

Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca Ecz. İsmail Bilal İsmail TÜTÜNCÜ'nün Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "1,8-SİNEOL VE 1,4-SİNEOL'UN İZOLE SIÇAN FUNDUS, İLEUM VE VAS DEFERENS ÜZERİNDEKİ ETKİSİ" başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


03.10 /2003

124031

Adı-Soyadı

İmza

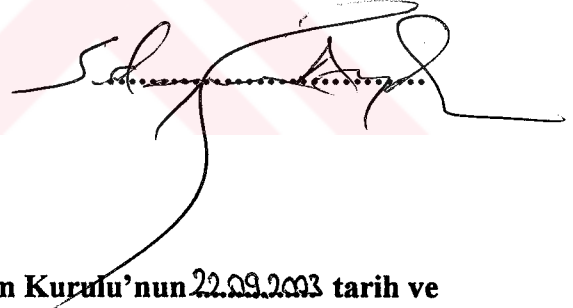
Üye (Tez Danışmanı): Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK



Üye : Prof. Dr. Keşer Feri

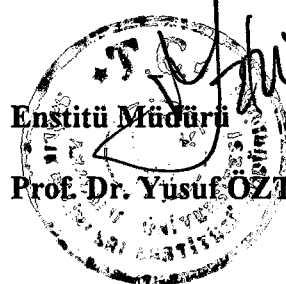


Üye : Doç. Dr. Süleyman AYDIN



Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 22.09.2003 tarih ve 23/1... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

**EC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

  
Enstitü Müdürü  
Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK

**1,8-SİNEOL VE 1,4-SİNEOL'UN  
İZOLE SIÇAN FUNDUS, İLEUM VE  
VAS DEFERENS ÜZERİNDEKİ  
ETKİSİ.**

**İsmail Bilal İsmail TÜTÜNCÜ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
BOKÜ MANTASYON MERKEZİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**1,8-SİNEOL VE 1,4-SİNEOL'UN İZOLE SIÇAN FUNDUS, İLEUM VE VAS  
DEFERENS ÜZERİNDEKİ ETKİSİ.**

**Ecz. İsmail Bilal İsmail TÛTÛNCÛ**

124031

**Y.C. YÛKSEKÖĖRETİM KURULU  
DOKÛMANTASYON MERKEZİ**

**Anadolu Ûniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Farmakoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Süleyman AYDIN**

**Eylül 2003**

## ÖZET

Oksijenli monoterpenlerden olan 1,8-sineol ve 1,4-sineol doğada bulunan kimyasal maddelerdir. 1,8-sineol çeşitli farmasötik ve kozmetik preparatlarda bulunan ve antibakteryel, antifungal, antimutajenik, koleretik, mast hücre degranüle edici, enflamatuvar ve antienflamatuvar gibi çeşitli etkileri bildirilen bir maddedir. 1,4-sineol hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Bu çalışmada 1,8-sineol ve 1,4-sineol'un üç farklı dozda ( $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M) izole sıçan fundus ve ileum üzerinde, sadece bir tek dozunun ( $10^{-4}$  M) ise izole sıçan vas deferens düz kasları üzerindeki etkisi çalışılmıştır. Her iki test maddesinin fundus ve ileum üzerinde etki olmadığı bulunmuştur.

Test maddelerinin fenilefrin ile oluşturulan vas deferens kasılmaları üzerinde etkisiz olduğu, fakat KCl ile oluşturulan kasılmaları inhibe ettikleri görülmüştür. Her iki test maddesinin kolinerjik muskarinik ve adrenerjik reseptörler üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır.

1,8- ve 1,4-Sineol'un gastrointestinal düz kaslar üzerinde etkisiz olduğu, vas deferense spesifik etkili inhibisyon yaptığı ilk kez bu çalışmamızda gösterilmiştir. Vas deferens üzerinde L-NoARG, imidazol ve metilen mavisi varlığında inhibitör etkinin daha fazla artması nedeniyle de, 1,8- ve 1,4-sineol'un iyon kanalları ve intraselüler kalsiyum iyon dengesini etkileyerek gevşetici etkiye yol açtığı sonucuna varılmıştır.

## ABSTRACT

1,8-cineole and 1,4-cineole are oxygenated monoterpenes found in nature. 1,8-cineole is a component of various pharmaceutical and cosmetic preparations which is reported to have various activities like antibacterial, antifungal, antimutagenic, choleric, mast cell degranulating, inflammatory and antiinflammatory actions. There is scarce information on 1,4-cineole. Three different doses ( $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M) of 1,8- and 1,4-cineole were investigated on isolated rat fundus and ileum, and only single dose ( $10^{-4}$  M) of the cineoles were investigated on isolated rat vas deferens in the present study. Both compounds were ineffective on fundus ileum and phenylephrine induced contractions of vas deferens but KCl induced contractions were inhibited by test compounds indicating lack of any direct interaction between 1,8- and 1,4-cineole and muscarinic and adrenergic receptors.

Lack of any effect of 1,8- and 1,4-cineole on isolated rat fundus and ileum but the presence of inhibitory effect on isolated rat vas deferens were reported for the first time in this study. Due to the augmentation of the inhibitory actions of test compounds in the presence of L-NoARG, imidazole and methylene blue, it is suggested that ion channels and alterations of intracellular calcium ions play important role on the inhibitory actions of 1,8- and 1,4-cineole.

