

Yeni Bir Antibiyotik, Kalsimisin

A Novel Antibiotic, Calcimycine

İlkay ÖREN*

İsmail YALÇIN*

ÖZET

Bu derlemede, bir antibiyotik olan kalsimisin incelenmiş, polieter antibiyotikler sınıfına giren bu bileşiğin yapısının aydınlatılması, iyonoforik özelliği ve bazı gram pozitif bakterilere karşı gösterdiği antibakteriyel etki araştırılmıştır.

SUMMARY

In this review, structure elucidation, ionophores properties and the antibacterial activity against some gram-positive bacteria of calcimycine which is a polyether antibiotics were searched.

Anahtar Kelimeler: Kalsimisin, antibakteriyel etki, benzoksazol.

GİRİŞ

Yapısında benzoksazol halkası taşıyan A 23187 kodlu kalsimisin yeni bir antibiyotik olup, *Streptomyces chartreusis* NRRL 3882 su-sundan biyosentez yoluyla elde edilmiştir (1-3). Bu bileşiğin iyonofor özellik gösterdiği ve gram pozitif bakterilere karşı inhibitor etkili olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar, sıçan karaciğer mitokondri membranında gerçekleştirdikleri deneylerde kalsimisinin Mg^{+2} ve Ca^{+2} gibi divalan katyonlarla dimerik kompleks oluşturduğunu ve antibakteriyel etkinin bu kompleksten kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir (4).

Kalsimisin, sahip olduğu kimyasal yapı ve gösterdiği iyonofor özellikten dolayı polieter antibiyotikler sınıfında yer almaktadır.

Redaksiyona verildiği tarih: 30.6.1992

* Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı 06100 Tandoğan / ANKARA.

Polieter antibiyotikler, lipofilik özellikte kompleksler oluşturarak lipit bariyerlerinden geçişi sağlarlar (5). Karakteristik iyon taşıma özellikleri bunların iyonoforlar olarak adlandırılmalarına neden olmuştur.

Polieter antibiyotiklerin iyonoforlar olarak tanımı, bazı katyonların taşınmasında etkili oldukları esasına dayanır. Bunlar içerisinde monovalan katyonları (K^+ , Na^+ , Li^+) taşıma özelliğine sahip olanlar monovalan polieterler, divalan katyonları (Ca^{+2} , Mg^{+2}) taşıyabilenler ise divalan polieterler olarak adlandırılırlar (5).

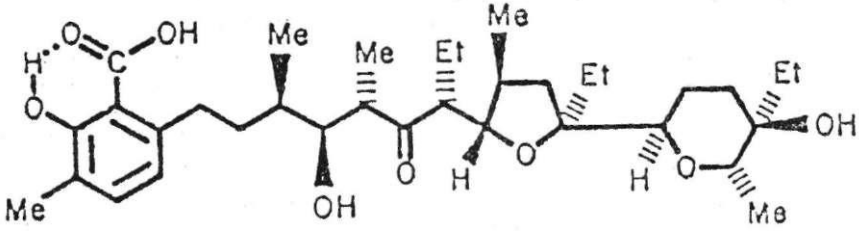
Genel olarak iyonoforları mikrobiyolojik etkilerini gözönüne alarak aşağıda verildiği şekilde sınıflandırabiliriz.

- 1) Nonmikrobiyal İyonoforlar
 - a) Crown polieterleri
 - b) Sentetik kriptatlar
 - c) Nonsiklik sentetik iyonoforlar
 - d) Oktadekadienoik asitler
- 2) İyonofor Antibiyotikler
 - a) Peptid iyonoforlar
 - b) Siklodepsipeptidler
 - c) Makrotetrolitler
 - d) Polieter antibiyotikler

Polieter antibiyotikler ise kendi arasında şu şekilde sınıflandırılmıştır.

- 1a: Monovalan polieterler (Monensin, Nigerisin)
- 1b: Monovalan monoglikosit polieterler (Dianemisin)
- 2a: Divalan polieterler (Lasalosid, Lysocellin)
- 2b: Divalan pirol eterler (Kalsimisin)

Polieter antibiyotikler ilk olarak Berger ve ark. tarafından 1951 yılında bulunmuştur (6). Fakat yapılarının aydınlatılması ancak onaltı yıl sonra gerçekleştirilebilmiştir ve aromatik kromofora sahip olmasından dolayı ilk olarak Lasalosid yapısı ele alınmış, Johnson ve ark. tarafından da 1970 yılında yapısı aydınlatılmıştır (7), (Şekil 1).



Şekil J. Lasalosisid'in kimyasal yapısı.

