



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Tıbbi Farmakoloji

[Yüksek Lisans Tezi]

***MYRISTICA FRAGRANS* (MUSKAT) EKSTRESİNİN SIÇANLARDA
ANTİEPİLEPTİK VE ANTİDEPRESAN BENZERİ ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Safa BAKERAH
ORCID: 0000-0003-0790-9981

Danışman
Prof. Dr. Salim Yalçın İNAN
ORCID: 0000-0002-4505-0760

İkinci Danışman
Doç. Dr. Süleyman DOĞU
ORCID: 0000-0002-5352-9288

Bu tez çalışması Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından
23YL18002 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Konya – 2024

ÖN SÖZ

Bu çalışmanın yazımı sürecinde, beni yönlendiren danışmanım Prof. Dr. Salim Yalçın İnan'a, deneyimlerini bizimle paylaşan Doç. Dr. Süleyman Doğu'ya, bana her zaman destek olan bölüm Başkanımız Prof. Dr. Ayşe Saide Şahin'e ve bölümümüzdeki diğer öğretim üyelerine teşekkür etmek isterim.

Bu çalışmanın tamamlanmasına yardımcı olan herkese ve araştırmayı finanse eden kuruluşlara minnettarım.

Beni her zaman güçlendiren ve destekleyen anneme, babama ve sevgili aileme teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, beni destekleyen ve bana yardımcı olan sevgili eşime şükranlarımı sunarım.

Bu çalışmayı gerçekleştirdiğim ve bu deneyimi yaşadığım için kendime de teşekkür etmek isterim.

Hepinize saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Safaa BAKERAH

Haziran 2024

İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU	vi
BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ	vii
KISALTMALAR.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. <i>Myristica Fragrans</i> (Muskat) Hakkında Genel Bilgiler	3
2.1.1. <i>Myristica fragrans</i> 'ın (muskat) botanik tanımı.....	3
2.1.2. <i>Myristica fragrans</i> 'ın geleneksel kullanımı	3
2.1.3. <i>Myristica fragrans</i> 'ın besin değeri	4
2.1.6. Toksikite	6
2.4. Antiepileptik ilaçların etki mekanizmaları	7
2.5. Depresyon ve Depresyon Tedavisi.....	8
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	9
3.1. Bitki Materyali ve Ekstraksiyon Yöntemi.....	9
3.2. Deney Hayvanları.....	10
3.3. Kimyasallar	10
3.4. Akut PTZ Testi.....	10
4.5. Zorunlu Yüzme Testi (ZYT)	11
3.6. İstatistiksel Analiz	11
4. BULGULAR.....	12
4.1. SK-CO2 Ekstraksiyon Verimi.....	12
4.2. Muskat Ekstresinin Antiepileptik Etkisi	12
4.3. Muskat Ekstresinin Antidepresan Etkisi	13
5. TARTIŞMA.....	15
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	19
6.1. Sonuç.....	19
6.2. Öneriler.....	19

7. KAYNAKLAR.....	20
8. EKLER.....	23
8.1. Etik Kurul Kararı.....	23

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **SAFA BAKERAH**'ın "*Myristica Fragrans* (Muskat) Ekstresinin Sıçanlarda Antiepileptik Ve Antidepresan Benzeri Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya / 28.06.2024

Tez Danışmanı	Prof. Dr. Salim Yalçın İnan Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
İkinci Tez Danışmanı	Doç. Dr. Süleyman Doğu Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Meslek Yüksekokulu Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Ayşe Saide Şahin Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Kısmet Esra Nurulloğlu Atalık Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Ebru Avcı Güçlü Yozgat Bozok Üniversitesi Kenevir Araştırma Enstitüsü Temel Bilimler ve Sağlık Anabilim Dalı

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun .../.../20.. tarih ve/.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasibe VURAL

Enstitü Müdürü

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Myristica Fragrans (Muskat) Ekstresinin Sıçanlarda Antiepileptik Ve Antidepresan Benzeri Etkilerinin Araştırılması başlıklı tez çalışmamın toplam **14** sayfalık kısmına ilişkin, 01.06.2024 tarihinde tez danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı **%1** olarak belirlenmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Tez kabul sayfası hariç
2. Tez çalışması orijinallik raporu sayfası hariç
3. Bilimsel etik beyannamesi sayfası hariç
4. Önsöz hariç
5. İçindekiler hariç
6. Simgeler ve kısaltmalar hariç
7. Materyal ve metot hariç
8. Kaynaklar hariç
9. Alıntılar dahil
10. 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Necmettin Erbakan Üniversitesi Tez Çalışması Orijinallik Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve tez çalışmamın, bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranının (%30) altında olduğunu ve intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

03.06.2024

Safa BAKERAH

Prof. Dr. Salim Yalçın İNAN

BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini, tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez hazırlama kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel kurallara uygun olarak atıf yapıldığını ve bu kaynakların kaynaklar listesine eklendiğini beyan ederim.

28.06.2024

Safa BAKERAH

KISALTMALAR

AMPA: Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit

GABA: γ -aminobütirik asit

MAOI: Monoamin oksidaz inhibitörleri

MF: *Myristica fragrans*

MFE: *Myristica fragrans* ekstresi

MFEY: *Myristica fragrans* esansiyel yağı

MMDA: 3-metoksi-4,5-metilendioksi amfetamin

NDRI: Selektif norepinefrin dopamin geri alım inhibitörleri

PTZ: Pentilentetrazol

Sk-CO2: Süperkritik karbondioksit ekstraksiyon cihazı

SSNRI: Selektif serotonin-norepinefrin geri alım inhibitörleri

SSRI: Selektif serotonin geri alım inhibitörleri

SSS: Santral sinir sistemini

TCA: Trisiklik antidepresanlar

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

ZYT: Zorunlu yüzme testi

TABLULAR LİSTESİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1: Kronik <i>Myristica fragrans</i> suistimali	6
Tablo 2.2: <i>Myristica fragrans</i> suistimalinin fiziksel etkileri	6
Tablo 4.1: Muskat ekstresinin antiepileptik etkisi.....	14
Tablo 4.2: Oral MFE'nin immobilizasyon zamanı üzerine etkisi.....	14

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No

Sayfa No

Şekil 3.1: Süperkritik karbondioksit ekstraksiyon cihazı (Sk-CO₂).....9

ÖZET

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Tıbbi Farmakoloji
[Yüksek Lisans Tezi]

***MYRISTICA FRAGRANS* (MUSKAT) EKSTRESİNİN SIÇANLARDA ANTİEPİLEPTİK VE ANTİDEPRESAN BENZERİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Safa BAKERAH

Konya-2024

Epilepsi ve depresyon dünya çapında yaygın görülen kronik hastalıklardır. Bu hastalıklar insanların yaşam kalitesini ve performansını ciddi şekilde etkilemektedir. Epilepsi ve depresyon ilaçlarının çok sayıda yan etkiye sahip olduğu için çoğu hastada yeterli etkinlik göstermediği bildirilmiştir. Dolayısıyla, daha etkili ve daha güvenli alternatiflerin bulunması önemlidir. *Myristica fragrans* bazı gastrointestinal sistem problemleri, çeşitli deri enfeksiyonları ve romatizmal hastalıklar, psikolojik rahatsızlıklar ve santral sinir sistemi ile ilgili bazı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca anti epileptik ve antidepresan benzeri aktiviteye sahip olduğuna inanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı *Myristica fragrans* ekstraktının anti epileptik ve antidepresan etkisini araştırmaktır. MF ekstresi süperkritik-karbondioksit sistemi (Sk-CO₂) ile elde edildi. *Myristica fragrans* ekstraktının anti epileptik etkisi akut PTZ nöbet testi ile, antidepresan benzeri etkisi ise zorunlu yüzme testi (ZYT) ile test edildi. MFE'nin 100 ve 200 mg/kg uygulandığı sıçanlarda, myoklonik konvülsiyonların başlama zamanının belirgin şekilde uzadığı bulundu. MF ekstraktının 100 ve 200 mg/kg dozlarının tonik konvülsiyonları önlediği görüldü. Bununla beraber, MFE'nin 100 mg/kg dozunda, zorunlu yüzme testinde immobilizasyon süresini azalttığı gözlemlendi. MFE'nin daha yüksek dozu (200 mg/kg) ise immobilizasyon zamanını etkilemedi.

Anahtar Kelimeler: Depresyon, Epilepsi, *Myristica fragrans*, Sıçan, Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu.