## TEŞEKKÜR

Bilimsel çalışma ruhunu bana kazandıran, akademik hayata atılmama destek veren ve değerli bilgileri ile bana yön veren sayın hocam, Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK'e,

Bu çalışmamda benden yardımlarını esirgemeyen ve değerli bilgileriyle bana ışık tutan, çalışmalar sırasında gösterdiği yararlı katkılar, ilgisi ve yapıcı eleştirileri nedeniyle ve her türlü desteğini gördüğüm değerli hocam, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür Yardımcısı, Doç. Dr. Süleyman AYDIN'a,

Tez aşamasında bana değerli bilgileriyle yardım eden hocam, Yard. Doç. Dr. Rana BEİS'e,

Çalışmalarda bana her türlü destekte bulunan ve yardımlarını esirgemeyen değerli Arş. Grv. Özgür Devrim CAN'a,

Tez çalışmaları sırasında bana destek ve yardım eden Ecz. D. GÜLNAZ, Ecz. B. TAŞKIRAN, Y. KILIÇASLAN ve Arş. Grv. N. BEKTAŞ'a,

Ayrıca tez'in çeşitli aşamalarında yardımlarını gördüğüm sevgili arkadaşlarım'a,

Hayatım boyunca beni sonsuz bir anlayışla destekleyen sevgili ailem'e

En içten şükranlarımı sunarım

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1. Sineol İle İlgili Genel Bilgiler	1
1.1.2. Ökalyptus türlerindeki sineol oranları ve tıbbi kullanımları	1
1.1.3. Sineol' ün kimyasal özellikleri ve sineol ile yapılan çalışmalar	2
1.1.4. 1,4-Sineol' un 1,8-sineol' den ayrılması	3
1.1.5. 1,4-Sineol' in Asitle [sentetik zeolit katısıyla] analizi	3
1.1.6. 1,4- ve 1,8-sineol' ün, distilasyon ile ayrılması	3
1.1.7. Sineol' ün hidrosillenmesi	4
1.1.8. Terpenlerin termalitik analizi	4
1.1.9. 1,4-sineol' ün biyotransformasyonu	5
1.1.10. Sineol' ün etkileri	7
1.1.11. Sineol' ün antimikrobiyal aktivitesi	8
1.1.12. Terpen oksitlerin farklı böcek sınıfları üzerindeki etkileri	9
1.1.13. Sineol' ün inhibisyon etkileri	9

1.1.14. Sineolun safra taşları üzerine etkisi	9
1.1.15. Sineolun antioksidan aktivitesi	9
1.1.16. Sineol' ün kullanıldığı yerler	10
1.2. Düz Kaslar	13
1.2.1. Düz kas tipleri	14
1.2.1.1. Çok birimli düz kas	14
1.2.1.2. Tek birimli (Üniter) düz kaslar	15
1.2.2. Düz kasların kontraktıl elmanları	15
1.2.3. Düz kas kasılmasının temelleri	17
1.2.4. Kalsiyum iyonlarının kas kasılmasındaki rolü	18
1.2.5. Düz kasta gevşeme	18
1.2.6. Düz kas kasılmasında sinirsel ve hormonal kontrol	19
1.3. Vas deferens (Ductus deferens)	22
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM</b>	<b>26</b>
2.1. Materyal	26
2.1.1. Deney hayvanları	26
2.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar	26
2.1.2.1. Kimyasal maddeler	26
2.1.2.2. Kullanılan cihaz ve malzemeler	26
2.2. Yöntem	27
2.2.1. İzole organ banyosu deneyleri	27
2.2.2. 1,4-Sineol ve 1,8-Sineol ile yapılan deneyler	27



2.2.2.1. İzole mide fundus deneyleri	27
2.2.2.2. İzole ileum deneyleri	28
2.2.2.3. İzole vas deferens deneyleri	28
2.2.2.3.1. Vas deferensde fenilefrin kasılmasına 1,4- ve 1,8-sineol etkisi.	28
2.2.2.3.2. Vas deferensde KCl kasılmasına 1,4- ve 1,8-sineol etkisi.	28
2.2.3 İstatistiksel hesaplamalar ve veri analizi	29
3. BULGULAR	30
3.1. İzole sıçan mide fundus deneylerinin sonuçları	30
3.2. İzole sıçan ileum deneylerinin sonuçları	30
3.3. İzole sıçan vas deferens deneylerinin sonuçları	30
3.3.1. Vas deferensde fenilefrin kasılmalarında 1,8- ve 1,4-sineol etkisi.	30
3.3.2. KCl kasılmalarına karşı 1,8-sineol ve 1,4-sineol etkisi.	31
4. TARTIŞMA	48
5. KAYNAKLAR	52

