

**ELEKTRİKSEL ALAN STİMÜLASYONU
ile OLUŞTURULAN İZOLE SIÇAN
İLEUM, MESANE, VAS DEFERENS ve
SOL ATRİUM KASILMALARI
ÜZERİNDE 1,4-SİNEOL, 1,8-SİNEOL ve
KARVAKROL'ÜN ETKİLERİ**

Dr. Yaşar ÇAKMAKÇI

Doktora Tezi

**ELEKTRİKSEL ALAN STİMÜLASYONU ile
OLUŞTURULAN İZOLE SIÇAN İLEUM,
MESANE, VAS DEFERENS ve SOL ATRİUM
KASILMALARI ÜZERİNDE 1,4-SİNEOL, 1,8-
SİNEOL ve KARVAKROL'ÜN ETKİLERİ**

Dr. Yaşar Çakmakçı

Doktora Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Anabilim Dalı

Eskişehir, Şubat 2010

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Süleyman AYDIN

Jüri ve Enstitü Onayı

Yaşar ÇAKMAKÇI'nın "Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Oluşturulan İzole Sıçan İleum, Mesane, Vas deferens ve Sol Atrium Kasılmaları Üzerinde 1,4-Sineol, 1,8-Sineol ve Karvakrol'ün Etkileri" başlıklı Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki Doktora Tezi 26.02.2010 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	Prof. Dr. Süleyman AYDIN Anadolu Üniversitesi
Üye	Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK Anadolu Üniversitesi
Üye	Prof. Dr. Kevser EROL Osmangazi Üniversitesi
Üye	Prof. Dr. A. Tanju ÖZÇELİKAY Ankara Üniversitesi
Üye	Doç. Dr. Bülent ERGUN Anadolu Üniversitesi

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Yasemin YAZAN

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı ve soyadı : Yaşar ÇAKMAKÇI
Doğum tarihi ve yeri : 21.11.1976
Uyruğu : TC ve Irak (çifte vatandaş)
Medeni durumu : Evli
İletişim adresleri :
Adres : Gültepe Mahallesi, Üniversite evleri, J. Er Mehmet
Alp caddesi No:17, Daire:16, ESKİŞEHİR
Tel : 0555 835 31 32 / 0536 704 00 71
e-posta : yasarcakmakci@yahoo.com

Eğitim Durumu

İlkokul : Zanyari İlkokulu, Erbil-Irak, 1988
Ortaokul : Serbesti Ortaokulu, Erbil-Irak, 1991
Lise : Erbil Lisesi, Erbil-Irak, 1994
Lisans : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Eskişehir, 2003
Yabancı diller : Arapça ve İngilizce

Bilimsel Etkinlikler

Katılan kurslar ve eğitim programları:

T.C. Sağlık Bakanlığı, Aile Hekimliği 1. Aşama Uyum Eğitimi, Kütahya, 31 Temmuz - 06 Ağustos 2008.

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince bilgi birikiminden yararlandığım, doktora çalışmalarım sırasında karşılaştığım tüm sıkıntılarımı dinleyen ve elinden gelen yardımı esirgemeyen, sorunlarımı çekinmeden anlatabileceğim, her zaman bana rehber olabileceğini düşündüğüm, çok değer verdiğim ve saygı duyduğum Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yusuf Öztürk'e,

Tez çalışmalarım sırasında deneyim ve bilgilerinden yararlandığım, bilgilerini benimle paylaşan tez danışmanım ve Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Süleyman Aydın'a,

Lisans eğitimim sırasında bana Farmakolojiyi öğreten ve sevdiren ve kendisinden her zaman hoca sıcaklığını hissettiğim sayın Prof. Dr. Kevser Erol'a ve Prof. Dr. A. Tanju Özçelikay'a

Türkiye Cumhuriyeti'ne gelişimde, eğitim hayatımın her döneminde varlığını unutamayacağım, maddi ve manevi destekleriyle bugüne gelmemde rol oynayan ve elinden gelen tüm olanaklarını esirgemeyen rahmetli hocam Prof. Dr. İhsan Doğramacı'ya ve isteklerimi kendisine ileten sayın Oya Cangüloğlu'ya,

Farmakoloji laboratuvarında bana çok yardımcı olan, takıldığım konularda her zaman kapısını açık bulduğum, dostluğuna çok güvendiğim Yrd. Doç. Dr. Özgür Devrim Can ve onun değerli eşi Yrd. Doç. Dr. Nafiz Öncü Can'a

Cana yakınlığını hissettiğim Araş. Gör. Ümide Demir Özkay'a ve değerli eşi Araş. Gör. Yusuf Özkay'a

Farmakoloji Anabilim Dalının değerli öğretim üyeleri Yrd. Doç. Dr. Rana Arslan'a, Yrd. Doç. Dr. Miriş Dikmen'e ve Araş. Gör. Nurcan Bektaş'a

Bana laboratuvar kapısını açık tutan, değerli Dekan Yardımcısı ve Toksikoloji Anabilim Dalı başkanı Yrd. Doç. Dr. Bülent Ergun'a

Öğr. Gör. Ahmet Saraçoğlu'na, Bio. Emel Çınar'a ve meslektaşlarım Dr. Nebil Kadioğlu'ya, Dr. Kadir Öztürk'e ve Dr. Nurullah Çapgulaş'a

Yaşamıma renk katan, eğitimimi tamamlamak için zorluklara katlanan ve hayatın her alanında yanımda duran sevgili eşim Laborant Aynur Çakmakçı'ya

Gözleri pırıl pırıl parlayan, sıkıntılarımı farkına varmadan katlanan ve beni hayata bağlayan biricik kızım Ceren Çakmakçı'ya

Beni her zaman iyi yerlerde görmek isteyen sevgili babam Fuat Çakmakçı'ya, sevgili anneme ve kardeşlerime

En içten ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

**ELEKTRİKSEL ALAN STİMÜLASYONU ile OLUŞTURULAN İZOLE
SIÇAN İLEUM, MESANE, VAS DEFERENS ve SOL ATRİUM
KASILMALARI ÜZERİNDE 1,4-SİNEOL, 1,8-SİNEOL ve
KARVAKROL'ÜN ETKİLERİ**

ÖZET

1,4-Sineol, 1,8-sineol ile karvakrol halk arasında kullanılan, çeşitli doğal karışımların içinde bulunan ve aynı zamanda sentez ile elde edilen monoterpenlerdir. Bu maddelerin çeşitli dokularda etkili oldukları gösterilmiş fakat elektriksel alan stimülasyonu ile herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda 1,4-sineol, 1,8-sineol ile karvakrol'ün elektriksel alan stimülasyonu ile uyarılan izole sıçan ileum, mesane, epididymal vas deferens, prostatik vas deferens ve sol atrium üzerindeki farmakolojik etkileri incelenmiştir. Testlerde nalokson ve NoARG kullanılarak, opioidergik ve nitrergik sistemlerle olası etkileşimleri araştırılmıştır.

Karvakrol (10^{-7} - 10^{-4} M) ileum ve mesanede daha fazla olmak üzere tüm organlarda inhibisyona neden olmuştur. Nalokson varlığında karvakrol'ün ileum üzerindeki inhibitör etkisinin artmış olması, karvakrol'ün etki mekanizmasında nalokson ile etkileşen mekanizmaların varlığını göstermiştir.

1,8-Sineol (10^{-6} - 10^{-3} M) tek bir dozda (10^{-3} M) ve sadece ileumu inhibe etmiştir. 1,8-Sineol'ün ileumdaki etkisinin nalokson varlığında artması ve 5×10^{-4} M dozunda inhibisyon olması, nalokson tarafından kullanılan yollar ile etkileştiğini düşündürmüştür. N-nitro-L-arjinin varlığında 1,8-sineol'ün sol atriumda inhibisyona yol açması, etki mekanizmasında nitrergik yolağın rol oynadığını göstermiştir.

1,4-Sineol'ün (10^{-6} - 10^{-3} M) ileum, mesane ve erkek sol atrium üzerinde inhibisyona neden olmuştur. Epididymal vas deferens ve dişi sol atrium dokularında tek başına anlamlı etki göstermemiş, nalokson varlığında ise inhibisyona neden olmuştur. Karvakrol ve 1,8-sineol gibi, 1,4-sineol de nalokson ile etkileştiği gözlenmiştir.

Test maddelerinden en fazla karvakrol'ün etkili olduğu, 1,8-sineol'ün ise en düşük etkili olduğu bulunmuştur. 1,4-Sineol etki derecesi bakımından iki madde arasında bulunmaktadır. Organlar arasında, test edilen maddelere en fazla duyarlılık ileumda, en düşük duyarlılık prostatik vas deferensde bulunmuştur.

Dolayısıyla bu tür maddelerin test edilmesinde prostatik vas deferensin kullanılmaması gerektiği sonucuna varılmıştır. Yapısal özellikler dikkate alındığında izopropil grubunun farmakofor özelliği taşıdığı anlaşılmıştır. Hidroksil grubunun varlığı farmakolojik etkide artışa neden olduğu, molekül yapısının planar özelliğinin kaybolması ise farmakolojik etkide önemli bir azalmaya neden olmaktadır. Bu test maddelerinin moleküler yapıları ile farmakolojik etki arasındaki ilişkileri ilk kez bu çalışmada gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Elektriksel alan stimülasyonu, karvakrol, 1,8-sineol, 1,4-sineol, nalokson

**THE EFFECT of 1,4-CINEOLE, 1,8-CINEOLE and CARVACROL on
ELECTRICALLY EVOKED ISOLATED RAT ILEUM, URINARY
BLADDER, VAS DEFERENS and LEFT ATRIUM**

ABSTRACT

Carvacrol, 1,8-cineole and 1,4-cineole are chemicals obtained by synthesis and also they are constituents of extracts used in folk medicine.

In our study, pharmacological effects of 1,4-cineole, 1,8-cineole and carvacrol on isolated rat ileum, urinary bladder, epididymal and prostatic vas deferens and left atrium preparations evoked by electric field stimulation (EFS) were investigated. Naloxone and NoARG were used for any interactions of test compounds with opioidergic and nitrergic systems.

Carvacrol (10^{-7} - 10^{-4} M) was observed to inhibit contractions of all preparations, being most effective on ileum and bladder. The augmentation of inhibition of carvacrol by naloxone suggested the involvement of opioidergic system on the observed mechanism of action of carvacrol.

1,8-Cineole (10^{-6} - 10^{-3} M) decreased the EFS-induced contractions of ileum only at 10^{-3} M. An increase of the inhibitory effect of 1,8-cineole in the presence of naloxone on ileum at 5×10^{-4} M and the observation of inhibition in the presence of NoARG on left atria indicated the involvement of nitrergic systems on the observed mechanism of action of 1,8-cineole.

1,4-Cineole (10^{-6} - 10^{-3} M) was observed to inhibit EFS-induced contractions of ileum, urinary bladder and left atria. 1,4-Cineole inhibited contractions of epididymal part of vas deferens and left atria only in the presence of naloxone suggesting the involvement of naloxone related mechanisms on the observed mechanism of action.

Most powerful inhibitory effects were observed by carvacrol and less effects by 1,8-cineole whereas 1,4-cineole was in between two of them. Most sensitive organs to the test compounds was ileum and the most insensitive was prostatic part of vas deferens which suggested that prostatic vas deferens is not a suitable test organ for these compounds. Due to structural properties of the test compounds, isopropyl group was considered as a pharmacophore. Presence of hydroxyl group augmented the observed inhibitory actions whereas loss of planarity diminished the contractile effect. In addition to the observed results of this relationship between molecular structure and pharmacological properties is reported for the first time in our study.

Keywords: Electrical field stimulation, carvacrol, 1,8-cineole, 1,4-cineole, opioid

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZGEÇMİŞ	I
ÖNSÖZ	II
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
İÇİNDEKİLER	V
ÇİZELGELER DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	XII
GİRİŞ VE AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	2
Karvakrol ile İlgili Genel Bilgiler	2
1,8-Sineol ile İlgili Genel Bilgiler	5
1,4-Sineol ile İlgili Genel Bilgiler	10
Membran Potansiyeli	12
Aksiyon Potansiyeli	12
Aksiyon potansiyelinin birbirini izleyen dönemleri	12
Aksiyon potansiyeli sırasında rol oynayan voltaja bağlı kanallar	13
Aksiyon potansiyeli üzerinde diğer iyonların rolü	13
Kalsiyum İyonları	13
Hücre İçine Kalsiyum Akışı	14
Plazma membranında bulunan kalsiyum kanalları	14
Hücre içi organellerde bulunan kalsiyum kanalları	14
Hücre İçinden Kalsiyumun Uzaklaştırması	15
Plazma membranından Na^+ / Ca^{++} değiş tokuşu	15
Plazma membranı Ca^{++} ATPaz (PMCA) pompası	15
Sarkoendoplazmik retikulum Ca^{++} ATPaz pompası (SERCA)	15
Mitokondrial kalsiyum transportu	16
Kalsiyum bağlayan proteinler	16
Kaslar ile İlgili Genel Bilgiler	16
İskelet kası	16
Kasılabilir Filamentlerin Moleküler Özellikleri	17

Miyozin filamenti	17
Aktin filamenti	18
Transvers tubül - sarkoplazmik retikulum sistemi	18
Kalsiyum iyonlarının uyarıcı “nabızı”	19
Kasılmanın Moleküler Temeli	19
Gevşeme	19
Düz Kaslar	20
Üniter (visseral) düz kaslar	20
Çok birimli düz kaslar	20
Düz kas kasılmasının fiziksel temelleri ve kontrolü	21
Düz kas kasılmaları ile iskelet kası kasılmaların karşılaştırılması	21
Düz kaslarda plastisite	22
Düz kaslarda sinirsel uyarı	22
Düz kaslarda hormonların ve lokal doku faktörlerin etkisi	23
Lokal doku faktörlerin düz kas kasılmasına etkisi	23
Hormonların düz kas kasılmasına etkisi	23
Kalp Kası	23
Kalp kasının innervasyonu	24
Kalp kasında aksiyon potansiyeli	24
Kalp kasında eksitasyon-kasılma kenedi	24
Kalp kasında aksiyon potansiyelin evreleri	24
Sinyal Transdüksiyonu	25
Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Kasılma Yanıtların Oluşması	26
GEREÇLER	29
Deney hayvanları	29
Kullanılan kimyasal maddeler	29
Kullanılan cihaz ve malzemeler	29
YÖNTEMLER	30
İzole Organ Banyosu Deneyleri	30
Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan İleum Deneyleri	31
Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Mesane Deneyleri	31
Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Epididymal Vas deferens Deneyleri	32

Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Prostatik Vas deferens Deneyleri	33
Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atrium Deneyleri	33
İstatistiksel Hesaplamalar ve Verilerin Analizi	35
BULGULAR ve TARTIŞMA	36
Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan İleum Deneylerin Sonuçları	36
Karvakrol'ün izole sıçan ileum kasılmalarına etkisi	36
1,8-Sineol'ün izole sıçan ileum kasılmalarına etkisi	36
1,4-Sineol'ün izole sıçan ileum kasılmalarına etkisi	37
Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Mesane Deneylerin Sonuçları	42
Karvakrol'ün izole sıçan mesane kasılmalarına etkisi	42
1,8-Sineol'ün izole sıçan mesane kasılmalarına etkisi	42
1,4-Sineol'ün izole sıçan mesane kasılmalarına etkisi	42
Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Epididymal Vas deferens Deneylerin Sonuçları	47
Karvakrol'ün izole sıçan epididymal vas deferens kasılmalarına etkisi	47
1,8-Sineol'ün izole sıçan epididymal vas deferens kasılmalarına etkisi	47
1,4-Sineol'ün izole sıçan epididymal vas deferens kasılmalarına etkisi	47
Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Prostatik Vas deferens Deneylerin Sonuçları	52
Karvakrol'ün izole sıçan prostatik vas deferens kasılmalarına etkisi	52
1,8-Sineol'ün izole sıçan prostatik vas deferens kasılmalarına etkisi	52
1,4-Sineol'ün izole sıçan prostatik vas deferens kasılmalarına etkisi	52
Nalokson Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atrium Deneylerin Sonuçları	57
Nalokson varlığında karvakrol'ün izole sıçan sol atrium kasılmalarına etkisi	57
Nalokson varlığında 1,8-sineol'ün izole sıçan sol atrium kasılmalarına etkisi	57
Nalokson varlığında 1,4-sineol'ün izole sıçan sol atrium kasılmalarına etkisi	57

N-Nitro-L-arjinin Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atrium DeneYlerin Sonuçları	62
N-nitro-L-arjinin varlığında karvakrol'ün izole sıçan sol atrium kasılmalarına etkisi	62
N-nitro-L-arjinin varlığında 1,8-sineol'ün izole sıçan sol atrium kasılmalarına etkisi	62
N-nitro-L-arjinin varlığında 1,4-sineol'ün izole sıçan sol atrium kasılmalarına etkisi	62
SONUÇ ve ÖNERİLER	76
KAYNAKLAR	77
EKLER	103

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI	SAYFA
Çizelge 1 Karvakrol'ün Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Organları Üzerindeki Etkileri	66
Çizelge 2 1,8-Sineol'ün Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Organları Üzerindeki Etkileri	67
Çizelge 3 1,4-Sineol'ün Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Organları Üzerindeki Etkileri	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA	
Şekil 1	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan İleumu Üzerinde Karvakrol'ün Etkisi	38
Şekil 2	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan İleumu Üzerinde 1,8-Sineol'ün Etkisi	39
Şekil 3	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan İleumu Üzerinde 1,4-Sineol'ün Etkisi	40
Şekil 4	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan İleumuna Ait Örnek Traseler	41
Şekil 5	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Mesanesi Üzerinde Karvakrol'ün Etkisi	43
Şekil 6	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Mesanesi Üzerinde 1,8-Sineol'ün Etkisi	44
Şekil 7	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Mesanesi Üzerinde 1,4-Sineol'ün Etkisi	45
Şekil 8	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Mesanesine Ait Örnek Traseler	46
Şekil 9	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Epididymal Vas deferensi Üzerinde Karvakrol'ün Etkisi	48
Şekil 10	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Epididymal Vas deferensi Üzerinde 1,8-Sineol'ün Etkisi	49
Şekil 11	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Epididymal Vas deferensi Üzerinde 1,4-Sineol'ün Etkisi	50
Şekil 12	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Epididymal Vas deferensine Ait Örnek Traseler	51
Şekil 13	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Prostatik Vas deferensi Üzerinde Karvakrol'ün Etkisi	53
Şekil 14	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Prostatik Vas deferensi Üzerinde 1,8-Sineol'ün Etkisi	54
Şekil 15	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Prostatik Vas deferensi Üzerinde 1,4-Sineol'ün Etkisi	55
Şekil 16	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Prostatik Vas deferensine Ait Örnek Traseler	56
Şekil 17	Nalokson Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumu Üzerinde Karvakrol'ün Etkisi	58

Şekil 18	Nalokson Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumu Üzerinde 1,8-Sineol'ün Etkisi	59
Şekil 19	Nalokson Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumu Üzerinde 1,4-Sineol'ün Etkisi	60
Şekil 20	Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumuna Ait Örnek Traseler	61
Şekil 21	N-nitro-L-arjinin Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumu Üzerinde Karvakrol'ün Etkisi	63
Şekil 22	N-nitro-L-arjinin Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumu Üzerinde 1,8-Sineol'ün Etkisi	64
Şekil 23	N-nitro-L-arjinin Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumu Üzerinde 1,4-Sineol'ün Etkisi	65
Şekil 24	Karvakrol, 1,8-Sineol ve 1,4-Sineol'ün Moleküler Şekilleri	75

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

ACh	: Asetil kolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
ADP	: Adenozin difosfat
AMP	: Adenozin monofosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
AZT	: 3'-azido-3'-deoksitimidin
CaCl ₂ · 2H ₂ O	: Kalsiyum klorür dihidrat
CGRP	: Kalsitonin geni ile ilişkili peptid
C ₆ H ₁₂ O ₆ ·H ₂ O	: Glukoz monohidrat
CYP	: Sitokrom P450 enzim ailesi
DAG	: Diaçilgliserol
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EAS	: Elektriksel alan stimülasyonu
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
ER	: Endoplazmik retikulum
GABA	: Gama-aminobütirik asit
GDP	: Guanozin difosfat
G-protein	: GTP bağlayan düzenleyici protein
GTP	: Guanozin trifosfat
5-HT ₃	: 5-hidroksitriptamin-3
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
IP ₃	: İnositol 1,4,5-trifosfat
IP ₃ R	: İnositol 1,4,5-trifosfat reseptörü
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
i.p.	: İntraperitoneal (periton zarı içine)
i.v.	: İntravenöz (damar içine)
KCl	: Potasyum klorür
KH ₂ PO ₄	: Potasyum dihidrojen fosfat
L-NAME	: <i>N</i> _(omega) -nitro- <i>L</i> -arjinin metil ester
LTB ₄	: Lökotrien B ₄

MgCl ₂	: Magnezyum klorür
NA	: Noradrenalin
NAADP	: Nikotinik asit adenin dinükleotid fosfat
NaCl	: Sodyum klorür
NaHCO ₃	: Sodyum hidrojen karbonat
NANK	: Non-adrenerjik non-kolinerjik
NO	: Nitrik oksid
NoARG	: N ^G -Nitro-L-Arjinin
NOS	: Nitrik oksid sentaz
nNOS	: Nöronal Nitrik oksid sentaz
PKA	: Protein kinaz A
PKC	: Protein kinaz C
PKG	: Protein kinaz G
PMCA	: Plazma membranı Ca ⁺⁺ ATPaz
RyR	: Riyanodin reseptör
SA	: Sinoatrial
sADPR	: Siklik adenzin difosfat riboz
sAMP	: Siklik 3',5'-adenozin monofosfat
s.c.	: Subkutan (cilt altı)
SERCA	: Sarko / endoplazmik Ca ⁺⁺ ATPaz
sGMP	: Siklik 3',5'-guanozin monofosfat
SMS	: Somatostatin
SO ₂	: Sülfür dioksid
SR	: Sarkoplazmik retikulum
T-tübül	: Transvers tubül
TRP	: Geçici reseptör potansiyeli
VİP	: Vazoaktif intestinal peptit

GİRİŞ ve AMAÇ

Terpenler, hidrokarbonların geniş ve çeşitli bir sınıfıdır. Genellikle bitkilerde bulunurlar ve küçük moleküllü olan terpenler bitkilerin yaprak, çiçek ve meyvelerinde özel kokularını veren maddelerdir. Yapısında oksijen içeren monoterpenler kokuları nedeniyle genellikle parfüm endüstrisinde kullanılmaktadır. Karvakrol ve sineol halkasal yapıda olan ve oksijen taşıyan monoterpenlerdendir ve çeşitli bitkilerde yüksek oranda bulunurlar. Bu maddeler aynı zamanda sentez ile elde edilen maddelerdir.

Bitkiler, kuşaklar boyunca insanlar tarafından gıda olarak ve çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmıştır (Lai ve Roy, 2004). Özellikle yüksek miktarda oksijenli monoterpenlerden zengin bitkisel uçucu yağlar, güzel koku ve çeşni özellikleri nedeniyle kozmetik, parfümeri, ilaç ve gıda sanayide geniş kullanım alanına sahiptir (Kotan ve ark., 2007). Nitekim son yıllarda, güvenli, kaliteli ve hoş kokulu bitkilerin kullanımı önem kazanmıştır (Radusiene ve Janulis, 2004).

Karvakrol kekik ve benzeri yağlarda (Ultee ve ark., 1999; Bimczok ve ark., 2008), sineol okalıptus ve benzeri yağlarda (Boyle ve McLean, 2004) bulunur. Bu maddeler antibakteriyal etkileri nedeniyle hekimlikte kullanılır. Özellikle 1,8-sineol birçok gargara ve öksürük kesici ilacın etken maddesini oluşturmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda; kekik, adaçayı ve benzeri bitkilerde ana bileşikler olan karvakrol'ün ve sineol'ün in vivo ve in vitro çeşitli farmakolojik etkileri gösterilmiştir (Mühlbauer ve ark., 2003; Putnam ve ark., 2007; Melo ve ark., 2009).

Kardiyovasküler sistemin yaşamsal önemi ve diğer düz kasların fizyolojik fonksiyonları göz önünde bulundurularak çalışmamızda, bu test maddelerin elektriksel alan stimülasyonu (EAS) varlığında, ileum, mesane, vas deferens ve sol atrium üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Zira karvakrol, 1,8-sineol ve 1,4-sineol'ün elektriksel olarak indüklenmiş bu doku örnekleri üzerinde yapılmış herhangi bir çalışma literatürde yer almamaktadır.

KAYNAK BİLGİSİ

Karvakrol ile İlgili Genel Bilgiler

Karvakrol kimyasal formülü $C_{10}H_{14}O$, molekül ağırlığı 150.22, timol kokusunda, sıvı kıvamında, dansitesi 0.9751, kaynama noktası 237° - $238^{\circ}C$ olan fenolik bir monoterpendir. CAS numarası 499-75-2 olan karvakrol'e; '2-metil-5-(1-metiletil)-fenol', '2-p-simenol', '2-hidroksi-p-simen', isopropil-o-krezol' ve 'isotimol' gibi isimler verilmiştir (O'Neil ve ark., 2006).

Origanum (Karioti ve ark., 2005; Kokkini ve Vokou, 2006), *Satureja* (Eminagaoglu ve ark., 2007), *Thymus* (Santos ve ark., 2005; Bounatirou ve ark., 2007), *Thymbra* (Faleiro ve ark., 2005), *Plectranthus* (Marwah ve ark., 2007), *Lippia* (Silva ve ark., 2007), *Arnica* (Tabanca ve ark., 2007) ve *Lavandula* (Palá-Paúl ve ark., 2004) gibi bitkilerin uçucu yağları, %95'e varan farklı miktarlarda karvakol içerir.

Origanum bitkisinin karvakrol içeriği mevsimsel, populasyon ve genetik özelliklerine bağlı olarak değişmektedir (Johnson ve ark., 2004). *Thymus* bitkisinden yüksek miktarda karvakrol elde etmek için bitkileri yaşam siklusları sona ermeden önceki dönemde (mayıs ve haziran) toplamak gerekir (Hudaib ve ark., 2002). Bazı bitkiler yetiştikleri bölgelere göre karvakrol içerikleri değişebilir. Ovalarda yaşayan *Coridothymus capitatus* ve *Satureja thymbra* bitkilerin karvakrol'den zengin oldukları gösterilmiştir (Karousou ve ark., 2005). *Satureja* bitkileri özellikle tam çiçeklenme döneminde yüksek miktarda karvakrol içerir (Sefidkon ve ark., 2007).

Karvakrol'ün antimikrobiyal (Santoyo ve ark., 2006; Burt ve ark., 2007; Botelho ve ark., 2007) etkisinin oluşmasında molekülün hidrofobik özelliği ve taşıdığı serbest hidroksil gurubu rol oynadığı gösterilmiştir (Ben Arfa ve ark., 2006). Karvakrol bakterisidal dozda bakteri plazma membranını tahrip etmiştir (Gill ve Holley, 2006a; Cox ve Markham, 2007). Bu etkisini bakteri membranına bağlı ATPaz aktiviteyi inhibe ederek (Gill ve Holley, 2006b) ve H^{+} ve K^{+} iyonlarına karşı membran geçirgenliğini artırarak yaptığı gösterilmiştir (Ultee ve ark., 1999; Fitzgerald ve ark., 2004). Karvakrol'ün standart antibiyotiklere rezistans bazı bakterilere karşı da etkili olduğu gösterilmiştir (Nostro ve ark., 2004; Friedman ve ark., 2004; Kristinsson ve ark., 2005).

Karvakrol'ün antifungal etkisi, antibakteriyal (Dadaloğlu ve Evrendilek 2004; Solomakos ve ark., 2008) etkisine oranla daha güçlü olduğu ve nozokomiyal infeksiyonlara karşı kullanılabileceği bildirilmiştir (Bendahou ve ark., 2008). Karvakrol antifungal etkisini, sitoplazma membranında lezyonlar oluşturarak (Chami ve ark., 2005) ve hücre membranındaki ergosterol sentezini azaltarak (Pinto ve ark., 2006) gösterdiği ileri sürülmüştür.

Karvakrol'ün geniş antimikrobiyal özelliği yanısıra, insektisidal ve larvisidal etkileri de gösterilmiştir (Panella ve ark., 2005; Cetin ve Yanikoglu, 2006; Cetin ve ark., 2007; Knio ve ark., 2008). Kozmetik alanda % 0.5 konsantrasyonunda kullanıldığı takdirde güvenli olacağı rapor edilmiştir (Andersen, 2006).

Karvakrol'ün antiviral etkiye sahip olmadığı ileri sürülmüştür (Sökmen ve ark., 2004). Antiseptik (Lacoste ve ark., 1996), antiprotozoal (Grabensteiner ve ark., 2007) ve akarisidal (Jeong ve ark., 2008) etkileri gösterilen karvakrol'ün havaya

yayıldıktan sonra havada üreyen mikroorganizmalara karşı da antibakteriyal etki gösterebilmesi dolayısıyla evde ve hastanelerde kullanılabileceği bildirilmiştir (Sato ve ark., 2006). Ayrıca bazı bakteri sporlarının gelişimini inhibe ettiği (Juneja ve Friedman, 2007) ve bu özelliği EDTA, asetik asit veya sitrik asit ile kombine edildiğinde güçlendiği gösterilmiştir (Zhou ve ark., 2007). Karvakrol'un bu nedenlerden dolayı yıkama suyu için dezenfektan olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür (Bagamboula ve ark., 2001).

Karvakrol'un, 3'-azido-3'-deoksitimidin'in (AZT) transdermal geçişini arttırdığı gösterilmiştir (Kararli ve ark., 1995). Ayrıca karvakrol'un %5 oranında propilen glikol içinde (Vaddi ve ark., 2002a) veya %50 oranında etanol içinde (Vaddi ve ark., 2002b) kullanıldığında transdermal yolla terapötik değere ulaşamayan haloperidol'un deri permeabilitesini arttırdığı gösterilmiştir. Ancak karvakrol'un, lipofilik olan etodolak'ın transdermal emilimini etkilemediği bildirilmiştir (Tas ve ark., 2007).

Yapılan bir çalışmaya göre karvakrol hafif mutajenik etkiye sahiptir (De Vincenzi ve ark., 2004). Ancak birçok çalışmada karvakrol'un mutajenik olmadığı aksine antimutajenik etkili olduğu gösterilmiştir (Ipek ve ark., 2005; Mezzoug ve ark., 2007). Karvakrol; İnsan lösemi K562 hücre kültürü deneylerinde hidrojen peroksitle (H_2O_2) oluşturulan deoksiribonükleik asit (DNA) hasarını azalttığı (Horvathova ve ark., 2007) ve insan eritrolökemik K562 hücre kültüründe ise antiproliferatif etkili olduğu bildirilmiştir (Lampronti ve ark., 2006). Yine insan hücre kültüründe karvakrol H_2O_2 'e karşı antioksidan etki göstererek karaciğer ve kolon hücre DNA'sını koruduğu saptanmıştır (Horváthová ve ark., 2006; Slamenová ve ark., 2007).

Deneysel olarak leiomyosarkoma oluşturulan sıçanlarda karvakrol antikarsinojenik ve antiproliferatif etki göstermiştir (Karkabounas ve ark., 2006). Yüksek miktarda karvakrol içeren uçucu yağların, kemoterapiye dayanıklı tümör hücreleri üzerinde öldürücü etkiye sahip olduğu ve tümöre bağlı mortaliteyi azalttığı ileri sürülmüştür (Ait M'Barek ve ark., 2007). Karvakrol'un sıçanlarda oluşturulan *in vivo* akciğer tümörüne karşı etkili olduğu (Zeytinoglu ve ark., 1998) ve N-ras onkogeni tarafından mutasyona maruz bırakılan myoblastik hücrelerin çoğalmasını inhibe ettiği ve dolayısıyla kanser için bir tedavi olabileceği bildirilmiştir (Zeytinoglu ve ark., 2003).

Karvakrol'un 0.05 mM dozunda insan lenfositlerini genotoksik ajanlardan koruduğu ancak 0.1 mM gibi yüksek dozlarda kendisinin genotoksik etki yaptığı bildirilmiştir (Aydin ve ark., 2005b; Azirak ve Rencuzogullari, 2008; Vicuña ve ark., 2009). Karvakrol 0.1 mM altındaki dozlarda insan lenfosit hücre DNA'sını H_2O_2 'in oksidatif hasarına karşı koruduğu ileri sürülmüştür (Aydin ve ark., 2005a).

Karvakrol içeren uçucu yağların antioksidan özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir (Lee ve Shibamoto, 2002; Hazzit ve ark., 2006; Karioti ve ark., 2006). Yaklaşık %78.6 gibi yüksek miktarda karvakrol içeren uçucu yağların, düşük oranda karvakrol içeren uçucu yağlara oranla daha güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu ileri sürülmüştür (Faleiro ve ark., 2005). Karvakrol, insan düşük dansiteli lipoproteinlere karşı antioksidan etki göstererek (Kulisić ve ark., 2007,

ve Waterhouse, 2000) toksik ürünlerden 3-nitrotirozin ile malondialdehid oluşumunu inhibe etmiştir (Prieto ve ark., 2007).

Karvakrol'un, parsial hepatektomi yapılan sıçanlarda karaciğeri koruduğu ve hepatosit rejenerasyon oranını arttırdığı bildirilmiştir (Uyanoglu ve ark., 2007; Canbek ve ark., 2008; Aristatile ve ark., 2009). Bir hafta boyunca, oral yoldan, günde tek doz 200 mg/kg karvakrol verilen farelerde, karaciğer faz-I ve faz-II enzimlerinin (glutation s-transferaz ile kuinon redüktaz) aktivitelerinde anlamlı bir artış olduğu saptanmış (Sasaki ve ark., 2005) ve hepatotoksik etkileri gösterilmiştir (Monzote ve ark., 2009).

Yapılan çalışmalara göre karvakrol doza bağlı olarak hücre içi kalsiyum mobilizasyonunu ve mitojen aktive edici protein kinazı tetiklemek suretiyle immun yanıtı neden olan hücrelerin fonksiyonlarını düzenlediği gösterilmiştir (Chan ve ark., 2005; Wieten ve ark., 2010). Yine karvakrol içeren bitkisel ekstrelerle beslenen süttan kesilmiş domuzların barsağında lamina propria tabakasındaki lenfosit sayısında (Manzanilla ve ark., 2006) ve kandaki monosit sayısında (Nofrarias ve ark., 2006) artış olduğu bildirilmiştir.

Karvakrol sentezi yapılabilen bir maddedir (Yadav ve Kamble, 2009). Ayrıca α - ve β -thujone, insan ve bakteri sitokrom P450 (CYP) enzimi tarafından karvakrol ve diğer metabolitlere dönüştüğü gösterilmiştir (Jiang ve ark., 2006). Karvakrol alındıktan 24 saat sonra değişmeden veya glukronid ya da sülfat konjugasyonuna uğrayarak idrarla itrah edildiği gösterilmiştir (De Vincenzi ve ark., 2004).

Yüksek miktarda karvakrol içeren uçucu yağların insan nötrofil elastaz aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Dolayısıyla amfizem ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı sırasında ortaya çıkan bazı hasarların tedavisi için doğal antielastaz bileşikler olarak kullanılmaları umut vaat etmektedir (Kacem ve Meraihi, 2006).

Karvakrol'un trombosit agregasyonunu inhibe ettiğini ve dolayısı ile trombüslere karşı ilaç olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür (Enomoto ve ark., 2001). Ayrıca karvakrol'un tromboksan A₂ oluşumunu ve trombosit reseptörlerin (GPIIb/IIIa) ekspresyonunu azalttığı ileri sürülmüştür (Karkabounas ve ark., 2006).

İn vitro bir çalışmada karvakrol'un antiinflamatuvar etki göstermediği ileri sürülmüştür (Demirci ve ark., 2004). Ancak karvakrol içeren uçucu yağların antiinflamatuvar ve antispazmotik etkilerinin karvakrol'den kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Bukovská ve ark., 2007). Nitekim karvakrol'un siklooksijenaz-2 enzimini ve dolayısıyla prostaglandin sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir (Wagner ve ark., 1986; Landa ve ark., 2009; Hotta ve ark., 2010).

İn vitro bir çalışmaya göre karvakrol'un asetilkolinesteraz (AChE) enzimini inhihe ettiği ve bu etkisinin timolden on kat daha güçlü olduğu tespit edilmiştir. Bu da karvakrol'un alzheimer hastalığı için bir umut olabileceğini düşündürmektedir (Jukic ve ark., 2007; Orhan ve ark., 2008b).

Burun ve ağız epitel hücreleri ile sinir hücrelerinde bulunan ısıya duyarlı iyon kanalı olan geçici reseptör potansiyeli V3 (TRPV3) karvakrol içeren bitkisel türevlerin hedef molekülleri oldukları ve karvakrol tarafından aktive edildikleri gösterilmiştir (Xu ve ark., 2006; Vogt-Eisele ve ark., 2007).

İzole iskelet kası çalışmalarında karvakrol'ün, ryanodin reseptör (RyR) tip-1'i aktive ederken sarkoendoplazmik Ca^{++} ATPaz (SERCA) pompasını inhibe ettiği gösterilmiştir (Sárközi ve ark., 2007).

Yüksek miktarda karvakrol içeren *Origanum onites* bitki ekstresi (0.1, 0.2 ve 0.4 ml dozlarında) izole sıçan duodenum ve ileumda asetilkolin (ACh) kasılmalarını doza bağlı olarak inhibe etmiştir. Ancak ekstrenin ACh'e bağlı izole fundus kasılmalarını inhibe etmediği bildirilmiştir (Aydın ve Seker, 2005c).

İnsan ve köpek kalp ventrikul hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada karvakrol doza bağlı olarak +5 mV değerinde L-tipi Ca^{+2} akımını inhibe etmiş ve bu etkisi kısmen de olsa hidrofobik benzen halkası ile ilişkilendirilmiştir. Aynı çalışmada karvakrol, 2 Hz değerinde, hücrelerin hızında da belirgin bir blok yapmış ve bu etkisi kanalın inaktivasyon bölgesinin etkilenmesi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Magyar ve ark., 2004).

Sıçanlara intraperitoneal (i.p.) yolla 100 µg/kg dozunda karvakrol verilmesi; kalp hızını, ortalama arteriyal kan basıncını, sistolik kan basıncını ve diastolik kan basıncını düşürmüştür. Yine aynı çalışmada karvakrol'ün hipotansif olduğu ve $N_{(\omega)}$ -nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME)'nin hipertansif etkisini inhibe ettiği gösterilmiştir (Aydın ve ark., 2007). Karvakrol'ün damar gevşetici etkisi sıçanlar üzerinde yapılan yeni çalışmalarda da gösterilmiştir (Early ve ark., 2010).

Trakea kasları üzerine yapılan in vitro bir çalışmada karvakrol içeren uçucu yağların bronkodilatator etkilerinin karvakrol'e bağlı olduğu (Begrow ve ark., 2009) ve bunun antikolinergik veya β-adrenerjik stimülasyon ile ilişkili olmadığı ileri sürülmüştür (Boskabady ve ark., 2003b). Diğer bir çalışmada karvakrol'ün trakea preparatları üzerindeki güçlü gevşetici etkisinin beta 2-adrenerjik stimülasyon, histamin H1 ve muskarinik blokajla ilgili olmadığını bildirilmiştir (Boskabady ve Jandaghi, 2003a).

İzole sıçan mide fundusu ile yapılan bir çalışmada, karvakrol'ün 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozlarından sadece 10^{-4} M dozunda 32 ve 64 mM KCl ile oluşturulan kasılmaları inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca izole ileum preparatlarında karvakrol 10^{-4} M dozunda ACh ve KCl kasılmalarını inhibe ettiği gösterilmiştir (Duman, 2005).

Başka bir çalışmada karvakrol'ün 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozlarından sadece 10^{-4} M dozunda izole mide fundus $CaCl_2$ kasılmalarını ve izole ileum $CaCl_2$ kasılmalarını inhibe etmiştir. Ancak karvakrol izole aorta $CaCl_2$ kasılmalarına karşı etki gösterememiştir (Arı, 2005).

1,8-Sineol ile İlgili Genel Bilgiler

CAS numarası 470-82-6, molekül formülü $C_{10}H_{18}O$, molekül ağırlığı 154.25, erime noktası 1.5°C, kaynama noktası 176-177°C, dansitesi 0.921-0.923, renksiz, sıvı kıvamda, kamfor kokusunda ve 1,8-epoksi-p-mentan, 1,3,3-trimetil-2-oksabisiklo(2,2,2)oktan, eukaliptol veya kajepitol olarak da bilinen 1,8-sineol bazı önemli hastane patojenlerine karşı antiseptik özellik gösteren bir maddedir (Croteau ve ark., 1994; Balacs, 1997; O'Neil ve ark., 2006).

Eucalyptus (Sefidkon ve ark., 2009), *Prostanthera* (Palá-Paúl ve ark., 2006), *Thymus* (Miguel ve ark., 2004), *Myrtus* (Flamini ve ark., 2004), *Tanacetum*

(Rohloff ve ark., 2004) *Salvia* (Kosar ve ark., 2005), *Hyptis* (Sharma ve Tripathi, 2008), *Melaleuca* (Yatagai ve ark., 1998), *Artemisia* (Kalemba ve ark., 2002) ve *Nepeta* (Kaya ve ark., 2007) gibi bitkilerin uçucu yağında %89.8'e varan farklı miktarlarda 1,8-sineol bulunmaktadır. 1,8-Sineol olgunlaşmış kırmızı üzümün meyvesinde bolca bulunmakta ve yapılan deneylerde kırmızı şarapta bulunan limonen ve α -terpineol'den kimyasal dönüşümle oluşabilmektedir (Fariña ve ark., 2005). Yapılan bir araştırmaya göre *Salvia officinalis* bitkisinin içerdiği 1,8-sineol miktarı toplandığı bölgeye göre büyük farklılıklar göstermektedir (Raal ve ark., 2007). Ayrıca bitkilerin işleme alınan bölümlerine (Aidi Wannes ve ark., 2007), yaşlarına (Masotti ve ark., 2003) ve toplandıkları mevsime (Vuuren ve ark., 2007) göre 1,8-sineol miktarları değişmektedir.

Yapılan bir çok çalışmada yüksek miktarda 1,8-sineol içeren uçucu yağların ve 1,8-sineol'ün antimikrobiyal etkisi gösterilmiştir (Santoyo ve ark., 2005; Joy ve ark., 2007; Hendry ve ark., 2009). Bazı araştırmalarda 1,8-sineol'ün zayıf antifungal etkisi olduğu gösterilmiştir (Pattnaik ve ark., 1997; Pitarokili ve ark., 2003). 1,8-Sineol antifungal etkisini sitozolu büzerek ve koagulasyona uğratarak yaptığı morfolojik olarak gösterilmiştir (Matsuoka ve ark., 1990; Hammer ve ark., 2003; Terzi ve ark., 2007). Ayrıca 1,8-sineol içeren uçucu yağların ve 1,8-sineol'ün herpes simpleks virusuna karşı antiviral etkinlik gösterdikleri ileri sürülmüştür (Bourne ve ark., 1999; Farag ve ark., 2004).

1,8-Sineol'ün insektisidal etkiye sahip olduğu (Jang ve ark., 2005; Toloza ve ark., 2006) ve bu amaçla %3 konsantrasyonda kullanıldığında etkili olacağı bildirilmiştir (Traboulsi ve ark., 2005). 1,8-Sineol'ün AChE enzimini inhibe ederek (Mills ve ark., 2004) insanlarda yaşayan bitlere ve onların yumurtalarına karşı insektisidal etki gösterdiği ileri sürülmüştür (Prates ve ark., 1998; Yang ve ark., 2004). Bir araştırmaya göre 1,8-sineol güçlü akarisidal etkiye sahiptir (Macchioni ve ark., 2002). Dolayısıyla 1,8-sineol içeren uçucu yağların (Lee ve ark., 2003) ve 1,8-sineol'ün (Rozman ve ark., 2007) fumigant olarak uygun ve güvenli bileşikler oldukları söylenebilir (Champakaew ve ark. 2007; Kordali ve ark., 2007).

