

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TRANS-KARYOFİLLER VE ÖJENOL'ÜN
AKUT TOKSİSİTESİ VE HİPOGLİSEMİK ETKİNLİĞİNİN
DİYABETİK FARELER ÜZERİNDE ARAŞTIRILMASI**

Okutman Hemşire Hatice ÖNTÜRK
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANLAR

1. Yrd. Doç. Dr. Hanefi ÖZBEK
2. Prof. Dr. Hülya ÖZDEMİR

VAN – 2007

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TRANS-KARYOFİLLER VE ÖJENOL'ÜN
AKUT TOKSİSİTESİ VE HİPOGLİSEMİK ETKİNLİĞİNİN
DİYABETİK FARELER ÜZERİNDE ARAŞTIRILMASI**

Hemşire Hatice ÖNTÜRK
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Başkanı
Prof. Dr. Hülya ÖZDEMİR

Üye
Doç. Dr. İdris TÜREL

Üye
Yrd. Doç. Dr. Hanefi ÖZBEK

TEZKABUL TARİHİ

.. /.. /2007

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında bilgi ve önerileriyle yardımlarını esirgemeyen başta danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Hanefi ÖZBEK olmak üzere Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı ve ikinci danışmanım sayın Prof. Dr. Hülya ÖZDEMİR'e, ayrıca deney aşamasında mesailerini benimle paylaşan Araştırma Görevlisi sayın Ahmet Cihat ÖNER'e ve Araştırma Görevlisi sayın Ufuk MERCAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
Teşekkür.....	III
İçindekiler.....	IV
Simgeler ve Kısaltmalar.....	VI
Şekiller.....	VII
Çizelgeler.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Diyabet ve Komplikasyonları Hakkında Genel Bilgiler.....	3
2.2. Trans-karyofillen (Trans-caryophyllene, C ₁₅ H ₂₄).....	3
2.3. Öjenol (Eugenol, C ₁₀ H ₁₂ O ₂).....	4
2.4. Deney Hayvanlarında Diyabet Oluşturma Modelleri.....	5
2.4.1. Kullanılan deney hayvanları.....	6
2.4.2. Kullanılan yöntemler.....	6
2.4.3. Kimyasal ajanlarla diyabet oluşturulması.....	6
2.5. Açlık Kan Şekeri (AKŞ) Düzeyinin Ölçülmesi.....	9
2.6. Kan Şekeri Değerlerinin Standardizasyonu.....	10
2.7. Hipoglisemik Aktivitenin Bir Standartla Karşılaştırılması.....	11
2.7.1. İnsülin.....	11
2.7.2. Glibenklamid (glibenclamide).....	12
2.7.3. Glipizid (glipizide).....	12
2.7.4. Metformin.....	12
2.7.5. Fenformin (phenformin).....	12
2.7.6. Tolbutamid (tolbutamide).....	12
2.8. Diyabetle İlgili Çalışmalarda İstatistiksel Yöntemlerin Kullanılması.....	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	14
3.1. Gereç.....	14
3.1.1. Deney hayvanları.....	14
3.1.2. Deney araçları.....	14
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler.....	14

3.2. Yöntem.....	14
3.2.1. Maddelerin Hazırlanışı.....	14
3.3. Farmakolojik ve Toksikolojik Çalışmalar.....	15
3.3.1. Letal doz (LD) düzeylerinin ölçülmesi.....	15
3.3.2. Farelerde deneysel diyabet oluşturulması.....	15
3.3.3. Trans-karyofillen ve öjenol'un sağlıklı farelerde hipoglisemik etkisinin ölçülmesi.....	15
3.3.4. Trans-karyofillen ve öjenol'un diyabetli farelerde hipoglisemik etkisinin ölçülmesi.....	16
3.4. İstatistiksel Analiz.....	16
4. BULGULAR.....	17
4.1. Letal Doz Düzeylerinin Ölçülmesine Ait Bulgular.....	17
4.2. Uygulamaların Sağlıklı Farelerdeki Açlık Kan Şekeri Düzeyine Etkisi....	20
4.3. Uygulamaların Diyabetli Farelerdeki Açlık Kan Şekeri Düzeyine Etkisi...	22
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	26
ÖZET.....	31
SUMMARY.....	32
KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	41

SİMGELER VE KISALTMALAR

AKŞ	: Açlık kan şekeri
ANOVA	: Analysis of variance (varyans analizi)
DM	: Diabetes mellitus
IDDM	: İnsulin dependent diabetes mellitus
IU	: International Unit
i.p.	: intraperitoneal, periton içi
kg	: kilogram
LD	: Lethal dose (öldürücü doz)
LD ₅₀	: 100 adet deney hayvanından 50'sini öldüren doz
LSD Test	: Least significant difference test
M	: Molar
ml	: mililitre
mM	: mili molar
NIDDM	: Non-insulin dependent diabetes mellitus
pH	: power of hydrogen, bir çözeltideki hidrojen konsantrasyonunun eksi logaritması.
SF	: Serum fizyolojik (% 0.9'luk NaCl çözeltisi)
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
STZ	: Streptozosin (streptozotocin, streptozocin)
Tukey's HSD test	: Tukey's honestly significance difference test
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER

Şekil 1. Trans-karyofillen molekülünün açık formülü.....	4
Şekil 2. Öjenol molekülünün açık formülü.....	5
Şekil 3. Alloksan molekülünün açık formülü.....	7
Şekil 4. Streptozosin molekülünün açık formülü.....	9
Şekil 5. Çalışma gruplarının sağlıklı farelerdeki açlık kan şekeri düzeyleri.....	21
Şekil 6. Çalışma gruplarının diyabetli farelerdeki açlık kan şekeri düzeyleri.....	23

ÇİZELGELER

Çizelge 1. Trans-karyofillen'in letal doz düzeyleri.....	18
Çizelge 2. Öjenol'ün letal doz düzeyleri.....	19
Çizelge 3. Çalışma gruplarının sağlıklı farelerdeki açlık kan şekeri düzeyleri.....	20
Çizelge 4. Çalışma gruplarının diyabetli farelerdeki açlık kan şekeri düzeyleri.....	22

1. GİRİŞ

Diyabet, (diabetes mellitus, DM), pankreasdan insülin sekresyonunun yetersizliği (Tip I diyabet) ve/veya dokuların insüline cevabının bozulmasıyla oluşan (Tip II diyabet) protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyen metabolik bir hastalıktır.

Diyabet egzersiz, diyet ve ilaç tedavisi ile kontrol altında tutulabilmektedir. DM'nin farmakolojik yönden tedavisi günümüzde insülin ve hipoglisemik ilaçlarla yapılmaktadır (Alarcon-Aquilar ve ark., 2000; Lebovitz ve Pasmantier, 1990; Bailey, 1992). Tedavide kullanılan farmasötik müstahzarlar, hem çok pahalı hem de istenmeyen etkilere sahiptirler (Berger, 1985). Bu nedenle günümüzde yeni ve yan etkisi daha az olan antidiyabetik ilaç arayışı için bitkisel kaynaklara ve sentetik tedavi yöntemlerine büyük bir ilgi başlamıştır (Marles ve Farnsworth, 1995; Rao ve ark., 2001). Diyabet tedavisi için bulunacak her yeni ilaç; hem hastaların tedavi seçeneklerini zenginleştirecek hem de kullanılacak ilacın yan etki olasılığına karşı, başka bir seçenek sunmak suretiyle, hekimin elini güçlendirecektir.

Bitkisel ilaç araştırmalarında, halk ilaçlarından yola çıkılarak yeni ilaç bulma yaklaşımı (etnomedikal yaklaşım): pratik, maliyet-etkin ve mantıklı bir yaklaşım olarak görülmektedir. Bu yaklaşım, diyabet hastalarında kullanılacak yeni ilaçların bulunması şansını da artırmaktadır (Petlevski ve ark., 2001). Bu bağlamda Dünya Sağlık Örgütü'nün (World Health Organization, WHO) tıbbi bitki araştırmalarına titiz bir ilgi gösterdiği bilinmektedir (WHO, 1980). Türkiye'de, tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitki sayısı en az 500 civarındadır (Baytop, 1999). Bu bitkilerin bir kısmı diyabet için (kan şekeri düzeyini kontrol etmek amacıyla) kullanılmakta olup, bunların hipoglisemik aktivitesini belirlemek amacıyla çalışmalar yapılmaktadır (Akev ve ark., 1991; Kavalalı ve ark., 1998; Özbek ve ark., 2004a). Bu çalışmalarda bitkinin yaprak, çiçek, tohum gibi topraküstü kısımları veya kök gibi toprakaltı kısımlarından elde edilen ekstrakter kullanılmakta olup, etkili bulunan ekstrakterin kromatografik analizleri yapılarak içerdikleri moleküller saptanabilmektedir (Başer ve Kırimer, 1997; Ceylan ve ark., 2004). Bundan sonraki aşamada ise ilgili aktiviteden sorumlu olan molekül veya moleküller araştırılarak, etkili bulunan molekül veya moleküller, deney hayvanları

üzerinde çeşitli toksikolojik ve farmakolojik testlerden geçirilmektedir. Bu testleri başarıyla geçen ilaç adayı moleküller, insanlar üzerinde, yaklaşık 10-15 yıl süren “faz çalışmaları”na (Faz I-IV) alınmaktadır. Bu çalışmalardan da başarıyla çıkan molekül veya moleküller ilaç olarak ruhsatlandırılmaktadır (Kayaalp, 2001).

Ceylan ve ark. (2004) yaptıkları bir araştırmada karanfil (*Eugenia caryophyllata*) uçucu yağının diyabetli farelerde hipoglisemik etkinlik gösterdiğini; ayrıca karanfil uçucu yağının gaz-kromatografi analizi sonuçlarına göre: trans-caryophyllene (trans-karyofillen, % 44.7), eugenol (öjenol, % 44.2), alpha-humulen (alfa-humulen, % 3.5), eugenyl acetat (öjenil asetat, % 1.3) ve alpha-copaen (alfa-kopaen, % 1.0) gibi kimyasal bileşiklerden oluştuğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada, karanfil uçucu yağını oluşturan kimyasal bileşiklerden ikisi olan trans-karyofillen ve öjenol’ün fareler üzerindeki letal doz düzeylerinin saptanması, ayrıca bu moleküllerin karanfil uçucu yağının hipoglisemik etkinliğinden sorumlu olup olmadıklarının sağlıklı ve diyabetli fareler üzerinde araştırılması amaçlandı.

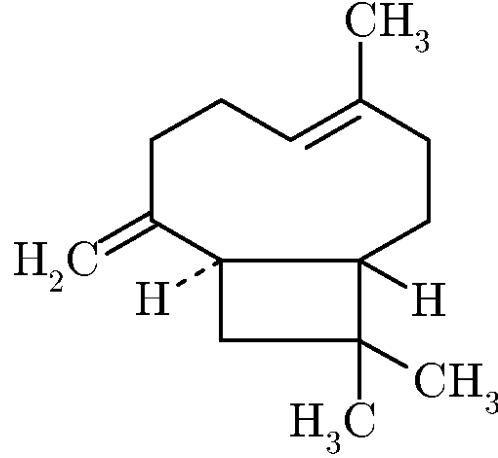
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabet ve Komplikasyonları Hakkında Genel Bilgiler

Diyabet, pankreasdan insülin sekresyonunun yetersizliği ve/veya dokuların insüline cevabının bozulmasıyla oluşan protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyen metabolik bir hastalıktır. Tip I diyabete “insulin dependent diabetes mellitus” (IDDM), Tip II diyabete ise “non-insulin dependent diabetes mellitus” (NIDDM) denilmektedir. Yüksek kan glikozu düzeylerinin ve glikolitik olayların oksidatif strese yol açtığı, bu stresin protein ve lipid yapılarının ve dolayısı ile peroksidasyon ve glikozidasyon fonksiyonlarının modifikasyonuna sebep olduğu, oksidatif stresin ise diyabetin geç ortaya çıkan komplikasyonlarına (diyabetik nefropati, diyabetik nöropati gibi) neden olduğu bildirilmiştir. Diyabetik nefropati, diyabetin ciddi bir komplikasyonu olması nedeniyle, diyabet hastalarının mortalite ve morbiditesinin majör sorumlusu olarak bilinmektedir (Farvid ve ark, 2007). Çeşitli düz kas yapılarının fonksiyonlarının bozulması DM'nin kronik komplikasyonları arasındadır. Diyabet hastaları mikro ve makro anjiyopati, ateroskleroz, konjestif kalp yetersizliği ve hipertansiyon dahil olmak üzere kardiyovasküler sistem hastalıklarına genellikle daha yatkındırlar (Öztürk ve ark., 1996; Rao ve ark., 1999). Kardiyovasküler hastalıklardan ölüm oranı diyabet hastalarında genel popülasyona göre üç kez daha yüksektir (Jarrett, 1989). Tip II diyabet prevalansı dünyada bölgeler arasında dramatik farklılıklar göstermekte ve tüm dünyada çok sayıda insanı etkilemektedir (Wild ve ark, 2004). Dünya üzerinde, 2007 yılı itibariyle, 190 milyondan fazla Tip II diyabet vakasının bulunduğu; diyabet prevalansının 2025 yılına kadar 330 milyona ulaşabileceği bildirilmektedir (WHO/Acadia, 1992; Araújo ve ark, 2007).