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. 1,8-sineol	2
Şekil 1.2. 1,8-Sineol ve 1,4-Sineol	3
Şekil 1.3. 1,4-sineol'un hidrosilasyonu	4
Şekil 1.4. Sineol' ün termalitik analiz sonucu	5
Şekil 1.5. Sineol' ün biyotransformasyonu	6
Şekil 3.1. İzole sıçan fundusu üzerinde üç farklı 1,8-sineol dozunun asetilkolin kasılması üzerine etkisi	32
Şekil 3.2. İzole sıçan fundusu üzerinde üç farklı 1,4-sineol dozunun asetilkolin kasılması üzerine etkisi.	33
Şekil 3.3. KCl ile prekontrakte edilen İzole sıçan fundusu üzerinde 1,8-sineol ve 1,4-sineol'un gevşetici etkileri.	34
Şekil 3.4. İzole sıçan ileumu üzerinde üç farklı 1,8-sineol dozunun asetilkolin kasılması üzerine etkisi.	35
Şekil 3.5. İzole sıçan ileumu üzerinde üç farklı 1,4-sineol dozunun ACh kasılması üzerine etkisi.	36
Şekil 3.6. İzole sıçan ileumu üzerinde 1,8-sineol ve 1,4-sineol'un asetilkolin kasılması üzerine etkisinin karşılaştırmalı olarak gösterilmesi.	37
Şekil 3.7. İzole sıçan vas deferens üzerinde 1,8-sineol ve 1,4-sineol'un fenilefrin kasılması üzerine etkisi.	38
Şekil 3.8. Atropin, nalokson ve labetalol varlığında 1,8-sineolun izole sıçan vas deferensde fenilefrin kasılması üzerine etkisi.	39
Şekil 3.9. Nitro-L-arjinin, imidazol ve metilen mavisi varlığında 1,8-sineolun izole sıçan vas deferensde fenilefrin kasılması üzerine etkisi.	40
Şekil 3.10. Atropin , nalokson ve labetalol varlığında 1,4-sineolun izole sıçan vas deferensde fenilefrin kasılması üzerine etkisi.	41

- Şekil 3.11. Nitro-L-arjinin , imidazol ve metilen mavisi varlığında 1,4-sineolun izole sıçan vas deferensde fenilefrin kasılması üzerine etkisi. 42
- Şekil 3.12. KCl ile prekontrakte izole sıçan vas deferens üzerinde 1,8-sineol ve 1,4-sineol'un gevşetici etkileri. 43
- Şekil 3.13. KCl ile prekontrakte izole sıçan vas deferens üzerinde atropin, nalokson ve labetalol varlığında 1,8-sineol etkisi 44
- Şekil 3.14. KCl ile prekontrakte izole sıçan vas deferens üzerinde Nitro-L-arjinin, imidazol ve metilen mavisi varlığında 1,8-sineol etkisi 45
- Şekil 3.15. KCl ile prekontrakte izole sıçan vas deferens üzerinde atropin, nalokson ve labetalol varlığında 1,4-sineol etkisi 46
- Şekil 3.16. KCl ile prekontrakte izole sıçan vas deferens üzerinde Nitro-L-arjinin, imidazol ve metilenmavisi varlığında 1,4-sineol etkisi. 47

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1. 1,8-sineol miktarının yüksek olduğu bazı bitkilere örnekler	11
Çizelge 1.2. 1,4-sineol 'un bulunduğu bilinen bazı bitkiler	12



## KISALTMALAR

ACh	Asetilkolin
ADP	Adenozindifosfat
ATP	Adenozintrifosfat
Ca <sup>2+</sup>	Kalsiyum iyonu
CaCl <sub>2</sub>	Kalsiyum klorür
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Diklorometan
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
DAG	Diaçilgliserol
DMSO	Dimetilsülfoksit
FE	Fenilefrin
GDP	Guanozin difosfat
GTP	Guanozin trifosfat
IP <sub>3</sub>	İnositol 1,4,5-trifosfat
IP <sub>4</sub>	İnositol 1,3,4,5-tetrakisfosfat
KCl	Potasyum klorür
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Potasyum dihidrojen fosfat
KOH	Potasyum hidroksit
MeCN	Asetonitril
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	Magnezyum sülfat
MHZK	Miyozin hafif zincir kinaz
NaCl	Sodyum klorür
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Sodyum dihidrojen fosfat
NaHCO <sub>3</sub>	Sodyum hidrojen karbonat
NaOH	Sodyum hidroksit
PIP	Fosfotidil 4-fosfat
PIP <sub>2</sub>	Fosfotidilinositol 4,5-difosfat (Fosfoinositoldifosfat)
PKA	Proteinkinaz A
PKC	Proteinkinaz C
sAMP	Adenozin 3',5'-siklik monofosfat
sGMP	Guanozin 3',5'-siklik monofosfat

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

### 1.1. 1,8-Sineol İle İlgili Genel Bilgiler

1,8-Sineol 'ökaliptol' veya 'cajeputol' olarak da bilinen bir terpenoid oksittir ve ökaliptus yağlarının (%75), Rosmarinus (%40), Psidium (%40-63) ve diğer birçok uçucu yağların ana bileşenidir (Çizelge 1.1). Non-toksik, non-iritan bir maddedir (Santos ve Rao, 1997).

Ökaliptus yağında ökaliptol' un tayin edilmesi ilk kez 1907 yılında gerçekleştirilmiştir (Parker, 1907).

1910 yılında, tavşanlarla yapılan deneylerde oral yolla alınan sineol' ün vücutta terpinlere hidrate olmadığı, organizmada oksisineol okside edilip glukuronik asitle konjuge edilerek böbreklerden atıldığı belirlenmiştir (Hämäläinen, 1910).

1923 yılında *Rosmarinus officinalis* bitkisinden elde edilen yağda %32 sineol saptanmıştır (Giovanni, 1923).

1924 yılında yapılan çalışmalarla ökaliptol' un hem solüsyon içinde hem de buhar durumunda absorpsiyon spektrumları elde edilmiştir (Purvis, 1924).