ABSTRACT

Necmettin Erbakan University, Graduate School of Health Sciences
Department of Medical Pharmacology
Medical Pharmacology
[Master Thesis]

INVESTIGATION OF THE ANTIPILEPTIC AND ANTIDEPRESSANT-LIKE EFFECTS OF MYRISTICA FRAGRANS (NUTMEG) EXTRACT IN RATS

Safa BAKERAH

Konya-2024

Epilepsy and depression are common chronic diseases worldwide. Those diseases affect patients quality of life and performance. In the same time the treatment is not satisfying for most patients that's why trying to find more effective and safer alternative is needed. *Myristica fragrans* is used in the treatment of some gastrointestinal system problems, various skin infections and rheumatic diseases, psychological disorders and some diseases related to the central nervous system. It is also believed to have an antiepileptic and antidepressant activity. The purpose of this study was to evaluate antiepileptic and antidepressant-like effects of *Myristica fragrans* extract. Nutmeg oil was extracted by supercritical-carbon dioxide apparatus (SC-CO₂). Antiepileptic effect of *Myristica fragrans* extract was tested by acute PTZ seizure test while its antidepressant-like effect was tested by forced swim test (FST). Results showed that the onset of myoclonic jerks and clonic convulsions for all animals that received nutmeg extract were delayed significantly in comparing to control group. Additionally, 200 mg/kg dose was the most markable dose to prolong the onset of first myoclonic twitching. Obviously, nutmeg extract administrated at 100 and 200 mg/kg prevented tonic convulsions. Oral MFE 100 appeared to have an antidepressant-like effect in treated rats, with a significant reduction in immobility time, whereas higher doses of MFE were ineffective.

Keywords: Depression, Epilepsy, *Myristica fragrans*, Rat, Supercritical carbon dioxide extraction.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Muskat veya küçük hindistan cevizinin genel adı olan *Myristica fragrans*, Myristicace ailesine ait, yapraklarını dökmeyen bir ağaçtır. *Myristica fragrans* ana vatanı olan Endonezya'da hem geleneksel tıpta hem de yemeklerde baharat olarak yaygın bir şekilde kullanılır. *Myristica fragrans* tohumları kokulu bir aromaya sahiptir ve kahverengi renkte olabilir (Abourashed ve El-Alfy, 2016; Ali ve ark., 2018; Gupta ve ark., 2020; Nair, 2021).

Myristica fragrans çekirdeğinin ana bileşeni uçucu yağlardır. İçeriğinde ayrıca karbonhidrat ve proteinler de bulunmaktadır. Canlılar için önemli mineraller olan kalsiyum, çinko, magnezyum, demir ve bakır yanında lifler, su, nişasta, sodyum ve potasyum gibi elektrolitler, ayrıca C, E ve A gibi bazı vitaminleri de içerir (Gupta ve ark., 2020). Birçok çalışma, *Myristica fragrans* esansiyel yağının bileşenlerini analiz etmeye ve tespit etmeye odaklanmaktadır. Ana ve biyoaktif bileşikler, fenilpropanlar (safrol, elemisin ve miristisin), 4-terpinol, izoeugenol, eugenol (öjenol), limonen, sabinen gibi terpenlerdir (Muchtaridi ve ark., 2010; Naeem ve ark., 2016; Al-Qahtani ve ark., 2022).

Myristica fragrans dispepsi, kolik ve şişkinlik gibi bazı gastrointestinal sistem problemlerinde, çeşitli cilt enfeksiyonları ve romatizmal hastalıklarda, psikolojik bozukluklar ve santral sinir sistemini (SSS) ilgilendiren bazı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Warsito, 2021). Çeşitli çalışmalarda, MFE'in antinosiseptif ve anksiyolitik etkileri olduğu kanıtlanmıştır (Olajide ve ark., 2000). Ayrıca, *Myristica fragrans* ekstraktının antiepileptik ve antidepresan aktiviteye sahip olduğuna inanılmaktadır.

Epileptik nöbetler, inhibitör ve eksitatör nöronlar arasındaki dengesizlik nedeniyle beyindeki anormal elektriksel aktiviteye bağlı ataklardır. Yapılan klinik çalışmalarda epilepsi hastalarının yaklaşık %70'i şu anda kullanılan antiepileptik ilaçlara yanıt vermekte, %30'u ise farmakolojik tedaviye direnç göstermekte ve hastalığın semptomları giderek artan bir şekilde nüks etmektedir (İnan ve Büyükafşar, 2008). Bununla beraber önemli bir halk sağlığı sorunu olan depresyon, sağlıklı bir yaşamın niteliğindeki ve işlevindeki düşüş ile bağlantılı, mortalite ile ilişkili, ciddi ve tekrarlayan bir hastalıktır. Depresyonda uygulanan tedavi yöntemlerinin başında ise antidepresan ilaç kullanımı gelmektedir. Ancak, mevcut antidepresan ilaç tedavilerinin fazlalığına rağmen depresyon hastalarının sadece üçte biri birinci basamak tedaviye yanıt verirler (İnan ve ark., 2015).

Yukarıda belirtilen tüm hususları dikkate alarak, bu çalışmanın amacı, epilepsi ve depresyon tedavisinde kullanılabilecek daha güvenli ve daha etkili bir molekül bulmaktır. Son yıllarda hem epilepsi hem de depresyon tedavisinde ilaçların yanı sıra bitkisel ürünlerin kullanımı da artmaktadır. *Myristica fragrans*'ın antiepileptik ve antidepresan etkileri hakkında yeterli bir bilgi bulunmamaktadır. Çalışmamızda süperkritik karbondioksit ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen saf *Myristica Fragrans* ekstraktının sıçanlarda antiepileptik ve antidepresan benzeri etkilerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Myristica Fragrans* (Muskat) Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. *Myristica fragrans*'ın (muskat) botanik tanımı

Muskat veya küçük hindistan cevizinin genel adı olan *Myristica fragrans*, Myristicace ailesine ait, yapraklarını dökmeyen bir ağaçtır. MF ana vatanı olan Endonezya'da hem geleneksel tıpta hem de yemeklerde baharat olarak yaygın bir şekilde kullanılır. MF ağacının büyümesi için ılık-sıcak arası ve tropikal ortama ihtiyacı vardır; bu nedenle Çin, Hindistan, Tayvan, Sri Lanka ve Malezya'da yetiştirilmektedir. Büyümesi için önerilen sıcaklık aralığı 22 - 34 °C arasındadır, ancak aynı zamanda 12 - 38 °C arasındaki sıcaklıklara da dayanabilmektedir. Yıllık ortalama MF üretiminin 10.000 - 12.000 ton arasında ve yıllık ortalama tüketimin ise 9.000 ton civarında olduğu düşünülmektedir. Endonezya, ürettiği muskatın yaklaşık %75'ini dünya pazarına sunmasına rağmen, dünya çapında muskat tüketiminde bir artış vardır. MF ağacı yaklaşık 9 - 12 m boyuna ulaşabilir, ancak 20 m'ye veya daha fazlasına da ulaşılabilir. Yuvarlak sarımsı meyvelerin renk ve şekil olarak kayısı veya şeftaliye benzediği görülür. Bunlar, meyvenin sert siyah muskat tohumunu çevreleyen "mace" veya "aril"i (iç kafes benzeri kırmızı zar) gösterecek şekilde patladığında hasat edilmektedir. MF tohumları kokulu bir aromaya sahiptir ve kahverengi renkte olabilir. Boyutları 2.0 – 3.5 cm uzunluğunda ve çapları da 1.5 – 2.8 cm aralığında olabilir. Bu aşamada MF tohumları kurutulur ve satılmaya hazır hale gelir. MF'nin dünya çapında birçok farklı adı vardır; Endonezyacada pala, Hintçe'de jaiphal, Arapça'da josat attib (kokusu nedeniyle), İngilizce'de nutmeg, ve Türkçe'de muskat veya küçük Hindistan cevizi. Hem erkek hem de dişi MF ağaçları mevcuttur. MF ağaçları 9 yaşına gelene kadar çiçek açmaya başlamazlar ve sonra 75 yıl boyunca durmadan çiçek açarlar. MF ağaçlarının çiçekleri çan şeklinde ve soluk sarı renktedir. Çiçekler Temmuz - Ekim ayları arasında açarken, ağaçlar yılda iki ila üç kez meyve verir (Abourashed ve El-Alfy, 2016; Ali ve ark., 2018; Gupta ve ark, 2020; Nair, 2021).

