radi, M., Bechi, B., Pagano, M., Logu, AD., Meleddu, M. & Saggi, M. (2009). Synthesis, biological evaluation, and SAR study of novel pyrazole analogues as inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis*: Part 2. Synthesis of rigid pyrazolones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17, 5716–5721.

- Chapman CR. (2001). The psychophysiology of pain. In: Loeser JD, Butler SH, Chapman CR, Turk DC, eds. *Bonica's Management of Pain*. 3rd ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins; 461-477.
- Chapman, CR. & Nakamura, YA. (1999). Passion of the Soul: an introduction to pain for consciousness researchers, *Consciousness and Cognition*, 8, 391-422.
- Chapman, CR. & Stillman, M. (1996). Pathological pain. In: Kruger L, ed. *Pain and Touch*. 2nd ed. New York: Academic Press; 315-342.
- Chen, Y., Xiao, H., Zheng, J. & Liang, G. (2015). Structurethermodynamics-antioxidant activity relationships of selected natural phenolic acids and derivatives: an experimental and theoretical evaluation. *PLoS One*, 10, e0121276.
- Coda, BA. & Bonica, JJ. (2001). General considerations of acute pain. In: Loeser, JD., Butler, SH., Chapman, CR. *Bonica's Management of Pain*. 3rd ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins; 222-240.
- Cole, BE. (2002). Pain management: Classifying, understanding and treating pain. *Hospital Physician*, 38(6), 23–30.
- Costa, D., Moutinho, L., Lima, JL. & Fernandes, E. (2006). Antioxidant activity and inhibition of human neutrophil oxidative burst mediated by arylpropionic acid non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(8), 1659–1670.
- Costigan, M. & Woolf, CJ. (2000). Pain: molecular mechanisms. *Journal of Pain*, 1(3 suppl 1), 35 44.
- Courade, JP., Caussade, F., Martin, K., Besse, D., Delchambre, C., Hanoun, N., Hamon, M., Eschalier, A. & Cloarec, A. (2001). Effects of Acetaminophen on Monoaminergic Systems in the Rat Central Nervous System. *Naunyn-Schmiede-berg's Archives of Pharmacology*, 364, 534-537.
- Covington, EC. (2000). The biological basis of pain. *International Review of Psychiatry*, 12, 128-147.
- Cowan, MM. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 564-582.
- Craig, AD. (1991). Supraspinal pathways and mechanisms relevant to central pain. In: Case KL, ed. *Pain and Central Nervous System Disease: The Central Pain Syndromes*. New York: 157-170.
- Daya, S. & Anoopkumar-Dukie, S. (2000). Acetaminophen inhibits liver tryptophan 2,3-dioxygenase activity with a concomitant rise in brain serotonin levels and a reduction in urinary 5-hydroxyindole acetic acid. *Life Sciences*, 67, 235-240.
- Deaton, CM., Marlin, DJ. & Roberts, CA. (2002). Antioxidant supplementation and pulmonary function at rest and exercise. *Equine Veterinary Journal Supplements*, 34, 58-65.
- Del Tacca, M., Colucci, R. & Fornai, M. (2002). Efficacy and tolerability of meloxicam, a COX-2 preferential nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Clinical Drug Investigation*, 22, 799-818.

- Dennis, EA. (1997). The growing phospholipase A2 superfamily of signal transduction enzymes. *Trends in Biochemical Sciences*, 22, 1-2.
- Dhanvijay, P., Arup Misra, K. & Sushil, VK. (2013). Diclofenac Induced Acute Renal Failure in Adecompensated Elderly Patient. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 4, 155-157.
- Diken Allahverdi, T., Allahverdi, E., Yayla, S., Deprem, T., Merhan, O. & Vural, S. (2014). The Comparison of the effects of ellagic acid and diclofenac sodium on intra-abdominal adhesion: An In Vivo Study in the Rat Model. *International Surgery Journal*, 99, 543–550.