2.2. Trans-karyofillen (Trans-caryophyllene, C₁₅H₂₄)

Trans-karyofillen; (-)-caryophyllene, (-)-trans-caryophyllene, (-)-Beta caryophyllene, (-) E (caryophyllene) isimleri ile de anılmaktadır. Açık ismi “[1R*(1R*,4E,9S*)]-8-methylene-4,11,11-trimethylbicyclo[7.2.0]-4-undecane 4,11,11-trimethyl-8-methylene-bicyclo[7.2.0]undec-4-ene” şeklinde yazılır. Kimyaca kapalı formülü C₁₅H₂₄ şeklinde olup molekül ağırlığı 204.351 g/mol'dür (Landolt-Börnstein-caryophyllene, 2007). Açık formülü Şekil 1'de verilmiştir.



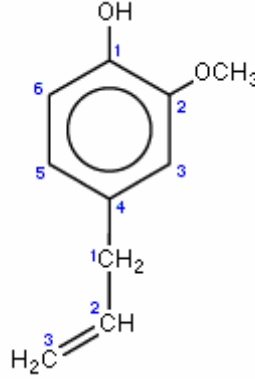
Şekil 1. Trans-karyofillen molekülünün açık formülü (Wikipedia.org sitesinden alınmıştır) (Anonymous, Wikipedia-caryophyllene, 2007).

Trans-karyofillen; doğal, bisiklik bir sesquiterpen'dir. Özellikle karanfil (clove, *Eugenia caryophyllata*, *Syzygium aromaticum*) ve karabiber (black pepper, *Piper nigrum*) gibi bitkilerin tohum, çiçek ve/veya yapraklarından elde edilen uçucu yağın içeriğinde bulunur (Wikipedia-caryophyllene, 2007). Bunların dışında daha birçok bitkinin (*Zanthoxylum rhoifolium* Lam., *Hyptis pectinata*, *Lippia gracilis*) çeşitli bölümlerinden elde edilen ekstrelerin içeriğinde de bulunmaktadır (Da Silva ve ark, 2007; Silva ve ark, 2007). Literatür taramasında trans-karyofillen'in farelerde dekstran sülfat sodyum ile oluşturulmuş deneysel ülseratif kolit modelinde kolit tablosunu düzelttiği (Cho ve ark, 2007), sıçanlarda carrageenan'la oluşturulmuş pençe ödemi üzerinde antienflamatuvar aktivite gösterdiği (Passos ve ark, 2007), lokal anestezi etkili olduğu (Ghelardini ve ark, 2001), onikomikozu (tırnak mantarı) tedavi edici etkiye sahip olduğu (Yang ve ark, 1999), guinea-pig (kobay) kalp kası hücrelerinde negatif inotropik etki gösterdiği (Sensch ve ark, 2000) ve sıçan mide mukozası hücrelerinde koruyucu (sitoprotektif) etkisinin bulunduğu (Tambe ve ark, 1996) bildirilmiştir. Trans-karyofillen'in antidiyabetik olarak kullanılışıyla ilgili olarak literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmadı.

2.3. Öjenol (Eugenol, C₁₀H₁₂O₂)

Öjenol birden fazla isimle anılmakta olup, kimyaca açık formülü de bu isimlere göre yazılmaktadır. Öjenol'ün diğer isimleri, "4-allyl-2-methoxyphenol, 4-allyl-2-methoxy-phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)-phenol, 2-methoxy-4-(prop-2-en-1-yl)-

phenol ve *1-Hydroxy-2-Methoxy-4-β-propenylbenzol*” şeklindedir (Landolt-Börnstein, eugenol, 2007). Öjenol’ün molekül ağırlığı 164.20 g/mol’dür ve allylbenzene sınıfının bir üyesidir. Kimyaca kapalı formülü C₁₀H₁₂O₂ şeklindedir. Açık formülü Şekil 2’de verilmiştir (Wikipedia-eugenol, 2007).



Şekil 2. Öjenol molekülünün açık formülü (Wikipedia.org sitesinden alınmıştır) (Anonymous, Wikipedia-eugenol, 2007).

Öjenol; karanfil (*Eugenia caryophyllata*), tulsi (*Ocimum sanctum*), şerbetçiotu (*Humulus lupulus* L.), kişniş (*Coriandrum sativum* L.) ve fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağların içeriğinde bulunur (Dutta ve ark, 2007; Eyres ve ark, 2007; Msaada ve ark, 2007; Li ve ark, 2007a). Literatür taramasında öjenol’ün trigeminal ganglion nöronlarındaki K⁺ akımını inhibe ettiği (Li ve ark, 2007b), berber dükkânında çalışanlarda meslek hastalığı olarak astım ve rinite yol açabileceği (Quirce ve ark, 2007), *Herpes simplex* virüs aktivitesini önleyici etkiye sahip olduğu (Tragoolpua ve Jatisatienr, 2007), anestezik etki gösterdiği (Guénette ve ark, 2007), *Candida albicans*’a karşı antimikotik aktiviteye sahip olduğu (He ve ark, 2007; Braga ve ark, 2007) ve dental aferent nöronlarda Na⁺ akımını inhibe ettiği; öjenol’ün gösterdiği analjezik aktiviteye de bu etkinin yol açmış olabileceği (Park ve ark, 2006) bildirilmiştir. Öjenol’ün antidiyabetik olarak kullanımına dair literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2.4. Deney Hayvanlarında Diyabet Oluşturma Modelleri

Çeşitli hastalıkların patogenezinin anlaşılması, hastalıklardan korunmanın ve tedavi olanaklarının incelenmesi için deneysel hayvan modelleri oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Çevresel faktörlerin etkilerini belirlemek için kontrol

gruplarının kullanılabilmesi, araştırılan patolojiye uygun hayvan türlerinin genetik olarak seçilebilmesi, anlamlı istatistiksel değerlendirme yapmaya izin verecek sayıda örnekte (denekte) çalışılabilmesi, hayvan modelleri ile çalışmayı rasyonel hale getiren temel faktörlerdir. İlaç araştırmalarında in-vivo deneylerin bir bölümü, eğer varsa, insandaki hastalığı temsil eden hayvan modelleri üzerinde yapılmaktadır (Kayaalp, 2001).

2.4.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Deneysel diyabet oluşturmak amacıyla fare, sıçan, tavşan, kobay, hamster, maymun, domuz, köpek ve kedi gibi deney hayvanları kullanılabilir (Alarcon-Aquilar ve ark, 2000; Pari ve Umamaheswari, 2000; Ahmad ve Ark, 2000; Ciechanowski ve ark, 2004; Eqwim, 2005; Van de Maele ve ark, 2005; Rood ve ark, 2006; Koopmans ve ark, 2006).

2.4.2. Kullanılan Yöntemler

Deney hayvanlarında; kimyasal ajanlarla, spontan olarak ve virüsler aracılığıyla deneysel diyabet oluşturulabilmektedir (Goldner ve Gomori, 1943; Dunn ve ark, 1944; Alarcon-Aquilar ve ark, 2000; Pushparaj ve ark, 2000; Chang ve Perry, 1978; Kohnert ve ark, 1999; Ejrnaes ve ark, 2006).

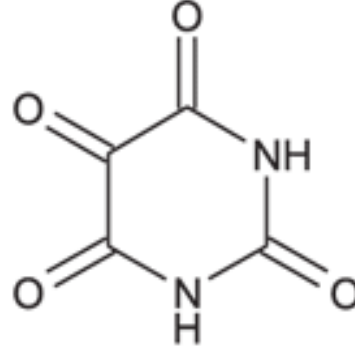
2.4.3. Kimyasal Ajanlarla Diyabet Oluşturulması

Alloksan ve streptozosin (STZ) bu amaçla kullanılan kimyasal ajanlardır. Deneysel diyabet çalışmalarında en çok fare ve sıçan kullanıldığı için bu hayvanlardaki alloksan ve STZ uygulamaları aşağıda açıklandı.

Alloksan (Alloxan monohydrate, $C_4H_4N_2O_4 \cdot H_2O$)

Alloksan, [2,4,5,6(1H,3H)-pyimidinetetrone monohydrate] yapısında bir ürik asit türevidir (Şekil 3). Suda kolayca erir. Kapalı formülü $C_4H_4N_2O_4 \cdot H_2O$ şeklinde yazılır. Toz hali 2-8 °C'de, solüsyon hali ise 4 °C'nin altında saklanmalıdır. Molekül ağırlığı 160.1 g/mol'dür (Aldrich Handbook, 2003-2004). Selektif olarak pankreas beta

hücrelerini hasarlamak suretiyle insüline bağımlı diyabete neden olduğu bildirilmiştir (Alarcon-Aquilar ve ark, 2000; Dunn ve ark, 1944; Szkudelski, 2001).



Şekil 3. Alloksan molekülünün açık formülü (axxora.com'dan alınmıştır) (Axxora.com, 2007).

Farelerde alloksanla diyabet oluşturulması

On sekiz saat aç bırakılan farelere, 150 mg/kg dozda, distile su veya serum fizyolojikte (% 0.9 NaCl) çözdürülmüş alloksan, periton içi (i.p.) yolla uygulanır. Bu uygulama 48 saatte bir toplam üç kez tekrarlanır. Dolayısı ile her bir fareye total olarak 450 mg/kg alloksan uygulanmış olur. Enjektörün peritona girdiği bölgede pembe bir renk oluşabilir. Bu renk alloksan solüsyonunun bir kısmının enjeksiyon yerinden dışarıya sızdığının belirtisidir. Bu nedenle enjektörü zik-zaklı bir şekilde periton içerisine batırmak, alloksanın dışarı sızması olasılığını giderecektir. Uygulamadan sonra farelerin bir kısmı ölmekte, ayrıca farelerin bir kısmında da diyabet oluşmamaktadır. Bu nedenlerle çalışmaya başlarken her bir grup için düşünülen fare sayısını en az % 30 daha yüksek tutmak uygun olacaktır. Son uygulamadan itibaren 7-10 gün geçtikten sonra fareler yine 18 saat aç bırakılır ve herbirinin kuyruk veninden birer damla kan alınarak açlık kan şekeri (AKŞ) düzeyleri ölçülür. AKŞ düzeyi 180, 200 veya 250 mg/dL'nin üzerinde olan fareler diyabetli fare olarak kabul edilir ve çalışmaya alınır (Alarcon-Aquilar ve ark, 2000; Perez ve ark, 2000; Chen ve ark, 2001). Deneysel diyabet oluşturmayla ilgili bir çalışmada, farelere 90 mg/kg alloksanın kuyruk veninden bolus tarzında verilerek diyabet oluşturulabileceği bildirilmiştir (Kimura ve ark, 1999).

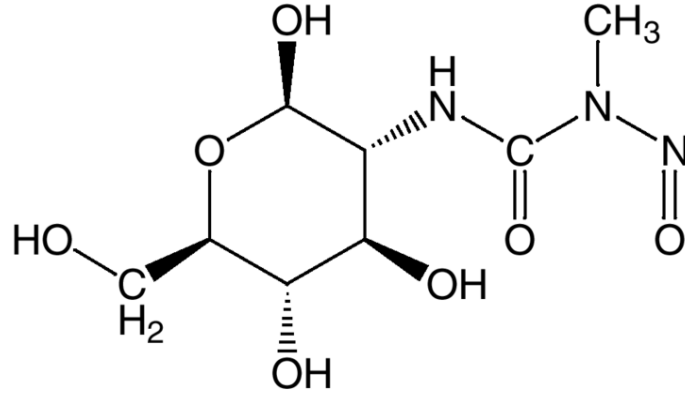
Sıçanlarda alloksanla diyabet oluşturulması

Distile su veya serum fizyolojik içerisinde çözdürülmüş alloksan, sıçanlara periton içi yolla 120 mg/kg dozunda üç gün üstü üste uygulanır. Son alloksan uygulamasından üç

gün sonra sıçanlar bir gece önce aç bırakılarak sabahleyin AKŞ seviyeleri ölçülür. Kan şekeri düzeyi 250 mg/dL'nin üzerinde olan sıçanlar diyabetli kabul edilir (Jaouhari ve ark, 2000). Deneysel diyabet oluşturmada kullanılan başka bir yöntemde ise serum fizyolojik solüsyonunda çözülmüş alloksan, 150 mg/kg dozunda periton içi yolla bir kez uygulanmaktadır. Alloksan uygulamasına bağlı olarak pankreastan yoğun insülin salgılandığından dolayı fatal (öldürücü) hipoglisemi gelişmesi olasılığı vardır. Bunu önlemek için sıçanlara, alloksan uygulamasından 4-6 saat sonra, 15-20 mL kadar % 20'lik glukoz solüsyonu periton içi yolla uygulanır. Bundan sonra sıçanlara hipoglisemiyi önlemek amacıyla 24 saat süreyle % 5 glukoz solüsyonu (içme suyuna katılarak) verilir. İki hafta sonra AKŞ ölçümü yapılır ve kan şekeri düzeyi 200 mg/dL'nin üzerinde olan sıçanlar çalışmaya alınır (Al-Shamaony ve ark, 1994; Abdel-Barry ve ark, 1997; Prince ve ark, 1998).