2.1.2. *Myristica fragrans*'ın geleneksel kullanımı

Myristica fragrans dispepsi, kolik ve şişkinlik gibi bazı gastrointestinal sistem problemlerinde, çeşitli cilt enfeksiyonları ve romatizmal hastalıklarda, psikolojik bozukluklar ve santral sinir sistemini ilgilendiren bazı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Warsito, 2021). Bazı kaynaklara göre afrodisyak ve antifatulans olmasının yanı sıra ateş, baş ağrısı ve astım gibi durumlarda da kullanılmaktadır. MF'nin halüsinojenik bir etkisi de vardır, bu

nedenle uyuşturucu ve madde bağımlıları tarafından suistimal edilir (Abourashed ve El-Alfy, 2016). Tıbbi olmayan MF çoğunlukla gıda işleme endüstrisinde ve yemeklerde baharat olarak öğütülmüş halde kullanılır. Bileşenlerinden bazıları, sabun, sıvı deterjan, tıraş kremi, şampuan ve plastik yapımında kullanılır (Ali ve ark., 2018).

2.1.3. *Myristica fragrans*'ın besin değeri

Myristica fragrans çekirdeğinin ana bileşeni uçucu yağlardır. İçeriğinde ayrıca karbonhidrat ve proteinler de bulunmaktadır. Canlılar için önemli mineraller olan kalsiyum, çinko, magnezyum, demir ve bakır yanında lifler, su, nişasta, sodyum ve potasyum gibi elektrolitler, ayrıca C, E ve A gibi bazı vitaminleri de içerir (Gupta ve ark., 2020).

2.1.4. *Myristica fragrans*'ın uçucu yağ bileşimi ve genel etkileri

MF'in uçucu yağı ağacın yaprakları, mace ve tohumları olmak üzere bu ağacın farklı kısımlarından elde edilebilir. Ancak en yüksek esansiyel yağ (uçucu yağ) oranı MF'in tohumundan elde edilir (Ashokkumar ve ark., 2022). Bazı kaynaklar, MF esansiyel yağının tohum ağırlığının yaklaşık %10'unu oluşturduğunu ve bu oranın ekstraksiyon yöntemine göre farklılık gösterdiğini belirtmektedir. Ancak mevsim, toprak tipi ve yetiştirme şekli gibi başka nedenlerle de ilişkili olabilir (Naeem ve ark., 2016; Ashokkumar ve ark., 2022). MF'in kendine özgü kokusu ve aroması aslında MFEY'ından gelmektedir, bu nedenle kozmetik ve gıda endüstrisine girmiştir (Al-Qahtani ve ark., 2022).

Birçok çalışma, MFEY'nın bileşenini analiz etmeye ve tespit etmeye odaklanmaktadır. Ana ve biyoaktif bileşikler, fenilpropanlar (safrol, elemisin ve miristisin), 4-terpinol, izoeugenol, eugenol (öjenol), limonen, sabinen gibi terpenlerdir (Muchtaridi ve ark., 2010; Naeem ve ark., 2016; Al-Qahtani ve ark., 2022). Esansiyel yağ içeriği çeşitli iklim koşullarına ve coğrafi bölgeye göre farklılık göstermektedir; örneğin muskat tohumundan elde edilen sabinen Hindistan, Endonezya, Hindistan'ın Nikobar adaları, Pakistan ve Grenada'da sırasıyla %27.7, %21.4, %19.3, %18.9 ve %52.8 olarak bulunmuştur (Ashokkumar ve ark., 2022).

Miristisin güçlü antioksidan özellikler sergileyen elemisin benzeri antioksidan, antitümöral ve hepatoprotektif etkileri olan renksiz ve suda çözünmeyen fenilpropan türevidir. Öte yandan, doğada toksik olduğu düşünülen fenilpropanlar zararlı bileşiklerdir ve sık kullanıldığında halüsinasyonlara neden olabilmektedir. Bununla beraber MFEY'nın antibakteriyel, antifungal, antimalaryal, anti-inflamatuar aktiviteye sahip olduğu

kanıtlanmıştır, ayrıca immünomodülatör ve antikarsinojenik özelliklere sahip olduğuna inanılmaktadır (Muchtaridi ve ark., 2010; Naeem ve ark., 2016; Abourashed ve El-Alfy, 2016; Al-Qahtani ve ark., 2022; Ashokkumar ve ark., 2022).

2.1.5. Kötüye kullanım

Sinir sistemini etkileyen, davranış ve zihinsel süreçler üzerinde etkisi olan maddelere psikoaktif veya psikotropik maddeler denir. Bunlar arasında halüsinojenler gibi gerçekliği değiştiren maddeler, opioidler, sakinleştiriciler, anksiyolitikler, antidepresanlar ve uyarıcılar bulunur. Psikoaktif maddeler, farklı moleküler hedeflere sahip oldukları sinir sistemindeki nöronal reseptörlerle spesifik olarak etkileşime girer. Değişmiş bir bilinç durumunun deneyimlenmesinin, manevi dünyaya erişim izni vermek gibi olumlu çağrışımlara sahip olduğu medeniyetlerde, halüsinojen kullanımı yaygındır (Alrashedy ve Molina, 2016).

12. yüzyıldan beri MF, öforik ve halüsinojenik özellikleri nedeniyle narkotik ilaçlara ucuz bir alternatif olarak yaygın kullanılmaktadır. Özellikle gençlerin, ucuza öfori sağlamak amacıyla MF tükettiği bildirilmiştir. MF'nin nörofarmakolojik etkileri, yaygın kullanımına ve insanlarda bilinen psikotropik etkilerine rağmen tam olarak çalışılmamıştır. Genel olarak bu etkilerden miristisinin amfetaminlere benzeyen metabolitlerinin sorumlu olduğu varsayılmaktadır. Ancak, her nasılsa MF bağımlılarından elde edilen vücut sıvılarında bu metabolitlere rastlanmamıştır (El-Alfy ve ark., 2009).

Interpol'ün 2016'dan 2019'a kadar yasaklanmış maddelerle ilgili analizine göre, miristisinin bitkilerden elde edilen psikoaktif, halüsinojenik bir kimyasal olduğu düşünülmektedir (Jones ve Comparin, 2020). MF, nörotoksositeye neden olan ve doğal olarak meydana gelen alkenilbenzen miristisini (1-allil-3,4-metilendioksi 5-metoksibenzen) içerir. Miristisin, serotonin agonistine benzer yapılara sahiptir. Miristisin, memelilerde metabolize edilerek 3-metoksi-4,5-metilendioksi amfetamine (MMDA) dönüşür. MMDA, halüsinojenik özelliklere sahip bir sempatomimetiktir (Ab. rahman ve ark., 2015).

2.1.6. Toksikite

MF intoksikasyonlarında görülen psikotik semptomlar ve antikolinergik hiperstimülasyon oldukça nadir ortaya çıkmakla birlikte, zehirlenme vakaları yeterince kayıt altına alınmamıştır (Ab. rahman ve ark., 2015; Ali ve ark., 2015).

Geleneksel kullanımda 1-3 muskat (5-30 gram muskat tozu) veya 1-2 mg miristisin/kg psikoaktif etkiler oluşturabilir; ancak 5 gram muskat tozu zehirli olarak kabul edilir. Akut zehirlenme bulguları genellikle dolaşım ve santral sinir sistemi üzerindedir. Yüksek miktarda muskat tohumu tüketmenin deliryum, taşikardi, hipertansiyon, ağız kuruluğu, görme bozukluğu, psikoaktif halüsinasyonlar ve yüzde kızarmaya neden olabileceği kaydedilmiştir. Genel olarak, semptomlar alımdan 3 ila 6 saat sonra ortaya çıkar ve 24 ila 36 saat arasında kaybolur (Ab. rahman ve ark., 2015; Ali ve ark., 2015). Narkoz, uyku hali, deliryum, epileptik konvülsiyonlar ve hatta ölüm yüksek miktarda tüketilmesinden kaynaklanabilir. Ek olarak, karaciğer yağlanması, geçici kabızlık, idrar yapma güçlüğü ve diğer semptomlara da neden olabilir. İdrarda miristisin, elemisin ve safrol metabolitlerinin bulunması, muskatın kötüye kullanımının toksikolojik tespitinde önemlidir (Ali ve ark., 2015). Daha yüksek dozlarda halüsinasyonlarla birlikte meskalin benzeri bir zehirlenmeye de neden olabilir (Smalheiser, 2019). Ayrıca MF diğer ilaçlarla kombine edilerek etkinliği artırılabilir. Esrar, amfetaminler, benzodiazepinler, difenhidramin, klonazepam, asetaminofen, opiyat içeren öksürük şurupları ve antihistaminik ilaçlar ile karıştırılan MF yüksek bağımlılık potansiyeline sahiptir (Ab. rahman ve ark., 2015).

