

# Trans-karyofillen ve öjenol'ün akut toksisitesi ve hipoglisemik etkinliğinin diyabetik fareler üzerinde araştırılması\*

Hatice Öntürk, Hanefi Özbek

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Van

**Amaç:** Bu çalışmada trans-karyofillen ve öjenol moleküllerinin letal doz düzeyleri ile *Eugenia caryophyllata* (karanfil) uçucu yağının göstermiş olduğu hipoglisemik aktiviteden sorumlu olup olmadıklarının fareler üzerinde araştırılması amaçlandı. **Yöntem:** 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. **Bulgular:** Trans-karyofillen ve öjenol'ün LD<sub>50</sub> düzeyleri sırasıyla 2.022 ml/kg ve 0.465 ml/kg olarak hesaplandı. Sağlıklı farelerde trans-karyofillen ve öjenol AKŞ düzeyini anlamlı seviyede etkilemedi. 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. Trans-karyofillen (0.4 ml/kg) grubunda AKŞ'nin düştüğü gözlemlendi. Ancak bu etki serum fizyolojik grubundan farklı bulunmadı. **Sonuç:** Trans-karyofillen ve öjenol'ün sağlıklı farelerde AKŞ seviyelerini etkilemediği, diyabetli farelerde ise hiperglisemik etkili olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Diyabet, hipoglisemik aktivite, öjenol, trans-karyofillen

## Evaluation of acute toxicity and hypoglycemic activity of trans-caryophyllene and eugenol on diabetic mice

**Objective:** 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* (clove) essential oil in mice. **Methods:** 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 other dose of eugenol (0.4 ml/kg, i.p.). Fasting blood sugar (FBS) levels were measured before the injections and 1h, 2h and 4h after the injections. The data were evaluated with one-way variance analysis. **Results:** LD<sub>50</sub> 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. In diabetic mice, trans-caryophyllene (0.2 ml/kg, i.p.), eugenol (0.2 ml/kg, i.p.) and eugenol (0.4 ml/kg, i.p.) increased the FBS levels significantly. Trans-caryophyllene (0.4 ml/kg, ip) caused a decrease in the FBS levels. However, this change was not significantly different from that of the isotonic saline group. **Conclusion:** 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, hypoglycemic activity, trans-caryophyllene

## Genel Tıp Derg 2009;19(1): 17-23

\*Bu çalışma, Trans-karyofillen ve öjenol akut toksisitesi ve hipoglisemik etkinliğinin diyabetik fareler üzerinde araştırılması isimli Yüksek Lisans tezinden özetlenmiştir

Yazışma adresi: Yrd.Doç.Dr. Hanefi Özbek, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Van

e-posta: hanefiozbek@hotmail.com

Diyabet (DM) protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyen metabolik bir hastalık olup farmakolojik olarak tedavisi insülinle ve hipoglisemik ilaçlarla yapılmaktadır (1-3). Tedavide kullanılan farmasötik müstahzarlar hem çok pahalıdır hem de istenmeyen etkilere sebep olabilmektedirler (4). Bu nedenle günümüzde yeni ve yan etkisi daha az olan antidiyabetik ilaç arayışı için bitkisel kaynaklara ve sentetik tedavi yöntemlerine büyük bir ilgi başlamıştır (5,6). 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 kullanılabilir yeni ilaçların bulunması şansını da artırmaktadır (7). Bu bağlamda Dünya Sağlık Örgütü'nün tıbbi bitki araştırmalarına titiz bir ilgi gösterdiği bilinmektedir (8). Türkiye'de tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitki sayısı en az 500 civarındadır (9). Bu bitkilerin bir kısmı diyabet için (kan şekeri düzeyini kontrol etmek amacıyla) kullanılmakta olup bunların hipoglisemik aktivitesini belirlemek amacıyla çalışmalar yapılmaktadır (10-12).

Ceylan ve ark (13) 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.

Trans-karyofillen ( $C_{15}H_{24}$ ), doğal, bisiklik bir sesquiterpen'dir. Özellikle karanfil (clove, *Eugenia caryophyllata*, *Syzygium aromaticum*) ve karabiber (black pepper, *Piper nigrum*) gibi bitkilerin tohum, çiçek veya yapraklarından elde edilen uçucu yağın içeriğinde (14), öjenol ( $C_{10}H_{12}O_2$ ) ise karanfil (*Eugenia caryophyllata*), tulsı (*Ocimum sanctum*), şerbetçiotu (*Humulus lupulus* L.), kişniş (*Coriandrum sativum* L.) ve fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağların içeriğinde bulunur (15-18). Literatür taramasında trans-karyofillen ve öjenol'ün antidiyabetik olarak kullanılmasına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmadı.

