

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**1,5-DİARİLPİRAZOL-3-PROPANOİK ASİT TÜREVLERİNİN
ANALJEZİK VE ANTİİNFLAMATUVAR ETKİ YÖNÜNDEN TARANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. GÖKŞEN SİBEL ARKUN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. NURETTİN ABACIOĞLU

ANKARA
HAZİRAN 2011

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**1,5-DİARİLPİRAZOL-3-PROPANOİK ASİT TÜREVLERİNİN
ANALJEZİK VE ANTİİNFLAMATUVAR ETKİ YÖNÜNDEN TARANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. GÖKŞEN SİBEL ARKUN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. NURETTİN ABACIOĞLU

ANKARA
HAZİRAN 2011

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 23/06/2011



İmza

Prof. Dr. Nurettin ABACIOĞLU
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı



İmza

Prof. Dr. Erden BANOĞLU
Gazi Üniversitesi



İmza

Yrd. Doç Dr. M. Orhan ULUDAĞ
Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	I
İçindekiler	II
Şekiller, Resimler, Grafikler	V
Tablolar	VII
Semboller, Kısaltmalar	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Ağrı	
2.1.1. Ağrı Sınıflaması	4
2.1.2. Ağrı Mekanizmaları	6
2.1.2.1. Periferik Ağrı Mekanizmaları	6
2.1.2.2. Santral Ağrı Mekanizmaları	12
2.1.3. Ağrı Tedavisi	17
2.1.3.1. Narkotik Analjezikler	18
2.1.3.2. Non-steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar	20
2.1.4. Deney Hayvanlarında Ağrı Oluşturma Metodları	23
2.1.4.1. Termal Uyarı İle Oluşturulan Ağrı Modelleri	24
2.1.4.2. Mekanik Uyarı İle Oluşturulan Ağrı Modelleri	28
2.1.4.3. Kimyasal Uyarı İle Oluşturulan Ağrı Modelleri	29
2.2. İnflamasyon	31
2.2.1. İnflamasyon Mekanizmaları	33
2.2.2. Araşidonik Asit Mekanizması ve İnflamasyondaki Yeri	38
2.2.2.1. Siklooksijenaz Yolağı	40
2.2.2.2. Lipooksijenaz Yolağı	41
2.2.3. İnflamasyon Tedavisi	43

3. GEREÇ VE YÖNTEM	46
3.1. Deney Hayvanları	46
3.2. Kimyasal Maddeler	46
3.3. Araç ve Gereçler	47
3.4. Deney Gurupları ve Yöntem	48
3.4.1. Deney Gurupları	48
3.4.2. Kıvrınma Aljezi Yöntemi	49
3.4.3. Pençe Ödemi Yöntemi	51
3.4.4. Mortalite ve ülserojenik aktivite ölçümü	52
3.5. İstatistiksel Analiz	52
4. BULGULAR	54
4.1. Kullanılan Maddelerin Oluşturduğu Antinosiseptif Aktiviteler	54
4.2. Kullanılan Maddelerin Fare Pençe Ödemi Üzerindeki Etkileri	57
4.2.1. Kullanılan Maddelerin Oluşturdukları Pençe Ödeminin Zamanla Değişimi	57
4.2.2. Kullanılan Maddelerin İnflamasyonunun II. Fazında Oluşturdukları %Antiinflamatuvar Aktiviteler	59
4.2.3. SNY 424'ün Antiinflamatuvar Aktivitesinde Doz-Yanıt İlişkisi	61
4.2.4. SNY 39'un Antiinflamatuvar Aktivitesinde Doz-Yanıt İlişkisi	62
4.2.5. Kullanılan Maddelerin Ülserojenik Aktivite ve Akut Toksikite (Mortalite) Değerleri	63
5. TARTIŞMA	65
6. SONUÇ	73
7. ÖZET	74
8. SUMMARY	76

9. KAYNAKLAR	78
10. EKLER	87
11.ÖZGEÇMİŞ	90

ŞEKİLLER, RESİMLER, GRAFİKLER

Şekil 1. Periferik sinir hücrendeki akson çapları ve iletim hızları	7
Şekil 2. Periferik sensitizasyonun şematik gösterimi	14
Şekil 3. Santral sensitizasyonun şematik gösterimi	15
Şekil 4. Kuyruk daldırma test düzeneği	25
Şekil 5. Sıcak tabla test düzeneği	27
Şekil 6. Randall-Sellito test düzeneği	29
Şekil 7. İnflamasyon sürecindeki lökosit olayları	36
Şekil 8. Araşidonik asit metabolizması	39
Şekil 9. Farelerde p-BK (parabenzokinon) ile oluşturulan kıvrınma aljezi modelinde, İbuprofen ve pirazol türevi maddelerin (50 mg/kg, s.c.) uygulamaları ile oluşan kıvrınma sayıları	56
Şekil 10. Fare pençelerinde karragenin (carrageenan; CG) ile oluşan ödemin zamanla değişimi.	58
Şekil 11. Farede karragenin (CG) ile oluşturulan pençe ödeminin II. fazında (270. dakika) İbuprofen ve Pirazol türevlerinin (50mg/kg, s.c.) % antiinflamatuvar aktivitelerinin Dimetil Sülfoksit (DMSO) ile karşılaştırılması	60
Şekil12. Farede karragenin ile oluşturulan pençe ödeminin (inflamasyonun) II. fazında (270.dakika) de SNY 424'ün doz-yanıt eğrisi	61

Şekil13. Farede karragenan ile oluşturulan pençe ödeminin (inflamasyonun) II. fazında (270.dakika) de SNY 39'un doz-yanıt eğrisi	62
Şekil 14. Deneylerde kullanılan 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit türevlerinin sentez şekli ve analjezik, antiinflamatuvar aktiviteleri araştırılan türevler	65

TABLULAR

Tablo 1. NSAİ'lerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması	21
Tablo 2. Siklooksijenaz Yolağı Ürünleri	41
Tablo 3. Lipooksijenaz Yolağı Ürünleri	43
Tablo 4. Test edilen maddelerin % antinosiseptif aktiviteleri, faz II'deki (270. dakika) antiinflamatuvar aktiviteleri ve midede ülserasyon oranları.	63

SEMBOLLER, KISALTMALAR

NSAİİ	: Non-steroidal antiinflamatuvar ilaç
COX	: Siklooksijenaz
CGRP	: Kalsitonin gen ilişkili peptid
WDR	: Wide dynamic range
EAA	: Eksitatör aminoasit
NMDA	: N-metil D-aspartik asit
Non-NMDA	: Non N-metil D-aspartik asit
GABA	: Gama amino bütirik asit
5-HT	: Alfa adrenerjik serotonin
AFF	: Afferent
EFF	: Efferent
NGF	: Nerve growth factor
SSS	: Santral sinir sistemi
PG	: Prostaglandin
TAF	: Trombosit aktive edici faktör
PAF	: Platelet aktive edici faktör
HPETE	: Hidroperoksieikozatetraenoikasit
HETE	: Hidroeikozatetraenoikasit
cAMP	: Siklik adenzin mono fosfat
DMSO	: Dimetil sülfoksit
SF	: Serum fizyolojik
p-BK	: Parabenzokinon
CG	: Karragenin
İBU	: İbuprofen

1. GİRİŞ

İnsanoğlu çok eski çağlardan beri ağrının nedenini anlamaya ve ağrıyı gidermeye çalışmıştır. Eski medeniyetler basınç, ısı, güneş, su gibi kaynakları ağrıyı gidermek için kullanmışlardır. Eski yazıtlardan elde edilen bilgilere dayanarak medeniyetlerin, ağrının bir tür büyü, delilik ve şeytan işi olduğuna inandıkları halde ağrının nedenini ve kaynağını araştırmayı bırakmadıkları anlaşılmıştır. Bilimin ve bilimsel yöntemlerin gelişmesine paralel olarak ağrı mekanizmalarının anlaşılması ve analjezi yöntemlerinin geliştirilmesi, araştırmacıların en büyük ilgi alanlarından biri olmaya devam etmektedir. Hippocrates ağrı dindirmenin Tanrı sanatı olduğunu söylemiştir. İnsanoğlunun varoluşundan beri iç içe yaşadığı ağrı Albert Schweitzer'e göre ölümden bile daha korkunçtur. Bu nedenle tarih öncesi dönemlerden beri insanların ağrıyı dindirmek için içgüdüsel davranışlara, dinsel inançlara, büyüye ve giderek folklorik droglara başvurması şaşırtıcı değildir¹.

Ağrı hastayı bunaltan, davranış ve düşüncelerini bozan, bir yandan da ağrıyı durdurmayı amaçlayan aktivitelerin yapılmasına yönelten, davranışsal tepkilere ve otomatik değişikliklere neden olan karmaşık algılamalarla ilgili bir deneyimdir². Geçmişte sadece çeşitli hastalıkların bir bulgusu olarak kabul edilen özellikle kronik ağrı artık başlı başına bir hastalık, bir sendrom olarak ele alınmaya başlanmıştır. Tıpta birçok dal ağrılı hastalıklarla ilgilidir³.

Ağrı ile ilgili olarak çok sayıda belirlenen faktörün rol oynadığı ve çoğu durumda ağrının nedeninin klinik olarak tespit edilemediği bilinmektedir. Günümüzde ağrının tedavisinde, farmakolojik açıdan

opiooidler ve opiooid olmayan (adjuvan) olarak iki ana gruba ayırabileceğimiz ilaçlar kullanılmaktadır⁴. Narkotik analjezikler olarak da adlandırılan opiooidlerin, bağımlılık yapma ve tolerans oluşturma gibi ciddi yan etkilerinin yanında solunum depresyonu, konstipasyon, bulantı-kusma, kaşıntı ve sedasyon gibi kullanımını kısıtlayan pek çok yan etkileri de bulunmaktadır^{4,5}.

Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİİ) dünyada en fazla reçetelenen analjezik ilaçlardır ve akut ağrı sendromundaki etkileri oldukça iyi bilinmektedir⁶. NSAİİ'ler akut ve kronik ağrının kontrolünde oldukça fazla kullanılırlar ve orta-ağır ağrı durumunun olduğu hastalarda etkilidirler. Genel olarak NSAİİ'ler inflamasyon prosesini yöneten prostaglandinleri katalizleyen Siklooksijenaz-1 (COX-1) ve Siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimlerini inhibe ederek değişik derecelerde analjezik, antipiretik, antiinflamatuvar etki gösterirler. Ayrıca bazı NSAİİ'lerin endojen opiooid sistem üzerinden de antinosiseptif etkileri olduğu bilinmektedir^{7,8}. COX-1 enzimi yapısalıdır ve plateletler tarafından tromboksan sentezinden ve ağrı duyusunun transmisyonundan sorumludur⁹. COX-2 ise indüklenebilir enzimdir ve inflamasyon durumunda prostaglandinlerin oluşmasında aktif olarak rol alır. Prostaglandinler (PG), gastrik mukozanın idamesi, renal kan basıncının regülasyonu ve endotelial tonüsün regülasyonu gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonları yönetirler. Aynı zamanda inflamatuvar ve nosiseptif proseslerde de önemli rol oynarlar¹⁰. NSAİİ'ler, solunum depresyonuna yol açmadıkları ve gastrointestinal motiliteye zarar vermedikleri anlaşıldıktan itibaren, hafif ve günlük ameliyatlardan sonra oluşan ağrı tedavisinde de klinik olarak kullanılmaya başlanmıştır^{11,12}.

NSAİİ'ler analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar olarak klinik uygulamalarda en büyük paya sahip ve tüm ilaçlar arasında en fazla

müstahzar örneği olan ilaç grubudur. Ancak, bu grup ilaçların bağımlılık yapmama ve tolerans geliştirmeme gibi avantajlarının yanında mide ve duodenum ülseri, gastrointestinal kanama, karaciğer hasarı, hipertansiyon gibi önemli dezavantajları da vardır. Özellikle gastrointestinal yan etkilerin varlığının gerek hayatı tehdit eden kanamalara yol açabilmesi gerekse yaşam kalitesini düşürmesi ve tedavi maliyetlerini artırması günümüzde daha az yan etkiye sahip, daha etkili, daha ucuz alternatiflerinin bulunması çalışmalarının devam etmesine neden olmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar bilinen NSAİİ moleküllerinin amit ve ester türevlerinin hazırlanarak antiinflamatuvar etkileri yüksek ve gastrointestinal yan etkileri az moleküllerin geliştirilebildiğini göstermiştir. Biz bu çalışmada 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit'in daha önce sentezlenmemiş ester ve amit türevlerini hazırlayarak, analjezik ve antiinflamatuvar etkilerini ve aynı zamanda ülserasyon oluşturma potansiyellerini göstermeyi planladık. Bu sayede bilinen NSAİİ'lerin daha güvenli formlarını elde edilerek ilaç adayı olma potansiyelleri değerlendirilebilecek ve daha ileri araştırmaların temelini oluşturabilecek sonuçlar elde etmeyi amaçladık. Elde ettiğimiz verilerin ağrının tedavisi ve yönetilmesinde yeni alternatiflerin ortaya çıkarılmasına katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. AĞRI

Ağrı, Uluslararası Ağrı Araştırmaları Teşkilatı tarafından “vücudun herhangi bir yerinden kaynaklanan olası bir doku hasarı ile birlikte seyreden insanın geçmişteki tüm deneyimlerini kapsayan, hoş olmayan, emosyonel ve sensoryal bir duyu” olarak tanımlanmaktadır. Bir başka tanıma göre ise ağrı; “bedenin içten ya da dıştan bir uyarı karşısında gösterdiği bir savunma mekanizması”dır¹³. Ağrı, vücut için bir şeylerin yolunda gitmediğinin sinyallerini veren koruyucu bir mekanizma olarak da düşünülebilir. Bu tanıma göre ağrı öznel bir kavramdır.

2.1.1. Ağrı sınıflaması

Ağrın sınıflandırılması oldukça karmaşıktır¹⁴. Ağrının sınıflandırılması mekanizmalarına, süresine, etyolojisine veya ortaya çıktığı bölgeye göre aşağıdaki şekilde yapılabilir¹⁵.

Nörofizyolojik mekanizmasına göre;

- a. Nosisseptif
- b. Somatik
- c. Visseral
- d. Nöropatik (non-nosisseptif)

- I. Merkezi
- II. Periferik
- e. Psikojenik

Süreye bağlı olarak;

- a. Akut
- b. Kronik

Etiyolojik olarak;

- a. Kanser ağrısı
- b. Postherpetik nevralji
- c. Orak hücre anemisine bağlı ağrı
- d. Artrit ağrısı

Bölgesel olarak;

- a. Baş ağrısı
- b. Yüz ağrısı
- c. Bel ağrısı
- d. Pelvik ağrı

2.1.2. Ağrı Mekanizmaları

2.1.2.1 Periferik Ağrı Mekanizmaları

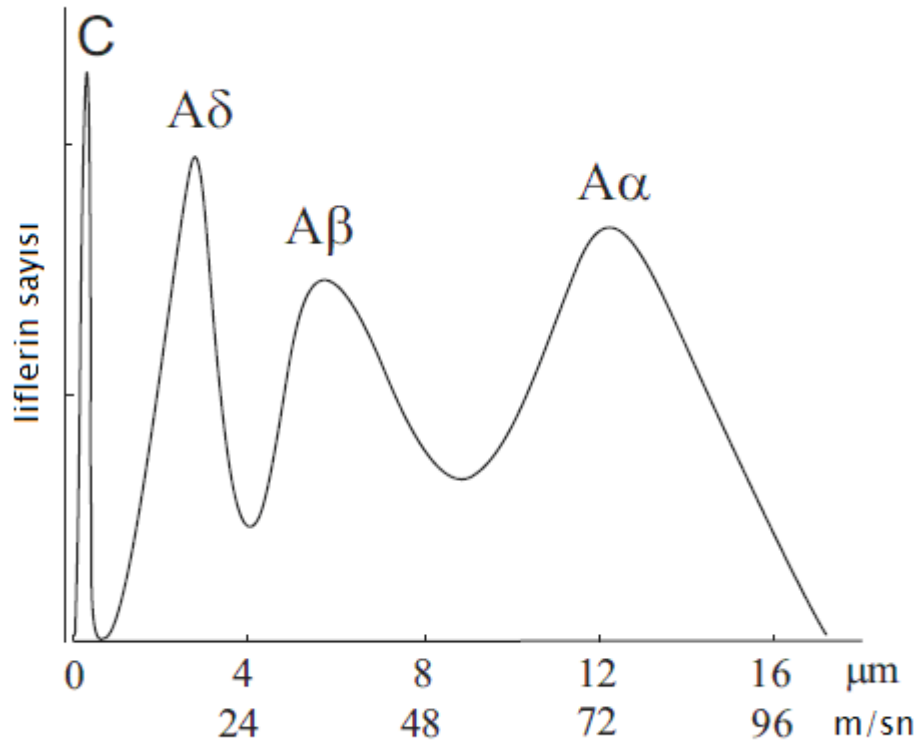
Primer Afferent Nosisseptörler

Nosisseptif süreçlerin başlangıç noktası primer afferent nosisseptörlerdir. Bunlar mekanik, termal ve kimyasal uyarılara yanıt veren sinir uçlarıdır¹⁴. Ağrılı uyarının algılanmasını sağlayan reseptörler bütün vücutta yaygın olarak bulunur. *Nosisseptör* adı verilen bu yapılar, dokuya bağlı olarak özelleşen serbest sinir sonlanmalarıdır ve ağrının türüne spesifiktir¹⁵.

Nosisseptörler termal, mekanik, polimodal ve sessiz olmak üzere dört tipte bulunur. Deride ve daha derin dokularda tüm nosisseptör tipleri bulunurken, visseral organlarda sessiz nosisseptör denilen, inflamasyon ve bazı kimyasal ajanlarla aktive olarak ağrı algısına yol açan reseptörler bulunur¹⁵.

Mekanik nosisseptörler güçlü basınç uyarılarına cevap verirken, termal nosisseptörler çok sıcak veya çok soğuk (>45°C or <5°C) derecedeki uyarılara cevap verirler. Her iki nosisseptör de impulsları 3-40 m/s hızla ileten miyelinli A sinir liflerine sahiptir. Bu iki tip nosisseptör A (δ - β) mekano-termal nosisseptörler olarak adlandırılır. Polimodal nosisseptörler mekanik, termal ve kimyasal zararlı uyarılara cevap verirler ve impulsları 3m/s hızından daha yavaş ileten, miyelinsiz C sinir liflerine sahiptirler. Miyelinli A (δ - β) lifleri kesici, iğneleyici ağrı iletiminden sorumluyken,

miyelinsiz C lifleri hafif, yakıcı ağrı iletiminden sorumludur. Sessiz nosiseptörler inflamatuvar mediyatörler gibi kimyasal uyanlarla aktive edilirler ve sadece aktive edildiklerinde mekanik ve termal uyarana cevap veririler¹⁶.



Şekil 1. Periferik sinir hücreesindeki akson çapları ve iletim hızları. Akson çapları mikrometre ve iletim hızları saniyedeki metre olarak verilmiştir. C sinir lifleri miyelinsiz, A sinir lifleri miyelinlidir¹⁷.

Nosiseptif ağrı mekanik, kimyasal veya termal olarak doku bütünlüğüne hasar veren zararlı bir etken tarafından nosiseptif sistemin aktivasyonunun bir sonucudur¹⁸. Nosiseptif sistem periferik dokularda başlar, omuriliği kapsayarak beyin sapına ve talamusa bağlanır, ağrı

duygusunun hissedildiği serebral kortekste sonlanır. Periferik dokular, periferik terminallerinde spesifik reseptörler veya iyon kanalları içeren oldukça özelleşmiş primer duyuşsal nöronlar olan nosiseptörler tarafından innerve edilir. Bu reseptörlerin veya iyon kanallarının zararlı bir etken tarafından aktivasyonu, ağrı algılanması için daha sonra beyne aktarılan depolarizasyon akımını başlatır¹⁹.