Kronik
Anksiyete
Kaygı
Konfabulasyon (hafıza bozukluğu)
Öfori
Sersemlik
Halüsinasyonlar
Kötü bir şey olacağı hissi, korku

Tablo 2.1: Kronik Myristica fragrans suistimali (Parthasarathi ve ark., 2013).

AKUT
Bulanık görme
Baş ağrısı
Mide bulantısı ve kusma
Polidipsi
Parestezi
KRONİK
Kardiyak toksisite
Karaciğerin yağlı dejenerasyonu

Tablo 2.2: Myristica fragrans suistimalinin fiziksel etkileri (Parthasarathi ve ark., 2013).

2.3. Epilepsi

Yüzyıllar boyunca insan, hastalıkları ve hastalıkların altında yatan nedenleri araştırmaya ve keşfetmeye çalıştıktan sonra tedaviyi ve iyileşmenin yolunu bulmaya çalışmıştır. Diğer birçok doğal bitkiler ve tohumlar gibi MF da kendine has özellikleri ve etkileri nedeniyle dikkat çekmektedir. Buna rağmen, MF'ın etki mekanizması hakkında yeterli bilimsel veriler bulunmamaktadır. Epileptik nöbetler, inhibitör ve eksitator nöronlar arasındaki dengesizlik nedeniyle beyindeki anormal elektriksel aktiviteye bağlı ataklardır. Sonuçta hastanın yaşam kalitesi azalır ve mortalite artışı görülür.

Epilepsi ve nöbet atakları dünya çapında en yaygın hastalıklardan biri olarak kabul edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2023 yılı raporuna göre, dünya çapında yaklaşık 5 milyon kişiye epilepsi teşhisi konmuştur ve tüm dünyada yaklaşık 50 milyon epilepsi hastası bulunmaktadır.

İnflamasyon ve epilepsi patogenezi arasında bir ilişkinin olduğu kanıtlanmıştır. Beyindeki inflamatuvar mediyatörlerin artışının epilepsiye neden olduğu gösterilmiştir. Nöbet oluşumunda prostaglandin E2, sitokinler IL-1 β , IL-6 ve TNF'nin aktif bir rolü olduğuna dair açık kanıtlar mevcuttur. Bunun yanında sitokin salgılanmasına bağlı görülen inflamasyonun çocuklardaki epileptik aktiviteden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (Vezzani ve ark., 2011).

2.4. Antiepileptik İlaçların Etki Mekanizmaları

Antiepileptik ilaçlar veya antikonvülsan ilaçlar sentetik yapıda semptomatik ilaçlardır ve birçok yan etkileri vardır (Wahab ve ark., 2009). Etki mekanizmalarına göre dört ana gruba ayrılırlar; birinci grupta, sodyum kanal blokörleri (fenitoin ve karbamazepin), T-tipi voltaja duyarlı kalsiyum kanal blokörleri (etosüksimid), potasyum kanal aktivatörleri (ezogabin) bulunur. İkinci grupta γ -aminobütirik asidin (GABA) etkisini arttıran diazepam, lorazepam ve klonazepam gibi benzodiazepinler ve fenobarbital bulunur. Bu grupta ayrıca GABA transferaz enzimini inhibe eden tiagabin ve vigabatrin de yer almaktadır. Üçüncü grupta, sinaptik vezikül proteini SV2A ile etkileşime giren ve eksitator glutamat seviyesini azaltan levetirasetam, gabapentin ve pregabalin bulunmaktadır. Son olarak dördüncü grupta ise, AMPA (alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit) reseptörlerini inhibe eden perampanel yer almaktadır (Rogawski ve ark., 2016).

Günümüzde tedavide kullanılan klasik antiepileptik ilaçların ciddi advers etkilerinin yanında teratojenik etkileri de vardır. Aynı zamanda epilepsi hastalarının %30 'unun antiepileptik ilaçlara direnç gösterdiği ve herhangi bir yanıt veya tedavide iyileşme göstermediği bildirilmiştir (Riva ve ark., 2021). Bu nedenle, son yıllarda epilepsi tedavisinde bitkisel ürünlerin (örneğin MF gibi) güvenilirliğine dair çalışmalar ilgi odağı olmuştur.

2.5. Depresyon ve Depresyon Tedavisi

Depresyon, günlük aktivitelere ilgi kaybı, enerji azalması, duygudurum dalgalanması, ölüm ve intihar oranında artış ile ilişkili ruhsal bir bozukluktur. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre depresyondan etkilenen kişi sayısının yaklaşık 280 milyon civarında olduğu tahmin edilmektedir. Depresyonun patofizyolojisinde, serotonin, dopamin ve norepinefrin gibi majör nörotransmitterler rol oynamaktadır. Tedavi seçenekleri hastalar için hala beklenen memnuniyeti vermemektedir. Hastaların bir kısmı genellikle alternatif bitkisel ürünlerden yararlanırlar (Moinuddin ve ark., 2012; Ehrenpreis ve ark., 2014; Iwata ve ark., 2022).

Depresyon tedavisi, santral sinir sisteminde (SSS) monoamin (dopamin, serotonin ve norepinefrin) konsantrasyonlarının ve nörotransmisyonunun artmasına bağlıdır. Antidepresan türleri: (1) Selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI'lar). Yaygın SSRI'lar arasında fluoksetin, sitalopram, essitalopram ve paroksetin bulunur. (2) Selektif serotonin-norepinefrin geri alım inhibitörleri (SSNRI'lar). Yaygın SSNRI'lar arasında venlafaksin, duloksetin ve desvenlafaksin bulunur. (3) Selektif norepinefrin dopamin geri alım inhibitörleri (NDRI'lar): Bupropion gibi ilaçlar bu gruba örnektir. (4) Trisiklik antidepresanlar (TCA'lar): Amitriptilin, amoksapin ve desipramin gibi ilaçlar TCA kategorisindedir. (5) Monoamin oksidaz inhibitörleri (MAOI'ler): Fenelzin ve tranilsipromin gibi ilaçlar bu kategoridedir.

MF içindeki bileşenlerden, miristisinin antidepresan benzeri aktiviteden sorumlu olduğuna inanılmaktadır. Aslında son araştırmalar inflamasyon süreçlerinin ve inflamasyon faktörlerinin (örn: sitokinler) depresyon patofizyolojisi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Beurel ve ark., 2020). *Myristica fragrans* ekstraktı etkili bir antiinflamatuvar etkiye sahiptir bu nedenle epilepsi veya depresyon tedavisinde etkili olabilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali ve Ekstraksiyon Yöntemi

Kurutulmuş muskat tohumları, Malatya, Türkiye'den Solvent Laboratuvar Kimyasalları Ve Cihazları Sanayi Ticaret Limited Şirketi'nden satın alındı. Muskat tohumları, ekstraksiyon yöntemi uygulanmadan hemen önce yıkandı, kurutuldu ve elektrikli öğütücü ile kaba toz haline getirildi. Ekstraksiyon, Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıbbi ve Kozmetik Bitkiler Uygulama ve Araştırma Merkezi (TİBAM) tarafından sağlanan süperkritik karbondioksit cihazı (Sk-CO₂) kullanılarak gerçekleştirildi.

750 g kaba toz haline getirilmiş muskat, Sk-CO₂ ekstraktörüne yerleştirildi. Muskat saf ekstraktı, Sk-CO₂ ekstraksiyon yönteminde sıvı CO₂'nin çözücü olarak kullanıldığı ve 150 bar basınç altında, 40 °C sıcaklıkta 30 dakika boyunca ekstrakte edildi.



Şekil 3.1: Süperkritik karbondioksit ekstraksiyon cihazı (Sk-CO₂).