Ana bileşeni 1,8-sineol olan uçucu yağların antioksidan özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir (Wang ve ark., 2008). Ancak bir araştırmada 1,8-sineol'ün tek başına antioksidan etki göstermediği ve bu etkinin uçucu yağlarda bulunan diğer maddelerle oluşan sinerjistik etkiye bağlı olduğu bildirilmiştir (Kordali ve ark., 2005). Fibroblastlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise 1,8-sineol'ün antioksidan etki göstererek linoleik asidi ultraviyole ışınlarına karşı ve nitrojen dioksidi karşı koruduğu gösterilmiştir (Saito ve ark., 2004). Farelerde 1,8-sineol'ün (400 mg/kg, p.o.) D-galaktozamin ve lipopolisakkaridler ile indüklenen akut karaciğer hasarına karşı %100 koruyucu etkinlik gösterdiği rapor edilmiştir (Santos ve ark., 2001b).

1,8-Sineol 2.5, 5 ve 10 μ L/mL konsantrasyonlarda DNA hasarına yol açmadan fare lenfoma hücrelerine karşı (Ribeiro ve ark., 2006) ve fare yumurtalık hücrelerine karşı (Ribeiro ve ark., 2007) güçlü sitotoksik etki gösterdiği ileri sürülmüştür. Yine fare peritoneal makrofaj hücre kültüründe 1,8-sineol'ün, kloroforma benzer sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir (Zaccaro ve ark., 2006). 1,8-Sineol insan lösemi hücrelerinin apoptozisini indüklemiş ancak mide kanser hücrelerine karşı etkisiz bulunmuştur (Moteki ve ark., 2002). 1,8-Sineol içeren

uçucu yağların (adaçayı ve yağı) ultraviyole ışınlarının indüklediği mutasyonlara karşı antimutajenik etkili olduğu ve bu etkinin oluşmasında 1,8-sineol'ün ve diğer bazı bileşiklerin sorumlu olduğu bildirilmiştir (Vuković-Gačić ve ark., 2006). Bakteriler üzerinde yapılan bir çalışmada 1,8-sineol'ün mutajenik olmadığı ileri sürülmüştür (Gomes-Carneiro ve ark., 1998).

1,8-Sineol'ün sitokrom P450 enzimlerini indüklediği gösterilmiştir (Pass ve ark., 1999; Jones ve ark., 2008). 200, 400 veya 800 mg/kg dozunda oral yolla 1,8-sineol verilen sıçanlarda karaciğer CYP 2B1/2 ve CYP 3A1/2 enzimlerinin indüklendiği gösterilmiştir. Bu dozlarda 1,8-sineol'e bağlı hepatotoksikite bulgularına rastlanmamıştır. Ancak enzim indüksiyonu sonucu tioasetamide bağlı hepatotoksik etkiyi arttırmıştır (Kim ve ark., 2004). Oposumlarda 1,8-sineol'ün tolbutamid hidroksilasyonundan sorumlu karaciğer enzimini kompetitif şekilde inhibe ettiği ileri sürülmüştür (Liapis ve ark., 2000). İn vivo bir çalışmada 1,8-sineol'ün sıçanlarda karaciğerde kolesterol sentezini ve S-3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA redüktaz enzimini inhibe ettiği gösterilmiştir (Clegg ve ark., 1980).

Farmakokinetik bir çalışmada 1,8-sineol insanlarda havadan çok hızlı bir şekilde (18 dakikada pik değere ulaşarak) inhale edildiği gösterilmiştir (Jäger ve ark., 1996). İ.v. veya oral yolla 1,8-sineol verilen oposumlarda, 1,8-sineol'ün geniş dağılım hacmine ve hepatik kan akımına yakın derecede yüksek klerense sahip olduğu gösterilmiştir (McClean ve ark., 2007). Sıçanlarla ilgili bir araştırmada 1,8-sineol'ün (500-1000 mg/kg) böbrek proksimal tübül epitel hücrelerde alfa 2 muğlobulin protein birikimine neden olduğu ileri sürülmüştür (Kristiansen ve Madsen, 1995).

İ.v. yolla 1,8-sineol verilen kuzularda, 1,8-sineol'ün hızlı emilimi ve dağılımı doyma hissini başlatılmasından, uzun süreli ekskresyonu da doyma hissini devam ettirilmesinden sorumlu tutulmuştur (Dziba ve ark., 2006). Başka bir çalışmada 1,8-sineol'ün kendisinin doyma hissini başlatılmasından, metaboliti ise kronik etkisinden sorumlu tutulmuştur. 1,8-Sineol'ün bu etkisinin küçük moleküler yapısı ve lipofilik olması dolayısıyla kan-beyin bariyerini geçip santral sinir sistemini deprese etmesinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Boyle ve ark., 2005).

Farelerde 1,8-sineol lokomotor sistemi inhibe ettiği ve pentobarbitalin uyku süresini potansiyelize ettiği gözlenmiştir. Dolayısıyla sineol'ün santral sinir sistemini deprese ettiği öngörülmüştür (Santos ve ark., 2000). Farelere verilen uçucu yağ eksteleri içerisindeki 1,8-sineol miktarının artırılması uyku sürelerini arttırmıştır (Freire ve ark., 2006). 1,8-Sineol yaklaşık 20 dakika gibi uzun süre inhale edildiğinde insan beyininde kan akımını arttırdığı ileri sürülmüştür (Nasel ve ark., 1994).

1,8-Sineol'ün transdermal penetrasyonu arttırdığına dair çok sayıda araştırma mevcuttur (Amnuaikit ve ark., 2005; Kakubari ve ark., 2006; Heard ve ark., 2006; Prasad ve ark., 2007). Özellikle sıçan derisinde 5-flurourasilin penetrasyonunu (Saify ve ark., 2000), domuz kulak derisinde sumatriptan suksinatın penetrasyonunu (Femenía-Font ve ark., 2005) ve ketoprofenin penetrasyonunu doza bağlı olarak (Thomas ve Heard, 2005) arttırdığı gösterilmiştir. İnsan derisi üzerine yapılan bazı çalışmalarda 1,8-sineol, AZT (Narishetty ve Panchagnula,

2005), haloperidol (Almirall ve ark., 1996) ve diğ er bazı ilaçların transdermal permeabilitesini arttırdığı gösterilmiştir. 1,8-Sineol bu etkisini stratum korneum yapısını (Yamane ve ark., 1995) ve membranda bulunan H-bağlarını bozarak gösterdiği ileri sürülmüştür (Jain ve ark., 2002; Anjos ve ark., 2007).

Transdermal uygulanan 1,8-sineol'ün bronşiyal sistem üzerine antiinflamatuvar etki gösterdiği gözlenmiştir (Wienforth ve ark., 2007). 1,8-Sineol içeren uçucu yağların belirgin antiinflamatuvar (Lourens ve ark., 2004; Chao ve ark., 2005) ve analjezik etki gösterdikleri ileri sürülmüş (Aydın ve ark., 1998b) ve bu etkileri saf madde ile yapılan çalışmalarda da kanıtlanmıştır (Santos ve Rao, 2000). 1,8-Sineol insan kan monositlerinde araş idonik asid metabolizmasını (lökotrien-B₄ (LTB₄) ve prostaglandin-E₂) inhibe etmiştir (Juergens ve ark., 1998). İnsan lenfosit ve monositleri ile yapılan in-vitro bir çalışmada 1,8-sineol güçlü şekilde tümör nekroz faktor-alfa ile interlokin-1 beta sentezini inhibe etmiştir. Aynı çalışmada 1,8-sineol kemotaktik sitokinlerin sentezini daha az inhibe etmiştir. Bu da 1,8-sineol'ün sitokinlere bağlı aş ırı mukus sekresyonunun eşlik ettiği sinüzit ve astım gibi hastalıkların tedavisi için bir antiinflamatuvar ajan olabileceğini göstermiştir (Juergens ve ark., 2004; Yuan ve ark., 2006). Başka bir çalışmada 1,8-sineol non-pürülan rinosinüzit olan insanların tedavisinde etkili bulunmuştur (Kehrl ve ark., 2004). Ayrıca önemli miktarda 1,8-sineol içeren uçucu yağların nasal sprelerde kullanılarak alerjik rinit ve diğ er üst solunum yolu hastalıklarına karşı profilaktik ve terapotik etki gösterdikleri gözlenmiştir (Remberg ve ark., 2004). 1,8-Sineol içeren standart fitoterapik ekstrelerin akut bronşitli hastalar için antibiyotiklere alternatif bir seç enek olabilecekleri ileri sürülmüştür (Matthys ve ark., 2000).

1,8-Sineol, 200-400 mg/kg dozlarda sıç an mide-barsak kanalı ülserini ve inflamasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Santos ve ark., 2004). Sıç anlarda 1,8-sineol simetidine benzer şekilde mide asid salgısını azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca etanole karşı mideyi koruyucu etkisi lipoksijenaz inhibisyonu ve antioksidan etkisi ile ilişkilendirilmiştir (Santos ve Rao, 2001a).

1,8-Sineol'ün DNA sentezini ve dolayısıyla kök hücre proliferasyonunu doza bağlı şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (Nishida ve ark., 2005). Mısır köküne uygulanan 1,8-sineol'ün peroksidasyon oluşumunu arttırarak bölünmeyi inhibe ettiği bildirilmiştir (Zunino ve Zygadlo, 2004). Ana bileş iği 1,8-sineol olan birçok bitkinin uçucu yağının herbisidal etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Salamci ve ark., 2007).

Eukaliptus yaprakları ile beslenen koalalar üzerinde yapılan bir çalışmada 1,8-sineol'ün konjugasyona uğ ramadan oksidasyon sureti ile elimine edildiği gösterilmiştir (Boyle ve ark., 2001). 1,8-Sineol insan ve sıç an karaciğ erinde CYP3A enzimi için uygun bir substrat olduğu gösterilmiştir (Miyazawa ve ark., 2001a). Yapılan bir çalışmada 1,8-sineol insan karaciğ er kaynaklı CYP3A4 ve CYP3A5 enzimi tarafından α -hidroksi-1,8-sineol ve 3α -hidroksi-1,8-sineol gibi ürünlere katalize edildiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada oral yolla 1,8-sineol alan gönüllülerin idrarında da bu metabolitlere rastlanmıştır (Duisken ve ark., 2005). Böceklerde ise bu metabolitlerin yanısıra büyük oranda 9-hidroksi-1,8-sineol'e de rastlanmıştır (Southwell ve ark., 2003).

1,8-Sineol injekte edilen sıçanlarda doza bağlı ödem oluşmuş ve bu ödem mast hücre stabilize edici ajanlarla ve antihistaminik veya antiserotonerjik ajanlarla bloke edilmiştir (Santos ve Rao, 1997). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada subkutan (s.c.) yolla 1,8-sineol injeksiyonu kaşıntıya yol açmış ve bu etki histamin veya serotonin reseptör antagonistleriyle azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca bu etkinin opioid antagonistleriyle ve adenosin A1 reseptör antagonistleriyle de büyük ölçüde azaldığı gösterilmiştir (Santos ve Rao, 2002).

1,8-Sineol insan eritrosit AChE enzimini geri dönüşümlü biçimde inhibe ettiği bildirilmiştir (Perry ve ark., 2000). % 44.42 oranında 1,8-sineol içeren *Rosmarinus officinalis*'in uçucu yağı AChE'yi ve butirilkolinesterazı inhibe ettiği gösterilmiştir (Orhan ve ark., 2008a). 1,8-Sineol, uçucu yağlarda bulunan diğer bileşiklerle kombine edilince antikolinesteraz aktivitede sinerjistik veya antagonistik etkileşmeler oluşabileceği ileri sürülmüştür (Savelev ve ark., 2003).

1,8-Sineol kokusunun bir takım sinyal transdüksiyon mekanizmalarıyla kurbağa olfaktor sinirini stimüle ettiği ileri sürülmüştür (Rudenko ve ark., 2007). 1,8-Sineol bu etkisini nöroepitel hücrelerdeki siklik 3',5'-adenozin monofosfat (sAMP) oluşumunu arttırarak yaptığı öngörülmüştür (Karlsson ve ark., 1994). 1,8-Sineol içeren *Alpinia zerumbet* bitkisinin uçucu yağı sıçan siyatik sinir aksiyon potansiyelinin amplitut ve hızını doza bağlı olarak azalttığı bildirilmiştir (Leal-Cardoso ve ark., 2004). Yine elektriksel stimülasyonla aksiyon potansiyeli oluşturulan izole sıçan siyatik sinirinde 1,8-sineol sinir eksitabilitesini doza bağlı ve geri dönüşümlü olarak bloke etmiştir. 1,8-Sineol'ün bu etkisi direkt Na⁺ kanallarının etkilenmesi veya indirekt olarak K⁺ kanallarının yada akson metabolizmasının etkilenmesine bağlı olduğu bildirilmiştir (Lima-Accioly ve ark., 2006).

Ana bileşen olarak 1,8-sineol içeren *Hyptis fruticosa* bitkisinin uçucu yağı, s.c. yolla farelere verilmesinin periferik antinosiseptif etkiye ve düşük akut toksisiteye neden olduğu bildirilmiştir (Menezes ve ark., 2007). Diğer bir çalışmada 1,8-sineol içeren uçucu yağ ekstrelerinin mekanik ağrı uyaranlarına karşı analjezik etki gösterdiği ve bunun mu reseptörü dışında kalan diğer opioid reseptörlerle ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür. Aynı bileşik izole sıçan ileumunda ACh kasılmalarını non-kompetitif olarak inhibe ederken, izole aorta kasılmaları üzerinde ise etkisiz bulunmuştur. Ayrıca analjezik aktivite ile 1,8-sineol miktarı arasındaki korelasyon dikkati çekmiştir (Aydin ve ark., 1999). Sıçan ve farelerle ilgili bir çalışmada 1,8-sineol (hot plate ve tail-flick) aljezik uyaranlara karşı antinosiseptif etki göstermiştir. Bu bağlamda 1,8-sineol, morfin ile anlamlı bir sinerjistik etki göstermiş ancak bu etkisi nalokson tarafından antagonize edilememiştir (Liapi ve ark., 2007).

Anestezi altındaki sıçanlara i.v. yolla 1 veya 3 mg/kg dozunda 1,8-sineol uygulandığında; mide boşalma hızında, arteriyal kan basıncında ve kalp hızında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Santral venöz basıncının etkilenmediği bu çalışmada, 1,8-sineol'ün otonom sistemi üzerinden etki göstermiş olabileceği düşünülmüştür (Neves ve ark., 2007).

Anestezi altındaki sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, 1,8-sineol (0.3-10 mg/kg, i.v., bolus) injeksiyonunun doza bağlı ortalama aortik basıncını düşürdüğü ve sadece yüksek dozda (10 mg/kg) kalp hızını düşürdüğü gösterilmiştir. Bilateral

vagotomi yapıldıktan sonra 1,8-sineol uygulandığında ise hipotansif etki değişmeden bradikardik etkide azalma olmuştur. Uyanık sıçanlarda 1,8-sineol uygulanmadan önce i.v. metilatropin, atenolol veya heksametonyum verilmesi 1,8-sineol'ün hipotansif etkisinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Ancak 1,8-sineol uygulanmadan önce i.v. metil atropinin verilmesi bradikardik yanıtı azaltmıştır. Diğer yandan izole torasik aorta preparatında 1,8-sineol (0.006-2.6 mM), 60 mM KCl kasılmalarını doza bağlı olarak azaltmıştır. Sonuç olarak sıçanlara i.v. yolla 1,8-sineol verilmesi sonucu oluşan hipotansif etkinin, sempatik sistemin elimine edilmesinden ziyade bir vasküler gevşeme sonucu oluşmuş olabileceği düşünülmüştür (Lahlou ve ark., 2002). Sıçanlar üzerine yapılan yeni bir çalışmada 1,8-sineol'ün vazodilatasyon etkisinin endotele bağlı olduğu ileri sürülmüştür (Pinto ve ark., 2009).

Melaleuca quinquenervia bitkisinde bulunan 2-endo-beta-D-glukopiranosiloksi-1,8-sineol'ün ve 2-ekso-beta-D-glukopiranosiloksi-1,8-sineol'ün, sıçan aorta fenilefrin kasılmalarını endotelden bağımsız bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (Lee ve ark., 2002).

Erkek sıçan izole sol ventrikul papiller kası üzerine yapılan bir çalışmaya göre 1,8-sineol (eukaliptol) doza bağlı olarak isometrik kasılmaları deprese ettiği ve bu etkisinin kısmen de olsa kalsiyum kanal blokajına bağlı olduğu gösterilmiştir. 1,8-Sineol bu etkisini sarkoplazmik retikulum'dan (SR) kalsiyum salıverilmesini etkilemekten ziyade, membrana yerleşmiş ve kalsiyum girişini sağlayan voltaja bağlı Ca^{+2} kanalları üzerinden yapmış olabileceği düşünülmüştür (Soares ve ark., 2005).

Trakea kasları ile ilgili bir çalışmada 1,8-sineol, 600-1000 µg/mL dozunda 60 mM KCl kasılmalarını azalttığı gösterilmiştir (Coelho-de-Souza ve ark., 2005). Yeni yapılan çalışmalarda da 1,8-sineol'ün trakea ve solunum kasları üzerindeki gevşetici etkisi gösterilmiş ve bu etkinin spesifik olmayan mekanizmalarla oluşmuş olabileceği ileri sürülmüştür (Bastos ve ark., 2009; Nascimento ve ark., 2009).

1,8-Sineol, sıçan izole ileum ve uterus üzerinde inhibitör etkili olduğu (Aydın ve ark., 1999; Ponce-Monter ve ark., 2008) fakat izole sıçan aorta preparatlarında etkisiz olduğu gösterilmiş ve farmakolojik etki ile 1,8-sineol miktarı arasında korelasyon bulunduğu gösterilmiştir (Aydın ve ark., 1999).

1,8-Sineol, 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozlarında izole sıçan mide fundus ACh ile KCl kasılmalarına karşı ve izole ileum ACh kasılmalarına karşı etkisiz bulunmuştur. İzole sıçan vas deferens dokusunda ise 1,8-sineol, fenilefrin kasılmalarını etkilemezken, 40 mM KCl kasılmalarını sadece 10^{-3} M dozunda anlamlı bir şekilde inhibe etmiştir. Dolayısıyla 1,8-sineol'ün bu etkisinin kolinerjik, muskarinik ile adrenerjik sistemle doğrudan ilişkili olmadığı ve iyon kanalları ve hücre içi iyon mekanizmalarla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Tütüncü, 2003).

1,4-Sineol ile İlgili Genel Bilgiler

CAS numarası 470-67-7, molekül formülü $C_{10}H_{18}O$, molekül ağırlığı 154.25, dansitesi 0.887 ve 1-isopropil-4-metil-7-oksabisiklo[2.2.1]heptan olarak da bilinen

1,4-sineol, homojen veya heterojenik sistemlerde hetropoli asit ($H_3PW_{12}O_{40}$) katalizasyonu ile α -terpinol'den sentez edilmiştir (Lana ve ark., 2006).

Ocimum (Viña ve Murillo, 2003), *Vitis* (Welch ve ark., 1982), *Piper* (Sumathykutty ve ark 1999) ve *Achillea* (Orav ve ark., 2006) gibi bitkilerde 1,4-sineol bulunmaktadır. *Ephedra intermedia* bitkisinin gövde kısmında % 12.80 oranında 1,4-sineol bulunduğu gösterilmiştir (Ji ve ark., 1997).

Bitkiler üzerine yapılan bir çalışmada 1,4-sineol, azot mobilizasyonunda önemli role sahip asparajinin biyosentezini güçlü bir şekilde inhibe etmiştir. Bu inhibisyonda 1,4-sineol'ün sis izoformu daha etkili bulunmuştur (Romagni ve ark., 2000b). Başka bir araştırmaya göre asparajin sentezinden sorumlu asparajin sentetaz enzimi 1,4-sineol için hedef molekül olarak kabul edilmiştir (Duke ve ark., 2003).

1,4-Sineol'ün doğal türevi olan sinmetilinin herbisid etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Macías ve ark., 2008). Yapılan bir çalışmada *Cucumis sativa*'nın kök gelişimi ile *Echinochloa crusgalli*'nin filiz gelişiminin 1,4-sineol uygulanması ile azaldığı gösterilmiştir (Preston ve ark., 2002). Bir başka çalışmada 1,4-sineol yabancı otların kök ile filiz gelişimini güçlü şekilde inhibe etmiş ve fotosentezi olumsuz etkilemiştir. Ayrıca 1,8-sineol mitozun tüm aşamalarını güçlü şekilde azaltırken, 1,4-sineol mitozun sadece profaz aşamasını azalttığı gösterilmiştir (Romagni ve ark., 2000a).

Tavşanlar üzerine yapılan bir çalışmada 1,4-sineol; 9-hidroksi-1,4-sineol, 3,8-dihidroksi-1,4-sineol, 8,9-dihidroksi-1,4-sineol, 1,4-sineol-8-en-9-ol ve 1,4-sineol-9-karboksilik asid gibi ürünlere metabolize olduğu ve bu metabolitlere idrarda rastlandığı ileri sürülmüştür (Asakawa ve ark., 1988).

Bakteriler 1,4-sineol'ü, temel olarak 8-hidroksi-1,4-sineol'e ve 2-ekso- ile 2-endo-hidroksi-1,4-sineol'e metabolize etmiş (Rosazza ve ark., 1987) ve bu reaksiyondan sitokrom P-450 enzimi sorumlu tutulmuştur (Liu ve Rosazza, 1993). 1,4-Sineol, insan ve sıçan karaciğer mikrozomal CYP 3A enzimi tarafından 2-hidroksilasyon ürünlere metabolize edildiği ileri sürülmüştür (Miyazawa ve ark., 2001b). Başka bir çalışmada 1,4-sineol, 2-pozisyonunda oksidasyona uğradığı ve bu reaksiyonun insanlarda CYP3A4 enzimleri, sıçanlarda ise CYP3A1/2 enzimleri tarafından katalize edildiği belirtilmiştir. Ayrıca 1,4-sineol insanlarda kısmen CYP2A6 enzimleri tarafından katalizlendiği belirtilmiştir (Miyazawa ve ark., 2003).

1,4-Sineol'ün santral etkileri hakkında sınırlı sayıda farmakolojik çalışma mevcuttur (Aydin ve Beis, 2002). Tavşan derisi üzerine uygulanan 1,4-sineol'ün orta derecede iritan olduğu gösterilmiştir (Choksi ve ark., 2004).

1,4-Sineol'ün 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozların denendiği bir çalışmada, 1,4-sineol izole sıçan mide fundus ACh ile KCl kasılmalarına ve izole ileum ACh kasılmalarına karşı etkisiz bulunmuştur. Aynı çalışmada 1,4-sineol, izole sıçan vas deferens fenilefrin kasılmalarına karşı etkisiz iken 40 mM KCl kasılmalarını 10^{-7} , 5×10^{-7} , 10^{-6} ve 5×10^{-6} M dozlarda inhibe etmiştir. Dolayısıyla 1,4-sineol'ün bu etkileri; kolinerjik, muskarinik ile adrenerjik sistemle doğrudan ilişkili olmadığını ve iyon kanalları ve hücre içi iyon mekanizmalarla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Tütüncü, 2003).

Membran Potansiyeli

Tüm vücut hücreleri, dinlenme durumunda, hücre dışına oranla daha negatif olan membran potansiyeline sahiptir. Bu potansiyel -5 ile -100 mV arasında değişmektedir. Membran dinlenme potansiyelinin büyüklüğü; membranın iki tarafındaki iyon konsantrasyon farkına ve membranın geçirgenlik derecesine bağlıdır (Vander ve ark., 1994).

Dinlenme membran potansiyelinin oluşumundan sorumlu iki taşıma proteini vardır: bunlar potasyumun hücre dışına difüze olmasına izin veren **potasyum sızdıran kanallar** ile Na^+-K^+ ATPaz'dır. Potasyumun yoğunluk gradyanı, bu iyonun hücre dışına difüzyonunu kolaylaştırır da bu iyonun ait elektriksel gradient ters yöndedir. Sonuç olarak potasyumun hücre dışına çıkış eğiliminin bu iyonun hücre içine giriş eğilimi tarafından karşılandığı bir dengeye ulaşılır ve bu denge halinde katyonlar hücre dışında biraz daha fazla iken anyonlar hücre içinde biraz daha fazla düzeydedir. Burada özellikle potasyum sızıntısı önem taşımaktadır, çünkü normalde kanallar potasyuma, sodyuma göre yaklaşık 100 kat daha fazla geçirgendir. Dolayısıyla ile **sodyum sızdıran kanalların** rolü sınırlı kalmaktadır (Guyton ve Hall, 2001).

Bu durum, potasyumu hücre içine alan ve aynı zamanda sodyumu hücre dışına sevk eden Na^+-K^+ ATPaz tarafından devam ettirilir (Ganong, 2001). Vücudun bütün hücrelerinde bulunan, sodyum potasyum pompası bir elektrojenik pompa özelliğinde, çünkü pozitif yükleri daha çok dışarıya pompalar. İçeriye alınan her iki K^+ iyonu için dışarıya üç Na^+ iyonu pompalar ve içeride pozitif iyon eksikliği yaratarak hücre zarının iç yüzünü negatif hale getirir (Guyton ve Hall, 2001).

Aksiyon Potansiyeli

Sinir sisteminde sinyaller, sinir zarında oluşan aksiyon potansiyelleri aracılığı ile iletilir. Her aksiyon potansiyeli, normal istirahat negatif potansiyelin, pozitif zar potansiyeline ani bir değişme ile başlar ve ardından aynı hızla tekrar negatif potansiyele döner. Bir sinirsel iletide, aksiyon potansiyeli sinir lifi boyunca sinir ucuna gelinceye kadar yayılır (Guyton ve Hall, 2001).

Kas ve sinir hücreleri ile bağışıklık, üreme ve endokrin sistemi hücrelerin plazma membranları aksiyon potansiyeli oluşturabilirler. Dolayısıyla bu membranlara, uyandırılabilir membranlar denir (Vander ve ark., 1994).

Aksiyon potansiyelinin birbirini izleyen dönemleri

Dinlenme dönemi. Bu dönemde hücre membranı negatif potansiyele sahiptir. Yani polarize durumdadır (Guyton ve Hall, 2001).

Depolarizasyon dönemi. Bu dönemde hücre membranı, ani olarak sodyuma karşı geçirgen hale gelir ve büyük miktarda sodyum iyonunun hücre içine alınmasına yol açar. Normalde negatif olan (kalın bir sinir hücresi için -90 mV, kalp kası için -60 ile -90 mV arası ve düz kaslar için -50 ile -60 mV) polarize durumdaki membran potansiyelinin hızla pozitif yöne yükselmesiyle karakterize olan bir dönemdir (Guyton ve Hall, 2001).

Repolarizasyon dönemi. Membranın sodyuma karşı geçirgenliği çok arttıktan sonra, saniyenin onbinde biri gibi çok kısa bir sürede sodyum kanalları kapanmaya başlar ve potasyum kanalları normaldeki haline göre daha fazla açılır.

Potasyum iyonlarının dışa doğru hızlı difüzyonu sonucu negatif membran dinlenim potansiyelinin yeniden oluşmasına membran “repolarizasyonu” adı verilir (Guyton ve Hall, 2001).

Aksiyon potansiyeli sırasında rol oynayan voltaja bağlı kanallar

Aksiyon potansiyeli sırasında, Na^+ - K^+ pompası ve Na^+ ile K^+ sızma kanallarına ek olarak görev yapan ve sinir membranı depolarizasyonu ile repolarizasyonunda önemli rol oynayan voltaja bağlı sodyum kanallarıdır. Voltaja bağlı potasyum kanalları repolarizasyonun olmasında rol alırlar (Guyton ve Hall, 2001).

Voltaja bağlı sodyum kanalları, biri kanalın dışına yakın aktivasyon kapısı ve diğeri kanalın içine yakın inaktivasyon kapısı adı verilen iki kapıya sahiptir. Membran potansiyeli istirahat durumuna göre daha az negatif duruma geçmesiyle yani -90 mV 'dan sıfıra doğru yükselmesiyle, (sinir hücresi için genellikle -70 ve -50 mV arası) aktivasyon kapısında ani bir şekil değişikliği meydana gelir ve kapı açık hale geçer. Aktif durum denene bu dönemde, hücre membranın sodyum geçirgenliği $500-5000$ kat artar ve Na^+ iyonları bu kanaldan içeri akmaya başlar. Ayrıca aktivasyon kapısını açan voltajın artması, inaktivasyon kapısını saniyenin onbinde biri kadar kısa bir sürede kapatır. Burada inaktivasyon kapısını kapalı duruma getiren şekil değişikliği, yavaş bir olay olduğu halde, aktivasyon kapısını açan şekil değişikliği hızlı bir olaydır. Membran potansiyeli dinlenim durumuna veya ona yakın bir değere dönünceye kadar inaktivasyon kapısının tekrardan açılmaması sodyum kanalları için önemli bir özelliktir (Guyton ve Hall, 2001).

Dinlenim durumunda, voltaja bağlı potasyum kanallarının kapısı kapalıdır. Membran potansiyelinin -90 mV 'dan sıfıra doğru yükselmesi, kapının yavaşça açılmasını sağlar ve bu olay potasyumun dışarı doğru difüzyonunu artırır. Potasyum kanalının açılmasındaki yavaşlık nedeniyle bu açılma, sodyum kanallarının inaktivasyon nedeniyle kapanmaya başladığı döneme rastlar. Böylece sodyumun hücre içine girişi azalırken aynı zamanda hücreden potasyum çıkışının artması repolarizasyonu hızlandırır ve zar potansiyeli saniyenin onbinde biri kadar kısa bir sürede membran dinlenim potansiyeline geri döner (Guyton ve Hall, 2001).

Aksiyon potansiyeli üzerinde diğer iyonların rolü

Hücre içinde zardan geçemeyen, pek çok negatif yüklü iyon vardır. Bunlar arasında protein molekülleri, organik fosfat bileşikleri, sülfat bileşikleri vb. sayılabilir. Bu iyonlar aksondan ayrılmadıkları için, membranın içindeki negatif yükü arttırlar (Guyton ve Hall, 1996).

Kalsiyum İyonları

Bu iyonlar kasların kasılması, sinirlerin uyarılması, metabolizma, salgılama ve proliferasyon gibi çok sayıda hücre fonksiyonlarında görev alırlar. Hücre içi sitozoldeki kalsiyum iyonlarının kaynağını, hücre dışından gelen ve SR'dan salınan kalsiyum iyonları oluşturur. Hücre içi kalsiyum iyon düzeyi kas kasılmasında ve gevşemesinde önemli role sahiptir (Heldin ve Purton, 1996).

Vücudun pek çok hücresinde, sodyum pompasına benzer kalsiyum pompası bulunur. Bazı hücrelerde kalsiyum pompaları aksiyon potansiyeli oluşumunda sodyum pompalarıyla beraber veya onların yerine görev alırlar. Kalsiyumu zarın

içinden dışına veya endoplazmik retikulum'a (ER) pompalayan kalsiyum pompaları, yaklaşık on bin katlık bir kalsiyum gradyanı yaratırlar. Böylece, hücre içindeki kalsiyum iyon konsantrasyonu yaklaşık 10^{-7} molarla tutulurken, hücre dışındaki konsantrasyonu yaklaşık 10^{-3} molarla kalır (Guyton ve Hall, 1996).

Bunlara ek olarak voltaja bağlı kalsiyum kanalları da vardır ve bu kanallar kalsiyum iyonlarına olduğu gibi sodyum iyonlarına da hafif geçirgendirler. Bu nedenle bu kanallara "Ca²⁺-Na⁺ kanalları" adı da verilir. Kalsiyum kanalları yavaş aktive olduklarından (aktivasyonları sodyum kanallarına göre 10-20 kat daha uzun sürer) *yavaş kanallar* olarak adlandırılırken, sodyum kanalları *hızlı kanallar* olarak bilinirler. Kalsiyum kanalları; nöron, kalp kası ve düz kas gibi uyarılabilen hücrelerde bulunurlar. Bazı düz kas tiplerinde sodyum kanalları hemen hiç yoktur ve yalnızca kalsiyum kanalların aktivasyonu aksiyon potansiyelini oluşturur (Guyton ve Hall, 1996).

Kalsiyum iyon yetersizliğinde, sodyum kanalları, zar dinlenim potansiyelinin çok az yükselmesi durumunda bile aktive olabilirler. Bunun nedeni, kalsiyum iyonlarının sodyum kanalların yapısında bulunan protein moleküllerine bağlanmaları ve pozitif yükleri nedeniyle kapıların açılması için gerekli voltaj seviyesini yükseltmiş olmalarından kaynaklanmaktadır (Guyton ve Hall, 1996).

Hücre İçine Kalsiyum Akışı

Plazma membranında bulunan kalsiyum kanalları

Plazma membranına yerleşmiş çok sayıda kalsiyum kanalları vardır ve bu kanallar aktive oldukları yola göre adlandırılır (Heldin ve Purton, 1996). Voltaja bağlı kalsiyum kanalları; membran depolarizasyonuna yanıt olarak açılan bu kanallar sinir, kas ve endokrin hücrelerde bulunurlar. Bu kanalların çalışması, reseptöre bağlı mekanizmalar ve ikinci haberci moleküller tarafından düzenlenir. Bu kanallar da kendi aralarında T-tipi (düşük voltajla aktive olan), P-tipi (beyinde purkinje sinirlerde bulunan), N-tipi (ne düşük ne de yüksek voltajla aktive olabilen) ve L-tipi (yüksek voltajla aktive olan) gibi alt guruplara ayrılır. Kas hücrelerinde T-tipi ve L-tipi kanallar bulunmaktadır (Heldin ve Purton, 1996).

Reseptöre bağlı kalsiyum kanalları; glutamat ve ATP gibi agonist ajanlar ile aktive olduklarından ATP'ye duyarlı ve glutamat'a duyarlı kanallar olarak bilinirler. Özellikle düz kaslarda, ATP'ye duyarlı tipler bulunmaktadır (Heldin ve Purton, 1996). Ayrıca vücutta yaygın olarak bulunan ve ER'daki kalsiyum iyon konsantrasyonunun azalmasıyla aktive olan kalsiyum kanalları da vardır. Bu kanallar, hücre içi kalsiyum depolarından salınan bir haberci ile veya inositol 1,4,5-trifosfat reseptörün (IP₃R) ER'daki kalsiyum konsantrasyonunu algılaması ve özel proteinleri devreye sokmasıyla aktive olurlar (Heldin ve Purton, 1996).

Çeşitli hücrelerde bulunan ve mekanik olarak aktive olabilen kanallar da vardır. Bu kanallar mekanik gerime yanıt olarak açılırlar. Yine hücre içindeki kalsiyum depoların tükenmesi sonucu açılan kalsiyum kanalların da var olduğu bilinmektedir (Krauss, 2003).

Hücre içi organellerde bulunan kalsiyum kanalları

Hücre içinde, SR zarlarına yerleşmiş ve kalsiyum salıverilmesini kontrol eden iki gurup reseptör bulunmaktadır. Her iki gurup reseptör liganda bağlı Ca⁺⁺

kanallarıdır ve SR'dan kalsiyum salıverilmesine neden olurlar. IP₃R'ler, vücutta yaygın olarak bulunur ve üç alt guruba ayrılır. RyR'ler de üç alt guruba ayrılır. Bunlardan RyR1 iskelet kasında bulunurken, RyR2 kalp kasında bulunur (Heldin ve Purton, 1996; Zheng ve ark., 2005). Ayrıca bazı durumlarda mitokondrilerden de kalsiyum salınımı gerçekleşebilir (Krauss, 2003; Copello ve ark., 2007).

IP₃R'ü; inositol 1,4,5-trifosfat (IP₃), Ca⁺², Mg⁺², ATP ve bazen kalsiyum bağlayan proteinler tarafından aktive olan proteinlerdir. Bu reseptörler hücre içi kalsiyum iyonların azalması ile aktive olurlar. Hücre içi kalsiyum iyonların artması ise onları inhibe etmektedir (Krauss, 2003). **RyR'ü;** hücre içindeki kalsiyum konsantrasyonunda meydana gelen bir artış ile aktive olurlar ve ardından kalsiyumun artması onları inhibe eder. Bazı düz kas hücrelerinde siklik adenozin difosfat riboz (sADPR) tarafından aktive olurlar (Krauss, 2003).

Beyin ve diğer bazı dokularda nikotinik asid adenin dinükleotid fosfat (NAADP), IP₃ ve sADPR'dan bağımsız olarak kalsiyum salıverilmesine neden olabilir. Bazı dokularda sfingolipidler ve LTB₄ gibi moleküller de kalsiyum salıverilmesini tetikleyebilir (Krauss, 2003).

Hücre İçinden Kalsiyumun Uzaklaştırması

Hücresinin uyarılması sırasında hücre içi kalsiyum konsantrasyonu yüksek değere çıktığında kısa süre içinde hücrede bulunan bazı pompalar devreye girerek kalsiyumu hücre dışına veya SR ve mitokondri (10⁻⁵ moları aşınca) gibi organellere geri pompalarlar (Krauss, 2003).

Plazma membranından Na⁺ / Ca⁺⁺ değiş tokuşu; sinir hücresi, kalp kası ve düz kasın plazma membranında bulunan bu pompa, kalsiyumu hücre dışına pompalarken sodyumu hücre içine almaktadır (Krauss, 2003). Ancak kalp kasının aksiyon potansiyeli sırasında olduğu gibi bazen ters bir değiş tokuşta yapabilir (Heldin ve Purton, 1996). Hücre içi serbest kalsiyum konsantrasyonu mikromolar düzeye ulaştığında bu değiş tokuş optimal düzeyde çalışır. Özellikle kalp kası ile sinir lifleri bu değiş tokuş için yüksek afiniteye sahiptirler (Taylor, 1993).

Plazma membranı Ca⁺⁺ ATPaz (PMCA) pompası; bu pompa ATP'yi, adenozin difosfat'a (ADP) dönüştürerek ürettiği enerji ile oldukça yüksek bir elektrokimyasal gradiyene karşı, kalsiyum iyonlarını hücre dışına pompalar. Dört izoformu bilinen bu pompalardan PMCA1 ve PMCA2 çoğu hücrelerde bulunurken, PMCA3 ve PMCA4 özelleşmiş hücrelerde var olduğu tespit edilmiştir. Bu pompaların çalışması, kalmodülin, asidik fosfolipidler, protein kinaz A (PKA) ve protein kinaz C (PKC) gibi moleküller tarafından kontrol edilir. Örneğin kalmodülin, kalsiyum ile kompleks yaptıktan sonra ve hücre içinde bu kompleksin sayısı arttıkça pozitif feed-back mekanizması ile pompayı daha da aktive eder (Heldin ve Purton, 1996).

Sarkoendoplazmik retikulum Ca⁺⁺ ATPaz pompası (SERCA); hücre içi organellerin membranında bulunan ve PMCA pompasından farklı olarak, kalmodülin proteini yerine, fosfolamban adı verilen bir hücre zarı proteini tarafından kontrol edilmektedir. Fosfolamban, SERCA3 isoformunu etkilemezken, SERCA1 ve SERCA2 isoformlarını inhibe etmektedir. Ayrıca bu pompalar tapsigargin ve siklopizonik asid gibi maddeler tarafından da inhibe edilirler (Heldin ve Purton, 1996).

Fosfolamban, 52 aminoasit ve 5 alt birimden oluşan bir proteindir. İskelet kasın yavaş lifleri, kalp kası ve düz kasların SR membranında bulunur. Fosforilize olmayan fosfolamban molekülü kalsiyum pompasını inhibe eder. Ancak PKA, PKC ve kalmodulene bağlı protein kinaz tarafından fosforilize edilen fosfolamban aktive olur ve pompa üzerindeki inhibitör etkisi ortadan kalkar (Taylor, 1993).

Mitokondrial kalsiyum transportu; Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu kritik düzey olan 10^{-5} M aşınca, mitokondrinin iç membranında bulunan mitokondriyal transport sistemi devreye girerek kalsiyumu depolar. Bu sistem elektrokimyasal proton gradiyanına göre iki yönlü olarak çalışabilir (Taylor, 1993; Krauss, 2003).

Kalsiyum bağlayan proteinler; hücrelerin sitoplazma ve organellerinde çok sayıda kalsiyum bağlayan proteinler bulunmaktadır. Bu proteinlerin bazıları duyarga görevi yaparken birçoğu da tampon görevi yapmaktadırlar. Hücre sitoplazmasında tampon görevini yapan parvalbumin, kalretinin ve kalbindin gibi moleküllere bağlı kalsiyum iyon miktarı ile sitoplazmada bulunan serbest kalsiyum iyonları bir denge halindedir (Heldin ve Purton, 1996). Hücre içindeki kalsiyum iyonlarının bir bölümü SR veya mitokondriye pompalanırlar. SR içindeki kalsiyum iyonları lümendeki kalretikulin ve kalsekstrin adlı proteinlere bağlanırlar. Daha sonra sinyal transdüksiyonu ile tekrar salınırlar (Krauss, 2003). Ayrıca düz kaslardan izole edilen preparatlarda kalmomodulin, kalsimedinin ve kaltropin gibi kalsiyum bağlayan proteinler de izole edilmiştir (Bárány, 1996).

Kaslar ile İlgili Genel Bilgiler

Vücudun yaklaşık % 40'ı iskelet kası, % 10'u düz kas ve kalp kasından oluşmaktadır. Bazı özelleşmiş fonksiyonları dışında tüm kas guruplarında kasılma prensipleri aynen geçerli olmaktadır (Guyton ve Hall, 2001). Tek bir iskelet kas hücresine kas lifi denir ve bağ dokusu tarafından çok sayıda kas lifinin bir arada tutunması ile oluşan yapıya kas denir. Kaslar; yapısal olarak, kasılma özellikleri ve kontrol mekanizmalarına göre üç guruba ayrılır: (1) iskelet kası, (2) düz kas ve (3) kalp kası (Vander ve ark., 1994).

İskelet kası lifleri arasında anatomik ve işlevsel bağlantı olmasa da oldukça iyi gelişmiş çapraz çizgiler içerir ve istemli olarak kasılır. Kalp kası iskelet kasında olduğu gibi çapraz çizgiler içerir ancak, kalp kası işlevsel olarak bir sinsiyum oluşturur ve dışarıdan bir uyarı olmasa da miyokardda bulunan ve kendiliğinden uyarılar oluşturabilen önder odak hücreleri sayesinde ritmik olarak kasılabilir. Çoğu iç organın duvar yapısında yer alan düz kaslar, işlevsel olarak bir sinsiyum oluşturur ve düzensiz olarak uyarılar oluşturan önder odak hücreleri içerirler. Göz ve diğer bazı bölgelerde bulunan düz kaslar ise, kendiliğinden kasılma oluşturmazlar (Ganong, 2001).

İskelet kası

İskelet kası, çok çekirdekli, çapları 10-100 μ m arasında değişen ve boyları 20 cm kadar uzayabilen liflerden oluşur (Vander ve ark., 1994). Her bir lif orta bölgesinde sonlanan tek bir sinir ucu tarafından innerve edilir. Kas lifinin hücre zarına sarkolemma adı verilir. Her kas lifi birkaç yüz ile birkaç bin arasında miyofibril içerir. Her miyofibrilde, 1500 miyozin ve 3000 aktin filamentleri vardır. Aktin ve miyozin filamentlerin iç içe girmesi ve düzenli olarak dizilmeleri ile koyu ve açık bantları oluşur (Guyton ve hall, 2001).

Açık bantlar sadece aktin filamentlerden ibaret olup polarize ışığa izotropiktir (I bandı). Koyu bantlar aktin ve miyozin filamentlerin üst üste gelmesi ile meydana gelir ve polarize ışığa anizotropiktir (A bandı) (Guyton ve Hall, 2001). A bandın orta kısmında yer alan, A bandına oranla daha açık renkli olan, sadece kalın filamentlerden oluşan ve her sarkomerde bulunan iki demet miyozin filamentinin birleştiği bölgeye H bandı denir. H bandın orta kısmı, dar ve koyu renkli olup miyozin filamentlerini birbirine bağlayan protein maddeleri içerir ve M çizgisi olarak bilinir (Vander ve ark., 1994).