Periferik Ağrı Algılanma Aşamaları

Ağrılı uyarın ile periferik dokularda meydana gelen değişiklikler üst merkezlere 4 aşamayla iletilir. Bu aşamalar;

1. Transdüksiyon (Dönüşüm)
2. Transmisyon (İletim)
3. Modülasyon (Dönüşümde değişim)
4. Persepsiyon (Algılama)

olarak adlandırılırlar.

Transdüksiyon: Bir enerjinin başka bir enerjiye dönüşmesidir. Örneğin; her sıcak uyarın ağrılı değilken, sıcak bir uyarının ağrılı bir hale geçebilmesi için belirli bir derecenin üzerine çıkması gerekir. Nosiseptörler normal bir ısıya karşı duyarsız kalırken, ısının artışı ile duyarlı hale geçerler¹⁴.

Transmisyon: Nosiseptörler tarafından algılanan ağrı bilgisinin daha üst merkezlere doğru iletilmesidir. Bu iletilmede miyelinli A delta lifleri ile miyelinsiz C lifleri rol alır¹⁴.

Modülasyon: Nosiseptif transmisyondun nöral etkenlerle modifiye olmasdır²⁰. Ağrılı uyarand omurilikte değişikliğe uğrar ve daha üst merkezlere iletilir¹⁴.

Persepsiyon: Omurilikten geçen uyarandın çeşitli çıkan yollar aracılığı ile üst merkezlere doğru iletilip ağrının algılanmasıdır¹⁴.

Ağrının algılanması santral sinir sistemine iki ana yolak ile ulaşır. Bu yolaklar nosiseptif stimülasyonun doğasını, lokasyonunu, şiddetini ve süresini analiz eden duyuşal ayırt edici sistem ve ağrının etkin komponentini taşıyan filogenetik sistemdir^{21,22}.

Periferik Duyarlılaşıma (Sensitizasyon)

Nosiseptör sensitizasyonu, ağrının algılanması ve ağrıya verilen cevabın artması ile sonuçlanan periferik hiperaljezi fenomeninin altında yatar. Hiperaljeziyi değerlendirmek amacıyla prostanooidlerin üretilmesi veya doku zedelenmesi, inflamasyon, anoksi ve düşük pH aracılığıyla nosiseptör sensitizasyonu gibi, nosiseptörlerin direkt aktivasyonunu içeren bir takım mekanizmalar önerilmiştir²³.

İnflamatuvar sürecin bir parçası olarak tahrip olan bölgelerde makrofaj, lenfosit ve mast hücrelerinden çeşitli intrasellüler maddeler salgılanır. Nosiseptif uyarandın kendisi de nörojenik bir inflamasyon cevabı oluşturarak P maddesi, nörokinin A, kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP), salgılanmasına yol açar. Bu peptidlerin salgılanması sensoryal ve

sempatik sinir liflerinde uyarılmada değişikliğe, vazodilatasyona, plazma proteinlerinin ekstravazasyonuna ve inflamatuvar hücrelerin çeşitli kimyasal mediyatörler salgılamasına yol açar. Bu şekilde K⁺, serotonin, P maddesi, nitrik oksit ve siklooksijenaz ve lipooksijenaz yolaklarındaki inflamatuvar mediyatörlerin salgılanması yüksek ağrı eşiği olan nosiseptörleri uyararak periferik sensitizasyon dediğimiz olayı meydana getirirler¹⁴. Sonuçta zayıf, önceden zararlı olmayan uyarılar bile nosiseptörleri aktive eder ve ağrı oluştururlar. Periferik sensitizasyon, oluşan hassasiyetin inflamatuvar mediyatörlerle indüklendiği bir süreç olduğundan tedavide antiinflamatuvar ilaç gruplarını tercih etmek kimyasal mediyatörleri bloke ederek sensitizasyonun etkilerini azaltır. Periferde travma sonrasında oluşan olaylar periferik sensitizasyon ve primer hiperaljezi denilen duruma yol açar²⁴. Normalde ağrısız olan mekanik uyarılara karşı hassasiyet (allodini) meydana gelebilir. Bu değişiklikler travma sonrasında omurilik arka boynuzunda meydana gelen olaylara bağlıdır ve bu da *santral sensitizasyon* olarak tanımlanır²⁵.

Ağrı İletim Teorileri

Bugüne kadar ağrı ile ilgili üç önemli teori ileri sürülmüştür. Bunlar spesifik teori, kalıp (pattern) teorisi ve kapı kontrol teorisidir .

Spesifik Teori: ağrı spesifik lifler ile iletilir. Periferden başlayan özel sinir lifleri merkezi sinir sisteminde spesifik bir alanda sonlanır. Bu teorinin doğru olmadığı kanıtlanmıştır¹⁴.

Kalıp Teorisi: ağrı impulsu omuriliğe girdikten sonra ağrı duyusunun başlaması için uyarının birikmesi gerekir. Nöronun bir

kollaterali kendisinin yeniden uyarılması için uyarılır. Bu pozitif feedback mekanizma nöronu sürekli deşarj halinde tutar¹⁴.

Kapı Kontrol Teorisi; 1965 yılında Melzack ve Wall tarafından ileri sürülmüştür. Bu teoriye göre deriden gelen ağrılı uyarılar omurilik ve beyinde modülasyona uğrarlar¹⁴.

Deriden gelen ağrı uyarıları omurilikte üç değişik sisteme iletilirler: dorsal kolon, arka boynuz santral transmisyon hücreleri (T hücreleri) ve substantia gelatinosa hücreleri. Substantia gelatinosadaki kapı hücreleri presinaptik inhibisyona yol açarlar. Melzack ve Wall ince liflerin kapı hücrelerini inhibe ettiğini ve kapıyı açık tuttuğunu ileri sürmektedir¹⁴.

Ağrılı uyarı uzadığı zaman kalın lifler adapte olmakta ve ince lifler baskın çıkmaktadır. Böylelikle kapı açılmakta ve T hücrelerinden akım artmaktadır²⁶.

2.1.2.2. Santral Ağrı Mekanizmaları

Medulla spinalisin arka boynuzu primer afferent sinirlerin sonlandığı merkezdir. Primer afferent sinirler genellikle Lamina 1, 2 ve 5'te sonlanırlar. Bazı lifler Lissauer traktusu içerisinde belirgin segmentler boyunca inip çıkarak daha üst merkezlere doğru giden nöronlarda sonlanırlar. İki tip ikinci sıra arka boynuz nöronu (internöron) vardır:

Tip 1 internöronlar; nosiseptif spesifik yada yüksek eşik değerdendirler. Yüzeysel laminalarda yer alır ve özellikle ağırlı uyarılara yanıt verirler.

Tip 2 internöronlar; Wide Dynamic Range (WDR) nöronlardır; daha derin laminalarda yer alırlar ve hem ağırlı hem de ağırsız uyarılara yanıt verirler. Primer nosiseptif afferentlerden gelen uyarılar gibi düşük eşikli mekano-reseptörlerden gelen uyarıları da kabul ederler. Bu nöronlar aşırı hassas hale gelebilirler ve bu durumda dokunma uyarısına karşı da ağırlı cevap verebilirler²⁶.

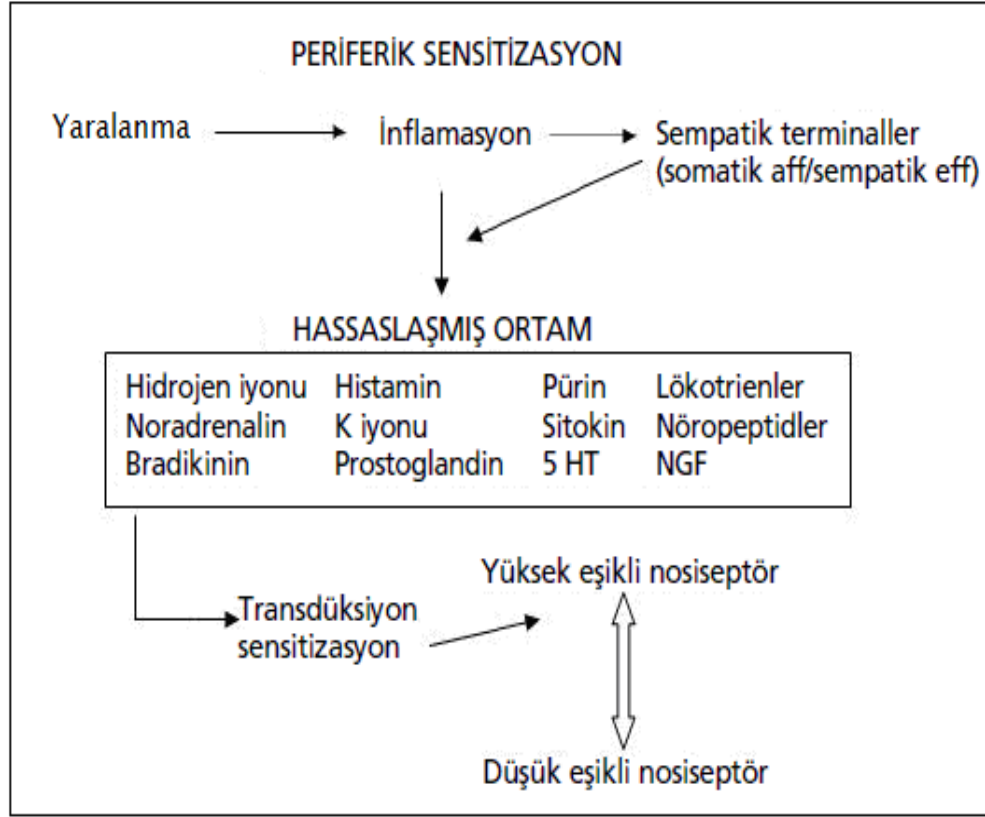
Merkezi sinir sistemi, periferik sinir sistemine göre daha karmaşık bir yapıdadır. Genel olarak primer afferent nöronlar omurilikte aynı tarafta ve arka köklerde sonlanır. Miyelinsiz lifler omuriliğe arka kökün yanından girerek lamina 1 ve lamina 2'de sonlanır. Miyelinli lifler ise lamina 3 ve daha derinlere ulaşır. Lamina 2 ve 3 birlikte substansia gelatinosa adını alır. Omurilikte ağırlı uyarının algılanmasında genellikle lamina 1, 2, 3 ve 5 etkin olmaktadır²⁷.

Santral Nörotransmitterler

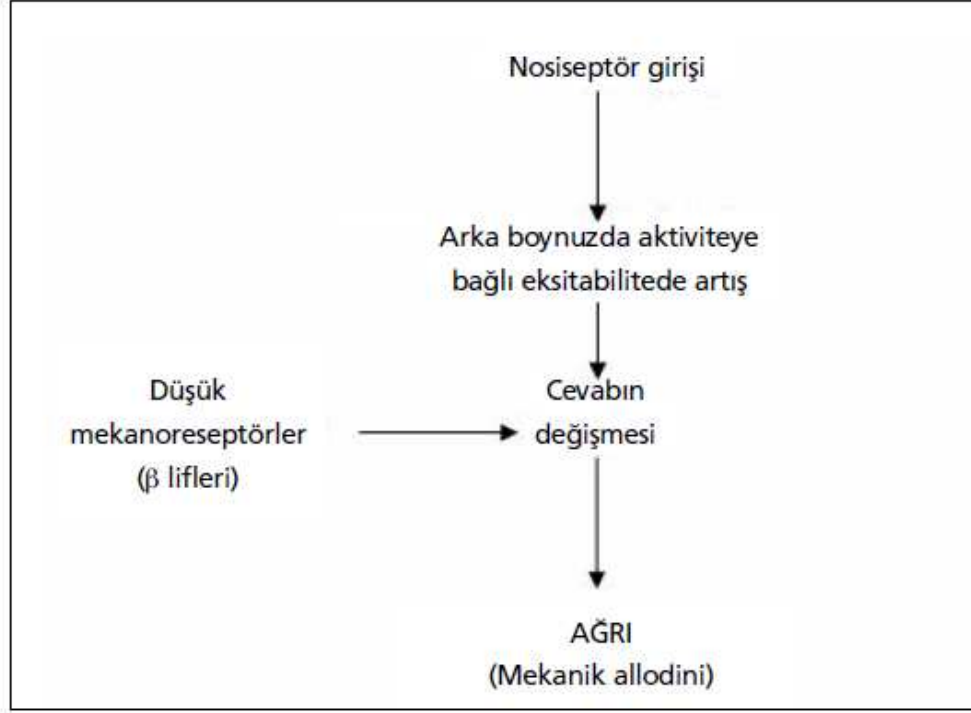
Ağrı sürecinde omurilik arka boynuzunda çeşitli nörotransmitter ve nöromodülatörler rol oynamaktadır. Özellikle glutamat ve aspartat gibi eksitatör aminoasitler (EAA) arka boynuzda ağırlı uyarının iletiminde rol alırlar. Bu süreçte N-metil-D-aspartik asit (NMDA), non-NMDA ve glutamat reseptörleri görev alırlar. Nosiseptif transmisyon ya da modülasyonda yer alan başka reseptörler de vardır. Bunlar opioid (μ , κ), gama-amino butirik asit (GABA), alfa-adrenerjik serotonin (5-HT) ve adenozin reseptorleridir²⁶.

Santral Duyarlılaşma (Sensitizasyon)

Periferde travma sonrasında oluşan olaylar periferik sensitizasyon ve primer hiperaljezi denilen duruma yol açar. Travmadan sonra normalde ağırsız olan mekanik uyarılara karşı hassasiyet (allodini) meydana gelebilir²⁶. Periferik sinir hasarı oluştuktan sonra ortaya çıkan primer hiperaljezi bölgesinin hemen etrafında sekonder hiperaljezi bölgesi oluşur. Sekonder hiperaljezi oluşumunda santral sensitizasyonun da rolü mevcuttur. Periferik sinir hasarı sonrası aşırı miktarda duyuşal uyarı santral sinir sistemine ulaşarak dorsal boynuz reseptif alanında değişikliklere ve nöroplastik reorganizasyona neden olur. Santral sinir sistemi değişiklikleri reseptif alan genişliğinde artışla birlikte, gelen uyarıya verilen cevabın şiddet ve süresinde artışa ve ağırı eşiğinin düşmesine neden olurlar. Böylece normalde ağırsız bir uyarı nosiseptif enformasyon getirerek ağırı şeklinde de algılanabilir²⁸.



Şekil 2. Periferik sensitizasyonun şematik gösterimi. AFF-Afferent, EFF-Efferent, NGF-Nerve Growth Factor²⁹



Şekil 3. Santral sensitizasyonun şematik gösterimi²⁹

Spinal Düzeyde Modülasyon

Omurilik arka boynuzda ulaşan afferent uyarılar çeşitli inhibitör mekanizmaları harekete geçirirler ve böylece diğer uyarıların etkisini azaltmaya çalışırlar. İnhibisyon aynı şekilde lokal inhibitor internöronlar ve inen yollarla da arttırılmaya çalışılır. Arka boynuzda gelen ağırlı uyarılar pre-sinaptik ve post-sinaptik bölgelerde yer alan opioid, alfa adrenerjik, GABA ve glisin reseptörleri tarafından endojen ve eksojen ajanlar aracılığıyla modülasyona uğrarlar²⁶.

Asendan (Çıkan) Ağrı Yolları

Ağrılı uyarılar periferden miyelinli A delta ve miyelinsiz C lifleri ile arka köklerdeki spinal ganglionlardaki birinci nörona gelirler. Buradan önemli bir bölümü substansia gelatinosadaki ikinci sıra nöronlara taşınırlar. Substansia gelatinosada bulunan ikinci nöronların aksonları omurilik düzeyinde karşı tarafa geçerek beyaz cevherin ön yan funikulusunda seyreden iki çıkan yolu oluştururlar²⁷:

-Neospinotalamik yol: Talamusun ventral, posterolateral çekirdeğinde sonlanır. Bu yol ağrının yer, şiddet, zaman gibi boyutları ile algılanmasını sağlar.

-Paleospinotalamik yol: Spinoretiküler ve spinomezensefalik yol olarak ikiye ayrılır. Bu yol ağrının affektif ve otonom komponentlerinin oluşumunda rol oynar. Başka bir deyişle ağrının ızdırap verici özelliğinin anatomik temelini oluşturur²⁷.

Desendan (İnen) Ağrı Yolları

Nöroaksisin çeşitli seviyelerinde ağrı iletimi üzerinde inhibitor etkilerin olduğu bilinmektedir. Bu inhibitör etkiler hipotalamus, periakvaduktal gri madde, lokus ceruleus gibi çeşitli supraspinal yapılardan kaynaklanmaktadır. İnen kontrol sistemi içinde çeşitli nörotransmitterler (serotonin, noradrenalin, GABA) bulunmaktadır¹.

2.1.3. Ağrı Tedavisi

Ağrının tedavisinde hastanın durumu ayrıntılı olarak değerlendirilmelidir. Ağrının başlangıcı, gelişimi ve şimdiki durumunun değerlendirilmesi; yer, dağılım, nitelik ve şiddetinin bilinmesi, ağrı mekanizmasının doğru değerlendirilmesi ve hastanın genel durumunun değerlendirilmesi önemlidir. Bu genel tedavi ilkeleri doğrultusunda ağrı kontrolünde kullanılan yöntemler aşağıda sıralanmıştır³⁰:

1. Ağrı kesici ilaçlar
2. Fizik tedavi yöntemleri
3. Sinir blokları
4. Radyofrekans termokoagülasyon
5. Radyoterapi
6. İntraspinal sistemler (Morfin pompası)
7. Cerrahi yöntemler
8. Psikolojik yöntemler
9. Alternatif tıp yöntemleri³⁰

Ağrı kontrolü yöntemlerinde genellikle ilk sırada analjezikler tercih edilir. Analjezikler antibiyotiklerden sonra en sık reçetelenen ikinci ilaç grubudur. Analjezik ilaçlar merkezi etkili ve bölgesel etkili olmak üzere iki grupta sınıflandırılabilir. Merkezi etkili ilaçlar, opioid (narkotik) analjezikler olarak adlandırılırlar. Narkotik analjeziklerin dışında kalan analjeziklere ise steroid yapısında olmayan (Non-steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar) denir³⁰.

2.1.3.1. Narkotik Analjezikler

Bu grup analjezikler opioid analjezikler olarak da adlandırılır. Opioid adı, opyum (afyon)'dan gelir. Afyon, haşhaş (Papaver somniferum) bitkisinin yaş meyve kapsülünün çizilmesi ile ortaya çıkan özsuynun kurutulmuş şeklidir; içinde %10 dolayında morfin bulunur. Afyon ve opioid ilaçlar güçlü analjezik etki ile birlikte santral sinir sistemi (SSS) üzerinde depresif etki yaparlar. Bu gurup ilaçlarda keyif verici madde olarak kötüye kullanılma ve ilaç bağımlılığı yapma potansiyeli vardır. Narkotik analjeziklerin NSAİİ'lerden farklı olarak antipiretik ve antiinflamatuvar etkileri yoktur³¹.

Narkotik analjezikler, kaynakları ve reseptör düzeyindeki etkilerinin temel niteliğine göre řu şekilde gruplandırılabilir³¹:

Morfin, kodein ve yarı sentetik türevleri (opiyatlar)

Hidromorfon, oksikodon, oksimorfon, eroin, levorfanol, rasemorfan bu grupta yer alır. Agonist özelliktedirler³¹.

Sentetik opioidler

Meperidin, metadon, dekstromoramid, fentanil, dekstropropoksifen, sufentanil, alfentanil, tilidin, anileridin, piminodin, femoperidin, alfaprodin, levo-alfa-asetil, metadol bu grubun üyesidir. Tamamen yapay olan bu grup opioidler de agonist özelliktedir³¹.

Agonist ve antagonist opioidler (karma etkili opioidler)

Pentazosin, nalbufin, butorfanol, siklazosin, buprenorfin, meptazinol, dezosin, propriam, nalorfin bu grupta yer alır. Bu grup hem agonist hem de antagonist özellik gösterir³¹.