3.2. Deney Hayvanları

Çalışmamızda, 80 adet 4-6 aylık genç Wistar albino türü erkek sıçan (300-360 gr) kullanıldı. Hayvanlar, deneysel prosedürlerin gerçekleştirildiği Necmettin Erbakan Üniversitesi Konüdam Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Sıçanlar, standart plastik kafeslere yerleştirildi ve laboratuvar koşullarında barındırıldı. Deneyler, 09:00 ile 16:00 saatleri arasında gerçekleştirildi. Sıçanlara laboratuvar koşullarına alışmaları için davranış testlerinden önce 30 dakikalık bir adaptasyon süresi verildi. Sıçanlar, rastgele olarak iki gruba ayrıldı: Grup (1)'e akut PTZ nöbet testi, Grup (2)'ye ise Zorunlu yüzme testi yapıldı. Tüm prosedürler, NIH yönergelerine uygun olarak gerçekleştirilmiş olup, Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (Protokol no: 2023/017).

3.3. Kimyasallar

Pentilentetrazol (SIGMA), valproik asit (BLD pharm), fluoksetin (AXEL) ve sıvı karbondioksit (Avena)'dan temin edildi. Pentilentetrazol, valproik asit ve fluoksetin %0.9'lük serum fizyolojikte çözüldü. Muskat ekstresi mısır yağında çözüldü. Sıvı CO2 ekstraksiyon yönteminde kullanıldı. Tüm çözeltiler, uygulamadan hemen önce taze olarak hazırlandı.

3.4. Akut PTZ Testi

Pentilentetrazol (PTZ), laboratuvar hayvanlarında akut epilepsi modeli indüklemek için deneysel olarak kullanılan bir GABAA antagonistidir. PTZ kaynaklı nöbetleri engelleyen ilaçlar veya maddeler antikonvülsif aktiviteye sahip olarak kabul edilir ve jeneralize myoklonik nöbetler gibi bazı nöbet türlerini engellemek için kullanılabilir (Wahab ve ark., 2009).

Epilepsi testinde 40 hayvan rastgele beş gruba ayrıldı, her grup sekiz sıçandan oluşuyordu. Negatif kontrol grubunu mısır yağı alan hayvanlar oluştururken, pozitif kontrol grubunu valproik asit alan hayvanlar oluşturdu. MF yağının antiepileptik etkisini incelemek amacıyla, 100, 200 ve 400 mg/kg olmak üzere üç doz MF ekstresi üç ayrı grup sıçana oral olarak verildi. Her uygulamadan 30 dakika sonra, her sıçana intraperitoneal olarak 65 mg/kg PTZ verildi. Her sıçan kendi kafesine koyularak 15 dakika boyunca gözlemlendi.

Gözlem süresinde üç nöbet modeli tespit edildi: (1) ilk myoklonik konvülsiyonun (seğirme) başlangıcı, (2) ilk klonik konvülsiyonun (seğirme ve yönelim kaybı) başlangıcı, (3)

jeneralize tonik-klonik konvülsyonun (nöbet atakları, kas sertliği ve bilinç kaybı ile veya bilinç kaybı olmadan ekstremitelerde güçlü kasılmalar) başlangıcı.

4.5. Zorunlu Yüzme Testi (ZYT)

Muskat ekstraktının antidepresan benzeri etkisini test etmek amacıyla her biri 8 sıçandan oluşan dört grup hayvan zorunlu yüzme testinde kullanıldı. İlk grup mısır yağının uygulandığı negatif kontrol grubuydu. Diğer yandan, pozitif kontrol grubuna ise fluoksetin (20 mg/kg, IP) uygulandı. Diğer iki sıçan grubuna, sırasıyla 100 ve 200 mg/kg dozlarda MF ekstraktı oral olarak verildi. Her bir uygulamadan 30 dakika sonra, sıçanlar (40 cm yüksekliğinde ve 20 cm çapında) musluk suyuyla ($25^{\circ}\text{C} \pm 3$) doldurulmuş cam silindirlere tek tek yerleştirildi ve yaklaşık 30 cm derinliğindeki suya 6 dakika boyunca bırakıldı.

Her bir sıçan için immobilizasyon süreleri kaydedildi. İmmobilizasyon (hareketsizlik), sıçanın başını su üstünde tutmak için yaptığı minimum hareketleri ifade eder.

3.6. İstatistiksel Analiz

Tüm deneysel sonuçlar (ortalama \pm standart hata) olarak ifade edildi. İstatistiksel analizler, SPSS (14.0) istatistiksel yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel analizler, One-way ANOVA, post-hoc Tukey testi kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi, hem akut PTZ testi hem de zorunlu yüzme testinde (ZYT) negatif kontrol (mısır yağı) ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ veya daha küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. SK-CO2 Ekstraksiyon Verimi

Süperkritik karbondioksit (Sk-CO2) ekstraksiyonu, bitki materyalleri için kısa sürede yüksek saflıkta verimler sağlayan düşük maliyetli bir yöntemdir. Sk-CO2 MF ekstraksiyon verimi, ISO 3215:1998 standartlarını karşılayan açık soluk-sarımsı yağlı bir sıvıdır (Riyanto ve ark. 2023). Hiçbir çözücü eklenmeden, 150 bar, 40°C ve 30 dakika koşullarında 750 gr toz muskat doğrudan ekstraksiyon sistemine verildi. Verim, ekstraktöre yüklenen MF tozunun ağırlığına göre ekstraksiyonun ağırlık yüzdesi olarak ifade edildi ve bu değer % 4,5 olarak bulundu.

4.2. Muskat Ekstresinin Antiepileptik Etkisi

Muskat ekstresinin antikonvülsan etkisini belirlemek için üç farklı dozda MFE (100, 200, 400 mg/kg) üç grup hayvana ağız yoluyla (oral) uygulandı ve 30 dakika sonrasında her bir sığana tek doz PTZ (65 mg/kg, IP) verildi. MFE'nin antiepileptik etkileri Tablo 4.1'de özetlendi. MFE alan gruplar ile negatif kontrol grubu arasında myoklonik, klonik ve tonik nöbetlerin başlama zamanında anlamlı farklılıklar tespit edildi.

Myoklonik konvülsiyonların başlama zamanları açısından tek yönlü ANOVA kullanılarak yapılan analizde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu belirlendi ($p < 0.001$). Tukey testi kullanılarak yapılan post-hoc karşılaştırmalar, myoklonik konvülsiyonların başlama zamanının MFE 100 mg/kg (ortalama \pm SE: 607.31 \pm 82.42 saniye, $p < 0.001$) ve MFE 200 mg/kg grubunda (ortalama \pm SE: 723.84 \pm 114.1 saniye, $p < 0.001$) mısır yağı grubuna (ortalama \pm SE: 50,78 \pm 4,71 saniye) kıyasla anlamlı bir şekilde uzadığı bulundu. Ayrıca, myoklonik konvülsiyonların başlama zamanı, MFE 400 mg/kg grubunda (ortalama \pm SE: 572.55 \pm 107.57 saniye, $p < 0.001$) MFE 100 mg/kg grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldı. Valproik asit (400 mg/kg, IP) alan grupta herhangi bir myoklonik konvülsiyon gözlenmedi.

Klonik konvülsiyonların başlama zamanı, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gösterdi ($p < 0.001$). Tukey testi kullanılarak yapılan post-hoc karşılaştırmalar, MFE 200 mg/kg (ortalama \pm SE: 728.92 \pm 111.23 saniye, $p < 0.001$) ve MFE 100 mg/kg grubunun (ortalama \pm SE: 684.51 \pm 81.37 saniye, $p < 0.001$) mısır yağı grubuna (ortalama \pm SE: 75,16 \pm 7,27 saniye) kıyasla klonik konvülsiyonların başlama zamanını anlamlı bir

şekilde uzattığı bulundu. Valproik asit (400 mg/kg, IP) alan grupta klonik konvülsiyonlar gözlenmedi.

Tonik konvülsiyonların başlama zamanı, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gösterdi ($p < 0.001$). Tukey testi kullanılarak yapılan post-hoc karşılaştırmalar, mısır yağı grubu (ortalama \pm SE: 82.4 ± 7.22 saniye) dışındaki tüm grupların, (yani valproik asit, MFE 100 mg/kg, MFE 200 mg/kg), tonik konvülsiyonları önlediği (cut-off zamanı 900 saniye olarak belirlendi) bulundu. Ayrıca, MFE 400 mg/kg grubunun tonik konvülsiyonların başlama zamanını, mısır yağı grubuna kıyasla anlamlı derecede uzattığı bulundu ($p < 0.001$).