Molekül kristal yapısında iken hidrojen bağlarından dolayı siklik bir konformasyon içerir. Her iki ucda yer alan karboksil grubu ile hidroksil grubu arasında bir hidrojen bağı oluşur. Bu bükülme sonucunda bileşikteki oksijenli kısımlar ortada toplanırlar. Hidrofobik alkil grupları ise dış yüzeyde kalır. Bu kısım bileşiğin lipofilik yüzeyini oluşturur.

Böylece yapıda beklenmeyen çözünürlük özellikleri ortaya çıkar. Hidrofobik alkil yüzeyleri ile lipofilik yüzeylere geçiş kolaylaşır.

Karakteristik konformasyon özelliklerinden dolayı sulu ortamda çözünmezler; benzen, eter ve kloroform da çözünürler (5).

Tuzları şeklindeki polieter antibiyotiklerin iyonoforik aktivitelerinin arttığı sanılmaktadır (5).

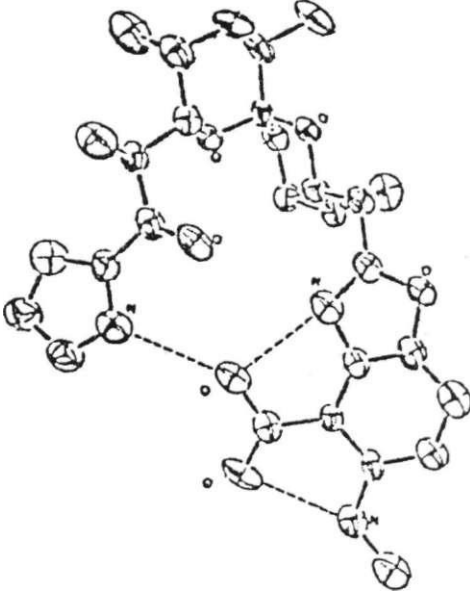
Bu bileşiklerin kompleks oluşturmada seçicilik göstermeleri, aktivite yönünden de selektivite kazandırmaktadır (5).

Lasalosisid hem monovalan hem de divalan katyonlarla kompleks oluşturur. Bunlar sırasıyla Ca^{+2} , K^+ , Li^+ , Na^+ ve Mg^{+2} dur. Oysa kalsimisin yalnız Ca^{+2} ve Mg^{+2} gibi divalan katyonlara karşı seçicilik gösterir.

Polieter antibiyotiklerin gram negatif organizmalara karşı inaktif olmalarına karşın gram pozitif basil, kok ve fiamantöz mikroorganizmalara karşı aktivite gösterdiği görülmüştür. Antimikrobiyal aktivite ile kimyasal yapı arasında bir bağlantı olduğu ileri sürülmüştür.

Sonuç olarak mikrobiyal inhibisyonun monovalan katyonların (örneğin; K^+) kaybından ileri geldiği düşünülmektedir (8).

kül içi gerçekleşen bu hidrojen bağları nedeniyle oluşacak bükülmeler sonucunda heteroatomlar taşıyan yüzeyler iç kısımda, lipofilik kısımlar dış yüzeyde kalacak şekilde bir konformasyon oluşur ve molekül membranlardan geçişi sağlayacak değişik bir çözünürlük özelliği kazanmış olur.



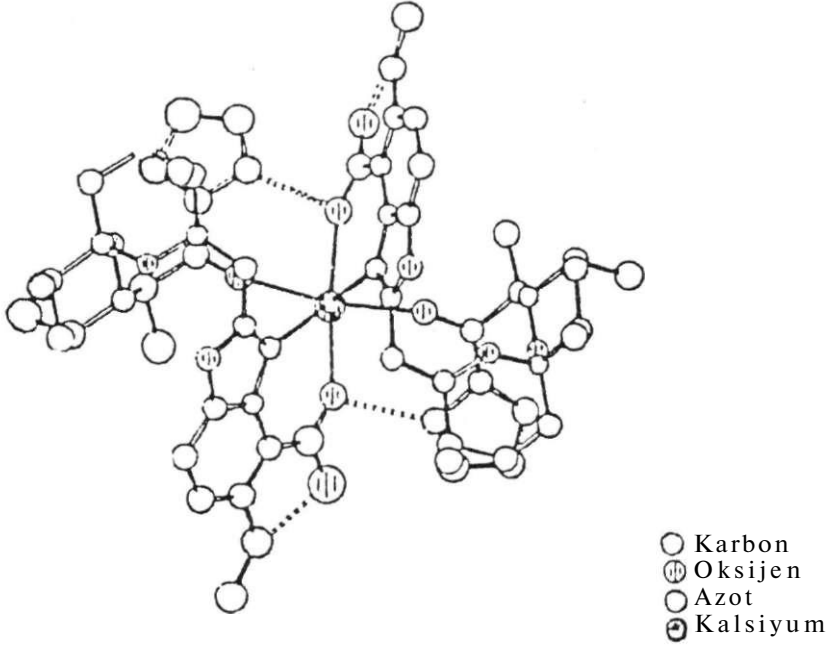
O : Oksijen atomu
N : Azot atomu

Şekil 3. Kalsimisindeki molekül içi hidrojen bağları.