- Doyle, A. & Griffiths, JB. (1998). Cell quantification. *Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures in Biotechnology*, 76-81.
- Driessen, B., Reimann, W. & Giertz, H. (1993). Effects of the central analgesic tramadol on the uptake and release of noradrenaline and dopamine in vitro. *British Journal of Pharmacology*, 108, 806–811.
- Duggan, AW. & North, RA. (1983). Electrophysiology of opioids. *Pharmacological Reviews*, 35, 219-281.
- Dutta, NK., Dastidar, SG., Kumar, A., Mazumdar, K., Ray, R. & Chakrabarty, AN. (2004). Antimycobacterial activity of the anti-inflammatory agent diclofenac sodium, and its synergism with streptomycin. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35:316-323.
- Dutta, NK., Mazumdar, K., Baek, MW. & Kim, DJ. (1999). *in vitro* efficacy of diclofenac against *Listeria monocytogenes*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 27:315-9.
- El-Hadary, AE. & Ramadan, MF. (2019). Antioxidant traits and protective impact of Moringa oleifera leaf extract against diclofenac sodium-induced liver toxicity in rats, *Journal of Food Biochemistry*, Feb;43(2), e12704.
- Emanuel, LL. & Librach, SL. (2011). Palliative Care: Core Skills and Clinical Competencies. Publisher; Philadelphia: Saunder, 2end Ed.
- Eren, E. (2011). Bazı soğans bitkilerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Sakarya.
- Erkmen, T. (2017). Diklofenak sodyum kaynaklı oksidatif stresin neden olduğu hepatotoksisite üzerine alfa lipoik asidin koruyucu etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Ertürk, Ö. (2006). “Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants”. *Biologia-Bratislava*, 61(3): 275-278.
- Fields, HL. (1987). Pain. New York, McGraw Hill, 364.
- Gaffer, HE., Abdel-Fattah, S., Etman, HA. & Abdel-Latif, E. (2017). Synthesis and antioxidant activity of some new thiazolylpyrazolone derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 54, 331– 340.
- Gangadharan, V. & Kuner, R. (2013). Pain hypersensitivity mechanisms at a glance. *Disease Models and Mechanisms*, 6: 889-895.

- Gonzales, VA., Martelli, MF. & Baker, JM. (2000). Psychological assessment of persons with chronic pain. *NeuroRehabilitation* 14: 69-83.
- Guilbaud, G., Bernard, JF. & Besson, JM. (1994). Brain areas involved in nociception and pain. In: Wall, PD., Melzack, R., eds. *Textbook of Pain*. 3rd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Habib, M., Ibrahim, HW., Schneider-Stock, R. & Hassan, MH. (2013). Camel milk lactoferrin reduces the proliferation of colorectal cancer cells and exerts antioxidant and DNA damage inhibitory activities. *Food Chemistry*, 141, 148–152.
- Hammond, DL. (1986). Control systems for nociceptive afferent processing: the descending inhibitory pathways. In: Yasksh TL, ed. *Spinal Afferent Processing*. New York: Plenum Press; 363-390.
- Harris, RE., Beebe-Donk, J., Doss, H. & Burr Doss, D. (2005). Aspirin, ibuprofen, and other non-steroidal anti-inflammatory drugs in cancer prevention: a critical review of non-selective COX-2 blockade (review). *Oncology Reports*, 13, 559–83.
- Hasdemir, U. (2007). çoklu ilaç direncinde bakteri hücre duvarı organizasyonu ve aktif pompa sistemlerinin rolü. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 41:309-327.
- He, BS., Wang, J. & Liu, J. (2017). Eco-pharmacovigilance of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: necessity and opportunities. *Chemosphere*, 181, 178–189.
- Heise, H. & Hintzmann, M. (2000). Pyrazolone derivatives, in: Ullmann's Encycl. Ind. Chem., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, pp. 547–556.