Antagonistler

Naloksan ve naltrekson bu grubun üyesidir. Analjezik etkileri bulunmaz, opioidlerin aşırı dozlarının neden olduğu klinik durumlarda kullanılırlar³¹.

Narkotik analjezikler inflamatuvar niteliği bulunmayan ve antiinflamatuvar analjeziklere yeterli yanıt vermeyen orta veya fazla şiddetli ağrıların tedavisinde kullanılır. Doku zedelenmesine ve koliklere bağlı akut ağrı, kanser ağrısı gibi kronik ağrılar, obstetrik analjezi, akut miyokard infarktüsü, akut sol kalp yetmezliği, şiddetli öksürük ve diyare hallerinde tercih edilirler³¹.

2.1.3.2. NSAİİ'ler

NSAİİ'lerin prototipi Aspirin geçen yüzyılın sonunda (1899) insanlığın hizmetine sunulmuştur. Aspirini yıllar sonra fenilbutazon ve indometazin izlemiştir. İbuprofenin İngiltere'de piyasaya çıktığı 1969 yılı NSAİİ'lerin tarihinde bir dönüm noktasıdır. Bu tarihten sonra NSAİİ'lerin sayısı giderek artmıştır³².

Morfin ve benzeri analjezikler opioidler olarak adlandırıldıklarından bu grup ilaçlar non-opioid analjezikler olarak da adlandırılırlar. NSAİİ'ler hafif-orta şiddette ağrıların; ateşin; romatizmal ateş, romatoid artrit, osteoartrit gibi inflamatuvar durumların; kronik ağrının ve kanser ağrısının (özellikle kemik metastazları olan) semptomatik tedavisinde kullanılır³⁰.

Bu gruptaki ilaçların hepsinde analjezik etkiye ilave olarak antipiretik etki de bulunur. Bunlara antipiretik-analjezik ilaçlar adı da verilmiştir. Antiinflamatuvar etkileri nedeniyle iltihabın 4 ana belirtisi olan ağrı, şişlik (ödem), kızarıklık ve sıcaklık artması gibi lokal olayları giderebilirler. NSAİİ'lerin pek çoğu hem analjezik, hem antipiretik hem de antiinflamatuvardır. Bazılarında ise sadece analjezik ve antipiretik etki vardır (parasetamol ve dipiron gibi.)³¹

NSAİİ'ler kimyasal yapılarına ve COX-1, COX-2 enzimlerine rölatif selektivitelere göre sınıflandırılırlar.

Tablo 1. NSAİİ'lerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması¹

NSAİİ'lerin Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması	
1.Salisilik Asit Türevleri	Aspirin (asetil), sodyum salisilat, salisilat, kolin magnezyum trisalisilat, salisilsalisilik asit, diflunisal, benorilat
2.Paraamino fenoller	Parasetamol (asetaminofen)
3.Asetik asitler	Diklofenak, etodolak, indometazin, sulindak, tolmetin, ketorolak
4.Propiyonik asitler	Fenbufen, fenoprofen, flurbiprofen, ibuprofen, ketoprofen, naproksen, oksaprozin, Tiyaprofenik asit
5.Fenamik asitler	Flufenamik asit, meklofenamik asit, mefenamik asit
6.Enolik asitler	a) Pirazolonlar; dipiron (metamizol), fenilbutazon, oksifenbutazon b) Oksikamlar : isoksikam, piroksikam, tenoksikam, meloksikam
7.Kinozolonlar	Prokuazon
8.Alkononlar	Nabumeton
9.Diğerleri	Nimesulid

Analjezik, antiinflamatuvar ve antipiretik etkilerinde, araşidonik asidi prostasiklin, prostaglandinler ve tromboksana dönüştüren COX enzimini inhibe etmeleri temel rol oynar. Homeostazda önemli fonksiyon gören COX-1'i ve inflamasyon sırasında indüklenen COX-2'yi inhibe ederler. Mide-barsak, böbrekler, trombositler üzerindeki olumsuz yan etkileri COX-1 inhibisyonuna, antiinflamatuvar etkileri COX-2 inhibisyonuna bağlıdır. Bu nedenle, teorik olarak iyi bir NSAİİ'nin COX-2/COX-1 inhibitör etkinlik oranı yüksek olmalıdır.

COX-2 üzerine selektif etkinliği olan selekoksib ve rofekoksib tıbbi kullanıma girmiş fakat gözlenen kardiyovasküler yan etkileri nedeniyle pazardan geri çekilmişleridir. NSAİİ'lerin antiinflamatuvar etkilerinde ayrıca reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu azaltmaları veya inaktive etmeleri ve iltihap hücrelerinde lizozom zarını stabilize etmeleri de rol alır. NSAİİ'ler genellikle asidik oldukları için iltihap dokusundaki hücreler içine kolayca girip orada birikirler³³.

NSAİİ'lerin antipiretik etkinlikleri, bakteriyel toksinlerin iltihap hücrelerini uyarması sonucu oluşan pirojen sitokinlerin (İL-1, İL-8 gibi) hipotalamusta PG'ler aracılığı ile termoregülatör merkezde oluşturdukları etkilerin inhibisyonuna bađlıdır³³.

NSAİİ'ler COX inhibisyonu biçimlerine göre 4 gruba ayrılırlar.

Bunlar;

Hızlı, dönüşümlü (reversibl), yarışmalı (kompetitif) inhibitörler

Sulindak, suprofen, mefenamik asit, flufenamik asit,

Hızlı, dönüşümlü, yarışmasız (nonkompetitif) inhibitörler

Parasetamol,

Dönüşümsüz (irreversibl) zamana-bağımlı inhibitörler

Aspirin,

Zamana-bağımlı dönüşümsüz COX-2 inhibisyonu, zamandan bağımsız COX-1 inhibitörleri (selektif COX-2 inhibitörleri)

NS-398, flosulide, L-745,337,DuP697, SC57666, celecoxib'dir¹.

NSAİİ'lerin istenmeyen etkilerinin büyük bölümü prostanooidlerin sentezini inhibe etmelerinden kaynaklanır. Bu ilaçların fiziksel-kimyasal, farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerinden dolayı gastrointestinal sistem üzerine yan etkileri bulunmaktadır. Bulantı, kusma, dispepsi, diyare, konstipasyon, abdominal ağrı, gastrik mukozal irritasyon, yüzeysel erezyonlar, peptik ülser alevlenmesi ve kanamalar gözlenebilir¹.

Gebelik süresinde uzama, arteriyel kanal (ductus arteriosus) 'ın prematüre kapanması, böbrek yetmezliğinde ağırlaşma, enfeksiyon ajanlarına karşı organizmanın direncinin azalması, kanama riskinde artış NSAİİ'lerin gözlenen diğer yan etkileridir³⁴.

2.1.4. Deney Hayvanlarında Ağrı Oluşturma Metodları

DeneySEL ağrı araştırmalarında amaç ya ağrının özelliklerini, doğasını açıklamaktır yada herhangi bir maddenin ağrının algılanması üzerine olası etkisinin araştırılmasıdır³⁵. Ağrı araştırmalarında insandan sonra en çok sıçan ve fareler kullanılır. Fare çalışmalarının bir bölümü transgenik manipulasyonlarla (knock-out) üretilen farelerin ağrılı uyarana verdikleri yanıtın farklılığını araştırmaya yöneliktir³⁶. Rekombinant sitokinler ve monoklonal antitodiler gibi spesifik reajanların fareler için spesifik olması nedeniyle, immünolojik, patofizyolojik ve antiinflamatuvar deneySEL çalışmalar için özellikle fareler kullanılmaktadır. Nosisepsiyonun bu hayvan türlerinde araştırılmasındaki en popüler yöntem asetik asit, parabenzokinon veya zymosan ile oluşturulan abdominal kıvranma (writhing) testidir. Kıvranma testi analjezik bileşiklerin belirlenmesinde oldukça duyarlıdır, sıçanlarda kullanılan Randall-Sellito nosisseptif testinin

terapötik tahmin ediciliği de oldukça yüksektir³⁷. Hot-plate nedenli ağrı narkotik bağımlılık gösteren ağrı oluştururken³⁸, asetik asit kapiller permeabiliteyi indükleyerek inflamatuvar ağrı oluşturur³⁹. Collier ve arkadaşları NSAİ'lere ve opioidlere duyarlı nosiseptif nöronları stimüle eden endojen mediyatörlerin salınmasında asetik asidin dolaylı etkisi olduğunu bildirmişlerdir⁴⁰.

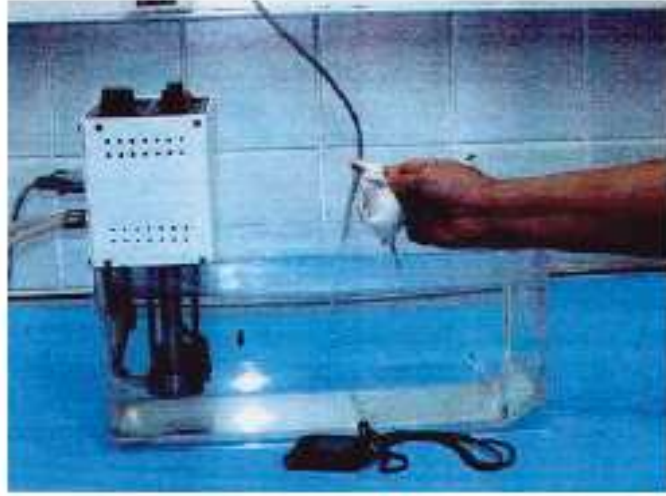
2.1.4.1. Termal uyarı ile oluşturulan ağrı modelleri

Kuyruk Çekme (Tail Flick) Testi

Kuyruk çekme testi ilk kez D'Amour ve Smith tarafından 1941' de, kuyruk daldırma (tail immersiyon) testi ise Ben-Bassat tarafından 1959'da tanımlanmış olmasına rağmen hala en çok kullanılan testlerdir⁴¹.⁴². Test hem fare hem de sıçan için kullanılabilir. Kuyruk çekme testinde hayvanın kuyruğunda belirli bir noktaya (kuyruğun 1/3 gövde tarafına) bir lamba veya radyan ısı kaynağı aracılığıyla ısı uygulanır. Kuyruğun konulduğu alanın altında bir fotosensör bulunmaktadır. Radyan ısı kuyruğun belirli bir bölümüne uygulandığında, hayvan ağrıyı hissettiği anda kuyruğunu çeker ve fotosensör aracılığıyla devre kapanır. Uygulamanın başlangıcından, kuyruğun ısı uygulanan alandan çekilmesine kadar geçen zaman belirlenir. Kuyruk çekme süresi olarak değerlendirilen bu basit spinal refleks o hayvanın ağrı eşiğini belirler ve analjezik uygulanması bu süreyi anlamlı bir biçimde uzatır. Test direkt ağrı ölçümünden çok spinal nosiseptif refleksin değerlendirilmesinde kullanılır. Bir farenin normal reaksiyon süresi 2-10 saniye arasında değişir. Doku hasarına sebep olacağı için radyant ısı 20 saniyeden fazla uygulanmaz. Bu nedenle uygulama için mutlaka bir sonlandırma süresi (cut-off time) belirlenmelidir. Yöntemin en büyük avantajı basit olmasıdır⁴³.

Kuyruk Daldırma (Tail Immersion) Testi

Hayvanın kuyruğu, bir termostat vasıtasıyla sabit ısıda tutulan suya (veya prensip olarak 0°C'nin altında sıvı olarak kalabilen herhangi bir solüsyona) batırılır. Kuyruğun sıcak suya batırılması birkaç saniye içinde kuyruğun bazen de tüm bedenin çekilmesi ile sonlanır. Kuyruk çekme testinde olduğu gibi reaksiyon süresi hayvanın ağrı eşiğini belirler. Bu test sıçan ve fare dışında maymunlara da uygulanabilir. Kuyruk çekme testinden en büyük farkı ve avantajı düşük ısılarda da çalışılabileceği için düşük analjezi potansiyeli olan ilaçlar için de kullanılabilmesidir³⁸.



Şekil 4. Kuyruk daldırma test düzeneđi⁴⁴

Sıcak Tabla (Hot-Plate) Testi

Sıcak tabla testi, bileşiklerin antinositif etkisini akut termal nosisepsiyon bakımından saptamak için kullanılan standart bir testtir⁴⁵. İlk kez Woolfe ve MacDonald tarafından 1944'de tanımlanmış olmasına rağmen en çok 1953'de Eddy ve Leimbach tarafından tanımlanan modifiye formu kullanılmaktadır^{46,47}.

Sıcak tabla testi kemirgenlerin ağrı eşiğinin değerlendirilmesinde hala en çok kullanılan yöntemlerden birisidir. Cihaz, elektrik ile ısıtılan bir yüzeyden ve hayvanları ısıtılan yüzeyde tutmak için açık pleksiglas tüpten (17cm yüksekliğinde, 22cm çapında) oluşmaktadır. Tabla sıcaklığı $55.0 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 'dir. Fareler ısıtılan yüzeye ayrı ayrı konulur⁴⁸. Fareler nosisepsiyonun belirtisi olan üç hareketten birini gerçekleştirene kadar yüzeyde bekletilir; arka pençeyi yalamak, arka pençeyi sallamak, veya zıplamak. Sadece arka pençe cevapları kullanılır, çünkü ön pençe yalamak ve kaldırmak normal davranışlardır. Genel olarak her hayvan sadece bir kez test edilir⁴⁹. Bir farenin normal reaksiyon süresi ortalama 5-20 saniye arasında değişir. Doku hasarına sebep olabileceği için test 30 saniyeden fazla uygulanmamalıdır. Bu nedenle uygulama için mutlaka bir sonlandırma süresi (cut-off time) belirlenmelidir. Yöntemin en büyük dezavantajı reaksiyon süresinin çok fazla bireysel değişkenlik göstermesidir⁴¹.

Hot-plate testi spesifik santral nosisepsiyon bir testtir. Termal nosisepsiyon testleri opioid ve non-termal testler opioid K reseptörlerine daha duyarlıdır¹⁵. Hot plate testinde analjezik cevaplara ilaveten bir bütün olarak düşünülen bazı geri çekme hareketlerinin (ayağı yalamak, zıplamak veya hızlıca pençe basma) gözlenmesi ile hiperaljezik cevaplar da

saptanabilir^{49,50}. Maksimum muhtemel antinosiseptif etki, farenin ısı etkenine maruz kaldığı zaman içerisinde nosiseptif cevabın kaybolmasıdır. Yüzde maksimum muhtemel antinosiseptif etki Schmauss ve Yaksh tarafından verilmiştir⁵¹.

$$\frac{(T_1 - T_0)}{(T_2 - T_0)} \times 100$$

T_1 ve T_0 : İlaç uygulamasından sonraki gecikme zamanları.
 T_2 :Kesme zamanı (*cutt of time*).



Şekil 5. Sıcak tabla test düzeneği⁴⁴

Soğuk Uyarın Testi

Akut ağrı deneylerinde soğuk nadiren kullanılır. Diğer yandan kronik ağrı/nöropatilerde soğuk uyarın kullanılması yaygındır. Genel olarak kuyruğun soğuk suya batırılması veya hayvanın soğuk platforma bırakılması ile gerçekleştirilir³⁸.

2.1.4.2. Mekanik Uyarı İle Oluşturulan Ağrı Modelleri

Randall-Sellito Testi

Pençe geri çekme/pençe basınç testi (Paw withdrawal/paw pressure test) adı da verilen bu testler temelde mekanik uyarın yardımıyla ağrı eşiğinin belirlenmesinde kullanılır. İnflamasyon gibi etkenlere bağılı olarak hiperaljzinin geliştiğı durumlarda tercih edilir. 1957 senesinde Randall ve Sellito isimli araştırmacılar tarafından geliştirilmiş bir yöntemdir⁵². Mekanik uyarın hayvanın pençesine uygulanır. Bir pedal yardımıyla giderek artan oranda basınç uygulanır.

Uygulamanın sonlandırılma noktası süre değil, hayvanın göstereceğı tepki davranışıdır. Temel yanıt vokalizasyondur, çoğu kez vokalizasyona ayak çekme davranışı da eşlik eder. Bu model ağrı duyarlılığının çok fazla değişmediğı akut ağrı deneyleri kadar kronik ağrı, nöropati ve uzun süreli inflamasyonun eşlik ettiğı hiperaljezi durumlarında da kullanılabilir³⁸.



Şekil 6. Randall-Sellito test düzeneği⁴⁴

Kuyruk Sıkıştırma Testi (Tail Pinch/Tail Clip Test)

Haffner tarafından 1929'da tanımlanmıştır⁵³. Temel prensipler ve hayvanın olası davranışları açısından ayak çekme testi gibidir. Uygulanan basıncın büyüklüğüne bağlı olarak ya çok kısa sürede (2 saniyeden az) yada daha uzun sürede (eğer analjezi söz konusuysa) kuyruğa/klipse tepki (örneğin ısırma) gösterir. Araştırmada farklı şiddette uyarılar sağlayan farklı klipsler kullanılabileceği gibi belli bir klipsle eşik/eşik üstü süre tespit edilebilir. Eşik değer sıçan için 10-178 gram, fare için ise 71-1070 gram arasında bir değerdir³⁸.

2.1.4.3. Kimyasal Uyarı ile Oluşturulan Ağrı Modelleri

Karın Germe/Kıvrınma (Writhing) Testi

1950'lerde tanımlanmış ve sıklıkla kullanılmış bir testtir. Kimyasal uyarı olarak en çok fenilkinon veya asetik asit (%0.6-%0.9)

kullanılır. Kıvrınma, enjekte edilen maddeye karşı dorsal refleks olarak meydana gelir. Temel davranış karın kaslarının kasılması ve onu izleyen arka ayaklarda ekstansiyondur. Abdominal kasılmalar injeksiyondan birkaç dakika sonra başlar, 5-10 dakikada maksimuma ulaşır. Pek çok araştırmada süre 30 dakika ile sınırlandırılmıştır. Daha çok zayıf analjezi potansiyeli olan maddelerin etki gücünü tespit etmekte kullanılır^{54,55}.

Bu yöntemin en önemli dezavantajı seçici olmayışıdır. İnsanlarda analjezik olmayan birçok ilaç bu testle etkili bulunabilir. Ayrıca kullanılan fare suşuna bağlı olarak asetik asidin ED₅₀ değeri büyük değişkenlik gösterir (50-200mg/kg)⁵⁶.

Asetik asit ile oluşturulan kıvrınma testi hem santral hem de periferik analjeziyi belirlemek için kullanılmaktadır. Asetik asidin intraperitoneal uygulanması prostaglandinleri ve PGE₂ ve PGF_{2α} gibi eikozanoidleri serbest bırakır⁵⁷.

Formalin Testi

1977'de Dubuisson ve Dennis tarafından kedi ve sıçanlar için geliştirilmiş daha sonra farelere de uyarlanmıştır⁵⁸. En çok kullanılan kimyasal uyarandır. %37'lik formalin solüsyonu subkütan olarak arka pençenin dorsal veya ventral yüzeyine injekte edilir. Bu miktar farede oldukça değişkenlik gösterir (%0.02-%5). Enjeksiyon hacmi fare için 20-25µl'dir. İnflamasyon oluşturan karragenin, serotonin, kaolin, platelet aktive edici faktör ve hardal yağı gibi maddeler de aynı biçimde kullanılabilir. Enjeksiyonu izleyen temel davranış hayvanın ayağını yalaması ve/veya ısırmasıdır⁵⁹.

2.2. İNFLAMASYON

İnflamasyon yabancı bir ajana veya doku hasarına karşı oluşturulan, doku yapısının ve fonksiyonunun yeniden oluşturulmasıyla başlayan yararlı bir organizma cevabıdır⁶⁰. İnflamasyon, canlı dokunun lokal yaralanmaya tepkisi olduğu kadar, onarım işlemiyle de yakından ilgilidir⁶¹. Fizyolojik olarak inflamasyonun temel işlevi, infeksiyonu iyileştirerek veya doku hasarını tamir ederek homeostazisi korumaktır⁶².