Gruplar	Myoklonik konvülsiyonların başlama zamanı (sn)	Klonik konvülsiyonların başlama zamanı (sn)	Tonik konvülsiyonların başlama zamanı (sn)
Mısır yağı	$50,78 \pm 4,71$	$75,16 \pm 7,27$	$82,4 \pm 7,22$
Valproik asit (400 mg/kg, IP)	$900 \pm 0^*$	$900 \pm 0^*$	$900 \pm 0^*$
MFE 100 mg/kg	$607,31 \pm 82,42^*$	$684,51 \pm 81,37^*$	$900 \pm 0^*$
MFE 200 mg/kg	$723,84 \pm 114,1^*$	$728,92 \pm 111,23^*$	$900 \pm 0^*$
MFE 400 mg/kg	$572,55 \pm 107,57^*$	$671,26 \pm 75,93^*$	$760,9 \pm 88,1^*$

Tablo 4.1: Muskat Ekstresinin Antiepileptik Etkisi. Muskat ekstresi, PTZ enjeksiyonundan 30 dakika önce uygulandı ve nöbetler üzerindeki etkileri (A) Myoklonik konvülsiyonların başlama zamanı (sn), (B) Klonik konvülsiyonların başlama zamanı (sn) ve (C) Tonik konvülsiyonların başlama zamanı (sn) incelendi. Ortalama değerler arasındaki anlamlı farklar, One-way ANOVA, post-hoc Tukey testi ile analiz edildi. (* $p < 0.001$, mısır yağına göre).

4.3. Muskat Ekstresinin Antidepresan Etkisi

Muskat ekstresinin antidepresan benzeri etkisini incelemek için zorunlu yüzme testi (ZYT) yapıldı. Elde edilen sonuçlar, sıçan grupları arasında immobilizasyon sürelerinde anlamlı farklılıklar olduğunu ortaya koydu $p < 0.001$. Mısır yağı grubunda immobilizasyon süresi 153.96 ± 14.83 sn bulunurken, fluoksetin (20 mg/kg, IP) ve MFE (100 mg/kg) gruplarında sırasıyla 19.85 ± 2.45 ve 19.24 ± 1.54 sn olarak bulundu. Bununla birlikte, MFE'nin 200 mg/kg uygulandığı grupta immobilizasyon süresi $153,86 \pm 15,33$ sn bulundu. Oral MFE'nin immobilizasyon zamanı Tablo 4.2'de gösterildi.

Gruplar	Immobilizasyon zamanı (sn)
Mısır yağı	153,96 ± 14,83
Fluoksetin (20 mg/kg, IP)	19,85 ± 2,45*
MFE 100 mg/kg	19,24 ± 1,54*
MFE 200 mg/kg	153,86 ± 15,33

Tablo 4.2: Oral MFE'nin immobilizasyon zamanı üzerine etkisi. (* p<0.001 mısır yağına göre).

5. TARTIŞMA

Bitkilerden elde edilen doğal materyaller, hem insanlarda hem de hayvanlarda hastalıkların tedavisi ve önlenmesi için önemli bir profilaktik ilaç kaynağı olarak uzun süredir kullanılmaktadır. Aynı zamanda, bitkilerden elde edilen bazı gıdaların geniş bir biyolojik fonksiyon yelpazesine sahip olabileceği veya kronik hastalık riskini azaltabileceği tespit edilmiştir. Bu nedenle, geleneksel tıpta epileptik nöbetler ve depresyon gibi bazı santral sinir sistemi hastalıkları için geniş çapta kullanılan muskat ekstresi incelenmiştir (El-Alfy ve ark., 2009; Piras ve ark., 2012).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, bir bileşeni süperkritik akışkanı çözücü olarak kullanarak diğerinden çıkarmak için kullanılan bir işlemdir. Bu yöntem düşük maliyetli ve zaman açısından etkili bir yöntemdir. Süper kritik sıvılar, sıvı ve gaz fazlarının ayrı olmadığı kritik bir basınç ve sıcaklık seviyesinde var olan maddelerdir. Karbondioksit (CO₂), en yaygın kullanılan süperkritik sıvılardan biridir. Yanıcı olmayan, inert, yeniden kullanılabilir ve çevresel açıdan toksik olmayan özelliklere sahiptir. Piras ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, 90 bar ve 40 °C'de SK-CO₂ ile elde edilen muskatın verimi %1,4 olarak bulunmuştur (Piras ve ark., 2012). Machmudah ve arkadaşlarının (2006) çalışmasına göre, SK-CO₂ ile muskat ekstraksiyonundaki verim, sıcaklık azalınca ve basınç artınca artmaktadır (Machmudah ve ark., 2006). Bu çalışmada, muskat ekstraksiyonu için SK-CO₂ kullanıldı. Sıcaklık 40 °C olarak tutuldu ve basınç 150 bar'a ayarlandı. Ekstraktöre yüklenen tozun ağırlığına göre ekstraksiyonun ağırlık yüzdesi olarak ifade edilen verim % 4,5'tir.

Akut pentilentetrazol (PTZ) ile indüklenen nöbet testi, epileptik aktivitenin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. PTZ'in, GABA-A reseptörlerini antagonize ederek epileptik nöbetleri tetiklediği düşünülmektedir. Bu testte, PTZ deney hayvanlarına genellikle intraperitoneal olarak enjekte edilmekte ve ortaya çıkan nöbetler gözlenmektedir. Nöbetlerin çeşitli parametreleri kaydedilir, bu genellikle nöbetin başlangıç süresi, şiddeti ve sıklığı gibi faktörleri içerir. Akut PTZ testi, antiepileptik ilaçların veya diğer potansiyel nöbet modülatörlerinin etkinliğini değerlendirmek için kullanılır ve epileptik nöbetlerin mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sağlar. Bu test, epilepsi araştırmalarında önemli bir test olarak kabul edilir ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde yol gösterici olabilir (Yuskaitis ve ark., 2021).

Bu çalışmada, akut PTZ testi, MFE'nin antiepileptik etkisini değerlendirmek için kullanıldı. Muskat ekstresinin tüm verilen dozlarda (100, 200 ve 400 mg/kg), negatif kontrol grubuna kıyasla myoklonik ve klonik konvülsiyonların başlama zamanını uzattığı bulundu. MFE, düşük dozlarda (100 ve 200 mg/kg), jeneralize tonik konvülsiyonları önledi. Bu sonuçlar, muskat ekstresinin antiepileptik ilaç olan valproik asit ile benzer etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir. Daha yüksek olan 400 mg/kg dozda, diğer MFE dozlarına (100 ve 200 mg/kg) göre myoklonik ve klonik nöbetlerin başlama zamanının daha erken olduğu ve tonik konvülsiyonların geri döndüğü görüldü. Wahab ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde, tonik konvülsiyonların yeniden başlaması yüksek dozda muskat ekstresinin etkisiz olduğunu göstermiştir. Tonik konvülsiyonların tekrar ortaya çıkması, in vivo şartlarda miristisin ve elemisinin amfetamin benzeri ürünlere dönüşmesinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Wahab ve ark. 2009). Sonuç olarak 200 mg/kg doz, diğer dozlara (100 ve 400 mg/kg) karşılaştırıldığında en belirgin antikonvülsan etkinliği gösterdi. Bu sonuç Wahab ve arkadaşlarının (2009) çalışmasında da bulunmuştur.

Çalışmamızda muskat ekstresinin farklı dozları (100, 200 ve 400 mg/kg) sıçanlara tek doz olarak verildi. MFE'nin PTZ testinden önce bir kez verilmesi antiepileptik etkinlik gösterdi. Bu sonuçlar, antikonvülsan etkinliğin gösterilmesi için tekrarlı uygulamanın gerekli olmadığını ileri sürmektedir.

MF ekstresi antiepileptik etki gösterebileceği için, gelecekte epilepsi tedavisine ek olarak doğal bir ürün olarak kullanılabilir. Başka bir çalışmada (Ghorbanian ve ark., 2019), fare gruplarına 100 mg/kg muskat etanolik ekstresi verilmiştir. Bulgular, jeneralize tonik klonik nöbetlerde belirgin bir gecikme olduğunu, ancak bunun engellenmediğini göstermiştir. Çalışmamızda, 100 mg/kg dozunda MFE (*Myristica fragrance* ekstresi) ile tonik nöbetler inhibe edildi. Bu farklılık, MF ekstraksiyon yöntemi veya MFE'nin uygulama zamanından kaynaklanabilir.