- Herdeg, C., Hilt, F., Buchtemann, A., Bianchi, L., & Klein, R. (2002). Allergic cholestatic hepatitis and exanthema induced by metamizole: verification by lymphocyte transformation test. *Liver*. 22, 507–513.
- Hori, Y., Endo, K. & Takahashi, T. (1992). Presynaptic inhibitory action of enkephalin on excitatory transmission in superficial dorsal horn of the rat spinal cord. *Journal of Physiology (London)*, 450, 673-685.
- Hussein, SA., Abdel Aal, SA. & Ismail, HK. (2017). Effect of tramadol drug on some biochemical and immunological parameters in albino male rats; evaluation of possible reversal following its withdrawal. *Benha Veterinary Medical Journal*, 33(2), 418-429.
- Hwang, D., Scollard, D. & Byrne, J. (1998). Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 90, 455-460.
- Iglesias, M., Segura, MF., Comella, JX. & Olmos, G. (2003). Mu-opioid receptor activation prevents apoptosis following serum withdrawal in differentiated SH-SY5Y cells and cortical neurons via phosphatidylinositol 3-kinase. *Neuropharmacology*, 44, 482–492.
- Jacobs, EJ., Connell, CJ., Rodriguez, C., Patel, AV., Calle, EE. & Thun, MJ. (2004). Aspirin use and pancreatic cancer mortality in a large United States cohort. *Journal of the National Cancer Institute*, 96, 524–8.

- Jacobsen, L. & Mariano, A. (2001). General considerations of chronic pain. In: Loeser JD, Butler SH, Chapman CR, et al, eds. *Bonica's Management of Pain*. 3rd ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins: 241- 254.
- Jacox, AK., Carr, DB. & Chapman, CR. (1992). *Acute Pain Management: Operative or Medical Procedures and Trauma Clinical Practice Guideline No. 1*. Rockville, MD: US Department of Health and Human Services, Agency for Health Care Policy and Research. *AHCPR publication*, 92-0032.
- Jasiecka, A., Maślanka, T. & Jaroszewski, JJ. (2014). Pharmacological characteristics of metamizole. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 17, 207–214.
- Jeftiniya, S. (1988). Enkephalins modulate excitatory synaptic transmission in the superficial dorsal horn by acting at mu-opioid receptors sites. *Brain Research*, 460(2), 260-268.
- Kang, YJ., Mbonye, UR., DeLong, CJ., Wada, M. & Smith, WL. (2007). Regulation of intracellular cyclooxygenase levels by gene transcription and protein degradation. *Progress in Lipid Research*, 46, 108–25.
- Karou, D., Savadogo, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simporé, J., Colizzi, V. & Traore, AS. (2006). Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*, 5: 195-200.
- Kazuo, Y., Akira, M., Norihiko, M., Toshiro, M., Kazutaka, A. & Shigera, I. (1999). Synthesis and insecticidal activity of novel 1,3,4-oxadiazolin-5-one and pyrazolin-5-one derivatives. *Journal of Pesticide Science*, 55, 161–165.
- Khalilullah, H., Khan, S., Jawed, M. & Ahsan-Ahmed, B. (2011). Synthesis and antihepatotoxic activity of 5-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxane-6-yl)-3-substituted-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21, 7251–7254.
- Kılıç, N. & Kozacı, LD. (2016). Effects of Flunixin Meglumine, Diclofenac Sodium, Metamizol Sodium and Carprofen on Oxidative Stress in Rats Subjected to Laparotomy. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 30(2), 75-78.
- Knorr, L. (1883). Einwirkung von Acetessigester auf Phenylhydrazin, *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 16, 2597–2599.
- Kötter, T., Costa, BR., Fässler, M., Blozik, E., Linde, K., Jüni, P., Reichenbach, S. & Scherer, M. (2015). Metamizole-associated adverse events: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 10, e0122918.