Bu çalışmada, karanfil uçucu yağının yaklaşık % 88.9'unu oluşturan trans-karyofillen ve öjenol isimli bileşiklerin fareler üzerinde letal doz düzeylerinin saptanması, ayrıca bu moleküllerin karanfil uçucu yağının hipoglisemik etkinliğinden sorumlu olup olmadıklarının sağlıklı ve diyabetli fareler üzerinde araştırılması amaçlandı.

## Yöntem

### Deney hayvanları

Bu çalışmada 14-16 haftalık, erkek ve dişi cinsiyette, Balb/C ırkı fareler kullanıldı. Bu hayvanlar Y.Y.Ü. Tıp Fakültesi Neuroscience Araştırma Birimi Deney Hayvanları Ünitesinden sağlandı. Çalışmaya başlanmadan önce etik kurul izni alındı.

### Kimyasallar

Alloksan ve trans-karyofillen Sigma'dan (Steinheim-Germany), öjenol Aldrich'ten (Steinheim-Germany), glibenklamid ise Nobel'den (İstanbul-Türkiye) sağlandı. Alloxan serum fizyolojik içerisinde çözülerek hazırlandı (w/v).

### Letal doz (LD) düzeylerinin ölçülmesi

Her biri 8 adet erkek fare içeren 11 adet grup oluşturuldu ve kontrol grubuna sadece 0.2 ml % 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 hayvan sayısı tespit edildi. Probit analizi metodu uygulanarak letal doz düzeyleri (LD) hesaplandı (19,20).

### Farelerde deneysel diyabet oluşturulması

On sekiz saat aç bırakılan fareler tartılıp sabit kalemlerle numaralandırıldıktan sonra 150 mg/kg alloksan, serum fizyolojik içerisinde çözülerek periton içi yolla verildi. Bu işlem farelere 48 saat arayla toplam üç kez uygulandı (21). Son uygulamadan yedi gün sonra fareler tekrar 18 saat aç bırakılarak açlık kan şekeri (AKŞ) seviyelerine bakıldı; AKŞ değeri 200 mg/dL ve üzerinde olan fareler diyabetli olarak kabul edilip çalışmaya alındı, diğer fareler ise çalışma dışı bırakıldı (22).

### Trans-karyofillen ve öjenol'ün sağlıklı farelerde hipoglisemik etkisinin ölçülmesi

Çalışma grupları herbirinde sekizer adet 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 yolla uygulandı. Glibenklamid dozu Amalraj ve Ignatimuchu'nun (23) çalışmasına göre, trans-karyofillen ve öjenol dozları ise probit analizi sonuçlarına göre saptandı. Uygulamayı takiben birinci, ikinci ve dördüncü saatlerde kuyruk venlerinden birer damla kan alındı, alınan bu kan örneklerinden "glukoz-oksidad peroksidaz metodu" temelli şeker stripleri aracılığıyla MediSense Optium Blood Glucose System (Abbott, Roma-Italia) cihazında kan şekeri düzeylerine bakıldı (24).

#### **Trans-karyofillen ve öjenol'ün diyabetli farelerde hipoglisemik etkisinin ölçülmesi**

Alloksanla diyabet oluşturulmuş fareler kullanılarak herbirinde sekizer adet fare olacak şekilde çalışma grupları oluşturuldu. Birinci gruba 0.2 ml serum fizyolojik periton içi yolla, ikinci gruba glibenklamid (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 yolla uygulandı. Uygulamayı takiben birinci, ikinci ve dördüncü saatlerde kuyruk venlerinden birer damla kan alınarak bu kan örneklerinden kan şekeri düzeylerine bakıldı.

#### **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,  $p < 0.05$  olasılık değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Akut toksisite çalışması sonuçlarının (letal doz) değerlendirilmesinde probit analiz metodu kullanıldı.