İnflamasyon, mikrobiyal enfeksiyon veya doku hasarı gibi zararlı uyarıların yok edilmesine yönelik koruyucu yanıttır. Temel olarak akut inflamatuvar yanıt, lenfosit ve lökosit gibi kan bileşenlerinin infeksiyon veya hasar yerine çekilmesinin koordinasyonundan oluşur⁶³.

Normal inflamasyon süreci, etkenin tanınması, lökositlerin infeksiyon yerinde toplanması, mikroorganizmanın ortadan kaldırılması, inflamasyonun ortamdaki uzaklaştırılması ve homeostatik dengenin yeniden kurulmasını kapsar⁶³.

İnfeksiyonun ilk olarak tanınması, doku makrofajları, dendritik hücreler ve mast hücreleri tarafından gerçekleştirilir ve etken sessiz sedasız elimine edilmeye çalışılır. Bu basamakta eliminasyonun uzaması veya başarılabilmesi durumunda yanıt da büyür. Bu hücrelerin salgıladıkları kemokin, sitokin, vazoaktif aminler, eikozanoidler ve proteolitik zincir ürünleri gibi araçların yapımı giderek artar. Bu araçlar, çoğunluğu nötrofil olmak üzere lökositleri ve plazma proteinlerini olay yerine çekerek bölgesel inflamatuvar eksuda oluşumunda rol alırlar.

Doğrudan patojenle karşılaşma sonucu veya doku makrofajlarınca salgılanan sitokinlerin etkisi ile nötrofiller aktive olarak, fagositoz yapar ve granüllerindeki toksik içeriğin boşalması ile mikroorganizmanın ortadan kaldırılması süreci başlar. Granüllerdeki çok güçlü etkiye sahip olan reaktif oksijen ve nitrojen türleri, proteinaz 3, katepsin G ve elastaz gibi bileşikler, mikroorganizma ve hedef doku arasında ayırım yapamadığı için konak dokuda hasar oluşması da kaçınılmaz olur^{63,64}.

İnflamasyon evresinde fagositoz yoluyla zararlı etkenler yok edilir. Açığa çıkan zararlı maddeler ödem sıvısı içinde sulandırılır. İnflamasyon hem aseptik hem de kontamine yarada ortaya çıkar. Yani inflamasyon sadece kirliliğe karşı bir reaksiyon değil, yaralanmaya karşı dokunun savunma reaksiyonudur. İnflamasyon olmaz ise mikro organizmalar dokuları istila eder, infeksiyon daha ağır seyreder, bunun sonucu yara iyileşmesi bozulur⁶¹.

İnflamasyon serum proteinlerinin ve lökositlerin kandan ekstravasküler dokuya hareketiyle karakterize bir mikrosirkülasyon reaksiyonudur. Bu hareket, inflamasyonun ısı, kızarıklık, şişlik, ağrı ve doku fonksiyon kaybı gibi ana bulgularına neden olur. Lokal vazodilatasyon inflamasyon alanına bölgesel kan akışını artırır ve mikrovasküler permeabilitede artışla beraber dokularda sıvı ve plazma proteini kaybına neden olur. Bununla beraber endotelial hücrelerde adezyon molekül ekspresyonunda ve inflamasyon alanından kemotaktik faktörlerin salıverilmesinde artış gözlenir. Kemotaktik faktörler dolaşımdaki hücrelerin vasküler endotele yapışmasını ve oradan da etkilenen alana göçünü sağlar. İyi düzenlenmiş bu olaylar polimorfonükle lökositlerin lezyon başlangıcında inflamasyon alanında çoğalmasıyla sonuçlanır. Bu fagositik hücreler yabancı materyalleri ve hücre kalıntılarını sindirir. Ayrıca

hidrolitik ve proteolitik enzimler salgırlar ve istilacı organizmaları sindirip elimine etmek için reaktif oksijen türleri üretirler. Sonunda zararlı stimulan temizlenir ve normal doku yapısı ve fonksiyonu korunur⁶¹.

2.2.1. İnflamasyon Mekanizmaları

İnflamasyonun asıl amacı hasarlı dokuya kandan gerekli sıvıyı, hücreleri ve proteinleri taşımaktır. Proteinler endotelden geçemeyecek kadar büyük oldukları için dokular birçok proteinden ve hücreden yoksun olan ekstrasellüler sıvıda bulunurlar. Bu nedenle hasar veya enfeksiyon oluştuğunda ihtiyaç duyuldukları zaman hücrelerin ve proteinlerin ekstrasellüler alanlara geçişini sağlayan mekanizmalar vardır⁶⁵.

İnflamatuvar Yanıtın Özellikleri

- Enfekte alana kan akışını arttırmak için vazodilatasyon.
- Diffüzyon bileşenlerinin alana girişini sağlamak için artmış vasküler permeabilite.
- Kemotaksis veya hasar alanına endotelden inflamatuvar hücrelerin direkt hareketi, hücrel infiltrasyon.
- Birçok organın biyosentetik, metabolik ve katabolik profilinde değişiklik.

- Kan plazmasının kompleks enzimatik sistemi kadar, immün sistem hücrelerinin de aktivasyonu⁶⁵.

İnflamasyonun makroskopik bulguları kızarıklık, şişme, ısı artışı ve ağrıdır. 2000 yıl önce bu bulgular Celsus tarafından tanımlanmıştır. İnflamasyonun hücresel fazı vaskülerize konnektif dokunun dolaşan hücreler tarafından istilasıyla karakterizedir. Konnektif doku bazal membran, kollajen, elastin, proteoglikan ve glikoproteinlerden ibarettir. İnflamasyonla ilgili olan hücreler ise, nötrofiller, monositler, eozinofiller, lenfositler, bazofiller ve trombositlerdir. İnflamasyon evresinde dokuda lökosit, nötrofil ve makrofajların birikimi çok önemlidir⁶¹.

Lökositlerin davranış sırası şöyledir;

- Marjinyasyon (damar cidarında toplanma)
- Adezyon (damar cidarına yapışma)
- Kemotaktik ajana doğru göç,
- Fagositoz ve intrasellüler parçalanma.

Lökositlerle birlikte lökosit ürünleri de ekstrasellüler alana geçmiş olur⁶¹.

Nötrofiller endotel membranından geçen ilk hücrelerdir. İlk 24 saatte daha çok görülürler, yabancı materyali fagosite eder, nekrozu parçalarlar. Nötrofil fonksiyonları savunma mekanizmasında önemli olduğu halde, yara iyileşmesinde daha geri plandadır. Monositler 24-48 saat içinde yara alanındaki nötrofillerin yerini alırlar ve immün reaksiyonu başlatma işlevi görürler. İyileşme prosesinde en önemli işi aktive olmuş

makrofajlar yaparlar. Makrofajlara "scavenger cell" (öpü, leŖ yiyen hücre) olarak adlandırılır, ölü dokunun eliminasyonunda rolleri büyüktür. Makrofajlar ayrıca monokin ve diğeri biyolojik mediyatörleri serbestleştirirler. Bu mediyatörler diğeri inflamatuvar hücrelerin görevlerini düzenler ve kollajen sentezini başlatmak için fibroblastları uyarırlar. Fibroblastlar konnektif dokudaki mezankimal hücrelerden farklılaşmış özel hücrelerdir. Fibroblastlar yaralanmadan sonraki 3-5 gün içinde asıl fonksiyonları olan kollajen sentezini başlatırlar⁶¹.

İnflamasyon patolojisi

İnflamasyon patolojisinde vasküler ve hücresele olaylar olmak üzere iki ana olay vardır^{66,67}.

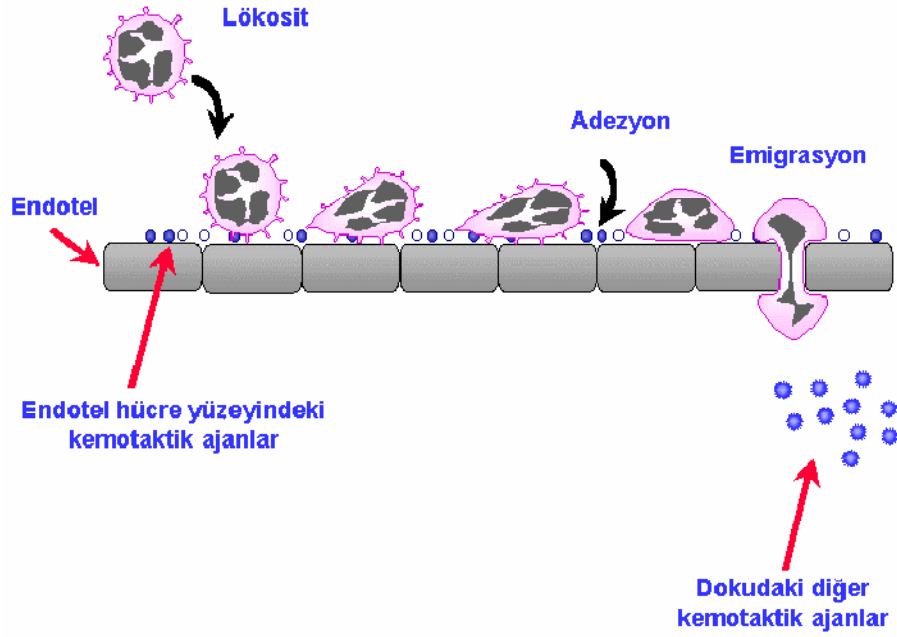
Vasküler olaylar: Vasküler akım ve permeabilite ile ilgili iki çarpıcı değışiklik vardır.

1) Vasküler akım ve damar çapındaki değışiklikler: Arteriollerde birkaç saniyelik kısa süreli vazodilatasyon oluşur ve erken dönemde ısı ve kızarıklık artışına neden olur. Dolaşımdan ekstravasküler sıvıya protein kaçıŖı nedeniyle eritrosit stazı meydana gelir ve nötrofiller endotel boyunca marjine olurlar. Sonra emigrasyon ile intertisyel dokuya göç ederler.

2) Vasküler permeabilite artışı: Vazodilatasyon ve artmış kan akımı intravasküler hidrostatik basıncı, bu da kapillerden sıvı infiltrasyonunu artırır. Bu sıvı başlangıçta transuda niteliğinde olmakla birlikte, kısa sürede damar duvar geçirgenliğinin artması ile değıŖir ve

proteinden zengin sıvı yani eksudanın oluşmasına neden olur. Sonuçta intravasküler ozmotik basınç azalır ve intertisyel ozmotik basınç artarak intertisyel ödeme neden olur. Bu, inflamasyonun tümör belirtisidir.

Hücresel olaylar: Lökositlerin en çarpıcı fonksiyonu yara yerine göçleridir. Lökosit olayları yukarıda açıklandığı gibi marjinsasyon ve yuvarlanma, adezyon, emigrasyon, fagositoz ve intravasküler yıkım, lökosit ürünlerinin ekstrasellüler salınımıdır⁶⁸.



Şekil 7. İnflamasyon sürecindeki lökosit olayları⁶⁸.

İnflamasyonun Kimyasal Mediyatörleri

İnflamatuvar doku yanıtı oluşturulmasında aracılık eden kimyasal mediyatörlerden, ilk keşfedilen histamin olmakla birlikte, sayıları giderek artmaktadır. Mediyatörler, hasarlı dokudan, hücrelerden veya plazmadan köken alan çeşitli kimyasal maddelerdir⁶⁹.

Spesifik kimyasal mediyatörler aşağıda sınıflandırılmıştır:

1- Vazoaktif aminler: Histamin, serotonin

2- Plazma proteazları:

a) Kiniler: Bradikinin, kallikrein

b) Kompleman sistemi: C3a, C5a, C5b-9

c) Koagülasyon-fibrinolitik sistem: Fibrinopeptidler ve fibrin yıkım ürünleri

3- Araşidonik asid metabolitleri:

a) Siklooksijenaz yolağı

(Prostaglandinler, tromboksanlar, endoperoksitler)

b) Lipoksijenaz yolağı

(Lökotrienler, hidroperoksieikozatetraenoik asid (HPETE), hidroksieikozatetraenoik asid (HETE),

4- Lökosit ürünleri:

(Lizozomal proteazlar, serbest oksijen radikalleri)

5- Trombosit aktive eden faktör (TAF)

6- Sitokinler

7- Büyüme faktöleri

8- Diğer mediyatörler

İnflamasyonun temel amacı organizmayı hücre incinmesinin neden ve sonuçları olan nekrotik hücre ve dokulardan temizlemektir. İnflamasyonda salınan kimyasal mediyatörlerin hücreler üzerine etkileri kompleks ve değişkendir. Çünkü vasküler düz kas hücreleri, nöronlar, immün ve inflamatuvar hücreleri hedefler⁶⁹.

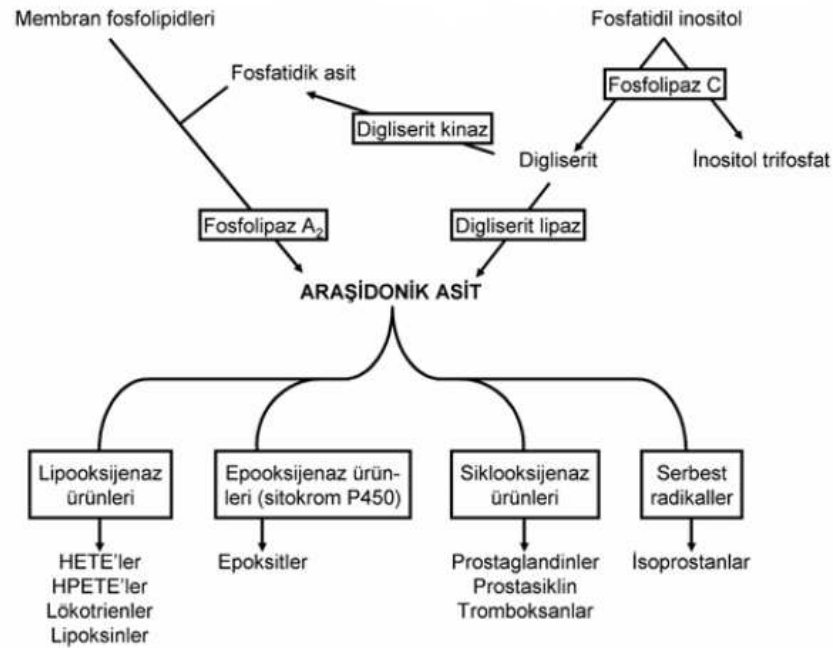
2.2.2. Araşidonik Asit Metabolizması ve İnflamasyondaki Yeri

NSAİ'ler ağrı ve inflamasyon durumlarındaki etkililikleri nedeniyle dünyada geniş alanda kullanıma sahip bir ilaç grubudur⁶³. Bu grup ilaçların hem terapötik hem de advers etkilerinin PG sentezini inhibe etmelerinden kaynaklandığı 1970'lerden beri kabul edilmiştir⁶⁴.

Genelde prostanoidler olarak da adlandırılan siklooksijenaz ürünü eikozanoidler, prostaglandinler, prostasiklinler ve tromboksanlardır. Söz konusu bu ürünlerin ön maddeleri olan prostaglandin G ve H, araşidonik asitten siklooksijenaz enzimleri tarafından oluşturulur. COX enzimleri hücre içerisinde araşidonik asitten eikozanoidlerin oluşumunda görevli enzimlerdir. Bu enzimlerin COX-1 ve COX-2 olmak üzere iyi bilinen iki tip izoformu vardır. Son zamanlarda COX-3 diye isimlendirilen bir üçüncü formu daha bulunmuşsa da henüz işlevi üzerinde çalışmalar devam etmektedir⁶⁵. Bunlardan COX-1 konstitütif bir enzimdir, pek çok hücrede devamlı sentez edilir ve bulunur. Prostaglandinlerin ve

tromboksanın fizyolojik etkilerinden COX-1 tarafından sentez edilen prostanoidler sorumludur. COX-2 izoformu ise iltihap hücreleri ve diğer bazı hücrelerin interlökin-1, TNF ve benzeri iltihap mediyatörleri ve büyüme faktörleri tarafından aktivasyonu sonucu indüklenir. COX-2 ise indüksiyon olmadıkça sentez edilemez ve bu nedenle aktivite gösteremez⁶⁶.

Hücre membranının ana bileşeni fosfolipidlerdir. Sellüler fosfolipidler özellikle fosfolipaz A₂ ve C, inflamasyon sırasında aktive edilir ve fosfolipidleri araşidonik aside yıkar. Araşidonik asidin yarı ömrü kısadır ve iki ana yolla metabolize olabilir; bunlardan siklooksijenaz yolağı prostaglandin, prostasiklin ve tromboksan sentezlerken, lipooksijenaz yolağı bir kolda lökotrien ve diğer kolda lipoksin sentezler⁶⁵.



Şekil 8. Araşidonik asit metabolizması⁶

2.2.2.1. Siklooksijenaz Yolağı

Hücre membranında bulunan fosfolipidler fosfolipaz A₂ enzimi ile araşidonik aside dönüşür. Steroidler, fosfolipaz A₂'yi inhibe ederek potent bir antiinflamatuvar etki gösterirler. Araşidonik asit COX enzimi ile endoperoksitlere dönüşür (PGE₂, PGI₂, Tromboksan A₂(TXA₂)). Bunların ağrı, ateş, inflamasyon, pıhtılaşma, ovülasyon, doğumun başlaması, kemik metabolizması, gastrik mukoza, yara iyileşmesi, sinirlerin gelişmesi, damar tonüs artışı, immün cevap ve böbrek fonksiyonlarında önemli rolleri vardır. TXA₂ trombositlerde sentezlenir ve onların agregasyonunu sağlar. PGI₂ damar duvarında sentezlenir ve potent vazodilatördür, trombosit agregasyonunu inhibe eder. PG'ler ise inflamasyon, ağrı, ateş, lokal kıkırdak ve kemik yıkımını aktive eder⁶².

Prostaglandinler; yağda çözünebilen hormon benzeri maddelerdir ve vücutta değişik hücre tipleri tarafından üretilirler. Örneğın, makrofajlar ve monositler PGE₂ ve PGF₂'yi fazla oranda üretirler. Nötrofiller orta miktarda PGE₂ üretirken, mast hücreleri PGD₂ üretir. Prostaglandinler dokularda serbest olarak bulunmaz, fakat uygun bir stimulusla sentezlenir ve saliverilirler. PGE₂ vasküler permeabilityyi artırır, pirojeniktir, ağrıya duyarlılığı artırır ve lökosit cAMP (siklik adenzin mono fosfat)'yi stimule eder. Lökosit cAMP'nin mast hücrelerinden, lenfositlerden ve patojenlerden mediyatörlerin salınımına önemli etkileri vardır⁶⁵.

TXA₂ ve prostasiklin kardiyovasküler homeostazda ve patolojilerde rol oynayan en önemli iki prostanoiddir. TXA₂ monositler, makrofajlar ve plateletler tarafından üretilir. TXA₂ trombosit agregasyonu, vazokonstriksiyon ve düz kas hücre proliferasyonuna yol açarak

aterojenezde ve akut vasküler tıkaçıcı olaylarda önemli rol oynamaktadır. Prostaglandin ise TXA₂'nin aksine makrovasküler endotel hücrelerinin esas ürünüdür ve güçlü bir vazodilatördür. Prostaglandin ayrıca trombosit agregasyonu ve düz kas hücre proliferasyonunu inhibe eder^{60,70}.