Çeşitli araştırmacılar (10,16,18-22), kalsimisinin divalan katyonlarla oluşturdukları kompleksleri incelediklerinde bir Ca^{+2} iyonunun iki molekül kalsimisine bağlanarak, 2:1 (antibiyotik: divalan katyon) kompleksleri meydana getirdiklerini gözlemlemişlerdir. Oluşan bu 2:1 kompleksinde divalan katyonun, her iki kalsimisin molekülünde yer alan karboksil gruplarının birer oksijeni, 20. konumdaki karbonil oksijenleri ve benzoksazol halkasındaki azot atomları arasında koordine kovalan bağlarla tutularak şelat kompleksi oluşturduğu belirlenmiştir. Bu komplekste ayrıca molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağları oluşturularak ve geriye kalan kısımlarda su molekülleriyle doldurularak dimer yapının bu konformasyonda durması sağlanır (Şekil 4).

Molekül içi hidrojen bağı, 3. konumda yer alan sekonder amir yapısındaki azotun hidrojeni ile 2. konumda yer alan karboksil grup-

bunun diğer oksijeni arasında, moleküller arası hidrojen bağı ise bir kalsimisin molekülünün karbonil grubu oksijeniyle diğer kalsimisin molekülünün pirol halkasındaki azot hidrojeni arasında gerçekleşir.



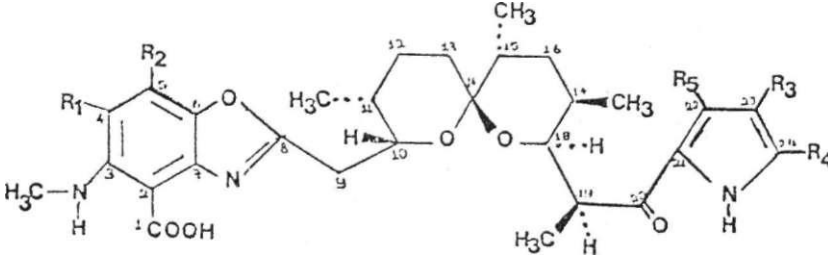
Şekil 4. Kalsimisinin kalsiyum iyonu ile kompleksi.

Oluşan bu kompleks yapı ile toprak alkali kationlar membran fazından spesifik olarak taşınırlar (20, 21, 23-25). Böylece bir monokarboksilik asit olan kalsimisinin doğal ve doğal olmayan membranlardan divalen kationları geçirebileceği belirtilmiştir (16).

Abboot ve ark. 200'ün üzerinde rastgele seçilen mikroorganizmalardan hiçbirisinin kalsimisine karşı direnç göstermediğini belirtmişler (4) ve kalsimisinin metil esterlerini hazırlamışlardır (3,4). Fakat ester yapısının oluşturulması nedeni ile karboksil grubundan kaynaklanan iyonofor özelliğın ortadan kaldırdığı ve bu türevlerin mitokondri membranında bulunan iki değerlikli kationlarla dimerik kompleksler oluşturamadıkları görüşünü savunmuşlardır.

1981 yılında kalsimisinin halojenli türevleri de hazırlanmıştır. Babcock ve ark. yapıya halojen girmesinin antibakteriyel etkinin azalmasına neden olduğunu belirtmişlerdir (26,27).

Yine aynı yıl Debono ve ark. da benzokzasol çekirdeğinin selektif brominasyon veya klorinasyon ve pirol halka sisteminin brominasyon veya iyodinasyonu ile kalsimisinin dibromo, diiyodo ve tetrabromo gibi türevlerini elde ettiler (28). Araştırmacılar 4-Bromo kalsimisinin divalan katyon bağlama ve taşıma özelliklerini incelediklerinde afinitesinin kalsimisine göre, özellikle Ca^{+2} iyonunun selektif taşınmasında yaklaşık 10 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. 4-Bromo kalsimisinin Mg^{+2} -transportunda inaktif olduğu belirtilmiştir.