Streptozosin (Streptozotocin, Streptozocin, STZ, C₈H₁₅N₃O₇)

N-(Methylnitrosocarbamoyl)- α -D-glucosamine, yani 1-methyl-1-nitroso-3-[2,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl) oxan-3-yl]-urea (C₈H₁₅N₃O₇) yapısındadır (Şekil 4), molekül ağırlığı 265.221 g/mol'dür. Işıktan korunmalıdır. Nötral pH'da hızla dekompoze olduğundan dolayı optimum stabilitesi için ortamın pH'sı 4-4.5 aralığında olmalıdır. Bu nedenle STZ çözündürülürken sitrat tamponu kullanılmalıdır (SigmaAldrich.com, 2007). Pankreasın β hücrelerini hasarlayarak; hem insüline bağımlı (IDDM), hem de insülinde bağımsız (NIDDM) diyabete neden olduğu bildirilmiştir (Szkudelski, 2001; Srinivasan ve ark, 2005). Yetişkin sıçanlarda tek doz (40-60 mg/kg) damar içi (iv) yolla STZ uygulamasının insüline bağımlı diyabete neden olduğu (Ganda ve ark, 1976), yeni doğmuş sıçanlara tek doz periton içi veya damar içi yolla 100 mg/kg STZ uygulamasının ise insülinde bağımsız diyabete neden olduğu rapor edilmiştir (Portha ve ark, 1974).



Şekil 4. Streptozosin molekülünün açık formülü (Wikipedia'dan alınmıştır) (Anonymous, Wikipedia-streptozotocin, 2007).

Farelerde streptozosin'le diyabet oluşturulması

Sitrat tamponu (pH: 4.5) içerisinde çözündürülmüş STZ, tek doz halinde (200 mg/kg) periton içi yolla uygulanır. Aynı gün içerisinde farelerde diyabet olduğu kabul edilir (Sitasawad ve ark, 2000). Başka bir çalışmada STZ'nin 150 mg/kg tek doz periton içi uygulanmasıyla farelerde diyabet olduğu bildirilmiştir (Grover ve ark, 2001).

Sıçanlarda streptozosin'le diyabet oluşturulması

20 mM sodyum sitrat tamponu (pH: 4.5) içerisinde taze olarak hazırlanmış STZ çözeltisi (buzlu ortamda saklanmak koşuluyla), 65 mg/kg olacak şekilde periton içi yolla sıçanlara enjekte edilerek (tek doz uygulama yapılacak) diyabet oluşturulduğu bildirilmiştir (Tamer ve ark, 1997; Benwahhoud ve ark, 2001). Başka bir çalışmada bir gece önce aç bırakılan sıçanlara 0.1 M sitrat tamponu içerisinde (pH: 4.5) çözündürülmüş STZ'nin 60 mg/kg dozunda uygulandığı, 72 saat sonra AKŞ ölçümü yapılarak, kan şekeri düzeyi 350 mg/dL ve üzerinde olan sıçanların diyabetli kabul edildiği, STZ uygulamasından sonra yem ve su alımının serbest bırakıldığı bildirilmiştir (Pushparaj ve ark, 2000). Farklı bir çalışmada sıçanlara 50 mg/kg tek doz STZ uygulanmış ve AKŞ seviyesi 250 mg/dL'nin üzerindeki sıçanlar çalışmaya alınmıştır (Cetto, 2000).

2.5. Açlık Kan Şekeri (AKŞ) Düzeyinin Ölçülmesi

Kan şekeri ölçümü biyokimya laboratuvarlarındaki otoanalizör cihazıyla yapılabileceği gibi piyasada bulunan ve bir damla kanla ölçüm yapabilen kan ölçüm

cihazlarıyla da yapılabilir. Otoanalizör için daha fazla kan gerektiğinden dolayı, çalışma boyunca yalnızca bir kez kan ölçümü yapılacak ise bu cihazla ölçüm yapılması uygun olabilir. Ancak kan glukoz seviyesi; belirli aralarla, gün boyunca yapılacak ise bir damla kanla çalışan cihazları seçmek daha uygun olacaktır. Bir damla kanla ölçüm yapan cihazlarda kan şekeri ölçümü şöyle yapılır: Deney hayvanının kuyruğundan alınan bir damla taze kan, kan ölçüm cihazının stripine emdirilir. Cihazın türüne göre 10, 15 veya 20 saniye sonra kan şekeri düzeyi cihazın ekranından okunur. Bu cihazlar kan glukoz seviyesini “glukoz-oksidad peroksidad” yöntemine göre ölçmektedir (Vitros DT II Operator’s Manual Book, 2003).

2.6. Kan Şekeri Değerlerinin Standardizasyonu

İstatistiksel hata, Tip I ve Tip II hata olmak üzere iki grupta incelenebilir. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmamasına rağmen test sonucunda “anlamlı farklılık bulunması” şeklindeki hataya Tip-I hata denir ve “alfa hatası” olarak isimlendirilmektedir. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık var iken, yapılan test sonucunun “anlamlı farklılık bulunmaması şeklinde” ortaya çıktığı hataya ise Tip-II hata denir ve “beta hatası” olarak isimlendirilmektedir. İki grup arasında gerçekte fark olduğu halde test sonucunda da fark olduğu sonucuna varılması olasılığına ise “testin gücü (power size)” denmektedir. Tip-I ve Tip-II hatanın en az olduğu çalışmalar aynı zamanda gücü yüksek olan çalışmalardır. Araştırmalarda kullanılacak istatistiksel testin gücünün % 66.7’nin altına düşmemesi istenmektedir (Özdamar, 2004). Kullanılacak istatistiksel testin gücü denek sayısı ve standart sapma gibi birçok etkenden etkilenmektedir. Bu nedenlerle deney hayvanları ile yapılan ve kan şekeri düzeyi ölçümüne dayanan çalışmalarda, deney hayvanlarının çalışmanın başlangıcındaki kan düzeylerinin birbirine yakın değerlerden oluşması, dolayısı ile standart sapmasının düşük olması arzu edilmektedir. Etik nedenlerle her bir çalışma grubu için kullanılabilecek deney hayvanı sayısı 5 ila 10 arasında sınırlandırılmaktadır. Denek sayısının sınırlı olmasından dolayı bu durumda yapılacak en uygun şey, çalışma gruplarına ait verilerin standart sapmasının küçük tutulmasıdır. Bunun için verilerin birbirine yakın sayılardan oluşması gerekmektedir.

Yapılan deneysel diyabet çalışmalarında, AKŞ düzeyi genellikle 200 mg/dL’nin

üzerinde ise deney hayvanı diyabetli olarak kabul edilmektedir. Bu durumda, bir çalışma grubunu oluşturan deney hayvanlarından birine ait kan şekeri düzeyi 201 mg/dL iken bir diğeri 470 mg/dL veya 590 mg/dL olabilecektir (kan şekeri ölçüm cihazları 600 mg/dL'nin üzerini genellikle ölçmemektedirler). Dolayısı ile çalışma grubunu oluşturacak hayvanların AKŞ düzeyleri birbirinden oldukça farklı değerlerden oluşacak ve standart sapma çok büyüyecektir. Bunu önlemek için kan şekeri değeri birbirine yakın olan hayvanlar seçilerek gruplar oluşturulabilir. Ancak bu da istatistiğin en önemli kurallarından birisi olan bias yapmamanın (taraf tutmama ilkesi) ihmal edileceği anlamına geleceğinden çok doğru bir yaklaşım olmayacaktır. Çünkü deney gruplarının rasgele (randomize) oluşturulması gerekmektedir (Heperkan, 1981). Bu durumda kullanılacak bir çözüm yolu, verilerin 100 üzerinden standardize edilmesidir. Bunun için yapılacak işlem şöylece özetlenebilir: Deneysel diyabet oluşturulmuş ve ilaç uygulaması öncesi AKŞ düzeyi 450 mg/dL olan bir hayvanın ilaç uygulamasından sonra farklı zamanlarda (1., 2. ve 4. saat gibi) ölçülen AKŞ düzeyleri sırayla 300, 250 ve 150 mg/dL olsun. Bu değerlerin zaman içindeki seyri, olduğu gibi yani ham şekilde değil 100 üzerinden standardize edilerek kullanıldığında, çalışma grubunun standart sapması düşecek, böylece çalışmanın gücü artacaktır. Standardizasyon için Ceylan ve ark. (2004) kullandığı aşağıdaki formül önerilebilir:

$$\text{Kan şekeri seviyesinin düşmesi (\%)} = 100 \times (\text{Kan şekeri}_{ilk} - \text{Kan şekeri}_n) / \text{Kan şekeri}_{ilk}$$

Kan şekeri_n: n. yani 1., 2. veya 4. saatteki kan şekeri değeri.

Kan şekeri_{ilk}: İlaç uygulaması öncesi ölçülen kan şekeri değeri.

2.7. Hipoglisemik Aktivitenin Bir Standartla Karşılaştırılması

Üzerinde çalışılan molekül veya ekstrenin hipoglisemik etkinliğe sahip olduğu saptandığında, bu etkinin insülin veya oral antidiyabetikler gibi bilinen bir hipoglisemik madde ile karşılaştırılarak, saptanan hipoglisemik etkinliğin gücü hakkında bir fikir edinilebilmektedir. Bu amaçla kullanılan hipoglisemik maddeler, bunların veriliş yolları ve dozları aşağıda verilmiştir:

2.7.1. İnsülin

Regular insülin farelere 0.1 IU/kg dozunda (Alarcon-Aquilar ve ark., 2000),

protamin zinc insülin sıçanlara 6 IU/kg dozunda (Prince ve ark, 1998) periton içi veya derialtı (subcutan) yolla uygulanır.

2.7.2. Glibenklamid (Glibenclamide)

Farelere 3 mg/kg dozunda (Amalraj ve Ignacimuthu, 1998), sıçanlara 5 mg/kg dozunda (Sriplang ve ark, 2007) veya 600 µg/kg dozunda ağızdan uygulanır (Latha ve Pari, 2004).

2.7.3. Glipizid (Glipizide)

Farelere 1 mg/kg dozunda (Bodary ve ark, 2005) ve sıçanlara 5 mg/kg dozunda ağızdan uygulanır (Srinivasan ve ark, 2005).

2.7.4. Metformin

Farelere 300 mg/kg dozunda (Ribnicky ve ark, 2006) ve sıçanlara 500 mg/kg dozunda ağızdan uygulanır (Pushparaj ve ark, 2000).

2.7.5. Fenformin (Phenformin)

Farelere 2 mg/kg dozda (Anisimov ve ark, 2003) ve sıçanlara 600 mg/kg dozunda ağızdan uygulanır (Porchezian ve ark, 2000).

2.7.6. Tolbutamid (Tolbutamide)

Farelere 50 mg/kg dozunda (Perez ve ark, 2000; Contreras ve ark, 2005) ve sıçanlara 100 mg/kg ağızdan uygulanır (Jayakar ve Suresh, 2003).

2.8. Diyabetle İlgili Çalışmalarda İstatistiksel Yöntemlerin Kullanılması

Elde edilen veriler “ortalama $\pm$ standart hata ortalaması” şeklinde ifade edilmelidir (Özbek ve Keskin, 2007). Çalışma gruplarının dağılımına “One-sample Kolmogorov-Smirnov testi” ile bakılabilir. Bu teste göre; $p > 0.05$ değeri normal dağılımı, $p < 0.05$ değeri ise normal olmayan dağılımı göstermektedir. Normal dağılım gösteren çalışma grupları için; gruplar birbirinden bağımsız ve grup sayısı ikiden fazla

olacağından dolayı parametrik bir test olan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) istatistik yöntemi uygulanmalıdır. Çalışma grupları normal dağılım göstermiyor ise non-parametrik bir test olan “Kruskall-Wallis varyans analizi istatistik yöntemi” kullanılmalıdır. Sağlık Bilimleri alanında yapılan çalışmalarda non-parametrik testler yerine parametrik testler tercih edilmektedir. Bu nedenle normal dağılım göstermeyen gruplar için verilere normalizasyon işlemleri (istatistik kitaplarında nasıl yapılacağı açıklanmıştır) uygulanabilir ve ardından parametrik testlerle işleme devam edilebilir. Varyans analizi sonucu $p < 0.05$ bulunursa anlamlılığı meydana getiren çalışma grubunu saptamak amacıyla post-hoc testler uygulanmalıdır. Eğer ANOVA uygulanmışsa, varyansların homojenitesine bakılarak $p < 0.05$ için post-hoc olarak “Tamhane’s T2 testi” kullanılabilir. Varyansların homojenitesi sonucu $p > 0.05$ bulunduğunda ise post-hoc olarak kullanılacak “Bonferroni, Tukey’s Honestly Significance Difference Test (Tukey’s HSD test), Least Significant Difference Test (LSD Test), Sidak, Scheffé, Duncan, Gabriel, Dunnet gibi çok sayıda test vardır. Bu testler içerisinde istatistikçiler tarafından en çok “Tukey’s Honestly Significance Difference Test” tavsiye edilmektedir. Ancak her bir çalışma grubundaki eleman sayısı eşit değil ise (örneğin 1. grupta 10 denek, 2. grupta 9 denek, 3. grupta 7 denek var ise); bu durumda “Scheffé testi”, çalışma grupları sadece kontrol grubu ile karşılaştırılacak ise Dunnet testi önerilmektedir. Grup sayısı 5’i geçiyorsa; Tip I hatayı çok yükselteceği için LSD testi önerilmemektedir. Kruskall-Wallis varyans analizi testi için post-hoc test olarak “Mann-Whitney U testi” kullanılmaktadır (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 1998; Özdamar, 2001).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Y.Y.Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji AD Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.1. Gereç

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada 14-16 haftalık erkek ve dişi Balb/C ırkı fareler kullanıldı. Bu hayvanlar “Y.Y.Ü. Tıp Fakültesi Neuroscience Araştırma Birimi Deney Hayvanları Ünitesi”nden sağlandı.