Tablo 2. Siklooksijenaz Yolağı Ürünleri ³⁴

Siklooksijenaz Türevi Eikozanoidlerin Kaynakları ve Biyolojik Etkileri		
PGD ₂	Mastositler	Vazodilatasyon
PGF _{2a}	Nötrofiller, makrofajlar	Bronkokonstriksiyon
PGE ₁ , PGE ₂	Nötrofiller, makrofajlar, fibroblastlar	Bronkodilatörler, Vazodilatörler, Natural killer aktivitenin inhibisyonu, Supresör T modülasyonu
PGI ₂ (prostaglandin)	Endotel hücreler	Trombosit aktivitelerin (adezyon, agregasyon vb.) inhibisyonu
TXA ₂ , TXB ₂ (Tromboksan)	Trombositler	Trombosit agregasyonu, vazokonstriksiyon

2.2.2.2. Lipooksijenaz Yolağı

Araşidonik asitin lipooksijenaz enzimleriyle okside olması sonucunda hidroperoksiasitler (HPETE) ve lökotrienler (LTB₄, LTC₄, LTD₄ ve LTE₄) oluşur. 5-lipooksijenaz ve 12-lipooksijenaz olmak üzere başlıca iki tip lipooksijenaz vardır. 5-lipooksijenaz enzimi nötrofiller, eozinofiller, monositler, makrofajlar, mastositler, keratinositler gibi çeşitli hücrelerde bulunur. 12-lipooksijenaz enzimi (trombosit lipooksijenazı) ise

trombositlerde ve ciltte bulunur. Psöriazis hastalığının gelişmesinde rol oynamaktadır. Araşidonik asiti, 12-HPETE'ye dönüştürür³⁴.

Lökotrienler, LTB₄ ve 5-HETE nötrofilleri içeren bir grup hücre tipinin kemotaksisine ve/veya kemokinesine neden olur. LTB₄ sentezi gut hastalığında kullanılan bir antiinflamatuvar ajan olan kolşisin tarafından inhibe edilir. LTC₄, LTD₄ ve LTE₄ karışımı anafilaksinin yavaş tepki gösteren maddesi (slow reacting substance of anaphylaxis) (SRS-A) olarak adlandırılır, monositler ve makrofajları içeren çeşitli hücreler tarafından üretilir. Spazmojeniktirler ve düz kas hücrelerinin özellikle bronşların kasılmasına neden olur ve mukus sekresyonu üzerine etkileri vardır.

Lipoksinler, LXA₄ ve LXB₄ mikrosirkülasyondaki değişiklikleri destekler. Örneğin, LXA₄ hızlı arteriyel dilatasyonu indükler ve LTD₄ kaynaklı vazokonstriksiyonu antagonize eder. LXA₄ vazokonstriktör lökotrienlerin etkisini regüle eder. LXA₄, LTB₄ ve N-formil oligopeptidler tarafından indüklenen nötrofil kemotaksisini bloke eder. LXA₄ ve LXB₄ doğal öldürücü hücrelerin sitotoksitesini inhibe eder.

Plateletler platelet aktive edici faktörler (PAFs) olarak adlandırılan maddeler üretirler. PAF platelet agregasyonuna neden olur ve nötrofiller, eozinofil, makrofaj tarafından reaktif oksijen üretimini ve lizozomal enzim salınımını stimule eder. Ayrıca PAF lökositler için endotelial kalınlığı artırır.

Lipooksijenazlar stiren, benzopirenler, paration gibi çeşitli ksenobiyotiklerin metabolizmasında da rol oynarlar. Bunların herhangi bir şekilde ilaçlar ile olası inhibisyonu durumunda, bu toksik maddelerin metabolizmasında değişikliğe yol açabilmektedir³⁴.

Tablo 3. Lipooksijenaz Yolağı Ürünleri ³⁴

Lipooksijenaz Türevi Eikozanoidlerin Kaynakları ve Biyolojik Etkileri		
LTB ₄ (Lökotrien B ₄ (-5))	Nötrofiller, makrofajlar, fibroblastlar	Kemotaksis, Permaabilite artışı, Fagositoz, IL-1 artışı
LTD ₄ , LTC ₄ (5-)	Nötrofiller, makrofajlar	Bronkokonstriksiyon, Vazokonstriksiyon (arteriol), Vazodilatasyon (venül)
5-HETE (-5)	Nötrofiller	Kemotaksis, Lizozomal enzimlerin serbestlenmesi
Lipoksinler A ve B (5-, 15-)	Nötrofiller, makrofajlar	Naturel killer aktivitenin inhibisyonu

2.2.3. İnflamasyon Tedavisi

Prostaglandinler ve lökotrienler çok sayıda olumsuz etkilere neden olurlar. Farmakolojik yönden bunların sentezini inhibe eden maddeler bulunmuş ve tedaviye sokulmuştur. Ancak etkilerini inhibe edebilen antagonistler henüz bulunmuş değildir³⁴.

NSAİ'lerin kimyasal bir grubu olan pirazolon türevi ilaçlar güçlü analjezik ve antipiretik etki gösterirlerken, düşük antiinflamatuvar etki

gösteririler. Bu grupta aminopirin, propifenazon, metamizol sodyum (dipiron), fenilbutazon ve oksifenbutazon bulunur³¹.

Aminopirin 1982 yılına kadar aspirinden sonra en fazla kullanılan analjezik ve antiinflamatuvar ilaçtı. Karsinojenik etkisinin ortaya çıkarılmasından sonra yasaklanmıştır³¹.

Propifenazon mide-barsak kanalından çabuk absorbe edilir, maksimum kan düzeyi ilacın alınışından sonra 1-2 saat içinde oluşur. Santral sinir sistemi eksitasyonu, duyarlı kişilerde herpes labialis ve anjiyoödem yapabilir. Karsinojenik etki potansiyeli hariç aminopirinin tüm yan etkilerini göstermesi beklenebilir³¹.

Metamizol sodyum (dipiron) analjezik etkinliği aspirinden yüksektir. Antispazmodik etki potansiyeli vardır. Siklooksijenaz inhibitörü etkinliği ve antiinflamatuvar etkinliği zayıftır, fakat analjezik etkinliği oldukça güçlüdür. Analjezik etkinin santral bir komponentinin olduğu bulunmuştur. Periakvaduktal gri maddeden omuriliğe inen ağrı inhibitörü yolaklarını aktive eder. Türkiye'de kullanılan en ucuz 3 analjezik ilaçtan biridir. Parenteral yoldan da kullanılabilmesi bir avantajdır.

Fenilbutazon en eski ve en aktif NSAİİ'dir fakat agranülositoz riski nedeniyle kullanımı sınırlıdır. Diğer NSAİİ'lerin etkisiz kaldığı ankilozan spondilartit'lerin tedavisinde kullanılmaktadır. Fenilbutazon karaciğerde metabolize olur ve başlıca metaboliti olan oksifenbutazon da güçlü antiinflamatuvar etkiye sahiptir³⁴.

Pirazolon türevi ilaçlarda üç ciddi yan tesir gözlenir.

Kemik iliği depresyonu

Bu ilaçlar kemik iliğini bozarak oldukça seyrek olarak alerjik agranülositoz, trombositopeni ve aplastik anemi meydana getirirler. Bu yan etkiler sebebiyle ölüm vakaları dünyanın birçok yerinde bildirilmiştir.

Su-tuz retansiyonu ve gastroenteropati

Bu iki yan tesir artık kullanılmayan fenilbutazon ve oksifenbutazon ile sık görülür³¹.

Bu grup ilaçların uygulanmasında bazı kurallara dikkat edilmelidir. İlaçların kullanımında minimal etkin doz verilmelidir. Tedavi minimal sürede tamamlanmalıdır. Tuz kısıtlaması yapılmalıdır. Bu grup ilaçlar ile uzun süreli tedavilerde hematolojik ve hepato-renal kontroller yapılmalıdır³⁴.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI

Deneylerde Ankara Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Serum Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen 25-35 g ağırlığında, Swiss albino erkek fareler kullanılmıştır. Deney hayvanları deneye alınmadan en az bir hafta önce sıcaklığın ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$), nemin ($55\pm 10\%$) ve aydınlık periyodunun (12'şer saat aydınlık ve karanlık) ayarlandığı odalarda tutularak senkronize edilmiştir. Deney boyunca farelere standart pellet diyet ve su ile serbest olarak beslenmiştir.

Deneylerde kullanılan hayvanlar, deney süresince Gazi Üniversitesi Hayvan Etik Komisyonunun onayı (İzin No: 53-3044) ve gözlemi altında, laboratuvar hayvanlarını korumaya yönelik uluslararası etik kurallar kılavuzuna uygun olarak barındırılmış ve deney protokolleri uygulanmıştır.

3.2. KİMYASAL MADDELER

p-Benzokinon (p-BK) (CAS: 106-51-4, Sigma, USA)
Serum fizyolojik (SF) (0.9% NaCl) (Haver, Türkiye)
DMSO (Sigma Aldrich, USA)
Karragenin (Carrageenan, λ , Tip I, Santa Cruz, İspanya)
İndometazin (Sigma Aldrich, USA)
Ibuprofen (Sigma Aldrich, USA)

Asetilsalisilik asit (Sigma Aldrich, USA)

Distile su

3.3. ARAÇ VE GEREÇLER

Hassas terazi

Ultrasonik banyo

Vorteks

Kompas (mikrometre) 0.01mm, (Ozaki Co., Japonya)

Hamilton Enjektör (50µl)

Tek uçlu ve depolu otomatik pipetler

Pipet uçları

Zaman ölçer

Parafilm

Steril enjektör (1, 2, 5, 10 ve 20 ml)

İnsülin enjektörü

Balonjoje (50 ml)

Erlen (50 ml)

Cam tüp (10 ml)

Plastik tüp (10 ml)

Alüminyum folyo

Plastik Eldiven

Kıvrınma sayma kabı (2X5 bölmeli)

3.4. DENEY GRUPLARI VE YÖNTEM

3.4.1. Deney Grupları

Analjezik Aktivite Deneylerinde Kullanılan Gruplar

Deneyde kullanılan test maddeleri 50mg/kg dozda subkütan (s.c.) olarak, p-BK'dan yarım saat önce verilmiştir. Analjezik aktivite deneylerinde p-BK (2.5mg/kg) SF içerisinde çözülerek i.p. olarak uygulanmıştır. Tüm deney gruplarında 7-9 fare kullanılmıştır.

Grup 1: DMSO (kontrol) grubu; deneylerde araştırılan test maddeleri DMSO içerisinde çözülmüştür. Bu nedenle kontrol grubu olarak DMSO (çözücü) kullanılmıştır. Ayrıca serum fizyolojik (SF) ile DMSO kıvrımları arasındaki fark bulunarak delta değeri elde edilmiştir.

Grup 2: Referans madde İbuprofen (50mg/kg, s.c.) grubu

Grup 3: TEP424 kodlu madde (50mg/kg, s.c.) grubu

Grup 4: SNTZ39 kodlu madde (50mg/kg, s.c.) grubu

Grup 5: TEP422 kodlu madde (50mg/kg, s.c.) grubu

Grup 6: TEP425 kodlu madde (50mg/kg, s.c.) grubu

Antiinflamatuvar Aktivite Deneylerinde Kullanılan Gruplar

Deneyde kullanılan test maddeleri 50mg/kg dozda subkutan (s.c.) olarak, karrageninden yarım saat önce verilmiştir. Antiinflamatuvar aktivite deneylerinde sağ arka pençeye karragenin (25µl/pençe, %1 a/h), sol arka pençeye serum fizyolojik (%0.9 NaCl) eşit hacimlerde intraplantar olarak uygulanmıştır. Tüm deney gruplarında 7-9 fare kullanılmıştır.

Grup 1: DMSO (kontrol) grubu; deneylerde araştırılan test maddeleri DMSO içerisinde çözülmüştür. Bu nedenle kontrol grubu olarak DMSO (çözücü) kullanılmıştır. Ayrıca SF ile DMSO ödem formasyonları arasındaki fark bulunarak delta değeri elde edilmiştir.

Grup 2: Referans madde İbuprofen (50mg/kg, s.c.) grubu

Grup 3: TEP424 kodlu madde (50mg/kg, s.c.) grubu

Grup 4: SNTZ39 kodlu madde (50mg/kg, s.c.) grubu

Grup 5: TEP422 kodlu madde (50mg/kg, s.c.) grubu

Grup 6: TEP425 kodlu madde (50mg/kg, s.c.) grubu

3.4.2. Kıvrınma Aljezi Yöntemi

Analjezik aktivite tayininde, p-Benzokinon (p-BK) ile oluşturulan abdominal konstriksiyon (Kıvrınma, Writhing) testi

kullanılmıştır⁷¹. Farelerde aljezi oluşturmak amacı ile 2.5 mg/kg p-BK serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal (i.p.) olarak uygulanmıştır. İntraperitoneal uygulamalarda uygulanan çözelti hacmi 0,1ml/10gr vücut ağırlığı olacak şekilde ayarlanmıştır.

Kontrol ve deney gruplarına madde uygulamasından 30 dakika sonra p-BK uygulanmıştır. p-BK enjeksiyonundan 3 dakika sonra 15 dakika süre ile gözlenen kıvranmalar sayılarak kaydedilmiştir. Kıvranma sayıları için farelerde gözlenen başlıca davranış karakteristikleri şunlardır:

i) Hayvanın bedenini gererek karnını konkavlaştırması

ii) Konkav karınla bir tarafa bükülmesi

iii) Arka ayaklarında tek veya her iki taraflı tonik ve/veya klonik gerilme, sürüklenme ve toplanma

Bu karakteristiklerin tümünün veya herhangi bir tanesinin görülmesi bir '+' olarak kabul edilmiştir. Kıvranma sayısı üzerinde test maddelerinin gösterdiği inhibitör etki % koruma veya % antinosiseptif aktivite olarak değerlendirilmiş ve bu yüzde değer aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Antinosiseptif aktivite (\% koruma)} = 100 - (D/K \times 100)$$

D (deney): Madde ve p-BK uygulamasından sonra gözlenen ortalama kıvranma sayısı

K (kontrol): SF ve p-BK uygulamasından sonra gözlenen ortalama kıvranma sayısı

3.4.3. Pençe Ödemi Yöntemi

Antiinflamatuvar aktivitenin belirlenebilmesi için karragenin ile oluşturulmuş pençe ödemi modeli kullanılmıştır^{72,73}. Test maddeleri ve DMSO' nun s.c. olarak uygulanmasından 30 dakika sonra, farelerin sağ ve sol pençeleri kompas (mikrometre) yardımı ile ölçülmüştür. (0.01 mm hassasiyet ile). Her farenin sağ pençesine subplantar olarak serum fizyolojik içerisinde taze hazırlanan karragenin süspansiyonu (0.5mg/25µl) enjekte edilmiştir. Her farenin kendi kontrolü için sol arka pençesine subplantar olarak 25µl SF enjekte edilmiştir. Karragenin enjeksiyonundan sonra 0, 90, 180, 270 ve 360. dakikalarda pençe kalınlıkları kompas yardımı ile ölçülmüştür. Daha sonra sağ ve sol pençeler arasındaki fark elde edilmiş, tedavi edilen grupların ortalama değerleri kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Ödem formasyonunda tespit edilen farklar yüzde antiinflamatuvar aktivite olarak hesaplanmıştır.

3.4.4. Mortalite ve ülserojenik aktivite ölçümü

Deneylerden sonra 48 saat süre ile tüm farelerin mortalite kayıtları tutulmuş ve mortalite yönünden akut toksik etki olup olmadığına bakılmıştır. Analjezik aktivite deneylerinden 4 saat sonra anestezi altında tüm farelerin özefagus ve duodenumları bağlanarak mideleri 1,5ml % 10 formalin ile fikse edilmiş ve çıkartılmıştır. Işık mikroskobu altında mideler incelenerek peteşi olup olmadığına bakılmıştır.

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

p-BK ile oluşturulan kıvranma aljezi modelinde % antinosiseptif aktivite ve karragenin ile oluşturulan pençe ödemi modelinde % antiinflamatuvar aktivite ve gruplar arasındaki farklılığın bulunması:

a) Kontrol ve deney gruplarında gözlenen kıvranma sayısı ve pençe ödem miktarları ortalama \pm ortalamaların standart hatası şeklinde ifade edilmiştir.

b) Kıvranma sayılarının % antinosiseptif aktivite olarak hesaplanmasında ve pençe ödemlerinde oluşan farkın % antiinflamatuvar aktivite olarak hesaplanmasında her bir bireysel hayvan değeri, ortalama kontrol değerine bölünerek hesaplanmış ve sonuçta % koruma değeri dağılımın yaygınlık ölçüsü olarak, ortalamaların standart hatası cinsinden ifade edilebilmiştir.

c) Gerek kıvrınma sayıları ve gerekse % antinosiseptif aktivite ve % antiinflamatuvar aktivite değerlerinin istatistiksel anlamlılık testleri için tek yönlü ANOVA uygulanmıştır.

i) Varyans analizinde gruplar arası farklılık olduğunda (% antinosiseptif aktivitelerin karşılaştırılması) ve Barlett testi sonucu varyanslar homojen olduğunda, grupların post-hoc karşılaştırılmalarında Student's Newman Keuls testi kullanılmıştır. $P < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

ii) Varyans analizinde gruplar arası farklılık olduğunda (% antinosiseptif aktivitelerin karşılaştırılması) ve Barlett testi sonucu varyanslar homojen olmadığında, grupların post-hoc karşılaştırılmalarında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. $P < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

d) Tek yönlü varyans analizleri ve post-hoc testler, Instat (1990-1993) V2.04a Graphpad paket programı yardımı ile çözümlenmiştir.

4. BULGULAR

Deneylerde kullanılacak 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit türevlerinin hazırlanışı ve sentez prosedürü şekil 12’de gösterilmiştir. Yapılan farmakolojik çalışmalarda sentezlenen maddelerin (TEP424, SNTZ39, TEP422, TEP425) ve referans madde olarak ibuprofenin analjezik ve antiinflamatuvar aktiviteleri, ülserojenik potansiyelleri ve akut toksisiteleri (mortalite) incelenmiştir. Ayrıca farmakolojik aktivitesi yüksek olan test maddelerinin (TEP424, SNTZ39) doz yanıt eğrileri çıkartılarak ED₅₀ değerleri bulunmuştur.

4.1. KULLANILAN MADDELERİN OLUŞTURDUKLARI ANTİNOSESİPTİF AKTİVİTELER

DMSO’nun etkileri; Kontrol grubu olarak p-BK’dan 30 dakika önce serum fizyolojik (SF) 0,05ml/10g fare olacak şekilde subkütan verilmiştir. SF grubunda kıvrınma sayıları (p-BK’dan sonra 15 dakika boyunca) 40.2±1,1 (n=6) olarak bulunmuştur. Deneylerde test edilen maddelerin DMSO’da çözülmesi nedeni ile çözücünün antinosiseptif etkisi incelenmiş ve p-BK’dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde saf DMSO subkütan verilmiştir. DMSO grubunda kıvrınma sayıları (p-BK’dan sonra 15 dakika boyunca) 38.1±1,4 (n=7) olarak bulunmuştur (Şekil 9). Kontrol grubu ve DMSO (çözücü) grubu kıvrınma sayıları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p>0,05). Bu nedenle test maddelerin karşılaştırılması için DMSO grubu kontrol olarak değerlendirilmiştir.