Uygulama öncesi AKŞ değerine göre o an ölçülen AKŞ değeri arasındaki % değişim aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\% \text{ de\u0131\u015fim} = 100 * (n. \text{ Saatteki } \text{ \u00f6l\u00e7\u00fcm-uygulama \u00f6ncesi } \text{ \u00f6l\u00e7\u00fcm}) / \text{ uygulama \u00f6ncesi } \text{ \u00f6l\u00e7\u00fcm}$$

## **Bulgular**

### **Letal doz düzeylerinin ölç\u00fclmesi**

Trans-karyofillen ve \u00f6jenol gruplarının letal doz düzeyleri Tablo 1'de verildi. Letal doz düzeyleri: letal doz 1 (LD<sub>1</sub>: 100 adet denekten birini \u00f6ld\u00fcren doz), LD<sub>10</sub>, LD<sub>50</sub>, LD<sub>90</sub> ve LD<sub>99</sub> olacak \u015fekilde, % 95 alt ve \u00fcst g\u00fcven sınırları ile birlikte g\u00f6sterildi.

### **Uygulamaların sa\u011flıklı farelerde AK\u015f düzeyine etkisi**

Serum fizyolojik, trans-karyofillen, \u00f6jenol ve glibenklamid uygulamalarının sa\u011flıklı farelerdeki AK\u015f düzeyine etkileri Tablo 2'de verildi. Sa\u011flıklı farelerin AK\u015f düzeyleri y\u00f6n\u00fcnden \u00e7alışma grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 1. Trans-karyofillen ve \u00f6jenol'ün letal doz düzeyleri**

	Trans-karyofillen		Öjenol			
	Letal Doz D\u00fczeyleri (ml/kg)		Letal Doz D\u00fczeyleri (ml/kg)			
	Tahmini ortalama doz	% 95 g\u00fcvenlik sınırları	Tahmini ortalama doz	% 95 g\u00fcvenlik sınırları		
	Alt sınır	\u00dcst sınır	Alt sınır	\u00dcst sınır		
LD <sub>1</sub>	0.713	0.021	1.191	0.239	0.000	0.331
LD <sub>10</sub>	1.139	0.158	1.641	0.322	0.012	0.400
LD <sub>50</sub>	2.022	1.237	3.609	0.465	0.347	1.096
LD <sub>90</sub>	3.590	2.455	31.304	0.670	0.521	60.074
LD <sub>99</sub>	5.733	3.357	233.013	0.903	0.622	1834.624

**Tablo 2. \u00c7alışma gruplarının sa\u011flıklı farelerdeki a\u00e7lık kan şekeri düzeyleri (n=8)**

Gruplar	A\u00e7lık kan şekeri düzeyleri (mg/dl)			
	(ort. $\pm$ standart hata)			
	Uyg. \u00f6ncesi	1. saat	2. saat	4. saat
Kontrol (SF) (0.2 ml)	65.75 $\pm$ 5.36	79.88 $\pm$ 8.32	77.88 $\pm$ 7.48	60.88 $\pm$ 6.26
		(% 21.49)	(% 18.45)	(% -7.41)
Glibenklamid (3 mg/kg)	78.67 $\pm$ 5.02	74.83 $\pm$ 6.60	68.33 $\pm$ 4.71	67.33 $\pm$ 3.15
		(% -4.88)	(% -13.14)	(% -14.41)
T-karyofillen (0.2 ml/kg)	79.33 $\pm$ 8.72	76.67 $\pm$ 7.52	84.33 $\pm$ 6.07	68.83 $\pm$ 5.62
		(% -3.35)	(% 6.30)	(% -13.24)
Öjenol (0.2 ml/kg)	74.83 $\pm$ 4.34	65.17 $\pm$ 6.48	66.17 $\pm$ 5.21	70.67 $\pm$ 3.31
		(% -12.91)	(% 11.57)	(% -5.56)
<i>F-p değeri</i>		0.705-0.559	1.690-0.198	0.768-0.524

### **Uygulamaların diyabetli farelerde AKŞ düzeyine etkisi**

Serum fizyolojik, trans-karyofillen ve öjenol'ün diyabetli farelerde AKŞ düzeyine etkileri Tablo 3'te verildi. Serum fizyolojik uygulamasının diyabetli farelerin AKŞ seviyesini uygulama öncesine göre birinci saatte % 2.51, ikinci saatte % 7.79 ve dördüncü saatte % 17.51 oranında düşürdüğü saptandı.