3.1.2 Deney Araçları

Farelere öjenol ve trans-karyofillen vermek için Hamilton enjektörü, hayvanların kan şekeri düzeylerini ölçmek için MediSense Optium Blood Glucose System (Abbott, Roma-Italia) cihazı kullanıldı.

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Alloksan ve trans-karyofillen Sigma'dan (Steinheim-Germany), öjenol ise Aldrich'ten (Steinheim-Germany) sağlandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Maddelerin Hazırlanışı

Alloxan, serum fizyolojik içerisinde çözülerek hazırlandı.

3.3. Farmakolojik ve Toksikolojik Çalışmalar

3.3.1. Letal Doz (LD) Düzeylerinin Ölçülmesi

Her biri 8 adet erkek fare içeren 11 adet grup oluşturuldu ve kontrol grubuna sadece 0.2 ml SF (% 0.9'luk serum fizyolojik) uygulandı. Diğer gruplara ise sırayla 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 ve 3.2 ml/kg öjenol ve 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 ve 3.2 ml/kg trans-karyofillen uygulandı. Tüm uygulamalar i.p. yolla yapıldı, 72 saat sonra çalışma gruplarındaki ölü hayvanlar sayıldı. Probit analizi metodu uygulanarak letal doz düzeyleri (LD₁, LD₂, LD₃,... ve LD₉₉) hesaplandı (Litchfield ve Wilcoxon, 1949; Kouadio ve ark, 2000).

3.3.2. Farelerde Deneysel Diyabet Oluşturulması

On sekiz saat aç bırakılan fareler, tartılıp kuyruklarından keçeli kalemle numaralandırıldıktan sonra: 150 mg/kg alloxan, serum fizyolojik (SF) içerisinde çözdürülerek, periton içi yolla verildi. Bu işlem farelere 48 saat arayla toplam üç kez uygulandı (Rodriguez ve ark, 1975). Son uygulamadan yedi gün sonra fareler tekrar 18 saat aç bırakılarak kan şekeri seviyelerine bakıldı; AKŞ 200 mg/dL ve üzerinde değerlere sahip olan fareler diyabetli olarak kabul edilip çalışmaya alındı, diğer fareler ise çalışma dışı bırakıldı (Singh ve ark, 2001).

3.3.3. Trans-karyofillen ve Öjenol'ün Sağlıklı Farelerde Hipoglisemik Etkisinin Ölçülmesi

Çalışma grupları herbirinde sekizer fare olacak şekilde sağlıklı farelerden oluşturuldu. On sekiz saatlik açlığı takiben birinci gruba 0.2 ml serum fizyolojik (% 0.9'luk NaCl) periton içi yolla, ikinci gruba glibenklamid (3 mg/kg) oral yolla, üçüncü gruba 0.2 ml/kg trans-karyofillen ve dördüncü gruba 0.2 ml/kg öjenol periton içi yoldan uygulandı. Trans-karyofillen ve öjenol dozları probit analizi sonuçlarına göre LD₁₀ dozuna eşit veya bu dozun altında kalacak şekilde saptandı. Uygulamayı takiben birinci, ikinci ve dördüncü saatlerde kuyruk venlerinden birer damla kan alındı, alınan bu kan örneklerinden “glukoz-oksidad peroksidaz metodu” temel alınarak üretilmiş olan şeker stripleri aracılığıyla MediSense Optium Blood Glucose System (Abbott, Roma-Italia) cihazında kan şekeri düzeylerine bakıldı (İmren ve Turan, 1985).

3.3.4. Trans-karyofillen ve Öjenol'ün Diyabetli Farelerde Hipoglisemik Etkisinin Ölçülmesi

Alloksanla diyabet oluşturulmuş fareler kullanılarak herbirinde sekizer fare olacak şekilde çalışma grupları oluşturuldu. Birinci gruba serum fizyolojik (SF: 0.2 ml) perito içi yolla, ikinci gruba glibencalmid (3 mg/kg) oral yolla, üçüncü gruba trans-karyofillen 0.2 ml/kg, dördüncü gruba trans-karyofillen 0.4 ml/kg, beşinci gruba öjenol 0.2 ml/kg ve altıncı gruba öjenol 0.4 ml/kg dozda periton içi yoldan uygulandı. Trans-karyofillen ve öjenol dozları probit analizi sonuçlarına göre LD₁₀ dozuna eşit veya bu dozun altında kalacak şekilde saptandı. Uygulamayı takiben birinci, ikinci ve dördüncü saatlerde kuyruk venlerinden birer damla kan alındı ve alınan bu kan örneklerinden kan şekeri düzeylerine bakıldı.

3.4. İstatistiksel Analiz

Grupların kan şekeri seviyeleri ortalama $\pm$ standart hata ortalaması (Ort $\pm$ SHO) biçiminde gösterildi. Veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edildi, bu testte anlamlı çıkan gruplar için kontrol grubu ile karşılaştırmalarda post-hoc Dunnet ve tüm grupların birbiriyle karşılaştırılmasında Tukey's HSD (Tukey's honestly significant difference) testleri uygulandı, olasılık (probability) değeri $p < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Akut toksisite çalışması sonuçlarının (letal doz) değerlendirilmesinde probit analiz metodu kullanıldı (Hayran ve Özdemir, 1995; Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 1998). İstatistiksel analizler SPSS 15.0 for Windows paket programı ile yapıldı, grafikler SigmaPlot 9.0 for Windows paket programı ile çizildi.

4. BULGULAR

4.1. Letal doz Düzeylerinin Ölçülmesine Ait Bulgular:

Trans-karyofillen ve öjenol gruplarının letal doz düzeyleri Çizelge 1 ve Çizelge 2’de verildi. Letal doz düzeyleri probit analizi yöntemiyle, logaritma 10 tabanına göre hesaplandı. Letal doz düzeyleri: letal doz 1 (LD_1 : 100 adet denekten birini öldüren doz), ...,ve letal doz 99 (LD_{99} : 100 adet denekten 99’unu öldüren doz) olacak şekilde, alt ve üst güvenlik aralıkları (confidence intervals) ile birlikte verildi.

Çizelge 1. Trans-karyofillen’in letal doz düzeyleri.

	Letal Doz Düzeyleri (ml/kg)		
	Beklenen ortalama doz	% 95 güvenlik sınırları	
		Alt sınır	Üst sınır
LD ₁	0.713	0.021	1.191
LD ₂	0.806	0.036	1.288
LD ₃	0.871	0.051	1.356
LD ₄	0.923	0.065	1.410
LD ₅	0.968	0.079	1.457
LD ₆	1.008	0.094	1.499
LD ₇	1.044	0.110	1.537
LD ₈	1.077	0.125	1.574
LD ₉	1.109	0.141	1.608
LD ₁₀	1.139	0.158	1.641
LD ₁₅	1.271	0.249	1.795
LD ₂₀	1.387	0.354	1.945
LD ₂₅	1.495	0.474	2.105
LD ₃₀	1.599	0.609	2.287
LD ₃₅	1.701	0.757	2.506
LD ₄₀	1.805	0.914	2.781
LD ₄₅	1.911	1.076	3.137
LD ₅₀	2.022	1.237	3.609
LD ₅₅	2.139	1.391	4.242
LD ₆₀	2.265	1.538	5.095
LD ₆₅	2.403	1.678	6.261
LD ₇₀	2.557	1.814	7.888
LD ₇₅	2.735	1.950	10.236
LD ₈₀	2.948	2.094	13.817
LD ₈₅	3.217	2.256	19.771
LD ₉₀	3.590	2.455	31.304
LD ₉₁	3.687	2.504	35.015
LD ₉₂	3.794	2.556	39.560
LD ₉₃	3.917	2.614	45.260
LD ₉₄	4.058	2.679	52.624
LD ₉₅	4.225	2.755	62.526
LD ₉₆	4.430	2.844	76.608
LD ₉₇	4.696	2.956	98.409
LD ₉₈	5.074	3.108	137.418
LD ₉₉	5.733	3.357	233.013

Çizelge 2. Öjenol’ün letal doz düzeyleri.

	Letal Doz Düzeyleri (ml/kg)		
	Beklenen ortalama doz	% 95 güvenlik sınırları	
		Alt sınır	Üst sınır
LD ₁	0.239	0.000	0.331
LD ₂	0.259	0.001	0.347
LD ₃	0.272	0.002	0.357
LD ₄	0.282	0.003	0.365
LD ₅	0.291	0.004	0.372
LD ₆	0.298	0.005	0.379
LD ₇	0.305	0.006	0.384
LD ₈	0.311	0.008	0.390
LD ₉	0.317	0.010	0.395
LD ₁₀	0.322	0.012	0.400
LD ₁₅	0.346	0.025	0.422
LD ₂₀	0.365	0.047	0.445
LD ₂₅	0.383	0.079	0.472
LD ₃₀	0.400	0.124	0.507
LD ₃₅	0.416	0.180	0.560
LD ₄₀	0.432	0.244	0.652
LD ₄₅	0.448	0.302	0.817
LD ₅₀	0.465	0.347	1.096
LD ₅₅	0.482	0.380	1.544
LD ₆₀	0.500	0.405	2.249
LD ₆₅	0.519	0.425	3.372
LD ₇₀	0.540	0.443	5.218
LD ₇₅	0.563	0.460	8.417
LD ₈₀	0.591	0.478	14.407
LD ₈₅	0.625	0.498	27.066
LD ₉₀	0.670	0.521	60.074
LD ₉₁	0.681	0.527	72.864
LD ₉₂	0.694	0.533	89.876
LD ₉₃	0.708	0.539	113.219
LD ₉₄	0.724	0.547	146.551
LD ₉₅	0.743	0.555	196.740
LD ₉₆	0.766	0.566	278.140
LD ₉₇	0.795	0.578	425.848
LD ₉₈	0.835	0.595	750.497
LD ₉₉	0.903	0.622	1834.624

4.2. Uygulamaların Sağlıklı Farelerdeki Açlık Kan Şekeri Düzeyine Etkisi:

Serum fizyolojik, trans-karyofillen, öjenol ve glibenklamid uygulamalarının sağlıklı farelerdeki AKŞ düzeyine etkileri Çizelge 3 ve Şekil 5'te verilmiştir.

Çizelge 3. Çalışma gruplarının sağlıklı farelerdeki açlık kan şekeri düzeyleri ($n=8$).

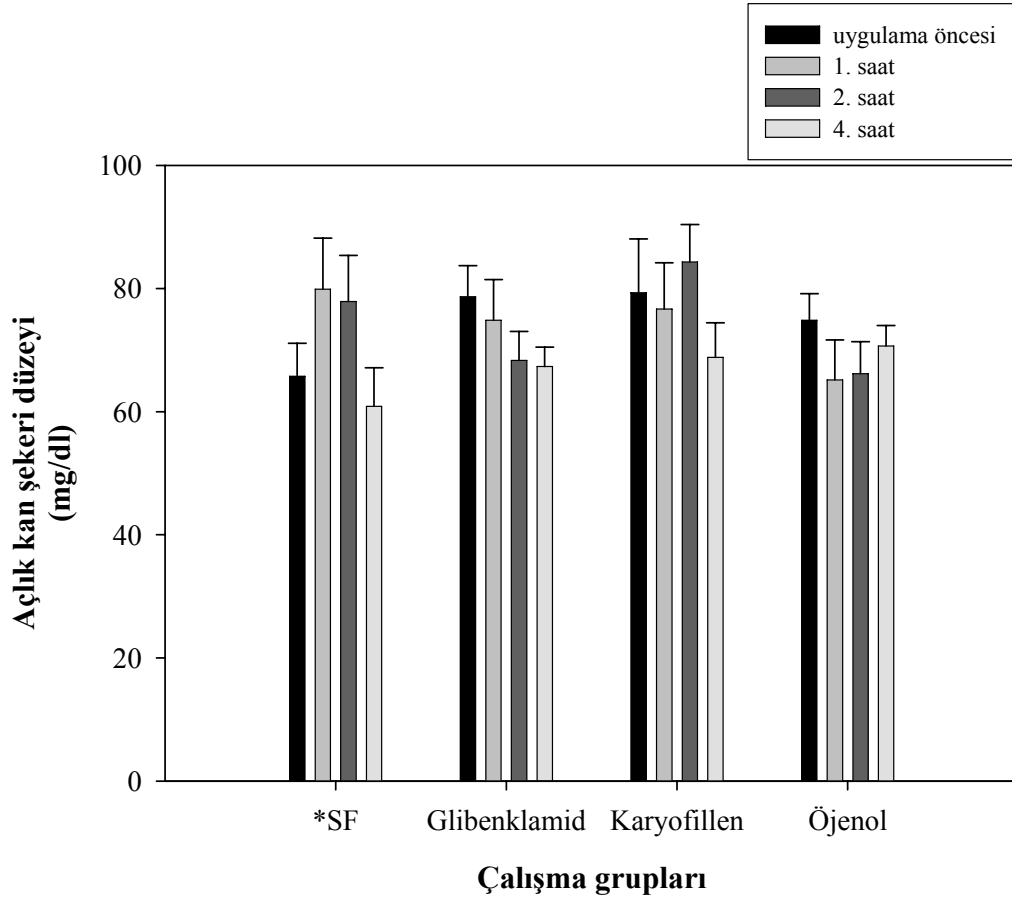
Gruplar	Açlık kan şekeri düzeyleri (mg/dl)			
	(ort. $\pm$ standart hata)			
	Uyg. öncesi	1. saat	2. saat	4. saat
Kontrol (SF)* (0.2 ml)	65.75 $\pm$ 5.36	79.88 $\pm$ 8.32 (% 21.49)**	77.88 $\pm$ 7.48 (% 18.45)	60.88 $\pm$ 6.26 (% -7.41)
Glibenklamid (3 mg/kg)	78.67 $\pm$ 5.02	74.83 $\pm$ 6.60 (% -4.88)	68.33 $\pm$ 4.71 (% -13.14)	67.33 $\pm$ 3.15 (% -14.41)
T-karyofillen (0.2 ml/kg)	79.33 $\pm$ 8.72	76.67 $\pm$ 7.52 (% -3.35)	84.33 $\pm$ 6.07 (% 6.30)	68.83 $\pm$ 5.62 (% -13.24)
Öjenol (0.2 ml/kg)	74.83 $\pm$ 4.34	65.17 $\pm$ 6.48 (% -12.91)	66.17 $\pm$ 5.21 (% 11.57)	70.67 $\pm$ 3.31 (% -5.56)
<i>F-p değeri</i>		0.705-0.559	1.690-0.198	0.768-0.524

* : SF (serum fizyolojik).