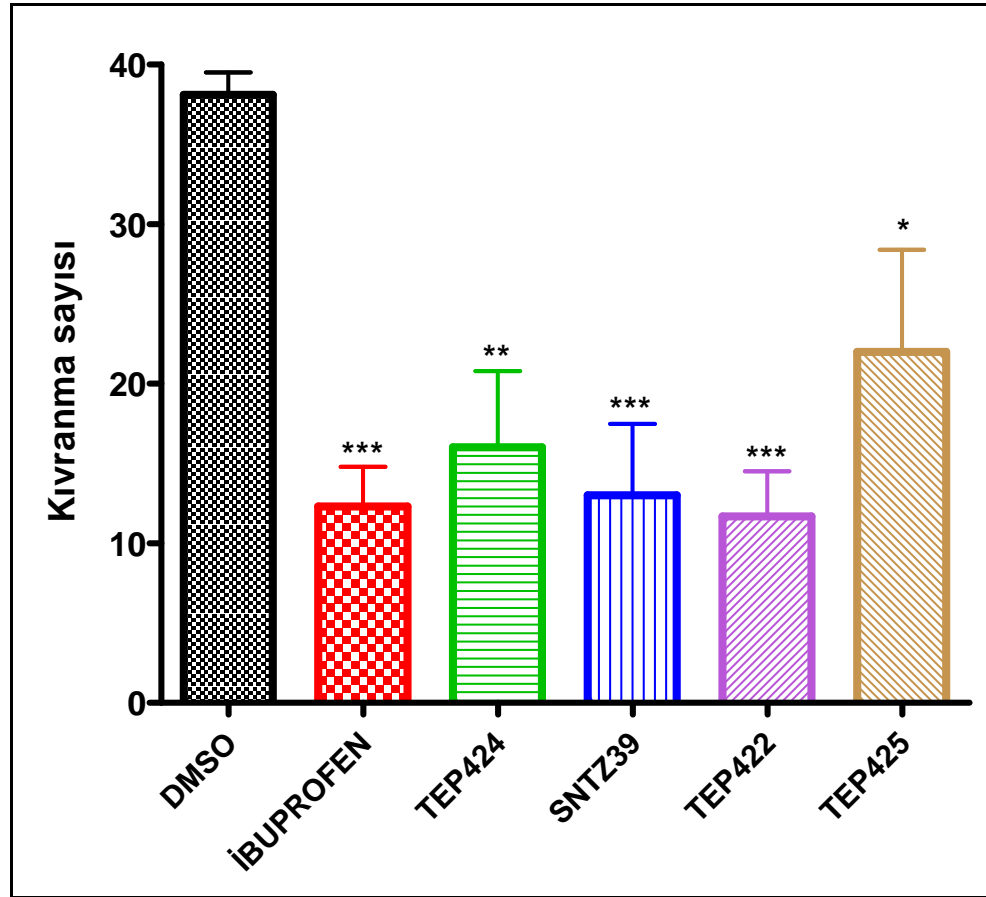
İbuprofen (İBU)'nun etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde 50mg/kg İBU subkütan verilmiştir. Kıvrınma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) $12,3 \pm 2,5$ (n=7) olarak bulunmuştur (Şekil 9). Kıvrınma sayıları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklıdır ($p < 0,0001$). İbuprofen için antinosiseptif aktivite $67,9 \pm 6,50$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4).

TEP424'ün etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde 50mg/kg TEP424 subkütan verilmiştir. Kıvrınma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) $16,0 \pm 4,8$ (n=6) olarak bulunmuştur (Şekil 9). Kıvrınma sayıları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklıdır ($p < 0,001$). TEP424 için antinosiseptif aktivite $58,1 \pm 12,7$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4).

SNTZ39'un etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde 50mg/kg SNTZ39 subkütan verilmiştir. Kıvrınma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) $13,0 \pm 4,5$ (n=6) olarak bulunmuştur (Şekil 9). Kıvrınma sayıları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklıdır ($p < 0,0001$). SNTZ39 için antinosiseptif aktivite $65,9 \pm 11,7$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4).

TEP422'nin etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde 50mg/kg TEP422 subkütan verilmiştir. Kıvrınma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) $11,7 \pm 2,8$ (n=6) olarak bulunmuştur (Şekil 9). Kıvrınma sayıları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklıdır ($p < 0,01$). TEP422 için antinosiseptif aktivite $69,4 \pm 7,4$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4).

TEP425'in etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde 50mg/kg TEP425 subkütan verilmiştir. Kıvranma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) $22,0 \pm 6,4$ (n=6) olarak bulunmuştur (Şekil 9). Kıvranma sayıları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklıdır ($p < 0,0001$). TEP425 için antinosiseptif aktivite $42,3 \pm 16,8$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4).



Şekil 9. Farelerde p-BK (parabenzokinin) ile oluşturulan kıvranma aljezi modelinde, İbuprofen ve pirazol türevi maddelerin (50 mg/kg, s.c.) uygulamaları ile oluşan kıvranma sayıları (Ortalama ± SH, n=6). * Kontrol (DMSO) grubu ile farklı (* $p < 0,01$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$).

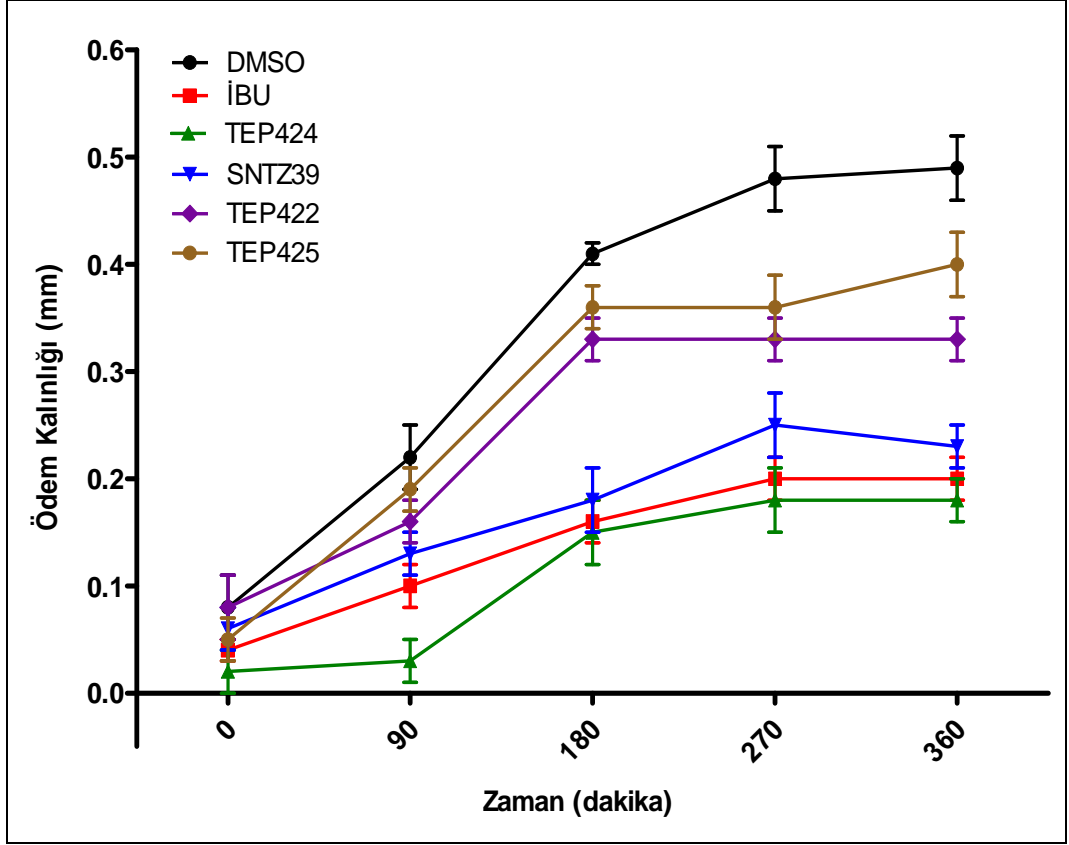
4.2. KULLANILAN MADDELERİN FARE PENÇE ÖDEMI ÜZERİNDE ETKİLERİ

Yapılan ön deneylerde test edilecek maddelerin çözücüsü olarak kullanılan DMSO'nun karragenin (CG) ile pençede oluşturulan ödem üzerine etkilerini inceledi. CG'den 30 dakika önce SF (0,05ml/10g fare, s.c.) verilen grup ile aynı şekilde ve hacimde DMSO verilen grup arasında ortaya çıkan pençe ödemleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). Test edilen maddelerinin kontrolü olarak DMSO ile oluşan ödem miktarları kullanıldı. Deneylerde her farenin sağ arka pençesine verilen CG (25µl/pençe) ile sol arka pençesine verilen SF (25µl/pençe) arasındaki fark alınarak CG ile oluşan ödem miktarları bulundu.

4.2.1. KULLANILAN MADDELERİN OLUŞTURDUKLARI PENÇE ÖDEMİNİN ZAMANLA DEĞİŞİMİ

Antiinflamatuvar aktivite ölçümlerinde özellikle siklooksijenaz yolağının rol aldığı bilinen inflamasyonun II. fazı dikkate alınmış ve bu amaçla karragenin enjeksiyonundan sonra 0, 90, 180, 270 ve 360. dakikalarda oluşan ödem miktarları ölçülmüştür.

Test maddeleri ve DMSO verilen farelerde karragenin ile oluşan ödemin zamanla değişimleri şekil 10'da verilmiştir.



Şekil 10. Fare pençelerinde karragenin (carrageenan; CG) ile oluşan ödemin zamanla değişimi. Sonuçlar, CG verilen sağ arka pençe ile serum fizyolojik verilen sol arka pençe kalınlıkları arasındaki farkların ortalamaları ve ortalamaların standart hatası şeklinde verilmiştir (Ortalama±SH, n=6). Maddeler (İBU; İbuprofen, TEP424, SNTZ39, TEP422 ve TEP425) 50mg/kg dozda ve aynı volümde saf Dimetil Sülfoksit (DMSO) subkütan olarak CG'den 30 dakika önce verilmiştir.

4.2.2. KULLANILAN MADDELERİN İNFLAMASYONUN II. FAZINDA OLUŞTURDUKLARI % ANTIİNFLAMATUVAR AKTİVİTELER

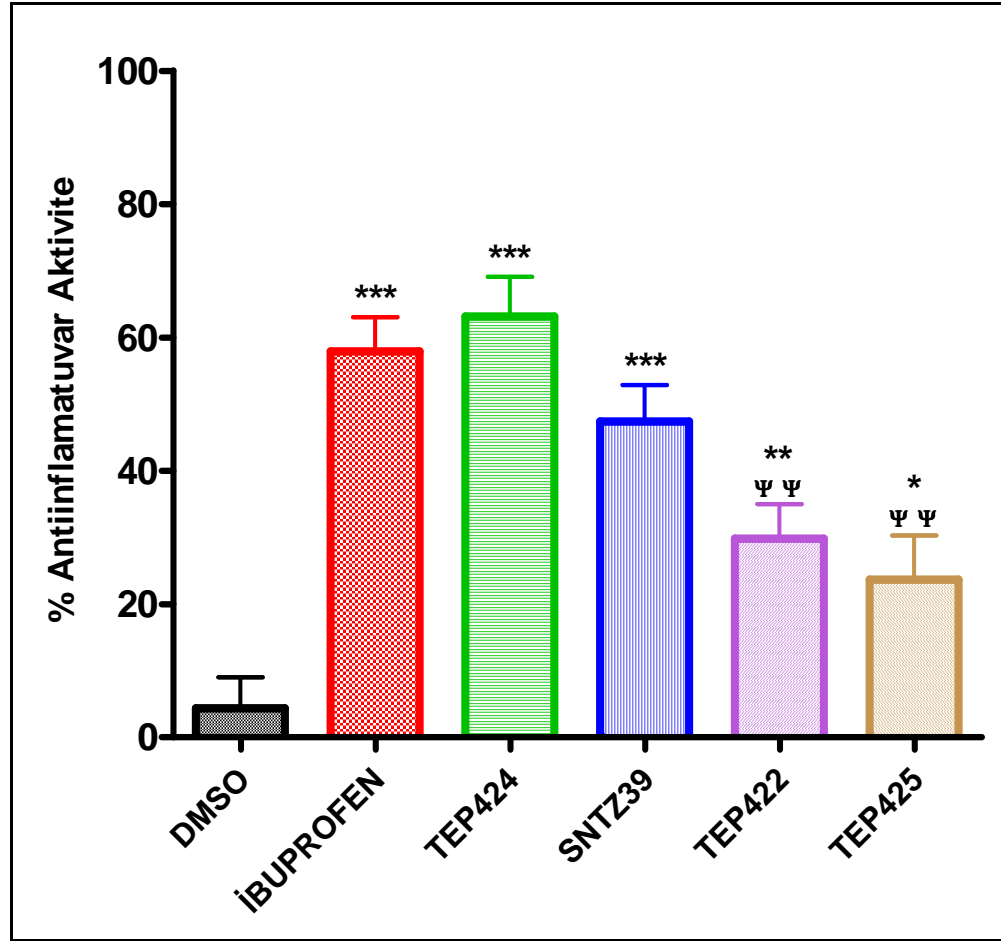
Karragenin ile oluşan ödemin zamanla değişimi incelendiğinde enjeksiyondan yaklaşık dört saat sonra plato yaptığı literatürle uyumlu olarak ortaya çıkarılmıştır. Deneylerimizde, inflamasyon karakterine uygun olarak daha çok siklooksijenaz ve lipoksijenaz yolakları ürünlerinin rol aldığı zaman dilimi olarak 270. dakika kabul edilmiştir.

Çalışmada 270. dakikada elde edilen bulgulara göre test edilen maddelerin % antiinflamatuvar aktiviteleri; DMSO için $4,34 \pm 4,7$ (n=8), İbuprofen için $57,89 \pm 5,14$ (n=7), TEP424 için $63,16 \pm 5,92$ (n=6), SNTZ39 için $47,37 \pm 5,44$ (n=6), TEP422 için $29,82 \pm 5,2$ (n=6) ve TEP425 için $23,68 \pm 6,62$ (n=6) olarak bulunmuştur (şekil 11).

Test maddelerinin, İBU dahil, % antiinflamatuvar aktiviteleri DMSO grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı potent bir etkinliğe sahip oldukları ($p < 0,0001$) gözlenmektedir. Referans madde İBU ve ürev maddeler TEP424 ve SNTZ39'un birbirine relatif eşit etkinlikte oldukları gözlenmekle beraber, relatif potensleri karşılıklı olarak istatistiksel anlamlı bir farklılık içermemektedir. Ancak, TEP424 ve SNTZ39'un referans maddemiz olan ibuprofene (klinikte kullanılan klasik antiinflamatuvar madde) yaklaşık eşdeğer potense sahip olduğu düşünülebilir.

Her ne kadar TEP422 ve TEP425 maddelerinin antiinflamatuvar aktivitelerinin olduğu gözlene de bu etkiler referans

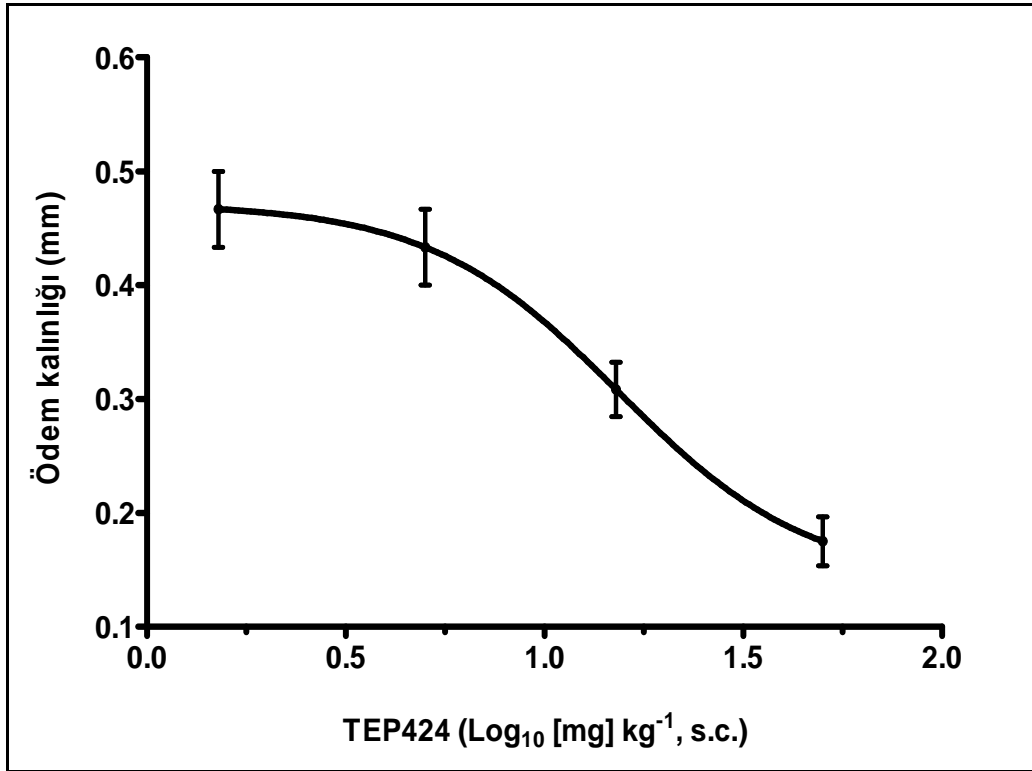
maddenin (ibuprofen) antiinflamatuvar aktivitesinden istatistiksel anlamlı olarak daha az bulunmuştur ($p < 0,001$) (Şekil 11).



Şekil 11. Farede karragenin (CG) ile oluşturulan pençe ödeminin II. fazında (270. dakika) İbuprofen ve Pirazol türevlerinin (50mg/kg, s.c.) % antiinflamatuvar aktivitelerinin Dimetil Sülfoksit (DMSO) ile karşılaştırılması (Ortalama ± SH, n=6). *DMSO'dan farklı ($*p < 0.01$, $**p < 0.001$, $***p < 0.0001$), $^{\Psi}$ İbuprofen'den farklı ($^{\Psi\Psi}p < 0.001$).

4.2.3. TEP424'ÜN ANTIİNFLAMATUVAR AKTİVİTESİNDE DOZ-YANIT İLİŞKİSİ

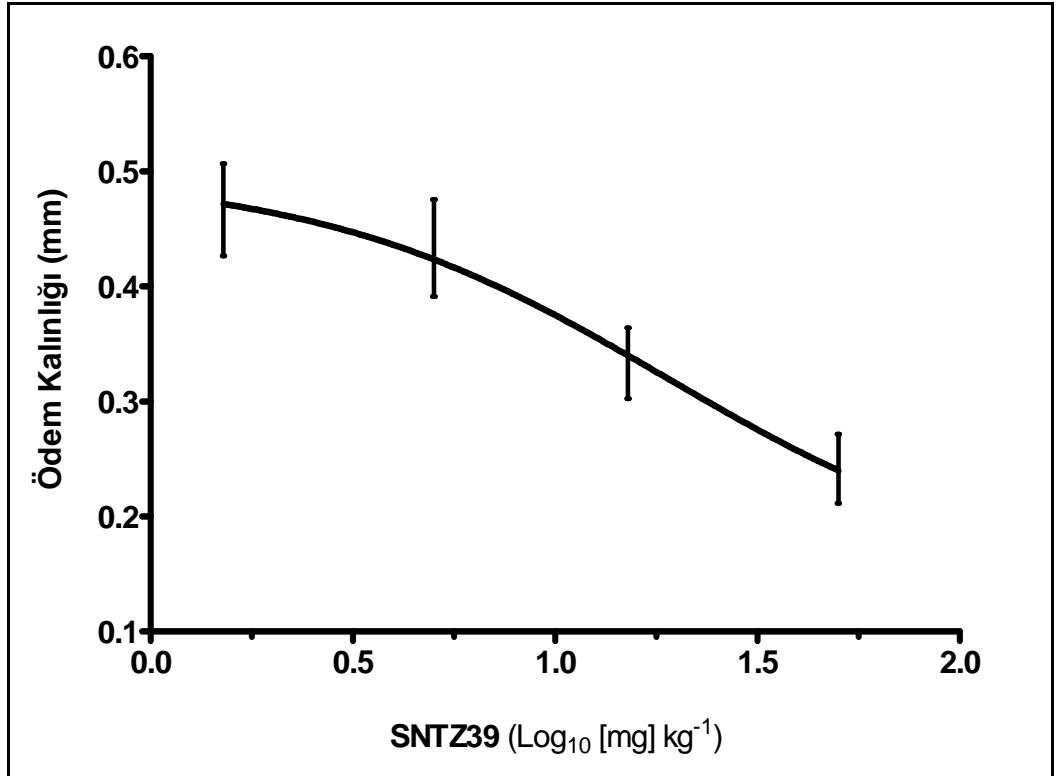
TEP424 maddesi 1.5, 5, 15 ve 50 mg/kg dozlarda CG'den 30 dakika önce uygulanmış ve 270. dakikada pençe ödemi üzerine inhibitör etkileri incelenmiştir. TEP424'ün ED₅₀ değeri 15,38±0,16 mg/kg olarak bulunmuştur (n=6) (şekil 12).