Doğada bulunan bir bileşik olan (Çizelge 1.2) 1,4-sineol'ün, bir sineol izomeri olduğu ilk kez 1929 yılında rapor edilmiştir (Austerweil, 1929).

1929 yılında, *Dacrydium franklinii* Hook ağacından distilasyon ile elde edilen uçucu yağda (*Huon pine oil*) %90-95 oranında metilöjenol bulunmuştur. Yine Tazmanya' da bilinen ancak botanik kökeni kesin olmayan Massoia kabuk yağında %62 oranında öjenol saptanmıştır (Burger, 1930).

Aynı yıl Arno Muller, doğada sineol' le beraber bulunan organik ve inorganik asitler hakkında bir derleme yapmıştır (Muller, 1930).

### 1.1.2. Ökaliptus türlerindeki sineol oranları ve tıbbi kullanımları

*Myrtaceae* familyasının bitkilerinden olan *Eucalyptus* türlerinden elde edilen uçucu yağlarda 1,8-sineol' e sıkça rastlanmaktadır (Giamakis et al., 2001).

Örneğin, *Eucalyptus globulus* bitkisinin yapraklarından elde edilen uçucu yağın ana bileşeni 1,8-sineol ve tanenlerdir (Migdalia et al., 1982; Kaufman, 2000). Bu uçucu yağdaki 1,8-sineol oranının %54-95 arasında değiştiği belirlenmiştir (Blumenthal et al., 2000).

Sineolce zengin türler olarak bilinen *E. globulus* Labillardiere, *E. fructicetorum* F. Van mueller ve *E. smithii* R. T. Bokerb bitkilerinden buhar distilasyonu ile elde edilen yağda, ayrıca aynı bitkilere ait taze yaprak, çiçek ve dallardan elde edilen yağda %70-85 (w/w) 1,8-sineol bulunduğu bildirilmiştir (Blumenthal et al., 2000).

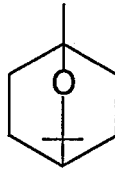
Ökalyptus yapısında %70-85 oranında 1,8-sineol'ün yanısıra triterpenler, monoterpenler, seskiterpenler, aldehytler ve ketonlar bulunmaktadır. Ökalyptus yağı solunum yolları enfeksiyonlarında oral olarak ya da inhalasyon yolu ile romatizma şikayetlerin de ise topik olarak uygulanabilmektedir. Bronşit, soğuk algınlığı, boğaz enfeksiyonu bronşiyel hastalıklar gibi vakalarda geleneksel olarak ökalyptus yapraklarından hazırlanan çay kullanılmaktadır (Blumenthal et al., 2000).

Sineol inhalasyon yoluyla uygulandığında bile sıçanları uyarabilmektedir. Ancak, yağ bazlı bir masajla deriden uygulandığında inhalasyon aromaterapisine göre 100 kez daha iyi absorbe edilir. Sineol, kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçer. Kafatası gibi kıl foliküllerinin yoğun olduğu bölgelerden absorpsiyonu daha yüksektir (Blumenthal et al., 2000).

1,8-Sineol'un antikolinesteraz aktivitesi bildirilmiştir (Perry et al., 2001). Saçlı deride kolaylıkla penetre olan, kan-beyin engelini rahat aşan ve antikolinesteraz aktivitesi olan böyle bir maddenin Alzheimer hastalığında korunmada etkili olabileceği hakkında görüşler bildirilmektedir (Kaufman et al., 2000).

### 1.1.3. Sineol'ün Kimyasal Özellikleri ve Sineol ile Yapılan Çalışmalar

Ökalyptol 1. ve 8. karbon arasında bir eter köprüsü bulunan mono siklik bir terpendir (European commission, 2002).

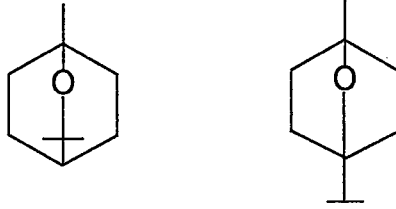


Şekil 1.1. 1,8-sineol

Sineol'un kimyasal yapısı 1,3,3-trimetil-2-okso-bisiklo[2.2.2]oktan, molekül formülü  $C_{10}H_{18}O$ , molekül ağırlığı 154.2516, erime derecesi  $35.6\text{ }^{\circ}C$  ve kaynama derecesi  $351\text{ }^{\circ}C$ ' dir (European commission, 2002).

Terpen oksitleri esas olarak yapılarındaki oksijen köprülerinin pozisyonuna ve doymamışlık derecesine bağlı olarak farklılaşma gösterirler (Lombard, 1947).

Örneğin:



Şekil 1.2. a) 1,8-sineol b) 1,4-sineol

1,4-sineol' ün açık formülü 1-metil-4-(1-metiletil)-7-oksabisiklo[2.2.1.] heptan' dır.

#### 1.1.4. 1,4-Sineol' un 1,8-sineol' den Ayrılması

1,4- ve 1,8-Sineol' u içeren bir karışım restraint indeksi 0.2-12 olan ve net hacmini  $6.7-7.0\text{ }A^{\circ}$  olan zeolite ile temasta bırakılarak 1,4-sineol ayrılması, saf hava veya saf  $O_2$   $500\text{ }^{\circ}C$ ' de kullanarak (yani zeolitesi yakarak) saf 1,4-sineol ayrılması sağlanmıştır (Goldstein, 1982).