- | | |
|---|---|
| 1) $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$ | 2) $R_1 = Br, R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$ |
| 3) $R_3 = Br, R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = H$ | 4) $R_3 = R_4 = Br, R_1 = R_2 = R_5 = H$ |
| 5) $R_1 = R_3 = Br, R_2 = R_4 = R_5 = H$ | 6) $R_1 = R_3 = R_4 = R_5 = Br, R_2 = H$ |
| 7) $R_1 = Cl, R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$ | 8) $R_3 = I, R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = H$ |
| 9) $R_3 = R_4 = I, R_1 = R_2 = R_5 = H$ | 10) $R_1 = Br, R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$ |
| 11) $R_1 = Cl, R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$ | 12) $R_1 = Br, R_2 = Br, R_3 = R_4 = R_5 = H$ |
| 13) $R_1 = Br, R_4 = Br, R_2 = R_3 = R_5 = H$ | |

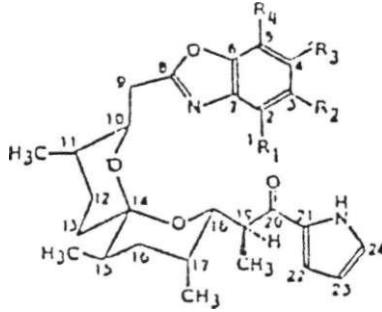
Gresh, kalsimisin ve türevlerinin divalan katyonlara olan afinitesinin artması için benzoksazol çekirdeğindeki benzen halkasının 3. konumundan elektron veren grublarla süstitüsyonunun gerekli olduğunu belirtmiştir (22).

Bu düşünceden hareketle Prudhomme ve ark. kalsimisinin çeşitli türevlerini elde etmişlerdir (20). Bu bileşikler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Antibakteriyel Etkisi

Kalsimisin üzerinde gerçekleştirilen çeşitli fizyolojik hücre çalışmaları halen devam etmektedir (18, 29-43). Prudhomme ve ark. sıçan karaciğer mitokondrisinden Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyonlarının salınımını incelediklerinde, kalsimisinin bu iki değerlikli katyonların salınımını

Tablo 1. Kalsimisin Türevleri.



Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	COOH	NHCH ₃	H	H
2	H	COOH	H	H
3	COOH	H	H	H
4	COOH	H	H	CH ₃
5	COOH	H	CH ₃	H
6	COOH	CH ₃	H	H
7	COOH	OH	H	H
8	COOH	N(CH ₃) ₂	H	H
9	COOH	N(CH ₃)C ₂ H ₅	H	H
10	COOH	N(CH ₃)COCH ₃	H	H
11	COOH	N(CH ₃)COCF ₃	H	H
12*	COOH	OH	H	H

* X14885A: 15. Konum metil grubu içermemektedir.

da oldukça etkili olduğu görülmüştür (44). Türevleri incelendiğinde ise Tablo 1'deki 7 nolu yarı sentetik bileşiğin 1 nolu bileşikten daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. R₂ de hacimli grupların bulunması bileşiği inaktif yapmaktadır.

Taşıma yetenekleri ve Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) sonuçları arasında sıkı bir ilişki oluşturulamamıştır. Antibiyotik aktivitenin iyonofor özelliklerinden kaynaklandığı belirtilmekle beraber hala kesin bilgiler verilememektedir. Ancak hücreden Mg⁺² kaybının inhibisyona neden olduğu öne sürülmektedir. 3 µg/ml konsantrasyondaki kalsimisinin *Lactobasilius lactis* hücrelerindeki bütün Mg⁺² tüketimine yeterli olduğu Prudhomme ve ark. tarafından bildirilmiştir (44). Tablo 2'de Tablo 1'de verilen kalsimisin türevlerinin çeşitli mikroorganizmalara karşı minimum inhibisyon konsantrasyonları verilmiştir.

Tablo 2. Kalsimisin türevlerinin mikrobiyolojik aktiviteleri ($\mu\text{g/ml}$ olarak MİK değerleri)

Bileşik	<i>Bacillus cereus</i> ATTC 14575	<i>Bacillus megaterium</i> ATTC 14581	<i>Micrococcus luteus</i> ATTC 4698	<i>Streptomyces rimosus</i> NRRL 2234	<i>Penicillium decumbens</i> NRRL 742
1	0.024	0.0015	0.012	50	12.5
2	25	6.25	12.5	50	50
3	0.097	0.049	0.195	3.12	25
4	0.39	< 0.0015	0.006	25	6.25
5	0.39	0.024	0.012	50	12.5
6	6.25	—	0.78	50	25
7	0.006	< 0.0015	0.024	50	100
X14885A(12)	0.097	0.006	0.006	6.25	50
8	3.12	0.39	0.39	25	50
9	1.56	1.56	3.12	50	50
10	12.5	6.25	12.5	50	50
11	0.78	0.20	0.78	12.5	25