Şekil 12. Farede karragenin ile oluşturulan pençe ödeminin (inflamasyonun) II. fazında (270.dakika) TEP424'ün doz-yanıt eğrisi (ED₅₀: 15,38±0,16 mg/kg, n=6).

4.2.4. SNTZ39'UN ANTIİNFLAMATUVAR AKTİVİTESİNDE DOZ-YANIT İLİŞKİSİ

SNTZ39 maddesi 1.5, 5, 15 ve 50 mg/kg dozlarda CG'den 30 dakika önce uygulanmış ve 270. dakikada pençe ödemi üzerine inhibitör etkileri incelenmiştir. SNTZ39'un ED_{50} değeri $18,89 \pm 0,48$ mg/kg olarak bulunmuştur (n=6) (şekil 13).



Şekil 13. Farede karragenin ile oluşturulan pençe ödeminin (inflamasyonun) II. fazında (270.dakika) de SNTZ39'un doz-yanıt eğrisi (ED_{50} : $18,89 \pm 0,48$ mg/kg, n=6).

Tablo 4. Test edilen maddelerin % antinosiseptif aktiviteleri, faz II'deki (270. dakika) antiinflamatuvar aktiviteleri ve midede ülserasyon oranları (n=6-8).

Test Maddeleri	% Analjezik aktivite	Pençe ödem kalınlığı ($\times 10^{-2}$ mm) (270. dakikada % ödem inhibisyonu)	Ülserasyon oranı
DMSO	-	47,50 \pm 0,03	0/6
İbuprofen	67,9 \pm 6,50	20,00 \pm 2,44 (%57,89)	1/6
TEP424	58,1 \pm 12,7	17,50 \pm 2,81 (%63,16)	1/6
SNTZ39	65,9 \pm 11,7	25,00 \pm 2,58 (%47,37)	0/6
TEP422	69,4 \pm 7,40	33,33 \pm 2,47 (%29,82)	0/6
TEP425	42,3 \pm 16,8	36,25 \pm 3,15 (%23,68)	0/6

Deneylerde elde edilen veri ortalama \pm SH olarak gösterilmiştir. Maddeler p-BK veya karragenin'den 30 dakika önce subkütan olarak 50 mg/kg dozda uygulanmıştır.

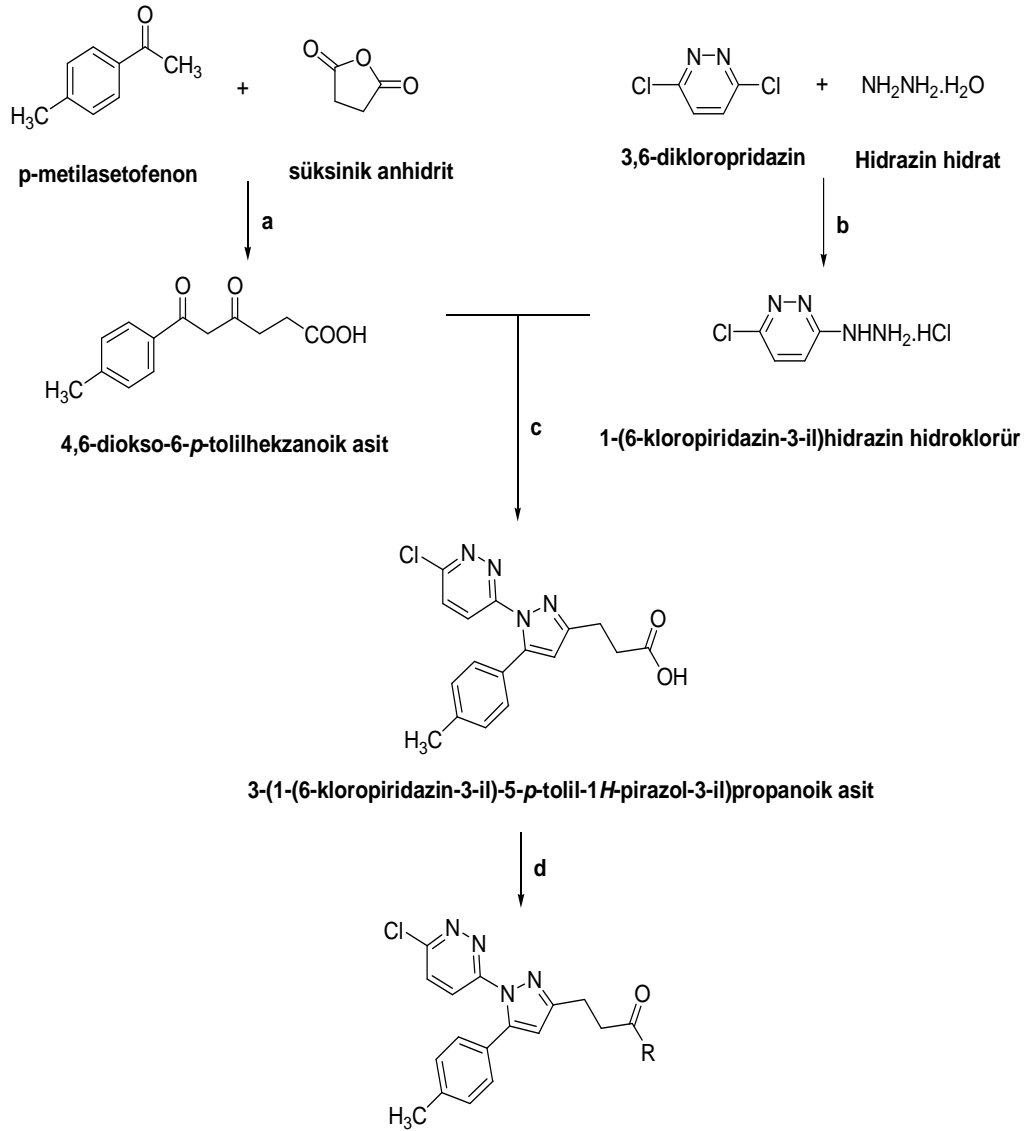
4.2.5. KULLANILAN MADDELERİN ÜLSEROJENİK AKTİVİTE VE AKUT TOKSİSİTE (MORTALİTE) DEĞERLERİ

Deneylerden sonra 48 saat süre ile tüm farelerin mortalite kayıtları tutulmuş ve kullanılan tüm maddelerin (DMSO, ibuprofen, TEP424, SNTZ39, TEP422, TEP425) 50 mg/kg dozlarında bile hiçbir ölüm vakasına rastlanmamıştır. Bu durumda mortaliteye sebep olacak akut bir etkinin olmadığı kanaatine varılmıştır.

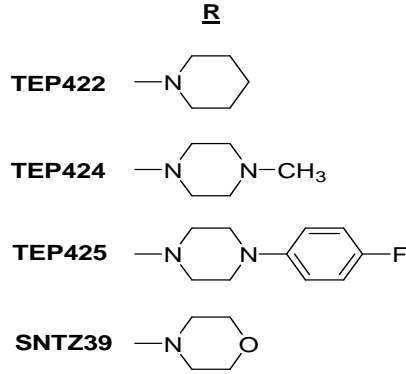
Analjezik aktivite deneylerinden 4 saat sonra anestezi altında tüm farelerin özefagus ve duodenumları bağlanarak mideleri 1,5ml % 10 formalin ile fikse edilmiş ve çıkartılmıştır. Işık mikroskobu altında mideler incelenerek peteşi olup olmadığına bakılmıştır. Kullanılan maddelerden sadece ibuprofen ve TEP424 verilen farelerde 1/6 oranında peteşi gözlenmiştir (tablo 4).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit genel yapısına sahip öncü bileşiklerin sentezi, aşağıdaki genel sentez şeması uyarınca, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir (Şekil 14).



Reaksiyon şartları: (a) *i.* t-bütoksit, dimetilformamit *ii.* hidroklorik asit (b) gaz hidroklorik asit, etanol (c) trietilamin, metanol, ısı (c) *i.* sodyumbikarbonat, metanol, ısı *ii.* hidroklorik asit (d) etil kloroformat, diklorometan, amin türevi, oda sıcaklığı



Şekil 14. Deneyleerde kullanılan 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit türevlerinin sentez şekli ve analjezik, antiinflamatuvar aktiviteleri araştırılan türevler.

Sentezi gerçekleştirilen türev maddelerden, bu tez kapsamı içinde araştırılan TEP424, SNTZ39, TEP422, TEP425 kod numaralarını içerenlerin türev maddelerin konstitüsyonel, fizikokimyasal ve diğer kimyasal özellikleri, Farmasötik Kimya Anabilim dalınca belirlenmiş; bu referans bilgilerden ve verilerden, bu tez kapsamı içinde gerçekleştirilen farmakolojik tarama ve aktivite çalışmalarında aynen yararlanılmıştır.

TEP424, SNTZ39, TEP422, TEP425 kod numarasını taşıyan 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit türevlerinin, bu tez araştırması kapsamı içinde, bazı farmakolojik aktivitelerinin taraması yapılmış ve sergiledikleri potansiyel etkileri analjezik ve antiinflamatuvar aktiviteleri, ülserojenik potansiyelleri ve akut toksisiteleri (mortalite) yönünden incelenmiştir. Ayrıca farmakolojik aktivitesi yüksek olarak saptanan TEP424 ve SNTZ39 türev maddelerin konsantrasyon-yanıt eğrileri de elde edilerek, ED₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Analjezik ve antiinflamatuvar aktivite taramalarında propanoik asit türevi analjezik ilaçlardan olan ibuprofen, referans madde olarak kullanılmıştır.

1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit türevi TEP424, SNTZ39, TEP422, TEP425 kod adını taşıyan maddelerin suda çözünürlükleri olmadığından, çözücü olarak kullanılan DMSO' nun, taranan farmakolojik aktiviteler bakımından değerlendirilmesi de kontrol deneylerle ölçülmüştür.

Bu tez kapsamında analjezik aktivite tayinine ilişkin deneylerde kullanılan metod, abdominal konstriksiyon yada diğer adıyla kıvranma testidir^{54,55}. Esasen analjezik aktivite tarama testlerinde batarya test yöntemi ile birden fazla yöntemin kullanılması öngörülmekte ise de, sentezlenen bileşiklerin miktarlarının sınırlı olması ve önemli bir kısmının kimyasal analizler için kullanılmış olması, farmakolojik tarama testlerinin sınırlandırılmasını da zorunlu kılmıştır. Kıvranma testinde yöntemsel bağlamda aljezik madde referansı olarak parabenzokinon (p-BK) kullanılmıştır. Test edilen 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit türevi TEP424, SNTZ39, TEP422 ve TEP425 bileşikleri ve çözücüleri olarak kullanılan DMSO'nun, p-BK'nın oluşturduğu kıvranma fenomeni üzerinde etkileri araştırılmıştır. Çözücü olarak kullanılan DMSO'nun, kıvranma testinde hidrofilik maddeler için kullanılan serum fizyolojiktan istatistiksel anlamlı bir fark oluşturmadığı gözlemlendiğinden ($p>0.05$), tek başına DMSO'nun ortaya çıkardığı profil, kontrol değer olarak kabul edilmiştir.

Analjezik aktivite taramalarında, referans analjezik ilaç, ibuprofen (İBU) olarak seçilmiştir. Bu seçimde temel varsayım, ibuprofen'in propanoik asit türevi majör bir bileşik olmasıdır. İBU, tüm deneylerde, 50mg/kg olarak ve 0,05ml/10 g fare vücut ağırlığına göre subkütan uygulanmış ve % 67,9±6,50 antinosiseptif aktivite gösterdiği hesaplanmıştır.

İBU'nun yanı sıra, analjezik aktivite yönünden taranan türev maddelerin tümü 50mg/kg olarak ve 0,05ml/10 g fare vücut ağırlığına göre subkütan uygulanmış ve sırasıyla, kontrole göre, TEP424 için % 58,1±12,7; SNTZ39 için % 65,9±11,7; TEP422 için % 69,4±7,4 ve TEP425 için % 42,3±16,8 istatistiksel anlamlı ($p<0.01-0.0001$) antinosiseptif aktivite göstermiştir.

Kıvrınma test modelinde, antinosiseptif aktivite yönünden taranan 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit türevi TEP424, SNTZ39, TEP422, TEP425 kod adlarını taşıyan bileşiklerin, grubun majör referans bileşiklerinden birisi olan ibuprofenle karşılaştırılabilir potent etkilere sahip oldukları bu çalışma ile gösterilmiş ve olurlanmış bulunmaktadır. Bunlara ilişkin veriler de, Tablo 4 ve Şekil 9'da özetlenmektedir.

İbuprofen'in de içinde bulunduğu profen (fenil propionik asit ya da propanoik asit) türevi ilaçlar, aspirin ve parasetamolden sonra en yaygın olarak kullanılan analjezik ilaçlardandır. İbuprofen, ilk bulunan ve ilaç olarak kliniklerde yaygın bir biçimde kullanılan fenilpropionik asit türevidir. Aynı gruptan diğer majör ilaçlara ve indometazine göre analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkinliği daha az olmasına karşın, onlardan üstünlüğü, yan tesirlerinin daha düşük olmasıdır. İbuprofen'in de içinde yer aldığı tüm profen türevleri yapısal olarak kiral bir merkez taşıdıklarından, enantiyomerik bir özellik gösterirler ve naproksen hariç; İBU dahil profenlerde bulunan S ve R-enantiyomerler rasemat halindedir. Bu yapısal özellik, profenlerin farmakodinamik ve farmakokinetik özellikleri bakımından belirleyici bir özgünlüğe sahip olup, genelde S-enantiyomerik özelliğin siklooksijenaz inhibisyonu ve analjezik etki potansi bakımından daha üstün potense sahip oldukları bilinmektedir. Bu hususlar, İBU için etraflı bir biçimde incelenmiştir. Özellikle in-vitro olarak İBU'nun S-

enantiyomerinin prostaglandin sentez inhibitörü olduğunun deneysel olarak gösterilmesinin yanısıra, in vivo antiinflamatuvar etkisinin de rasemat karışım içinde bu enantiyomerle ilgili olduğunun gösterilmesi; inaktif R-izomerin in vivo koşullarda kısmen aktif S-izomerine dönüşmesi ve bağlamıyla İBU'nun analjezik dozuna oranla antiinflamatuvar etkililiğinin daha yüksek dozda sağlanabilmesi ve dolayısıyla gastrointestinal yan etki riskini de artırması klinik olarak son derece önem arz etmektedir⁵.

Tez çalışması kapsamında incelenen türev bileşiklerle ilişkilendirildiğinde, maddelerin kıvrınma modelinde İBU gibi potent antinosiseptif aktiviteye sahip oldukları ve İBU'ya yapısal benzerlik gösteren TEP424, SNTZ39 ve TEP422'ün İBU ile relatif eşdeğer potenslere sahip oldukları anlaşılmaktadır.

Antiinflamatuvar aktivite tarama modeli olarak pençe ödem testi kullanılmıştır⁷². Pençe ödemi modelinde fare kullanılmış ve antinosiseptif aktivite taramalarında olduğu üzere, sentez maddelerinin çözücüsü olarak kullanılan DMSO, serum fizyolojikle karşılaştırılmasında, istatistiksel anlamlı fark oluşturmadığı için ($p > 0.05$) “Δ kontrol” (DMSO etkisi-SF etkisi) olarak kabul edilmiştir. İnflamasyon, 0,05 ml/10 g vücut ağırlığına göre, fare pençesine %1 karragenin 25µl/pençe hacminde subkütan enjeksiyonu ile oluşturulmuştur.

Antiinflamatuvar aktivite taramalarında, TEP424, SNTZ39, TEP422, TEP425 kod numarasını taşıyan 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit türevleri, çözücüleri olan DMSO ile birlikte İBU'ya karşı test edilmiştir.

İnflamatuvar prosesin fazik yanıt gösterdiği dikkate alınarak, özellikle siklooksijenaz yolağının, faz II inflamatuvar yanıtı tetikleme rolünden hareketle, tüm bileşiklerin karragenin enjeksiyonundan sonra oluşturdukları antiinflamatuvar aktivite 0, 90, 180, 270 ve 360. dakikalar bakımından izlenmiş ve faz II % antiinflamatuvar aktivite değerlendirmeleri 270. dakika bakımından yapılmıştır.

Bu zaman dilimi bakımından referans madde İBU ve incelemeye konu edilen 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit türevlerinin oluşturdukları etkiler sırasıyla şöyledir; ibuprofen için $57,89 \pm 5,14$, TEP424 için $63,16 \pm 5,92$, SNTZ39 için $47,37 \pm 5,44$, TEP422 için $29,82 \pm 5,2$ ve TEP425 için $23,68 \pm 6,62$. Bu sonuçlara ilişkin veriler şekil 11 ve tablo 4'de özetlenmektedir.

Antiinflamatuvar aktivite profillerine bakıldığında İBU gibi, 50 mg/kg doza denk düşen hacimlerde uygulanan türev maddelerin tümü, fare pençe ödemini, kontrol maddesi olan DMSO ya göre istatistiksel anlamlı ($p < 0.001-0.0001$) olarak inhibe etmiştir. Ancak relatif etkinlik olarak İBU'ya benzer potense sahip türev maddelerin TEP424 ve SNTZ39 olduğu gözlemlenmiştir. Bu bakımdan, her iki maddeye ilişkin doz-yanıt eğrilerinden TEP424'ün ED_{50} değeri $15,38 \pm 0,16$ mg/kg; SNTZ39'un ED_{50} değeri ise $18,89 \pm 0,48$ mg/kg olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar şekil 12 ve 13'de özetlenmektedir.

İBU ve incelenen tüm türev maddelerin gerek akut toksisite ve mortalite ve gerekse ülserojenik etki bakımından incelenmesinde, 50 mg/kg dozlarda herhangi bir mortalite oluşturmadığı ve kullanılan maddelerden sadece ibuprofen ve TEP424'ün deneye alınan farelerde 1/6

oranında peteşi oluşturduğu gözlenmiştir. Sonuçlar tablo 4'te özetlenmektedir.

Ülserojenik aktivite bakımından İBU ve TEP424'ün benzer bir profil göstermeleri, her iki bileşiginde relatif eşit etkin antiinflamatuvar aktiviteye sahip olmaları bakımından anlam içermektedir. İbuprofene göre daha güçlü antiinflamatuvar aktivite ve daha az gastrointestinal yan etki, ilaç adayı bir molekül beklentisi olarak önem taşımaktadır.

Bu tez çalışması bağlamında incelenen 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit genel yapısına sahip öncü bileşiklerinden sentez edilmiş, TEP424, SNTZ39, TEP422, TEP425 türevlerinin analjezik farmakodinamik ön taramaları, başlıca üç bileşik bakımından (TEP424, SNTZ39 ve TEP422) üzerinde ileri çalışma yapılmasına değer olduğuna işaret etmektedir; buna karşın antiinflamatuvar aktivite bakımından da benzeri özelliğe sahip olan bileşikler TEP424, SNTZ39'dur. Her iki aktivite profili bakımından da benzerlik gösteren TEP424, SNTZ39'dur.

Bu tez bağlamında incelenen bileşikler, sonuç olarak ortaklaşılın bir projenin parçalarından birisini oluşturmaktadır. Bu bakımdan sentez edilen maddelerin miktar kısıtı, farmakodinamik tarama testlerinin de en önemli sınırlayıcı faktörü olmuştur. Bunun yanı sıra tarama testlerinin büyük miktar da deney hayvanı sayısına gereksinim göstermesi ve olgu tersinden okunursa, bu koşulların fevkalade kısıtlı oluşu, ön gözlemlerin ayrıntılı bir biçimde test edilmesini de olanaksız kılmaktadır.