** : Uygulama öncesi AKŞ değerine göre o an ölçülen AKŞ değeri arasındaki % değişim (aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır):

$\% \text{değişim} = 100 * (n. \text{ Saatteki ölçüm} - \text{uygulama öncesi ölçüm}) / \text{uygulama öncesi ölçüm}.$

Sağlıklı farelerin AKŞ düzeyleri yönünden çalışma grupları arasında istatistiksel olarak herhangi bir anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 3). Trans-karyofillen, öjenol ve glibenklamid'in sağlıklı farelerde AKŞ düzeyini anlamlı düzeyde etkilemediği tespit edildi.



*SF: Serum fizyolojik (kontrol grubu).

Şekil 5. Çalışma gruplarının sağlıklı farelerdeki açlık kan şekeri düzeyleri.

4.3. Uygulamaların Diyabetli Farelerdeki Açlık Kan Şekeri Düzeyine Etkisi:

Serum fizyolojik, trans-karyofillen ve öjenol'ün diyabetli farelerde AKŞ düzeyine etkileri Çizelge 4 ve Şekil 6'da verilmiştir.

Çizelge 4. Çalışma gruplarının diyabetli farelerdeki açlık kan şekeri düzeyleri ($n=8$).

Gruplar	Açlık kan şekeri düzeyleri (mg/dl)			
	(ort. $\pm$ standart hata)			
	Uyg. Öncesi	1. saat	2. saat	4. saat
Kontrol (SF)* (0.2 ml)	337.20 $\pm$ 23.46	318.40 $\pm$ 25.33 (% -5.58)**	308.00 $\pm$ 34.21 (% -8.66)	225.00 $\pm$ 34.48 (% -33.27)
Glibenklamid (3 mg/kg)	267.33 $\pm$ 37.73	197.83 $\pm$ 47.38 ^a (% -26.00)	150.50 $\pm$ 39.78 ^a (% -43.70)	101.83 $\pm$ 10.66 ^a (% -61.91)
T-karyofillen (0.2 ml/kg)	385.20 $\pm$ 61.53	483.20 $\pm$ 53.05 ^{ab} (% 25.44)	427.60 $\pm$ 49.63 ^{ab} (% 11.01)	392.00 $\pm$ 61.57 ^{ab} (% 1.77)
T-karyofillen (0.4 ml/kg)	349.25 $\pm$ 40.19	342.00 $\pm$ 46.02 ^b (% -2.08)	321.75 $\pm$ 66.30 ^b (% -5.80)	172.75 $\pm$ 71.79 ^c (% -42.66)
Öjenol (0.2 ml/kg)	471.80 $\pm$ 39.10	532.60 $\pm$ 43.31 ^{abd} (% 12.89)	473.60 $\pm$ 35.24 ^{abd} (% 0.38)	481.40 $\pm$ 52.43 ^{abd} (% 2.03)
Öjenol (0.4 ml/kg)	343.00 $\pm$ 29.50	477.33 $\pm$ 09.06 ^{abd} (% 39.16)	368.00 $\pm$ 16.64 ^b (% 7.29)	329.00 $\pm$ 39.00 ^b (% -4.08)
<i>F-p değeri</i>		9.289-0.000	7.739-0.000	9.827-0.000

* : SF (serum fizyolojik).

** : Uygulama öncesi AKŞ değerine göre o an ölçülen AKŞ değeri arasındaki % değişim (aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır):

$\% \text{değişim} = 100 * (n. \text{ Saatteki ölçüm} - \text{uygulama öncesi ölçüm}) / \text{uygulama öncesi ölçüm}.$

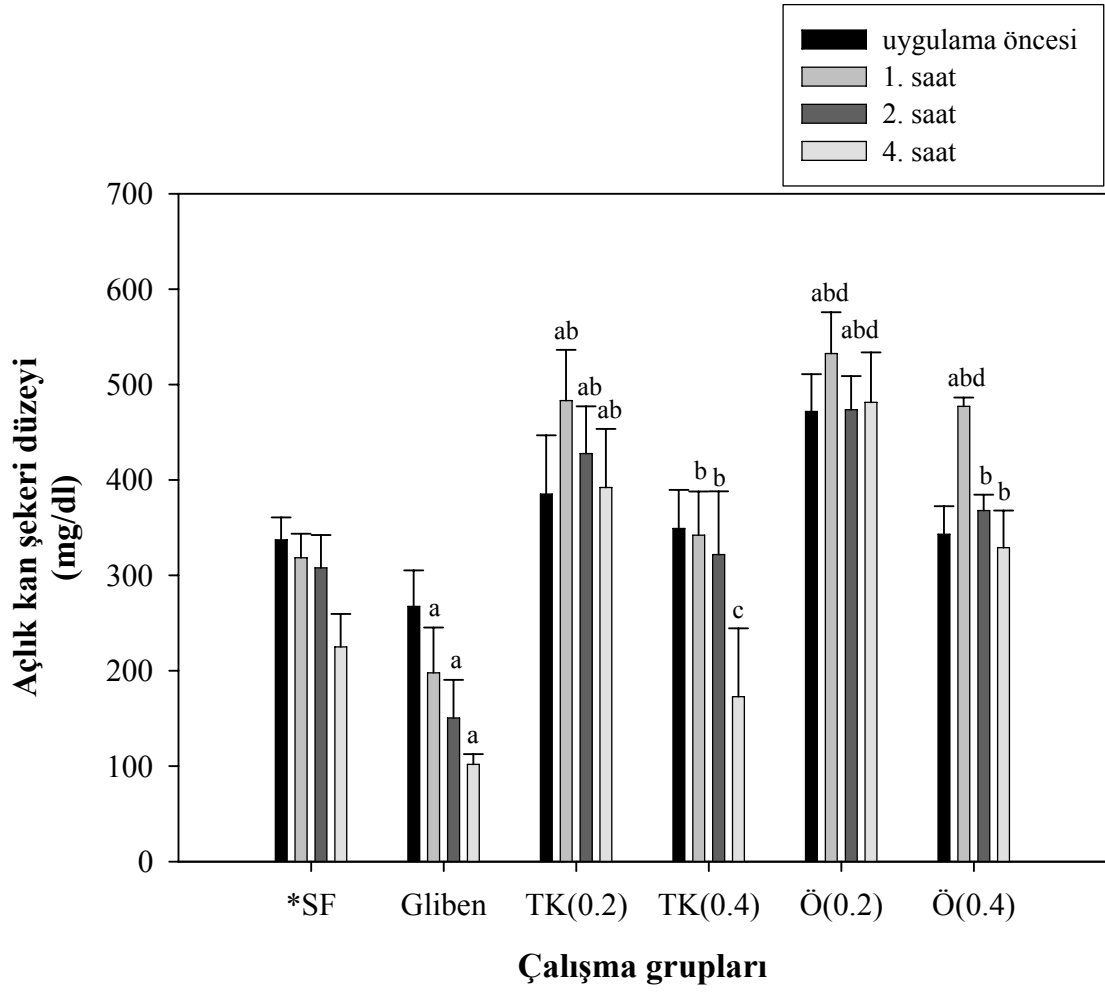
Post-hoc Dunnet ve Tukey's HSD testlerinin sonucu:

a : $p < 0.05$ (Kontrol grubu ile karşılaştırma).

b : $p < 0.05$ (Glibenklamid grubu ile karşılaştırma).

c : $p < 0.05$ (Trans-karyofillen 0.2 ml/kg grubu ile karşılaştırma).

d : $p < 0.05$ (Trans-karyofillen 0.4 ml/kg grubu ile karşılaştırma).



*SF : Serum fizyolojik (kontrol grubu),
 Gliben : Glibenklamid grubu.
 TK(0.2) : Trans-karyofillen (0.2 ml/kg) grubu,
 TK(0.4) : Trans-karyofillen (0.4 ml/kg) grubu,
 Ö(0.2) : Öjenol (0.2 ml/kg) grubu,
 Ö(0.4) : Öjenol (0.4 ml/kg) grubu,

Şekil 6. Çalışma gruplarının diyabetli farelerdeki açlık kan şekeri düzeyleri.

Post-hoc Dunnet ve Tukey's HSD testlerinin sonucu:

- a : $p < 0.05$ (Kontrol grubunun aynı uygulama zamanıyla karşılaştırma).
- b : $p < 0.05$ (Glibenklamid grubunun ilgili uygulama zamanıyla karşılaştırma).
- c : $p < 0.05$ (T-karyofillen 0.2 ml/kg grubunun aynı uygulama zamanıyla karşılaştırma).
- d : $p < 0.05$ (T-karyofillen 0.4 ml/kg grubunun aynı uygulama zamanıyla karşılaştırma).

Diyabetli farelerde, uygulama öncesi yapılan AKŞ değerlerinin bütün çalışma gruplarında 200 mg/dl'nin üzerinde olduğu saptandı (Çizelge 4). Dolayısı ile Singh ve ark'larının (2001 deneysel diyabet modeli için AKŞ değerlerinin 200 mg/dl'nin üzerinde olması şartı tüm çalışma gruplar için gerçekleşmiş oldu.

Serum fizyolojik uygulamasının diyabetli farelerin AKŞ seviyesini uygulama öncesine göre birinci saatte % -5.58, ikinci saatte % -8.66 ve dördüncü saatte % -33.27 oranında etkilediği (düşürdüğü) saptandı.

Glibenklamid uygulamasının diyabetli farelerin AKŞ seviyesini uygulama öncesine göre birinci saatte % -26.00, ikinci saatte % -43.70, dördüncü saatte % -61.91 oranında etkilediği (düşürdüğü) saptandı. Glibenklamid'in birinci, ikinci ve dördüncü saatlerde AKŞ düzeyini düşürmesi hem kontrol grubu ve hem de diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Trans-karyofillen (0.2 ml/kg) uygulamasının diyabetli farelerin AKŞ seviyesini uygulama öncesine göre birinci saatte % 25.44, ikinci saatte % 11.01.66 ve dördüncü saatte % 1.77 oranında etkilediği (yükselttiği) saptandı. AKŞ seviyesindeki bu yükselme kontrol grubuna göre anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Trans-karyofillen (0.4 ml/kg) uygulamasının diyabetli farelerin AKŞ seviyesini uygulama öncesine göre birinci saatte % -2.08, ikinci saatte % -5.80 ve dördüncü saatte % -42.66 oranında etkilediği (düşürdüğü) saptandı. AKŞ seviyesindeki bu düşme kontrol grubuna göre istatistiksel yönden anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Ancak dördüncü saatteki AKŞ seviyesi 0.2 ml/kg dozunda uygulanan trans-karyofillen grubunun aynı saatte ölçülen AKŞ seviyesine göre anlamlı seviyede düşük olarak saptandı ($p<0.05$).

Öjenol (0.2 ml/kg) uygulamasının diyabetli farelerin AKŞ seviyesini uygulama öncesine göre birinci saatte % 12.89, ikinci saatte % 0.38 ve dördüncü saatte % 2.03 oranında etkilediği (yükselttiği) saptandı. 0.2 ml/kg öjenol uygulamasının çalışmanın birinci, ikinci ve dördüncü saatlerinde AKŞ seviyesini hem kontrol grubu ve hem de trans-karyofillen (0.4 ml/kg) grubuna göre anlamlı seviyede yükselttiği ($p<0.05$) tespit edildi.

Öjenol (0.4 ml/kg) uygulamasının diyabetli farelerin AKŞ seviyesini uygulama öncesine göre birinci saatte % 39.16, ikinci saatte % 7.29 oranında etkilediği (yükselttiği), dördüncü saatte ise % -4.08 oranında etkilediği (düşürdüğü) saptandı. 0.4

ml/ kg öjenol uygulamasının AKŞ seviyesini birinci saatte kontrol grubu ve trans-karyofillen (0.4 ml/kg) grubuna göre anlamlı seviyede yükselttiği ($p<0.05$), ikinci ve dördüncü saatlerde ise kontrol grubu ile aralarında anlamlı bir fark olmadığı saptandı ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Diyabetin komplikasyonları ve bunların tedavisi; hem çok sayıda insanı ilgilendirmesi hem de ülkelerin ekonomilerine getirdiği yük dikkate alındığında, günümüz sağlık dünyasının önemli sorunları arasında sayılmaktadır. Diyabet tüm yaş gruplarında görülebilmekte, cinsiyet yönünden önemli bir farklılık arzetmemektedir. Bu nedenlerle diyabet tedavisinde yeni bir yaklaşım, kullanılabilecek yeni bir ilaç diyabet hastaları açısından önemli olacaktır. Diyabet; egzersiz, diyet ve ilaç tedavisi ile kontrol altında tutulabilmekte olup, günümüzde tedavi amacıyla ilaç olarak insülin ve hipoglisemik ilaçlar kullanılmaktadır (Alarcon-Aquilar ve ark., 2000; Lebovitz ve Pasmantier, 1990; Bailey, 1992).