SONUÇ VE TARTIŞMA

İyonoforlar sınıfından olan A 23187 kodlu kalsimisin benzoksazol halkası taşıyan bir antibiyotiktir (1,3). Bu yapı, sıçan karaciğer mitokondri membranında iyonofor özelliğinden dolayı Mg^{+2} ve Ca^{+2} gibi divalan katyonlarla dimerik kompleks oluşturarak antibakteriyel etki göstermektedir (4). Araştırmacılar, bu kompleksi incelediklerinde bir Ca^{+2} iyonunun iki molekül kalsimisine bağlanarak 2:1 (Antibiyotik: Divalan katyon) kompleksleri oluşturduklarını gözlemlemiştir (10, 16, 19, 20, 22). Oluşan bu 2:1 kompleksinde divalan katyonun her iki kalsimisin molekülünde yer alan karboksil grublarının birer oksijeni, 20. konumdaki karbonil oksijenleri ve benzoksazol halkasındaki azot atomları arasında koordine kovalan bağlarla tutularak kompleks oluşturduğu bildirilmiştir. Bu komplekste ayrıca molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağları oluşturularak ve geriye kalan kısımlar su molekülleriyle doldurularak dimer yapının bu konformasyonda durması sağlanır. Bu şekilde toprak alkali katyonlar membran fazında spesifik olarak taşınabilmektedir (20,21).

Araştırmacılar kalsimisinin değişik türevlerini hazırlayarak incelediklerinde metil esterlerinin etkili olmadıkları görülmüştür (3,4). Bu durum, karboksil grubundan kaynaklanan iyonofor özelliğinin ortadan kalkması sonucu esterli türevlerin mitokondri membranında bulunan iki değerlikli katyonlarla dimerik kompleksler oluşturamamalarına bağlanmıştır.

Yapıya halojen girmesinde antibakteriyel etkinin azalmasına neden olmaktadır (26,27). Sadece kalsimisinin 4. konumuna brom bağlanması ile aktivitenin 4 kat arttığı gözlenmiştir (28). Bu bileşiğin Ca^{+2} kationunun selektif taşınmasında kalsimisinden yaklaşık 10 kat daha etkili olduğu saptanmıştır. Kalsimisin türevlerinin divalen kasyonlara karşı afinitesini arttırmak için benzoksazol çekirdeğinin 3. konumdan elektron veren gruplarla süstitüsyonun gerekli olduğu görülmüştür (22). 3. konumda hacimli grupların bulunması ise aktiviteyi azaltmaktadır (44). 3. Konuma metilamin grubu yerine hidrok-sil grubunun gelmesi aktiviteyi arttırmıştır.

Taşıma yetenekleri ve antibakteriyel etki arasında bugüne kadar bir ilişki kurulamamasına karşın antibakteriyel aktivitenin iyonofor özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ana çekirdeği, benzoksazol halkası olan iyonofor özellikteki kalsimisin, umut vaat eden bir antibiyotik olup, üzerinde fizyolojik hücre çalışmaları halen devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Gale, R.M., Higgins, C.E., Hoehn, M.M., "Antibiotic A 23187", U.S. 3, 923.823, 02 Dec 1975, Ref: CA: 84: 87964y (1976)
2. Newman, M.S., Khanna, V.K., Kanakarajan, K., "Polyether Antibiotics Synthesis. Total Synthesis and Absolute Configuration of the Ionophore A 23187.", *J. Ame. Chem. Soc.*, 101, 6789-6791 (1979)
3. Abbott, B.J., Fukuda, D.S., "Microbiological modification of Antibiotic A 23187 esters", U.S. 4, 247, 703, 27 Jan 1981, Ref: CA: 94: 190314s (1981)
4. Abbott, B.J., Fukuda, D.S., Dorman, D.E., Oocolowitz, J.L., Debono, M., Farhner, L., "Microbial transformation of A 23187 a divalent cation ionophore antibiotic", *Antimicrob. Agents Chemoth.*, 16, 808, 1973; Ref: CA: 93: 68578v (1980)
5. Westley, J.W., Polyether Antibiotics: Versatile Carboxylic Acid Ionophores Produced by Streptomyces, *Adv. Appl. Microbiol.*, 22, 177-223 (1977)
6. Berger, J., Rachlin, A.I., Scott, W.E., Sternbach, L.H., Goldberg, M.W., "The Isolation of Three New Crystalline Antibiotics from Streptomyces", *J. Ame. Chem. Soc.*, 73, 5295-5297 (1951)
7. Johnson, S.M., Jeannie, H., Liu, S.J., Paul, I.C., "The Crystal and Molecular Structure of the Barium Salt of an Antibiotic Containing a High Proportion of Oxygen", *J. Ame. Chem. Soc.*, 92 4428-4435 (1970)
8. Harold, F.M., Baarda, J.R., "Gramicidin, Valinomycin, And Cation Permeability of Streptococcus faecalis", *J. Bacteriol.*, 94(1), 53-60 (1967)
9. Pressman, B.C., "Properties of Ionophores with broad range cation selectivity", *Fed. Proc.*, 32, 1698-1703 (1973).

