



KİŞNİŞ (*CORIANDRUM SATIVUM* L.) UÇUCU YAĞ EKSTRESİNİN LETAL DOZ DÜZEYLERİ İLE ANTİENFLAMATUVAR AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

THE LEVELS OF LETHAL DOSE AND ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF *CORIANDRUM SATIVUM* L. ESSENTIAL OIL EXTRACT

Hanefi ÖZBEK¹

Aydın HİM²

Didem TÜRKÖZÜ³

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı,

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Anahtar Sözcükler : *Coriandrum sativum* L., antienflamatuvar aktivite, letal doz, sıçan.

Key Words : *Coriandrum sativum* L., anti-inflammatory activity, lethal dose, rats.

ÖZET

Bu çalışmada, kişniş (*Coriandrum sativum* L.) (CS) uçucu yağ ekstresinin farelerde letal doz düzeyleri ile sıçanlarda carrageenan'la oluşturulmuş sağ-arka pençe ödemi modelinde antienflamatuvar etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Serum fizyolojik kontrol, etil alkol kontrol, indometazin (3 mg/kg) referans grupları ile CS (0.010 mL/kg) ve CS (0.020 mL/kg) grupları oluşturuldu. Sıçanların sağ arka-pençeleri pletismometre aracılığı ile ilaç uygulamasından önce ölçüldü. Ardından ilaç periton içi yolla verildi. Subplantar yolla lambda-carrageenan uygulandı ve bu uygulamadan üç saat sonra sağ-arka pençe hacmi tekrar ölçüldü. Her iki ölçüm arasındaki fark gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Çalışma sonunda indometazin'in % 95.70, CS (0.010 mL/kg) ekstresinin % 46.97 ve CS (0.020 mL/kg) ekstresinin % 53.16 oranında antienflamatuvar etkinlik gösterdiği saptandı. İstatistiksel olarak her iki doz CS ekstresinin kontrol grubuna göre anlamlı seviyede antienflamatuvar etkinlik gösterdiği, bu etkinin indometazin'den daha zayıf olduğu tespit edildi. CS uçucu yağ ekstresinin LD₅₀ seviyesi 2.257 mL/kg olarak hesaplandı.

Sonuç olarak, CS uçucu yağ ekstresinin indometazinden daha zayıf bir antienflamatuvar aktiviteye sahip olduğu kanaatine varıldı.

SUMMARY

The levels of lethal dose of Coriandrum sativum L. (CS) essential oil was studied in mice and anti-inflammatory effect of CS essential oil was studied with carreeenan-induced hind-paw edeme model in rats.

The study involved 5 groups; Serum physiologic, ethyl alcohol, indomethacin (3 mg/kg), CS (0.010 mL/kg), CS (0.020 mL/kg). After measuring the volumes of right hind-paws of rats using a plethysmometer, drugs were injected intraperitoneally and lambda-carrageenan were injected subcutaneously into the plantar region. Three hours after the injections the volume measurements of the right hind-paws were repeated and the difference between the volumes were compared.

It was found that indomethacin reduced the inflammation by 95.70 %, 0.05 mL/kg CS by 46.97 % and 0.10 mL/kg CS by 53.16 %. Both doses of the CS extract used showed statistically significant anti-inflammatory effect compared to the control groups. The anti-inflammatory effect of both doses of CS was weaker than the effect of indomethacin. The median lethal dose (LD₅₀) of the extract of CS was determined as 2.257 mL/kg. As a result CS essential oil extract was shown to have an anti-inflammatory effect.

GİRİŞ

Pek çok hastalığın tedavisi için bitkilerin kullanımına olan ilgi gittikçe artmakta ve bitkilerle tedavi yaygınlaşmaktadır. Ülkemizde de bitkilerle ilgili farmakolojik ve toksikolojik çalışmalara eğilim artmaya başlamıştır. Türkiye gibi geniş bir bitki florasına sahip, ekonomik kaynakları kısıtlı ve sentez yoluyla ilaç yapım olanakları yeterli düzeye gelememiş ülkelerde, doğal ürünlerden elde edilen ilaçların geliştirilmesi ve kullanılmasının özendirilmesi, yeterli ve ucuz ilaç sağlanması bakımından akılcı bir yaklaşım olarak kabul edilebilir (1).