Diyabet tedavisi için yapılan araştırmaların bir kısmı; bitki ekstreleri ve bunlardan elde edilen moleküllerin kan şekeri düzeyine etkilerinin araştırılması şeklindedir (Adeneye ve Agbaje, 2007; Xia ve Wang, 2007). Ceylan ve ark. (2004) karanfil (*Eugenia caryophyllata*) uçucu yağının diyabetli farelerde hipoglisemik etkinlik gösterdiğini; karanfil uçucu yağında gaz-kromatografi analizi sonuçlarına göre: trans-karyofillen, öjenol, alfa-humulen, öjenil asetat ve alfa-kopaen gibi bileşiklerin bulunduğunu bildirmişlerdir. Karanfil uçucu yağını oluşturan bileşiklerden biri veya birkaçı, karanfil uçucu yağının hipoglisemik etkisinden sorumlu olabilir mantığıyla hareket ederek; bu çalışmada, karanfil uçucu yağını oluşturan kimyasal bileşiklerden ikisi olan trans-karyofillen ve öjenol'ün hipoglisemik aktivite yönünden araştırılması amaçlanmıştır.

Öncelikle bu iki bileşiğin farelere uygulanacak doz aralığını sağlıklı bir şekilde tespit edebilmek için probit analizi yöntemi ile fareler üzerinde letal doz düzeyleri saptandı. Daha sonra bu bileşiklerin karanfil uçucu yağının hipoglisemik etkinliğinden sorumlu olup olmadıkları, hem sağlıklı hem de diyabetli fareler üzerinde araştırıldı. Bir bitki ekstresi veya kimyasal bileşiğin farmakolojik aktivitesini saptamak amacıyla deney hayvanlarına uygulanacak doz düzeylerinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Uygulanacak doz aralığının; etkisiz bir doz aralığına veya toksik tesirlerin görüldüğü bir doz aralığına rastlamaması gerekir. Bunu belirlemenin uygun yollarından biri, araştırılacak maddenin letal doz düzeylerinin saptanmasıdır. Buna göre

uygulanacak maksimum doz düzeyinin LD₁₀ dozunu veya bunun % 95 güvenlik üst sınırını aşmaması arzulanır (Helliön-Ibarrola ve ark., 1999; Parra ve ark., 2001; Shah ve ark., 1991; Özbek ve ark., 2004b). Diğer dozlar bu üst sınırı oluşturan dozun altında olacak şekilde ayarlanabilir. Probit analizi sonuçlarına göre trans-karyofillen ve öjenol'ün letal doz düzeyleri Çizelge 1 ve Çizelge 2'de verilmiştir. Buna göre trans-karyofillen'in LD₁₀ dozu (100 fareden 10'unu öldüren tahmini doz) 1.139 ml/kg, öjenol'ün LD₁₀ dozu 0.322 ml/kg olarak hesaplanmıştır. Trans-karyofillen ve öjenol'ün LD₁₀ dozlarının üst sınırı ise sırasıyla 1.641 ml/kg ve 0.400 ml/kg olarak saptanmıştır. Probit analizi sonuçlarına dayanarak trans-karyofillen ve öjenol için hipoglisemik aktivite çalışmasında kullanılabilecek maksimum doz sırayla 1.641 ml/kg ve 0.4 ml/kg olarak belirlenmiş, ancak çalışmada 0.4 ml/kg dozunun üzerine çıkılmamıştır. Bunun sebebi, canlılara uygulanacak dozun, aynı zamanda uygulanabilir hacim veya miktarda olması zorunluluğudur. Örneğin 70 kg ağırlığındaki bir insana, farmakolojik olarak etkili olduğu bilinen bir molekülün 50 ml'si, çok özel durumlar hariç, parenteral yoldan verilemez. Nitekim ilgili literatür tarandığında fare veya sıçanlara uygulanacak araştırma maddelerinin belirli hacim veya miktarları geçmediği görülecektir.

Trans-karyofillen ve öjenol'ün hipoglisemik aktivite yönünden değerlendirilmesinde, hem sağlıklı hem de diyabetli fareler kullanılmıştır. Her zaman mümkün olmasa da ilaçların sadece hasta canlıları etkilemesi, sağlıklı canlılar üzerinde herhangi bir olumsuz etkisinin bulunmaması arzu edilir. Bu çalışmada sağlıklı farelerin kullanılmasındaki amaç, yukarıda belirtildiği gibi, araştırılacak bileşiklerin sağlıklı farelerin kan şekeri düzeyleri üzerinde herhangi bir etkisinin olup olmadığının ortaya konulmak istenmesidir. Çizelge 3 ve Şekil 5 incelendiğinde trans-karyofillen ve öjenol'ün, 0.2 ml/kg dozunda, sağlıklı farelerde AKŞ düzeyleri üzerinde istatistiksel yönden anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Buna göre trans-karyofillen ve öjenol'ün sağlıklı farelerde AKŞ düzeyi üzerinde istenmeyen bir etkiye sahip olmadığı söylenebilir. Bu bağlamda oral antidiyabetik olarak kullanılan glibenklamid'in de sağlıklı farelerin AKŞ düzeyi üzerinde istatistiksel yönden anlamlı bir etkiye sahip olmadığı Çizelge 3'te görülmektedir.

Diyabetli fareler üzerinde; tüm çalışma gruplarının uygulama öncesi AKŞ değerleri, uygulamadan sonraki birinci, ikinci ve dördüncü saatlerde ölçülen AKŞ

değerleri Çizelge 4 ve Şekil 6’da verilmiştir. Buna göre tüm çalışma gruplarında AKŞ değerlerinin uygulama öncesinde 200 mg/dL’nin üzerinde olduğu, dolayısı ile hepsinde de deneysel olarak diyabetin oluşturulduğu görülmektedir (Singh ve ark, 2001). Serum fizyolojik verilen gruba (kontrol grubu) ait AKŞ seviyeleri çalışmanın başından sonuna kadar gittikçe azalan bir seyir göstermekte olup çalışmanın sonunda kan şekeri seviyesindeki düşme % 33.27 olarak hesaplanmıştır. Ancak bir oral antidiyabetik olan glibenklamid’in çalışmanın birinci saatinden dördüncü saatine kadar olan dönemde AKŞ düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha fazla düşürmüş olduğu, burada gözlenen düşme oranının, uygulamadan sonraki dördüncü saatte % 61.91 düzeyinde olduğu izlenmektedir (Çizelge 4, Şekil 6). Bu durum gözönüne alınarak diyabetli farelerin oral antidiyabetik bir ilaç olan glibenklamid’e olumlu cevap verdiği söylenebilir.

Çizelge 4’e göre trans-karyofillen ve öjenol uygulamalarından sonra çalışma gruplarının AKŞ seviyelerindeki değişimler aşağıda yorumlanmıştır. Trans-karyofillen (0.2 ml/kg) uygulanan diyabetli fare grubunun AKŞ düzeyleri; uygulama öncesi ortalama değere göre, trans-karyofillen uygulamasından bir saat sonra % 25.44, iki saat sonra % 11.01 ve dört saat sonra % 1.77 oranında, önce yükselen sonra gittikçe azalan ve uygulama öncesi değere yaklaşık olarak eşit düzeye gelen bir seyir izlemektedir. Trans-karyofillen (0.4 ml/kg) grubunun AKŞ değerleri ise birinci saatte % -2.08, ikinci saatte % -5.80 ve dördüncü saatte % -42.66 oranında, uygulama öncesi ortalama değere göre gittikçe azalan bir seyir göstermektedir. Öjenol (0.2 ml/kg) ve öjenol (0.4 ml/kg) gruplarındaki AKŞ seviyeleri ise sırasıyla birinci saatte % 12.89 ve % 39.16, ikinci saatte % 0.38 ve % 7.29, dördüncü saatte ise % 2.03 ve % -4.08 oranında seyretmektedir. Öjenol gruplarındaki seyir ile trans-karyofillen (0.2 ml/kg) grubundaki seyrin birbirine çok benzediği gerek Çizelge 4’te ve gerekse Şekil 6’da izlenmektedir.

Kontrol grubunun çalışmanın dördüncü saatinde izlenen AKŞ seviyesindeki değişim oranı % -33.27 oranında iken trans-karyofillen 0.2 ml/kg, öjenol 0.2 ml/kg ve öjenol 0.4 ml/kg gruplarında AKŞ düzeylerinin önce yükselmesi, sonra neredeyse çalışmanın başındaki seviyelere eşit bir düzeye gelmesi; trans-karyofillen ve öjenol’ün, ilgili çalışma gruplarında, hiperglisemik aktiviteye neden olduğu yönünde değerlendirilmiştir. Nitekim kontrol grubunun dördüncü saatteki kan şekeri düzeyi ile

adı geçen grupların kan şekeri düzeyleri karşılaştırıldığında; öjenol 0.4 ml/kg grubu hariç diğer iki grubun kan şekeri seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek seyrettiği görülmektedir. Bu durumda diyabetli farelerde trans-karyofillen ve öjenol'un 0.2 ml/kg dozlarının istatistiksel olarak da anlamlı bir hiperglisemik etkiye sebep oldukları söylenebilir. Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı çıkmasa da öjenol 0.4 ml/kg grubunun kan şekeri seviyesi üzerinde kontrol grubundaki gibi bir düşme seyri göstermediği, aksine kan şekeri seviyesinin zaman içerisindeki düşme seviyesinin % 4.08'de kaldığı görülmektedir. Pekçok bileşik veya ekstre hiperglisemik bir etki gösterebilir. Nitekim hiperglisemik etki gösteren birçok bitki ekstresi veya molekül literatürde bildirilmiştir (Amalraj ve Ignacimuthu, 2002; Ilcol ve ark., 2002).

Hiperglisemik etkisi olan ekstre veya moleküllerin saptanması, özellikle diyabet hastası olan kişiler açısından, ilgili ekstre veya moleküllerin bu kişilere verilmesi sonucu diyabete bağlı istenmeyen durumların ortaya çıkması ihtimalini azaltacaktır. Günümüzde bitkilerin çoğu hızla araştırılmakta olup içerdikleri moleküller modern yöntemlerle ortaya konulmaya başlanmıştır. Özellikle yeterince araştırılmamış bitkilerin fitoterapi amacıyla kullanımının, diyabetli hastalarda daha bir özenle olması, hatta hiperglisemi yaptığı ortaya konulmuş bitki ekstresi veya moleküllerin bu hastalara kesinlikle verilmemesi uygun olacaktır. Bu bağlamda araştırmacıların yalnızca hipoglisemik etkili ilaç arayışları yanında hiperglisemik etkili ekstre veya bileşikler üzerinde de durması, gerekli ve önemli bir durum arz etmektedir.

Bu çalışmada, trans-karyofillen (0.4 ml/kg) grubuna ait AKŞ değerlerinin zaman içerisindeki seyrinin, diğer çalışma gruplarına göre farklı olduğu görülmektedir. Bu grubun AKŞ değerleri çalışmanın başından itibaren düşmekte olup, bu düşüş dördüncü saatte % -42.66 seviyesine ulaşmaktadır. Ancak AKŞ değerlerindeki bu düşme SF grubuna göre anlamlı bulunmadı. Trans-karyofillen (0.2 ml/kg) dozu ise tam tersine hiperglisemik bir etki göstermektedir. Çeşitli moleküllerin doza bağlı olarak birbirinden farklı etkiler gösterebildiği, hatta moleküllerin belirli bir doz aralığında gösterdiği etkiyi farklı bir doz aralığında zıt yönde gösterebildiği bilinmektedir. Buna dayanarak trans-karyofillen'in daha yüksek dozlarının, diyabetli farelerde hipoglisemik etkinlik gösterebileceği düşünülebilir. Ancak uygulanacak daha yüksek dozların aynı zamanda canlılara uygulanabilir miktarda olması da ayrı bir zorunluluktur. Trans-karyofillen için 0.4 ml/kg'ın üstündeki dozlar hipoglisemik etkili bulunacak olsa bile,

gerek insanlara gerekse deney hayvanlarına pratik olarak uygulanabilecek miktarın üzerinde olacaktır. Bu nedenle çalışmamızda trans-karyofillen ve öjenol'ün 0.4 ml/kg'ın üzerindeki dozları çalışmaya değer bulunmamıştır.

Sonuç olarak trans-karyofillen ve öjenol'ün sağlıklı farelerde AKŞ üzerinde istatistiksel yönden anlamlı bir etkisinin olmadığı, diyabetli farelerde ise AKŞ'yi düşürmediği, aksine yükselterek hiperglisemik bir etki gösterdiği, bu nedenle karanfil uçucu yağının göstermiş olduğu hipoglisemik aktiviteden bu iki bileşiğin sorumlu olmadığı söylenebilir. Karanfil uçucu yağının hipoglisemik aktivitesinden, bu yağın içeriğinde bulunan diğer moleküller olan alfa-humulon, alfa-kopaen ve öjenil asetat moleküllerin sorumlu olması daha yüksek bir olasılığa sahip gibi görünmektedir. Bundan sonraki çalışmalarda bu moleküllerin hipoglisemik aktivite yönünden araştırılması önerilebilir.