10. Chaney, M.O., Demarci, P.V., Jones, N.D., Occolowitz, J.L., "The Structure of A 23187, a Divalent Cation Ionophore", *J. Ame. Chem. Soc.*, **96**, 1932-1933 (1974)
11. Pfeiffer, DJ*, Lardy, H.A., "Ionophore A 23187: The Effect of H⁺ Concentration on Complex Formation with Divalent and Monovalent Cations and the Demonstration of K⁺ Transport in Mitochondria Mediated by A 23187", *Biochemistry*, **15**(5), 935-943 (1976)
12. Pressman, B.C., "Biological Applications of Ionophores", *Annu. Rev. Biochem.*, **45**, 501-530 (1976)
13. Evans, D.A., Sacks, C.E., Whitney, R.A., Mandel, N.G., "Studies Directed towards the Total Synthesis of the Ionophore Antibiotic A-23187", *Tetrahedron Lett.*, **8**, 727-730 (1978)
14. Cresp T.M., Probert, C.L., Sondheimer, F., "An approach to the synthesis of Ionophores Related to A 23187", *Tetrahedron Lett*, **41**, 3955-3958 (1978)
15. Bolte, J., Demuyneck, C, Jeminet, G., "Sélectivité du transport de Ca²⁺ / Mg²⁺ à travers une membrane liquide par A 23187 (Calcimycine) et son dérivé N-méthyle", *Can. J. Chem.*, **63**,3478-3481 (1985)
16. Smith, G.D., Duax, W.L., "Crystal and Molecular Structure of the Calcium Ion Complex of A 23187", *J. Ame. Chem. Soc.*, **98**, 1578-1580 (1976).
17. Kaufman, R.F., Taylor, R.W., Pfeiffer, D.R., "Acid-Base Properties of Ionophore A 23187 in Methanol-Water Solutions and Bound to Unilamellar Vesicles of Dimyristoylphosphatidylcholine", *Biochemistry*, **21**, 2426-2435 (1982).
18. Schaffer, S.W., Safer, B., Scarpa, A., Willamson, J.R., "Mode of Action of the Calcium Ionophores X-537A and A 23187 on Cardiac Contractility", *Biochem. Pharmacol.*, **23**, 1609-1617 (1974)
19. Deber, CM., Pfeiffer, D.R., "Ionophore A 23187, Solution Conformations of the Calcium Complex and Free Acid Deduced from Proton and Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Studies", *Biochemistry*, **15**(1), 132-141 (1976)
20. Prudhomme, M., Dauphin, G., Jeminet, G., "Semisynthesis of A 23187 (Calcimycin) Analogs. III. Modification of Benzoxazole ring substituents, Ionophorous Properties in an organic Phase", *J. Antibiotics.*, **39**, 922-933 (1986)
21. Alléaume, M., Barraes, Y., "Structure cristalline du complexe de magnésium de la Calcimycine (A 23187)", *Can. J. Chem.*, **63**, 3482-3485 (1985)
22. Gresh, N., "The effect of 3- and 4- Ring substituents on the Cation-Binding Properties of the 1-Carboxybenzoxazole Ring", *Novv. J. Chim.*, **10**. 201-204 (1986).
23. Haynes, D.H., Pressman, B.C., "Two-Phase Partition Studies of Alkali Cation Complexation by Ionophores", *J. Membrane Biol.*, **18**, 1-21 (1974)
24. Young, S.P., Gomperts, B.D., "Mobile Carrier Ionophores for Fe (II)", *Biochimica et Biophysica Acta*, **469**, 281-291 (1977)
25. Kauffman, R.F. Chapman, C.J., Pfeiffer, D.R., "Location and Dynamics of Ionophore A 23187 Bound to Unilamellar Vesicles of Dimyristoylphosphatidylcholine", *Biochemistry*, **22**, 3985-3992 (1985)