- Kowalski, ML., Woszczek, G., Bienkiewicz, B. & Mis, M. (1998). Association of pyrazolone drug hypersensitivity with HLA-DQ and DR antigens. *Clinical and Experimental Allergy*, 28, 1153–1158.
- Krisai, P., Rudin, D., Grünig, D., Scherer, K., Pichler, W., Terracciano, L. & Krähenbühl, S. (2019). Acute liver failure in a patient treated with metamizole. *Frontiers in Pharmacology*, Volume 10, Article 996.
- Kruszewska, H., Zareba, T. & Tyski, S. (2006). Estimation of antimicrobial activity of selected non-antibiotic products. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 63:457-60.

- Kumbasar, S., Salman, S. & Al, RA. (2016). The effect of metamizole on ischemia/reperfusion injury in the rat ovary: An analysis of biochemistry, molecular gene expression, and histopathology. *Indian Journal of Pharmacology*, 48(1), 32-36.
- Kuper, H., Adami, HO. & Trichopoulos, D. (2000). Infections as a major preventable cause of human cancer. *Journal of Internal Medicine*, 248, 171-183.
- Kuru, B. & Karabağ Çoban, F. (2019). Effect of boron on trace element level and oxidative stress in paracetamol induced hepatotoxicity model. *Journal of Boron*, 4(2), 92 - 99.
- Lampl, C. & Likar, R. (2014). Metamizole (dipyrone): mode of action, drug-drug interactions, and risk of agranulocytosis. *Schmerz Journal*, 28, 584–90.
- Lazdunski, C., Baty, D. & Pages, JM. (1979). Procaine, a local anesthetic interacting with the cell membrane, inhibits the processing of precursor forms of periplasmic proteins in *Escherichia coli*. *European Journal of Biochemistry*, 96:49–57.
- Lidbeck, J., Hautkamp, GIM., Ceder, RA. & Naslund, ULO. (1998). Classification of chronic pain at a multidisciplinary pain rehabilitation clinic. *Pain Research and Management*, 3, 13-22.
- Ma, C. & Zhang, J. (2011). Animal Models of Pain. *Springer Science-Business Media*, ISBN: 978-1-60761-879-9.
- Mahapatra, BB., Panda, D., Das, DK., Patel, BK. & Chaudhury, SC. (1988). *Journal of the Indian Chemical Society*, 65, 661.
- Mc Kellar, QA., May, SA. & Lees, P. (1991). Pharmacology and therapeutics of nonsteroidal antiinflammatory drugs in dog and cat: Individual agent. *Journal of Small Animal Practice*, 32, 225-235.
- McCarberg, B., & Billington, R. (2006). “Consequences of neuropathic pain: quality-of-life issues and associated costs,” *American Journal of Managed Care*, 12, 9, S263 S268.
- McKellar, QA., Lees, P. & Gettinby, G. (1994). Pharmacodynamics of tolfenamic acid in dogs: Evaluation of dose response relationship. *European Journal of Pharmacology*, 253, 191– 200.
- Melzack, R. & Katz, J. (2013). Pain. Wiley Interdisciplinary Reviews, *Cognitive Science*, 4, 1–15.
- Melzack, R. & Wall, PD. (1965). Pain mechanisms: a new theory. *Science*, 150, 971-979.
- Merskey, H. & Bugduk, N. (1994). Classification of chronic pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. 2nd ed. Seattle, WA: IASP Press.
- Merskey, H. & Bugduk, N. (1994). Classification of Chronic Pain. Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definitions of Pain Terms. 2nd ed. Seattle, WA: IASP Press.

- Merskey, H. (1994). Classification of chronic pain. Bogduk (eds): 2nd ed. IASP Task Force on Taxonomy IASP Press, Seattle.