Glibenklamid uygulamasının diyabetli farelerin AKŞ seviyesini uygulama öncesine göre birinci saatte % 30.02, ikinci saatte % 48.20, dördüncü saatte % 66.78 oranında düşürdüğü saptandı. Glibenklamid'in birinci, ikinci ve dördüncü saatlerde AKŞ düzeyinde meydana getirdiği düşme; hem kontrol grubu, hem de diğer gruplardaki AKŞ düzeyinde meydana gelen düşme düzeylerine göre anlamlı olarak farklı 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 ve dördüncü saatte % 1.77 oranında yükselttiği saptandı. AKŞ seviyesindeki bu yükselme kontrol grubuna göre anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Trans-

**Tablo 3. Çalışma gruplarının diyabetli farelerdeki açlık kan şekeri düzeyleri (n=8).**

Gruplar	Açlık kan şekeri düzeyleri (mg/dl)			
	Uyg. Öncesi	1. saat	2. saat	4. saat
Kontrol (SF) (0.2 ml)	295.50±23.26	288.13±23.59 (% -2.51)	272.75±23.03 (% -7.79)	243.00±19.36 (% -17.51)
Glibenklamid (3 mg/kg)	362.50±23.37	251.88±14.10 <sup>a</sup> (% -30.02)	187.63±17.29 <sup>a</sup> (% -48.20)	117.38±3.20 <sup>a</sup> (% -66.78)
T-karyofillen (0.2 ml/kg)	385.20±61.53	483.20±53.05 <sup>ab</sup> (% 25.44)	427.60±49.63 <sup>b</sup> (% 11.01)	392.00±61.57 <sup>ab</sup> (% 1.77)
T-karyofillen (0.4 ml/kg)	349.25±40.19	342.00±46.02 (% -2.08)	321.75±66.30 <sup>b</sup> (% -5.80)	172.75±71.79 <sup>ac</sup> (% -42.66)
Öjenol (0.2 ml/kg)	471.80±39.10	532.60±43.31 <sup>b</sup> (% 12.89)	473.60±35.24 <sup>b</sup> (% 0.38)	481.40±52.43 <sup>bd</sup> (% 2.03)
Öjenol (0.4 ml/kg)	343.00±29.50	477.33±09.06 <sup>ab</sup> (% 39.16)	368.00±16.64 <sup>b</sup> (% 7.29)	329.00±39.00 <sup>bd</sup> (% -4.08)

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).

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 düşürdüğü saptandı. AKŞ seviyesindeki bu düşme kontrol grubuna göre anlamlı bulundu ( $p>0.05$ ). Ayrıca 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 yükselttiği saptandı. Öjenol (0.2 ml/kg) uygulamasının çalışmanın dördüncü saatinde AKŞ seviyesini trans-karyofillen (0.4 ml/kg) grubuna göre anlamlı şekilde 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 yükselttiği, dördüncü saatte ise % -4.08 oranında düşürdüğü saptandı. Öjenol (0.4 ml/kg) uygulamasının AKŞ seviyesini birinci saatte kontrol grubuna göre anlamlı seviyede yükselttiği ( $p<0.05$ ), ikinci ve dördüncü saatlerde ise kontrol grubu ile aralarında anlamlı fark olmadığı saptandı ( $p>0.05$ ).

### **Tartışma ve sonuç**

Tablo 1 incelendiğinde; tahmini ortalama letal doz düzeyleri dikkate alındığında öjenol'ün trans-karyofillen'e göre daha düşük miktardaki dozlarının letaliteye sebep olduğu görülmektedir. Buna dayanarak öjenol'ün güvenlik indeksinin trans-karyofillen'e göre daha dar olduğu söylenebilir.

Tablo 2 incelendiğinde trans-karyofillen ve öjenol'ün, 0.2 ml/kg dozunda, sağlıklı farelerde AKŞ düzeyleri üzerinde 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 anlamlı bir etkiye sahip olmadığı görülmektedir.

Diyabetli fareler üzerinde 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 % 17.51 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 % 66.78 düzeyinde olduğu görülmektedir. Bu durum göz önüne alınarak diyabetli farelerin oral antidiyabetik bir ilaç olan glibenklamid'e olumlu cevap verdiği söylenebilir.