26. Babcock, D.F., Deber, C.M., Debono, M., Molloy, R.M., Pfeiffer, D.R., "Halo A-23187 derivatives", U.S. 4, 227, 003; 07 Oct 1980, Ref: CA:94: 84099r, 1981.
27. Debono, M., Molloy, R.M., "Bromo-A-23187 derivatives", U.S. 4, 227, 003, 07 Oct 1980, Ref: CA: 94: 84100J, 1981.
28. Debono, M., Molloy, R.M., Dorman, D.E., Paschal, J.W., Babcock, D.F., Deber, C.M., Pfeiffer, D.R., "Synthesis and Characterization of Halogenated Derivatives of the Ionophore A 23187: Enhanced Calcium Ion Transport Specificity by the 4- Bromo Derivative", *Biochemistry*, 20, 6865-6872 (1981).
29. Reed, P.W., Lardy, H.A., "A 23187: A Divalent Cation Ionophore", *J. Biolog. Chem.*, 247 (21), 6970-6977 (1972)
30. Zahlten, R.N., Stratman, F.W., Lardy, H.A., "Regulation of Glucose Synthesis in Hormone-Sensitive Isolated Rat Hepatocytes", *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 77(11), 3213-3218 (1973)
31. Levy, J.V., Cohen, J.A. Inesi, G., "Contractile Effects of a Calcium Ionophore", *Nature*, 242, 461-463 (1973)
32. Foreman, J.C., Mongar, J.I., Gomperts, B.D., "Calcium Ionophores and Movement of Calcium Ions following the Physiological stimulus ko a Secretory Process', *Nature*, 245, 249-251 (1973)
33. Wong, D.T., Wilkinson, J.R., Hamill, R.L., Horng, J.S., "Effects of Antibiotic Ionophore, A 23187, on oxidative Phosphorylation and Calcium Transport of Liver Mitochondria", *Arch. Biochem. Biophys.*, 156, 578-585 (1973)
34. Maino, V.C, Green, N.M., Crumpton, M.J., "The role of calcium ions in initiating transformation of lymphocytes", *Nature*, 251, 324-327 (1974)
35. Selinger, Z., Eimerl, S., Schramm, M., "A calcium Ionophore Simulating the Action of Epinephrine on the α -Adrenergic Receptor", *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 71(1), 128-131 (1974)
36. Steinhartd, R.A., Epel, D., "Activation of Sea-Urchin Eggs by a Calcium Ionophore, A 23187", *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 71(5), 1915-1919 (1974)
37. Luckasen, J.R., White, J.G., Kersey, J.H., "Mitogenic Properties of a calcium Ionophore A 23187", *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 71(12), 5088-5090 (1974).
38. Holz, R.W., "The Release of Dopamine from Synaptosomes from Rat Striatum by the Ionophores X537 A and A 23187", *Biochimica et Biophysica Acta*, 375, 138-152 (1975)
39. Furchgott, R.F., Cherry, P.D., Zawadzki, J.V., Jothianandan, D.J., "Endothelial Cells as Mediators of Vasodilation of Arteries", *J. Cardiovascular Pharmacology.*, 6, 336-343 (1984)
40. Shikano, K., Berkowitz, B.A., "Endothelium Derived Relaxing Factor is a Selective Relaxant of vascular smooth Muscle". *J. Pharmacol. and Exper. Therap.*, 243(1), 55-63 (1987)
41. Durante, W., Sen, A.K., Sunahara, F.A., "Impairment of endothelium -dependent relaxation in aortae from spontaneously diabetic rats", *Br. J. Pharmacol.*, 94, 463-468 (1988)

42. Altan, V.M., Karasu Ç., Özüari, A., "The Effects of Type-1 and Type-2 Diabetes on Endothelium-Dependent Relaxation in Rat Aorta", *J. Pharmacol. Biochem.* **33** (3), 1-4 (1989)
43. Boulanger, C, Schini, V.B., Moncada, S., Vanhontte, P.M., "Stimulation of cyclic GMP production in cultured endothelial cells of the pig by bradykinin, adenosine diphosphate, calcium ionophore A 23187 and nitric oxide", *Br. J. Pharmacol.*, **101**, 152-156 (1990)
44. Prudhomme, M., Guyot, J., Jeminet, G., "Semi-synthesis of A 23187 (Calcimycin) Analogs. IV. Cation Carrier Properties in Mitochondria of Analogs with Modified Benzoxzole Rings. Antimicrobial Activity", *J. Antibiotics.*, **39**(7), 934-937 (1986).

A.Ü. ECZACILIK FAKÜLTESİ DERGİSİNDE YAYINLANMASI İSTENEN MAKALELER İÇİN YAZARLARIN UYACAĞI KURALLAR

1— Fakültemiz Dergisi Mayıs ve Kasım aylarında olmak üzere yılda 2 sayı olarak yayınlanmaktadır. Yayınlanması istenen makaleler en geç 15 Nisan ve 15 Kasım tarihlerine kadar 3 nüsha olarak Dekanlığa gönderilmelidir.

2— Yayın Komisyonuna gelen makaleler, en az 2 danışmana gönderilir.

I- Dergide Yayınlanacak Yazı Türleri:

Dergide Eczacılık alanında ve daha önce hiçbir yerde yayınlanmamış aşağıda belirtilen türde makaleler yayınlanır.

1— Araştırma Makalesi: 10 daktilo sayfasını geçmeyen (Şekiller hariç) orijinal araştırmalar, araştırma makalesi olarak değerlendirilir.

2— Derleme: 15 daktilo sayfasını geçmeyen belirli bir konuda o güne kadarki gelişmeleri yeterli literatür desteği ile ortaya koyan ve sonuçlarını yorumlayan yazılar derleme olarak değerlendirilir.

II- Yazım Esasları:

1— Dergiye Türkçe dışında İngilizce, Almanca ve Fransızca olarak yazılmış makaleler kabul edilir. Makaleler Türk Dil kurallarına uygun olarak yazılmalıdır.