- Meyer, RA., Campbell, JN. & Raja, SN. (1994). Peripheral neural mechanisms of nociception. In: Wall, PD., Melzack, R., eds. Textbook of Pain. 3rd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Mihara, M. & Uchiyama, M. (1983). Effects of antioxidants on the TBA reaction of various rat liver homogenates. *Biochemia Medica*, 30, 131-134.
- Mohamed, HM. & Mahmoud, AM. (2019). Chronic exposure to the opioid tramadol induces oxidative damage, inflammation and apoptosis, and alters cerebral monoamine neurotransmitters in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 110, 239–247.
- Moore, RA., Wiffen, PJ. & Derry, S. (2015). Non-prescription (OTC) oral analgesics for acute pain—an overview of Cochrane reviews. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4, CD010794.
- Mouithys-Mickalad, AML., Zheng, ZX., Deby-Dupont, GP., Deby CMD., Lamy MM., Jean-Yves Y., & Reginster-Yves, EH. (2000). In vitro study of the antioxidant properties of non steroidal anti-inflammatory drugs by chemiluminescence and electron spin resonance (ESR). *Free Radical Research*, 33:5, 607-621.
- Nada, SA., Eldenshary, ES., Abdel Salam, OME., Azmy, SM., Mahdy, T., Galal, AF. & Omara, EA. (2014). Grape Seed Extract Attenuate Tramadol-Alcohol Hepatotoxicity and Increased Antioxidant Status in Sprague Dawley Rats. *Current Science International*, 3(3), 260-270.
- Nagakannan, P., Shivasharan, BD., Thippeswamy, BS. & Veerapur, VP. (2012). Effect of tramadol on behavioral alterations And lipid peroxidation after transient forebrain ischemia in rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 22, 674–678.
- Naim, MJ., Alam, O., Nawaz, F., Alam, MJ. & Alam, P. (2016). Current status of pyrazole and its biological activities. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 8, 2–17.
- Nakanishi, M. & Rosenberg, DW. (2013). Multifaceted roles of PGE2 in inflammation and cancer, *Seminars in Immunopathology*, 35, 123-137.
- Navarre, WW. & Schneewind, O. (1999). Surface Proteins of Gram-Positive Bacteria and Mechanisms of Their Targeting to the Cell Wall Envelope. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63(1):174.
- Naylan, SS., Singh, CP. (1999). Synthesis and antifungal activity of N 1nicotinoyl-3-methyl-4-(substitutedazo)-1,2-pyrazoline-5-one. *Asian Journal of Chemistry*, 11, 207–212.
- Nishi, H., Watanabe, T., Sakurai, H., Yuk., S. & Ishibashi, A. (1989). Effect of MCI-186 on brain edema in rats. *Stroke*, 20, 1236-1240.
- Nuttall, SL., Khan, JN., Thorpe, GH., Langford, N. & Kendall, MJ. (2003). The impact of therapeutic doses of paracetamol on serum total antioxidant capacity. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 28, 289–294.

- O'Banion, MK. (1999). Cyclooxygenase-2: molecular biology, pharmacology, and neurobiology. *Critical Reviews™ in Neurobiology*, 13, 45-82.
- Ohshima, H. & Bartsch, H. (1994). Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutation Research*, 305, 253-264.
- Ohsuka, S., Ohta, M., Masuda, K., Arakawa, Y., Kaneda, T. & Kato, N. (1994). Lidocaine hydrochloride and acetylsalicylate kill bacteria by disrupting the bacterial membrane potential in different ways. *Microbiol Immunol* 38:429 – 34.
- Olanow, CW. (1993). A radical hypothesis for neurodegeneration, *Trends in Neurosciences*, 16, 439–444.
- Otomo, E. (2003). Acute Infarction Study Group. Effect of a novel freeradical scavenger, edaravone (MCI-186), an acute brain infarction. Randomized, placebocontrolled, double blind study at multicenter. *Cerebrovascular Diseases*, 15, 222-229.