ÖZET

Öntürk H, Trans-karyofillen ve öjenol'ün akut toksisitesi ve hipoglisemik etkinliğinin diyabetik fareler üzerinde araştırılması, Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Van, 2007.

Bu çalışmada trans-karyofillen ve öjenol moleküllerinin letal doz düzeyleri ile *Eugenia caryophyllata* uçucu yağının göstermiş olduğu hipoglisemik aktiviteden sorumlu olup olmadıklarının fareler üzerinde araştırılması amaçlandı. Çalışmada Balb/C ırkı fareler kullanıldı. Trans-karyofillen ve öjenol'ün letal doz düzeyleri probit analizi yöntemi ile hesaplandı. Hipoglisemik aktivite için sağlıklı ve diyabetli fareler kullanıldı. Farelerde diyabet oluşturmak için alloxan (150 mg/kg) periton içi yolla (i.p.) üç kez 48 saat arayla uygulandı. Sağlıklı fareler dört gruba ayrıldı (n=8). Gruplara serum fizyolojik (0.2 ml, i.p.), glibenklamid (3 mg/kg, oral), trans-karyofillen (0.2 ml/kg, ip) ve öjenol (0.2 ml/kg, i.p.) verildi. Diyabetli fareler altı gruba ayrıldı (n=8). Gruplara serum fizyolojik (0.2 ml, i.p.), glibenklamid (3 mg/kg, oral), trans-karyofillen (0.2 ml/kg, ip), trans-karyofillen (0.4 ml/kg, ip), öjenol (0.2 ml/kg, i.p.) ve öjenol (0.4 ml/kg, i.p.) verildi. Açlık kan şekeri (AKŞ) ölçümleri uygulama öncesinde ve uygulamadan sonraki birinci, ikinci ve dördüncü saatlerde yapıldı. Veriler tek yönlü varyans analizi ile değerlendirildi. Trans-karyofillen ve öjenol'ün LD₅₀ düzeyleri sırasıyla 2.022 ml/kg ve 0.465 ml/kg olarak hesaplandı. Sağlıklı farelerde trans-karyofillen ve öjenol AKŞ düzeyini istatistiksel yönden anlamlı seviyede etkilemedi (p>0.05). Diyabetli farelerde trans-karyofillen (0.2 ml/kg, ip), öjenol (0.2 ml/kg, i.p.) ve öjenol (0.4 ml/kg, i.p.) AKŞ seviyesini anlamlı olarak yükseltti (p<0.05). Trans-karyofillen (0.4 ml/kg) grubunda AKŞ'nin düştüğü gözlemlendi. Ancak bu etki serum fizyolojik grubundan farklı bulunmadı (p>0.05). Sonuç olarak trans-karyofillen ve öjenol'ün sağlıklı farelerde AKŞ seviyelerini etkilemediği, diyabetli farelerde ise hipoglisemik etkili olduğu söylenebilir.

Anahtar sözcükler: Diyabet, hipoglisemik aktivite, öjenol, trans-karyofillen.

ABSTRACT

Öntürk H, Evaluation of acute toxicity and hypoglycemic activity of trans-caryophyllene and eugenol on diabetic mice. Yuzuncu Yil University, Institute of Health Sciences Master Thesis in Department of Pharmacology, Van, 2007.

The aim of this study was to determine the lethal dose levels of trans-caryophyllene and eugenol, and to investigate hypoglycemic activity of *Eugenia caryophyllata* essential oil in mice. Balb/C strain mice were used in the study. The lethal dose levels of trans-caryophyllene and eugenol were calculated with probit analysis method. Healthy and diabetic mice were used for hypoglycemic activity experiments. Alloxan (150 mg/kg) was given intraperitoneally (i.p.) three times with 48h between the injections to induce diabetes in mice. Healthy mice were divided into four groups (n=8). The animals in these groups received isotonic saline (0.2 ml, i.p.), glibenclamide (3 mg/kg, oral), trans-caryophyllene (0.2 ml/kg, ip) and eugenol (0.2 ml/kg, i.p.). Diabetic mice were divided into six groups (n=8). The animals in these groups received isotonic saline (0.2 ml, i.p.), glibenclamide (3 mg/kg, oral), trans-caryophyllene (0.2 ml/kg, ip), trans-caryophyllene (0.4 ml/kg, ip), eugenol (0.2 ml/kg, i.p.) and eugenol (0.4 ml/kg, i.p.). Fasting blood sugar (FBS) levels were measured before the injections and 1h, 2h, 3h, and 4h after the injections. The data were evaluated with one-way variance analysis. LD₅₀ levels of trans-caryophyllene and eugenol were 2.022 ml/kg and 0.465 ml/kg, respectively. Trans-caryophyllene and eugenol did not cause a statistically significant change in FBS levels in healthy mice (p>0.05). In diabetic mice, trans-caryophyllene (0.2 ml/kg, ip), eugenol (0.2 ml/kg, i.p.) and eugenol (0.4 ml/kg, i.p.) increased the FBS levels significantly (p<0.05). Trans-caryophyllene (0.4 ml/kg, ip) caused a decrease in the FBS levels. However, this change was not different from that of the isotonic saline group (p>0.05). As a result, it is concluded that trans-caryophyllene and eugenol do not affect FBS level in healthy mice and cause hyperglycemia in diabetic mice.

Key words: Diabetes, eugenol, hipoglycemic activity, trans-caryophyllene.

KAYNAKLAR

- Abdel-Barry JA, Abdel-Hassan IA, Al-Hakim MHH (1997). Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol;58: 149-155.
- Adeneye AA, Agbaje EO (2007). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fresh leaf aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf. in rats. J Ethnopharmacol, 112(3): 440-444.
- Ahmad M, Akhtar MS, Malik T, Gilani AH (2000). Hypoglycaemic action of the flavonoid fraction of *Cuminum nigrum* seeds. Phytother Res, 14: 103-106.
- Akev N, Can A, Sütlüo inar N (1991). Effect of *Prunus mahaleb* seeds on blood glucose level. IX. B IHAT, 16-19 Mayıs 1991 Eski ehir, Bildiriler. Ed: Ba er KHC, Anadolu  niv Yay No: 641: 33-39.
- Al-Shamaony L, Shahba M, Al-Khazraji Twaij HAA (1994). Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba alba*. II. Effect of a valuable extract on some blood parameters in diabetic animals. J Ethopharmacol, 43: 167-171.
- Alarcon-Aquilar FJ, Jimenz-Estrada M, Reyes-Chilpa R, Gonzales-Paredes B, Contreras Weber CC, Roman-Ramos R (2000). Hypoglycemic activity of root water decoction, sesquiterpenoids, an one polysaccharide fraction from *Psacalium decompositum* in mice. J Ethnopharmacol, 69: 207-215.
- Aldrich Handbook of Fine Chemicals and Laboratory Equipment, 2003-2004, Germany, p: 46.
- Amalraj T, Ignacimuthu S (2002). Hyperglycemic effect of leaves of *Mimosa pudica* Linn. Fitoterapia, 73: 351-352.
- Amalraj T, Ignacimuthu S (1998). Evaluation of the hypoglycaemic effect of *Memecylon umbellatum* in normal and alloxan diabetic mice. J Ethnopharmacol, 62: 247-250.
- Anisimov VN, Semenchenko AV, Yashin AI (2003). Insulin and longevity: antidiabetic biguanides as geroprotectors. Biogerontology, 4: 297-307.
- Anonymous (2007). <http://en.wikipedia.org/wiki/Caryophyllene>.
- Anonymous (2007). <http://en.wikipedia.org/wiki/Eugenol>.
- Anonymous (2007). <http://en.wikipedia.org/wiki/Streptozotocin>.
- Axxora.com (http://www.axxora.com/obesity__adipokines-LKT-A4547/opfa.1.1.LKT-A4547.1637.4.1.html) (2007).

Araújo EP, De Souza CT, Ueno M, Cintra DE, Bertolo MB, Carvalheira JB, Saad MJ, Velloso LA (2007). Infliximab restores glucose homeostasis in an animal model of diet-induced obesity and diabetes. *Endocrinology*, 148(12): 5991-5997.

Bailey CJ (1992). Biguanids and NIDDM. *Diabetes Care*, 15: 755-772.

Başer KHC, Kırimer N (1997). Progress In Essential Oil Research. Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi (TBAM) Yayınları, Eskişehir-Turkey.

Baytop T (1999). Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi. İkinci Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.

Benwahhoud M, Jouad H, Eddouks M, Lyoussi B (2001). Hypoglycemic effect of *Suaeda fruticosa* in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 76: 35-38.

Berger W (1985). Incidence of severe side effects during therapy with sulphonylureas and biguanides. *Hormone and Metabolic Research*, 17 (suppl 15): 111-115.

Bodary PF, Vargas FB, King SAD, Jongeward KL, Wickenheiser KJ, Eitzman DT (2005). Pioglitazone protects against thrombosis in a mouse model of obesity and insulin resistance. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 3: 2149-2153.

Braga PC, Sasso MD, Culici M, Alfieri M (2007). Eugenol and thymol, alone or in combination, induce morphological alterations in the envelope of *Candida albicans*. *Fitoterapia*, 78(6): 396-400.

Cetto AA, Wiedenfeld H, Revilla MC, Sergio IA (2000). Hypolycemic effect of *Equisetum myriochaetumaerial* parts on streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 72: 129-133.

Ceylan E, Özbek H, Öztürk A (2004). *Eugenia caryophyllata* Myrtaceae (karanfil) uçucu yağının median letal doz (LD50) düzeyi ve sağlıklı ve diyabetli farelerde hipoglisemik etkisinin araştırılması. *Vet Bil Derg*, 20(1): 45-51.

Chang AY, Perry CS (1978). Acid glycohydrolase in Chinese hamster with spontaneous diabetes. IV. Diabetes- and line-dependent variation in plasma enzyme activity. *Diabetologia*, 15(5): 423-429.

Chen H, Feng R, Guo Y, Sun L, Jiang J (2001). Hypoglycemic effects of aqueous extract of *Rhizoma polygonatiodorati* in mice and rats. *J Ethnopharmacol*, 74: 225-229.

Cho JY, Chang HJ, Lee SK, Kim HJ, Hwang JK, Chun HS (2007). Amelioration of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by oral administration of beta-caryophyllene, a sesquiterpene. *Life Sci*, 80(10): 932-939.

Ciechanowski K, Kedzierska K, Golembiewska E, Miklaszewicz A, Domanski L, Bober J, Dutkiewicz G (2004). The influence of oxidative stress on permeability of capillary vessels in the cheek pouch of hamsters with alloxan-induced diabetes. *Vasa*, 33(4): 211-214.

- Contreras C, Roman R, Perez C, Alarcon F, Zavala M, Perez S (2005). Hypoglycemic activity of a new carbohydrate isolated from the roots of *Psacalium peltatum*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 53(11): 1408-1410.
- Da Silva SL, Figueiredo PM, Yano T (2007). Chemotherapeutic potential of the volatile oils from *Zanthoxylum rhoifolium* Lam leaves. *Eur J Pharmacol*, 576(1-3): 180-188.
- Dunn JS, Duffy E, Gilmour MK, Kirkpatrick J, McLetchie NG (1944). Further observations on the effects of alloxan on the pancreatic islets. *J Physiol*, 103(2): 233-243.
- Dutta D, Devi SS, Krishnamurthi K, Kumar K, Vyas P, Muthal PL, Naoghare P, Chakrabarti T (2007). Modulatory effect of distillate of *Ocimum sanctum* leaf extract (Tulsi) on human lymphocytes against genotoxicants. *Biomed Environ Sci*, 20(3): 226-234.
- Ejrnaes M, Von Errath MG, Christen U (2006). Cure of chronic viral infection and virus-induced type 1 diabetes by neutralizing antibodies. *Clin Dev Immunol*, 13(1): 67-77.
- Eqwim E (2005). Hypoglycemic potencies of crude ethanolic extracts of cashew roots and unripe pawpaw fruits in guinea pigs and rats. *J Herb Pharmacother*, 5(1): 27-34.
- Eyres GT, Marriott PJ, Dufour JP (2007). Comparison of odor-active compounds in the spicy fraction of hop (*Humulus lupulus* L.) essential oil from four different varieties. *J Agric Food Chem*, 55(15): 6252-6261.
- Farvid MS, Djalali M, Siassi F, Farvid SS (2007). Association of glomerular and tubular dysfunction with glycaemic control, lipid, lipoprotein, apolipoprotein and antioxidant status in type 2 diabetes mellitus. *Singapore Med J*, 48(9): 840-846.
- Ganda OP, Rossi AA Like AA (1976). Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes*, 25: 595-603.
- Ghelardini C, Galeotti N, Di Cesare Mannelli L, Mazzanti G, Bartolini A (2001). Local anaesthetic activity of beta-caryophyllene. *Farmaco*, 56(5-7): 387-389.
- Goldner MG and Gomori G (1943). Aloxan diabetes in the dog. *Endocrinology*, 33: 297-308.
- Grover JK, Vats V, Rahi SS, Dawar R (2001). Traditional Indian ant-diabetic plants attenuate progression of renal damage in streptozotocin induced diabetic mice. *J Ethnopharmacol*, 76: 233-238.
- Guénette SA, Hélie P, Beaudry F, Vachon P (2007). Eugenol for anesthesia of African clawed frogs (*Xenopus laevis*). *Vet Anaesth Analg*, 34(3): 164-170.
- Hayran M, Özdemir O (1995). *Bilgisayar İstatistik ve Tıp*. Ankara, Hekimler Yayın Birliği Medikal Araştırma Birimi, Medikomat Basımevi, Türkiye.