Aktin filamentleri, I bandının ortasında bulunan Z disklerden çıkarak miyozin filamentleri arasına dağılırlar. Z diski kas lifi boyunca miyofibriller arasında çapraz uzanır ve bir miyofibrilli diğerlerine bağlar (Hole, 1993). Miyofibriller enine bir protein tabakası olan Z diski ile fonksiyonel ünitelere veya sarkomerlere ayrılır. Komşu miyofibrillerin Z diskleri birbirleri ile sıraya dizilerek Z çizgisini oluştururlar (Bullock ve ark., 1994). Filamentler titin adı verilen filamentöz yapısındaki proteinler içerirler. Bu proteinler Z çizgisinden uzanarak miyozin filamentlerin uçlarına bağlanırlar. Böylece miyozin filamentler, M çizgisi ile birbirlerine ve titin molekülleri ile Z çizgisine bağlanırlar (Vander ve ark., 1994).

Miyozin filamentlerin, orta kısmı dışında, yanlara doğru çıkan uzantıları çapraz köprülerdir ve bu köprülerle aktin filamentleri arasındaki etkileşime kasılmaya yol açar. Miyofibriller; potasyum, magnezyum, fosfat ile protein enzimleri içeren, sarkoplazma adı verilen ve hücre içi maddelerden ibaret bir matriks içinde bulunurlar. Miyofibrillere paralel uzanan çok sayıda mitokondrinin varlığı kas kasılması için büyük miktarda enerjiye ihtiyaç olduğunu göstergesidir. Kaslarda bulunan ER'a SR denir ve bu yapı iskelet kas liflerinde oldukça gelişmiş ve yoğun olması bu yapının hızlı kas kasılması için ne denli önemli olduğunu bir kanıttır (Guyton ve Hall, 2001).

Kasılabilir Filamentlerin Moleküler Özellikleri

Miyozin filamenti

Bu filamentler toplam kas proteinlerinin yaklaşık 2 / 3 kısmını oluştururlar (Hole, 1993). Ortalama 1.6 µm uzunluğunda olan miyozin filamenti, her birinin ağırlığı 480,000 olan yaklaşık iki yüz adet miyozin molekülünden oluşmuştur. Miyozin molekülü, molekül ağırlığı 200,000 olan iki ağır zincir ile molekül ağırlığı 20,000 olan dört hafif zincir olmak üzere altı polipeptid zincirinden ibarettir. İki ağır zincir birbiri etrafına spiral olarak sarılır ve her birinin bir ucu kıvrılarak hafif zincirlerle birlikte miyozin başı denilen globuler bir yapı meydana getirir. Zincirin diğer ucuna kuyruk kısmı denir ve bu kuyruk kısımlar demet halinde toplanarak filamentin gövdesini oluştururlar (Guyton ve Hall, 2001).

Yatay bir kesitte izlendiğinde her miyozin filamenti altı adet aktin filamenti tarafından sarıldığı ve her aktin filamentin üç adet miyozin filamenti tarafından sarıldığı görülebilir (Vander ve ark., 1994).

Kaslarda bulunan uzun bir kuyruk ile iki globüler başı içeren filamentte miyozin-II denir. Miyozin başları, aktin ile bağlanan bir bölge ile ATP'yi hidrolize eden katalitik bir bölgeden meydana gelmektedir (Ganong, 2001)

Aktin filamenti

Yaklaşık 1 µm uzunluğunda olan aktin filamenti, aktin, tropomiyozin ve troponin proteinlerinden oluşur. Aktin filamentleri kas proteinlerinin yaklaşık 1 / 4 kısmını barındırırlar (Hole, 1993). F-aktin proteini çift sarmal yapısına sahiptir ve ipliklerin her biri, molekül ağırlığı 42,000 olan G-aktin moleküllerinden oluşmuştur. Sarmalın her döngüsünde 13 adet G-aktin molekülü bulunmaktadır. Bu moleküllerin her birine birer adet ADP molekülü tutunmuş ve bu ADP tutunan bölgeler, kas kasılması sırasında miyozin filamentinin baş kısmı ile etkileşen aktif bölgelerdir. Çift sarmalın F-aktin ipliği üzerindeki aktif bölgeler, her 2.7 nm'de bir aktif bölge bulunacak şekilde dizilmişlerdir (Guyton ve Hall, 2001).

Tropomiyozin 38 nm uzunluğunda (Bárány, 1996), F-aktin sarmalın etrafına spiral olarak sarılan, aktin ipliklerin aktif bölgelerini kapatan (her tropomiyozin molekülü yedi aktif bölgeyi kapatır) ve 70,000 molekül ağırlığında olan bir moleküldür. Troponin 26.5 nm uzunluğunda, tropomiyozin molekülüne tutunmuş ve birbirine zayıf olarak bağlı üç protein alt biriminden oluşmuştur. Troponin-I aktin için, troponin-T tropomiyozin için ve troponin-C kalsiyum iyonları için yüksek afinite gösterir (Bárány, 1996; Guyton ve Hall, 2001).

Düz kaslarda bulunan aktin filamenti; tropomiyozin, kaldesmon ve kalponin gibi en az üç protein ile kompleks yaptığı kabul edilir. 75 nm uzunluğunda olan kaldesmon, aktin çift sarmalın eksenini boyunca, tropomiyozin yanında uzanır ve uç uca etkileşmelerine izin verecek derecede aktin ile tropomiyozine güçlü şekilde bağlanmıştır. Ortamdaki Ca²⁺-kalmomodulin miktarının düşmesi aktomiyozin ATPaz aktivitesini ve dolayısı ile aktin ile miyozin arasındaki etkileşimi inhibe eder. Bazı araştırmalara göre kaldesmon, özellikle aktin ile tropomiyozinin hareketlerini kısıtladığını tespit edilmiştir. Ortamda kalsiyum iyonlarının artması kalmomodulin ile kaltronin gibi kalsiyum bağlayan proteinler aktive olur ve bu proteinler kaldesmona yüksek afinite ile bağlanarak etki yapmasını engellerler (Bárány, 1996).

Yapılan incelemelere göre, düz kas aktin filamentlerinde eşit oranda kalponin ve kaldesmona rastlanmıştır. Kalponin, aktomiyozin ATPaz aktivitesini engellemesi yanında aktin filamentlerin hareket yapmalarını da engeller. Kalponin, ortamdaki kalsiyumdan bağımsız olarak etki gösterdiği bilinmektedir (Bárány, 1996).

Transvers tübül - sarkoplazmik retikulum sistemi

Transvers tübül (T-tübül), hücre membranından başlayan ve kas lifini bir tarafından diğer tarafına kadar kateden yapılardır. Bu yapılar hücre membranına bağlandıkları yerde hücre dışı ortamla temas halindedir ve aralarında dallanarak bütün miyofibriller için birleştirici bir ağ oluştururlar. SR ise bir miyofibrillere paralel uzanan longitudinal tübüller, diğeri sisterna adı verilen T-tübüllerine bitişik iki büyük parçadan oluşmuştur (Guyton ve Hall, 2001). Bu iki sisteme birlikte sarko tübül sistem denir (Ganong, 2001). SR'un veziküler tübülleri içerisinde yüksek konsantrasyonda kalsiyum iyonları bulunmaktadır. Aksiyon potansiyelinin T-tübüllere ulaşması SR'un özellikle sisterna kısmı üzerinde bulunan kalsiyum kanallarının açılmasına neden olur. Böylece kalsiyum, sarkoplazmaya difüze olur ve kasılmayı başlatmış olur (Hole, 1993).

Kalsiyum iyonlarının uyarıcı “nabzı”

Dinlenim durumunda miyofibrilleri saran SR’da 10^{-3} molar kadar kalsiyum iyonu bulunmaktadır. T-tübül ve SR’un uyarılması kalsiyum iyon konsantrasyonunu sitoplazmada 2×10^{-4} molara kadar yükseltir. Bu düzey maksimum kas kasılması için gereken 2×10^{-5} molardan 10 kat daha fazladır. Ardından kalsiyum pompası devreye girerek tekrar kalsiyum düzeyini düşürür. İskelet kas lifinde bu kalsiyum pulsasyonu, 1/30 saniye sürerken, kalp kasında aksiyon potansiyelinin yavaş olması nedeni ile 1/3 saniye sürmektedir (Guyton ve Hall, 2001).

Kasılmanın Moleküler Temeli

Motor sinirin uyarılması, ACh salgılanması ve nikotinik reseptörlerin aktivasyonu sonucu, motor son plak zarında Na^+ ve K^+ geçirgenliği artar ve ardından oluşan son plak potansiyeli kas lifinde aksiyon potansiyelini oluşturur (Ganong, 2001). Aksiyon potansiyeli kas lifinin uzunluğu boyunca hızla ilerlerken, Kasın içine doğru da T-tübülleri aracılığı ile daha yavaş olarak ilerler. T-tübülleri birer kalsiyum kanalı olan dihidropiridin reseptörleri içerirler. Dihidropiridin reseptörleri (dihidropiridin tarafından bloke edilen) voltaj değişikliğine karşı duyarga görevi yaparlar ve SR’daki kalsiyum salıverilme kanalı olan RyR’lerine mekanik olarak bağlıdırlar. Aksiyon potansiyeli sırasında dihidropiridin reseptörlerin aktivasyonu RyR’lerin mekanik olarak açılmasını sağlar. SR’dan, kalsiyumun salıverilmesine izin veren RyR’leri voltaja bağlı değildir ve ryanodin tarafından tutulmaları nedeni ile RyR’leri adını alırlar. Bu reseptörler, liganda bağlı bir kalsiyum kanalı olan ve IP_3 ’a bağlandığında ER’dan sitoplazmaya kalsiyumun salıverilmesine neden olan IP_3R ’leri ile benzerdirler. Bunun sonucu olarak sitozolde artan kalsiyum kas kasılması için gereken düzeye ulaşmış olacaktır. Kalp kasında, Ca^{++} ’un bu kanallar üzerinden hücre içine akışı, SR’dan kalsiyum salıverilmesini etkilerse de, iskelet kasında, kalsiyumun bu yolla girişi, SR’dan kalsiyum salıverilmesi için gerekli değildir (Vander ve ark., 1994; Ganong, 2001).

Kalsiyum iyonları, troponinin C alt birimine bağlanır ve bu bağlanma sonucu, troponin-I’nin aktine olan bağlantısı zayıflar ve bu da tropomiyozinin yatay olarak hareket etmesine izin verir. Böylece aktin filamentleri üzerinde yer alan miyozin bağlanma bölgeleri açığa çıkar. Bir kalsiyum iyonuna bağlanan her troponin molekülü, yedi tane miyozin bağlanma bölgesini açığa çıkartır (Vander ve ark., 1994).

Diğer taraftan miyozin başındaki ATP hidrolizi sonucu miyozin başının konformasyonunu değiştirir ve miyozin başı ile miyozin bağlanma bölgeleri arasında çapraz köprüler kurulur. Miyozin baş kısımların, aktine sıkıca yapışması ve ardından bu başların bükülmesi filamentlerin birbirleri üzerinde kaymalarına yol açar (Ganong, 2001). Bu kayma sırasında ne aktin, ne de miyozin filamentlerin boyunda herhangi bir kısalma meydana gelmez (Vander ve ark., 1994). Hem ATP hem de hidrolizi yapan ATPaz enzimi, miyozinin çapraz köprülerine bağlı olarak bulunmaktadır (Bullock ve ark., 1994).

Gevşeme

Kalsiyum iyonları ortamda kaldığı sürece kasılmalar devam eder. Ancak SR’da bulunan kalsiyum pompaları devreye girerek kalsiyum iyonlarını hücre içi

organellere geri pompalarlar. Yine SR'da bulunan, kalsekstrin proteini kalsiyum iyonlarını bağlayarak depolama işlemine aracılık ederler (Guyton ve Hall, 2001).

Ortamda yüksek konsantrasyonda kalsiyum bulunduğu sürece, aktin ile miyozin arasındaki bağlantı ve kasılma devam eder. Ancak bu iyonlar Ca^{++} - Mg^{++} ATP'az pompası tarafından hızlı şekilde SR'a geri pompalanır. Böylece aktin ile miyozin arasındaki etkileşim durur ve gevşeme olur (Hole, 1993). ATP'nin hidroliz ürünü yani ADP ve inorganik fosfatın birleşerek yeni bir ATP molüklün oluşmasıyla çapraz köprünün aktinden ayrılması mümkün olur (Bullock ve ark., 1994).

Düz Kaslar

İskelet kas liflerine oranla daha kısa olan düz kas hücreleri tek çekirdekli yapıya sahiptirler. Düz kas hücrelerinde, aktin ve miyozin filamentleri düzensiz dağıldıklarından iskelet kasındaki çizgili görünüm oluşmamaktadır. T-tübül yapısı bulunmayan düz kas hücrelerinde SR da az gelişmiştir. Düz kas hücrelerini iki gurup altında toplamak mümkündür (Hole, 1993).

Üniter (visseral) düz kaslar

Üniter düz kas hücreleri arasında çok sayıda yarık bağlantılar (gap junction) mevcuttur. Bitişik hücreleri bir birine bağlayan, uyarı molekül ve metabolitlerin geçişine izin veren bu yapılara yarık bağlantılar denir (Krauss, 2003). Bu yarık bağlantılar sayesinde, aksiyon potansiyeli bir hücreden ötekine kolayca yayılır ve düz kas hücreleri tek bir birim gibi kasılırlar (Hill ve ark., 2004).

Üniter düz kas kasılmaları sinirsel, hormonal ve lokal faktörlerden etkilenir. Ayrıca gerim gibi uyarılara da duyarlıdır ve bu durum kasılmalarına yol açar. Üniter düz kas hücrelerin çoğu spontan olarak aksiyon potansiyeli oluşturmasa da, bazı hücreleri spontan aksiyon potansiyeli oluşturur ve bu aksiyon potansiyeli hücreler arası yarık bağlantılarla tüm liflere dağılır (Vander ve ark., 1994).

Üniter düz kaslar vücutta; barsak, safra kanalları, üreter, uterus ve kan damarları gibi çok sayıda iç organın duvar yapısında yer aldığı için bunlara visseral düz kaslar denir (Guyton ve Hall, 2001). Visseral düz kaslar, dışta longitudinal ve iç kısımda sirküler olmak üzere iki tabakadan meydana gelir. Bu iki kas tabakası, organın çok özel fonksiyonlarını göstermede yardımcı olurlar (Hole, 1994).

Çok birimli düz kaslar

Bu kas lifleri, birbirinden bağımsız olarak kasılır ve tek sinir tarafından innerve edilir. Esas olarak sinirsel uyarılarla kontrol edilmesi ve nadiren spontan kasılmalar göstermeleri karakteristik özelliğidir (Guyton ve Hall, 2001). Bu kaslar büyük hava yolları, büyük damarlar ve piloerektor kaslarda bulunur. Kas lifleri arasında az sayıda yarık bağlantı var olduğundan, her hücrenin kasılması diğerinden bağımsızdır ve spontan aktiviteye sahip değildir (Vander ve ark., 1994).

Çok birimli düz kaslar, visseral düz kaslar gibi dolaşımdaki kimyasal maddelere karşı çok duyarlıdır ve kendisini innerve eden otonomik sinir uçlarından salınan kimyasal araçlarla (ACh ve noradrenalin (NA)) etkinleştirilir (Ganong, 2001).

Düz kas kasılmasının fiziksel temelleri ve kontrolü

Düz kas liflerinde çok sayıda yoğun cisimler bulunur ve bu cisimler iskelet kasındaki Z diskine benzerlik gösterse de burada yapısal bir düzen söz konusu değildir (Guyton ve Hall, 2001). Bu cisimlerin bazıları hücre zarına tutunmuş, diğer bazıları da hücre içinde dağılmışlardır. Kas hücresi içinde bulunan bazı yapısal proteinler, yoğun cisimleri birbirine bağlamaktadır. Ayrıca komşu hücrelerin zara bitişik yoğun cisimleri bir birine bağlayan protein köprüleri sayesinde, kasılma gücü bir hücreden diğerine geçmektedir. Düz kaslarda, dağınık olarak serpilmiş ve iki yoğun cismin arasında uzanan aktin filamentlerin ortasında, az sayıda miyozin filamentleri bulunmaktadır (Guyton ve Hall, 2001).

Gerim, lokal faktörler (hücreler arası sıvının osmolarite, asidite ve iyon konsantrasyon değişikliği gibi), hormonal faktörler, otonomik innervasyon ve spontan aktiviteler düz kaslarda kasılmaya neden olur (Vander ve ark., 1994).

Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunda bir artış olduğunda, kalsiyum iyonu kalmodulin molekülü ile kompleks yapar ve bu kompleks miyozin hafif zincir kinazı aktive eder. Miyozin hafif zincir kinaz, ATP'yi kullanarak miyozin hafif zinciri fosforile eder ve aktin filamentleri ile çapraz köprü oluşturmasını tetikler. Böylece miyozin hafif zincirlerin fosforilasyon işlemi tekrarlandıkça, çapraz köprü oluşumu da tekrarlanarak kasılma devam eder (Hill ve ark., 2004).

Kimyasal ajanların reseptörlerine bağlanmaları sonucu, IP_3 gibi ikinci haberciler plazma zarından salıverilerek SR'dan kalsiyum salgılanmasını tetikler. Ayrıca düz kas hücre zarında bulunan voltaja bağlı kalsiyum kanalları ve hücre dışı kimyasal ajanlarla uyarılan kalsiyum kanalları kalsiyumun hücre içine girişine aracılık ederler. Çizgili kaslarda olduğu gibi, sitozoldeki kalsiyum iyon konsantrasyonunda meydana gelen bir artış, SR'dan ilave kalsiyum salıverilmesi için bir uyarıcı faktör olarak kabul edilir (Vander ve ark., 1994).

Kalsiyum iyonlarının ortamdan uzaklaştırılmasından sonra, miyozin hafif zincir kinazın defosforilasyon işlemi yani inaktivasyonu, miyozin hafif zincir fosfataz enzimi tarafından gerçekleştirilir ve gevşeme meydana gelir (Hill ve ark., 2004).

Düz kas kasılmaları ile iskelet kası kasılmalarının karşılaştırılması

İskelet kası sadece uyarıcı sinirler etkisinde kasılırken, düz kaslar otonomik sinirler etkisinde kasılma veya gevşemeye yol açabilirler (Vander ve ark., 1994).

Düz kasta çapraz köprü döngü hızı iskelet kasından daha yavaştır, bunun nedeni çapraz köprülerin daha az ATP'az aktiviteye sahip olmalarıdır. Dolayısı ile kasılma gücünü belirleyen, çapraz filamentlerin aktin filamentlere bağlı kalma süresi düz kas lifinde oldukça uzundur. Düz kaslar, iskelet kasından farklı olarak, aynı kasılma gerimini aynı miktar ATP ile uzun süre devam ettirebilirler. Oesofagusun mideye açılan sfinkter kasının gıdaların geçtiği süre dışında kapalı olması buna bir örnek olabilir (Hill ve ark., 2004).

Tipik bir düz kas dokusu uyarıldıktan 50-100 milisaniye sonra kasılmaya başlar, yaklaşık 1/2 saniye sonra tam kasılmaya ulaşır ve sonraki 1-2 saniyede kasılma gücü düşer. Dolayısı ile total kasılma süresi 1-3 saniye olup bu süre iskelet kası kasılmasının yaklaşık 30 katıdır (Guyton ve Hall, 2001).

Sitozoldeki kalsiyum iyonun, hücre dışına ve SR'a uzaklaştırılması, aktif transport sistemi ile gerçekleşir ve bu sistem düz kaslarda, iskelet kaslardakine oranla oldukça yavaş çalışır (Vander ve ark., 1994).

İskelet kasında kalsiyum iyonu aktin filamentleri üzerinden troponine bağlanarak kasılmayı tetiklerken, düz kasta kalsiyum kalmodulinle kompleks yaparak miyozin zinciri üzerinden kasılmayı başlatır (Vander ve ark., 1994).

Düz kaslarda plastisite

İskelet kasının tersine düz kas hücreleri, uygulanacak boy değişikliğine karşı saniyeler içinde adapte olurlar ve eski gerimlerini korurlar. Bu özellik içi boş organların, uzunluğundan bağımsız olarak lümendeki basıncı sabit düzeyde tutmaları açısından önemlidir (Hole, 1993).

Düz kaslarda sinirsel uyarı

Düz kasları innerve eden otonom sinirler, bir kas tabakası üstüne diffüze olarak dallanırlar. Birçok kas hücresinde sinir lifleri sadece dış tabakayı innerve eder ve uyarı iç katlara ya aksiyon potansiyelinin iletimi ile ya da norotransmitter difüzyonu ile yayılır (Guyton ve Hall, 2001). Norotransmitter maddeler, düz kasları innerve eden akson terminallerin genişlemelerindeki (varikozite) veziküllerden salgılanır (Vander ve ark., 1994). Düz kasları innerve eden otonom sinirler tarafından salgılanan en önemli transmitter madde ACh ve NA'dır. Fakat hiçbir zaman ikisi aynı sinir lifinden salgılanmaz (Guyton ve Hall, 2001). Bu transmitter maddelerden biri düz kası stimüle ediyorsa diğeri onu inhibe eder (Hole, 1993). Fakat hiçbir zaman ikisi aynı sinir lifinden salgılanmaz (Guyton ve Hall, 2001). Vücutta ACh, muskarinik reseptörler (M_1 , M_2 , M_3 , M_4 ve M_5) üzerinden, norepinefrin ise adrenerjik reseptörler α_1 (α_{1A} , α_{1B} ve α_{1D}), α_2 (α_{2A} , α_{2B} ve α_{2C}) ve β (β_1 , β_2 , β_3) üzerinden etki göstermektedir (Alexander, 2009).

Her iki grup reseptör de yedi transmembranal segmentli reseptör olup G proteini [guanozin trifosfat (GTP) bağlayan düzenleyici protein] ile kenetli reseptör süperailisine girerler (Kayaalp, 2005). Muskarinik ACh reseptörleri, birtakım santral ve periferik fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde eksitasyon veya inhibisyon yanıtlara yol açarlar (Eglen ve ark., 2001). M_1 reseptörü parasempatik ganglion ve sinir dokusunda, M_2 ve M_3 reseptörleri periferik dokularda (örneğin kalpte M_2 , mesane gibi düz kaslarda M_3), M_4 reseptörü akciğerde ve M_5 reseptörü santral sinir sisteminde bulunmaktadır (De Amici ve ark., 2003).

Mide-barsak kanalın fonksiyonları, kolinerjik ve adrenerjik sinirler yanında, intrinsik sinirler tarafından da kontrol edilmektedir. İntrinsik sinirlerden en yaygın olanı; longitudinal ve sirküler kas tabakası arasında bulunan myenterik pleksusu (Auerbach pleksusu) ile mide-barsak kanalın salgı bezlerini etkileyen ve submukozaya yerleşmiş submukoz pleksusudur (Meissner pleksusu) (Kayaalp, 2005).

İntrinsik sinirlerin diğeri bölümünü, kısa duyuşal sinirler ve ara sinirler oluşturmaktadır. Bunlardan kısa duyuşal sinirler, barsak lümenine gelen kimyasal ve mekanik uyarılara yanıt olarak enterokromafin hücrelerden taşıkinin ve serotonin gibi hormonlar salgırlar. Ara sinirler ise kolinerjik, dopaminerjik, serotonerjik ve non-adrenerjik non-kolinerjik (NANK) sinirlerden ibarettir (Kayaalp, 2005). NANK sinirlerin büyük kısmını, P maddesi, taşıkinin, vazoaaktif

intestinal peptit (VİP), enkefalin ve somatostatin (SMS) salgılayan peptiderjik ara sinirler oluşturur. Kalan diğer bölümünü; adenozin ve ATP salgılayan purinerjik ara sinirler ile nitrik oksid (NO) salgılayan nitreerjik ara sinirler oluşturur (Kayaalp, 2005).

Düz kaslarda hormonların ve lokal doku faktörlerin etkisi

Lokal doku faktörlerin düz kas kasılmasına etkisi

Düz kas kasılmalarının yaklaşık yarısı sinirsel olmayan ve aksiyon potansiyeli doğurmayan uyarılarla başlatılır. Özellikle küçük çaplı damarlar ve prekapiller sfinkterler, sinirsel innervasyonları yok veya çok az olduğundan lokal faktörlere duyarlıdır. Bu tip düz kaslarda oksijen eksikliği, karbondioksit fazlalığı ve hidrojen iyon konsantrasyonunun artması vazodilatasyona neden olur. Ayrıca adenozin, laktik asit, potasyum iyonlarının artması, kalsiyum iyon konsantrasyonunun azalması ve vücut ısısının azalması gibi lokal faktörler de vazodilatasyona neden olur (Guyton ve Hall, 2001).

Bazı düz kaslara uygulanan gerim gücü, mekanosensitif iyon kanallarının açılmasına ve dolayısı ile zar depolarizasyonu ve kasılmalara neden olmaktadır (Vander ve ark., 1994).

Hormonların düz kas kasılmasına etkisi

Vücutta dolaşan hormonların çoğu düz kas kasılmasını etkilemektedir. Epinefrin (adrenalin), anjiotensin, vazopresin, oksitosin, serotonin ve histamin kasılmayı etkileyen önemli hormonlardır (Guyton ve Hall, 2001).

Düz kas hücre zarında bulunan bazı hormon reseptörleri, sodyum veya kalsiyum kanallarını açarak zarı depolarize ederler. Bu olay bazen aksiyon potansiyeli oluşurken, bazen de var olan aksiyon potansiyeli güçlendirilir. Fakat çoğunlukla aksiyon potansiyeli olmadan depolarizasyon oluşur ve bu depolarizasyon kasılmayı meydana getiren kalsiyum girişi ile birlikte. Eğer hormonlar sodyum ve kalsiyum kanallarını kapatıp potasyum kanallarını açıyorsa membran zarı hiper polarize duruma geçer (Guyton ve Hall, 2001).

Her ne kadar çoğu kimyasal ajanlar, zar potansiyelini değiştirerek kasılma veya gevşemeye neden olsalar da, bazı kimyasal ajanlar membran potansiyelini değiştirmeden, ikinci habercileri tetikleyerek SR'dan kalsiyum salıverilmesine yol açarak kasılmaya neden olurlar (Vander ve ark., 1994). Örneğin bazı hormonlar SR'a yerleşmiş reseptörleri etkileyerek, kalsiyum salıverilmesine ve ardından kasılmaya neden olurlar. Diğer bazı hormonlar, hücre zarında bulunan adenilat siklazı veya guanilat siklazı aktive veya inhibe ederek etki gösterirler. Bunun sonucunda sAMP veya siklik 3',5'- guanozin monofosfat (sGMP) oluştururlar. İkinci haberci olarak bilinen bu ajanlar direkt olarak kasılmayı inhibe eden bazı enzimlerin fosforilasyon derecesini değiştirirler.

Kalp kası

Kalp kası, iskelet kası ile düz kasların özelliklerini taşımakta ve iskelet kasına oranla daha kısa hücrelerden oluşmaktadır. Kalp kas dokusu kalın ve ince liflerin düzenli dizilişi sonucu iskelet kası gibi çizgilenmeler gösterir. Bitişik hücrelerin uç uca geldikleri alanlara diskus interkalaris denir ve bu bölgeden geçen desmosomlar, miyofibrilleri birbirine bağlarlar. Ayrıca bu alanlarda, düz kaslarda

olduğu gibi bağlantılar da vardır ve bu bağlantılar kalp kas hücrelerini bir birine bağlayarak uyarının hızlı bir şekilde bütün kalbe yayılmasına yardımcı olurlar (Vander ve ark., 1994).

Kalp kasının innervasyonu

Kalp dokusu oldukça zengin bir sempatik ve parasempatik innervasyona sahiptir. Postganglionik sempatik sinirler norepinefrin salgılayarak (Vander ve ark., 1994), parasempatik sinirler (vagus) ACh salgılayarak (Bullock ve ark., 1994). Norepinefrin β_1 reseptörleri üzerinden etki ederken (Vander ve ark., 1994), ACh muskarinik M_2 reseptörleri üzerinden etki göstermektedir (Kayaalp, 2005).

Kalp kasında aksiyon potansiyeli

İskelet kas hücrelerin tersine, kalp kası sodyum iyon geçirgenliğindeki artış çok kısa sürelidir ve bu kanallar kapandıktan sonra membran repolarize duruma geçmeden önce kısa süreli bir plato evresinden geçer. Bu olay büyük ölçüde plazma membranındaki voltaja bağlı kalsiyum iyon kanallarının açık olmasından kaynaklanmaktadır. Yavaş kanallar olarak bilinen voltaja bağlı kalsiyum kanalları, sadece hücre dışına çıkan potasyum iyonlarını dengelediği için kısa süreli bir plato evresinin oluşmasına neden olmaktadır (Vander ve ark.1994).

Miyokard dokusunda bulunan sinoatrial (SA) düğüm hücreleri sürekli olarak yavaş bir depolarizasyon oluştururlar. Bu depolarizasyon pacemaker potansiyeli olarak bilinir ve membran potansiyelini eşik değere yükselterek aksiyon potansiyelinin oluşmasını tetikler. Atrioventriküler düğüm gibi kalp kas dokusundaki ileti sisteminin diğer bölgeleri de, SA düğümdeki gibi fakat daha yavaş olarak pacemaker potansiyelini oluşturabilirler (Vander ve ark.1994).

Kalp kasında eksitasyon-kasılma kenedi

Kalp kasının kasılması, depolarizasyondan hemen sonra başlar ve yaklaşık 1.5 kat daha uzun sürer (Ganong ve Hall, 2001). İskelet kasında olduğu gibi kas membranında meydana gelen aksiyon potansiyeli T-tübül sistemi aracılığı ile tüm miyokard dokusuna yayılır. İskelet kasında aksiyon potansiyelin kendisi sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salıverilmesine yol açarken, kalp kasında aksiyon potansiyelin depolarizasyon fazı T-tübüldeki voltaja duyarlı kalsiyum kanalların açılmasına neden olur. T-tübül aracılığı hücre içine giren kalsiyum iyonları, SR'dan yüksek miktarda kalsiyum salıverilmesini tetikler ve özellikle SR'dan salınan kalsiyum iyonları kasılmanın oluşmasında temel rol oynar. Daha sonra kalsiyum, troponin molekülüne bağlanarak çapraz köprü ve dolayısı ile kasılmayı başlatır. Kasılmanın ardından kalsiyum iyonları aktif transport sistemi ile SR'a ve hücre dışına geri pompalanır (Vander ve ark., 1994).

Kalp kasında aksiyon potansiyelin evreleri

Voltaja bağlı Na^+ kanalların açılması ve dolayısı ile yüksek oranda Na^+ iyonların hücre içine girişı ile depolarizasyonun oluşması evre 0 olarak bilinir (Ganong ve Hall, 2001). Evre 1'de, Na^+ kanalların kapanmasına, Ca^{++} kanalların açılması eşlik ettiğinden zar potansiyeli repolarizasyona doğru hafif bir değişme gösterir. Ca^{++} iyonların hücre içine yoğun girişı devam ederken, K^+ iyonlarının hafif çıkışı zar potansiyelini sifira yakın bir değere kadar gerilemesine evre 2 denir. Evre 3'te, hücre içine olan sodyum ve kalsiyum girişinin iyice azalması ve hücre dışına olan

K⁺ çıkışının artması hızlı bir repolarizasyonun gelişmesine yol açar (Bullock ve ark., 1994). Dinlenim zar potansiyeline dönüş evresi evre 4 olarak bilinir (Ganong ve Hall, 2001).

Faz 0 ile faz 3'ün ortasına kadar olan döneme (zar potansiyeli -50mV'a gelene kadar) mutlak refrakter periyod adı verilir ve bu dönemde kalp kası tekrar uyarılamaz. Kalp kası, daha sonra faz 4'a kadar bağıl olarak refrakter kalır (Ganong ve Hall, 2001).

Sinyal Transdüksiyonu

Vücutta bulunan nörotransmitter ve nöromodülatörlerin büyük kısmı amin, aminoasit ve peptid yapısındadır. Bu iyonize moleküller plazma membranını aşamazlar. Dolayısı ile hedef hücrede etki oluşturabilmeleri için plazma membranındaki reseptörlere bağlanmaları gerekir (Kayaalp, 2005). Hedef hücreye, hücre dışı sıvıdan ulaşan bu kimyasal uyarılar *birinci haberciler* olarak tanımlanır. Bu haberciler plazma membranındaki reseptörlerde yapısal bir değişikliğe yol açarak aktive olmalarına neden olur ve bu olay *reseptör aktivasyonu* olarak bilinir. Reseptör aktivasyonu sonucu alınan sinyaller hedef hücrede bir takım özgül yanıtın oluşmasına (kasılma, salgılama, vs.) yol açar. Birinci habercilerden alınan sinyalin, reseptör aktivasyonu ve hücrede bir dizi reaksiyona dönüştürülmesi işlemine *sinyal transdüksiyonu* denir (Vander ve ark., 1994).

Plazma membran reseptörleri sinyal transdüksiyon mekanizmalarına göre üç gruba ayrılabilir. Birinci grupta, reseptörün kendisi bir iyon kanalı (katyonik veya anyonik) olarak görev yapmaktadır (Vander ve ark., 1994). Nikotinik, gama-aminobütirik asid (GABA_A), glisin, iyonotropik glutamat, aspartat ve serotonin 5-hidroksitriptamin-3 (5-HT₃) reseptörleri bu grup için örnek teşkil eder (Kayaalp, 2005).

İkinci grupta yer alan reseptörlerin kendileri protein kinaz enzimi olarak görev yaparlar. Tirozin kinaz reseptörü bu grup için örnek gösterilebilir (Vander ve ark., 1994).

Üçüncü grup reseptör ise, plazma membranında bulunan G-proteini aracılığı ile efektör makromolekülleri etkiler. Efektör makromoleküller, adenilil siklaz, guanilil siklaz, fosfolipaz C veya iyon kanalı olabilir (Vander ve ark., 1994). Bu reseptörler, plazma membranını yedi kez kat ederler ve 50'den fazla tiplerin var olduğu bilinmektedir (Taylor, 1993). Bu reseptörlere G-proteini ile kenetlenen reseptörler adı da verilmektedir. GABA_B ve metabotropik glutamat reseptörleri, ayrıca nikotinik ve 5HT₃ reseptörü dışında kalan bütün amin yapılı nörotransmitter ile peptiderjik reseptörlerin hepsi bu grup için örnek gösterilebilir (Kayaalp, 2005).

Merkezi sinir sisteminde ve periferik dokularda en az 12 çeşit G proteininin var olduğu saptanmıştır. Bu proteinler α , β ve γ alt birimlerden oluşan heterotrimerik bir yapıya sahiptirler. G proteini türüne özel olan, GTP bağlayan ve reseptör ile efektör moleküllerle etkileşen alfa alt birimidir. Alfa alt birimi guanozin difosfat'a (GDP) ve diğer alt birimlere bağlı iken aktif değildir. Reseptörün uyarılması ile GDP α -alt birimden ayrılır ve GTP onun yerini alır. GTP, α alt biriminin diğer alt

birimlerden ayrılmasına ve dolayısı ile aktivasyonuna neden olmaktadır (Kayaalp, 2005).

Aktive olmuş α alt birim G_α olarak bilinir ve efektör makromolekülleri etkileyerek ikinci haberci denem moleküllerin yapımını artırır veya azaltır. Bazı efektör makromoleküller $G_{\beta\gamma}$ alt birimi tarafından aktive (kalp dokusunda adenilil siklazın reseptörle çalıştırılan K^+ kanalları gibi) veya inhibe olabirler (Kayaalp, 2005).

G proteini tarafından aktive edilen efektör makromoleküller (enzimler veya iyon kanalları) membran potansiyelini değıştirirler veya ikinci habercilerin yapımını tetiklerler. Eğer G proteini efektör makromolekülleri aktive ediyorsa veya ikinci haberci yapımını arttırıyorsa stimüle edici G proteini (G_s) adını alır. Ancak efektör makromolekül yapımını azaltıyorsa inhibe edici G proteini (G_i) adını alır (Vander ve ark., 1994).

ATP'den sAMP oluşumunu tetikleyen adenilil siklaz enzimi en az 9 tipi vardır (Kayaalp, 2005). sAMP, protein kinaz A (PKA) enzimini fosforilize eder. PKA aynı hücrede çok sayıda proteini aktive edebilir ve aynı hücrede farklı yanıtlara neden olabilir. Yine PKA, bazı enzimleri aktive ederken diğer bazılarını inhibe edebilir. Bu olayların sonunda sAMP, fosfodiesteraz enzimi tarafından tekrar adozin monofosfat'a (AMP) döüştürülerek inaktive edilir (Vander ve ark., 1994).

Guanilil siklaz enzimi GTP'den sGMP yapımını etkiler. sGMP ise protein kinaz G (PKG) enzimini fosforilize eder. PKG ise diğer proteinleri aktive ederek etki gösterir (Vander ve ark., 1994).

Fosfolipaz C, G-proteini tarafından aktive edildikten sonra membran fosfolipidlerinden fosfatidilinositol 4,5-bifosfat'ı hidrolize ederek diaçilgliserol (DAG) ve IP_3 oluşumunu tetikler. İkincil habercilerden DAG, PKC enzimini fosforilize ederken, PKC plazma membranı ile bağlantılı düzenleyici proteinlerin çalışmasını düzenler. IP_3 , ER'dan Ca^{+2} iyonlarının geçişine aracılık etmektedir (Vander ve ark., 1994; Domeier ve ark., 2008).

Reseptörler farklı yollarla iyon kanallarını aktive edebilirler. Bazı reseptörler iyon kanalı içerirler ve uyarıldıklarında kanalı aktive ederler. Diğer bazıları G-proteini ile kenetli kanalı aktive ederler veya G-proteinin oluşturduğu ikinci haberciler aracılığı ile kanalı aktive ederler (Vander ve ark., 1994).

Ca^{+2} ikinci haberci olarak çalışarak, kalmodülini veya kalmodüline benzer çok sayıda proteini aktive edebilir. Kalmodülin çok sayıda enzimi ve proteini aktive veya inhibe ederek etki gösterir. Ayrıca Ca^{+2} bazı proteinlere direkt bağlanarak da etki edebilir (Vander ve ark., 1994).

Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Kasılma Yanıtların Oluşması

EAS, izole sinir veya izole kas preparatlarında kasılma yanıtlarının oluşmasında aracılık etmektedir (Ohhashi ve ark., 1980). Bu kasılma yanıtı temel olarak organı innerve eden sempatik sinirlerden NA saliverilmesi veya parasempatik sinirlerden ACh saliverilmesi üzerinden oluşmaktadır. Ancak söz konusu sinirler dışında, adrenerjik ve kolinerjik olmayan sinirlerin de organ kasılmalarının oluşmasında rol oynadıkları bilinmektedir. Diğer yandan organları innerve eden postganglionik sinir uçlarından nörotransmitter maddelerle birlikte saliverilen nöropeptid Y, VIP,

SMS, P maddesi, kalsitonin geniyle ilişkili peptid (CGRP), ve ATP gibi birçok nöromodülatör maddenin de kasılma yanıtlarının şekillenmesinde katkıda buldukları bilinmektedir (Shirakawa ve ark., 1989; Patacchini ve ark., 1999; Waseda ve ark., 2005; Kasperek ve ark., 2007). Nitroerjik sınırlardan salınan NO, kasılma yanıtları üzerinde inhibitör etki gösterdiği belirtilmiştir (Williams ve Parsons, 1995).

Kalp dokusunda NO, çözünebilir guanilil siklaz enzimi üzerinden sGMP sentezini artırarak kalp hızına ve kasılma gücüne farklı mekanizmalar üzerinden aracılık ettiği ileri sürülmüştür (Cheah ve ark., 2002). NO'in sentezinde hafif bir artış olduğunda kalp dokusunu koruduğu ancak patolojik bir artış olduğunda kalp dokusunu deprese ettiği gösterilmiştir (Mohan ve ark., 1995; Kojda ve ark., 1996).

EAS ile oluşturulan organ kasılmalarının opioid sistemi tarafından farklı reseptörler üzerinden inhibe olduğu ve bu inhibisyonun temel olarak Gs-kenetli opioid reseptörler üzerinden gerçekleştiği gösterilmiştir (Kojima ve ark., 1994; Zappi ve ark., 1995). Elektriksel uyarılarla indüklenen ileum kasılmalarında morfin kolinerjik sinir uçlarından ACh salınmasını azaltarak kasılmaları deprese ettiği gösterilmiştir (Paton, 1957). Morfinin gevşetici etkisi izole mesane dokusunda daha zayıf olduğu bildirilmiştir (Fennessy ve ark., 1969). Morfin EAS ile oluşturulan fare vas deferens kasılmalarını inhibe ederken tavşan, kobay, sıçan ve kedi vas deferens kasılmalarını inhibe etmediği ileri sürülmüştür (Hughes ve ark., 1975). Farklı bir çalışmada ise morfin, sıçan vas deferens kasılmalarını deprese ettiği gösterilmiştir (Ishii ve ark., 1981).

İleum preparatlarında elektriksel uyarıyla oluşturulan kasılma yanıtlarının atropin ve tetrodotoksine duyarlı olduğu (Nachev ve ark., 2008) ve ACh salınmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Blandina ve ark., 1984). Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda ATP (Barthó ve ark., 1997) ve P maddesi (Ivancheva ve ark., 1998) gibi nöromodülatörlerin de ileum preparatlarında ACh salınması üzerinde düzenleyici role sahip oldukları gösterilmiştir (Undi ve ark., 2006).

EAS ile oluşturulan izole mesane kasılma yanıtlarında kolinerjik ve purinerjik sınırların rol oynadığı bildirilmiştir (Ziganshin ve ark., 1995). Mesanede ganglion sonrası sinir ucundan ACh ile birlikte salınan ATP kendine özgü reseptörleri üzerinden etki gösterdiği ileri sürülmüştür. Yapılan bir çalışmaya göre kolinerjik komponentin kasılmalara katılım oranı frekansın düşürülmesi ile azalmıştır. ATP'nin purinerjik yanıtın oluşmasında önemli olduğu gösterilmiştir (Tong ve ark., 1997; Gourine ve ark., 2009).

Hipogastrik siniri elimine edilerek izole organ banyosuna aktarılan vas deferens dokusunun elektriksel olarak uyarılması ganglion sonrası adrenerjik sinirler üzerinden eksitasyona neden olmaktadır. Diğer bazı izole organlarla karşılaştırıldığında hızlı bir şekilde kasılma veya gevşeme yanıtların alınması dolayısıyla adrenerjik sisteminin farmakolojik çalışmaları için oldukça yararlı bir organ olduğunu göstermiştir (Long ve Chiou, 1970). Otonomik innervasyona sahip vas deferens dokusunun elektriksel olarak uyarılması NA ile birlikte ATP salınmasına neden olduğu bildirilmiştir (Brown ve ark., 1983; Ellis ve Burnstock, 1989). Kasılma yanıtının başlangıcında olan fazik komponentin hızlı olduğu ve ATP salınmasından kaynaklandığı fakat stimülasyon süresince devam eden ve yavaş olan ikinci komponentin NA salınmasından

kaynaklandığı bildirilmiştir. Ayrıca purinerjik komponentin prostatik segmentte daha baskın iken, adrenerjik komponentin epididymal segmentte daha baskın olduğu gösterilmiştir (Major ve ark., 1989).

Kardiak dokusunun elektriksel stimülasyonu otonom sinirlerden NA ile birlikte ACh salıverilmesine neden olduğu ileri sürülmüştür. Özellikle sempatik sinirlerden NA salıverilmesi farklı mekanizmalar üzerinden olduğu düşünülmüştür (Standen, 1978). Elektriksel uyarının şiddeti veya süresi arttırıldığında, nörotransmitter salıverilmesinde de artış meydana gelmiştir (Blinks ve Plummer, 1966). Ayrıca adrenerjik sinir uçlarında NA ile birlikte bulunan noropeptid Y (Haass ve ark., 1989) ve CGRP (Rubino ve Burnstock, 1996) gibi moleküllerin de atrium kasılmaları üzerinde düzenleyici etki göstermiş olabileceği belirtilmiştir.

In vivo olarak kardiyovasküler sistemde ve mide, duodenum, ileum gibi çeşitli organların kasları üzerinde etkileri gösterilmiş olan 1,8-sineol ve karvakrol'un yapısal olarak benzer molekül olan 1,4-sineol ile birlikte EAS yöntemi ile farmakolojik etkilerinin araştırılması, bu çalışmada amaçlanmıştır.

GEREÇLER

Deney hayvanları

Çalışmamızda Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanarak temin edilen her iki cinsten, 300-350 g ağırlığında albino sıçanlar kullanılmıştır. Kullanılan hayvanlar Anadolu Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama birimi tarafından temin edilmiştir. Albino sıçanlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde ve 20-24°C sıcaklıktaki iyi havalandırılan odalarda tutulmuştur ve ticari olarak satın alınan standart fare yemi (Bil-Eks, Ankara) ve çeşme suyu ile beslenmişlerdir. Hayvanlar deney öncesi çeşme suyu kısıtlaması olmadan 12 saat aç bırakılmışlardır.