- Owumi, SE. & Dim, UJ. (2019). Biochemical alterations in diclofenac-treated rats: Effect of selenium on oxidative stress, inflammation, and hematological changes. *Toxicology Research and Application*, 3, 1–10.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Özkan, E. & Karabağ Çoban, F. (2020). Investigation of boron effect on trace elements and antioxidant capacity in paracetamol-induced nephrotoxicity model. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 91(1), 25-35.
- Özşentürklü, E. (2015). Besi sığırlarında taşıma sonrası oluşan oksidatif stres üzerine ketoprofen ve meloksikam'ın etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Paje, ML., Kuhlicke, U., Winkler, M. & Neu, TR. (2002). Inhibition of lotic biofilms by diclofenac. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59:488-92.
- Parmee, ER., Xiong, Y., Guo, J., Liang, R. & Brockunier, L. (2005). United States Patent. 272794.
- Pasero, C., Paice, JA. & McCaffery, M. (1999). Basic mechanisms underlying the causes and effects of pain. In: McCaffery M, Pasero C, eds. *Pain Clinical Manual*. 2nd ed. St. Louis, MO: Mosby Inc; 15-34.
- Pathak, V., Maurya, HK., Sharma, S., Srivastava, KK. & Gupta, A. (2014). Synthesis and biological evaluation of substituted 4,6-diarylpyrimidines and 3,5-diphenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles as anti-tubercular agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24, 2892–2896.
- Portenoy, RK. (1996). Basic mechanisms. In Portenoy RK, Kanner RM, eds. *Pain Management: Theory and Practice*. Philadelphia: FD Davis; 19-39.
- Puttaswamy, N., Rekha, ND., Lakshmi Ranganatha, V., Prashanth, T. & Khanum, SA. (2018). Anti-inflammatory and antioxidant activity of salicylic acid conjugated

- dihydropyrazoline analogues. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences*, 8(02), 060-064.
- Qureshi, AM. & Patel, AN. (1978). The nature of zolon red, *Zeitschrift für Naturforschung*, 33, 450–453.
- Rafati, A., Yasini, SM., DashtiRahmatabadi, MH., Pakdel, S. & Norani, F. (2006). Tramadol Dependence Rate as Compared with Morphine in Rats. *World Journal of Medical Sciences*, 1(1), 40-43.
- Rashad, AE., Hegab, MI., Abdel-Megeid, RE., Micky, JA. & Abdel-Megeid, FM. (2008). Synthesis and antiviral evaluation of some new pyrazole and fused pyrazolopyrimidine derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, 7102–7106.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology in Medicine*, 26, 1231–1237.
- Reuter, S., Gupta, SC. & Chaturvedi, MM. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. *Free Radical Biology in Medicine*, 49, 1603-1616.
- Sakuragi, T., Ishino, H. & Dan, K. (1998). Bactericidal activity of preservative-free bupivacaine on microorganisms in the human skin flora. *Acta Anaesthesiol Scand*, 42, 1096 –9.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, JA. & Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 270-276.
- Schneider, SP., Eckert, WA III. & Light, AR. (1998). Opioid-activated postsynaptic inward rectifying potassium currents in whole cell recordings in substantia gelatinosa neurons. *Journal of Neurophysiology*, 80(6):2954-2962.
- Selimoğlu, F., (2013). Parasetamol İçeren Kombine Farmasötik Preparatların Uplc Yöntemi İle Kantitatif Analizi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Sheweita, SA., Almasmari, AA. & El-Banna, SG. (2018). Tramadol-induced hepato- and nephrotoxicity in rats: Role of Curcumin and Gallic acid as antioxidants. *PLoS ON*, 13(8).
- Shinji, M. (1993). Research on Antibiotic Screening in Japan Over The Last Decade: A Producing Microorganism Approach. *Actinomyces*, 7:100-106.
- Silva, MT., Sousa, JCF., Polonia, JJ. & Macedo, PM. (1979). Effects of local anesthetics on bacterial calls. *Journal of Bacteriology*, 1979, 137:461– 8.