#### 1.1.5. 1,4-Sineol' un Asitle (sentetik zeolit katısıyla) analizi

Yapılan analizde 1,8-sineol' ün formik asidi ile [A-4 ve A-5 zeolite] varlığında  $\alpha$ -terpineol, 1,4-sineol ise trikloroasetik asidi ve [A-4 zeolite] varlığında  $\beta$ -terpineole, ayrıca 1,4-sineol, formik asid ile %90 oranında terpineol'e dönüşmüştür (Masato ve Fujihara, 1987).

#### 1.1.6. 1,4- ve 1,8-sineol' ün, hidrokarbonlardan distilasyon ile ayrılması

Yapılan çalışmalarda  $178-190\text{ }^{\circ}C$  ve fenol varlığında  $171-172\text{ }^{\circ}C$  1,4-sineol,  $174-175\text{ }^{\circ}C$  1,8-sineol ayrılmıştır. Fenol ise buhar distilasyonu ile uzaklaştırılmıştır (Johnson, 1949).

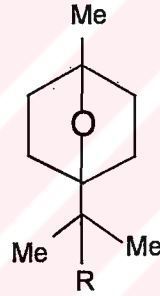


### 1.1.7. Sineol' ün hidroksillenmesi

*Citrus medica L. var. Asida* ve *Eucalyptus polybracteo* bitkilerinde bulunan uçucu yağlar sırası ile 1,4- ve 1,8-sineol' dür. Bu maddeler insan ve rat karaciğerinde mikrozomlarında CYP3A (sitokrom p450) enzimleri ile 2 hidroksilli ürünlere çevrilmiştir (Miyazawa et al., 2002).

Ayrıca 1,4-sineol' ün mikrobiyolojik hidroksilasyonlarının stereo kimyasına bakılmıştır. Burada *Bacillus cereus* ve *Streptomyces griseus* bakterilerinin 1,4-sineol' ün 2. ve 8. pozisyonlarından hidroksillemediğini rapor edilmiştir (Wei Guo et al., 1988).

Bir başka çalışmada 1,4-sineol' in biyotransformasyonu sonucu (*Aspergillus niger* ile) 8-hidroksi-1,4-sineol'e dönüştüğü bildirilmiştir (Mitsuo et al., 1992).

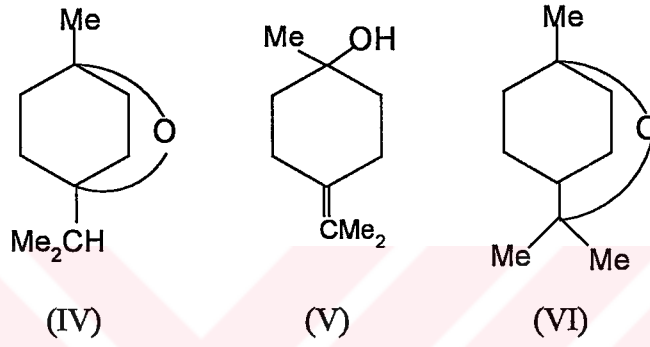
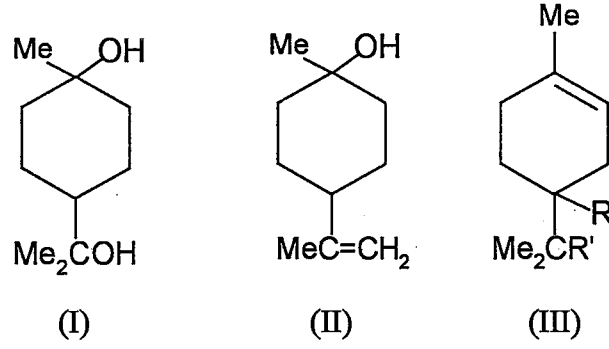


I.R. = H, II.R. = OH

Şekil 1.3. 1,4-sineol'un hidroksilasyonu. I) 1,4-sineol II) 8-(1-hidroksi)-1,4-sineol

### 1.1.8. Terpenlerin Termalitik Analizi

1,8-Terpenhidrat' ının termik reaksiyonu ( $ZnCl_2/KCl/NaCl$  varlığında) > %70 terpineol ve III ( $R = H, R' = OH$ ) verir. Ayrıca aynı ortamda bulunan 1,4-sineol' ün III, IV ve V ( $R = OH, R' = H$ ) verir. Nitrat varlığında ise I %80 II' i, 1,8-sineol (VI) ise %70 oranında III' ü verir (Masato ve Yoshihito, 1984).