Daha ileri deneylerin tasarlanabilmesi bakımından bu ön denemelerin ve taramaların bir başlangıç verisi olarak kabulü ve buna göre selektivite gösteren bileşiklerin farmakodinamik profillerine ilişkin yeni ortak çalışmaların sürdürülmesi gerekli görülmektedir. Bütün kısıtlı olanak ve koşullara karşın incelenen bileşiklerin içinden aday bileşiklere dair önemli ön bulguların ortaya çıkarılabildiği olması, bu tez çalışmasının başarı unsuru sayılmalıdır.

6. SONUÇ

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında sentezlenen, 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit genel yapısına sahip TEP424, SNTZ39, TEP422, TEP425 kod numaralı 4 maddenin farmakolojik aktivite taraması yapılmış olup, potansiyel analjezik ve antiinflamatuvar aktiviteleri, ülserojenik potansiyelleri ve akut toksisite (mortalite) yönünden incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, maddelerin kıvranma modelinde İBU gibi potent antinosiseptif aktiviteye sahip oldukları ve İBU'ya yapısal benzerlik gösteren TEP424, SNTZ39 ve TEP422'ün İBU ile relatif eşdeğer potenslere sahip oldukları anlaşılmıştır.

Antiinflamatuvar aktivite profilleri incelendiğinde ise İBU gibi, 50 mg/kg doza denk düşen hacimlerde uygulanan türev maddelerin tümü, fare pençe ödemi, kontrol maddesi olan DMSO ya göre istatistiksel anlamlı ($p < 0.001-0.0001$) olarak inhibe etmiştir. Ancak relatif etkinlik olarak İBU'ya benzer potense sahip türev maddelerin TEP424 ve SNTZ39 olduğu gözlemlenmiştir.

İBU ve incelenen tüm türev maddelerin gerek akut toksisite ve mortalite ve gerekse ülserojenik etki bakımından incelenmesinde, 50 mg/kg dozlarda herhangi bir mortalite oluşturmadığı ve kullanılan maddelerden sadece ibuprofen ve TEP424 ün deneye alınan farelerde 1/6 oranında peteşi oluşturduğu gözlenmiştir.

7. ÖZET

1,5-Diarilpirazol-3-Propanoik Asit Türevlerinin Analjezik ve Antiinflamatuvar Etki Yönünden Taranması

Bu çalışmanın amacı 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit'in daha önce sentezlenmemiş ester ve amit türevlerinin hazırlanarak, analjezik ve antiinflamatuvar etkilerini ve aynı zamanda ülserasyon oluşturma potansiyellerini incelemektir.

Çalışmada DMSO kontrol grubu, İbuprofen referans madde grubu ve aktivite tayini yapılacak 4 adet madde grubu olmak üzere altı farklı deney grubu kullanılmıştır.

12'şer saat aydınlık ve karanlık periyodunda senkronize edilmiş swiss albino cinsi erkek farelerde kimyasal aljezik p-BK ile indüklenen kıvranma aljezi modelinde 1,5-diarilpirazol-3-propanoik asit kimyasal yapısına sahip dört madde, analjezik aktivite bakımından test edilmiştir. Test edilen maddelerin kıvranma sayıları üzerindeki inhibitör etkisi belirlenmiştir. Aynı madde grupları, karragenin inflamatuvar maddesi ile oluşturulan pençe ödemi modelinde antiinflamatuvar etkileri bakımından tekrar değerlendirilmişlerdir. Analjezik aktivite deneylerinden 4 saat sonra anestezi altında tüm farelerin özefagus ve duodenumları bağlanarak mideleri 1,5ml % 10 formalin ile fikse edilmiş ve çıkartılmıştır ve mortalite, ülserojenik aktivite ölçümü yapılmıştır. İstatistiksel hesaplamalarda tek yönlü ANOVA testi kullanılmıştır.

Elde edilen bulgular, çalışma kapsamında incelenen türev bileşiklerin İBU gibi potent antinosiseptif aktiviteye sahip olduğu ve İBU'ya yapısal benzerlik gösteren TEP424, SNTZ39 ve TEP422 kodlu maddelerin İBU ile relatif eşdeğer potenslere sahip olduklarını göstermiştir. Antiinflamatuvar aktivite profillerine bakıldığında tüm maddeler pençe ödemi inibe etmiştir, ancak relatif etkinlik olarak İBU'ya benzer potense sahip türev maddelerin TEP424 ve SNTZ39 olduğu gözlemlenmiştir.

8. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)

İnvestigation on Analgesic and Antiinflammatory Activities of 1,5-Diarilpirazol-3-Propanoic Acid Derivates

The aim of this study was to analyze the analgesic and antiinflammatory effect and the potential of creating ulceration of the ester and amit derivates of 1,5-diarilpirazol-3-propanoic acid that had never synthesized before.

In the study, a total of six groups, DMSO control group, IBU reference drug group and 4 substance group, were used. In this study, the analgesic activity of 4 derivates of 1,5-diarilpirazol-3-propanoic acid, were tested according to their analgesic activity, with male Swiss albino mice that are kept 12 hour day-night conditions. The inhibitory effect of tested materials on writhing counts were observed. The same drug groups were analyzed according to their antiinflammatory activity in the model of paw edema which was constituted with P-BK, 4 hours after the analgesic activity experiments, the measurement of mortalite and ulserojenic activity was performed. One-way ANOVA was used for statistical analyses.

Results showed that all the derivates have potent antinociceptive activity like IBU and the substances TEP424, SNTZ39 and TEP422 that are in same construction with IBU have relative equivalent potency with IBU. According to their antiinflammatory activity profile, all

substances inhibit the paw edema but TEP424 and SNTZ39 have relative activity potency like IBU.

9. KAYNAKLAR

- 1) Mete S. Deneysel akut ağrı modelinde tramadol-agmatin etkileşmesi ve olası mekanizmalarının araştırılması. Yüksek lisans. Adana: Çukurova üniversitesi 2008
- 2) Aslan FE., Badır A. Ağrı kontrol gerçeği: Hemşirelerin ağrının doğasını değerlendirilmesi ve geçirilmesine ilişkin bilgi ve inançları Ağrı Derg. 2005; 17: 44-51
- 3) Erdine S. Ağrı mekanizmaları, Klinik Gelişim 2007;20: 7-17
- 4) Ely T. Conotoxins reveal significant psychopharmacological effectiveness: The future of pain management. J. Psyc. Beh. Sci. , 2003; 17: 18-33.
- 5) Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Non-steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar 2. cilt, 9. baskı, Ankara, Feryal Matbaacılık 2000:997.
- 6) Stannard C., Kalso E., Ballantyne J., editors. Evidence based chronic pain management. Drug treatment of chronic pain, 1ST edit. UK 2010: 424-431
- 7) Martini A., Bondiolotti GP., Sacerdote P., Pierro L., Pictotti GB., Panerai AE, et al. Diclofenac increases beta-endorphin plasma concentrations. J. Int. Med. Res. 1984;12: 92-95.

- 8) Troullos E., Hargreaves KM., Dionne RA. Et al. Ibuprofen elevates immunoreactive beta-endorphin levels in humans during surgical stress. Clin Pharmacol Ther. 1997;62: 74-81.
- 9) Moorea DN., In search of an ideal analgesic for common acute pain, Acute Pain 2009;11: 129-137
- 10) Hawkey CJ. Cox-2 inhibitors. Lancet 1999; 353 (9149): 307–314.
- 11) Mehta DK. editors anti- Non-steroidal inflammatory drugs. British National Formulary. London: British Medical Journal, 2002:43
- 12) Grahame-Smith DG, Aronson JK. Oxford textbook of clinical pharmacology and drug therapy. 3rd Edition. Oxford: Oxford University Press, 2002.
- 13) Altındaş NT. Laparotomi Sonrasında Petidin ve Deksmetedomidin Kombinasyonu ile Hasta Kontrollü Analjezi. Uzmanlık. Isparta: 2006
- 14) Ertekin C. Ağrının Nöroanatomi ve Nörofizyolojisi, Ağrı ve Tedavisi Edit. Yegül İ. 1993:1-18
- 15) Besson JM. Chaouch A. Peripheral and spinal mechanism of nociception Physiol Rev., 1987;67: 67-186,.
- 16) Aydın ON. Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi 2002; 3(2) : 37 – 48
- 17) Fein A. Nociceptors: The cells that sense pain. [internette] <http://cell.uchc.edu/faculty/fein/nociceptors.pdf> [13.06.2011 okundu]

- 18) Woolf CJ. Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Ann Intern Med.* 2004;140 :441-451.
- 19) Scholz J., Woolf CJ. et al. Can we conquer pain? *Nature Neurosci.* 2002;5: 1062-1067
- 20) Woolf CJ., Salter MW. et al. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science.* 2000;288: 1765-1768
- 21) Cross SA. Pathophysiology of pain. *Mayo Clin Proc* 1994;69: 375-383
- 22) Price DD. Psychological and neural mechanisms of the affective dimension of pain. *Science* 2000; 288: 1769-1772
- 23) Dray A., Perkins M. Bradykinin and inflammatory pain. *Trends Neuroscience* 1993;16: 99-104
- 24) Babacan A. Ağrı, Ağrı Yolları ve Ağrılı Hastaya Yaklaşım [internette] <http://www.med.gazi.edu.tr/uploadimg/akademik/anabilimdallari/anest ezi/dersnot/agri-avnibabacan.pdf> [13.06.2011 okundu]
- 25) Yılmaz A. Ağrı: Periferel ve santral sensitizasyon, *Romatizma* 2006; 21: 105-10)
- 26) Ay S., Evcik D. Nöropatik ağrı ve tedavisi, *Yeni Tıp Derg.* 2007;24:70-74

- 27) Anonim: Ağrının nörofizyolojisi, İstanbul Üniversitesi Resmi Web Sitesi [internette] www.itfanestezi.org/agrim.htm [13.06.2011 okundu]
- 28) Tan E. Nöropatik ağrı ve tedavisi. Medikal Network 2007; 65-76.
- 29) Erdine S. Ağrı Mekanizmaları: Ağrı Sendromları ve Tedavisi 2. baskı. İstanbul: Gizben Matbaacılık, 2003: 33-42.
- 30) Aydınlı I. Analjezik kullanım ilkeleri, sekonder analjezikler. Erdine S. Edit. Ağrı. istanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2000;479-484, 510-521,.
- 31) Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 2. cilt, 12. baskı, Ankara, Feryal Matbaacılık San. Tic. Ltd.Sti. 2009:796
- 32) Yazıcı H. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Akılcı İlaç Kullanımı Sempozyumu. Edit. Eşkazan E. İstanbul,1999; 87-95
- 33) T.C. Sağlık Bakanlığı Birinci Basamak Sağlık Hizmetlerinde Çalışan Hekimler İçin Yaşlı Sağlığı Tanı ve Tedavi Rehberi, 2010; 781: 401-412
- 34) Dökmen İ. Farmakoloji, İlaçlar ve Etkileri. Eikozanoidler ve steroid olmayan analjezikler 1. Baskı Mart 2007: 579-604
- 35) Duman E. NSAİ ilaçların kronik ağrı tedavisindeki yeri, Klinik Gelişim 2007;20: 145-149

- 36) Crawley JN. Sensory abilities In What's wrong with my mouse? Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice. New York, Wiley-Liss, 2000; 65-83.
- 37) Le Bars D., Gozaniu, Cadden SW. Animal models of nociception, Pharmacological reviews 2001;53:597-652
- 38) Turner RA. Screening Methods in Pharmacology; Academic Press: New York, USA, 1965;11:85-106
- 39) Amico RM., Caruso A., Trombadore S., Scifo R., Scapagnini U. Gangliosides antinociceptive effects in rodents. Arc. Int. Pharmacodyn. Ther. 1984;272: 103-117
- 40) Collier HDJ., Dinnin LC., Johnson C.A., Scheinader C. The abdominal response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. Br. J. Pharmacol. Chemother. 1986;32: 295-310
- 41) D'Amour FE., Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Ther 1941;72: 74-79.
- 42) Ben-Bassat J., Peretz E., Sulman FG. Analgesimetry and ranking of analgesic drugs by the receptacle method. Arch Int Pharmacodyn Ther 1959;122: 434-447.
- 43) Tjolsen A., Lund A., Berge OG., Hole K. An improved method for tail flick testing with adjustment for tail skin temperature. J Neurosci Meth 1989;33: 259-264.

- 44) Arıcıoğlu F. Ağrı araştırmalarında kullanılan hayvan modelleri
Klinik Gelişim 2007;20: 28-36
- 45) Eddy NB., Leimbach D. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. J Pharmacol. Exp. Ther. 1953;107: 385–393.
- 46) Woolfe G., MacDonald AD. The evaluation of analgesic action of pethidine hydrochloride. J Pharmacol. Exp. Ther. 1944; 80: 300-307.
- 47) Hunskaar S., Berge OG., Hole K. Antinociceptive effects of orphenadrine citrate in mice. Eur J Pharmacol 1985; 111: 221-226.
- 48) Jarogniew J. L., Agnieszka K., Ewa W., Synergistic interaction of gabapentin with tiagabine in the hot plate test in mice: an isobolographic analysis 2009;61: 459-467
- 49) Mogil JF. et al. Heritability of nociception I: Responses of 11 inbred mouse strains on 12 measures of nociception, Pain 1999;80: 67-82.
- 50) Nishihara I., Minami T., Uda R., Ito S., Hyodo M., Hayaishi O. et al. Effect of NMDA receptor antagonists on prostaglandin E2-induced hyperalgesia in conscious mice. Brain Res 1995;677:138–144.
- 51) Richardson JD., Aanonsen L., Hargreaves KM. R3-4SR 141716A, a cannabinoid receptor antagonist, produces hyperalgesia in untreated mice. Eur. J. Pharmacol. 1997;319: 3–4.
- 52) Randall LO., Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. Arch. Int. Pharmacodyn. 1957;111: 409-419.


- 53) Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological assays Vogel HG. [editor] Haffner F. Central analgesic activity 2008:1007-1011
- 54) Koster R., Anderson M., deBeer EJ. Acetic acid for analgesic screening. Fed.Proc. 1959;18: 412.
- 55) Siegmund E., Cadmus R., Lu G. A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. Proc. Soc. Exp. Biol. Med 1957; 95: 729-731.
- 56) Brown DM., Hughes BO. et al. Practical aspects of strain variation in relation to pharmacological testing. Pharmacol 1962; 14: 399-405.
- 57) Deraedt R., Joughney S., Delevakee F., Falhour M. et al. Release of prostaglandin E ve F in an algogenic reaction and its inhibition. Eur. J. Pharmacol. 1980;61: 17-24
- 58) Dubuisson D., Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain 1977;4: 161-174.
- 59) Tjolsen A., Berge OG., Hunskaar S., Rosland JH., Hole K. et al. The formalin test: an evaluation of the method. Pain 1992;51: 5-17
- 60) Sehan CN., The FASEB JournalThe resolution of inflammation: the devil in the flask and in the details 2001;25: 1441-1448
- 61) Altındaş M. Kronik yara tedavisi ve bakımında tıbbi sorunlar İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Yara Bakımı ve Tedavisi Sempozyum Dizisi. Edit. Erdost DK., Çetinkale O.,2008;67 :237-247

- 62) Uyar F.A. Doğal İmmun Sistem: Erken İnflamatuvar Yanıtın Kontrolü
Klinik Gelişim Derg. 2009;22: 26-30
- 63) Kumar V., Abbas AK., Fausto N., Mitchell RN. et al. Robbins Basic
Pathology. 8th ed. Philadelphia: Saunders; 2007.
- 64) Barton GM. A calculated response: control of inflammation by the
innate immune system. J. Clin. Invest. 2008;118: 413-20.
- 65) Klebanoff, SJ. Phagocytic cells: Products of metabolism. In:
Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates. Gallin JI.,
Goldstein M., Snyderman R. [editors]. Raven Press, 1998:391.
- 66) Sessle BJ. New insights into peripheral chemical mediators of pain
and inflammation. J. Orofac Pain 2001;15: 1-5.
- 67) Sies H. Strategies of antioxidant defense. Eur. J. Biochemistry
1993;215: 213-9.
- 68) Kuralay ve ark. İnflamatuvar medyatörlere toplu bir bakış. Genel Tıp
Dergisi 2006;16(3): 143-152
- 69) May H., Raymond A. Curr. Mol. Pharmacol. Mechanisms of Non-
Opioid Analgesics Beyond Cyclooxygenase Enzyme Inhibition 2009;
2(1): 1–14.
- 70) Warner TD., Mitchell JA. et al. Cyclooxygenase-3 (COX-3): filling in
the gaps toward a COX continuum? Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.
2002;99: 1337

- 71) Abacioğlu N., Tunçtan B., Akbulut E., Çakıcı İ., Participation of the components of L-arginine/nitric oxide/ cGMP cascade by chemically-induced abdominal constriction in the mouse. *Life Sciences* 2000;67: 1127-1137
- 72) MO. Uludağ, BÇ.Ergün, DA. Alkan, N. Ercan, GY. Özkan, E. Banoğlu, Stable ester and amide conjugates of some NSAIDs as analgesic and antiinflammatory compounds with improved biological activity, *Turk. J. Chem.*, 35, (2011), 427-439.
- 73) Kasahara Y., Yasukawa K.,Kitanaka S., Khan M., Evans FJ. et al. Effect of Methanol Extract from Flower Petalsof *Targetes patula* L. on Acute and Chronic Inflammation Model *Phytother. Res.* 2002;16: 217–222

10.EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ**
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

23/02/2010

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/53-3044
KONU:


Sıyım
Doç.Dr.Erden BANOĞLU
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-10.023 kod numaralı ve "*Bazı Nonsteroidal Antiinflamatuar İlaçların Ester ve Amid Türelerinin Sentezi, Analjezik ve Antiinflamatuar Aktivitelerinin İncelenmesi Üzerinde Çalışmalar*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-10.023 and entitled "*Studies on the Synthesis of Ester and Amide Derivatives of Some Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs and Evaluation of their Analgesic and Antiinflammatory Activities*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards,


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

Ek 2. Teşekkürler

Yüksek lisans tezimi olarak hazırladığım bu çalışmayı sunarken;

Uzmanlık eğitimime bilgi ve tecrübeleri ile büyük katkı sağlayan, tezimin hazırlanmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen danışmanım Farmakoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Nurettin ABACIOĞLU'na,

Tez çalışmam boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen, bilgi birikimleriyle çalışmamın sonuçlanmasını sağlayan ve tez yazım aşamasında bana yol gösteren değerli hocam Yrd. Doç. Dr. M. Orhan ULUDAĞ'a,

Bilgi ve tecrübeleriyle çalışmamın tamamlanmasında büyük katkıları olan Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Erden BANOĞLU'na,

Tez yazım aşamasındaki yardımlarından dolayı sevgili arkadaşlarım Ecz. Aslı Duygu ALKAN ve Ecz. İlker EVREN'e,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Hemşire Nilüfer ERCAN, Ecz. Nurbanu UZUN ve Ecz. Khatere FATTAHPOUR'a,

Çalışmalarında yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen sevgili Hacer ŞİRİN'e,

Tez yazım aşamamda desteği ve hoşgörüsüyle yanımda olan sevgili arkadaşım Alper ŞAHİN'e,

Bugüne kadar olduğu gibi tez çalışmam süresince de hiçbir desteğini esirgemeyen sevgili meslektaşım ve ağabeyim Ecz. Serdar ÜNEL'e,

Beni her zaman destekleyen ve bugünlere gelmemde büyük payı bulunan sevgili aileme,

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM...

11.ÖZGEÇMİŞ

Adı: Gökşen Sibel

Soyadı: ARKUN

Doğum Yeri Ve Tarihi: Samsun, 13.02.1985

Eğitim Durumu:

Gazi Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji A.B.D. Yüksek Lisans	2008-2011
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2004-2008
Samsun Anadolu Lisesi	1998-2003
Samsun Belediye İlköğretim Okulu	1993-1998

Yabancı Dili: İngilizce