He M, Du M, Fan M, Bian Z (2007). In vitro activity of eugenol against *Candida albicans* biofilms. *Mycopathologia*, 163(3): 137-143.

Helliön-Ibarrola MC, Ibarrola DA, Montalbetti Y, Villalba D, Heinichen O, Ferro EA (1999). Acute toxicity and general pharmacological effect on central nervous system of the crude rhizome extract of *Kyllinga brevifolia* Rottb. *J Ethnopharmacol*, 66: 271-276.

Heperkan Y (1981). *Tıpta İstatistik Yöntem ve Uygulamaları*. Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayını, Türkiye.

İlcol YO, Gurun MS, Taga Y, Ulus IH (2002). Intraperitoneal administration of choline increases serum glucose in rat: involvement of the sympathoadrenal system. *Horm Metab Res*, 34(6): 341-347.

İmren AH ve Turan O (1985). *Klinik Tanıda Laboratuvar*. 3. baskı, Beta Basım Yayın Dağıtım AŞ, İstanbul, s: 654-661.

Jaouhari JT, Lazrek HB, Jana M (2000). The hypoglycemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycemic rats. *J Ethnopharmacol*, 69: 17-20.

Jarrett RJ (1989). Cardiovascular disease and hypertension in diabetes mellitus. *Diabetes Metab Rev*, 5: 547-558.

Jayakar B, Suresh B (2003). Antihyperglycemic and hypoglycemic effect of *Aporosa lindleyana* in normal and alloxan induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 84: 247-249.

Kavalalı G, Tuncel H, Göksel S, Hatemi H (1998). *Urtica pilulifera* (kara ısırgan) bitkisinin sıçanlar üzerindeki hipoglisemik etkisinin araştırılması. XII. BİHAT, 20-22 mayıs 1998 Ankara, Abstract Book, P-90.

Kayaalp O (2001). *Klinik Farmakolojinin Esasları ve Temel Düzenlemeler*. 2. baskı. Ankara: Hacettepe TAŞ, Türkiye.

Kimura I, Nakashima N, Sugihara Y, Fu-Jun C, Kimura M (1999). The antihyperglycaemic blend effect of taraditional Chinese Medicine Byakko-ka-ninjin-to on alloxan and diabetic KK-CAY mice. *Phytother Res*, 13: 484-488.

Kohnert KD, Axcrona UM, Hehmke B, Kloting I, Sundler F, Ahren B (1999). Islet neuronal abnormalities associated with impaired insulin secretion in type 2 diabetes in the Chinese hamster. *Regul Pept*, 82(1-3): 71-79.

Koopmans SJ, Mroz Z, Dekker R, Corbijn H, Ackermans M, Sauerwein H (2006). Association of insulin resistance with hyperglycemia in streptozotocin-diabetic pigs: effects of metformin at isoenergetic feeding in a type 2-like diabetic pig model. *Metabolism*, 55(7): 960-971.

Kouadio F, Kanko C, Juge M, Grimaud N, Jean A, Guessan YTN, Petit JY (2000). Analgesic and antiinflammatory activities of an extract from *Parkia biglobosa* used in traditional medicine in the Ivory Coast. *Phytother Res*, 14: 635-637.

Landolt-Börnstein Substance / Property Index ([http://lb.chemie.uni-hamburg.de/static/CN/2_C_caryo.php?content=113/Qr3DegHi#\(-\)-caryophyllene](http://lb.chemie.uni-hamburg.de/static/CN/2_C_caryo.php?content=113/Qr3DegHi#(-)-caryophyllene)) (2007).

Landolt-Börnstein Substance / Property Index (http://lb.chemie.uni-hamburg.de/static/CN/2_E_eugen.php?content=108/O0aiJLmN#Eugenol) (2007).

Latha M, Pari L (2004). Effect of an aqueous extract of *Scoparia dulcis* on blood glucose, plasma insulin and some polyol pathway enzymes in experimental rat diabetes. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 37: 577-586.

Lebovitz HE, Pasmantier R (1990). Combination insulin-sulfonylurea therapy. *Diabetes Care*, 13: 667-675.

Li Z, Wang X, Chen F, Kim HJ (2007a). Chemical changes and overexpressed genes in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) upon methyl jasmonate treatment. *J Agric Food Chem*, 55(3): 706-713.

Li HY, Park CK, Jung SJ, Choi SY, Lee SJ, Park K, Kim JS, Oh SB (2007b). Eugenol inhibits K⁺ currents in trigeminal ganglion neurons. *J Dent Res*, 86(9): 898-902.

Litchfield JT, Wilcoxon FWJ (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmac Exp Ther* 96: 99-113.

Marles RJ, Farnsworth NR (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2(2): 137-189.

Msaada K, Hosni K, Taarit MB, Chahed T, Marzouk B (2007). Variations in the essential oil composition from different parts of *Coriandrum sativum* L. cultivated in Tunisia. *Ital J Biochem*, 56(1): 47-52.

Quirce S, Fernández-Nieto M, Del Pozo V, Sastre B, Sastre J (2007). Occupational asthma and rhinitis caused by eugenol in a hairdresser. *Allergy*, (baskıda).

Özbek H, Ceylan E, Kara M, Özgökçe F, Koyuncu M (2004a). Hypoglycemic effect of *Rheum ribes* roots in alloxan induced diabetic and normal mice. *Scand J Lab Anim Sci*, 31(2): 113-115.

Özbek H, Öztürk M, Öztürk A, Ceylan E, Yener Z (2004b). Determination of lethal doses of volatile and fixed oils of several plants. *East J Med*, 9(1): 4-6.

Özbek H, Keskin S (2007). Standart sapma mı yoksa standart hata mı? *Van Tıp Dergisi*, 14(2): 64-67.

Özdamar K (2001). SPSS ile Biyoistatistik. 4. baskı. Eskişehir: Kaan Kitabevi, Türkiye.

Özdamar K (2004). Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi. 5. Baskı. Eskişehir: Kaan Kitabevi, Türkiye.

Öztürk Y, Altan VM, Yıldızoğlu-Arı N (1996). Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacological Reviews*, 48(1): 69-112.

Pari L, Umamaheswari J (2000). Antihyperglycaemic activity of *Musa sapientum* flowers: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. *Phytother Res*, 14: 136-138.

Park CK, Li HY, Yeon KY, Jung SJ, Choi SY, Lee SJ, Lee S, Park K, Kim JS, Oh SB (2006). Eugenol inhibits sodium currents in dental afferent neurons. *J Dent Res*, 85(10): 900-904.

Parra AL, Yhebra RS, Sardina IG, Bueal LI (2001). Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal doze (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *Phytomed*, 8(5): 395-400.

Passos GF, Fernandes ES, da Cunha FM, Ferreira J, Pianowski LF, Campos MM, Calixto JB (2007). Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. *J Ethnopharmacol*, 110(2): 323-333.

Perez RM, Perez C, Zavala MA, Perez S, Hernandez H, Lagunes F (2000). Hypoglycemic effects of lactucin-(-Omethylacrylate of *Parmentiera edulis* fruits. *J Ethnopharmacol*, 71: 391-394.

Petlevski R, Hadžija M, Slijepčević M, Juretić D (2001). Effect of “antidiabetis” herbal preparation on serum glucose and fructosamine in NOD mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 75: 181-184.

Porchezian E, Ansari SH, Shreedharan NKK (2000). Antihyperglycemic activity of *Euphrasia officinale* leaves. *Fitoterapia*, 71: 522-526.

Portha B, Levacher C, Picon L, Rosselin G (1974). Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the perinatal period. *Diabetes*, 23: 889-895.

Prince PSM, Menon VP, Pari L (1998). Hypoglycaemic activity of *Syzygium cumini* seeds: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 61: 1-7.

Pushparaj P, Tan CH, Tan BKH (2000). Effects of *Averrhoa bilimbi* leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 72: 69-76.

Rao BK, Kesavulu MM, Giri R, Rao ChA (1999). Antidiabetic and hypolipidemic effects of *Momordica cymbalaria* Hook. Fruit powder in alloxan-diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 67: 103-109.

Rao BK, Giri R, Kesavulu MM, Rao ChA (2001). Effects of oral administration of bark extracts of *Prerocarpus santalinus* L. On blod glucose level in experimental animals. *J Ethnopharmacol*, 74: 69-74.

Ribnický DM, Poulev A, Watford M, Cefalu WT, Raskin I (2006). Antihyperglycemic activity of TarralinTM, an ethanolic extract of *Artemisia dracunculus* L. *Phytomedicine*, 13: 550-557.

Rodriguez H, Perez RM, Muñoz H, Perez C, Miranda R (1975). Inducción de diabetes en raton por medio de aloxana. *Acta Med*, XI: 33-36.

Rood PP, Bottino R, Balamurugan AN, Smetanka C, Ezzelarab M, Busch J, Hara H, Trucco M, Cooper DK (2006). Induction of diabetes in cynomolgus monkeys with high-dose streptozotocin: adverse effects and early responses. *Pancreas*, 33(3): 287-292.

Sensch SO, Vierling W, Brandt W, Reiter M (2000). Effects of inhibition of calcium and potassium currents in guinea-pig cardiac contraction: comparison of beta-caryophyllene oxide, eugenol, and nifedipine. *Br J Pharmacol*, 131(6): 1089-1096.

Shah AH, Qureshi S, Ageel AM (1991). Toxicity studies in mice of ethanol extracts of *Foeniculum vulgare* fruit and *Ruta chalepensis* aerial parts. *J Ethnopharmacol*, 34: 167-172.

SigmaAldrich.com

(<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/SIAL/S0130>) (2007)

Silva WJ, Dória GA, Maia RT, Nunes RS, Carvalho GA, Blank AF, Alves PB, Marçal RM, Cavalcanti SC (2007). Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. *Bioresour Technol*, (baskıda).

Singh SN, Vats P, Suri S, Shyam R, Kumria MM, Ranganathan S, Sridharan K (2001). Effect of an antidiabetic extract of *Catharanthus roseus* on enzymic activities in streptozotocin induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 76: 269–277.

Sitasawad SL, Shewade Y, Bhonde R (2000). Role of bittergourd fruit juice in stz-induced diabetic state in vivo and in vitro. *J Ethnopharmacol*, 73:71-79.

Srinivasan K, Viswanad B, Lydia A, Kaul CL, Ramarao P (2005). Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res*, 52: 313-320.

Sriplang K, Adisakwattana S, Rungsipipat A, Yibchok-anun S (2007). Effects of *Orthosiphon stamineus* aqueous extract on plasma glucose concentration and lipid profile in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 109: 510-514.

Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V (1998). *Biyoistatistik*. 8. Baskı. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi, Türkiye.

Szkudelski T (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*, 50: 536-546.

Tambe Y, Tsujiuchi H, Honda G, Ikeshiro Y, Tanaka S (1996). Gastric cytoprotection of the non-steroidal anti-inflammatory sesquiterpene, beta-caryophyllene. *Planta Med*, 62(5): 469-470.

Tamer L, İspir T, Doran F (1997). Deneysel diyabetik sıçan modelinde kalsiyum

adenozin 5'-trifosfataz enzimi, serum malondialdehid ve alfa tokoferol düzeylerinin araştırılması. Çukurova Üniv Tıp Fak Derg, 22(3): 145-151.

Tragoolpua Y, Jatisatienr A (2007). Anti-herpes simplex virus activities of *Eugenia caryophyllus* (Spreng.) Bullock & S. G. Harrison and essential oil, eugenol. *Phytother Res* 2007 (baskıda).

Van de Maele I, Rogier N, Daminet S (2005). Retrospective study of owners' perception on home monitoring of blood glucose in diabetic dogs and cats. *Can Vet J*, 46(8): 718-723.

Vitros DT II Operator's Manual Book (2003). Johnson and Jonson Company, USA.

WHO (1980). Expert committee on Diabets Mellitus. Second Report. Technical report series 646.

WHO/Acadia (1992). Rapport de la journée internationale du diabète.

Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H (2004). Global prevalence of diabetes. *Diabetes Care*, 27: 1047-1053.

Xia T, Wang Q (2006). Antihyperglycemic effect of *Cucurbita ficifolia* fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Fitoterapia*, 77(7-8): 530-533.

Yang D, Michel L, Chaumont JP, Millet-Clerc J (1999). Use of caryophyllene oxide as an antifungal agent in an in vitro experimental model of onychomycosis. *Mycopathologia*, 148(2): 79-82.

ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Van'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Van'da, lise öğrenimini İzmir Atatürk Sağlık Meslek Lisesi'nde tamamladı. 1995-1996 eğitim-öğretim yılında Malatya İnönü Üniversitesi Hemşirelik Bölümü'nü kazandı. 1996-1997 eğitim-öğretim yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hemşirelik Bölümü'ne yatay geçiş yaptı. 1999 yılında hemşire olarak mezun oldu. 2000 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bitlis Sağlık Yüksekokulu'na okutman olarak atandı. Halen bu görevini sürdürmektedir.