2— Yazılar A-4 formatta kağıdın bir yüzüne normal puntolu daktilo ile 2 aralıklı olarak yazılmalı, kağıdın alt ve üst kenarından 2 cm., sol kenarından 3 cm. ve sağ kenarından 1.5 cm boşluk bırakılmalıdır.

3— Eserin yazım esasları aşağıdaki sıraya uygun olmalıdır:

Başlık, Türkçe ve Yabancı Dilde Özet, Anahtar Kelimeler, Giriş, Materyal ve Yöntem, Sonuç ve Tartışma, Kaynaklar. Derleme Makalelerde "Materyal ve Yöntem" Bölümü bulunmayabilir.

4— Türkçe ve Yabancı Dilde başlığın her kelimesinin baş harfi büyük harflerle yazılmalı, ilk başlık siyah, ikinci başlık beyaz olmalıdır.

5— Yazar veya yazarların adları küçük, siyah, soyadları büyük siyah harflerle başlığın altına; metin içinde geçen yazar adları büyük harflerle yazılmalıdır.

6— Siyah dizilmesi istenen kelimelerin altları yeşil, italik dizilmesi istenen kelimelerin altları siyah kalemle çizilmelidir.

7— Özetler makalenin baş kısmında verilmelidir. Türkçe ve Yabancı Dilde olmak üzere en çok 100'er kelimededen oluşmalıdır.

8— Anahtar kelimeler araştırmayı, tanıtıcı özellikte, Türkçe ve Yabancı Dilde olmak üzere en çok 5 kelimededen oluşacaktır.

9— Giriş Bölümü, yapılan araştırma ile ilgili önemli çalışmaların ve araştırmanın amacının belirtildiği bölümdür.

10— Materyal ve Yöntem: Bu bölümde kullanılan materyal belirtilir ve metod hakkında literatüre dayandırılarak kısaca bilgi verilir.

11— Sonuç ve Tartışma: Bulguların değerlendirildiği ve literatürdeki ilgili araştırmalarla karşılaştırmalar yapılarak sonuca varılan bölümdür.

12— Teşekkür var ise kaynaklardan önce yer almalıdır.

13— Kaynaklar, makalede parantez içindeki numaralarla belirtilmeli ve makale sonunda bu numaralara göre sıralanmalıdır. Kaynaklar aşağıdaki örneklere uygun olarak yazılmalıdır.

a) *Makale:*

Yazarın soyadı (siyah), adının başharfleri (siyah), makale adı, derginin adı (italik), cilt no (siyah), sayı (parantez içinde), sayfa numarası (başlangıç ve bitiş), yıl (parantez içinde) yazılmalıdır.

ÖRNEK: Matyus, P., Synthesis and Structure-Activity Relationship of Pyridazine Derivatives with Cardiovascular Activity, *Sci. Pharm.*, **58**, 186—188 (1990)

b) *Kitap*

Yazarın Soyadı (siyah), adının başharfi (siyah), kitabın adı, cilt no (varsa) kitabevi, yayımlandığı şehir, sayfa numarası, basıldığı yıl (parantez içinde) yazılmalıdır.

ÖRNEK: Franke, R., Theoretical Drug Design Methods, Elsevier, Amsterdam, 130 (1984).

c) *Editörlü Kitap*

Yazarın soyadı (siyah), adının başharfi (siyah), bölümün adı, bölümün alındığı kitabın adı (parantez içinde), cilt no (varsa) editörün soyadı, adının başharfi, kitabevi, yayımlandığı şehir, sayfa numarası, basıldığı yıl (parantez içinde) yazılmalıdır.

ÖRNEK: Weinberg, E.D., Antifungal Agents (Burger's Medicinal chemistry), **II**, Wolff, M.E., John Wiley and Sons, New York, 531, (1979).

III- Diğer Konular:

1— Şekil altları, Şekil I. olarak; Tablo üstleri Tablo I. şeklinde yazılmalıdır.

2— Klişesi yapılacak grafik, şema, formül gibi şekiller aydınlatıcı kağıdına çini mürekkebi ile çizilmeli, şekillerdeki yazı ve rakamlar daktilo ile yazılarak küçültme oranları yazar tarafından belirtilmelidir. Her şeklin arkasına yazar adı ve kaçınıcı şekil olduğu kurşun kalemle yazılmalıdır. İkinci ve üçüncü nüshalar için şekillerin fotokopileri eklenmelidir.

3— Fotoğraflar parlak kartona ve net olarak basılmış olmalıdır. Dergiye renkli fotoğraf koymak mümkün değildir.

4— Bölüm başlıkları beyaz büyük harflerle, alt başlıklar siyah küçük harflerle yazılmalıdır.