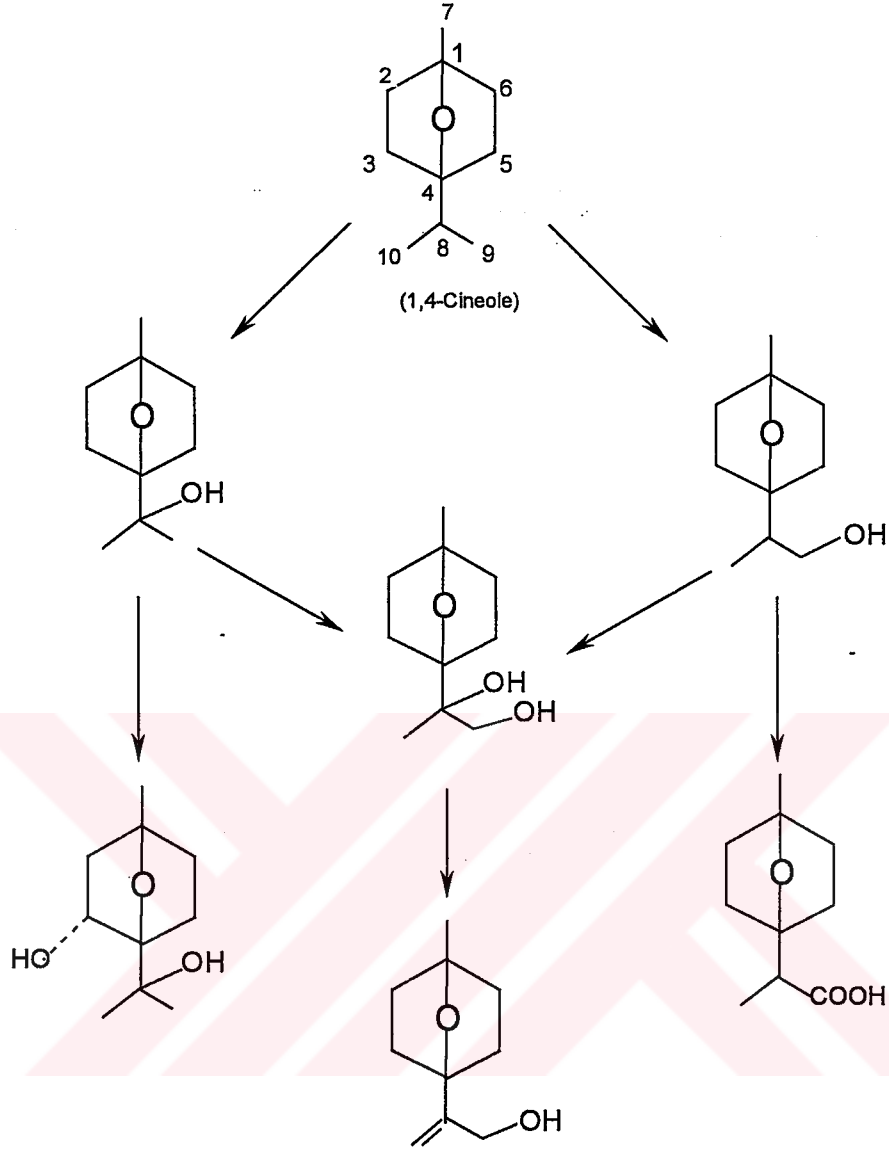
Şekil 1.4. Sineol' ün termalitik analiz sonucu

#### 1.1.9. 1,4-Sineol' ün Biyotransformasyonu

Ökalyptus yağındaki ana bileşen olan 1,8-sineol'ün metabolizasyonunu belirlemek üzere koyun, koala, rat ve tavşan gibi hayvanlar ile yapılan çalışmalarda metilen halkasının hidroksillendiği gösterilmiştir.

1,8-Sineol ile ilişkili bileşik olan 1,4-sineol'ün metabolizasyonu ile ilgili olan bu çalışmada *Citrus medika L. var. acid* bitkisi ile deney hayvanı olarak da tavşanlar kullanılarak yapılmıştır.

Çalışmanın sonunda 1,4-sineol'ün tavşanlarda  $\omega$ -oksidasyon ve  $\omega$ -1-oksidasyon gibi oksidasyon reaksiyonları ile metabolize edildiği görülmüştür (Asakawa et. al., 1988).



Şekil 1.5. 1,4-Sineol' ün biyotransformasyonu

Oksidasyonda ilk iki izopropil grubunun  $\omega$  oksidasyonu sonucu, bir primer alkol olan II' nin oluşumunu içerir. II maddesi bir basamak daha oksitlenir ve bir karboksilik asit türevi olan III' e dönüşür. Bu metabolitlerin optikçe aktifliği ve  $\omega$ -1 oksidasyon ile oluşan V metaboliti, oksidasyonun stereoselektif olarak gerçekleştiğini gösterir. Bu çalışma ile 7. karbondaki metil grubunun oksidasyonu gerçekleşmediği gösterilmiştir. Halka hidroksilasyonu için pek çok olasılık söz konusu olsa da, bu çalışmada yalnızca 3-hidroksi türevi (IV metabolit) izole edilmiştir (Asakawa et. al., 1988).

1,8-Sineol için de rapor edildiği gibi, 1,4-sineol' ün eter bağında her hangi bir açılma saptanmamıştır. Ayrıca gaz-sıvı kromatografisi ve kütle spektrofotometre analizleri sonucu 1,4-sineol' ün her hangi bir aromatik metabolitine rastlanmamıştır.

Yapılan çalışmalar ışığında, 1,4-sineol' ün yukardaki şekilde (Şekil 1.5) gösterildiği gibi metabolize edildiği ve 8-hidroksi türevinin de ara ürün olduğu önerilmektedir (Asakawa et. al., 1988).