Kullanılan kimyasal maddeler

CaCl ₂ · 2H ₂ O	(Riedel-deHaën)
C ₆ H ₁₂ O ₆ ·H ₂ O	(Merck, Darmstadt, Germany)
KCl	(Merck, Darmstadt, Germany)
KH ₂ PO ₄	(Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)
MgCl ₂	(Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, Germany)
NaCl	(Merck, Darmstadt, Germany)
NaHCO ₃	(Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)
DMSO	(Riedel-deHaën)
Nalokson	(Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)
1,4-Sineol	(Sigma-Aldrich, Steinheim, USA)
1,8-Sineol	(Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)
Karvakrol	(Fluka-Buchs, İsviçre)
N ^G -nitro-L-arjinin	(Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)

Kullanılan cihaz ve malzemeler

Cerrahi araç ve gereçler	
Digital stimulatör	: LE 12106, İspanya.
Duyarlı terazi	: Ohaus, E 12140, İsviçre.
Enjektörler	: 1, 2, 5 mL, Hayat A. Ş., Türkiye.
İzole organ banyosu	: Ugo-Basile, cat. 4050, İtalya.
İzotonik transdüser	: Ugo-Basile, cat. 7006, İtalya.
İzometrik transdüser	: Ugo-Basile, cat. 7003, İtalya.
Recorder gemini	: Ugo-Basile, cat. 7070, İtalya.

YÖNTEMLER

İzole Organ Banyosu Deneyleri

Dişi ve erkek albino sıçanlara servikal dislokasyon uygulandıktan sonra longitudinal abdominal ve torakal insizyonla karın ve göğüs boşluğu açılmıştır. İleum, mesane detrusor kası, vas deferens ve sol atriumdan preparatlar alınarak, soğuk Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonu içeren petri kabına konmuştur. Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonun bileşimi litrede 119 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 2.5 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 25 mM NaHCO₃, 1.2 mM KH₂PO₄ ve 11.1 mM Glukoz olacak şekilde hazırlanmıştır (Huang ve ark., 1997).

Deney hayvanlarından alınan organlar, çevredeki yağ ve diğer dokulardan arındırıldıktan sonra 37°C'de %95 O₂ ve %5 CO₂ ile havalandırılan izole organ banyosuna aktarılmıştır. Ardından doku örneğinin bir ucu izole organ banyosuna diğer ucu ise transdüserle bağlanmıştır.

Deneye başlamadan önce organların banyo ortamına adapte olmalarını sağlamak için 20 dakika aralarla Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonundan geçirilerek bir saat süre ile dinlendirilmiştir. Deney sırasında ileum, mesane, prostatik vas deferens ve sol atriuma 1 g, epididymal vas deferense 0.5 g gerim uygulanmıştır. İleum, mesane, prostatik ve epididymal vas deferens yanıtları izotonik transdüserle, sol atrium yanıtları izometrik transdüserle algılanıp kaydedici cihaz aracılığıyla kaydedilmiştir.

Çalışmamızda elektriksel alan stimülasyonu (EAS) yöntemi kullanılarak kas preparatlarının elektriksel uyarıya verdiği yanıtlar incelenmiştir. Bu yöntem dolaylı olarak nöromusküler kavşak öncesi sinirlerden nörotransmitter salıverilmesini indükleyerek kasılma yanıtının oluşmasını sağlamaktadır.

Bu amaçla stimülatör olarak LE 12106 DIGITAL STIMULATOR (Single Channel) kullanılmıştır. Elektriksel alanın oluşturulmasında; iki adet halka şeklinde 1 cm çaplı, aralarında 4 cm'lik mesafe bulunacak şekilde tasarlanmış elektrotlardan hazırlanan düzenek kullanılmıştır. Doku preparatları, halka elektrotların ortasından geçecek şekilde izole organ banyosuna yerleştirilmiş ve deney süresince dokuların elektrotlara temas etmemesine özen gösterilmiştir.

Test maddeleri lipofilik özelliğe sahip olduklarından, deneylerde çözücü olarak dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılmıştır. Kontrol doz yanıtının alınmasında DMSO 1:1 oranında sulandırılarak kullanılmıştır. Tüm test maddeleri için deneyler öncesinde 1M'lık (DMSO kullanılarak) stok solüsyonlar hazırlanmıştır. Preparatlara uygulanan test maddeleri, bu stok solüsyonlardan seyreltilerek kullanılmıştır.

Her organ için 30 mM KCl (vas deferens için 60 mM kullanılmıştır) doz yanıtı alınmış ve en az üç kez yıkanıp dinlendirilen organdan kontrol (DMSO, 1:1) doz yanıtı alınmıştır. Test maddesinin kümülatif doz yanıtı ve son olarak 5 dakika önceden antagonistlere maruz bırakılan organın kümülatif doz yanıtı alınmıştır. Her bir kümülatif doz yanıtın ardından organ 5 dakika arayla 3 kez Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonu ile yıkanmış ve 15-20 dakika süreyle dinlendirilmiştir. Her deney sonunda üç kez yıkanarak dinlendirilen organın KCl ile kasılabilmesi, kullanılan bütün test maddelerin geri dönüşümlü bir etkiye sahip olduklarını göstermektedir.

Çalışmalarımızda her bir kümülatif doz yanıtın alınmasına başlamadan önce organ birkaç dakika (5-10) elektriksel stimülasyona maruz bırakılarak kasılmaların stabil hale gelmesi sağlanmış ve ardından doz yanıtın alınmasına geçilmiştir. Ayrıca test maddelerinin bir sonraki dozunu uygulamadan önce de organ kasılmalarının stabil hale gelmesi için beklenmiştir.

Deneylede her bir preparatın tek bir deneysel protokol için kullanılmasına özen gösterilmiştir. Ayrıca izole edilen doku örnekleri bekletilmeden deneylede kullanılmıştır. Deneyle boyunca banyo ortamına ilave edilen test maddelerin toplam hacmi, banyo hacminin %5 kadarını geçmemiştir.

Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan İleum Deneyleleri

İzole ileum deneylelerinde erkek sıçanlar kullanılmıştır. Longitudinal abdominal insizyonla karın boşluğu açıldıktan sonra ileo-çekal valvın yaklaşık 15 cm proksimalinden 10-15 mm uzunluğunda tüp şeklinde içi boş ileum segmenti alınarak, Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonu içeren petri kabına konulmuştur. Organ bitişik dokulardan arındırıldıktan sonra halka elektrotlardan geçirilerek izole organ banyosuna aktarılmıştır. Ardından 1 g gerim uygulanarak izotonik transdüserle bağlanmıştır. Preparatlar, organ banyosu ortamına adapte olmalarını sağlamak amacıyla bir saat süreyle bekletilmiştir. Bu süre içerisinde dokular 20 dakika arayla Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonundan geçirilmiştir. Elektrotlar, 40 V gerilim altında, 8 saniye süreyle 8 Hz frekanslı, 1 ms durasyonlu ve her 60 saniyede bir elektriksel uyarı oluşturacak şekilde ayarlanan stimülatöre bağlanmıştır.

Adaptasyon süresinin sonunda ileum preparatları 30 mM KCl ile uyarılarak kasılma yanıtları oluşturulmuştur. Takiben dokular yıkanmış ve bu işlem 5 dakika arayla 3 kez tekrarlanmıştır.

Son yıkama işleminden 15 dakika sonra, düz kas preparatlarından EAS için kontrol (DMSO) kasılma yanıtları alınmıştır. Yanıtlar sonrasında yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Yıkama işlemi her 5 dakikada 1 kez olmak üzere 3 kez tekrarlanmıştır. Ardından 15 dakika dinlendirilen organa EAS uygulanarak, 1,4-sineol ile 1,8-sineol için 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 5×10^{-4} ve 10^{-3} M, karvakrol için 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 5×10^{-5} ve 10^{-4} M kümülatif doz yanıtları alınmıştır. Takiben yapılan yıkama işlemi, her 5 dakikada 1 kez olmak üzere 3 kez tekrarlanmıştır. Son yıkama işleminden 10 dakika sonra banyo ortamına 10^{-6} M nalokson ilave edilmiş ve doku örneklerinin naloksonla muamele olabilmeleri için 5 dakika süreyle beklenmiştir. Ardından nalokson etkisi altındaki dokulardan, EAS varlığında test maddelerinin kümülatif doz yanıtları alınmıştır.

En son aşamada, ileum preparatları 5 dakika arayla 3 kez yıkanmıştır. Takiben doku preparatları 15 dakika dinlendirilmiş ve 30 mM KCl ile uyarılarak kasılma yanıtları oluşturulmuştur.

Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Mesane Deneyleleri

Albino sıçanlara servikal dislokasyon uygulandıktan sonra abdominal insizyonla karın boşluğu açılmıştır. Mesane dokusu üreterler hizasından kesilerek soğuk Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonu içeren petri kabına konulmuştur (Liu ve Daneshgari., 2005). Ardından mesane, bağ dokusundan arındırılmış ve detrusor kasından oluşan tek bir preparat hazırlanmıştır. İzole mesane preparatı, halka

elektrotlardan geçirilmiş ve 37°C’de s¼rekli havalandırılan izole organ banyosuna aktarılmıştır. İzotonik transd¼sere bağlanan izole mesane preparatına 1 g gerim uygulanmıştır. Her 20 dakikada bir kez Krebs-Henseleit fizyolojik sol¼syonundan geçirilen dokuların 60 dakika s¼reyle banyo ortamına adapte olmaları sağlanmıştır. Elektrotlar, 20 V gerilim altında, 6 saniye s¼reyle, 1 Hz frekanslı, 1 ms durasyonlu ve her 60 saniyede bir elektriksel uyarı oluşturacak şekilde ayarlanan stim¼lat¼re bağlanmıştır.

Bir saatlik dinlenim periyodunun sonunda, 30 mM KCl ilavesiyle kasılma yanıtları alınmıştır Takiben dokular yıkanmış ve bu işlem 5 dakika arayla 3 kez tekrarlanmıştır.

Son yıkama işleminden 15 dakika sonra, izole mesane preparatlarından EAS i¼in kontrol (DMSO) kasılma yanıtları alınmıştır. Sonra yıkama işlemi yapılmış ve bu işlem 5 dakika arayla 3 kez tekrarlanmıştır. Ardından 15 dakika dinlendirilen organa EAS uygulanarak, 1,4-sineol ile 1,8-sineol i¼in 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M, karvakrol i¼in 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M k¼m¼latif doz yanıtları alınmıştır. Takiben yapılan yıkama işlemi, her 5 dakikada 1 kez olmak üzere 3 kez tekrarlanmıştır. Son yıkama işleminden 10 dakika sonra banyo ortamına 10^{-6} M nalokson ilave edilmiş ve doku ¼rneklerinin naloksonla muamele olabilmeleri i¼in 5 dakika s¼reyle beklenmiştir. Ardından nalokson etkisi altındaki preparatlardan, EAS varlığında test maddelerinin k¼m¼latif doz yanıtları alınmıştır.

En son aşamada, mesane preparatları 5 dakika arayla 3 kez yıkanmıştır. Takiben doku preparatları 15 dakika dinlendirilmiş ve 30 mM KCl ile uyarılarak kasılma yanıtları oluşturulmuştur.

Elektriksel Alan Stim¼lasyonu ile Uyarılan İzole Sı¼an Epididymal Vas deferens Deneylei

Servikal dislokasyon uygulanan sı¼anların karın boşlukları longitudinal abdominal insizyon ile a¼ılarak vas deferense ulaşılmıştır. Vas deferens ¼ıkarılarak soğuk Krebs-Henseleit fizyolojik sol¼syonu i¼eren petri kabına konulmuştur. Takiben izole vas deferens ¼evredeki bitişik dokulardan arındırılmış ve eşit uzunlukta ¼¼ b¼l¼me ayrılmıştır (B¼ltmann ve ark., 1994). Vas deferensin ortada kalan ¼¼te birlik kısmı deneylelerde kullanılmamıştır (Ozyavuz ve ark., 2004). Epididymal vas deferensten hazırlanan preparat, halka elektrotlardan geçirilerek, 37°C’de s¼rekli havalandırılan izole organ banyosuna alınmıştır. Bir ucu izole organ banyosuna, diğer ucu izotonik transd¼sere bağlanan organa 0.5 g gerim uygulanmıştır. Elektrotlar, 25 V gerilim altında, 1 saniye s¼reyle, 4 Hz frekanslı, 0.5 ms durasyonlu ve her 60 saniyede bir elektriksel uyarı oluşturacak şekilde ayarlanan stim¼lat¼re bağlanmıştır.

İzole organ banyosunda bir saat s¼reyle dinlendirilen organın 60 mM KCl kasılma yanıtı alınmıştır. Takiben 5 dakika arayla 3 kez yıkanmıştır.

Son yıkama işleminin ardından 15 dakika dinlendirilen organdan, EAS i¼in kontrol (DMSO) kasılma yanıtları alınmıştır. Ardından yıkama işlemi yapılmış ve bu işlem 5 dakika arayla 3 kez tekrarlanmıştır. 15 dakika dinlendirilen organa EAS uygulanarak, 1,4-sineol ile 1,8-sineol i¼in 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M, karvakrol i¼in 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M k¼m¼latif doz yanıtları alınmıştır. Takiben organ yıkanmış, yıkama işlemi her 5 dakikada 1 kez olmak üzere 3 kez

tekrarlanmıştır. Son yıkama işleminden 10 dakika sonra banyo ortamına 10^{-6} M nalokson ilave edilmiş ve doku örneklerinin naloksonla muamele olabilmeleri için 5 dakika süreyle beklenmiştir. Ardından nalokson etkisi altındaki dokulardan, EAS varlığında test maddelerinin kümülatif doz yanıtları alınmıştır.

Deneyleerin son aşamasında, preparatlar 5 dakika arayla 3 kez yıkanmıştır. Takiben preparatlar 15 dakika dinlendirilmiş ve 60 mM KCl ilave edilerek kasılma yanıtları kaydedilmiştir.

Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Prostatik Vas deferens Deneyleeri

Soğuk Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonu içeren petri kabına alınan vas deferens dokusundan, prostatik vas deferens bölümü kesilerek, 1 cm uzunluğunda bir preparat hazırlanmıştır. Preparatlar halka elektrotlardan geçirilerek, 37°C 'de sürekli havalandırılan izole organ banyosuna aktarılmıştır. Preparatlar, 1 g gerim altında bir saat süreyle dinlendirilmiştir. Bu süre içerisinde 20 dakika arayla Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonundan geçirilmiştir. Elektrotlar 25 V gerilim altında, 1 saniye süreyle, 4 Hz frekanslı, 0.5 ms durasyonlu ve her 60 saniyede bir elektriksel uyarı oluşturacak şekilde ayarlanan stimülatöre bağlanmıştır.

İzole organ banyosunda bir saat süreyle dinlendirilen organın 60 mM KCl kasılma yanıtı alınmıştır. Takiben 5 dakika arayla 3 kez yıkanmıştır.

Son yıkama işleminin ardından 15 dakika dinlendirilen organdan, EAS için kontrol (DMSO) kasılma yanıtları alınmıştır. Ardından yıkama işlemi yapılmış ve bu işlem 5 dakika arayla 3 kez tekrarlanmıştır. 15 dakika dinlendirilen organa EAS uygulanarak, 1,4-sineol ile 1,8-sineol için 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M, karvakrol için 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M kümülatif doz yanıtları alınmıştır. Takiben organ yıkanmış, yıkama işlemi her 5 dakikada 1 kez olmak üzere 3 kez tekrarlanmıştır. Son yıkama işleminden 10 dakika sonra banyo ortamına 10^{-6} M nalokson ilave edilmiş ve doku örneklerinin naloksonla muamele olabilmeleri için 5 dakika süreyle beklenmiştir. Ardından nalokson etkisi altındaki dokulardan, EAS varlığında test maddelerin kümülatif doz yanıtları alınmıştır.

Deneyleerin son aşamasında, preparatlar 5 dakika arayla 3 kez yıkanmıştır. Takiben preparatlar 15 dakika dinlendirilmiş ve 60 mM KCl ilavesiyle kasılma yanıtları saptanmıştır.

Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atrium Deneyleeri

Erkek albino sıçanlara servikal dislokasyon uygulandıktan sonra hızlı bir şekilde longitudinal torakal insizyonla göğüs boşluğu açılmıştır. Perikard zarı kesilerek sol atrium alınmış ve Soğuk Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonu içeren petri kabına konulmuştur. Ardından izole sol atrium, halka elektrotlardan geçirilerek sürekli havalandırılan izole organ banyosuna aktarılmıştır. Bir ucu izometrik transdüser, diğer ucu izole organ banyosuna bağlanan sol atriuma 1 g gerim uygulanmıştır (Rubino ve ark., 1997). Sol atriumun izole organ banyosuna adapte olması için 20 dakika arayla Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonundan geçirilerek bir saat süreyle dinlendirilmiştir. Elektrotlar 18 V gerilim altında, 1 saniye süreyle, 1 Hz frekanslı, 0.080 ms durasyonlu ve her 60 saniyede bir elektriksel uyarı oluşturacak şekilde ayarlanan stimülatöre bağlanmıştır.

İzole organ banyosunda dinlenen organa, 30 mM KCl uygulanarak kasılma yanıtları alınmıştır. Ardından sol atrium yıkanmış ve bu yıkama 5 dakika arayla 3 kez tekrarlanmıştır.

Yıkama işleminden sonra sol atrium 15 dakika süreyle dinlendirilmiş ve kontrol (DMSO) kasılma yanıtları alınmıştır. Takiben yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Yıkama işlemi her 5 dakikada 1 kez olmak üzere 3 kez tekrarlanmıştır. Ardından 15 dakika dinlendirilen organdan, 1,4-sineol ve 1,8-sineol için 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M, karvakrol için 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 5×10^{-5} M kümülatif doz yanıtları alınmıştır. Takiben organ yıkanmış, yıkama işlemi her 5 dakikada 1 kez olmak üzere 3 kez tekrarlanmıştır. Son yıkama işleminden 10 dakika sonra banyo ortamına 10^{-6} M nalokson ilave edilmiş ve doku örneklerinin naloksonla muamele olabilmeleri için 5 dakika süreyle beklenmiştir. Ardından nalokson etkisi altındaki dokulara, EAS uygulanarak test maddelerinin kümülatif doz yanıtları alınmıştır. Dişi sıçanların kullanıldığı farklı deney gurubunda son yıkama işleminden 10 dakika sonra banyo ortamına 10^{-4} M N-nitro-L-arjinin (NoARG) ilave edilmiş ve doku örneklerinin NoARG'la muamele olabilmeleri için 5 dakika süreyle beklenmiştir. Ardından NoARG etkisi altındaki dokulardan, EAS varlığında test maddelerin kümülatif doz yanıtları alınmıştır.

En son aşamada, izole sol atrium 5 dakika arayla 3 kez yıkanmıştır. Takiben 15 dakika süreyle dinlendirilmiş ve 30 mM KCl uygulanarak kasılma yanıtları oluşturulmuştur.

İstatistiksel Hesaplamalar ve Verilerin Analizi

İstatistiksel hesaplamalar için en az 7 hayvandan elde edilen veriler işleme alınmıştır. Her deney serisinde, elektriksel uyarıyla oluşturulan maksimum organ kasılma yanıtı 100 olarak kabul edilmiş ve elektriksel uyarıyla oluşturulan diğer kasılma yanıtları onun yüzdesi olarak ifade edilmiştir. SPSS paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizini takiben Tukey HSD çoklu karşılaştırma yöntemi ile anlamlılık testi yapılmış ve $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

İstatistiksel hesaplamalar sonucunda elde edilen ortalama değerler Microsoft Office Excel programı ile şekilsel olarak gösterilmiştir. Şekillerde kullanılan her bir değer, ortalama \pm ortalamanın standart hatası olarak ifade edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan İleum Deneylerin Sonuçları

Karvakrol'ün izole sıçan ileum kasılmalarına etkisi

EAS ile uyarılan izole sıçan ileum preparatlarında karvakrol'ün kümülatif 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 5×10^{-5} ve 10^{-4} M dozları test edilmiştir. Kontrol kasılmaları karşılaştırıldığında karvakrol 5×10^{-5} ile 10^{-4} M dozlarında ileum kasılmalarını istatistiksel olarak anlamlı ($P < 0.05$) bir şekilde inhibe etmiştir. Karvakrol, 5×10^{-5} M dozunda organ kasılmalarını $\% 83.75 \pm 3.74$ 'ten $\% 30.45 \pm 3.37$ 'ye, 10^{-4} M dozunda ise $\% 79.03 \pm 4.47$ 'den $\% 2.34 \pm 1.12$ 'ye kadar inhibe etmiştir (**Şekil 1**).

Banyo ortamına 10^{-6} M nalokson ilave edildikten 5 dakika sonra uyarılan preparatta karvakrol kontrol gurubuyla karşılaştırıldığında 5×10^{-5} ile 10^{-4} M dozların yanında, 10^{-5} M dozunda da istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur (**Şekil 1**). Nalokson varlığında karvakrol ileum kasılmalarını; 10^{-5} M dozunda $\% 82.03 \pm 3.38$ 'den $\% 62.63 \pm 6.56$ 'ya, 5×10^{-5} M dozunda $\% 83.75 \pm 3.74$ 'ten $\% 21.94 \pm 5.27$ 'ye ve 10^{-4} M dozunda $\% 79.03 \pm 4.47$ 'den $\% 1.02 \pm 1.02$ 'ye kadar inhibe etmiştir. Bu değerler dikkate alındığında nalokson, karvakrol'ün ileum kasılmalarını inhibe edici etkisini arttırmış ve 10^{-5} M dozunda karvakrol'ün yaptığı inhibisyonu istatistiksel olarak anlamlı kılmıştır. Ancak karvakrol'ün 10^{-6} M nalokson varlığında alınan doz yanıtları ile nalokson yokluğunda alınan doz yanıtları arasında istatistiksel olarak anlamlılık olmadığı gözlenmiştir (**Şekil 1**) (**Çizelge 1**).

1,8-Sineol'ün izole sıçan ileum kasılmalarına etkisi

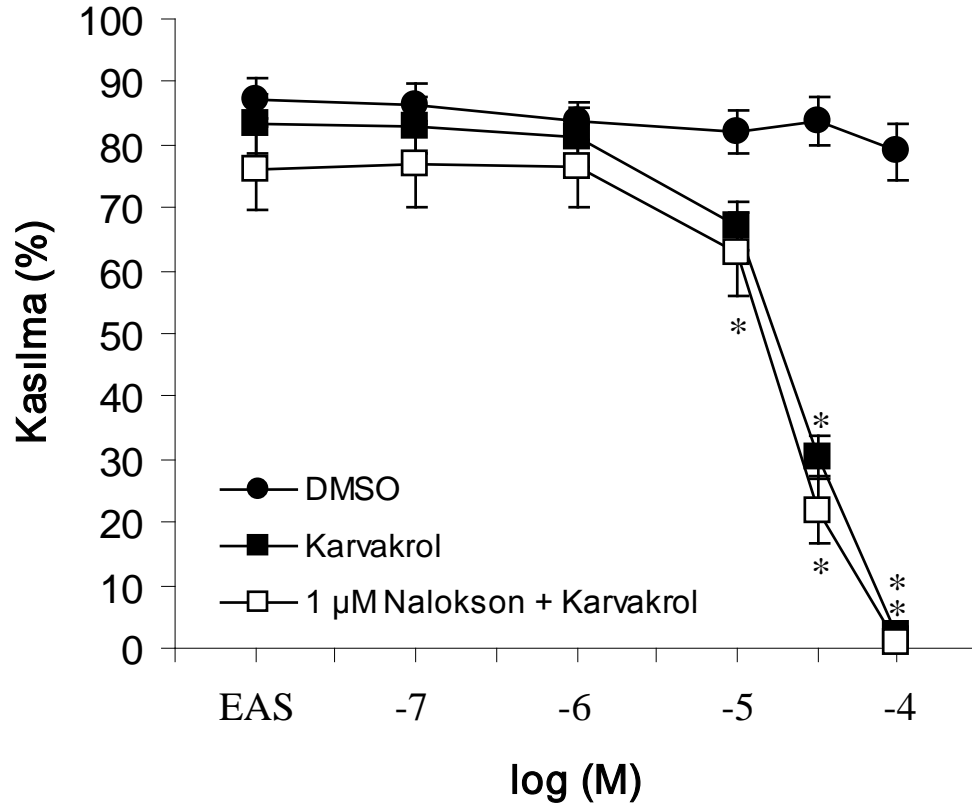
İzole sıçan ileum preparatlarında 1,8-sineol'ün kümülatif 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 5×10^{-4} ve 10^{-3} M dozları test edilmiş ve kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında 1,8-sineol sadece 10^{-3} M dozunda istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. Bu dozda 1,8-sineol, ileum kasılmalarını $\% 68.18 \pm 4.02$ 'den $\% 7.27 \pm 0.97$ 'ye kadar inhibe etmiştir (**Şekil 2**).

Nalokson'un deney ortamına ilave edilmesi durumunda 1,8-sineol, kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında ileum kasılmalarını 10^{-3} M dozun yanında 5×10^{-4} M dozunda da istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe etmiştir. Nalokson varlığında 1,8-sineol, ileum kasılmalarını 5×10^{-4} M dozunda $\% 72.51 \pm 3.86$ 'dan $\% 57.69 \pm 3.71$ 'e, 10^{-3} M dozunda $\% 68.18 \pm 4.02$ 'den $\% 4.67 \pm 1.18$ 'e kadar azalttığı görülmüştür. Bu verilere bakarak nalokson, 1,8-sineol'ün ileum kasılmalarını inhibe edici etkisini arttırmış ve 5×10^{-4} M dozunda 1,8-sineol'ün yaptığı inhibisyonu istatistiksel olarak anlamlı hale getirmiştir. Ancak 1,8-sineol'ün, 10^{-6} M nalokson varlığında alınan doz yanıtları ile nalokson yokluğunda alınan doz yanıtları arasında istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık olmadığı gözlenmiştir (**Şekil 2**) (**Çizelge 2**).

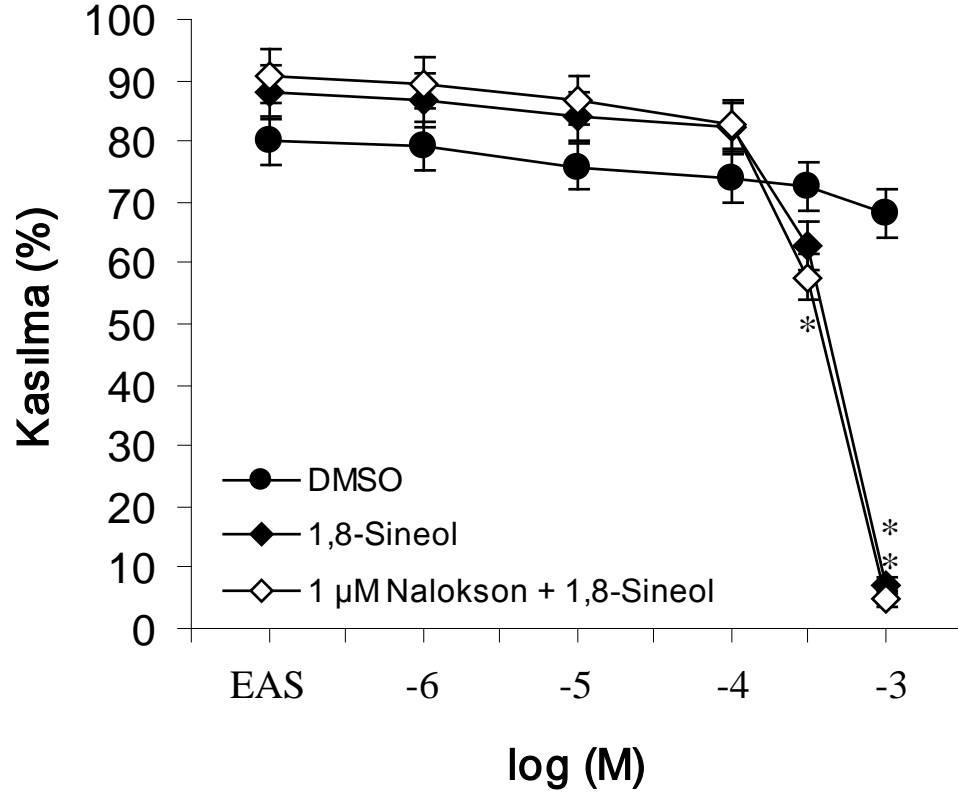
1,4-Sineol'ün izole sıçan ileum kasılmalarına etkisi

İzole sıçan ileum preparatları üzerine 1,4-sineol'ün kümülatif 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 5×10^{-4} ve 10^{-3} M dozları test edilmiş ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1,4-sineol 5×10^{-4} ile 10^{-3} M dozlarında istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. 1,4-Sineol elektriksel stimülasyona bağlı ileum kasılmalarını; 5×10^{-4} M dozunda $\% 69.76 \pm 4.89$ 'dan $\% 39.62 \pm 3.75$ 'e, 10^{-3} M dozunda ise $\% 65.49 \pm 5.31$ 'den $\% 0.95 \pm 0.56$ 'ya kadar inhibe etmiştir (**Şekil 3**).

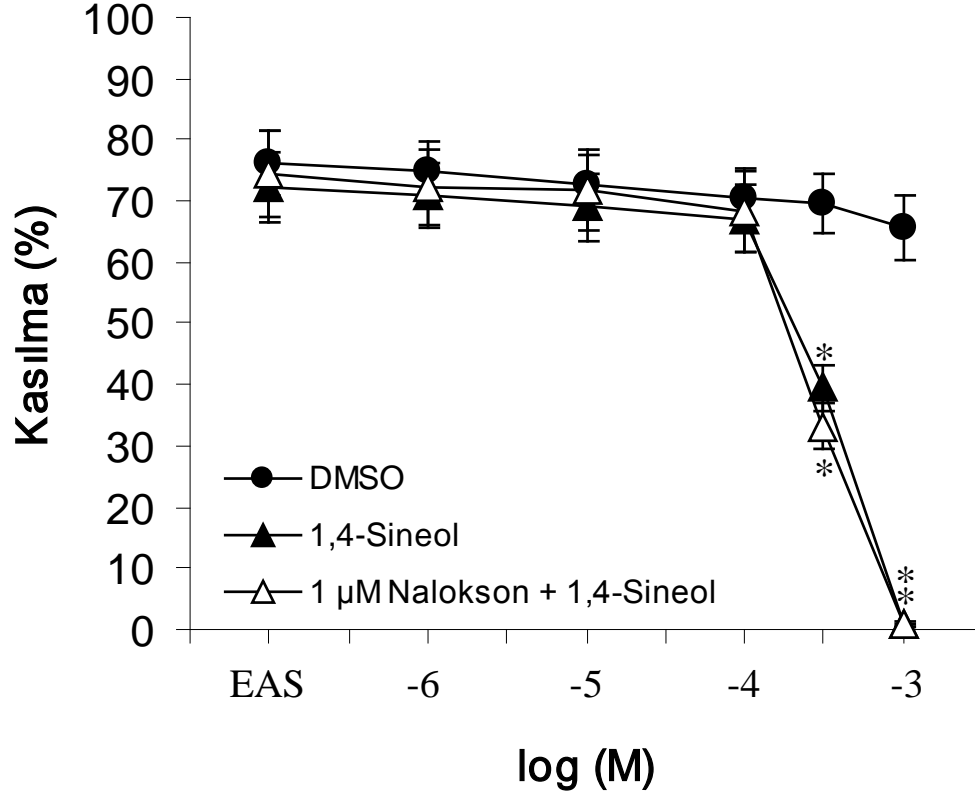
Nalokson varlığında da, 1,4-sineol 5×10^{-4} ve 10^{-3} M dozlarında kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. Nalokson varlığında 1,4-sineol ileum kasılmalarını 5×10^{-4} M dozunda $\% 69.76 \pm 4.89$ 'dan $\% 33.20 \pm 3.69$ 'a ve 10^{-3} M dozunda $\% 65.49 \pm 5.31$ 'den $\% 0.81 \pm 0.28$ 'e kadar düşürmüştür. Nalokson, 1,4-sineol'ün ileum kasılmalarını inhibe edici etkisini arttırmış ancak nalokson yokluğunda ve nalokson varlığında alınan 1,4-sineol'ün doz yanıtları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (**Şekil 3**) (**Çizelge 3**).



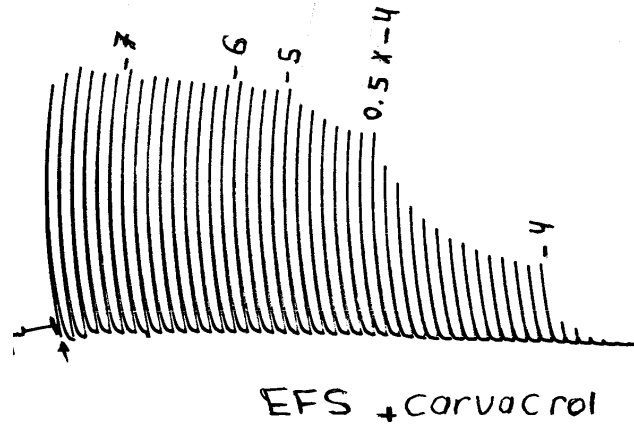
Şekil 1. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan İleumu Üzerinde Karvakrol'ün Etkisi. (*) P<0.05 (n=7)



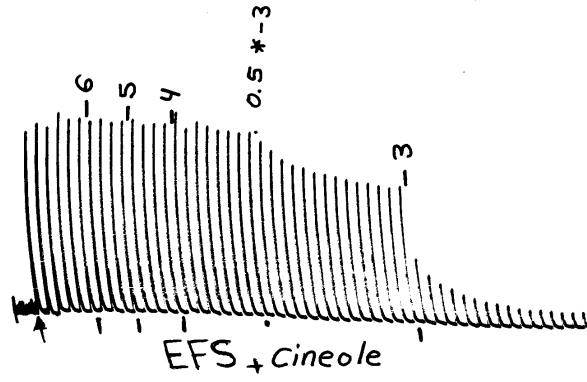
Şekil 2. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan İleumu Üzerinde 1,8-Sineol'ün Etkisi. (*) P<0.05 (n=7)



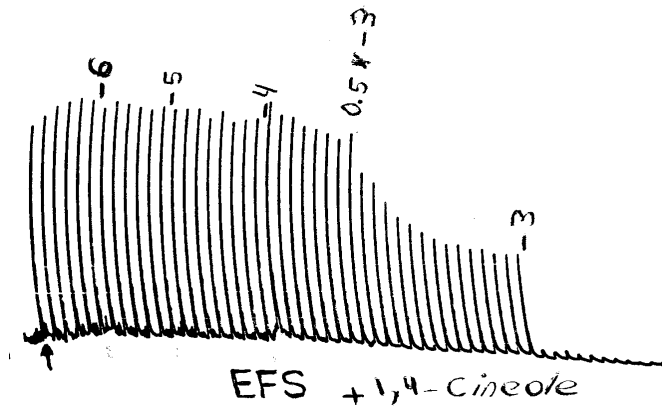
Şekil 3. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan İleumu Üzerinde 1,4-Sineol'ün Etkisi. (*) $P < 0.05$ (n=7)



(A)



(B)



(C)

Şekil 4. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan İleumuna Ait Örnek Traseleler.

(A) Karvakrol etkisine ait örnek trase.

(B) 1,8-Sineol etkisine ait örnek trase.

(C) 1,4-Sineol etkisine ait örnek trase.

Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Mesane Deneylerin Sonuçları

Karvakrol'ün izole sıçan mesane kasılmalarına etkisi

EAS ile uyarılan izole sıçan mesane deneylerinde karvakrol'ün kümülatif 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 5×10^{-5} M dozları test edilmiş ve karvakrol'ün sadece 5×10^{-5} M dozunda anlamlı bir inhibisyona neden olduğu görülmüştür. Karvakrol bu dozda kontrol kasımlara oranla mesane kasılmalarını % 82.58 ± 5.76 'dan % 50.37 ± 3.01 'e kadar inhibe etmiştir (**Şekil 5**).

Nalokson'un kullanılması durumunda da karvakrol sadece 5×10^{-5} M dozunda kontrol kasımlara oranla anlamlı bir inhibisyona neden olmuş ancak bu inhibisyon naloksonun olmadığı duruma göre daha düşük bir seviyede olmuştur. Nalokson kullanıldığında karvakrol, mesane kasılmalarını % 82.58 ± 5.76 'dan % 58.24 ± 4.55 'e kadar inhibe etmiştir. Ancak nalokson varlığında ve nalokson yokluğunda alınan karvakrol'ün doz yanıtları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmamıştır (**Şekil 5**) (**Çizelge 1**).

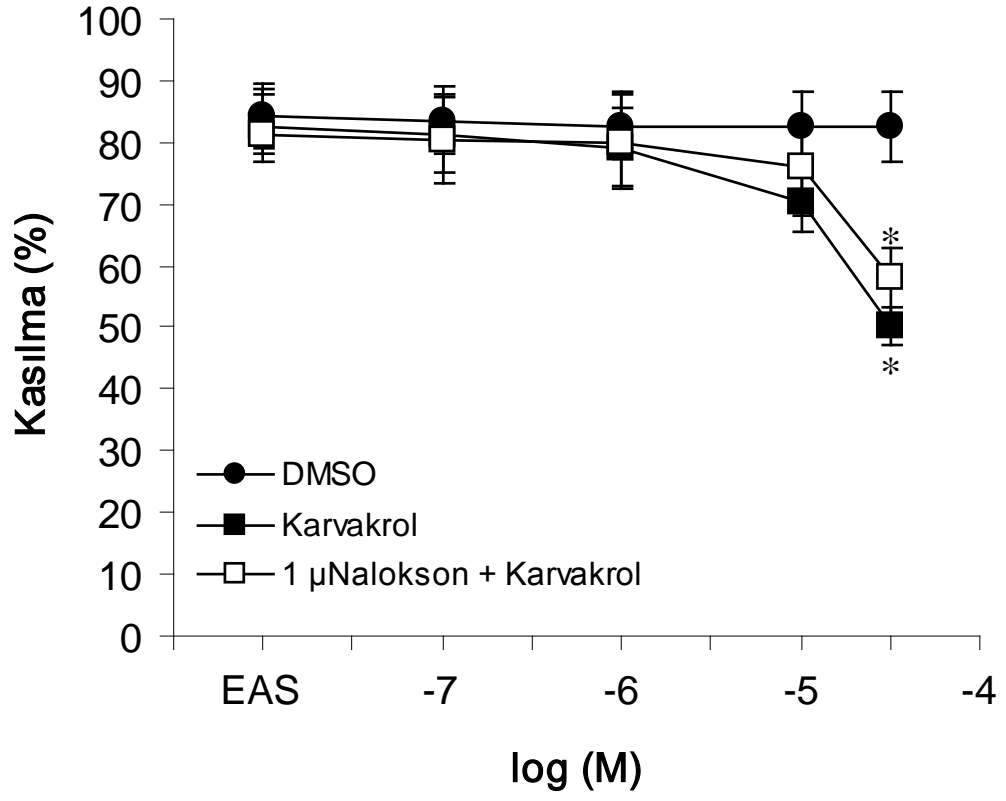
1,8-Sineol'ün izole sıçan mesane kasılmalarına etkisi

Albino sıçanlardan izole edilen mesane preparatları üzerine 1,8-sineol'ün kümülatif 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozları test edilmiştir. 1,8-Sineol, test edilen dozların hiçbirisinde kontrol kasımlara oranla anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Nalokson'un kullanılması durumunda da 1,8-sineol, kontrol kasımlara oranla anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (**Şekil 6**) (**Çizelge 2**).

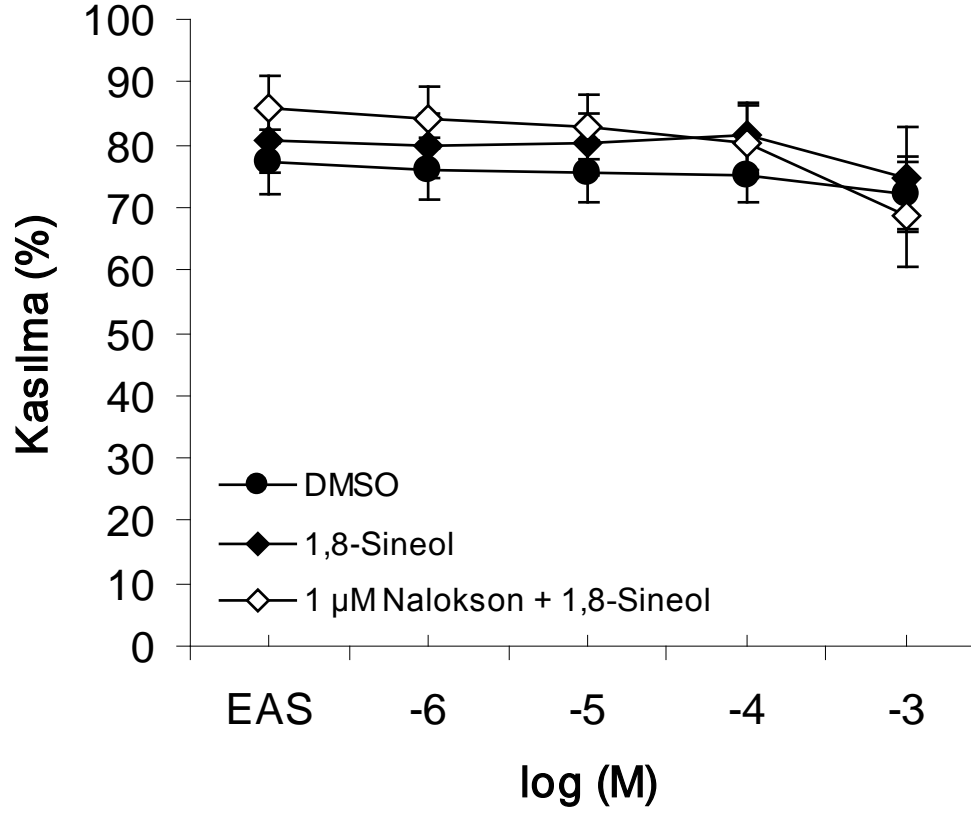
1,4-Sineol'ün izole sıçan mesane kasılmalarına etkisi

Bu deney gurubunda 1,4-sineol'ün kümülatif 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozları test edilmiştir. 1,4-Sineol kontrol kasımlara oranla sadece 10^{-3} M dozunda anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. 1,4-Sineol bu dozda organ kasılmalarını % 77.07 ± 3.67 'den % 54.53 ± 4.64 'e kadar inhibe etmiştir (**Şekil 7**).

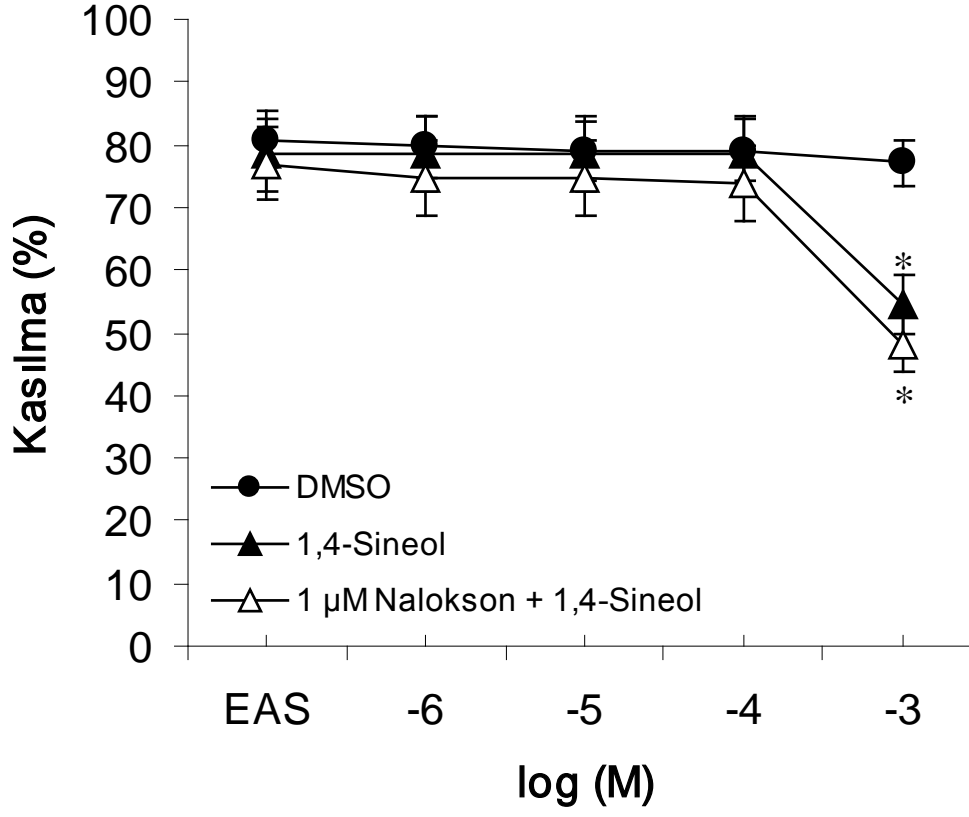
Banyo ortamına 10^{-6} M nalokson ilave edilmesi durumunda, 1,4-sineol'ün mesane kasılmalarını gevşetici etkisi artmıştır. 1,4-Sineol, 10^{-3} M dozunda kontrol kasımlara oranla mesane kasılmalarını % 77.07 ± 3.67 'den % 48.24 ± 4.63 'e kadar inhibe etmiştir. Ancak nalokson varlığında ve nalokson yokluğunda 1,4-sineol'ün doz yanıtları arasında anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır (**Şekil 7**) (**Çizelge 3**).