PTZ ile indüklenen nöbetler, etosüksimid gibi T-tipi Ca^{+2} akımlarını azaltan ve benzodiazepinler ile (valproik asit gibi) GABAA reseptörlerini aktive eden standart ilaçlar ile önlenebilir. MFE'nin, bahsedilen mekanizmaya benzer şekilde PTZ ile tetiklenen nöbetleri azaltabilecek veya engelleyebilecek bileşikler içerdiği düşünülmektedir (Wahab ve ark., 2009).

Ayrıca, inflamasyon ve epilepsi etiyolojisinin birbiriyle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Beyindeki inflamatuvar mediyatörlerin artması epilepsiye neden olabilir. Bazı çalışmalara göre, status epileptikus durumunda artmış IL-1 β , TNF- α , IL-6 transkripsiyon seviyeleri ve COX2 up regülasyonu görülmektedir (Rana ve Musto, 2018).

MF'daki fenilpropanoidler; miristisin, elemisin, öjenol ve safrol içerir. Safrol, birçok bitkide bulunan, antiinflamatuvar etkisi olduğu araştırılmış, ancak karsinojen etkiye de sahip bir bileşiktir. Öjenol steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar gibi TNF (tümör nekroz faktörü) ve COX-2 ekspresyonunu inhibe eder. Miristisin, viral ve bakteriyel enfeksiyonlarda önemli rol oynayan sitokinleri ve NO üretimini de inhibe edebilir (De Cássia da Silveira E Sá ve ark., 2014).

MF ekstresinin ana bileşenleri olan miristisin, miristik asit ve elemisin ve diğer bileşenleri olan öjenol, α -pinen, sabinen ve limonen gibi güçlü antiinflamatuvar etkiye sahiptir (Ghorbanian ve ark., 2019; Warsito, 2021). Dolayısıyla, muskat ekstresinin antikonvülsan etkisinin antiinflamatuvar bir etkiye dayandığı düşünülmektedir. Başka bir deyişle, MFE'nin antiinflamatuvar etkisinin, antikonvülsan etkinin arkasında yatan ek bir mekanizma olduğu inanılmaktadır.

Zorunlu yüzme testi (ZYT), sıçanlarda depresyon benzeri davranışları incelemek için en çok kullanılan testlerden biridir. Bu test, hayvanların stresle karşılaşmasını içerdiği için yaygın bir şekilde kullanılmıştır; bunun depresyon eğilimine yol açtığı gözlemlenmiştir. Relatif olarak basit bir testtir ve sonuçlar kolayca ve hızlı bir şekilde incelenebilir (Yankelevitch ve ark., 2015).

Zorunlu yüzme testinde, MFE'nin immobilizasyon zamanı üzerinde önemli bir iyileşme sağladığı görüldü. MFE'nin 100 mg/kg dozunda, antidepresan olan fluoksetinin etkisiyle benzer etkinlik gösterirken, 200 mg/kg dozunda etkisiz bulundu.

Moinuddin ve Khajuria (2012) çalışmasından elde edilen bulgular, MFE'nin belirgin antidepresan etki gösterdiği yönündedir. Bahsedilen çalışmada, zorunlu yüzme testi yapılarak MFE'nin 500 mg/kg dozu uygulanmış ve ortaya çıkan bulgular trisiklik antidepresan olan imipramin ile karşılaştırılmıştır. MFE'nin immobilizasyon zamanını azaltan etkisinin, imipraminin etkinliğiyle karşılaştırıldığında daha etkili olduğu bildirilmiştir.

Ayrıca, Iwata ve arkadaşları (2022) tarafından yapılan bir çalışmada, antidepresan etkisi araştırılmak üzere muskat n-heksan ekstraktı (NNE) kullanılmıştır. Kuyruk süspansiyon testinde (KST) 5 ve 10 mg/kg dozlar uygulanmıştır. Sonuçlar, düşük dozlarda hareketsizlik süresinde doza bağlı bir azalma göstermiştir.

Monoamin hipotezi, depresyonun patojenezinde en çok bilinen mekanizmalarından birisidir. Depresyon belirtileri, dopamin, 5-hidroksitriptamin ve noradrenalin gibi merkezi monoaminlerin fonksiyonel eksikliğinden kaynaklanmaktadır.

MF bileşenlerinden biri olan miristisinin, beyinde nörotransmitterleri metabolize eden monoamin oksidaz enzimini inhibe ettiği görülmüştür (Ehrenpreis ve ark., 2014). Bu durum, MFE'nin, serotonin, adrenalin ve dopamin gibi depresyonla ilişkilendirilen bileşikler artıran MAO inhibitörleri olarak kabul edilen bileşikler içerdiği anlamına gelmektedir.

MF ekstraktının ayrıca serotonin 5-HT_{1A} ve 5-HT_{2A} reseptörleri üzerinde de etkisi olduğu düşünülmektedir. Fluoksetinin antidepresan etkisini gerçekleştirdiği düşünülen mekanizma da budur. Ayrıca, adrenalin salgılanmasını engelleyen, negatif feedbacke neden olan ve depresyonda rol oynayan presinaptik α_1 adrenerjik reseptörleri de etkileyebilir (Iwata ve ark., 2022). Ayrıca MF ekstresi dopaminerjik ve antioksidan aktiviteyi artırarak antidepresan benzeri etkiler gösterebilir (Moinuddin ve ark., 2012).

Depresyonun patofizyolojisi ve epilepsi arasında bir bağlantının olduğu ve tüm bu etkilerin vücuttaki inflamatuvar nöromodülatörlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Diğer yandan, birçok çalışmaya dayanarak muskat ekstresinin güvenli bir doğal preparasyon olduğu bildirilmiştir (Iwata ve ark., 2022). Bu bulgular, MFE'nin depresyon tedavisinde kullanılmasını destekleyebilir. Ayrıca, antidepresan ve anti epileptik ilaçlara etkili bir tamamlayıcı veya alternatif olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuç

Myristica fragrans ekstraktının antiepileptik ve antidepresan etkileri üzerine yaptığımız araştırma olumlu sonuçlar vermiştir, çünkü bu ekstraktın dikkate değer net bir etkisi olduğunu göstermiştir. PTZ ile indüklenen nöbet testinde, bu ekstraktın myoklonik konvülsiyonların başlama zamanını artırarak ve ayrıca tonik epileptik nöbetleri de önleyerek antiepileptik bir aktiviteye sahip olduğunu bulduk. Zorunlu yüzme testinin sonuçlarına göre, Myristica fragrans ekstresinin sıçanlarda immobilizasyon süresini azaltarak antidepresan benzeri bir etki ortaya koyduğunu gösterdik.

6.2. Öneriler

Birçok çalışma, MF ekstraktının birçok hastalığın tedavisinde geleneksel bir ilaç olarak kullanılan güvenilir bir doğal ürün olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, MFE etkili ve kabul edilebilir bir besin takviyesi veya antidepresanlara ve antiepileptik ilaçlara bir alternatif olabilir. Depresyonun ve epilepsinin patofizyolojisi birbirleriyle ilişkilidir. Bu nedenle, MFE'nin epilepsi ile ilişkili depresyonun tedavisinde ilaçların yan sıra bir takviyesi olarak etkili olabileceğini düşünüyoruz. Bu farmakolojik etkileri sağlayan MFE bileşenleri ve mekanizmaları üzerine derinlemesine çalışmalar yapılmasını öneriyoruz. Ayrıca, MFE'nin kronik uygulamasının test edilmesi önemlidir. Ağızdan uygulama için etkili dozun belirlenmesi ve MFE'nin güvenliği de gereklidir.