- Silva, NCC. & Fernandes, JA. (2010). Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*. 16(3):402-413.
- Smith, JB. & Willis, AL. (1971). Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets, *Nature: New Biology*, 231, 235-237.

- Sokmen, A., Sokmen, M., Daferera, D., Polissiou, M., Candan, F., Unlu, M. & Akpulat, HA. (2004). The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteini* Afan. (Asteraceae). *Phytotherapy Researc*, 18:451–456.
- Soliman, ME., Atteya, SE., Ghobashy, HAE., Noya, DAE. & Mahmoud, RA. (2017). The effect of tramadol on seminiferous epithelium of albino rats and the protective effect of vitamin C. *Menoufia Medical Journal*, 30, 1125–1134.
- Svena, M., Johnson Barbara, E., Saint John Alan, P. & Dine. (2008). Local Anesthetics as Antimicrobial Agents: A Review. *Surgical Infections*, Vol. 9, No. 2, 21 Apr 2008.
- Tamanai-Shacoori, Z., Shacoori, V., Vo Van, JM., Robert, JC. & BonnaureMallet, M. (2004). Sufentanil modifies the antibacterial activity of bupivacaine and ropivacaine. *Canadian Journal of Anesthesia*, 51, 911–4.
- Terman, GW. & Bonica, JJ. (2001). Spinal mechanisms and their modulation. In: Loeser JD, Butler SH, Chapman CR, Turk DC, eds. *Bonica's Management of Pain*. 3rd ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, 73- 152.
- Thienhaus, O. & Cole, BE. (2002). Classification of pain. In: Weiner RS, editor. *Pain management: a practical guide for clinicians*. 6th ed. New York: CRC Press.
- Toyoda, K., Fujii, K. & Kamouchi, M. (2004). Free radical scavenger, edaravone, in stroke with internal carotid artery occlusion, *Journal of the Neurological Sciences*, 221, 11-17.
- Trofimov, NV., Nekhaer, NN., Kanaev, NA., & Busev, AI. (1982). Zhur. Analit. Khim. 37, 1445.
- Tsai, YC., Chang, PJ. & Jou, IM. (2001). Direct tramadol application on sciatic nerve inhibits spinal somatosensory evoked potentials in rats. *Anesthesia and Analgesia*, 92:1547–51
- Tsujita, K., Shimomura, H. & Kawano, H. (2004). Effects of edaravone on reperfusion injury in patients with myocardial infarction. *American Journal of Cardiology*, 94, 481-484.
- Turk, DC. & Okifuji, A. (2001). Pain Terms and taxonomies of pain. In: Loeser JD, Butler SH, Chapman CR, et al, eds. *Bonica's Management of Pain*. 3rd ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins; 17-25.
- Ulrich, CM, Bigler, J. & Potter, JD. (2006). Non-steroidal anti-inflammatory drugs for cancer prevention: promise, perils and pharmacogenetics. *Nature Reviews Cancer*, 6, 130–40.
- Ustun, YB., Koksall, E., Kaya, C., Sener, EB., Aksoy, A., Yarim, G., Kabak, Y. & Gulbahar, Y. (2014). The Effects of Dexketoprofen on Endogenous Leptin and Lipid Peroxidation During Liver Ischemia Reperfusion Injury. *International Surgery*, 99, 757–763.
- Vane, JR. (1971). Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drug. *Nature*, 234, 231-238.

- Vlahov, V., Bacracheva, N., Tontcheva, D., Naumova, E., Mavrudieva, M. & Ilieva, P. (1996). Genetic factors and risk of agranulocytosis from metamizole. *Pharmacogenetics*, 6, 67–72.
- Vo Van, JM., Tamanai-Shacoori, Z., Shacoori, V., Leroy, M. & Bonnaure-Mallet, M. (2006). Antibacterial activity of tramadol: preliminary study. *European Journal of Anaesthesiology*, 23:148.