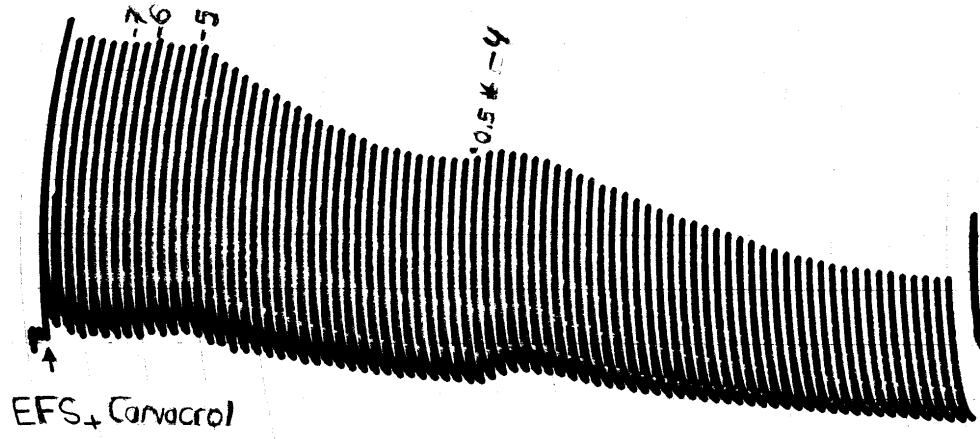
Şekil 5. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Mesanesi Üzerinde Karvakrol'ün Etkisi. (*) P<0.05 (n=7)



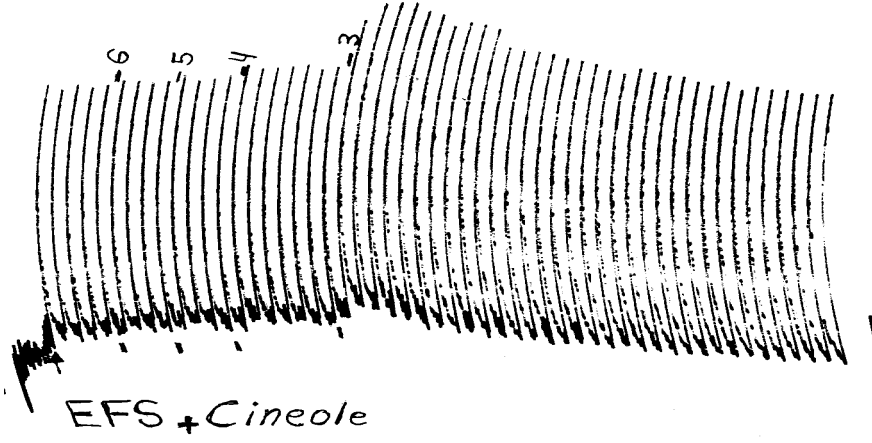
Şekil 6. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Mesanesi Üzerinde 1,8-Sineol'ün Etkisi. (n=7)



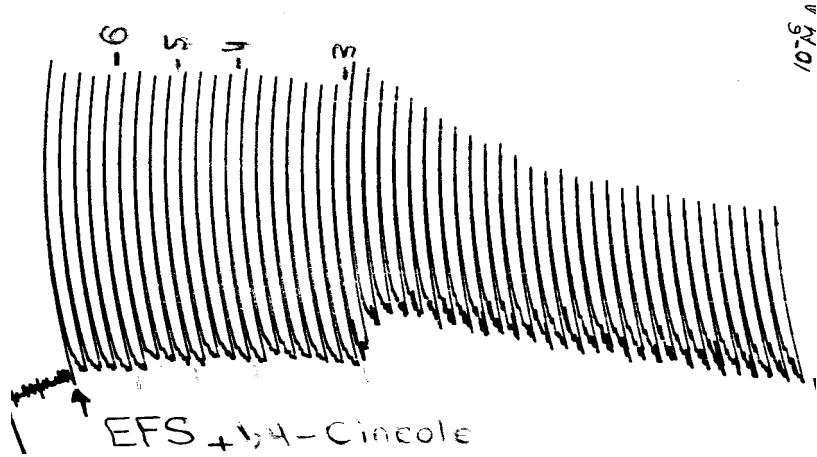
Şekil 7. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Mesanesi Üzerinde 1,4-Sineol'ün Etkisi. (*) P<0.05 (n=7)



(A)



(B)



(C)

Şekil 8. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Mesanesine Ait Örnek Traseler.

(A) Karvakrol etkisine ait örnek trase.

(B) 1,8-Sineol etkisine ait örnek trase.

(C) 1,4-Sineol etkisine ait örnek trase.

Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Epididymal Vas deferens DeneYlerin Sonuçları

Karvakrol'ün izole sıçan epididymal vas deferens kasılmalarına etkisi

EAS ile indüklenen izole sıçan epididymal vas deferens preparatlarında karvakrol'ün kümülatif 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozları test edilmiş ve kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında karvakrol sadece 10^{-4} M dozunda anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. 10^{-4} M dozunda karvakrol, izole epididymal vas deferens kasılmalarını % 55.02 ± 5.26 'dan % 30.91 ± 2.66 'ya kadar inhibe etmiştir (**Şekil 9**).

Deney ortamında 10^{-6} M nalokson eklenmesi durumunda karvakrol yine 10^{-4} M dozunda kontrol kasılmalara göre anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. Nalokson varlığında karvakrol 10^{-4} M dozunda daha az bir gevşemeye neden olmuş ve organ kasılmalarını % 55.02 ± 5.26 'dan % 31.22 ± 3.06 'ya kadar inhibe etmiştir. Karvakrol'ün tek başına verildiği zaman yaptığı gevşetici etkisi ile nalokson varlığında gösterdiği etki arasında anlamlı fark bulunmamıştır (**Şekil 9**) (**Çizelge 1**).

1,8-Sineol'ün izole sıçan epididymal vas deferens kasılmalarına etkisi

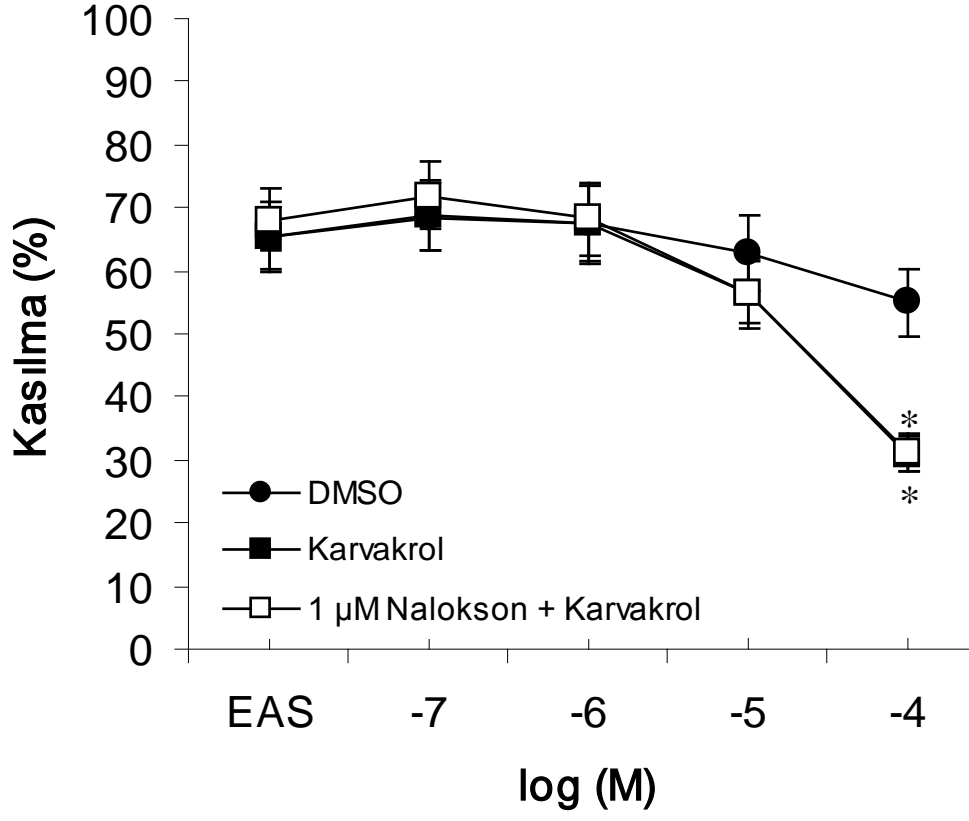
Bu deney serisinde 1,8-sineol'ün kümülatif 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozları test edilmiş ve nalokson varlığında tekrarlanmıştır. 1,8-Sineol test edilen dozlarda kontrol kasılmalara oranla anlamlı gevşemeye neden olmamıştır. Nalokson varlığında da 1,8-sineol kontrol kasılmalara oranla anlamlı inhibisyona neden olmamıştır (**Şekil 10**) (**Çizelge 2**).

1,4-Sineol'ün izole sıçan epididymal vas deferens kasılmalarına etkisi

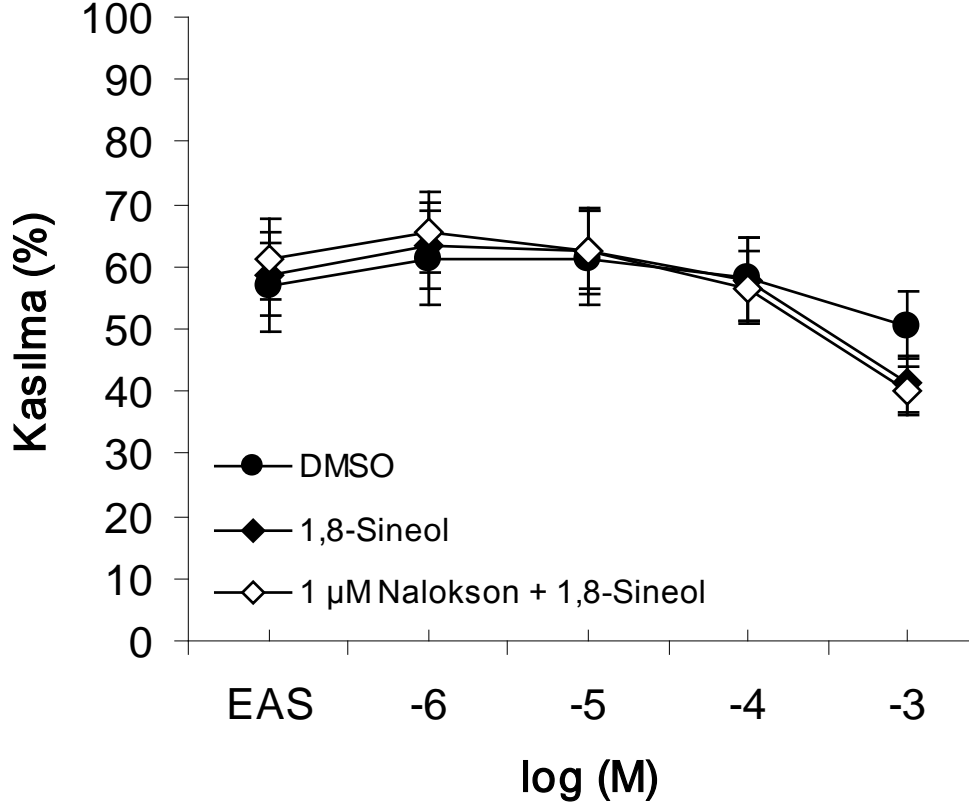
İzole sıçan epididymal vas deferens doku örneklerinde 1,4-sineol'ün kümülatif 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozları test edilmiştir. Ancak 1,4-sineol kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında organ kasılmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (**Şekil 11**).

Deney ortamına 10^{-6} M nalokson ilave edildiğinde 1,4-sineol 10^{-3} M dozunda kontrol kasılmalara oranla organ kasılmalarını anlamlı derecede inhibe ettiği görülmüştür. Bu dozda 1,4-sineol, organ kasılmalarını % 51.22 ± 5.18 'den % 30.78 ± 2.58 'e kadar inhibe etmiştir. Ancak nalokson varlığında ve nalokson yokluğunda elde edilen 1,4-sineol doz yanıtları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik olmamıştır (**Şekil 11**) (**Çizelge 3**).

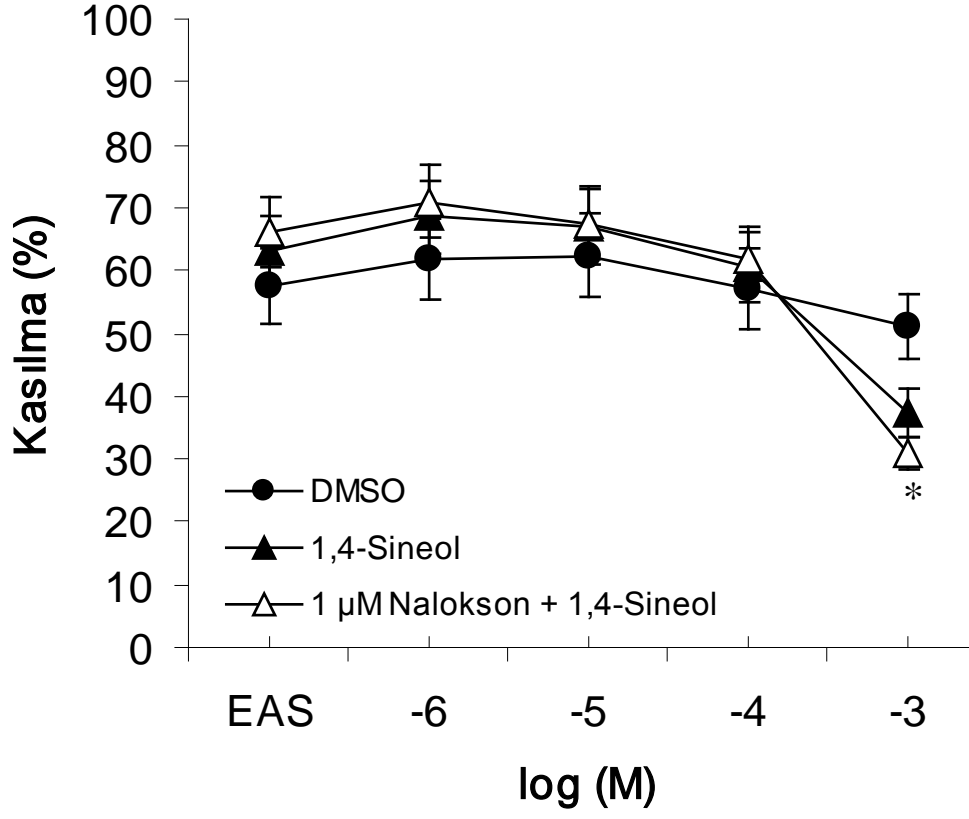
Bu grupta, tek başına anlamlı etki göstermemiş olan 1,4-sineol, nalokson varlığında istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyon yaptığı gözlenmiştir. Bu organda, 1,4-sineol'ün opioid antagonisti olan nalokson ile etkileştiği bulunmuştur. Nalokson varlığında 1,4-sineol'ün inhibitör etkisi artarak istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye dönüştüğü gözlenmiştir.



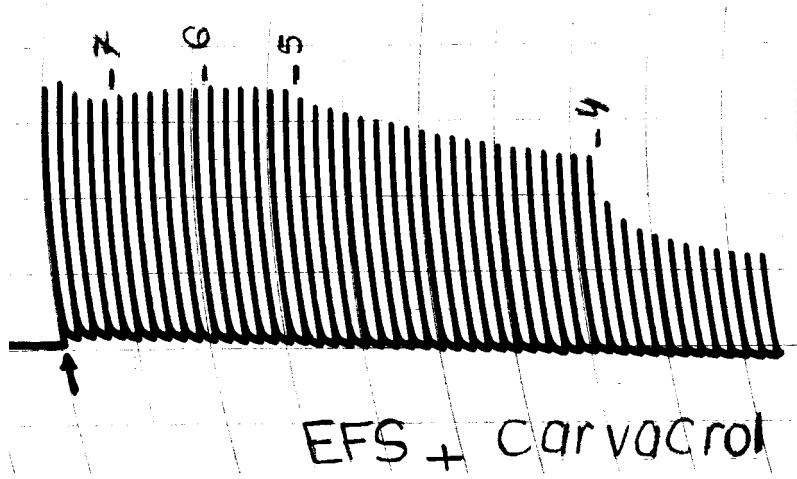
Şekil 9. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Epididymal Vas deferensi Üzerinde Karvakrol'ün Etkisi. (*) P<0.05 (n=7)



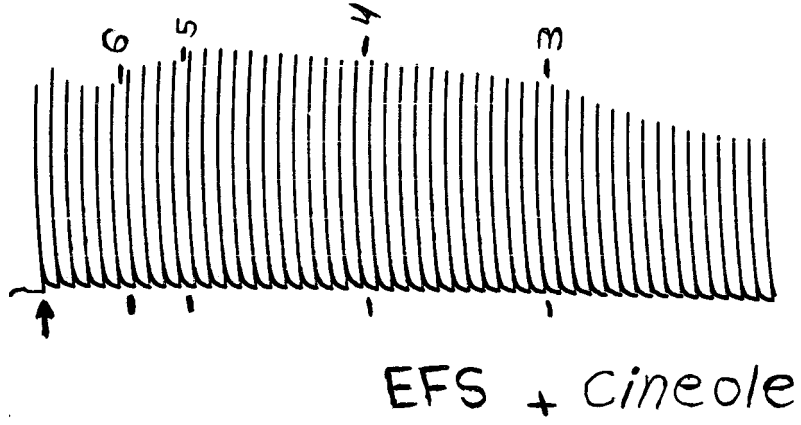
Şekil 10. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Epididymal Vas deferensi Üzerinde 1,8-Sineol'ün Etkisi. (n=7)



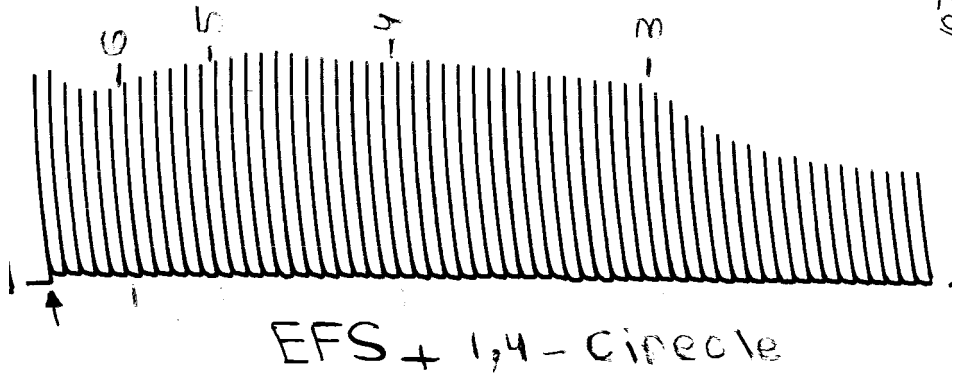
Şekil 11. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Epididymal Vas deferensi Üzerinde 1,4-Sineol'ün Etkisi. (*) P<0.05 (n=7)



(A)



(B)



(C)

Şekil 12. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Epididymal Vas deferensine Ait Örnek Traseleler.

(A) Karvakrol etkisine ait örnek trase.

(B) 1,8-Sineol etkisine ait örnek trase.

(C) 1,4-Sineol etkisine ait örnek trase.

Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Prostatik Vas deferens DeneYlerin Sonuçları

Karvakrol'ün izole sıçan prostatik vas deferens kasılmalarına etkisi

EAS ile uyarılan izole sıçan prostatik vas deferens preparatlarında karvakrol'ün kümülatif 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozları kullanılmış ve karvakrol kontrol kasılmalara oranla sadece 10^{-4} M dozunda anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. Karvakrol bu dozda izole prostatik vas deferens kasılmalarını % 75.77 ± 5.39 'dan % 53.51 ± 4.23 'e kadar inhibe etmiştir (**Şekil 13**).

Banyo ortamına 10^{-6} M nalokson ilave edilmesi durumunda karvakrol yine 10^{-4} M dozunda anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. Nalokson varlığında, karvakrol'ün inhibitör etkinliğini artmış ve kontrol kasılmalara oranla karvakrol organ kasılmalarını % 75.77 ± 5.39 'dan % 52.54 ± 5.60 'a kadar inhibe etmiştir. Fakat nalokson varlığında ve nalokson yokluğunda kaydedilen karvakrol'ün doz yanıtları arasında anlamlı bir değişiklik bulunamamıştır (**Şekil 13**) (**Çizelge 1**).

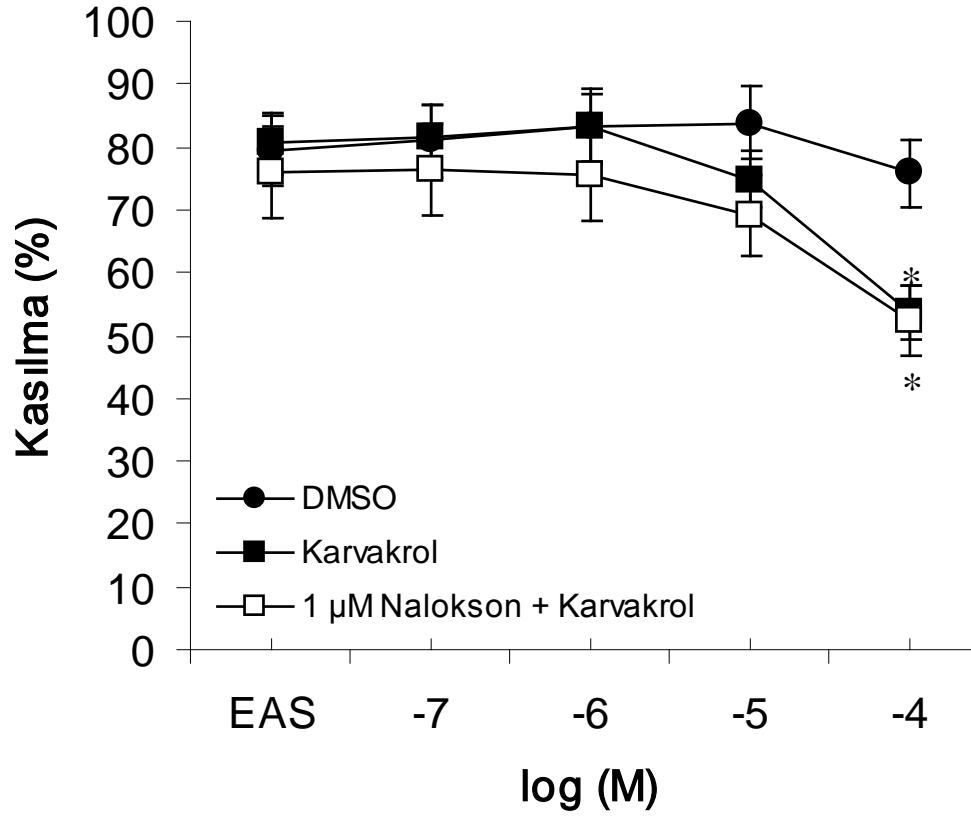
1,8-Sineol'ün izole sıçan prostatik vas deferens kasılmalarına etkisi

1,8-Sineol'ün kullanıldığı izole sıçan prostatik vas deferens deneylerinde test maddesinin kümülatif 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozları kullanılmış ve kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında 1,8-sineol, test edilen dozların hiçbirisinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Benzer şekilde 10^{-6} M nalokson varlığında da 1,8-sineol kontrol kasılmalara oranla anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür (**Şekil 14**) (**Çizelge 2**).

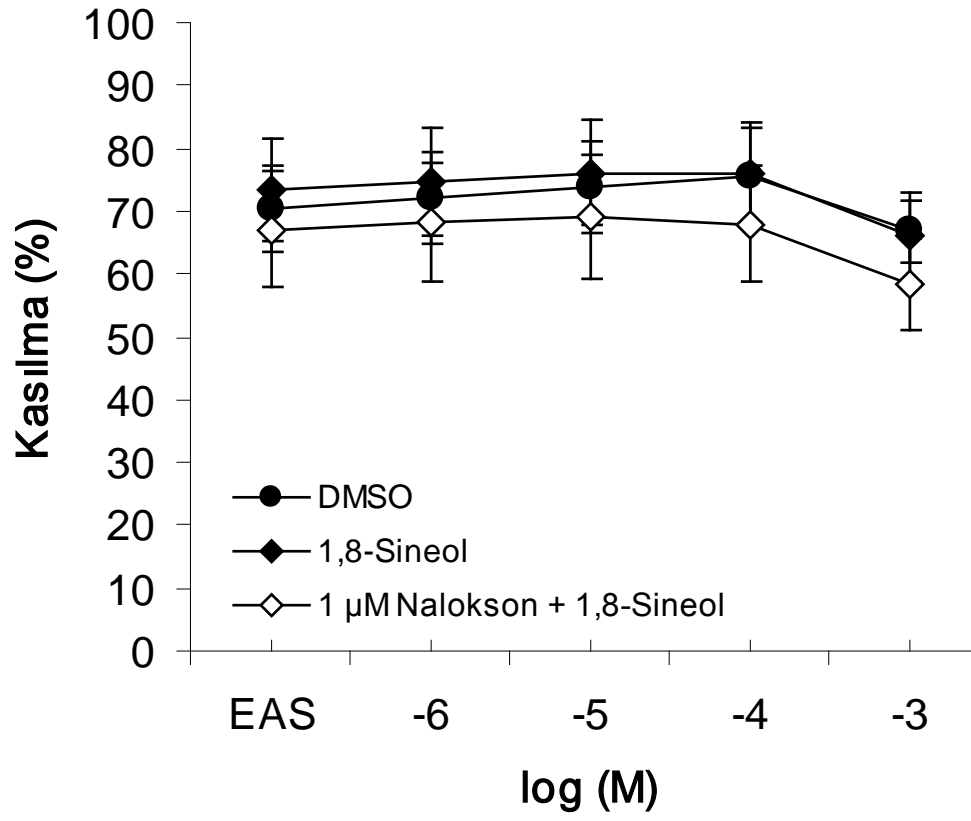
1,4-Sineol'ün izole sıçan prostatik vas deferens kasılmalarına etkisi

Bu deney gurubunda 1,4-sineol'ün kümülatif 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozları test edilmiştir. Ayrıca nalokson varlığında da aynı dozlar test edilmiştir. Gerek 10^{-6} M nalokson varlığında ve gerek nalokson yokluğunda 1,4-sineol organ kasılmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (**Şekil 15**) (**Çizelge 3**).

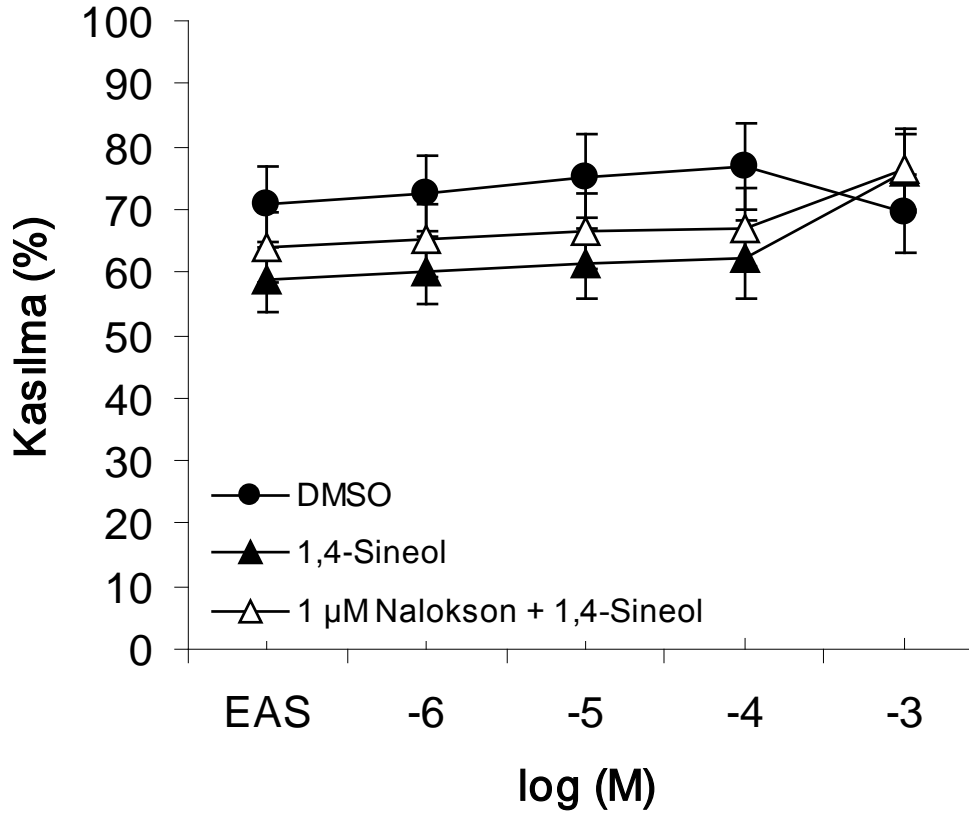
Diğer organlardan farklı olarak, izole sıçan prostatik vas deferens üzerinde, 1,4-sineol'ün istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, kasılmalarda inhibisyon yapmadığı, tam aksine kasılmaları artırdığı gözlenmiştir. 1,4-Sineol ile bu şekildeki bir etki ilk kez çalışmalarımızda gözlenmiştir ve kasılmalardaki bu artışın hangi mekanizmalar üzerinden olduğuna ilişkin herhangi bir veri şu anda yoktur. İleride yapılacak çalışmalar ile bu sıra dışı etkinin hangi mekanizmalar üzerinden olduğu ve 1,4-sineol'e benzer başka maddelerde de benzer etkinin varlığının araştırılması gerekmektedir. 1,4-Sineol'e moleküler benzerliğe sahip bir madde olan 1,8-sineol ile bu şekilde herhangi bir etki gözlenmemiştir (**Şekil 14 ve 13**).



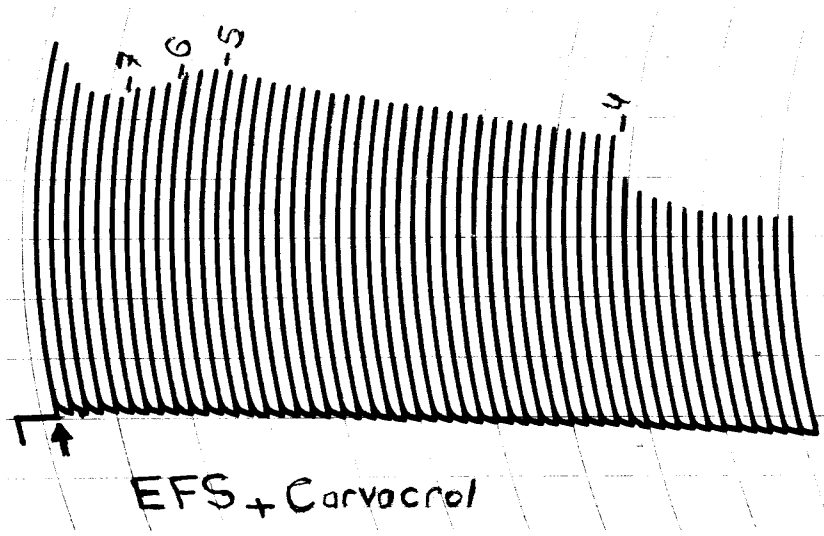
Şekil 13. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Prostatik Vas deferensi Üzerinde Karvakrol'ün Etkisi. (*) $P < 0.05$ (n=7)



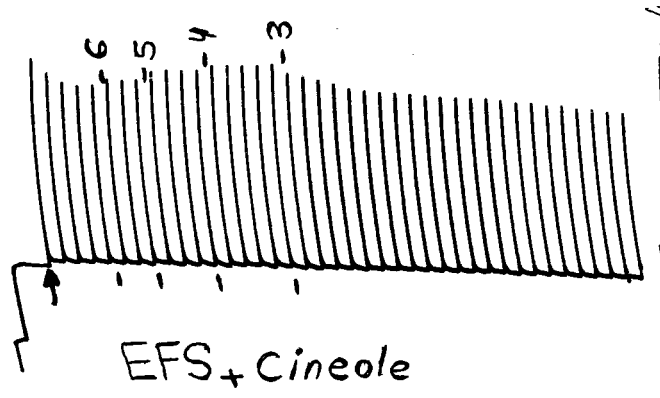
Şekil 14. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Prostatik Vas deferensi Üzerinde 1,8-Sineol'ün Etkisi. (n=7)



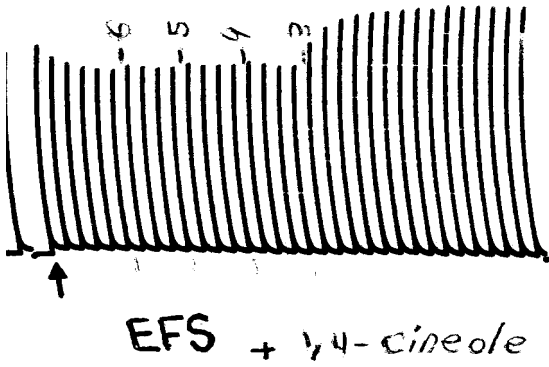
Şekil 15. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Prostatik Vas deferens Üzerinde 1,4-Sineol'ün Etkisi. (n=7)



(A)



(B)



(C)

Şekil 16. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Prostatik Vas deferensine Ait Örnek Traseler.

(A) Karvakrol etkisine ait örnek trase.

(B) 1,8-Sineol etkisine ait örnek trase.

(C) 1,4-Sineol etkisine ait örnek trase.

Nalokson Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atrium Deneylemlerinin Sonuçları

Nalokson varlığında karvakrol'ün izole sıçan sol atrium kasılmalarına etkisi

Bu deney gurubunda dişi sıçanlar kullanılmıştır. EAS ile indüklenen izole sıçan sol atrium örneklerinde karvakrol'ün kümülatif 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozları test edilmiş ve karvakrol sadece 10^{-4} M dozunda kontrol kasılmalara göre anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. Bu dozda karvakrol organ kasılmalarını % 69.60 ± 7.55 'ten % 43.19 ± 4.92 'ye kadar inhibe etmiştir (**Şekil 17**).

Banyo ortamına 10^{-6} M nalokson eklenmesi durumunda da karvakrol 10^{-4} M dozunda kontrol kasılmalara oranla anlamlı inhibisyona neden olmuş ve organ kasılmalarını % 69.60 ± 7.55 'ten % 42.86 ± 5.42 'ye kadar inhibe etmiştir. Fakat nalokson varlığında ve nalokson yokluğunda kaydedilen karvakrol'ün doz yanıtları arasında anlamlı bir değişiklik olmamıştır (**Şekil 17**) (**Çizelge 1**).

Nalokson varlığında 1,8-sineol'ün izole sıçan sol atrium kasılmalarına etkisi

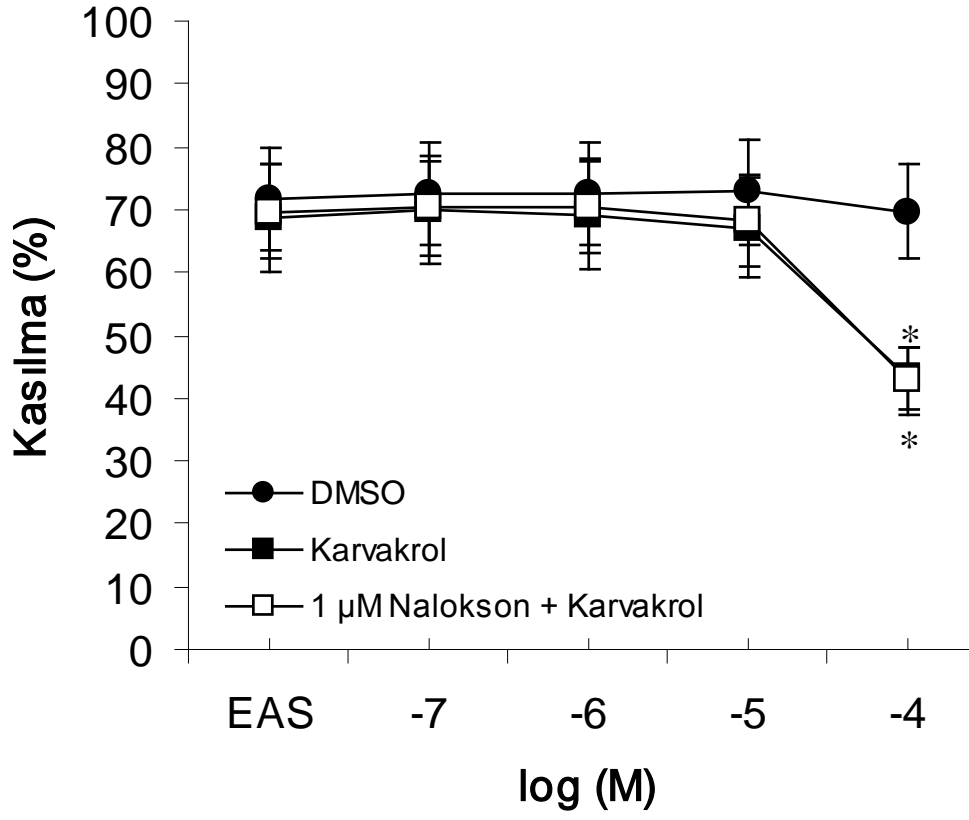
Bu deneylerde de dişi sıçanlar kullanılmış ve 1,8-sineol'ün kümülatif 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozları test edilmiştir. Test edilen dozlarda 1,8-sineol kontrol kasılmalara oranla istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Banyo ortamında 10^{-6} M nalokson bulundurulması durumunda da 1,8-sineol kontrol kasılmalara oranla anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (**Şekil 18**) (**Çizelge 2**).

Nalokson varlığında 1,4-sineol'ün izole sıçan sol atrium kasılmalarına etkisi

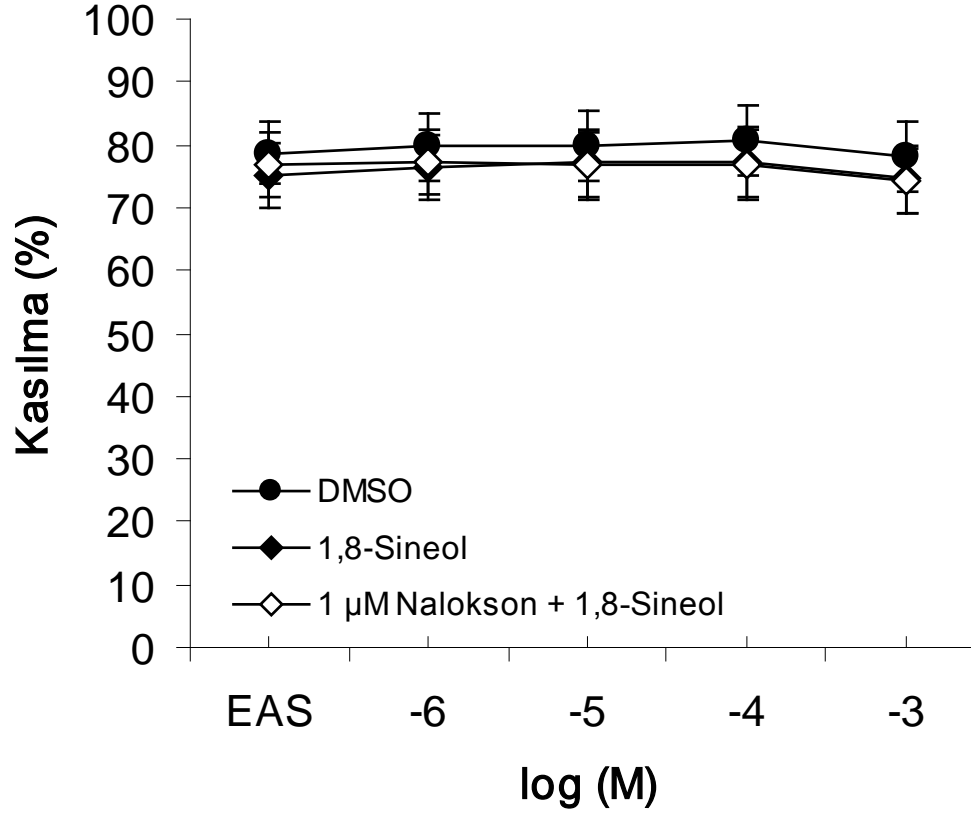
Bu deney serisinde de dişi sıçanlar kullanılmış ve 1,4-sineol'ün kümülatif 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozları test edilmiştir. 1,4-Sineol test edilen dozların hiç birisinde kontrol kasılmalara oranla istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (**Şekil 19**).

Deney ortamına 10^{-6} M nalokson eklenmesi durumunda 1,4-sineol, kontrol kasılmalarla karşılaştırıldığında sadece 10^{-3} M dozunda çok yüksek oranda olmak üzere, anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. Bu dozda 1,4-sineol deneye tabi tutulan organların kasılmasını bloke etmiştir. Ayrıca bu dozda 1,4-sineol, kontrol kasılmalara oranla sol atrium kasılmalarını % 74.05 ± 5.94 'ten % 7.79 ± 7.79 'a kadar inhibe etmiştir. Yine nalokson varlığında elde edilen 1,4-sineol yanıtı, nalokson yokluğunda elde edilen 1,4-sineol yanıtı ile karşılaştırıldığında, anlamlı bir gevşemeye neden olmuştur ve bu dozda organ kasılmalarını % 60.05 ± 6.29 'dan % 7.79 ± 7.79 'a kadar inhibe etmiştir (**Şekil 19**) (**Çizelge 3**).