Trans-karyofillen (0.2 ml/kg) uygulanan diyabetli fare grubunun AKŞ düzeyleri; uygulama öncesi ortalama değere göre 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 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 yaklaşık olarak birbirine paralel seyretmektedir. Öjenol gruplarındaki seyir ile trans-karyofillen (0.2 ml/kg) grubundaki seyirin birbirine çok benzediği Tablo 3'te izlenmektedir.

Kontrol grubunun çalışmanın dördüncü saatinde izlenen AKŞ seviyesindeki değişim oranı % -17.51 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 bu 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 anlamlı düzeyde yüksek seyrettiği görülmektedir. Bu durumda diyabetli farelerde trans-karyofillen ve öjenol'ün 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, AKŞ 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 etki gösterebilir. Nitekim

hiperglisemik etki gösteren birçok bitki ekstresi veya molekül literatürde bildirilmiştir (25,26).

Hiperglisemik etkisi olan ekstre veya moleküllerin saptanması, özellikle diyabet hastası olan kişiler açısından önemli olup 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, diyabetli hastalarda fitoterapi amacıyla kullanımının daha bir özenle yapılması, 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 hafif bir düşme seyri gösterirken, çalışmanın dördüncü saatinde çok hızlı bir düşüş izlenmekte ve AKŞ değerindeki düşme % 42.66 seviyesine ulaşmaktadır. Çalışmanın dördüncü saatindeki bu düşme oranı SF grubuna göre anlamlı bulunmuştur. Çalışmanın dördüncü saatte değil de daha ileri saatlerde sonlandırılmasının, böylece çalışma gruplarına ait AKŞ düzeylerinin daha uzun süreyle izlenmesinin uygun olacağı akla gelebilir. Nitekim trans-karyofillen (0.4 ml/kg) grubunun çalışmanın dördüncü saatinde ölçülen AKŞ düzeyindeki ani düşme, diğer gruplarda da ileri saatlerde böyle bir düşme gözlenebilir miydi şeklinde bir soruyu akla getirebilir. Daha önceki çalışmalarımızda 24. saatteki AKŞ düzeyini de ölçüyorduk. Ancak aldığımız eleştiriler bunun etik olup olmadığının iyice sorgulanması gerektiği yönündeydi. Çünkü 18 saat süreyle aç bırakılan farelerin, ek olarak 24 saat süreyle izlenecek olması, toplam 42 saatlik bir açlık periyodu gerektirmektedir. Bu nedenle yaptığımız literatür taramasında çalışmaların genellikle 4. saatte sonlandırıldığını saptadık. Biz de bu çalışmayı 4. saatte sonlandırdık. 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, “canlılara uygulanabilir 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 çok 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 anlamlı bir etkisinin olmadığı, diyabetli farelerde ise AKŞ'yi düşürmediği, aksine yükselterek hiperglisemik etki gösterdiği, bu nedenle karanfil uçucu yağının göstermiş olduğu hipoglisemik aktiviteden bu iki bileşiğin sorumlu olmadığı söylenebilir. Karanfil uçucu yağının hipoglisemik aktivitesinden, bu uçucu yağın içerisinde bulunan diğer moleküller olan alfa-humulen, alfa-kopaen ve öjenil asetat moleküllerin sorumlu olması daha yüksek bir olasılığa sahip gibi görünmektedir. Bundan sonraki çalışmalarda bu moleküllerin araştırılması önerilebilir.

## Kaynaklar

1. Alarcon-Aquilar FJ, Jimenez-Estrada M, Reyes-Chilpa R, Gonzales-Paredes B, Contreras Weber CC, Roman-Ramos R. Hypoglycemic activity of root water decoction, sesquiterpenoids, an one polysaccharide fraction from *Psacalium decompositum* in mice. J Ethnopharmacol 2000,69:207-15.
2. Lebovitz HE, Pasmantier R. Combination insulin-sulfonylurea therapy. Diabetes Care 1990,13:667-75.
3. Bailey CJ. Biguanids and NIDDM. Diabetes Care 1992,15:755-72.
4. Berger W. Incidence of severe side effects during therapy with sulphonylureas and biguanides. Hormone Metabolic Res 1985,17:111-5.
5. Marles RJ, Farnsworth NR. Antidiabetic plants and their active constituents. Phytomedicine 1995,2:137-89.
6. Rao BK, Giri R, Kesavulu MM, Rao ChA. Effects of oral administration of bark extracts of *Prerocarpus santalinus* L. On blod glucose level in experimental animals. J Ethnopharmacol 2001,74:69-74.
7. Petlevski R, Hadžija M, Slijepčević M, Juretić D. Effect of “antidiabetic” herbal preparation on serum glucose and

fructosamine in NOD mice. J Ethnopharmacol 2001,75:181-4.