Coriandrum sativum L. (kişniş, aşuti) Umbelliferae ailesindedir (2,3). Yıllık, otsu, 20-60 cm boylu bir bitkidir. Baharatı uçucu yağ, tanen, rezin ve şekerleri içerir. Uçucu yağ % 0.3-0.4 verimle, su buharı damıtmayla, renksiz, açık-sarı renkte bir sıvı olarak elde edilir. Uçucu yağın başlıca bileşenleri: % 60-70 linalol, % 6 γ-terpinen, α-pinen, kâfur, jeraniol, p-simen, jeranil asetat, limonen, aldehitler, esterler ve alkoller'den oluşur. Gıda sanayinde baharat, tentür ve alkollü ve alkolsüz içeceklerde, gıda dışında ise kozmetik ve parfümeride kullanılır (3). Midevi ve gaz söktürücü etkilere sahiptir (2). Halk tıbbında baş ağrısını, diş ağrısını, parmak ağrılarını (gut hastalığı), baş dönmesini, boğaz (farenjit) ve dil şişliğini (glossit) gidermek, kalbi ve mideyi kuvvetlendirmek, basur ve kanlı ishali (dizanteriyi), idrar yolu infeksiyonlarını, kurdeşen ve pamukçuğu tedavi etmek için kullanıldığı bildirilmiştir (4).

Yapılan literatür taramasında *Coriandrum sativum* L.'nin (CS) farelerde anksiyolitik etkili olduğu (5), *Escherichia coli*, *Bacillus megaterium* ve *Salmonella choleraesuis*'a karşı antibakteriyel etkinlik gösterdiği (6,7), sıçanlarda kolesterol ve trigliserid seviyesini düşürdüğü (8), askorbik asitten daha güçlü bir antioksidan etkinlik gösterdiği (9), inflamatuvar barsak hastalıklarının tedavisinde etkili olduğu (10), streptozotocin'le deneysel diyabet oluşturulmuş farelerde insülin benzeri etkinliğe sahip olduğu (11) ve hamile dişi sıçanlarda hamileliğin 5. gününde serum progesteron düzeyinde anlamlı bir azalmaya ve bunun sonucu olarak da sıçanlarda düşüğe (abortus) neden olduğu bildirilmiştir (12). Yapılan taramalarda CS uçucu yağ ekstresinin antiinflamatuvar

etkilerini araştırmaya yönelik bir çalışmaya rastlanmadı. Bu çalışmada, CS uçucu yağ ekstresinin, inflamasyonu giderici bir etkiye sahip olup-olmadığının araştırılması amaçlandı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bitki materyali: *Coriandrum sativum* L., baharatçılardan temin edildi. Referans için örnek materyal laboratuvarında bulundurulmaktadır (örnek no: B-17).

Bitki materyalinin ekstraksiyonu: Kurutulmuş tohumlar elektrikli değirmende öğütülüp Clevenger cihazına konularak kaynatıldı (buhar distilasyonu). Cihazda toplanan uçucu yağ tüplere alınarak saklandı, uçucu yağ verimi % 0.2 olarak hesaplandı.

Kimyasallar: İndometazin ve lambda-carrageenan Sigma'dan alındı (Steinheim, Germany). Lambda-carrageenan serum fizyolojik (% 0.9'luk NaCl) içerisinde, indometazin ise etil alkolde çözüldü.

Deneysel Hayvanları: Bu çalışmada Sprague-Dawley ırkı 250-300 gram ağırlığında erkek ve dişi cinsiyette sıçanlar ile 20-24 gram ağırlığında *Mus Musculus Swiss albino* fareler kullanıldı. Deneysel hayvanları Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Ünitesi'nden temin edildi. Sıçanlar, 12 saat ışık 12 saat karanlık ritminde ışıklandırılan, 22 ± 2 °C'deki odalarda, çeşme suyu ve standart pelet yem (Van Yem Fabrikası) ile beslendi, yem ve su alımı serbest bırakıldı. Deneysel hayvanları standart plastik kafeslerde (Değişim Ltd., İstanbul) barındırıldı. Çalışma yapılmadan önce Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı (Karar sayısı: 2005/06-03).