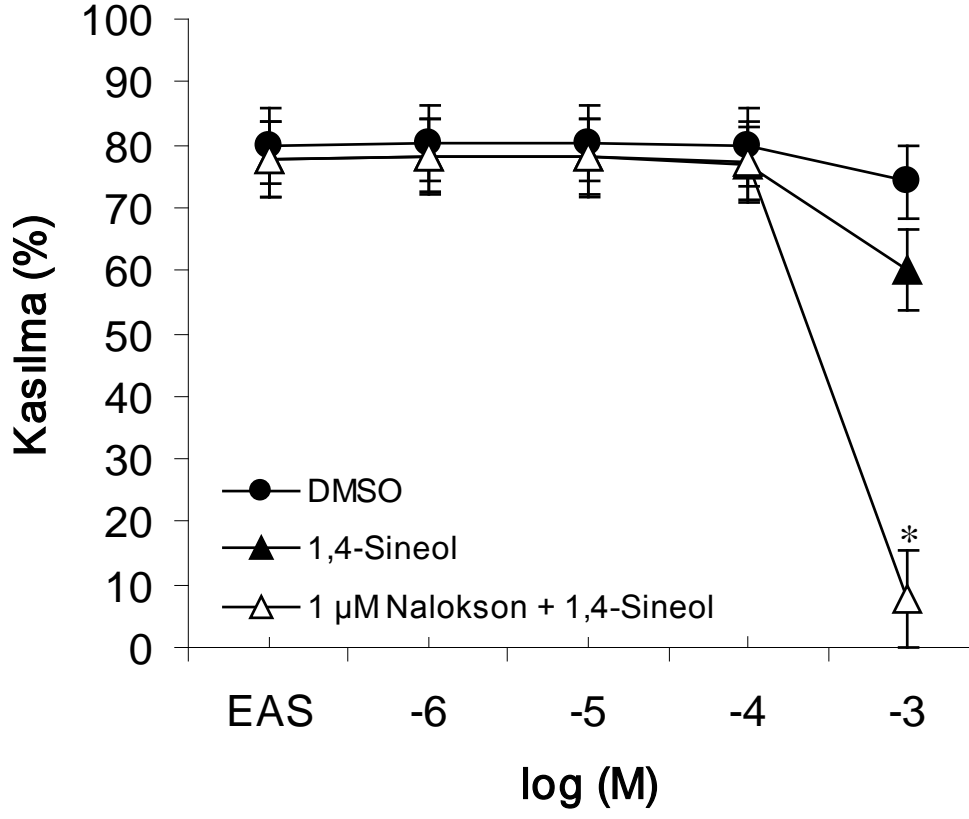
EAS ile uyarılan izole sıçan sol atriumu üzerinde tek başına herhangi bir etki göstermeyen 1,4-sineol'un, opioid reseptör antagonisti olan nalokson varlığında, organ kasılmalarını tümüyle ortadan kaldıracak kadar güçlü şekilde inhibisyon yaptığı gözlenmiştir. 1,4-sineol ile opioid reseptörler arasında etkileşme olduğunu göstermiştir. 1,4-Sineol'ün etkisi, opioid reseptör antagonisti nalokson varlığında, etkinin dramatik şekilde artışı şeklinde olmaktadır. Bu etki sadece atrium dokusunda gözlenmiş diğer organlarda gözlenmemiştir.



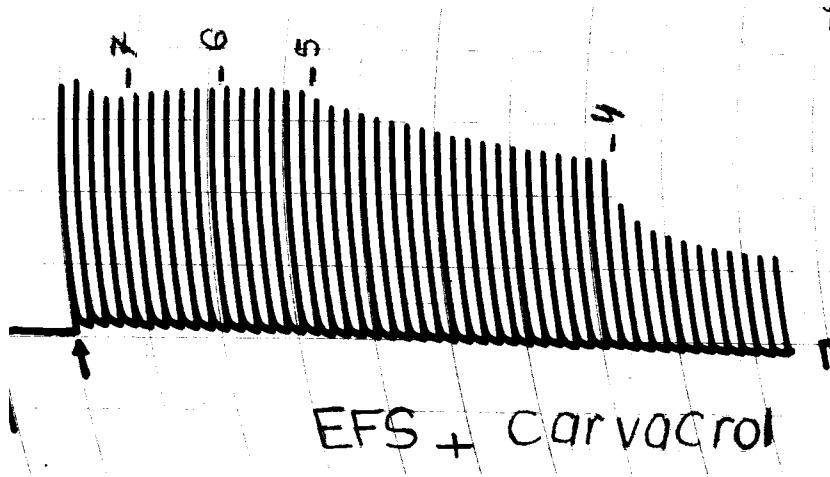
Şekil 17. Nalokson Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumu Üzerinde Karvakrol'ün Etkisi. (*) P<0.05 (n=7)



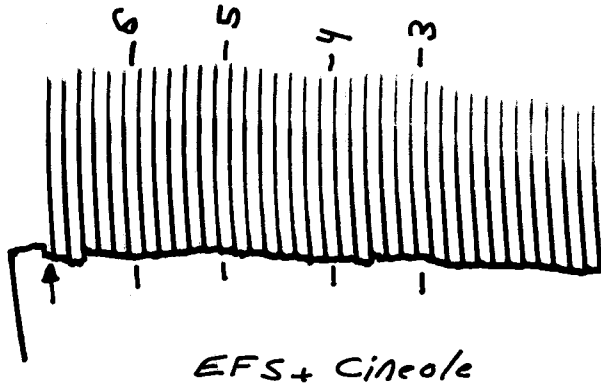
Şekil 18. Nalokson Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumu Üzerinde 1,8-Sineol'ün Etkisi. (n=7)



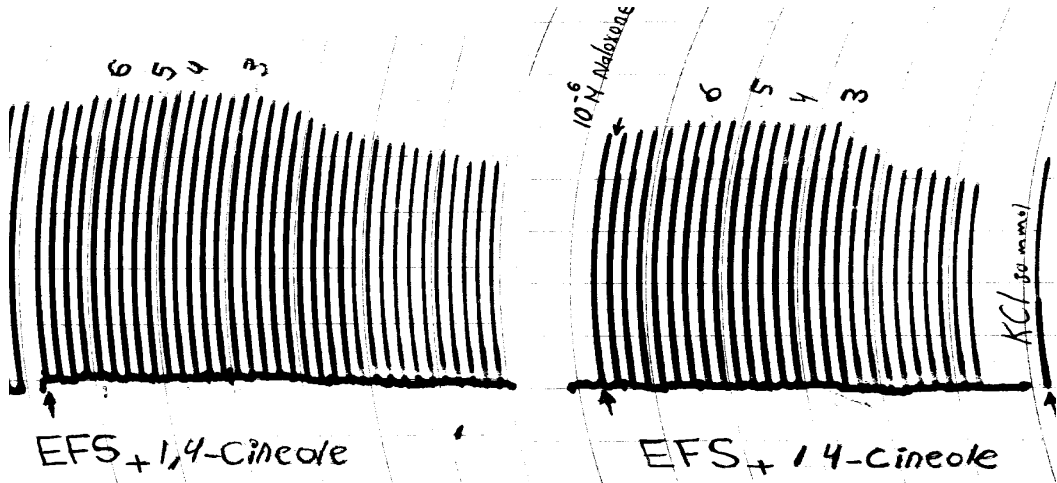
Şekil 19. Nalokson Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumu Üzerinde 1,4-Sineol'ün Etkisi. (*) P<0.05 (n=7)



(A)



(B)



(C)

(D)

Şekil 20. Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumuna Ait Örnek Traseler.

- (A) Karvakrol etkisine ait örnek trase.
- (B) 1,8-Sineol etkisine ait örnek trase.
- (C) 1,4-Sineol etkisine ait örnek trase.
- (D) Nalokson varlığında 1,4-sineol etkisine ait trase.

N-nitro-L-arjinin Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atrium Deneylein Sonuçları

N-nitro-L-arjinin varlığında karvakrol'ün izole sıçan sol atrium kasılmalarına etkisi

Erkek sıçanların kullanıldığı bu çalışmalarda karvakrol'ün kümülatif 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozları test edilmiş ve karvakrol sadece 10^{-4} M dozunda kontrol kasılmalara göre istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. Bu dozda karvakrol organ kasılmalarını % 74.49 ± 4.23 'ten % 45.45 ± 1.48 'e kadar inhibe etmiştir (Şekil 21).

10^{-4} M NoARG varlığında elde edilen karvakrol doz yanıtı, kontrol kasılmalarla karşılaştırıldığında sadece 10^{-4} M dozunda anlamlı olduğu gözlenmiştir. NoARG varlığında karvakrol, organ kasılmalarını % 74.49 ± 4.23 'ten % 51.48 ± 2.69 'a kadar inhibe etmiştir. Ancak NoARG varlığında ve yokluğunda elde edilen karvakrol'ün doz yanıtları arasında anlamlı bir değişiklik olmamıştır (Şekil 21) (Çizelge 1).

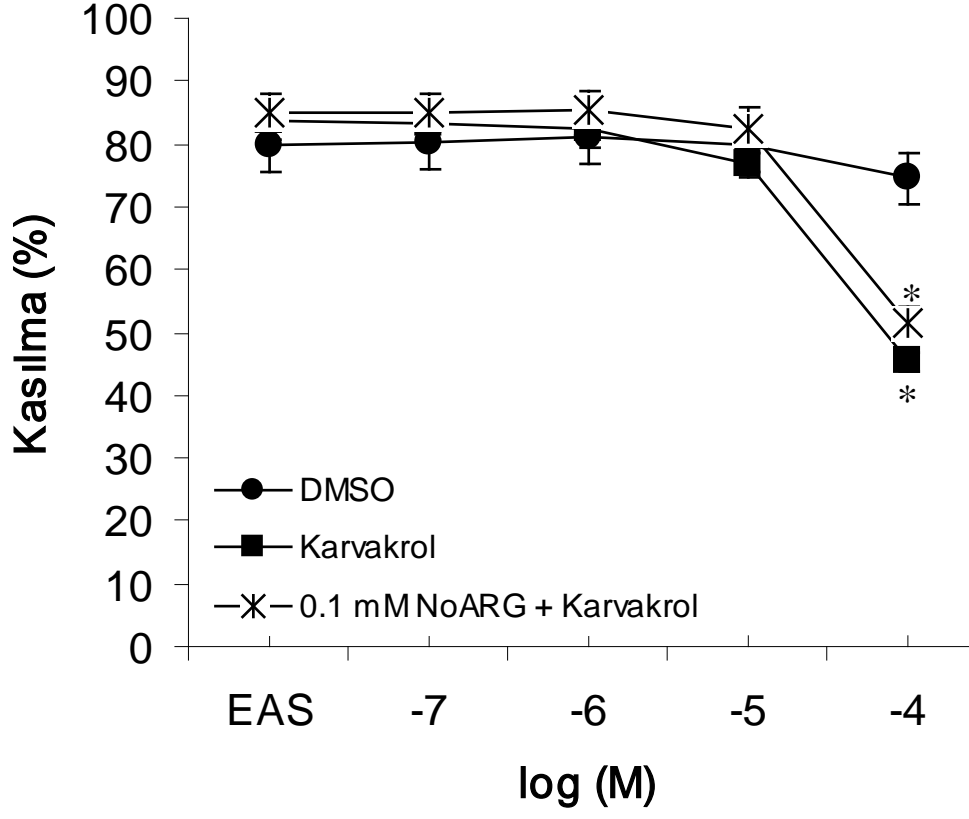
N-nitro-L-arjinin varlığında 1,8-sineol'ün izole sıçan sol atrium kasılmalarına etkisi

EAS ile uyarılan izole erkek sıçan sol atrium preparatlarında 1,8-sineol'ün kümülatif 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozları test edilmiştir. Kontrol kasılma yanıtları ile karşılaştırıldığında 1,8-sineol istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmamış fakat 10^{-4} M NoARG varlığında 1,8-sineol; kontrol kasılma yanıtlarına oranla 10^{-3} M dozunda anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. Bu dozda 1,8-sineol organ kasılmalarını % 85.31 ± 1.81 'den % 72.69 ± 3.84 'e kadar inhibe etmiştir. 1,8-Sineol'ün 10^{-3} M dozunda yaptığı inhibisyon NoARG varlığında belirgin ve istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 22) (Çizelge 2). Dolayısıyla 1,8-sineol'ün etkisinde nitreerjik mekanizmaların rol oynadığı bulunmuştur.

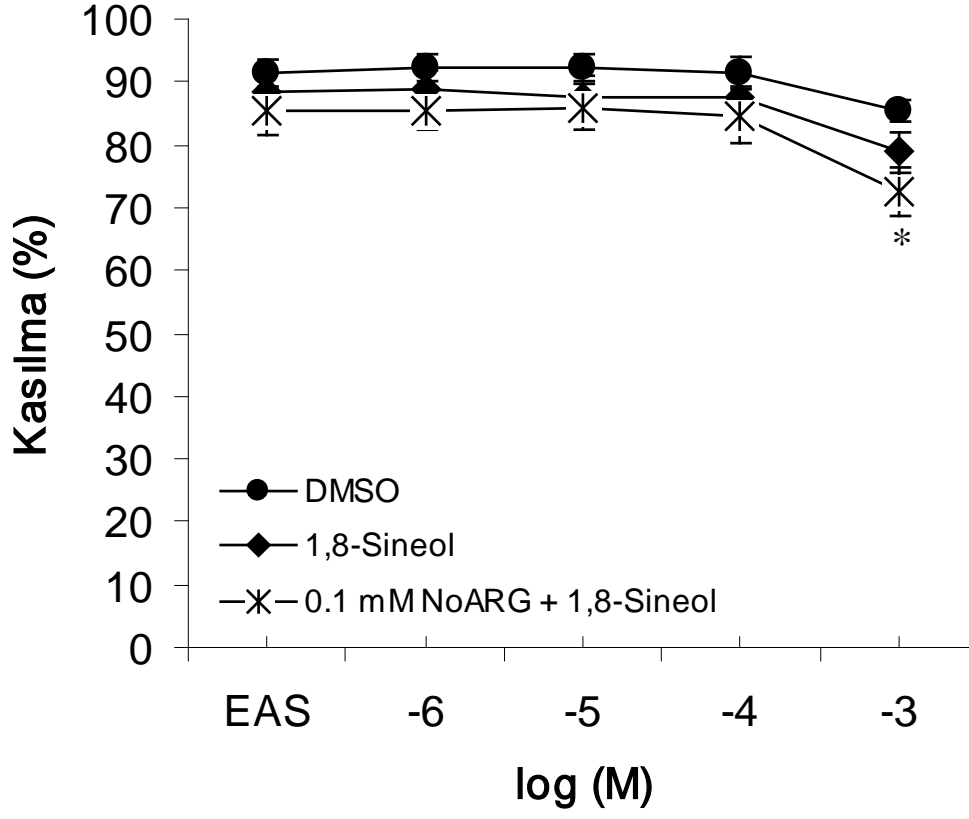
N-nitro-L-arjinin varlığında 1,4-sineol'ün izole sıçan sol atrium kasılmalarına etkisi

Bu deneylelerde 1,4-sineol'ün kümülatif 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozları test edilmiştir. 1,4-Sineol, sadece 10^{-3} M dozunda, kontrol kasılmalara oranla izole erkek sıçan sol atrium kasılmalarında anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. Bu dozda 1,4-sineol organ kasılmalarını % 80.36 ± 2.28 'den % 66.12 ± 2.11 'e kadar inhibe etmiştir (Şekil 23).

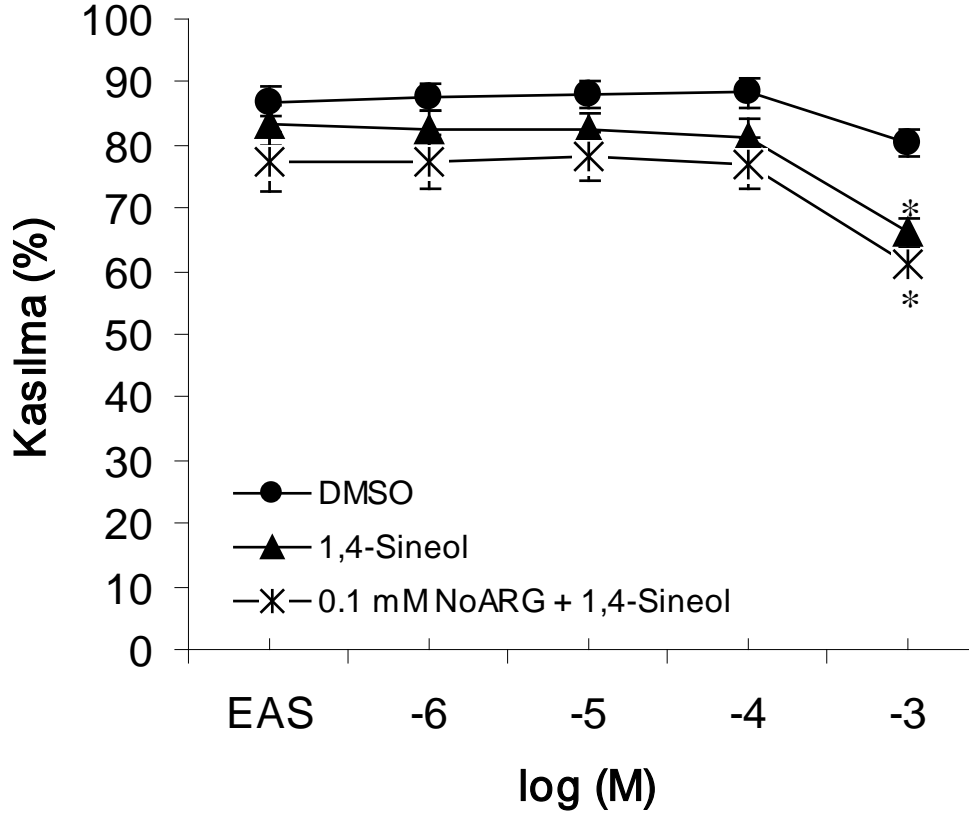
10^{-4} M NoARG varlığında da 1,4-sineol, sadece 10^{-3} M dozunda izole sıçan sol atrium kasılmalarını kontrol gurubuna oranla anlamlı bir şekilde inhibe etmiştir. Bu dozda 1,4-sineol organ kasılmalarını % 80.36 ± 2.28 'den % 60.92 ± 2.58 'e kadar inhibe etmiştir. Ancak NoARG varlığında ve yokluğunda kaydedilen 1,4-sineol doz yanıtları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmamıştır (Şekil 23) (Çizelge 3).



Şekil 21. N-nitro-L-arjinin Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumu Üzerinde Karvakrol'ün Etkisi. (*) P<0.05 (n=7)



Şekil 22. N-nitro-L-arjinin Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumu Üzerinde 1,8-Sineol'ün Etkisi. (*) P<0.05 (n=7)



Şekil 23. N-nitro-L-arjinin Varlığında Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Sol Atriumu Üzerinde 1,4-Sineol'ün Etkisi. (*) P<0.05 (n=7)

Çizelge 1. Karvakrol'ün Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Organları Üzerindeki Etkileri. (*) P<0.05 (n=7). ^(a)Antagonist Olarak NoARG Kullanılmıştır.

A) karvakrol'ün elektriksel alan stimülasyonu ile uyarılan izole sıçan organları üzerindeki etkisi.

Organ	Dozlar				
	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	5×10^{-5}	10^{-4}
<i>İleum</i>	—	—	—	*	*
<i>Mesane</i>	—	—	—	*	
<i>Epididymal vas deferens</i>	—	—	—		*
<i>Prostatik vas deferens</i>	—	—	—		*
<i>Sol atrium (dişi)</i>	—	—	—		*
<i>Sol atrium (erkek)</i>	—	—	—		*

B) 10^{-6} M nalokson varlığında karvakrol'ün elektriksel alan stimülasyonu ile uyarılan izole sıçan organları üzerindeki etkisi.

Organ	Dozlar				
	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	5×10^{-5}	10^{-4}
<i>İleum</i>	—	—	*	*	*
<i>Mesane</i>	—	—	—	*	
<i>Epididymal vas deferens</i>	—	—	—		*
<i>Prostatik vas deferens</i>	—	—	—		*
<i>Sol atrium (dişi)</i>	—	—	—		*
<i>Sol atrium (erkek) ^(a)</i>	—	—	—		*

Çizelge 2. 1,8-Sineol'ün Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Organları Üzerindeki Etkileri. (*) P<0.05 (n=7). ^(a)Antagonist Olarak NoARG Kullanılmıştır.

A) 1,8-sineol'ün elektriksel alan stimülasyonu ile uyarılan izole sıçan organları üzerindeki etkisi.

Organ	Dozlar				
	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	5×10^{-4}	10^{-3}
<i>İleum</i>	–	–	–	–	*
<i>Mesane</i>	–	–	–	–	–
<i>Epididymal vas deferens</i>	–	–	–	–	–
<i>Prostatik vas deferens</i>	–	–	–	–	–
<i>Sol atrium (dişi)</i>	–	–	–	–	–
<i>Sol atrium (erkek)</i>	–	–	–	–	–

B) 10^{-6} M nalokson varlığında 1,8-sineol'ün elektriksel alan stimülasyonu ile uyarılan izole sıçan organları üzerindeki etkisi.

Organ	Dozlar				
	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	5×10^{-4}	10^{-3}
<i>İleum</i>	–	–	–	*	*
<i>Mesane</i>	–	–	–	–	–
<i>Epididymal vas deferens</i>	–	–	–	–	–
<i>Prostatik vas deferens</i>	–	–	–	–	–
<i>Sol atrium (dişi)</i>	–	–	–	–	–
<i>Sol atrium (erkek) ^(a)</i>	–	–	–	–	*

Çizelge 3. 1,4-Sineol'ün Elektriksel Alan Stimülasyonu ile Uyarılan İzole Sıçan Organları Üzerindeki Etkileri. (*) P<0.05 (n=7). ^(a)Antagonist Olarak NoARG Kullanılmıştır.

A) 1,4-sineol'ün elektriksel alan stimülasyonu ile uyarılan izole sıçan organları üzerindeki etkisi. ^(*)

Organ	Dozlar				
	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	5x10 ⁻⁴	10 ⁻³
<i>İleum</i>	—	—	—	*	*
<i>Mesane</i>	—	—	—		*
<i>Epididymal vas deferens</i>	—	—	—		—
<i>Prostatik vas deferens</i>	—	—	—		—
<i>Sol atrium (dişi)</i>	—	—	—		—
<i>Sol atrium (erkek)</i>	—	—	—		*

B) 10⁻⁶M nalokson varlığında 1,4-sineol'ün elektriksel alan stimülasyonu ile uyarılan izole sıçan organları üzerindeki etkisi.

Organ	Dozlar				
	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	5x10 ⁻⁴	10 ⁻³
<i>İleum</i>	—	—	—	*	*
<i>Mesane</i>	—	—	—		*
<i>Epididymal vas deferens</i>	—	—	—		*
<i>Prostatik vas deferens</i>	—	—	—		—
<i>Sol atrium (dişi)</i>	—	—	—		*
<i>Sol atrium (erkek)</i> ^(a)	—	—	—		*

Bu çalışmada ilk defa elektriksel uyarılarla indüklenen izole sıçan ileum, mesane, vas deferens ve sol atrium kasılmalarına karşı karvakrol, 1,8-sineol ve 1,4-sineol'ün etkileri denenmiştir. Nitekim elektriksel alan stimülasyonu ile çalışmalarımızda kullanılan test maddeleri olan karvakrol, 1,8-sineol ve 1,4-sineol 'den hiçbirisi ile literatür çalışmasına rastlanmamış ve bu alanda ilk kez burada deneysel veriler sunulmaktadır.

Karvakrol ve 1,8-sineol (eukalyptol), Dünya Farmakoloji Birliği (IUPHAR) veritabanlarında spesifik etkili maddeler olarak sınıflandırılmakta fakat 1,4-sineol bu veritabanlarında yer almamaktadır ([http-1](http://1)). Bu maddelerin spesifik etkileri son yıllarda TRP kanalları ile ilişkili olarak sözkonusu veritabanlarında yer almaktadır (Alexander ve ark., 2009).

Daha önce yapılan çalışmalarda, karvakrol'ün mide fundus, duodenum, ileum, aorta ve trachea gibi düz kaslarda etkisi çalışılmıştır (Aydın ve ark., 1996a; Boskabady ve Jandaghi, 2003a; Arı, 2005; Duman, 2005; Begrow ve ark., 2009; Peixoto-Neves ve ark., 2009). Karvakrol'ün izole sıçan mide fundusunda ACh ile indüklenen kasılmalar üzerinde etkisiz (Aydın ve Seker., 2005c) ve izole sıçan aortasında etkisiz olduğu (Aydın ve ark., 2007), başka bir çalışmada ise gevşetici etkili olduğu bildirilmiştir (Peixoto-Neves ve ark., 2009). Karvakrol üzerinde bu şekilde çelişkili sonuçların bildirilmesi, bu madde ile çalışmalarda kullanılan hayvan özellikleri, doz, çözücü ve manipulasyonlar gibi birden fazla faktör ile açıklanabilir. Nitekim, karvakrol'ün gevşetici etkisinin bildirildiği çalışmada, 10^{-3} M gibi yüksek dozda kullanıldığı görülmüştür (Peixoto-Neves ve ark., 2009). Ayrıca, karvakrol'ün deneylerden gözlenen etkisinde, birden fazla reseptör ve etki mekanizmasını kullandığı öne sürülmüştür (Aydın ve ark., 2009a).

Karvakrol'ün izole vas deferens üzerinde gevşetici etkisi bulunduğu (Van Den Broucke ve Lemli, 1982; Aydın ve Cakmak, 2009b), bu etkinin oluşmasında karvakrol üzerindeki izopropil grubunun önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Aydın ve Cakmak, 2009b). Karvakrol'ün, izole kardiyomyositlerinde L-tip kalsiyum kanallarını inhibe ettiği (Magyar ve ark., 2004), in vivo anestezide sıçanların kardiyovasküler sisteminde önemli derecede hipotansiyon yaptığı, bu etkinin L-NAME gibi NOS inhibitörlerine duyalı olduğu gösterilmiş (Aydın ve ark., 2007) fakat karvakrol'ün mesane üzerindeki etkisine ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla karvakrol'ün mesane üzerindeki etkili olduğu ilk kez çalışmamızda gösterilmiş bulunmaktadır.

Çalışmalarımızda karvakrol'ün EAS ile uyarılan organların hepsinde inhibisyon yaptığı bulunmuştur. Karvakrol'e en fazla duyarlı organın ileum ve daha sonra mesane olduğu, en az duyarlı organın prostatik vas deferens olduğu bulunmuştur. Opioid reseptör antagonisti nalokson ve NOS inihbitörü olan NoARG varlığında karvakrol'ün etkisinde herhangi bir anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Karvakrol'ce zengin uçucu yağların analjezik etkilerinin bulunduğu ve bu etkilerin naloksona duyarlı olduğu bildirilmiştir (Aydın ve ark., 1996b; Aydın ve ark., 1998a; Aydın ve ark., 1999). İzole sıçan mesane, vas deferens ve atrium ile yapılan çalışmalarımızda karvakrol'ün nalokson ile etkileşmediği gözlenmiştir. İzole organlar ile alınan bu sonuçların, daha önce bildirilen in vivo analjezik etkiler ile değerlendirildiğinde, karvakrol'ün santral etkisinde spesifik etki yöresi nedeniyle etkili olduğu ve nalokson ile etkileşmediği sonucuna varılmıştır.

Nitekim bizim çalışmalarımızda karvakrol ile nalokson etkileşmesi sadece ileum üzerinde gözlenmiştir. Bu organda, karvakrol'un tek başına etki göstermediği 10^{-5} M dozunda, nalokson varlığında karvakrol'un istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyona neden olduğu bulunmuştur. Karvakrol ile nalokson etkileşmesi, klasik morfin nalokson etkileşmesi şeklinde değil fakat nalokson varlığında karvakrol etkisinin artışı şeklinde olmaktadır. Karvakrol'un bu şekilde nalokson ile etkileşmesi ilk kez çalışmalarımızda gösterilmiş bulunmaktadır.

Bu bulgularımız, karvakrol'un nalokson ile etkileşmesine ilişkin periferik organlarda alınan ilk deneysel sonuçtur. Karvakrol'un TRP kanalları ile etkileştiği bilinmektedir (Alexander ve ark. 2009). Opioid reseptör agonisti olan morfinin de TRP kanalları ile etkileştiğini bildiren çalışmalar (Forster ve ark., 2009) dikkate alınacak olursa, karvakrol'un opioidlerle bazı ortak etki yörelerini kullandıkları düşünülmektedir.

Öte yandan periferik morfinin bazı dokulardaki etkilerinin, örneğin morfinin kalpteki etkilerinin nalokson ile antagonize edilemediğini bildirilmiş olması (Hung ve ark., 1998; Romero ve ark., 1992) gibi opioid agonistlerinin naloksona dirençli etkilerinin varlığı, test maddelerimizin etki mekanizmasında birden fazla mekanizma ile karşı karşıya olduğumuzu düşündürmektedir.

Karvakrol'un nalokson ile etkileşmesi, nalokson ile antagonize olan klasik morfin etkisi şeklinde değildir. Aksine, nalokson varlığında karvakrol etkisinde görülen bir artış şeklinde kendini ortaya koymaktadır (**Şekil 1**).

Karvakrol ve nalokson etkileşmesine ek olarak, karvakrol benzeri maddelerin periferik organlarda denenmesi için ileumun en uygun organ olduğu sonucuna varılmıştır.

Karvakrol'un etkisinin in vivo çalışmalarda L-NAME duyarlı olduğunun gösterilmiş olması (Aydin ve ark., 2007) fakat çalışmalarımızda NoARG ile herhangi bir etkileşmenin gözlenmemiş olması, üzerinde çalıştığımız atrium dokusunda nitrejik yolak ile karvakrol'un etkileşmediğini göstermiştir. Öte yandan daha önceki çalışmalarda nitrejik yolak ile karvakrol etkileşmesinin bildirilmiş olması, çalışmalarımıza dahil olmayan santral ve otonom sinir sisteminde nitrejik yolak ile karvakrol'un etkileşmesi ile ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Dolayısıyla, karvakrol'un EAS ile uyarılan periferik dokularda, nalokson ile etkileşmesinin sözkonusu olduğu fakat nitrejik etkileşmesinin olmadığı çalışmalarımızda gösterilmiş olmaktadır.

Karvakrol'un AChE enzimini inhibe ettiği ileri sürmüştü (Jukic ve ark., 2007), ancak bizim çalışmalarımızda karvakrol deneye alınan izole organların tümünde anlamlı inhibisyona neden olmuş ve dolayısıyla karvakrol'un AChE enzimini inhibe etmediğini anlaşılmıştır.

Karvakrol'un kalsiyum pompasını thapsigargin varlığında daha fazla inhibe ettiği (Peixoto-Neves ve ark., 2009), voltaja bağlı membran kalsiyum kanallarını (Magyar ve ark., 2004; Arı, 2005; Duman, 2005) ve intraselüler ryanodin reseptörlerinden RyR-1 (Sarkozi ve ark., 2007) ve ayrıca kalsiyum mekanizmasını kullanan TRP kanallarından TRPA1, TRPV3, TRPs, TRPL ve TRPM7 ile etkileştiği gösterilmiştir. TRPs, TRPA1 ve TRPV3 üzerinde aktivasyon, TRPL ve

TRPM7 üzerinde spesifik inhibisyon yapmaktadır (Xu ve ark., 2006; Alexander ve ark., 2009; Parnas ve ark., 2009; Ueda ve ark., 2009; Yamada ve ark., 2010). Dolayısıyla myokardial ve düz kas dokularında gözlenen karvakrol'ün neden olduğu inhibitör etkilerden kalsiyum kanallarının önemli rol oynadığı ve birden fazla mekanizmanın karvakrol etkisinin oluşmasında rol oynadığı sonucuna varılmıştır.

Karvakrol'ün izole sıçan mesanesi üzerindeki etkisinin ilk kez bildirildiği çalışmamızda, karvakrol'ün inhibitör etkisi diğer organlara benzerlik göstermekte, dolayısıyla benzer mekanizmalar üzerinden karvakrol etkisinin oluştuğu düşünülmektedir.

Birçok araştırmacı düz kaslı doku örneklerinde, standart kastırıcı maddeler kullanarak deneylerini sürdürmektedir. Bilindiği gibi bu maddeler nöromuskular kavşak sonrası reseptörlere etki ederek kasılmalara yol açmaktadırlar. ACh, histamin, NA ve ATP gibi maddeler direkt düz kas üzerindeki reseptörlere etki ederek, KCl iyon kanallarını aktive ederek ve dolayısıyla membran depolarizasyonuna neden olarak (De Luca ve ark., 1990; Leurs ve ark., 1991; Rodriguez ve ark., 2006; Driessen ve ark., 1993), baryum klorür ise hücre içine girerek direkt kasılma mekanizmalarını aktive ederek (Hansen ve ark., 1984) stimülasyona yol açmaktadırlar. 1955 yılında Paton'un elektriksel stimülasyonların ganglion sonrası sinir uçlarından ACh salıverilmesini indüklediğini göstermesi ile birlikte izole düz kas örneklerinde elektriksel uyarıyla tetiklenen kasılma yanıtları, nörotransmitter salınımı ve nöromuskler ileti süreçlerinin çalışılabileceği temel elektrofizyolojik model haline gelmiştir (Paton, 1957). EAS nörotransmitter salıverilmesine neden olarak kasılma yanıtını oluşturduğu bilinmektedir (Amerini ve ark., 1991; Santiago-Mejia ve ark., 2007). EAS'na bağlı kasılma yanıtlarının kavşak öncesi nörotransmitter salıverilmesi üzerinden organ yanıtına neden oldukları (De Man ve ark., 2001) ve tetrodotoksin varlığında yok olması nedeniyle sinirsel kaynaklı olduğu gösterilmiştir (Bedwani ve Blanning, 1983; D'Agostino ve ark., 2000). EAS yöntemi, postgangliyonik nöronların presinaptik etkilerinin gösterilmesinde ve özellikle opioid sistemini çalışılmasında kullanılan bir yöntem olarak önem kazanmıştır (Paton, 1957, Kosterlitz ve ark., 1975; Radomirov ve Venkova, 1988; Waterfield ve ark., 1977; Riba ve ark., 2010). EAS, sinaptik kavşak öncesi nörotransmitter salıverilmesinin modüle edildiği mekanizmaların araştırılması için uygun bir yöntemdir. Bu açıdan bakıldığında karvakrol'un presinaptik bölgede etkili olabileceği düşünülmektedir.

1,8-Sineol, ökaliptus başta olmak üzere bazı bitkilerde bulunan bir kimyasal maddedir. İki adet halkasal yapı taşır ve bu açıdan hem karvakrol'den hem 1,4-sineol'den yapısal açıdan farklıdır (**Şekil 24**). 1,8-Sineol'ce zengin bitkisel maddeler ve saf olarak çalışılan araştırmalarda farmakolojik açıdan aktivitesi bildirilmiştir. Bazı bitki ekstrelerinde gözlenen analjezik etkiden sorumlu olduğu ileri sürülmüş (Aydın ve ark., 1998b) ve analjezik etkili olduğu gösterilmiştir (Santos ve Rao, 2000). İzole trachea ve solunum kaslarında (Coelho-de-Souza ve ark., 2005; Bastos ve ark., 2009; Nascimento ve ark., 2009), uterus (Ponce-Monter ve ark., 2008), aorta (Lahlou ve ark., 2002; Pinto ve ark., 2009), papiller kasta (Soares ve ark., 2005), mide, ileum (Tütüncü, 2003; Madeira ve ark., 2005; Neves ve ark., 2007) ve vas deferens üzerinde inhibitör etkisi gösterilmiştir (Tütüncü, 2003). TRPM8 üzerinde aktivatör olduğu gösterilmiştir (Behrendt ve ark., 2004;

Mahieu ve ark., 2009; Masamoto ve ark., 2009). 1,4-Sineol'ün ise, santral etkisi ile analjezik etkili olduğu gösterilmiştir (Aydın ve ark., 2002). İzole sıçan mide fundus, ileum ve vas deferens üzerinde çalışılmış, sadece vas deferens üzerinde inhibitör etkili olduğu gösterilmiştir (Tütüncü 2003).

1,4-Sineol'ün, santral etkisi ile analjezik etkili olduğu gösterilmiştir (Aydın ve ark., 2002). İzole sıçan mide fundus, ileum ve vas deferens üzerinde çalışılmış ve sadece vas deferens üzerinde inhibitör etkili olduğu gösterilmiştir (Tütüncü 2003).

Gerek 1,8-sineol gerekse 1,4-sineol ile daha önce yapılan çalışmaların hiç birisi EAS ile yapılmamıştır. Bu açıdan bakıldığında çalışmamız bu alanda yeni veriler ve ilk kez gösterilen sonuçlar sunmuştur. 1,8-Sineol'ün sadece ileum üzerinde ve sadece 10^{-3} M dozunda inhibitör etkili olduğu, diğer organlarda etkili olmadığı bulunmuştur. Karvakrol ile yapılan çalışmalarımız da dikkate alındığında, izole ileum dokusunun bu grup maddeler için oldukça duyarlı bir organ olduğu çalışmalarımızda gösterilmiş bulunmaktadır.

Tek başına verildiğinde sol atrium üzerinde etkili olmayan 1,8-sineol'ün, NoARG varlığında inhibitör etkili olduğu bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmada 1,8-sineol'ün izole aorta üzerindeki gevşetici etkisinin L-NAME ile antagonize edilmiş olması (Pinto ve ark., 2009) bizim bulgularımız ile örtüşmemektedir. Çalışmalarımızda 1,8-sineol'ün izole atrium üzerindeki etkisinin NoARG varlığında artmış olması ilk kez tarafımızdan gösterilmektedir. Bu çelişkili bulguların oluşmasında farklı yöntemler ile dokuların uyarılması ve kullanılan dozun rolü olduğu düşünülebilir.

Nalokson varlığında 1,8-sineol'ün inhibitör etkisinde anlamlı bir artış olmuştur. Dolayısıyla 1,8-sineol'ün ileumdaki etkisi nedeniyle opioidler, atrium üzerindeki etkisi nedeniyle de nitretrjik sistemler ile etkileştiği sonucuna varılmıştır.

1,4-Sineol ile yapılan çalışmalarda, karvakrol ve 1,8-sineol'e benzer şekilde ileumda anlamlı bir inhibitör etki gözlenmiştir. 1,4-Sineol'ün, 5×10^{-4} M dozunda etki göstermiş olması nedeniyle 1,8-sineol'den daha fazla fakat karvakrol'e göre daha zayıf etkili olduğu anlaşılmıştır.

Mesane ve sol atrium gibi 1,8-sineol'ün etkili olmadığı organlar üzerinde 1,4-sineol'ün inhibitör etkili olması dikkatimizi çekmiştir. Bu organlar üzerindeki etkisi nedeniyle, 1,4-sineol, ileumdaki etkisine benzer şekilde, 1,8-sineol'den daha fazla etkili fakat karvakrol'e göre daha zayıf etki gösterdiği anlaşılmıştır.

Epididymal vas deferens üzerinde tek başına herhangi bir etkisi olmayan 1,4-sineol'ün, nalokson varlığında inhibitör etki göstermiş olması dikkati çekmiştir. İzole atrium üzerinde tek başına etki göstermeyen 1,4-sineol'ün, nalokson varlığında inhibitör etki göstermiş olması ve bu etkisinin, atrium kasılmalarını bazal düzeye incek kadar dramatik düzeylerde olması dikkati çekmiştir. NoARG varlığında, etkide anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Dolayısıyla, 1,4-sineol'ün nalokson ile etkileştiği fakat nitretrjik mekanizmalar ile etkileşmediği sonucuna varılmıştır. Opioid agonistlerin kardiyovasküler sistemde nitrik oksit ile etkileştiği ve NO-cGMP yolağını kullanmaları ve bu etkinin naloksona duyarlı olduğu gösterilmiştir (Liu ve ark., 2006). Çalışmalarımızda nalokson ile 1,4-sineol etkileşmesinde nasıl bir mekanizmanın rol oynadığı ve dokuya spesifik şekilde

gözlenen 1,4-sineol'ün etkisi üzerinde detaylı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

1,8-Sineol ve 1,4-sineol'ün vas deferens üzerindeki etkileri çalışılmıştır (Tütüncü 2003). Gerek 1,8-sineol gerekse 1,4-sineol etkilerinde, prostatik ve epididymal vas deferens üzerinde gözlenen farklı etkiler bildirilmiştir. Fenilefrin kasılmalarına karşı her iki maddenin etkisiz, KCl kasılmalarına karşı her ikisinin de etkili olduğu fakat sadece 10^{-3} M dozunda etki gösteren 1,8-sineol etkisinin çok düşük olduğu, 1,4-sineol etkisinin daha 10^{-7} gibi düşük dozlarda bile gözlemlendiği bildirilmiştir (Tütüncü, 2003). EAS kullanılarak yapılan çalışmalarımızda ise sadece 1,4-sineol'ün etkili olduğu, epididymal parçanın etkiye duyarlı olduğu bulunmuştur dolayısıyla bu maddelerin etkileri ilk kez çalışmamızda gösterilmiştir.

Sıçan vas deferensinde opioid sistemin etkili olduğu bilinmektedir (Riba ve ark., 2010). KCl kasılmalarında inhibisyon yapan dolayısıyla voltaja bağlı kalsiyum kanallarıyla etkileştiği gösterilmiş olan 1,4-sineol'ün (Tütüncü, 2003) aynı zamanda ile etki ederek, birden fazla mekanizma üzerinden inhibisyon yaptığı anlaşılmaktadır. Opioid agonist ve antagonistlerinin glutamerjik sistem ile aynı yönde etkili olarak düz kas kasılmasında etkili oldukları, NMDA reseptörleri ile etkileşebildikleri bildirilmiştir (Koyuncuoğlu ve ark., 1992). Bu nedenle böyle bir etkileşme olasılığın bulunduğu, bu konuda gelecekte yapılacak çalışmalarda dikkate alınması gerekmektedir.

Opioid reseptörleri OP1, OP2, OP3 ve OP4 olarak alttipleri ve nitrik oksid sentaz (NOS) enziminin indüklenebilir NOS (iNOS), endotelial NOS (eNOS) ve nöronal NOS (nNOS) izozimleri vardır (Aimi ve ark., 1993; Calo' ve ark. 2000; Alexander, 2009) ve opioid reseptörler ile nitrejik etkileşme gösterilmiş bulunmaktadır (Stefano ve ark., 2004). Deneylerimizden önce konuyla ilgili veri olmaması ve yeni bir kapsamlı çalışmanın konusu olması nedeniyle, deneylerimizde test maddeleriyle NOS etkileşmesine yönelik detaylı çalışmalar yapılmamıştır.

Çalışmalarımızda vas deferensin prostatik ve epididymal kısımları ayrı ayrı çalışılmıştır. Vas deferensin prostatik ve epididymal kısımları arasındaki çeşitli ajanlara gösterdiği etkilerin farklı olduğu bilinmektedir (Charlton ve Hughes, 1989; Aboud ve ark., 1993). Çalışmalarımızda vas deferensin bu iki kısmı arasında çok farklı cevaplar gözlenmiştir. Bu farklılıklar nedeniyle, karvakrol ve sineol gibi oksijenli monoterpenik yapıda olan maddelerin test edilmesinde, prostatik vas deferensin uygun bir organ olmadığı burada gösterilmiş bulunmaktadır. Maddelerin organ seçiciliği konusunda spesifik etkilerine ek olarak, toksik etkilerinin de dikkate alınmasında yarar vardır. Örneğin karvakrol'ün mitokondriyal toksisite gösterdiği bildirilmiştir (Monzote ve ark., 2009).

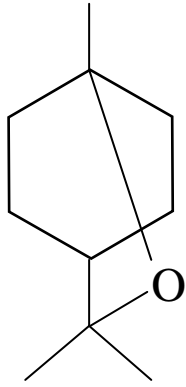
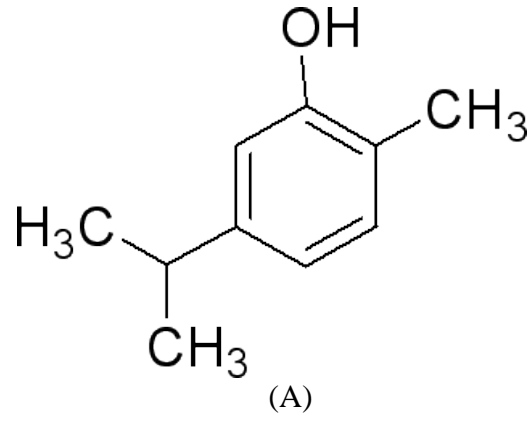
Çalışmalarımızda test edilen karvakrol, 1,8-sineol ve 1,4-sineol'ün kimyasal yapılarına benzer moleküllerin de etkili oldukları bilinmektedir. Örneğin 4-kloro-m-kresol ryanodin reseptör aktivatörü ve SERCA pompa inhibitörüdür (Al-Mousa ve Michelangeli, 2009). Karvakrol'ün sinonim isimlerinden birisinin izopropil-krezol olduğu dikkate alınacak olursa, kimyasal yapı benzerliklerinin deneylerimizde gözlenen etki ile paralel olması beklenebilir.

Karvakrol benzeri başka bir molekül olan propofol, karvakrolden farklı olarak üzerinde iki adet izopropil grubu taşıyan ve klinikte genel anestezi olarak kullanılan bir moleküldür. Dolayısıyla izopropil grubunun gözlenen farmakolojik etkilerde önemli ölçüde rol oynadığı düşünülebilir. Nitekim yapılan bir çalışmada izopropil grubunun etkiden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Aydın ve Cakmak, 2009b). Deneylelerimizde bu düşünceyi destekleyen yapısal benzerlikler bulunmaktadır. Örneğin, etkisi en az olan 1,8-sineol'ün molekül yapısında serbest izopropil grubu bulunmamakta fakat 1,4-sineol ve karvakrolde izopropil grubu bulunmaktadır.