7. KAYNAKLAR

- ab. rahman, nur ain, Fazilah, A., & Mohd Esah, E. (2015). Toxicity of Nutmeg (Myristicin): A Review. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 5. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.5.3.518>
- Abourashed, E. A., & El-Alfy, A. T. (2016). Chemical diversity and pharmacological significance of the secondary metabolites of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.). *Phytochemistry Reviews*, 15(6), 1035–1056. <https://doi.org/10.1007/s11101-016-9469-x>
- Ali, M. A., Zaigham, M., & Ikram, M. (n.d.). *Phyto-pharmacological potential of Jaiphal (Myristica fragrans Houtt): A spice of medicinal importance and its utilization in Unani Medicine*.
- Al-Qahtani, W. H., Dinakarkumar, Y., Arokiyaraj, S., Saravanakumar, V., Rajabathar, et al., (2022). Phytochemical and biological activity of *Myristica fragrans*, an ayurvedic medicinal plant in Southern India and its ingredient analysis. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3815–3821. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.02.043>
- Alrashedy, N. A., & Molina, J. (2016). The ethnobotany of psychoactive plant use: A phylogenetic perspective. *PeerJ*, 4, e2546. <https://doi.org/10.7717/peerj.2546>
- Ashokkumar, K., Simal-Gandara, J., Murugan, M., Dhanya, M. K., & Pandian, A. (2022). Nutmeg (*MYRISTICA FRAGRANS* Houtt.) essential oil: A review on its composition, biological, and pharmacological activities. *Phytotherapy Research*, 36(7), 2839–2851. <https://doi.org/10.1002/ptr.7491>
- Beurel, E., Toups, M., & Nemeroff, C. B. (2020). The Bidirectional Relationship of Depression and Inflammation: Double Trouble. *Neuron*, 107(2), 234–256. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.06.002>
- de Cássia da Silveira E Sá, R., Andrade, L. N., Dos Reis Barreto de Oliveira, R., & de Sousa, D. P. (2014). A review on anti-inflammatory activity of phenylpropanoids found in essential oils. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(2), 1459–1480. <https://doi.org/10.3390/molecules19021459>
- Ehrenpreis, J. E., DesLauriers, C., Lank, P., Armstrong, P. K., & Leikin, J. B. (2014). Nutmeg Poisonings: A Retrospective Review of 10 Years Experience from the Illinois Poison Center, 2001–2011. *Journal of Medical Toxicology*, 10(2), 148–151. <https://doi.org/10.1007/s13181-013-0379-7>
- El-Alfy, A. T., Wilson, L., ElSohly, M. A., & Abourashed, E. A. (2009). Towards a better understanding of the psychopharmacology of nutmeg: Activities in the mouse tetrad assay. *Journal of Ethnopharmacology*, 126(2), 280–286. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.08.026>
- Ghorbanian, D., Ghasemi-Kasman, M., Hashemian, M., Gorji, E., et al., (2019). *Myristica fragrans* Houtt extract attenuates neuronal loss and glial activation in pentylenetetrazol-induced kindling model. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 18(2). <https://doi.org/10.22037/ijpr.2019.1100670>
- Gupta, R., Azhar, M., & Kalam, M. A. (2020). *An Overview of Myristica fragrans (Nutmeg)—Its benefits and adverse effects to Humans*. 2(4).
- İnan, S. Y., & Büyükaşar, K. (2008). Antiepileptic effects of two Rho-kinase inhibitors, Y-27632 and fasudil, in mice. *British Journal of Pharmacology*, 155(1), 44–51. <https://doi.org/10.1038/bjp.2008.225>
- Inan, S. Y., Soner, B. C., & Sahin, A. S. (2015). Infralimbic cortex Rho-kinase inhibition causes antidepressant-like activity in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 57, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2014.10.008>

- Interpol review of controlled substances 2016–2019—ScienceDirect.* (n.d.). Retrieved May 29, 2024, from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589871X2030019X>
- Iwata, N., Kobayashi, D., Kawashiri, T., Kubota, T., Kawano, K., et al., (2022). Mechanisms and Safety of Antidepressant-Like Effect of Nutmeg in Mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 45(6), 738–742. <https://doi.org/10.1248/bpb.b21-01059>
- Machmudah, S., Sulaswatty, A., Sasaki, M., Goto, M., & Hirose, T. (2006). Supercritical CO₂ extraction of nutmeg oil: Experiments and modeling. *The Journal of Supercritical Fluids*, 39(1), 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2006.01.007>
- Moinuddin, G., Devi, K., & Khajuria, D. K. (2012). *Evaluation of the anti-depressant activity of Myristica fragrans (Nutmeg) in male rats.* 2(2).
- Muchtaridi, Subarnas, A., Apriyantono, A., & Mustarichie, R. (2010). Identification of Compounds in the Essential Oil of Nutmeg Seeds (*Myristica fragrans* Houtt.) That Inhibit Locomotor Activity in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(11), 4771–4781. <https://doi.org/10.3390/ijms11114771>
- Naeem, N., Rehman, R., Mushtaq, A., & Ghania, J. B. (2016). *Nutmeg: A review on uses and biological properties.*
- Nair, K. P. (2021). Mace and Nutmeg. In K. P. Nair (Ed.), *Minor Spices and Condiments: Global Economic Potential* (pp. 143–155). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-82246-0_14
- Olajide, O. A., Makinde, J. M., & Awe, S. O. (2000). Evaluation Of The Pharmacological Properties Of Nutmeg Oil In Rats And Mice. *Pharmaceutical Biology*, 38(5), 385–390. <https://doi.org/10.1076/phbi.38.5.385.5976>
- Parthasarathi, U., Hategan, A., & Bourgeois, J. A. (n.d.). *Out of the cupboard and into the clinic: Nutmeg-induced mood disorder.* 2.
- Piras, A., Rosa, A., Marongiu, B., Atzeri, A., Dessì, M. A., Falconieri, D., & Porcedda, S. (2012). Extraction and Separation of Volatile and Fixed Oils from Seeds of *Myristica fragrans* by Supercritical CO₂: Chemical Composition and Cytotoxic Activity on Caco-2 Cancer Cells. *Journal of Food Science*, 77(4). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02618.x>
- Rana, A., & Musto, A. E. (2018). The role of inflammation in the development of epilepsy. *Journal of Neuroinflammation*, 15(1), 144. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1192-7>
- Riva, A., Golda, A., Balagura, G., Amadori, E., Vari, M. S., et al., (2021). New Trends and Most Promising Therapeutic Strategies for Epilepsy Treatment. *Frontiers in Neurology*, 12, 753753. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.753753>
- Rogawski, M. A., Löscher, W., & Rho, J. M. (2016). Mechanisms of Action of Antiseizure Drugs and the Ketogenic Diet. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(5), a022780. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022780>
- Smalheiser, N. R. (2019). A Neglected Link Between the Psychoactive Effects of Dietary Ingredients and Consciousness-Altering Drugs. *Frontiers in Psychiatry*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00591>
- Vezzani, A., French, J., Bartfai, T., & Baram, T. Z. (2011). The role of inflammation in epilepsy. *Nature Reviews Neurology*, 7(1), 31–40. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2010.178>
- Wahab, A., Haq, R. U., Ahmed, A., Khan, R. A., & Raza, M. (2009). Anticonvulsant activities of nutmeg oil of *Myristica fragrans*. *Phytotherapy Research*, 23(2), 153–158. <https://doi.org/10.1002/ptr.2548>

- Warsito, M. F. (2021). A Review on Chemical Composition, Bioactivity, and Toxicity of *Myristica fragrans* Houtt. Essential Oil. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 304–313. <https://doi.org/10.22146/ijp.1271>
- Yuskaitis, C. J., Rossitto, L., Groff, K. J., Dhamne, S. C., Zhang, B., et al., (2021). Factors influencing the acute pentylenetetrazole-induced seizure paradigm and a literature review. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 8(7), 1388–1397. <https://doi.org/10.1002/acn3.51375>

8. EKLER

8.1. Etik Kurul Kararı



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve
Araştırma Merkezi Müdürlüğü



Karar Sayısı: 2023 – 017

Karar Tarihi: 11.05.2023

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji ABD'den Prof. Dr. Salim Yalçın İNAN, Meram MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümünden Doç. Dr. Süleyman DOĞU ve Tıbbi Farmakoloji ABD'den Safaa BAKERAH' ın sunduğu **"Myristica Fragrans (Muskat) Ekstresinin Sıçanlarda Antiepileptik ve Antidepresan Benzeri Etkilerinin Araştırılması"** başlıklı tez projesi 9 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede toplam 80 adet sıçan kullanılacağı ve yüksek doz kloral hidrat (600 mg/kg) ile ötanazi edileceği bildirilmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesindeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumlulukları ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneysel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından **"Uygun"** olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet Tuğrul YILMAZ
Başkan

Adres : Meram Tıp Fakültesi Eski Yerleşkesi 42080 Akyokuş — Meram / KONYA
Tel : +90 332 223 71 11 e-posta : konudam@konya.edu.tr
Faks : +90 332 223 71 24 Elektronik Ağ : https://www.konya.edu.tr/deneysetip