- Wade J., Belyaeva T., Hyde E. & Busby S. (2001). A simple mechanism for co-dependence on two activators at an Escherichia coli promoter: the role of MelR and the cyclic AMP receptor protein. *EMBO Journal*, 20: 7160–7167.
- Wallace, K. (1992). The pathophysiology of pain. *Critical Care Nursing Quarterly*, 15(2), 1- 13.
- Walsh, TD. (1983). Antidepressants in chronic pain. *Clinical Neuropharmacology*, 6(4), 271-295.
- Wang, D. & Dubois, RN. (2006). Prostaglandins and cancer. *Gut Journal*, 55, 115-122.
- Watkins, DN., Lenzo, JC. & Segal, A. (1999). Expression and localization of cyclooxygenase isoforms in non-small cell lung cancer. *European Respiratory Journal*, 14, 412-418.
- Wiley, RH. & Wiley, P. (1964). The Chemistry of Heterocyclic Compounds; Pyrazolones, Pyrazolidones, and Derivatives, *John Wiley and Sons*, New York.
- Willis, WD. & Westlund, KN. (1997). Neuroanatomy of the pain system and of the pathways that modulate pain. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 14, 2-31.
- Woolf, CJ. (1993). The pathophysiology of peripheral neuropathic pain—abnormal peripheral input and abnormal central processing. *Acta neurochirurgica Supplement*, 58, 125-130.
- Woolf, CJ. (1989). Recent advances in the pathophysiology of acute pain. *British Journal of Anaesthesia*, 63, 139-146.
- Yaksh, TL. (1979). Direct evidence that spinal serotonin and noradrenaline terminals mediate the spinal antinociceptive effects of morphine in the periaqueductal gray. *Brain Research*, 160, 180-185.
- Yaman, S., Avnioğlu, S., Küçük, K., Alakuş, D., Demirci, BN., Muslu, H., Gölcü, A. & Mert, T. (2017). Anti-Hypernociceptive Effects of Platinum-Meloxicam Metal Complex in Inflammatory Pain Models, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Medical Journal*, 12(3), 31-35.
- Yanagisawa, A., Miyagawa, M., Ishikawa, K. & Murota, S. (1994). Cardio protective effect of MCI-186 (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one) during acute ischemia-reperfusion injury in rats. *International Journal of Angiology*, 3, 12-15.
- Youssef, HS. & Zidan, AHM. (2016). Histopathological and biochemical effects of acute and chronic tramadol drug toxicity on liver, kidney and testicular function in adult male albino rats. *Journal of Medical Toxicology and Clinical Forensic Medicine*, 1:2.

Zimmermann, M. (2001). Pathobiology of neuropathic pain. *European Journal of Pharmacology*, 429: 23-37.



## ÖZGEÇMİŞ

| Kişisel Bilgiler |                                                                          |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Adı Soyadı       | Ayfer Değirmenci                                                         |
| Doğum Yeri       |                                                                          |
| Doğum Tarihi     |                                                                          |
| Uyruğu           | <input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer: |
| Telefon          |                                                                          |
| E-Posta Adresi   |                                                                          |

| Eğitim Bilgileri |                                             |
|------------------|---------------------------------------------|
| Lisans           |                                             |
| Üniversite       | Ordu Üniversitesi                           |
| Fakülte          | Fen Edebiyat Fakültesi                      |
| Bölümü           | Biyoloji                                    |
| Mezuniyet Yılı   | 06.07.2014                                  |
| Yüksek Lisans    |                                             |
| Üniversite       | Ordu Üniversitesi                           |
| Enstitü Adı      | Fen Bilimleri Enstitüsü                     |
| Anabilim Dalı    | Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı |
| Mezuniyet Tarihi | 26.04.2021                                  |
| Yayınlar         |                                             |
|                  |                                             |