Akut toksisite çalışması: Her biri altışar adet erkek fare içeren altı adet çalışma grubu oluşturuldu. Birinci gruba sadece 0.1 mL SF (% 0,9'luk serum fizyolojik) uygulandı. Diğer gruplara ise sırasıyla 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 ve 3.2 mL/kg CS uçucu yağ ekstresi verildi. Tüm uygulamalar periton içi (ip) yolla yapıldı. 72 saat sonra çalışma gruplarındaki ölü hayvanlar sayıldı. Probit analizi metodu uygulanarak letal doz düzeyleri (LD₁, LD₁₀, LD₅₀, LD₉₀ ve LD₉₉ olacak şekilde) hesaplandı (13,14). Antiinflamatuvar aktivite çalışması Winter ve ark. (15)

metodu kısmen değiştirilerek uygulandı. Çalışma grupları aşağıdaki gibi düzenlendi (n=6):

- Grup 1: Serum fizyolojik (SF), 0.1 mL,
- Grup 2: Etil alkol, 0.1 mL,
- Grup 3: İndometazin (3 mg/kg) (16),
- Grup 4: CS (0.010 mL/kg)
- Grup 5: CS (0.020 mL/kg)

CS dozları letal doz çalışmasına göre LD₁ (1.114 mL/kg) dozunun altında olacak şekilde ayarlandı. Lambda-carrageenan serum fizyolojik (% 0.9'luk NaCl) içerisinde, indometazin ise etil alkolde çözüldüğü için serum fizyolojik (SF) ve etil alkol kontrol grupları oluşturuldu. Tüm ilaç uygulamaları periton içi yolla (ip) yapıldı. CS'nin antiinflamatuvar aktivitesini ölçmek için deney hayvanlarının sağ arka pençeleri, eklem yeri hizasından, bir kalemle işaretlendi. Sağ arka pençe hacmi, ilaç uygulamasından önce pletismometre ile ölçüldü (Ugo Basile 7140 plethysmometer, İtalya). Periton içi yolla ilaç uygulamasından sonra, sağ-arka pençenin sub-plantar bölgesine 0.05 mL lambda carrageenan çözeltisi (antiinflamatuvar madde) verildi. Lambda carrageenan uygulamasından üç saat sonra aynı pençe pletismometre ile tekrar ölçüldü. İnflamatuvar reaksiyonun yüzde cinsinden inhibisyonu, her bir hayvan için kontrol grubuyla karşılaştırılarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı (13):

$$\%I = [(1-(dt/dc)) \times 100]$$

dt: İlaç uygulanan grubun pençesindeki hacim farkı.

dc: Kontrol grubunun pençesindeki hacim farkı.

İstatistik : Gruplara ait veriler ortalama \pm standart hata ortalaması olarak ifade edildi, istatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yöntemi kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılığı göstermek için post-hoc LSD (least significant difference) testinden yararlanıldı. İstatistiksel olarak p<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

CS uçucu yağ ekstresine ait letal doz seviyeleri Tablo 1'de verilmiştir. Buna göre CS'nin LD₅₀ dozu 2.257 mL/kg olarak tespit edilmiştir.

Çalışma gruplarının antiinflamatuvar etkinlik yönünden pençe ödemi volümü ve % inhibisyon değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1. CS uçucu yağ ekstresinin probit analizi sonuçları.

	Letal Doz Düzeyleri (mL/kg)		
	Ortalama doz	% 95 güven aralığı sınırları	
		Alt sınır	Üst sınır
LD ₁	1.114	0.249	1.565
LD ₁₀	1.530	0.629	1.971
LD ₅₀	2.257	1.643	3.124
LD ₉₀	3.331	2.580	8.236
LD ₉₉	4.574	3.246	20.847

Tablo 2'deki sonuçlara göre indometazin'in carrageenan'la oluşturulmuş inflamasyonu % 95.70 oranında, CS (0.010 mL/kg) uçucu yağ ekstresinin % 46.97 oranında ve CS (0.020 mL/kg) uçucu yağ ekstresinin ise % 53.16 oranında inhibe ettiği görülmektedir. İndometazin ve CS ekstralarının gösterdiği antiinflamatuvar aktivite kontrol gruplarına göre anlamlı bulunmuştur (p<0.05). CS grupları ile indometazin grubu arasındaki anlamlı fark, CS'nin gösterdiği antiinflamatuvar aktivitenin indometazin'e göre daha zayıf olduğu yönünde yorumlanmıştır.

Tablo 2. Grupların pençe ödemi ve % inhibisyon değerleri.