#### 1.1.10. Sineol' ün Etkileri

Sineol, non-toksik, non-iritan olan bir madde ve sık sık cilt banyo formlarında cilt uyarıcı olarak aromaterapide, antitussif etki ve dekonjestan etkisi ile ilaç formülasyonunda kullanılmıştır. Ciddi öldürücü olmayan, toksik septomlar sineol'ün nazal uygulamalarının ardından çocuklarda gözlenmektedir ve bu etkiler mukoza membran iritasyonu, taşikardi, mide bulantısı, kusma, kas zayıflığı, uyuşukluk ve komaya yol açmaktadır. Yayınlanan deneysel sonuçlara göre 1,8-sineol'ün bu etkilerine ek olarak, sıçanların kullanıldığı deney modellerinde ödem yaptığı görülmüş ve bu ödem yapıcı etkide mast hücrelerinin rol oynadığı gösterilmiştir (Santos ve Rao, 1997).

*Azoreon laurus azorica'* dan elde edilen ve 1,8-sineol içeren uçucu yağlar, romatizma tedavisinde ve yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır (Pedro et al., 2001).

Ayrıca terpenlerin ilaçların deriden geçirgenliği arttırıcı etkisi bulunmaktadır. Özellikle terpenler %50' lik etanol ile kombine kullanıldığında bu bu etki gözlenmektedir. Etanol'ün düşük konsantrasyonlarda oksijenli terpenler (1,8-sineol, mentol) diğerlerine göre daha fazla geçirgenliği arttırıcı özelliğe sahiptir. Terpenlerin %50' lik etanol ile kombine kullanıldığında tamoksifen'in perkütan absorpsiyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Gao ve Singh, 1998). Bir başka çalışmada ise terpenlerin hem hidrofilik hem de lipofilik ilaçların absorpsiyonunu arttırdığı gösterilmiştir. (Pedro et al., 2001).

### 1.1.11. Sineol' ün Antimikrobiyal Aktivitesi

Sineol' ün antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Bu nedenle sineol antibakteriyal ve ekspektoran özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır (Giamakis et al., 2001).

Yapılan çalışmalarda sineol' ün ağız suları, gargaralar, anti-plak bileşenler, genel antiseptik bileşenler gibi oral kullanılan preparatlarada antimikrobiyal olarak kullanıldığı belirtilmiştir (Murray et al., 2002).

*Tymus x-parlock* bitkisinin uçucu yağı ile yapılan GC-MS analizinde %54,52 oranında 1,8-sineol bulunduğu saptanmıştır. Bu bitkinin uçucu yağı güçlü bakterisidal etkinliğe sahip olduğu rapor edilmiştir (Iraj, 2002).

Bir başka bitki olan *Artemisia asiatica* Nakai' nin uçucu yağında bulunan ana bileşenlerden biri 1,8-sineol' dür. Bu yağın antibakteriyal ve antifungal etkileri olduğu rapor edilmiştir (Kabemba et al., 2002).

Ayrıca kozalaklı ağaçlardan elde edilen uçucu yağlarda bulunan 1,8-sineol' un *Listeria monocytogenes serouars* 4b ve 112c üzerinden bakteriyostatik ve bakterisidal etkileri gösterilmiştir (Mourey ve Canillac, 2002).

Sineol içeren *Salvia libanotica* ve bundan elde edilen ekstre soğuk algınlığı, antitussif ve mide ağrısında kullanılmaktadır. Bu bitkinin uçucu yağlarında kayda değer bir şekilde antibakteriyal aktiviteye sahiptirler (Farhat, 2001).

Sineol' ün bir başka etkisi de lösemik hücre DNA' sında ve mide kanser hücrelerinde araştırılmıştır. 1,8-Sineol' le apoptozun spesifik indüksiyonu lösemi hücresinde gösterilirken, mide kanser hücresinde gösterilememiştir. Diğer bir ifadeyle, apoptoz oluşumu 1,8-sineol ile tedavi edilmektedir (Moteki et al., 2002).

Sineol' un (10, 20 ve 40 µl) farelere subkütan enjeksiyonu, hayvanlarda tırmalama hareketini artırdığı ve bu olayda mast hücrelerinin rolü olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle, özellikle sineol içeren preparatlar ile yapılan aromaterapi uygulamalarında son derece dikkatli olmak gerektiği ileri sürülmektedir. (Santos ve Rao, 1997).

#### 1.1.12. Terpen Oksitlerin Farklı Böcek Sınıfları Üzerindeki Etkileri

1,4-Sineol' ün sinekler üzerinde, 1,8-sineol' ün ise ağaç böcekleri üzerinde insektisid etkisi olduğu rapor edilmiştir.

1,8-Sineol'un *Pinus pinea* yağının *Tyrophagus putrescentiae*'e karşı akarasidal aktivitesi olduğu saptanmıştır (Macchioni et al., 2002).

#### 1.1.13. Sineol' ün Inhibitor Etkileri

Doğal bir monoterpen olan 1,4-sineol ve 1,4-sineol ile yapısal olarak ilişkili bir herbisid olan sinmetilin' in bitki büyümesini inhibe edici etkileri gösterilmiştir (Romagni et al., 2000).

*Salvia lavandula* bitkisinin monoterpenlerinden biri olan 1,8-sineol' ün sığır beyninde lipozom peroksidasyonunu inhibe ederek antioksidan aktivitesi olduğu rapor edilmiştir (Perry et al., 2002).

Ayrıca sineol gibi monoterpenlerin, saklanarak bekletilen patates yumrularının üzerinde spor ve fungal üremesini önlenmiştir. Bu fungal sporlar yaklaşık 1.05 mg 1,4-sineol/L varlığında saklanan maddeler üzerinde etkili olarak inhibisyon yapmıştır (Vaughn et al., 1991).