8. WHO. Expert Committee on Diabetes Mellitus. Second Report. Technical report series, p: 646, 1980.
9. Baytop T. Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi. İkinci Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1999.
10. Akev N, Can A, Sütlüpinar N. Effect of *Prunus mahaleb* seeds on blood glucose level. IX. BİHAT, 16-19 Mayıs 1991 Eskişehir, Bildiriler. Ed: Başer KHC, Anadolu Üniv Yay No: 641: 1991, ss: 33-9.
11. Kavalalı G, Tuncel H, Göksel S, Hatemi H. Urtica pilulifera (kara ısırgan) bitkisinin sıçanlar üzerindeki hipoglisemik etkisinin araştırılması. XII. BİHAT, 20-22 Mayıs 1998 Ankara, Abstract Book, P-90.
12. Özbek H, Ceylan E, Kara M, Özgökçe F, Koyuncu M. Hypoglycemic effect of Rheum ribes roots in alloxan induced diabetic and normal mice. Scand J Lab Anim Sci 2004,31:113-5.
13. Ceylan E, Özbek H, Öztürk A. Eugenia caryophyllata Myrtaceae (karanfil) uçucu yağının median letal doz (LD50) düzeyi ve sağlıklı ve diyabetli farelerde hipoglisemik etkisinin araştırılması. Vet Bil Derg 2004,20:45-51.
14. Anonymous (2007) <http://en.wikipedia.org/wiki/Caryophyllene>
15. Dutta D, Devi SS, Krishnamurthi K, Kumar K, Vyas P, Muthal PL, et al. Modulatory effect of distillate of Ocimum sanctum leaf extract (Tulsi) on human lymphocytes against genotoxicants. Biomed Environ Sci 2007,20:226-34.
16. Eyres GT, Marriott PJ, Dufour JP. Comparison of odor-active compounds in the spicy fraction of hop (*Humulus lupulus* L.) essential oil from four different varieties. J Agric Food Chem 2007,55:6252-61.
17. Msaada K, Hosni K, Taarit MB, Chahed T, Marzouk B. Variations in the essential oil composition from different parts of *Coriandrum sativum* L. cultivated in Tunisia. Ital J Biochem 2007,56:47-52.
18. Li Z, Wang X, Chen F, Kim HJ. Chemical changes and overexpressed genes in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) upon methyl jasmonate treatment. J Agric Food Chem 2007,55:706-13.
19. Litchfield JT, Wilcoxon FWJ. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J Pharmac Exp Ther 1949,96:99-113.
20. Kouadio F, Kanko C, Juge M, Grimaud N, Jean A, Guessan YTN, et al. Analgesic and antiinflammatory activities of an extract from *Parkia biglobosa* used in traditional medicine in the Ivory Coast. Phytother Res 2000,14:635-7.
21. Rodriguez H, Perez RM, Muñoz H, Perez C, Miranda R. Inducción de diabetes en raton por medio de aloxana. Acta Med 1975, XI: 33-6.
22. Singh SN, Vats P, Suri S, Shyam R, Kumria MM, Ranganathan S, et al. Effect of an antidiabetic extract of *Catharanthus roseus* on enzymic activities in streptozotocin induced diabetic rats. J Ethnopharmacol 2001,76:269-77.
23. Amalraj T, Ignacimuthu S. Evaluation of the hypoglycaemic effect of *Memecylon umbellatum* in normal and alloxan diabetic mice. J Ethnopharmacol 1998,62:247-50.

24. İmren AH ve Turan O. Klinik Tanıda Laboratuvar. 3. baskı, Beta Basım Yayım Dağıtım AŞ, İstanbul, ss: 654-61,1985.
25. Amalraj T, Ignacimuthu S. Hyperglycemic effect of leaves of *Mimosa pudica* Linn. *Fitoterapia* 2002,73:351-2.
26. Ilcol YO, Gurun MS, Taga Y, Ulus IH. Intraperitoneal administration of choline increases serum glucose in rat: involvement of the sympathoadrenal system. *Horm Metab Res* 2002,34:341-7.