Gruplar	Doz	Pençe ödemi (% mL)	Inhibisyon (%)
Kontrol (SF)	0.1 mL	1.043 \pm 0.127	-
Kontrol (etil alkol)	0.1 mL	0.988 \pm 0.112	-
İndometazin	3 mg/kg	ab 0.024 \pm 0.006	95.70
CS	0.010 mL/kg	abc 0.552 \pm 0.087	46.97
CS	0.020 mL/kg	abc 0.487 \pm 0.074	53.16
F değeri / p değeri		22.634 / 0.000	

Post-hoc LSD testi:

- a: p<0.05 kontrol-grubu ile (SF) karşılaştırma,
- b: p<0.05 kontrol-grubu ile (etil alkol) karşılaştırma,
- c: p<0.05 indometazin-grubu ile karşılaştırma,

TARTIŞMA

Carrageenan'la oluşturulmuş akut inflamasyon modeli sıçan veya farelerin plevra (17) veya sağ arka pençesinde (18, 19) çalışılan ve yaygın olarak kullanılan bir antiinflamatuvar aktivite araştırma yöntemidir. Bu yöntem göre aktivitesi saptanan etkin maddenin bilinen bir ilaçla (referans ilaç) karşılaştırılması için genellikle indometazin (18) veya fenilbutazon gibi bir antiinflamatuvar ilaç kullanılmaktadır (20). Bu çalışma-

da, sıçanlarda carrageenan'la oluşturulmuş sağ-arka pençe ödemi yöntemi ve referans ilaç olarak da indometazin seçildi.

Yapılmış olan bu çalışma ile kişniş (*Coriandrum sativum* L.) uçucu yağ ekstresinin sıçanlarda lambda-carrageenan'la oluşturulmuş akut sağ pençe inflamasyonu modelinde antiinflamatuvar etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Kişnişin halk tıbbında baş ağrısını, diş ağrısını, parmak ağrılarını (gut hastalığı), boğaz ve dil şişliğini (inflamasyonunu) gidermek amacıyla kullanıldığı bilinmektedir (4). Kişnişin belirtilen bu etkilerinin, çalışmamızda göstermiş olduğumuz antienflamatuvar etkinliği sebebiyle olabileceği söylenebilir. Bu yönüyle bulgularımız kişnişin alternatif tedavideki kullanımını destekler yöndedir.

Kişniş uçucu yağ ekstresini oluşturan kimyasal moleküller: linalol, limonen, γ -terpinen, α -pinen, kâfur, jeraniol, p-simen ve jeraniol asetat olarak bildirilmiştir (3). Kişnişin antienflamatuvar etkinliği yukarıda sayılan kimyasal moleküllerden birine veya daha fazlasına ait olabilir. Sever ve Özbek yaptıkları bir çalışmada limonene'in 0.30 mL/kg dozunda, indometazin'e denk seviyede antienflamatuvar etkinliğe sahip olduğunu göstermişlerdir (21). Peana ve ark. ise linalol'ün sıçanlarda carrageenan'la oluşturulmuş pençe ödemi modelinde antienflamatuvar etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir (22). Belirtilen bu çalışmalar kişniş uçucu yağ ekstresine ait

saptamış olduğumuz antienflamatuvar etkinliği desteklemektedir. Bununla birlikte uçucu yağ içerisinde bulunan diğer komponentlerin de antienflamatuvar aktivite yönünden ayrıca araştırılmasının uygun olacağı kanaatindeyiz. Kişniş uçucu yağını oluşturan kimyasal komponentlerin antienflamatuvar aktiviteyi hangi mekanizma veya mekanizmalarla oluşturduğu, bundan sonra yapılacak mekanizma çalışmalarıyla ortaya konulabilir.

Kişniş uçucu yağ içerisinde bulunan komponentlerden ikisinin antienflamatuvar aktivite gösterdiği yukarıda belirtilmişti. Uçucu yağın kendisinin de antienflamatuvar aktivite gösterdiği bu çalışmada gösterilmiştir. Buradan yola çıkarak uçucu yağ içerisindeki komponentlerin birbirleriyle zıt yönde bir etkileşme göstermedikleri, dolayısı ile birbirlerinin antienflamatuvar aktivitesini engelledikleri sonucuna varılabilir. Bu durumda kişniş uçucu yağının standardize edilip Sağlık Bakanlığı tarafından ruhsatlandırılmak koşuluyla fitoterapi amacıyla kullanılması düşünülebilir.

Sonuç olarak kişniş (*Coriandrum sativum* L.) uçucu yağ ekstresinin farelerde LD₅₀ dozu düzeyinin 2.257 mL/kg olarak hesaplandığı, sıçanlarda carrageenan'la oluşturulmuş sağ arka pençe ödemi modelinde indometazin'den daha zayıf bir antienflamatuvar etkinlik gösterdiği ve bu etkinin uçucu yağ oluşturan komponentlerden en az ikisi tarafından meydana getirildiği söylenebilir.