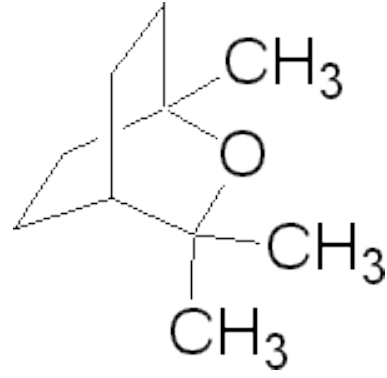
Fenolik yapı üzerinde serbest hidroksil grubu varlığının farmakolojik etkilerde artışa yol açacağına ilişkin deneysel sonuçlar bulunmaktadır (Aydın ve ark., 2003). Opioid peptidlerin yapısındaki aromatik ve fenolik hidroksil yapının farmakolojik etki üzerinde önemli role sahip olduğu gösterilmiştir (Yu ve ark., 2007; Thomas ve ark., 2004). Test maddelerimizde gözlenen etkiler ile sahip oldukları yapı arasında bir ilişki olduğu düşünülmelidir.

1,4-Sineol ve 1,8-sineol'de bulunmayan serbest hidroksil grubunun sadece karvakrol molekülünde varlığı, izopropil grubuyla birlikte farmakolojik etkide artışa neden olduğunu düşündürmektedir. Bu özelliklere ek olarak, karvakrol molekülünde bulunan fenolik yapının planar özelliğinin sineol moleküllerinde olmaması da etkinin karvakrol'de fazlalaşmış olmasının bir başka nedeni olarak görülebilir. Bu bilgiler nedeniyle, tüm organlarda etki gücü açısından, en güçlüden en zayıfa doğru her zaman şu sıra gözlenmiştir: karvakrol, 1,4-sineol ve 1,8-sineol. 1,4-Sineol, isim olarak 1,8-sineole benzemekle birlikte, farmakolojik etki açısından karvakrole daha çok benzeyen bir profil sergilemiştir.

Burada sunulmuş olan EAS verileri ile birlikte, test edilen maddelerin kimyasal yapıları ile gösterdikleri farmakolojik etkileri arasındaki ilişkiler, farmakolojik açıdan aktif yeni etkili maddelerin keşfinde önemli dayanak oluşturacaktır.



(B)



(C)

Şekil 24. Karvakrol 1,8-Sineol ve 1,4-Sineol'ün Moleküler Şekilleri.

(A) Karvakrol'ün moleküler şekli (Exarchou ve ark., 2003).

(B) 1,8-Sineol'ün moleküler şekli (Scott ve ark., 2000).

(C) 1,4-Sineol'ün moleküler şekli (Scott ve ark., 2000).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Deneylelerimizde test edilen kimyasal maddelerden karvakrol, en fazla etkili, 1,8-sineol ise en az etkili madde olmuştur. Bu nedenle farmakolojik etki açısından sineol'den daha çok, karvakrol ile yeni çalışmaların yapılmasında yarar bulunmaktadır. Bu grup maddelerin etkilerine duyarlılık açısından en az duyarlı olan organın prostatik vas deferens olduğu gözlenmiş olması nedeniyle, bu organın test organı olarak olabildiğince kullanılmaması gerekir. Bu grup moleküllerin çalışılmasında EAS oldukça yararlı bir yöntem olarak kendini göstermiştir. Moleküler yapı olarak basit olan fakat farmakolojik olarak birden fazla etki yöresi ile etkileşen karvakrol gibi moleküllerin son yıllarda bildirilen toksik etkilerinin dikkate alınarak yeni deneylerin yapılmasında yarar bulunmaktadır.

Organların innervasyonları dikkate alınarak spesifik reseptör agonist ya da antagonistlerin ve iyon kanalları ile etkileşen ajanların kullanılmasıyla yeni çalışmaların yapılmasının yanı sıra, deneylerimizde nalokson ile etkileştiği görülen bu maddeler ile yeni çalışmaların yapılması, etki mekanizmalarının aydınlatılması açısından yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Aboud, R., Shafii, M., Docherty, J.R., Investigation of the subtypes of alpha 1-adrenoceptor mediating contractions of rat aorta, vas deferens and spleen. *Br. J. Pharmacol.*, 109 (1), 80-87 (1993).
- Aidi Wannas, W., Mhamdi, B., Marzouk, B., Essential oil composition of two myrtus communis L. varieties grown in North Tunisia, *Ital. J. Biochem.*, 56 (2), 180-186 (2007).
- Aimi, Y., Kimura, H., Kinoshita, T., Minami, Y., Fujimura, M., Vincent, S.R., Histochemical localization of nitric oxide synthase in rat enteric nervous system, *Neuroscience*, 53 (2), 553-560 (1993).
- Ait M'Barek, L., Ait Mouse, H.âfâni, A., Aboufatima, R., Benharref, A., Kamal, M., Bénard, J., El Abbadi, N., Bensalah, M., Gamouh, A., Chait, A., Dalal, A., Zyad, A., Cytotoxic effect of essential oil of thyme (*Thymus broussonettii*) on the IGR-OV1 tumor cells resistant to chemotherapy, *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 40 (11), 1537-1544 (2007).
- Alexander, S. P., Mathie, A., Peters, J. A., Guide to receptors and channels (GRAC), 3rd edition, *Br. J. Pharmacol.*, 158 (1), 1-254 (2009).
- Almirall, M., Monta a, J., Escribano, E., Obach, R., Berrozpe, J.D., Effect of d-limonene, alpha-pinene and cineole on in vitro transdermal human skin penetration of chlorpromazine and haloperidol, *Arzneimittelforschung*, 46 (7), 676-680 (1996).
- Al-Mousa, F., Michelangeli, F., Commonly used ryanodine receptor activator, 4-chloro-m-cresol (4CmC), is also an inhibitor of SERCA Ca²⁺ pumps, *Pharmacol. Rep.*, 61 (5), 838-842 (2009).
- Amerini, S., Rubino, A., Filippi, S., Ledda, F., Mantelli, L., Modulation by adrenergic transmitters of the efferent function of capsaicin-sensitive nerves in cardiac tissue, *Neuropeptides*, 20 (4), 225-232 (1991).
- Amnuaitkit, C., Ikeuchi, I., Ogawara, K., Higaki, K., Kimura, T., Skin permeation of propranolol from polymeric film containing terpene enhancers for transdermal use, *Int. J. Pharm.*, 289 (1-2), 167-178 (2005).
- Andersen A., Final report on the safety assessment of sodium p-chloro-m-cresol, p-chloro-m-cresol, chlorothymol, mixed cresols, m-cresol, o-cresol, p-cresol, isopropyl cresol, thymol, o-cymen-5-ol, and carvacrol, *Int. J. Toxicol.*, 25, 29-127 (2006).
- Anjos, J.L., Neto Dde, S., Alonso, A., Effects of 1,8-cineole on the dynamics of lipids and proteins of stratum corneum, *Int. J. Pharm.*, 345 (1-2), 81-87 (2007).
- Arı, S., Karvakrol, Timol, Orto- ve Meta-Krezol'un İzole Sıçan Mide-Fundus, İleum ve Aorta Üzerinde CaCl₂ Kasılmalarına Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2005).
- Aristatile, B., Al-Numair, K.S., Veeramani, C., Pugalendi, K.V., Effect of carvacrol on hepatic marker enzymes and antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats, *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 23 (6), 757-765 (2009).

- Asakawa, Y., Toyota, M., Ishida, T., Biotransformation of 1,4-cineole, a monoterpene ether, *Xenobiotica*, 18 (10), 1129-1134 (1988).
- Aydin, S., Arslan, R., Cakmak, A., Role of carvacrol on the analgesic actions of natural products, *J. Physiol. Sci.*, 59 (suppl.1), 381, (2009a).
- Aydin, S., Basaran, A.A., Basaran, N., Modulating effects of thyme and its major ingredients on oxidative DNA damage in human lymphocytes, *J. Agric. Food Chem.*, 53 (4), 1299-1305 (2005a).
- Aydin, S., Başaran, A.A., Başaran, N., The effects of thyme volatiles on the induction of DNA damage by the heterocyclic amine IQ and mitomycin C, *Mutat. Res.*, 581 (1-2), 43-53 (2005b).
- Aydin, S., Beis, R., Can, O.D., Analgesic and antispasmodic activities of 2-(2-nitro-phenyl)-1H-benzimidazole 5-carboxylic acid: Evidence for the importance of the 2-(o-substituted phenyl) group, *Pharmazie.*, 58 (6), 405-408 (2003).
- Aydin, S., Beis, R., Naloxone sensitive analgesic activity of 1,4-cineole, XIVth World Congress of Pharmacology, USA, (2002).
- Aydin, S., Beis, R., Oztürk, Y., Baser, K.H., Nepetalactone: a new opioid analgesic from *Nepeta caesarea* Boiss, *J. Pharm. Pharmacol.*, 50 (7), 813-817 (1998a).
- Aydin, S., Cakmak, A., Karvakrolun izole fare vas deferens uzerindeki inhibitor etkisinde izopropil grubunun rolu, 20.Ulusal Farmakoloji Kongresi, Manavgat-Antalya, Kongre Kitabi, 261, (2009b).
- Aydin, S., Demir, T., Oztürk, Y., Başer, K.H., Analgesic activity of *Nepeta italica* L., *Phytother. Res.*, 13 (1), 20-23 (1999).
- Aydin, S., Seker, E., Effect of an aqueous distillate of *Origanum onites* L. on isolated rat fundus, duodenum and ileum: evidence for the role of oxygenated monoterpenes, *Pharmazie.*, 60 (2), 147-150 (2005c).
- Aydin, Y., Kutlay, O., Ari, S., Duman, S., Uzuner, K., Aydin S., Hypotensive effects of carvacrol on the blood pressure of normotensive rats, *Planta Med.*, 73 (13), 1365-1371 (2007).
- Aydin, S., Başer, K.H.C., Öztürk, Y., The chemistry and pharmacology of *Origanum* (kekik) water. Proceedings of the 27th international symposium on essential oils, Allured Publ., 52-60 (1996a).
- Aydin, S., Demir, T., Öztürk, Y., Başer, K.H.C., Analgesic effects of *Nepeta italica* L.: Evidence for a new opioid compound; 1,8-sineol, *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, 358 (1), 35-199 (1998b).
- Aydin, S., Öztürk, Y., Beis, R., Başer, K.H.C., Karvakrol'ün farelerde in vivo analjezik etkisi, XIII. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Tekirova/Antalya, Özet kitabı, 147 (poster no:A7) (1996b).
- Azirak, S., Rencuzogullari, E., The in vivo genotoxic effects of carvacrol and thymol in rat bone marrow cells, *Environ. Toxicol.*, 23 (6), 728-735 (2008).

Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M., Debevere, J., Inhibitory effects of spices and herbs towards *Shigella sonnei* and *S. Flexneri*, *Meded. Rijksuniv. Gent. Fak. Landbouwk. Toegep. Biol. Wet.*, 66 (3b), 523-530 (2001).

Balacs, T., Cineole-rich eucalyptus, *International Journal of Aromatherapy*, 8 (2), 15-21 (1997).

Bárány, M., *Biochemistry of smooth muscle contraction*, Academic Press, San Diego, California, 53, 79, 87, 91, 97, 105-114, 1996.

Barthó, L., Lénárd, L. Jr., Maggi, C.A., Evidence for the involvement of P2-purinoceptors in the cholinergic contraction of the guinea-pig ileum, *Br. J. Pharmacol.*, 121 (8), 1507-1508 (1997).

Bastos, V.P., Brito, T.S., Lima, F.J., Pinho, J.P., Lahlou, S., Abreu Matos, F.J., Santos, A.A., Caldas Magalhães PJ. Inhibitory effect of 1,8-cineole on guinea-pig airway challenged with ovalbumin involves a preferential action on electromechanical coupling, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 36 (11), 1120-1126 (2009).

Bedwani, J.R., Blanning, P.E., Effects of prostaglandin E2 on fast and slow components of the response of the rat vas deferens to field stimulation, *Br. J. Pharmacol.*, 78 (1), 143-150 (1983).

Begrow, F., Engelbertz, J., Feistel, B., Lehnfeld, R., Bauer, K., Verspohl, E.J., Impact of thymol in thyme extracts on their antispasmodic action and ciliary clearance, *Planta Med.*, (2009).

Behrendt, H.J., Germann, T., Gillen, C., Hatt, H., Jostock, R., Characterization of the mouse cold-menthol receptor TRPM8 and vanilloid receptor type-1 VR1 using a fluorometric imaging plate reader (FLIPR) assay, *Br. J. Pharmacol.*, 141 (4), 737-745 (2004).

Ben Arfa, A., Combes, S., Preziosi-Belloy, L., Gontard, N., Chalier, P., Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure, *Lett. Appl. Microbiol.*, 43 (2), 149-154 (2006).

Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J.M., Bernardini, A.F., Costa, J., Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation, *Food Chem.*, 106 (1), 132-139 (2008).

Bimczok, D., Rau, H., Sewekow, E., Janczyk, P., Souffrant, W.B., Rothkötter, H.J., Influence of carvacrol on proliferation and survival of porcine lymphocytes and intestinal epithelial cells in vitro, *Toxicol. In Vitro*, 22 (3), 652-658 (2008).

Blandina, P., Barattini, M., Fantozzi, R., Masini, E., Brunelleschi, S., Mannaioni, P.F., Mediator release from isolated rat ileum in response to field stimulation, *Agents Actions*, 14 (3-4), 405-409 (1984).

Blinks, J.R., Plummer, E.F., Field stimulation as a means of effecting the graded release of autonomic transmitters in isolated heart muscle, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 151 (2), 221-235 (1966).

- Boskabady, M.H., Jandaghi, P., Relaxant effects of carvacrol on guinea pig tracheal chains and its possible mechanisms, *Pharmazie.*, 58 (9), 661-663 (2003a).
- Boskabady, M.H., Ramazani, M., Tabei, T., Relaxant effects of different fractions of essential oil from *Carum copticum* on guinea pig tracheal chains, *Phytother. Res.*, 17 (10), 1145-1149 (2003b).
- Botelho, M.A., Nogueira, N.A.P., Bastos, G.M., Fonseca, S.G.C., Lemos, T.L.G., Matos, F.J.A., Montenegro, D., Heukelbach, J., Rao, V.S., Brito, G.A.C., Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippa sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens, *Braz. J. Biol. Res.*, 40 (3), 349-456 (2007).
- Bourne, K.Z., Bourne, N., Reising, S.F., Stanberry, L.R., Plant products as topical microbicide candidates: assessment of in vivo and in vitro activity against herpes simplex virus type 2, *Antiviral Res.*, 42 (3), 219-226 (1999).
- Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M.G., Faleiro, F., Rejeb, M.N., Neffati, M., Costa, M.M., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. Et Link., *Food Chem.*, 105 (1), 146-155 (2007).
- Boyle, R., McLean, S., Foley, W., Davies, N.W., Peacock, E.J., Moore, B., Metabolites of dietary 1,8-cineole in the male koala (*Phascolarctos cinereus*), *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 129 (4), 385-395 (2001).
- Boyle, R.R., McLean, S., Brandon, S., Wiggins, N., Rapid absorption of dietary 1,8-cineole results in critical blood concentration of cineole and immediate cessation of eating in the common brushtail possum, *J. Chem. Ecol.*, 31 (12), 2775-2790 (2005).
- Boyle, R.R., McLean, S., Constraint of feeding by chronic ingestion of 1,8-cineole in the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*), *J. Chem. Ecol.*, 30 (4), 757-775 (2004).
- Brown, D.A., Docherty, J.R., French, A.M., MacDonald, A., McGrath, J.C., Scott, N.C., Separation of adrenergic and non-adrenergic contractions to field stimulation in the rat vas deferens, *Br. J. Pharmacol.*, 79 (2), 379-393 (1983).
- Bukovská, A., Cikos, S., Juhás, S., Il'ková, G., Rehák, P., Koppel, J., Effects of a combination of Thyme and Oregano essential oils on TNBS-induced colitis in mice, *Mediators Inflamm.*, 23296 (2007).
- Bullock, J., Boyle, J., Wang, M.W., Fiziyojji, Çeviri editörü, Hariri, N., Saray Tıp Kitapevleri, İzmir, 28 ,31 , 101-102, 1994.
- Burt, S.A., Fledderman, M.J., Haagsman, H.P., van Knapen, F., Veldhuizen, E.J., Inhibition of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis on agar and raw chicken by carvacrol vapour, *Int. J. Food Microbiol.*, 119 (3), 346-350 (2007).
- Bültmann, R., Kruz, A.K., Starke, K., α_1 -Adrenoceptors and calcium sources in adrenergic neurogenic contractions of rat vas deferens, *Br. J. Pharmacol.*, 111 (1), 151-158 (1994).
- Calo', G., Guerrini, R., Rizzi, A., Salvadori, S., Regoli, D., Pharmacology of nociceptin and its receptor: a novel therapeutic target, *Br. J. Pharmacol.*, 129 (7), 1261-1683 (2000).

- Canbek, M., Uyanoglu, M., Bayramoglu, G., Senturk, H., Erkasap, N., Koken, T., Uslu, S., Demirustu, C., Aral, E., Husnu Can Baser, K., Effects of carvacrol on defects of ischemia-reperfusion in the rat liver, *Phytomedicine*, 15 (6-7), 447-452 (2008).
- Cetin, H., Erler, F., Yanikoglu, A., A comparative evaluation of *Origanum onites* essential oil and its four major components as larvicides against the pine processionary moth, *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams, *Pest. Manag. Sci.*, 63 (8), 830-833 (2007).
- Cetin, H., Yanikoglu, A., A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey, *J. Vector Ecol.*, 31 (1), 118-122 (2006).
- Chami, N., Bennis, S., Chami, F., Aboussekhra, A., Remmal, A., Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol in vitro and in vivo, *Oral Microbiol. Immunol.*, 20 (2), 106-111 (2005).
- Champakaew, D., Choochote, W., Pongpaibul, Y., Chaithong, U., Jitpakdi, A., Tuetun, B., Pitasawat, B., Larvicidal efficacy and biological stability of a botanical natural product, Zedoary oil-impregnated sand granules, against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae), *Parasitol. Res.*, 100 (4), 729-737 (2007).
- Chan, A.S., Pang, H., Yip, E.C., Tam, Y.K., Wong, Y.H., Carvacrol and eugenol differentially stimulate intracellular Ca²⁺ mobilization and mitogen-activated protein kinases in Jurkat T-cells and monocytic THP-1 cells, *Planta. Med.*, 71 (7), 634-639 (2005).
- Chao, L.K., Hua, K.F., Hsu, H.Y., Cheng, S.S., Liu, J.Y., Chang, S.T., Study on the antiinflammatory activity of essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum*, *J. Agric. Food Chem.*, 53 (18), 7274-7278 (2005).
- Charlton, J., Hughes, I.E., Effect of meptazinol on evoked responses in rat vas deferens, *J. Pharm. Pharmacol.*, 41 (11), 762-765 (1989).
- Cheah, L.S., Gwee, M., Das, R., Ballard, H., Yang, Y.F., Daniel, E.E., Kwan, C.Y., Evidence for the existence of a constitutive nitric oxide synthase in vascular smooth muscle, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 29 (8), 725-727 (2002).
- Choksi, N.Y., Haseman, J.H., Allen, D.G., Tice, R.R., Stokes, W.S., Estimation of the under-prediction rates for the in vivo rabbit dermal irritation assay, *Society of Toxicology 43rd Annual Meeting, Dermal Irritation Poster*, (2004).
- Clegg, R.J., Middleton, B., Bell, G.D., White, D.A., Inhibition of hepatic cholesterol synthesis and S-3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase by mono and bicyclic monoterpenes administered in vivo, *Biochem. Pharmacol.*, 29 (15), 2125-2127 (1980).
- Coelho-de-Souza, L.N., Leal-Cardoso, J.H., de Abreu Matos, F.J., Lahlou, S., Magalhães, P.J., Relaxant effects of the essential oil of *Eucalyptus tereticornis* and its main constituent 1,8-cineole on guinea-pig tracheal smooth muscle, *Planta Med.*, 71 (12), 1173-1175 (2005).

- Copello, J.A., Zima, A.V., Diaz-Sylvester, P.L., Fill, M., Blatter, L.A., Ca²⁺ entry-independent effects of L-type Ca²⁺ channel modulators on Ca²⁺ sparks in ventricular myocytes, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 292 (6), C2129-C2140 (2007).
- Cox, S.D., Markham, J.L., Susceptibility and intrinsic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* to selected plant volatile compounds, *J. Appl. Microbiol.*, 103 (4), 930-936 (2007).
- Croteau, R., Alonso, W.R., Koepp, A.E., Johnson, M.A., Biosynthesis of monoterpenes: partial purification, characterization, and mechanism of action of 1,8-cineole synthase, *Arch. Biochem. Biophys.*, 309 (1), 184-192 (1994).
- Dadaloğlu, I., Evrendilek, G.A., Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens, *J. Agric. Food Chem.*, 52 (26), 8255-8260 (2004).
- D'Agostino, G., Bolognesi, M.L., Lucchelli, A., Vicini, D., Balestra, B., Spelta, V., Melchiorre, C., Tonini, M., Prejunctional muscarinic inhibitory control of acetylcholine release in the human isolated detrusor: involvement of the M4 receptor subtype, *Br. J. Pharmacol.*, 129 (3), 493-500 (2000).
- De Amici, M., Conti, P., Fasoli, E., Barocelli, E., Ballabeni, V., Bertoni, S., Impicciatore, M., Roth, B.L., Ernsberger, P., De Micheli, C., Synthesis and in vitro pharmacology of novel heterocyclic muscarinic ligands, *Farmaco*, 58 (9), 739-748 (2003).
- De Luca, A., Li, C.G., Rand, M.J., Reid, J.J., Thaina, P., Wong-Dusting, H.K., Effects of omega-conotoxin GVIA on autonomic neuroeffector transmission in various tissues, *Br. J. Pharmacol.*, 101 (2), 437-447 (1990).
- De Man, J.G., Moreels, T.G., De Winter, B.Y., Bogers, J.J., Van Marck, E.A., Herman, A.G., Pelckmans, P.A., Disturbance of the prejunctional modulation of cholinergic neurotransmission during chronic granulomatous inflammation of the mouse ileum, *Br. J. Pharmacol.*, 133 (5), 695-707 (2001).
- Demirci, F., Paper, D., Franz G., Başer, K.H.C., Investigation of the *Origanum onites* L. essential oil using the chorioallantoic membrane (CAM) assay, *J. Agric. Food Chem.*, 52 (2), 251-254 (2004).
- De Vincenzi, M., Stamatii, A., De Vincenzi, A., Silano, M., Constituents of aromatic plants: carvacrol, *Fitoterapia*, 75 (7-8), 801-804 (2004).
- Domeier, T.L., Zima, A.V., Maxwell, J.T., Huke, S., Mignery, G.A., Blatter, L.A., IP₃ receptor-dependent Ca²⁺ release modulates excitation-contraction coupling in rabbit ventricular myocytes, *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, 294 (2), H596-604 (2008).
- Driessen, B., von Kügelgen, I., Starke, K., Neural ATP release and its alpha 2-adrenoceptor-mediated modulation in guinea-pig vas deferens, *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, 348 (4), 358-366 (1993).

Duisken, M., Sandner, F., Blömeke, B., Hollender, J., Metabolism of 1,8-cineole by human cytochrome P450 enzymes: identification of a new hydroxylated metabolite, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1722 (3), 304-311 (2005).

Duke, S.O., Baerson, S.R., Dayan, F.E., Rimando, A.M., Scheffler, B.E., Tellez, M.R., Wedge, D.E., Schrader, K.K., Akey, D.H., Arthur, F.H., De Lucca, A.J., Gibson, D.M., Jr, H.F.H., Peterson, J.K., Gealy, D.R., Tworkoski, T., Wilson, C.L., Morris, J.B., United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service research on natural products for pest management, *Pest Manag. Sci.*, 59 (6-7), 708-717 (2003).

Duman, S., Timol, karvakrol, orto- ve meta-krezol'ün izole sıçan aorta, ileum ve mide fundus üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2005).

Dziba, L.E., Hall, J.O., Provenza, F.D., Feeding behaviour of lambs in relation to kinetics of 1,8-cineole dosed intravenously or into the rumen, *J. Chem. Ecol.*, 32 (2), 391-408 (2006).

Earley, S., Gonzales, A.L., Garcia, Z.I., A dietary agonist of TRPV3 elicits endothelium-dependent vasodilation, *Mol. Pharmacol.*, (2010).

Eglen, R.M., Choppin, A., Watson N. Therapeutic opportunities from muscarinic receptor research, *Trends Pharmacol. Sci.*, 22 (8), 409-414 (2001).

Ellis, J.L., Burnstock, G., Angiotensin neuromodulation of adrenergic and purinergic co-transmission in the guinea-pig vas deferens, *Br. J. Pharmacol.*, 97 (4), 1157-1164 (1989).

Eminagaoglu, O., Tepe, B., Yumurutas, O., Akpulat, H.A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A., The in vitro antioxidative properties of the essential oils and methanol extracts of *Satureja spicigera* (K. Koch.) Boiss. and *Satureja cuneifolia* ten, *Food Chem.*, 100 (1), 339-343 (2007).

Enomoto, S., Asano, R., Iwahori, Y., Narui, T., Okada, Y., B.Singan, A.N., Okuyama, T., Hematological studies on black cummin oil from the seeds of *Nigella sativa* L., *Biol. Pharm. Bull.*, 24 (3), 307-310 (2001).

Exarchou, V., Godejohann, M., van Beek, T.A., Gerothanassis, I.P., Vervoort, J., LC-UV-solid-phase extraction-NMR-MS combined with a cryogenic flow probe and its application to the identification of compounds present in Greek oregano, *Anal. Chem.*, 75 (22), 6288-6294 (2003).

Faleiro, L., Miguel, G., Gomes, S., Costa, L., Venâncio, F., Teixeira, A., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oils Isolated from *Thymbra capitata* L. (Cav.) and *Origanum vulgare* L., *J. Agric. Food Chem.*, 53 (21), 8162-8168 (2005).

Farag, R.S., Shalaby, A.S., El-Baroty, G.A., Ibrahim, N.A., Ali, M.A., Hassan, E.M., Chemical and Biological Evaluation of the Essential Oils of Different *Melaleuca* Species, *Phytother. Res.*, 18 (1), 30-35 (2004).

Fariña, L., Boido, E., Carrau, F., Versini, G., Dellacassa, E., Terpen compounds as possible precursors of 1,8-cineole in red grapes and wines, *J. Agric. Food Chem.*, 53 (5), 1633-1636 (2005).

- Femenía-Font, A., Balaguer-Fernández, C., Merino, V., Rodilla, V., López-Castellano, A., Effect of chemical enhancers on the in vitro percutaneous absorption of sumatriptan succinate, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 61 (1-2), 50-55 (2005).
- Fennessy, M.R., Heimans, R.L., Rand, M.J., Comparison of effect of morphine-like analgesics on transmurally stimulated guinea-pig ileum, *Br. J. Pharmacol.*, 37 (2), 436-449 (1969).
- Fitzgerald, D.J., Stratford, M., Gasson, M.J., Ueckert, J., Bos, A., Narbad, A., Mode of antimicrobial action of vanillin against *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* and *Listeria innocua*, *J. Appl. Microbiol.*, 97 (1), 104-113 (2004).
- Flamini, G., Cioni, P.L., Morelli, I., Maccioni, S., Baldini, R., Phytochemical typologies in some populations of *Myrtus communis* L. on Caprione promontory (East Liguria, Italy), *Food Chem.*, 85 (4), 599-604 (2004).
- Forster, A.B., Reeh, P.W., Messlinger, K., Fischer, M.J., High concentrations of morphine sensitize and activate mouse dorsal root ganglia via TRPV1 and TRPA1 receptors, *Mol. Pain*, 16 (5), 17 (2009).
- Freire, C.M.M., Marques, M.O.M., Costa, M., Effects of seasonal variation on the central nervous system activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil, *J. Ethnopharmacol.*, 105 (1-2), 161-166 (2006).
- Friedman, M., Buick, R., Elliott, C.T., Antibacterial activities of naturally occurring compounds against antibiotic-resistant *Bacillus cereus* vegetative cells and spores, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*, *J. Food Prot.*, 67 (8), 1774-1778 (2004).
- Ganong, W.F., Review of medical physiology, Lange Medical Books/McGraw-Hill Medical Pub. Division, New York, 34, 62-67, 74-76, 79-80, 2001.
- Gill, A.O., Holley, R.A., Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics, *Int. J. Food Microbiol.*, 108 (1), 1-9 (2006a).
- Gill, A.O., Holley, R.A., Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics, *Int. J. Food Microbiol.*, 111 (2), 170-174 (2006b).
- Gomes-Carneiro, M.R., Felzenszwalb, I., Paumgarten, F.J., Mutagenicity testing (+/-)-camphor, 1,8-cineole, citral, citronellal, (-)-menthol and terpineol with the *Salmonella*/microsome assay, *Mutat. Res.*, 416 (1-2), 129-136 (1998).
- Gourine, A.V., Wood, J.D., Burnstock, G., Purinergic signalling in autonomic control, *Trends Neurosci.*, 32 (5), 241-248 (2009)
- Grabesteiner, E., Arshad, N., Hell, M., Differences in the in vitro susceptibility of mono-eukaryotic cultures of *Histomonas meleagridis*, *Tetratrichomonas gallinarum* and *Blastocystis* sp. to natural organic compounds, *Parasitol. Res.*, 101 (1), 193-199 (2007).

- Guyton, A.C., Hall J.E., *Tıbbi Fizyoloji, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul*, 65, 1996.
- Guyton, A.C., Hall J.E., *Tıbbi Fizyoloji, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul*, 54-59, 67-71, 84-89, 93, 2001.
- Haass, M., Cheng, B., Richardt, G., Lang, R.E., Schömig, A., Characterization and presynaptic modulation of stimulation-evoked exocytotic co-release of noradrenaline and neuropeptide Y in guinea pig heart, *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, 339 (1-2), 71-78 (1989).
- Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V., Antifungal activity of the components of Melaleuca (tea tree) oil, *J. Appl. Microbiol.*, 95 (4), 853-860 (2003).
- Hansen, T.R., Dineen, D.X., Petrak, R., Mechanism of action of barium ion on rat aortic smooth muscle, *Am. J. Physiol.*, 246 (3 Pt 1), C235-241 (1984).
- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Faleiro, M.L., Miguel, M.G., Composition of the essential oils of Thymus and Origanum species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities, *J. Agric. Food Chem.*, 54 (17), 6314-6321 (2006).
- Heard, C.M., Kung, D., Thomas, C.P., Skin penetration enhancement of mefenamic acid by ethanol and 1,8-cineole can be explained by the 'pull' effect, *Int. J. Pharm.*, 321 (1-2), 167-170 (2006).
- Heldin, C.H., Purton, M., *Signal Transduction*, Chapman & Hall, London, 203-212, 1996.
- Hendry, E.R., Worthington, T., Conway, B.R., Lambert, P.A., Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1,8-cineole alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures, *J. Antimicrob. Chemother.*, 64 (6), 1219-1225 (2009).
- Hill, R.W., Wyse, G.A., Anderson, M., *Animal Physiology*, Sinauer Associates, Sunderland, Mass., 484, 2004.
- Hole, J.W., *Human Anatomy Physiology*, Wm. C. Brown, Dubuque, Iowa, 272, 275-276, 284-286, 1993.
- Horváthová, E., Sramková, M., Lábaj, J., Slamenová, D., Study of cytotoxic, genotoxic and DNA-protective effects of selected plant essential oils on human cells cultured in vitro, *Neuro. Endocrinol. Lett.*, 27 (2), 44-47 (2006).
- Horvathova, E., Turcaniova, V., Slamenova, D., Comparative study of DNA-damaging and DNA-protective effects of selected components of essential plant oils in human leukemic cells K562, *Neoplasma*, 54 (6), 478-483 (2007).
- Hotta, M., Nakata, R., Katsukawa, M., Hori, K., Takahashi, S., Inoue, H., Carvacrol, a component of thyme oil, activates PPARalpha and gamma and suppresses COX-2 expression, *J. Lipid Res.*, 51 (1), 132-139 (2010).
- http-1 <http://www.iuphar.org> (30.01.2010).
- Huang, Y., Lau, C.W., Ho, I.H., NS 1619 activates Ca²⁺-activated K⁺ currents in rat vas deferens, *Eur. J. Pharmacol.*, 325 (1), 21-27 (1997).

- Hudaib, M., Speroni, E., Di Pietra, A.M., Cavrini, V., GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 29 (4), 691-700 (2002).
- Hughes, J., Kosterlitz, H.W., Leslie, F.M., Effect of morphine on adrenergic transmission in the mouse vas deferens. Assessment of agonist and antagonist potencies of narcotic analgesics, *Br. J. Pharmacol.*, 53 (3), 371-381 (1975).
- Hung, C.F., Tsai, C.H., Su, M.J., Opioid receptor independent effects of morphine on membrane currents in single cardiac myocytes, *Br. J. Anaesth.*, 81 (6), 925-931 (1998).
- Ipek, E., Zeytinoglu, H., Okay, S., Tuylu, B.A., Kurkcuoglu, M., Baser, K.H.C., Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames salmonella/microsomal test, *Food Chem.*, 93 (3), 551-556 (2005).
- Ishii, K., Yamamoto, S., Muraki, T., Kato, R., Partial agonistic action of morphine in the rat vas deferens, *Jpn. J. Pharmacol.*, 31 (6), 905-909 (1981).
- Ivancheva, C., Itzev, D., Lolova, I., Radomirov, R., Contribution of nitric oxide and substance P to nonadrenergic, noncholinergic transmission in the guinea pig ileum, *Gen. Pharmacol.*, 31 (1), 101-105 (1998).
- Jäger, W., Nasel, B., Nasel, C., Binder, R., Stimpfl, T., Vycudilik, W., Buchbauer, G., Pharmacokinetic studies of the fragrance compound 1,8-cineole in human during inhalation, *Chem. Senses.*, 21 (4), 477-480 (1996).
- Jain, A.K., Thomas, N.S., Panchagula, R., Transdermal drug delivery of imipramine hydrochloride. I. Effect of terpenes, *J. Control. Release*, 79 (1-3), 93-101 (2002).
- Jang, Y.S., Yang, Y.C., Choi, D.S., Ahn, Y.J., Vapor phase toxicity of marjoram oil compounds and their related monoterpenoids to *Blattella germanica* (Orthoptera: Blattellidae), *J. Agric. Food Chem.*, 53 (20), 7892-7898 (2005).
- Jeong, E.Y., Lim, J.H., Kim, H.G., Lee, H.S., Acaricidal activity of *Thymus vulgaris* oil and its main components against *Tyrophagus putrescentiae*, a stored food mite, *J. Food Prot.*, 71 (2), 351-355 (2008).
- Ji, L., Xu, Z., Pan, G., Yang, G., GC-MS analysis of constituents of essential oils from stems of *Ephedra sinica* Stapf, *E. intermedia* Schrenk et C.A. Mey. and *E. equisetina* Bge, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 22 (8), 489-492, 512 (1997).
- Jiang, Y., He, X., Ortiz de Montellano, P.R., Radical intermediates in the catalytic oxidation of hydrocarbons by bacterial and human cytochrome P450 enzymes, *Biochemistry*, 45 (2), 533-542 (2006).
- Johnson, C.B., Kazantzis, A., Skoula, M., Mitteregger, U., Novak, J., Seasonal, populational and ontogenic variation in the volatile oil content and composition of individuals of *Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*, assessed by GC headspace analysis and by SPME sampling of individual oil glands, *Phytochem. Anal.*, 15 (5), 286-292 (2004).

- Jones, B.R., El-Merhibi, A., Ngo, S.N., Stupans, I., McKinnon, R.A., Hepatic cytochrome P450 enzymes belonging to the CYP2C subfamily from an Australian marsupial, the koala (*Phascolarctos cinereus*), *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*, 148 (3), 230-237 (2008).
- Joy, B., Rajan, A., Abraham, E., Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil from *Hedychium coronarium*, *Phytother. Res.*, 21 (5), 439-443 (2007).
- Juergens, U.R., Engelen, T., Racké, K., Stöber, M., Gillissen, A., Vetter, H., Inhibitory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) on cytokine production in cultured human lymphocytes and monocytes, *Pulm. Pharmacol. Ther.*, 17 (5), 281-287 (2004).
- Juergens, U.R., Stöber, M., Schmidt-Schilling, L., Kleuver, T., Vetter, H., Antiinflammatory effects of eucalyptol (1,8-cineole) in bronchial asthma: inhibition of arachidonic acid metabolism in human blood monocytes *ex vivo*, *Eur. J. Med. Res.*, 3 (9), 407-412 (1998).
- Jukic, M., Politeo, O., Maksimovic, M., Milos, M., Milos, M., In vitro acetylcholinesterase inhibitory properties of thymol, carvacrol and their derivatives thymoquinone and thymohydroquinone, *Phytother. Res.*, 21 (3), 259-261 (2007).
- Juneja, V.K., Friedman, M., Carvacrol, cinnamaldehyde, oregano oil, and thymol inhibit *Clostridium perfringens* spore germination and outgrowth in ground turkey during chilling, *J. Food Prot.*, 70 (1), 218-822 (2007).
- Kacem, R., Meraihi, Z., Effects of essential oils extracted from *nigella sativa* (L.) seeds and its main components on human neutrophil elastase activity, *Yakugaku Zasshi*, 126 (4), 301-305 (2006).
- Kakubari, I., Nakamura, N., Takayasu, T., Yamauchi, H., Takayama, S., Takayama, K., Effects of solvents on skin permeation of formoterol fumarate, *Biol. Pharm. Bull.*, 29 (1), 146-149 (2006).
- Kalembe, D., Kusewicz, D., Swiader, K., Antimicrobial properties of the essential oil of *Artemisia asiatica* Nakai, *Phytother. Res.*, 16 (3), 288-291 (2002).
- Kararli, T.T., Kirchhoff, C.F., Penzotti, S.C., Enhancement of transdermal transport of azidothymidine (AZT) with novel terpene and terpene-like enhancers: In vivo-in vitro correlations, *J. Control. Release.*, 34 (1), 43-51 (1995).
- Karioti, N., Skaltsa, H., Perdetzoglou, D., Effect of solution conductivity on the volatile constituents of *Origanum dictamnus* L. in nutrient film culture, *J. Agric. Food Chem.*, 53 (5), 1656-1660 (2005).
- Karioti, A., Vrahimi-Hadjilouca, T., Droushiotis, D., Rancic, A., Hadjipavlou-Litina, D., Skaltsa, H., Analysis of the essential oil of *Origanum dubium* growing wild in Cyprus. Investigation of its antioxidant capacity and antimicrobial activity, *Planta Med.*, 72 (14), 1330-1334 (2006).

- Karkabounas, S., Kostoula, O.K., Daskalou, T., Veltsistas, P., Karamouzis, M., Zelovitis, I., Metsios, A., Lekkas, P., Evangelou, A.M., Kotsis, N., Skoufos, I., Anticarcinogenic and antiplatelet effects of carvacrol, *Exp. Oncol.*, 28 (2), 121-125 (2006).
- Karlsson, J.O., Svensson, S.P., Mårtensson, L.G., Odman, S., Elwing, H., Lundström, K.I., Effects of odorants on pigment aggregation and cAMP in fish melanophores, *Pigment Cell Res.*, 7 (1), 61-64 (1994).
- Karousou, R., Koureas, D.N., Kokkini, S., Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete, *Phytochemistry*, 66 (22), 2668-2673 (2005).
- Kasperek, M.S., Fatima, J., Iqbal, C.W., Duenes, J.A., Sarr, M.G., Role of VIP and substance P in NANC innervation in the longitudinal smooth muscle of the rat jejunum - influence of extrinsic denervation, *J. Surg. Res.*, 141 (1), 22-30 (2007).
- Kaya, A., Demirci, B., Baser, K.H.C., Micromorphology of glandular trichomes of *Nepeta congesta* Fisch. & Mey. Var. *congesta* (Lamiaceae) and chemical analysis of the essential oil, *S. Afr. J. Bot.*, 73 (1), 29-34 (2007).
- Kayaalp, S.O., rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, 624-625, 923-937, 653, 2005.
- Kehrl, W., Sonnemann, U., Dethlefsen, U., Therapy for acute nonpurulent rhinosinusitis with cineole: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled trial, *Laryngoscope.*, 114 (4), 738-742 (2004).
- Kim, N.H., Hyun, S.H., Jin, C.H., Lee, S.K., Lee, D.W., Jeon, T.W., Lee, J.S., Chun, Y.J., Lee, E.S., Jeong, T.C., Pretreatment with 1,8-cineole potentiates thioacetamide-induced hepatotoxicity and immunosuppression, *Arch. Pharm. Res.*, 27 (7), 781-789 (2004).
- Knio, K.M., Usta, J., Dagher, S., Zournajian, H., Kreydiyyeh, S., Larvicidal activity of essential oils extracted from commonly used herbs in Lebanon against the seaside mosquito, *Ochlerotatus caspius*, *Bioresour. Technol.*, 99 (4), 763-768 (2008).
- Kojda, G., Kottenberg, K., Nix, P., Schlüter, K.D., Piper, H.M., Noack, E., Low increase in cGMP induced by organic nitrates and nitrovasodilators improves contractile response of rat ventricular myocytes, *Circ. Res.*, 78 (1), 91-101 (1996).
- Kojima, Y., Takahashi, T., Fujina, M., Owyang, C., Inhibition of cholinergic transmission by opiates in ileal myenteric plexus is mediated by kappa receptor. Involvement of regulatory inhibitory G protein and calcium N-channels, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 268 (2), 965-970 (1994).
- Kokkini, S., Vokou, D., Carvacrol-rich plants in Greece, *Flavour and Fragrance Journal*, 4 (1), 1-7 (2006).
- Kordalı, S., Cakır, A., Mavi, A., Kılıç, H., Yıldırım, A., Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish *Artemisia* species, *J. Agric. Food Chem.*, 53 (5), 1408-1416 (2005).

- Kordali, S., Kesdek, M., Cakir, A., Toxicity of monoterpenes against larva and adults of Colorado Potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae), *Ind. Crops Prod.*, 26 (3), 278-297 (2007).
- Kosar, M., Tunalier, Z., Ozek, T., Kürcüglü, M., Can Baser, K.H., A simple method to obtain essential oils from *Salvia triloba* L. and *Laurus nobilis* L. by using microwave-assisted hydrodistillation, *Z. Naturforsch. C.*, 60 (5-6), 501-504 (2005).
- Kosterlitz, H.W., Leslie, F.M., Waterfield, A.A., Rates of onset and offset of action of narcotic analgesics in isolated preparations, *Eur. J. Pharmacol.*, 32 (1), 10-16 (1975).
- Kotan, R., Kordali, S., Cakir, A., Screening of antibacterial activities of twenty-one oxygenated monoterpenes, *Z. Naturforsch. C.*, 62 (7-8), 507-513 (2007).
- Koyuncuoğlu, H., Uresin, Y., Esin, Y., Aricioğlu, F., Morphine and naloxone act similarly on glutamate-caused guinea pig ileum contraction, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 43 (2), 479-482 (1992).
- Krauss, G., *Biochemistry of signal transduction and regulation*, Wiley-VCH, Weinheim, 115, 241-246, 2003.
- Kristiansen, E., Madsen, C., Induction of protein droplet (α 2 mu-globulin) nephropathy in male rats after short-term dosage with 1,8-cineole and l-limonene, *Toxicol. Lett.*, 80 (1-3), 147-152 (1995).
- Kristinsson, K.G., Magnúsdóttir, A.B., Petersen, H., Hermansson, A., Effective treatment of experimental acute otitis media by application of volatile fluids into the ear canal, *J. Infect. Dis.*, 191 (11), 1876-1880 (2005).
- Kulisić, T., Krisko, A., Dragović-Uzelac, V., Milos, M., Pifat, G., The effects of essential oils and aqueous tea infusions of oregano (*Origanum vulgare* L. spp. *hirtum*), thyme (*Thymus vulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) on the copper-induced oxidation of human low-density lipoproteins, *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 58 (2), 87-93 (2007).
- Lacoste, E., Chaumont, J.P., Mandin, D., Plumel, M.M., Matos, F.J., Antiseptic properties of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. Application to the cutaneous microflora, *Ann. Pharm. Fr.*, 54 (5), 228-230 (1996).
- Lahlou, S., Figueiredo, A.F., Magalhães, P.J., Leal-Cardoso, J.H., Cardiovascular effects of 1,8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oils, in normotensive rats, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 80 (12), 1125-1131 (2002).
- Lai, P.K., Roy, J., Antimicrobial and chemopreventive properties of herbs and spices, *Cur. Med. Chem.*, 11 (11), 1451-1460 (2004).
- Lampronti, I., M.Saab, A., Gambari, R., Antiproliferative activity of essential oils derived from plants belonging to the Magnoliophyta division, *Int. J. Oncol.*, 29 (4), 989-995 (2006).
- Lana, E.J.L., Rocha, K.A.D., Kozhevnikov, I.V., Gusevskaya, E.V., Synthesis of 1,8-cineole and 1,4-cineole by isomerization of α -terpineol catalyzed by heteropoly acid, *J. Mol. Catal. A: Chemical*, 259 (1-2), 99-102, (2006).

- Landa, P., Kokoska, L., Pribylova, M., Vanek, T., Marsik, P., In vitro anti-inflammatory activity of carvacrol: Inhibitory effect on COX-2 catalyzed prostaglandin E(2) biosynthesis, *Arch. Pharm. Res.*, 32 (1), 75-78 (2009).
- Leal-Cardoso, J.H., Moreira, M.R., da Cruz, P., da Morais, S.M., Lahlou, M.S., Coelho-de-Souza, A.N., Effects of essential oil of *Alpinia zerumbet* on the compound action potential of the rat sciatic nerve, *Phytomedicine*, 11 (6), 549-553 (2004).
- Lee, K.G., Shibamoto, T., Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices, *J. Agric. Food Chem.*, 50 (17), 4947-4952 (2002).
- Lee, S., Peterson, C.J., Coats, J.R., Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects, *J. Stored Prod. Res.*, 39 (1), 77-85 (2003).
- Lee, T.H., Wang, G.J., Lee, C.K., Kuo, Y.H., Chou, C.H., Inhibitory effects of glycosides from the leaves of *Melaleuca quinquenervia* on vascular contraction of rats, *Planta Med.*, 68 (6), 492-496 (2002).
- Leurs, R., Brozius, M.M., Smit, M.J., Bast, A., Timmerman, H., Effects of histamine H1-, H2- and H3-receptor selective drugs on the mechanical activity of guinea-pig small and large intestine, *Br. J. Pharmacol.*, 102 (1), 179-185 (1991).
- Liapi, C., Anifantis, G., Chinou, I., Kourounakis, A.P., Theodosopoulos, S., Galanopoulou, P., Antinociceptive properties of 1,8-cineole and beta-pinene, from the essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* leaves, in rodents, *Planta Med.*, 73 (12), 1247-1254 (2007).
- Liapis, P., Pass, G.J., McKinnon, R.A., Stupans, I., Characterisation of tolbutamide hydroxylase activity in the common brushtail possum, (*Trichosurus vulpecula*) and koala (*Phascolarctos cinereus*): inhibition by the Eucalyptus terpene 1,8-cineole, *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*, 127 (3), 351-357 (2000).
- Lima-Accioly, P.M., Lavor-Porto, P.R., Cavalcante, F.S., Magalhães, P.J.C., Lahlou, S., Morais, S.M., Leal-Cardoso, J.H., Essential oil of *Croton nepetaefolius* and its main constituent, 1,8-cineole, block excitability of rat sciatic nerve in vitro, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 33 (12), 1158-1163 (2006).
- Liu, G., Daneshgari, F., Alterations in neurogenically mediated contractile responses of urinary bladder in rats with diabetes, *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 288 (6), 1220-1226 (2005).
- Liu, J., Wu, W.M., Che, J.J., Zhang, J., Wang, R., Endomorphins restored the endothelium-dependent relaxation of the rabbit aorta rings exposed to high D-glucose condition via NO-cGMP pathway, *Protein Pept. Lett.*, 13 (10), 1037-1044 (2006).
- Liu, W., Rosazza, J.P.N., A soluble *Bacillus cereus* cytochrome P-450cin system catalyzes 1,4-cineole hydroxylation, *Appl. Environ. Microbiol.*, 59 (11), 3889-3893 (1993).
- Long, J.P., Chiou, C.Y., Pharmacological testing methods for drugs acting on the peripheral nervous system, *J. Pharm. Sci.*, 59 (2), 133-148 (1970).

- Lourens, A.C.U., Reddy, D., Başer, K.H.C., Viljoen, A.M., Van Vuuren, S.F., In vitro biological activity and essential oil composition of four indigenous South African *Helichrysum* species, *J. Ethnopharmacol.*, 95 (2-3), 253-258 (2004).
- Macchioni, F., Cioni, P.L., Flamini, G., Morelli, I., Perrucci, S., Franceschi, A., Macchioni, G., Ceccarini, L., Acarisidal activity of pine essential oils and their main components against *Tyrophagus putrescentiae*, a stored food mite, *J. Agric. Food Chem.*, 50 (16), 4586-4588 (2002).
- Macías, F.A., Oliveros-Batidas, A., Marín, D., Carrera, C., Chinchilla, N., Molinillo, J.M.G., Plant biocommunicators: their phytotoxicity, degradation studies and potential use as herbicide models, *Phytochem. Rev.*, 7 (1), 179-194, (2008).
- Madeira, S.V.F., Rabelo, M., Soares, P.M.G., Souza, E.P., Meireles, A.V.P., Montenegro, C., Lima, R.F., Assreuy, A.M.S., Criddle, D.N., Temporal variation of chemical composition and relexant action of the essential oil of *ocimum gratissimum* L. (Labiatae) on guinea-pig ileum, *Phytomedicine*, 12 (6-7), 506-509 (2005).
- Magyar, J., Szentandrassy, N., Bányász, T., Fülöp, L., Varró, A., Nánási, P.P., Effects of terpenoid phenol derivatives on calcium current in canine and human ventricular cardiomyocytes, *Eur. J. Pharmacol.*, 487 (1-3), 29-36 (2004).
- Mahieu, F., Owsianik, G., Verbert, L., Janssens, A., De Smedt, H., Nilius, B., Voets, T., TRPM8-independent menthol-induced Ca²⁺ release from endoplasmic reticulum and Golgi, *J. Biol. Chem.*, 282 (5), 3325-3336 (2009).
- Major, T.C., Weishaar, R.E., Taylor, D.G., Two phases of contractile response in rat isolated vas deferens and their regulation by adenosine and alpha-receptors, *Eur. J. Pharmacol.*, 167 (3), 323-331 (1989).
- Manzanilla, E.G., Nofrarías, M., Anguita, M., Castillo, M., Perez, J.F., Martín-orúe, S.M., Kamel, C., Gasa, J., Effects of butyrate, avilamycin, and a plant extract combination on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs, *J. Anim. Sci.*, 84 (10), 2743-2751 (2006).
- Marwah, R.G., Fatope, M.O., Deadman, M.L., Ochei, J.E., Al-Saidi, S.H., Antimicrobial activity and the major components of the essential oil of *Plectranthus cylindraceus*, *J. Appl. Microbiol.*, 103 (4), 1220-1226 (2007).
- Masamoto, Y., Kawabata, F., Fushiki, T., Intra-gastric administration of TRPV1, TRPV3, TRPM8, and TRPA1 agonists modulates autonomic thermoregulation in different manners in mice, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 73 (5), 1021-1027 (2009).
- Masotti, V., Juteau, F., Bessière, J.M., Viano, J., Seasonal and phenological variation of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities, *J. Agric. Food Chem.*, 51 (24), 7115-7121 (2003).
- Matsuoka, H., II, Y., Takekawa, Y., Teraoka, T., Evaluation of antifungal volatile compounds on the basis of the elongation rate of a single hypha, *Appl. Environ. Microbiol.*, 56 (12), 3779-3784 (1990).

Matthys, H., de Mey, C., Carls, C., Ryś, A., Geib, A., Wittig, T., Efficacy and tolerability of myrtol standardized in acute bronchitis. A multi-centre, randomised, double-blind, placebo-controlled parallel group clinical trial vs. cefuroxime and ambroxol, *Arzneimittelforschung*, 50 (8), 700-711 (2000).

Mclean, S., Boyle, R.R., Brandon, S., Davies, N.W., Sorensen, J.S., Pharmacokinetics of 1,8-cineole, a dietary toxin, in the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*): Significance for feeding, *Xenobiotica*, 37 (9), 903-922 (2007).

Melo, F.H., Venâncio, E.T., de Sousa, D.P., de França Fonteles, M.M., de Vasconcelos, S.M., Viana, G.S., de Sousa, F.C., Anxiolytic-like effect of Carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement with GABAergic transmission, *Fundam. Clin. Pharmacol.*, (2009).

Menezes, I.A.C., Marques, M.S., Santos, T.C., Dias, K.S., Silva, A.B.L., Mello, I.C.M., Lisboa, A.C.C.D., Alves, P.B., Cavalcanti, S.C.H., Marçal, R.M., Antonioli, A.R., Antinociceptive effect and acute toxicity of the essential oil of *Hyptis fruticosa* in mice, *Fitoterapia*, 78 (3), 192-195 (2007).

Mezzoug, N., Elhadri, A., Dallouh, A., Amkiss, S., Skali, NS., Abrini, J., Zhiri, A., Baudoux, D., Diallo, B., El Jaziri, M., Idaomar, M., Investigation of the mutagenic and antimutagenic effects of *Origanum compactum* essential oil and some of its constituents, *Mutat. Res.*, 629 (2), 100-110 (2007).

Miguel, G., Simões, M., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Carvalho, L., Composition and antioxidant activities of the essential oil of *Thymus caespitius*, *Thymus camphoratus* and *Thymus mastichina*, *Food Chem.*, 86 (2), 183-188 (2004).

Mills, C., Cleary, B.J., Gilmer, J.F., Walsh, J.J., Inhibition of acetylcholinesterase by tea tree oil, *J. Pharm. Pharmacol.*, 56 (3), 375-379 (2004).

Miyazawa, M., Shindo, M., Shimada, T., Oxidation of 1,8-cineole, the monoterpene cyclic ether originated from *eucalyptus polybractea*, by cytochrome P450 3A enzymes in rat and human liver microsomes, *Drug Metab. Dispos.*, 29 (2), 200-205 (2001a).

Miyazawa, M., Shindo, M., Shimada, T., Roles of cytochrome P450 3A enzymes in the 2-hydroxylation of 1,4-cineole, a monoterpene cyclic ether, by rat and human liver microsomes, *Xenobiotica*, 31 (10), 713-723 (2001b).

Miyazawa, M., Sugie, A., Shimada, T., Roles of human CYP2A6 and 2B6 and rat CYP2C11 and 2B1 in the 10-hydroxylation of (-)-verbenone by liver microsomes, *Drug Metab. Dispos.*, 31 (8), 1049-1053 (2003).

Mohan, P., Sys, S.U., Brutsaert, D.L., Positive inotropic effect of nitric oxide in myocardium, *Int. J. Cardiol.*, 50 (3), 233-237 (1995).

Monzote, L., Stamberg, W., Staniek, K., Gille, L., Toxic effects of carvacrol, caryophyllene oxide, and ascaridole from essential oil of *Chenopodium ambrosioides* on mitochondria, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 240 (3), 337-347 (2009).

- Moteki, H., Hibasami, H., Yamada, Y., Katsuzaki, H., Imai, K., Komiya, T., Specific induction of apoptosis by 1,8-cineole in two human leukemia cell lines, but not a in human stomach cancer cell line, *Oncol. Rep.*, 9 (4), 757-760 (2002).
- Mühlbauer, R.C., Lozano, A., Palacio, S., Reinli, A., Felix, R., Common herbs, essential oils, and monoterpenes potently modulate bone metabolism, *Bone*, 32 (4), 372-380 (2003).
- Nachev, C.h., Ivancheva, C., Apostolova, M.D., Radomirov, R., Cholinergic responses of ileal longitudinal muscle under short-lasting exposure to cupric ions, *Auton. Autacoid Pharmacol.*, 28 (1), 11-17 (2008).
- Narishetty, S.T.K., Panchagnula, R., Effect of L-menthol and 1,8-cineole on phase behavior and molecular organization of SC lipids and skin permeation of zidovudine, *J. Control Release*, 102 (1), 59-70 (2005).
- Nascimento, N.R., Refosco, R.M., Vasconcelos, E.C., Kerntopf, M.R., Santos, C.F., Batista, F.J., De Sousa, C.M., Fonteles, M.C., 1,8-Cineole induces relaxation in rat and guinea-pig airway smooth muscle, *J. Pharm. Pharmacol.*, 61 (3), 361-366 (2009).
- Nasel, C., Nasel, B., Samec, P., Schindler, E., Buchbauer, G., Functional imaging of effects of fragrances on the human brain after prolonged inhalation, *Chem. Senses*, 19 (4), 359-364 (1994).
- Neves, J.R., Lira, G.H., Oliveira Neto, R.M., Graça, J.R., Vasconcelos, P.R., Nobre e Souza, M.A., Magalhães, P.J., Rola, F.H., Santos, A.A., 1,8-cineole decreases gastric compliance in anesthetized rats¹, *Acta Cir. Bras.*, 22 (1), 63-67 (2007).
- Nishida, N., Tamotsu, S., Nagata, N., Saito, C., Sakai, A., Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: Inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings, *J. Chem. Ecol.*, 31 (5), 1187-1203 (2005).
- Nofrarías, M., Manzanilla, E.G., Pujols, J., Gibert, X., Majó, N., Segalés, J., Gasa, J., Effect of spray-dried porcine plasma and plant extracts on intestinal morphology and on leukocyte cell subsets of weaned pigs, *J. Anim. Sci.*, 84 (10), 2735-2742 (2006).
- Nostro. A., Blanco, A.R., Cannatelli, M.A., Enea, V., Flamini, G., Morelli, I., Sudano, Roccaro, A., Alonzo, V., Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol, *FEMS Microbiol. Lett.*, 230 (2), 191-195 (2004).
- Ohhashi, T., McHale, N.G., Roddie, I.C., Thornbury, K.D., Electrical field stimulation as a method of stimulating nerve or smooth muscle in isolated bovine mesenteric lymphatics, *Pflugers Arch.*, 388 (3), 221-226 (1980).
- O'Neil, M.J., *The Merck Index*, Merck & Co. Inc., Whitehouse Station, N.J., USA, 305-306, 664, 2006.
- Orav, A., Arak, E., Raal, A., Phytochemical Analysis of the essential oil of *Achillea millefolium* L. from various European Countries, *Nat. Prod. Res.*, 20 (12), 1082-1088 (2006).

- Orhan, I., Aslan, S., Kartal, M., Şener, B., Başer, K.H.C., Inhibitory effect of Turkish *Rosmarinus officinalis* L. on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes, *Food Chem.*, 108 (2), 663-668 (2008a).
- Orhan, I., Kartal, M., Kan, Y., Sener, B., Activity of essential oils and individual components against acetyl- and butyrylcholinesterase, *Z. Naturforsch. C.*, 63 (7-8), 547-553 (2008b).
- Ozyavuz, R., Kalypncu, N.I., Karaoglu, S., Long-term use of sertraline leads to alterations in contractility of rat isolated vas deferens, *Urol. Res.*, 32 (1), 20-24 (2004).
- Palá-Paúl, J., Brophy, J.J., Goldsack, R.J., Fontaniella, B., Analysis of the volatile components of *Lavandula canariensis* (L.) Mill., a Canary Islands endemic species, growing in Australia, *Biochem. Syst. Ecol.*, 32 (1), 55-62 (2004).
- Palá-Paúl, J., Copeland, L.M., Brophy, J.J., Goldsack, R.J., Essential oil composition of two variants of *Prostanthera lasianthos* Labill. from Australia, *Biochem. Syst. Ecol.*, 34 (1), 48-55 (2006).
- Panella, N.A., Dolan, M.C., Karchesy, J.J., Xiong, Y., Peralta-Cruz, J., Khasawneh, M., Monteneri, J.A., Maupin, G.O., Use of novel compounds for pest control: insecticidal and acaricidal activity of essential oil components from heartwood of Alaska yellow cedar, *J. Med. Entomol.*, 42 (3), 352-358 (2005).
- Parnas, M., Peters, M., Dadon, D., Lev, S., Vertkin, I., Slutsky, I., Minke, B., Carvacrol is a novel inhibitor of *Drosophila* TRPL and mammalian TRPM7 channels, *Cell Calcium*, 45 (3), 300-309 (2009).
- Pass, G.J., McLean, S., Stupans, I., Induction of xenobiotic metabolising enzymes in the common brushtail possum, *Trichosurus vulpecula*, by Eucalyptus terpenes, *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, 124 (3), 239-246 (1999).
- Patacchini, R., Barthó, L., De Giorgio, R., Lénárd, L. Jr., Stanghellini, V., Barbara, G., Lecci, A., Maggi, C.A., Involvement of endogenous tachykinins and CGRP in the motor responses produced by capsaicin in the guinea-pig common bile duct, *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, 360 (3), 344-353 (1999).
- Paton, W.D.M., The action of morphine and related substances on contraction and on acetylcholine output of coaxially stimulated guinea-pig ileum, *Br. J. Pharmacol.*, 12 (1), 119-127 (1957).
- Pattnaik, S., Subramanyam, V.R., Bapaji, M., Kole, C.R., Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils, *Microbios*, 89 (358), 39-46 (1997).
- Peixoto-Neves, D., Silva-Alves, K.S., Gomes, M.D., Lima, F.C., Lahlou, S., Magalhães, P.J., Ceccatto, V.M., Coelho-de-Souza, A.N., Leal-Cardoso, J.H., Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta, *Fundam. Clin. Pharmacol.*, (2009)

- Perry, N.S., Houghton, P.J., Theobald, A., Jenner, P., Perry, E.K., In-vitro inhibition of human erythrocyte acetylcholinesterase by *salvia lavandulaefolia* essential oil and constituent terpenes, *J. Pharm. Pharmacol.*, 52 (7), 895-902 (2000).
- Pinto, E., Pina-Vaz, C., Salgueiro, L., Goncalves, M.J., Costa-de-Oliveira, S., Cavaleiro, C., Palmeira, A., Rodrigues, A., Martinez-de-Oliveira, J., Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species, *J. Med. Microbiol.*, 55 (Pt 10), 1367-1373 (2006).
- Pinto, N.V., Assreuy, A.M., Coelho-de-Souza, A.N., Ceccatto, V.M., Magalhães, P.J., Lahlou, S., Leal-Cardoso, J.H., Endothelium-dependent vasorelaxant effects of the essential oil from aerial parts of *Alpinia zerumbet* and its main constituent 1,8-cineole in rats, *Phytomedicine*, 16 (12), 1151-1155 (2009).
- Pitarokili, D., Tzakou, O., Loukis, A., Harvala, C., Volatile metabolites from *Salvia fruticosa* as antifungal agents in soilborne pathogens, *J. Agric. Food Chem.*, 51 (11), 3294-3301 (2003).
- Ponce-Monter, H., Campos, M.G., Pérez, S., Pérez, C., Zavala, M., Macías, A., Oropeza, M., Cárdenas, N., Chemical composition and antispasmodic effect of *Casimiroa pringlei* essential oil on rat uterus, *Fitoterapia*, 79 (6), 446-450 (2008).
- Prasad, R., Koul, V., Anand, S., Khar, R.K., Effect of DC/mDC iontophoresis and terpenes on transdermal permeation of methotrexate: In vitro study, *Int. J. Pharm.*, 333 (1-2), 70-78 (2007).
- Prates, H.T., Santos, J.P., Waquil, J.M., Fabris, J.D., Oliveira, A.B., Foster, J.E., Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst), *J. Stored Prod. Res.*, 34 (4), 243-249 (1998).
- Preston, C.A., Betts, H., Baldwin, I.T., Methyl jasmonate as an allelopathic agent: sagebrush inhibits germination of a neighboring tobacco, *Nicotiana attenuata*, *J. Chem. Ecol.*, 28 (11), 2343-2369 (2002).
- Prieto, J.M., Iacopini, P., Cioni, P., Chericoni, S., In vitro activity of essential oils of *Origanum vulgare*, *Satureja montana* and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes, *Food Chem.*, 104 (3), 889-895 (2007).
- Putnam, S.E., Scutt, A.M., Bicknell, K., Priestley, C.M., Williamson, E.M., Natural products as alternative treatments for metabolic bone disorders and for maintenance of bone health, *Phytother. Res.*, 21 (2), 99-112 (2007).
- Raal, A., Orav, A., Arak, E., Composition of essential oil of *Salvia officinalis* L. from various European countries, *Nat. Prod. Res.*, 21 (5), 406-411 (2007).
- Radomirov, R., Venkova, K., Pharmacological characteristics of the postsynaptically mediated contractile responses of guinea-pig ileum to long-lasting electrical field stimulation, *Neuropharmacology*, 27 (7), 729-735 (1988).
- Radusiene, J., Janulis, V., Improvement of diversity, trade and conservation of medicinal and aromatic plants, *Medicina*, 40 (8), 705-709 (2004).
- Remberg, P., Björk, L., Hedner, T., Sterner, O., Characteristics, clinical effect profile and tolerability of a nasal spray preparation of *Artemisia abrotanum* L. for allergic rhinitis, *Phytomedicine*, 11 (1), 36-42 (2004).

- Riba, P., Friedmann, T., Király, K.P., Al-Khrasani, M., Sobor, M., Asim, M.F., Spetea, M., Schmidhammer, H., Furst, S., Novel approach to demonstrate high efficacy of micro opioids in the rat vas deferens: a simple model of predictive value, *Brain Res. Bull.*, 81 (1), 178-184 (2010).
- Ribeiro, D.A., Marques, M.E.A., Salvadori, D.M.F., In vitro cytotoxic and non-genotoxic effects of gutta-percha solvents on mouse lymphoma cells by single cell gel (comet) assay, *Braz. Dent. J.*, 17 (3), 228-232 (2006).
- Ribeiro, D.A., Matsumoto, M.A., Marques, M.E., Salvadori, D.M., Biocompatibility of gutta-percha solvents using in vitro mammalian test-system, *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 103 (5), 106-109 (2007).
- Rodriguez, R., Ventura-Martinez, R., Santiago-Mejia, J., Avila-Costa, M.R., Fortoul, T.I., Altered responsiveness of the guinea-pig isolated ileum to smooth muscle stimulants and to electrical stimulation after in situ ischemia, *Br. J. Pharmacol.*, 147 (4), 371-378 (2006).
- Rohloff, J., Mordal, R., Dragland, S., Chemotypical variation of tansy (*Tanacetum vulgare* L.) from 40 different location in Norway, *J. Agric. Food Chem.*, 52 (6), 1742-1748 (2004).
- Romagni, J.G., Allen, S.N., Dayan, F.E., Allelopathic effects of volatile cineoles on two weedy plant species, *J. Chem. Ecol.*, 26 (1), 303-313 (2000a).
- Romagni, J.G., Duke, S.O., Dayan, F.E., Inhibition of plant asparagine synthetase by monoterpene cineoles, *Plant Physiol.*, 123 (2), 725-732 (2000b).
- Romero, M., Laorden, M.L., Hernández, J., Serrano, J.S., Effects of morphine on isolated right atria of the rat, *Gen. Pharmacol.*, 23 (6), 1135-1138 (1992).
- Rosazza, J.P.N., Steffens, J.J., Sariaslanı, S., Goswami, A., Beale, J.M., J.R., Reeg, S., Chapman, R., Microbial hydroxylation of 1,4-cineole, *Appl. Environ. Microbiol.*, 53 (10), 2482-2486 (1987).
- Rozman, V., Kalinovic, I., Korunic, Z., Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects, *J. Stored Prod. Res.*, 43 (4), 349-355 (2007).
- Rubino, A., Burnstock, G., Possible role of diadenosine polyphosphates as modulators of cardiac sensory-motor neurotransmission in guinea-pigs, *J. Physiol.*, 495 (Pt 2), 515-523 (1996).
- Rubino, A., Ralevic, V., Burnstock, G., Sympathetic neurotransmission in isolated rat atria after sensory-motor denervation by neonatal treatment with capsaicin, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 282 (2), 671-675 (1997).
- Rudenko, I.N., Bigdaş, E.V., Samoşlov, V.O., Kinetics of Ca²⁺, NADH, and oxidized flavoproteins in the frog olfactory lining under the effect of odorants, *Biofizika*, 52 (1), 88-94 (2007).
- Saify, Z.S., Ahsan, O., Dayo, A., Cineole as skin penetration enhancer, *Pak. J. Pharm. Sci.*, 13 (1), 29-32 (2000).

Saito, Y., Shiga, A., Yoshida, Y., Furuhashi, T., Fujita, Y., Niki, E., Effects of a novel gaseous antioxidative system containing a rosemary extract on the oxidation induced by nitrogen dioxide and ultraviolet radiation, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68 (4), 781-786 (2004).

Salamci, E., Kordali, S., Kotan, R., Cakir, A., Kaya, Y., Chemical compositions, antimicrobial and herbicidal effects of essential oils isolated from Turkish *Tanacetum aucheranum* and *Tanacetum chiliophyllum* var. *chiliophyllum*, *Biochem. Syst. Ecol.*, 35 (9), 569-581 (2007).

Santiago-Mejia, J., Ventura-Martinez, R., Gomez, C., Parra-Gamez, L., Gonzales-Rios, J., Rodriguez, R., Polyviewed expression of the altered contractility of the guinea-pig ileum after ischemia in situ and superfusion in vitro, *J. Physiol. Pharmacol.*, 58 (2), 275-285 (2007).

Santos, F.A., Rao, V.S., Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils, *Phytother. Res.*, 14 (4), 240-244 (2000).

Santos, F.A., Rao, V.S.N., 1,8-cineol, a food flavoring agent, prevents ethanol-induced gastric injury in rats, *Dig. Dis. Sci.*, 46 (2), 331-337 (2001a).

Santos, F.A., Rao, V.S.N., Mast cell involvement in the rat paw oedema response to 1,8-cineole, the main constituent of eucalyptus and rosemary oils, *Eur. J. Pharmacol.*, 331 (2-3), 253-258 (1997).

Santos, F.A., Rao, V.S.N., Possible role of mast cells in cineole-induced scratching behavior in mice, *Food Chem. Toxicol.*, 40 (10), 1453-1457 (2002).

Santos, F.A., Silva, R.M., Campos, A.R., de Araújo, R.P., Lima Júnior, R.C.P., Rao, V.S.N., 1,8-cineole (eucalyptol), a monoterpene oxide attenuates the colonic damage in rats on acute TNBS-colitis, *Food Chem. Toxicol.*, 42 (4), 579-584 (2004).

Santos, F.A., Silva, R.M., Tomé, A.R., Rao, V.S., Pompeu, M.M., Teixeira, M.J., De Freitas, L.A., De Souza, V.L., 1,8-cineole protects against liver failure in an in-vivo murine model of endotoxemic shock, *J. Pharm. Pharmacol.*, 53 (4), 505-511 (2001b).

Santos, P.A.G., Barroso, J.G., Figueiredo, A.C., Pedro, L.G., Salgueiro, L.R., Fontinha, S.S., Deans, S.G., Scheffer, J.J.C., Chemical polymorphism of populations of *Thymus caespitius* grown on the islands Corvo, Flores, São Miguel and Terceira (Azores) and on Madeira, assessed by analysis of their essential oils, *Plant Sci.*, 169 (6), 1112-1117 (2005).

Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibañez, E., Señoráns, F.J., Reglero, G., Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction, *J. Food Prot.*, 68 (4), 790-795 (2005).

Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibañez, E., Señoráns, F.J., Reglero, G., Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with antimicrobial activity from *Origanum vulgare* L.: determination of optimal extraction parameters, *J. Food Prot.*, 69 (2), 369-375 (2006).

- Sárközi, S., Almássy, J., Lukács, B., Dobrosi, N., Nagy, G., Jóna, I., Effect of natural phenol derivatives on skeletal type sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase and ryanodine receptor, *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 28 (2-3), 167-174 (2007).
- Sasaki, K., Wada, K., Tanaka, Y., Yoshimura, T., Matuoka, K., Anno, T., Thyme (*Thymus vulgaris* L.) leaves and its constituents increase the activities of xenobiotic-metabolizing enzymes in mouse liver, *J. Med. Food.*, 8 (2), 184-189 (2005).
- Sato, K., Krist, S., Buchbauer, G., Antimicrobial effect of trans-cinnamaldehyde, (—)-perillaldehyde, (—)-citronellal, citral, eugenol and carvacrol on airborne microbes using an airwasher, *Biol. Pharm. Bull.*, 29 (11), 2292-2294 (2006).
- Savelev, S., Okello, E., Perry, N.S.L., Wilkins, R.M., Perry, E.K., Synergistic and antagonistic interactions of anticholinesterase terpenoids in *Salvia lavandulaefolia* essential oil, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 75 (3), 661-668 (2003).
- Scott, J.W., Brierley, T., Schmidt, F.H., Chemical determinants of the rat electroolfactogram, *J. Neurosci.*, 20 (12), 4721-4731 (2000).
- Sefidkon, F., Abbasi, K., Jamzad, Z., Ahmadi, S., The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad, *Food Chem.*, 100 (3), 1054-1058 (2007).
- Sefidkon, F., Bahmanzadegan, A., Assareh, M.H., Abravesh, Z., Seasonal variation in volatile oil of *Eucalyptus* Species in Iran, *J. Herbs Spices Med. Plants*, 15 (1), 106-120 (2009).
- Sharma, N., Tripathi, A., Integrated management of postharvest *Fusarium* rot of gladiolus corms using hot water, UV-C and *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. Essential oil, *Postharvest Biol. Technol.*, 47 (2), 246-254 (2008).
- Shirakawa, J., Nakanishi, T., Taniyama, K., Kamidono, S., Tanaka, C., Regulation of the substance P-induced contraction via the release of acetylcholine and gamma-aminobutyric acid in the guinea-pig urinary bladder, *Br. J. Pharmacol.*, 98 (2), 437-444 (1989).
- Silva, W.J., Dória, G.A.A., Maia, R.T., Nunes, R.S., Carvalho, G.A., Blank, A.F., Alves, P.B., Marçal, R.M., Cavalcanti, S.C.H., Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides, *Bioresour. Technol.*, 99 (8), 3251-3255 (2007).
- Slamenová, D., Horváthová, E., Sramková, M., Marsáľková, L., DNA-protective effects of two components of essential plant oils carvacrol and thymol on mammalian cells cultured in vitro, *Neoplasma*, 54 (2), 108-112 (2007).
- Soares, M.C.M.S., Damiani, C.E.N., Moreira, C.M., Stefanon, I., Vasallo, D.V., Eukaliptol, an essential oil, reduced contractile activity in rat cardiac muscle, *Braz. Med. Biol. Res.*, 38 (3), 453-461 (2005).
- Solomakos, N., Govaris, A., Koidis, P., Botsoglou, N., The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage, *Food Microbiol.*, 25 (1), 120-127 (2008).

Southwell, I.A., Russell, M.F., Maddox, C.D.A., Wheeler, G.S., Differential metabolism of 1,8-cineole in insects, *J. Chem. Ecol.*, 29 (1), 83-94 (2003).

Sökmen, M., Serkedjivera, J., Daferera, D., Gulluce, M., Polissiou, M., Tepe, B., Akpulat, H.A., Sahin, F., Somken, A., In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*, *J. Agric. Food Chem.*, 52 (11), 3309-3312 (2004).

Standen, N.B., The postnatal development of adrenoceptor responses to agonists and electrical stimulation in rat isolated atria, *Br. J. Pharmacol.*, 64 (1), 83-89 (1978).

Stefano, G.B., Zhu, W., Cadet, P., Bilfinger, T.V., Mantione, K., Morphine enhances nitric oxide release in the mammalian gastrointestinal tract via the mu3 opiate receptor subtype: A hormonal role for endogenous morphine, *J. Physiol. Pharmacol.*, 55 (1), 279-288, (2004).

Sumathykuty, M.A., Rao, J.M., Padmakumari, K.P., Narayanan C.S., Essential oil constituents of some *Piper* species, *Flavour Fragr. J.*, 14 (5), 279-282 (1999).

Tabanca, N., Demirci, B., Crockett, S.L., Başer, K.H.C., Wedge, D.E., Chemical composition and antifungal activity of *Arnica longifolia*, *Aster hesperius*, and *Chrysothamnus nauseosus* essential oils, *J. Agric. Food Chem.*, 55 (21), 8430-8435 (2007).

Tas, C., Ozkan, Y., Okyar, A., Savaser, A., In vitro and ex vivo permeation studies of etodolac from hydrophilic gels and effect of terpenes as enhancers, *Drug Deliv.*, 14 (7), 453-459 (2007).

Taylor, C.W., *Intracellular messengers*, Pergamon Press, Oxford, 3, 4, 360, 371-373, 382, 1993.

Teissedre, P.L., Waterhouse, A.L., Inhibition of oxidation of human low-density lipoproteins by phenolic substances in different essential oils varieties, *J. Agric. Food Chem.*, 48 (9), 3801-3805 (2000).

Terzi, V., Morcia, C., Faccioli, P., Vale, G., Tacconi, G., Malnati, M., In vitro antifungal activity of the tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil and its major components against plant pathogens, *Lett. Appl. Microbiol.*, 44 (6), 613-618 (2007).

Thomas, C.P., Heard, C.M., In vitro transcutaneous delivery of ketoprofen and essential polyunsaturated fatty acids from a fish oil vehicle incorporating 1,8-cineole, *Drug Deliv.*, 12 (1), 7-14 (2005).

Thomas, J.B., Fix, S.E., Rothman, R.B., Mascarella, S.W., Dersch, C.M., Cantrell, B.E., Zimmerman, D.M., Carroll, F.I., Importance of phenolic address groups in opioid kappa receptor selective antagonists, *J. Med. Chem.*, 47 (4), 1070-1073 (2004).

Tolozza, A.C., Zygadlo, J., Cueto, G.M., Biurrun, F., Zerba, E., Picollo, M.I., Fumigant and repellent properties of essential oils and component compounds against permethrin-resistant *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Argentina, *J. Med. Entomol.*, 43 (5), 889-895 (2006).

- Tong, Y.C., Hung, Y.C., Shinozuka, K., Kunitomo, M., Cheng, J.T., Evidence of adenosine 5'-triphosphate release from nerve and P2x-purinoceptor mediated contraction during electrical stimulation of rat urinary bladder smooth muscle, *J. Urol.*, 158 (5), 1973-1977 (1997).
- Traboulsi, A.F., El-Haj, S., Tueni, M., Taoubi, K., Abi Nader, N., Mrad, A., Repellency and toxicity of aromatic plant extracts against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae), *Pest Manag. Sci.*, 61 (6), 597-604 (2005).
- Tütüncü, İ.B.İ., 1,8-Sineol ve 1,4-Sineol'ün İzole Sıçan Fundus, İleum ve Vas deferens Üzerindeki Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2003).
- Ueda, T., Yamada, T., Ugawa, S., Ishida, Y., Shimada, S., TRPV3, a thermosensitive channel is expressed in mouse distal colon epithelium, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 383 (1), 130-134 (2009).
- Ultee, A., Kets, E.P.W., Smid, E.J., Mechanisms of Action of Carvacol on the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65 (10), 4606-4610 (1999).
- Undi, S., Benkó, R., Wolf, M., Illényi, L., Horváth, O.P., Antal, A., Csontos, Z., Vereczkei, A., Barthó, L., Purinergic nerves mediate the non-nitroergic relaxation of the human ileum in response to electrical field stimulation, *Brain Res. Bull.*, 71 (1-3), 242-244 (2006).
- Uyanoglu, M., Canbek, M., Aral, E., Husnu Can Baser, K., Effects of carvacrol upon the liver of rats undergoing partial hepatectomy, *Phytomedicine*, 15 (3), 226-229 (2007).
- Vaddi, H.K., Ho, P.C., Chan, S.Y., Terpenes in propylene glycol as skin-penetration enhancers: permeation and partition of haloperidol, Fourier transform infrared spectroscopy, and differential scanning calorimetry, *J. Pharm. Sci.*, 91 (7), 1639-1651 (2002a).
- Vaddi, H.K., Ho, P.C., Chan, Y.W., Chan, S.Y., Terpenes in ethanol: haloperidol permeation and partition through human skin and stratum corneum changes, *J. Control. Release*, 81 (1-2), 121-133 (2002b).
- Vander, A.J., Sherman, J. H., Luciano, D. S., *Human Physiology*, McGraw-Hill, New York, 164-174, 187, 194, 304-309, 338, 340-345, 410-416, 1994.
- Van Den Broucke, C.O., Lemli, J.A., Antispasmodic Activity of *Origanum compactum*, *Planta Med.*, 45 (7), 188-190 (1982).
- Vicuña, G.C., Stashenko, E.E., Fuentes, J.L., Chemical composition of the *Lippia organoides* essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage, *Fitoterapia*, (2009).
- Viña, A., Murillo, E., Essential oil composition from twelve varieties of basil (*Ocimum* spp) grown in Colombia, *J. Braz. Chem. Soc.*, 14 (5), 744-749 (2003).
- Vogt-Eisele, A.K., Weber, K., Sherkheli, M.A., Vielhaber, G., Panten, J., Gisselmann, G., Hatt, H., Monoterpenoid agonists of TRPV3, *Br. J. Pharmacol.*, 151 (4), 530-540 (2007).

- Vuković-Gačić, B., Nikčević, S., Berić-Bjedov, T., Knežević-Vukčević, J., Simić, D., Antimutagenic effect of essential oil of sage (*Salvia officinalis* L.) and its monoterpenes against UV-induced mutations in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*, *Food Chem. Toxicol.*, 44 (10), 1730-1738 (2006).
- Vuuren, S.F.V., Vilijoen, A.M., Özek, T., Demirci, B., Başer, K.H.C., Seasonal and geographical variation of *Heteropyxis natalensis* essential oil and the effect thereof on the antimicrobial activity, *S. Afr. J. Bot.*, 73 (3), 441-448 (2007).
- Wagner, H., Wierer, M., Bauer, R., In vitro inhibition of prostaglandin biosynthesis by essential oils and phenolic compounds¹, *Planta Med.*, 52 (3), 184-187 (1986).
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y.G., Fu, Y.J., Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components, *Food Chem.*, 108 (3) 1019-1022 (2008).
- Waseda, K., Takeuchi, T., Ohta, M., Okishio, Y., Fujita, A., Hata, F., Takewaki, T., Participation of ATP in nonadrenergic, noncholinergic relaxation of longitudinal muscle of wistar rat jejunum, *J. Pharmacol. Sci.*, 97 (1), 91-100 (2005).
- Waterfield, A.A., Smokcum, R.W., Hughes, J., Kosterlitz, H.W., Henderson, G., In vitro pharmacology of the opioid peptides, enkephalins and endorphins, *Eur. J. Pharmacol.*, 43 (2), 107-116 (1977).
- Welch, R.C., Johnston, J.C., Hunter, L.K.H., Volatile constituents of the muscadine grape (*Vitis rotundifolia*), *J. Agric. Food Chem.*, 30 (4), 681-684 (1982).
- Wienforth, F., Landrock, A., Schindler, C., Siegert, J., Kirch, W., Smart Textiles: A New Drug Delivery System for Symtomatic Treatment of a Common Cold, *J. Clin. Pharmacol.*, 47 (5), 653-659 (2007).
- Wieten, L., van der Zee, R., Goedemans, R., Sijtsma, J., Serafini, M., Lubsen, N.H., van Eden, W., Broere, F., Hsp70 expression and induction as a readout for detection of immune modulatory components in food, *Cell Stress Chaperones*, 15 (1), 25-37 (2010).
- Williams, S.J., Parsons, M.E., Nitric oxide, an enteric nonadrenergic-noncholinergic relaxant transmitter: evidence using phosphodiesterase V and nitric oxide synthase inhibition, *Br. J. Pharmacol.*, 116 (2), 1789-1796 (1995).
- Xu ,H., Delling, M., Jun, J.C., Clapham, D.E., Oregano, thyme and clove-derived flavors and skin sensitizers activate specific TRP channels, *Nat. Neurosci.*, 9 (5), 628-635 (2006).
- Yadav, G. D., Kamble, S. B., Synthesis of carvacrol by Friedel-Crafts alkylation of *o*-cresol with isopropanol using superacidic catalyst UDCaT-5, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 84 (10), 1499-1508 (2009).
- Yamada, T., Ueda, T., Ugawa, S., Ishida, Y., Imayasu, M., Koyama, S., Shimada, S., Functional expression of transient receptor potential vanilloid 3 (TRPV3) in corneal epithelial cells: involvement in thermosensation and wound healing, *Exp. Eye Res.*, 90 (1), 121-129 (2010).

- Yamane, M.A., Williams, A.C., Barry, B.W., Terpene penetration enhancers in propylene glycol/water co-solvent systems: effectiveness and mechanism of action, *J. Pharm. Pharmacol.*, 47 (12A), 978-989 (1995).
- Yang, Y.C., Choi, H.Y., Choi, W.S., Clark, J.M., Ahn, Y.J., Ovicidal and Adulticidal Activity of Eucalyptus globulus Leaf Oil Terpenoids against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae), *J. Agric. Food Chem.*, 52 (9), 2507-2511 (2004).
- Yatagai, M., Ohira, T., Nakashima, K., Composition, miticidal activity and growth regulation effect on radish seeds of extracts from *Melaleuca* species, *Biochem. Syst. Ecol.*, 26 (7), 713-722 (1998).
- Yu, Y., Shao, X., Wang, C.L., Liu, H.M., Cui, Y., Fan, Y.Z., Liu, J., Wang, R., In vitro and in vivo characterization of opioid activities of endomorphins analogs with novel constrained C-terminus: evidence for the important role of proper spatial disposition of the third aromatic ring, *Peptides*, 28 (4), 859-870 (2007).
- Yuan, G., Wahlqvist, M.L., He, G., Yang, M., Li, D., Natural products and anti-inflammatory activity, *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 15 (2), 143-152 (2006).
- Zaccaro, S.M.F., Lima, O.L.R., Carvalho, F.B., Côrte-Real, F.S., In vitro evaluation of macrophage viability after incubation in orange oil, eucalyptol, and chloroform, *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 102 (3), 24-27 (2006).
- Zappi, L., Nicosia, F., Rocchi, D., Song, P., Rehder, K., Opioid agonists modulate release of neurotransmitters in bovine trachealis muscle, *Anesthesiology*, 83 (3), 543-551 (1995).
- Zeytinoglu, H., Incesu, Z., Baser, K.H., Inhibition of DNA synthesis by carvacrol in mouse myoblast cells bearing a human N-RAS oncogene, *Phytomedicine*, 10 (4), 292-299 (2003).
- Zeytinoglu, M., Aydın, S., Öztürk, Y., Başer, K.H.C.: Inhibitory effects of carvacrol on DMBA induced pulmonary tumorigenesis in rats, *Acta Pharmaceutica Turcica*, 40 (2), 93-98, (1998).
- Zheng, Y.M., Wang, Q.S., Rathore, R., Zhang, W.H., Mazurkiewicz, J.E., Sorrentino, V., Singer, H.A., Kotlikoff, M.I., Wang, Y.X., Type-3 ryanodine receptors mediate hypoxia-, but not neurotransmitter-induced calcium release and contraction in pulmonary artery smooth muscle cells, *J. Gen. Physiol.*, 125 (4), 427-440 (2005).
- Zhou, F., Ji, B., Zhang, H., Jiang, H., Yang, Z., Li, J., Li, J., Ren, Y., Yan, W., Synergistic effect of thymol and carvacrol combined with chelators and organic acids against *Salmonella Typhimurium*, *J. Food Prot.*, 70 (7), 1704-1709 (2007).
- Ziganshin, A.U., Ralevic, V., Burnstock, G., Contractility of urinary bladder and vas deferens after sensory denervation by capsaicin treatment of newborn rats, *Br. J. Pharmacol.*, 114 (1), 166-170 (1995).
- Zunino, M.P., Zygadlo, J.A., Effect of monoterpenes on lipid oxidation in maize, *Planta*, 219 (2), 303-309 (2004).