KAYNAKLAR

1. Kayaalp SO: Klinik Farmakolojinin Esasları ve Temel Düzenlemeler, 2.Baskı, Hacettepe-TAŞ, Ankara, 2001.
2. Baytop T: Therapy with Medicinal Plants in Turkey. 2nd Edition, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 1999:272.
3. Akgül A: Baharat Bilimi & Teknolojisi. Birinci Baskı, Ankara, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 15, Ankara, 1993:113-114.
4. Pamuk A: Şifalı Bitkiler Ansiklopedisi. Pamuk Yayıncılık ve Matbaacılık, İstanbul, 1998: 656.
5. Emamghoreishi M, Khasaki M, Aazam MF. Coriandrum sativum: evaluation of its anxiolytic effect in the elevated plus-maze. J Ethnopharmacol, 2005; 96(3): 365-370.
6. Lo Cantore P, Iacobellis NS, De Marco A et al. Antibacterial activity of Coriandrum sativum L. and Foeniculum vulgare Miller Var. vulgare (Miller) essential oils. J Agric Food Chem 2004; 52(26): 7862-7866.
7. Kubo I, Fujita K, Kubo A et al. Antibacterial activity of coriander volatile compounds against Salmonella choleraesuis. J Agric Food Chem, 2004; 52(11): 3329-3332.
8. Lal AA, Kumar T, Murthy PB, Pillai KS. Hypolipidemic effect of Coriandrum sativum L. in triton-induced hyperlipidemic rats. Indian J Exp Biol, 2004; 42(9): 909-912.
9. Satyanarayana S, Sushruta K, Sarma GS et al. Antioxidant activity of the aqueous extracts of spicy food additives—evaluation and comparison with ascorbic acid in in-vitro systems. J Herb Pharmacother, 2004; 4(2): 1-10.
10. Jagtap AG, Shirke SS, Phadke AS. Effect of polyherbal formulation on experimental models of inflammatory bowel diseases. J Ethnopharmacol, 2004; 90(2-3): 195-204.
11. Gray AM, Flatt PR. Insulin-releasing and insulin-like activity of the traditional anti-diabetic plant Coriandrum sativum (coriander). Br J Nutr, 1999; 81(3): 203-209.
12. Al-Said MS, Al-Khamis KI, Islam MW et al. Post-coital antifertility activity of the seeds of Coriandrum sativum in rats. J Ethnopharmacol, 1987; 21(2): 165-173.

13. Kouadio F, Kanko C, Juge M et al. (2000). Analgesic and antiinflammatory activities of an extract from *Parkia biglobosa* used in traditional medicine in the Ivory Coast. *Phytother Res*, 2000; 14: 635-637.
14. Litchfield JT, Wilcoxon FWJ. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmac Exp Ther*, 1949; 96: 99-113.
15. Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rats as an assay for antiinflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1962; 111: 544-547.
16. Rimbau V, Cerdan C, Vila R. Antiinflammatory activity of some extracts from plants used in the traditional medicine of North-African countries (II). *Phytother Res*, 1999; 13: 128-132.
17. Martins-Lopes RAB, Pegoraro DH, Woisky R et al. The anti-inflammatory and analgesic effects of a crude extract of *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae). *Phytomedicine*, 2002; 9: 245-248.
18. Süleyman H, Demirezer LÖ, Kuruüzüm A et al. Antiinflammatory effect of the aqueous extract from *Rumex patientia* L. Roots. *J Ethnopharmacol*, 1999; 65: 141-148.
19. Vijayakumar CS, Viswanathan S, Reddy MK et al. Anti-inflammatory activity of (+)-usnic acid. *Fitoterapia*, 2000; 71: 564-566.
20. Narayanan N, Thirugnanasambantham P, Viswanathan S et al. Antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic effects of ethanol extract of *Clerodendron serratum* roots in experimental animals. *J Ethnopharmacol*, 1999; 65: 237-241.
21. Sever B, Özbek H. (R)-(+)-Limonene'in (C₁₀H₁₆) letal doz düzeyleri ile antienflamatuvar aktivitesinin fare ve sıçanlar üzerinde araştırılması. *Türk Farmakoloji Derneği 18. Ulusal Farmakoloji Kongresi 28 Eylül-1 Ekim 2005*, P119.
22. Peana AT, D'Aquila PS, Panin F et al. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*, 2002; 9(8): 721-726.