#### 1.1.14. Sineolun Safra Taşları Üzerine Etkisi

Rowachal adlı kapsüller; ursodeoksikolik asid (100 mg), zeytin yağı (135 mg) ve terpen karışımları içerirler. Bu kapsüllerin içerdiği terpenlerden biri de sineol' dür (2 mg) (Remedia, 1989). Bu kapsüllerin safra taşlarının tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir.

#### 1.1.15. Sineolun Antioksidan Aktivitesi

Doğal bir besin katkı maddesi olan ökaliptus yaprak ekstre içeriği analiz edilmek üzere izole edilmiştir. İzole edilen ekstrenin antioksidan özellikleri incelenmiştir. Bu aktivitenin, gallik ve ellajik asit maddelerinden kaynaklı olduğu, ökaliptus yağının ana bileşeni olan 1,8-sineol' ün antioksidan aktivitesinin ihmel edilebilir düzeyde olduğu rapor edilmiştir (Yoshiaki et al., 2002).

Bir başka çalışmada ise, *Eucalyptus polianthemus* bitkisinin ekstresinde bulunan 1,8-sineol' ün hekzanal oksidasyonu ve lipid oksidasyonu ile malondialdehit oluşumunu azalttığı, dolayısıyla antioksidan etkisinin olduğu gösterilmiştir (Kwang-Geun ve Takayuki, 2002).

1,8-sineol' ün mutajenik etkisi bulunmamıştır. Buna karşı terpineoller hafif mutajenik etkiye sahip oldukları rapor edilmiştir (Gomes-Carneiro et al., 1998).

#### 1.1.16. Sineol' ün Kullanıldığı Yerler

Epoksi grubu içeren organik bileşikler, özellikle 1,8-sineol ve/veya 1,4-sineol gibi epoksi gurupları içeren materyal ve bu gurupları taşıyan maddelerin ortama ilave edilmesi ile ışığa karşı stabilizasyon sağlandığından, mayalı içecekler daha stabil hale gelmektedir.

Ayrıca ışık bozulmasından oluşan ürünlerin kokuların değişmemesini sağlar ve merkaptan gibi kükürt türevlerinin oluşmasını önler (Palamand, 1986). Örneğin: 4ppb oranında 1,8-sineol içeren bir bira güneş ışığına karşı dirençsizdir, ancak 0.89 ppb 1,8-sineol varlığında bozulmaya karşı daha dirençlidir (Palamand, 1983).

Sineol içeren sıvıların, doku fiksasyonu için kullanılabileceği bildirilmiştir. Sineol (%0.1) ve formaldehit (%99.9) maddelerini %20 oranında içeren fiksasyon ajanlarının karaciğer dokusunu boyama yapmak üzere fikse etmekte kullanıldığı rapor edilmiştir (Tsunehiko et al., 1990).

Ayrıca jelatinli piretroit insektisid formülünde alkanlar, sineol ve benziliden-sorbitol jelatinleştirici ajan olarak kullanılmıştır (Ichiro, 1987).

Çizelge 1.1. 1,8-sineol miktarının yüksek olduğu bazı bitkiler.

Bitki adı	Bitkinin kullanılan kısmı	1,8-Sineol (%)	Kaynak
<i>Mentha longifolia (Lamiaceae)</i>	Toprak üstü kısımları	28.7	Fleisher 1991
<i>Matricaria chamomilla (Asteraceae)</i>	Çiçek	-	Graciela et al. 1985
<i>Hyssopus officinalis (Lamiaceae)</i>	-	12.2	Shah 1991
<i>Artemisia spicigera (Asteraceae)</i>	Toprak üstü kısımları	56.8	Güvenalp et al. 1998
<i>Aesculus hippocastanum (Hippocastanaceae)</i>	Çiçek	06.6	Buchbauer et al. 1994
<i>Dorystoechas hastata (Lamiaceae)</i>	Toprak üstü kısımları	17.21	Başer ve Öztürk 1992
<i>Helichrysum bracteiferum (Asteraceae)</i>	Yaprak	17.70	Ramanoelina et al., 1992
<i>Nepeta discolor (Lamiaceae)</i>	Toprak üstü kısımları	20.0	Mathela et al., 1994
<i>Vitex agnus-castus (Verbenaceae)</i>	Meyve	20.6	Senatore et al., 1996
<i>Sideritis mugronensis (Lamiaceae)</i>	Çiçek	28.56	Manez et al., 1991
<i>Mentha longifolia (Lamiaceae)</i>	Toprak üstü	28.77	Fleisher 1991
<i>Thymus membranaceus (Lamiaceae)</i>	Toprak üstü kısımları	28.90	Zarzuelo et al., 1987
<i>Achillea vermicularis (Asteraceae)</i>	Çiçek ve Yaprak	29.0	Rustaiyan et al., 1998
<i>Lippia multiflora (Verbenaceae)</i>	-	30-55	Koumaglo et al., 1996
<i>Thymus capitellatus (Lamiaceae)</i>	Çiçek	50.56	Figueiredo et al., 1993
<i>Rosmarinus officinalis (Lamiaceae)</i>	-	51.2	Skrubis 1992
<i>Salvia fruticosa (Lamiaceae)</i>	Yaprak	45.61	Muller-Riebau et al., 1995
<i>Salvia fruticosa (Lamiaceae)</i>	Meyve	55.5	Bayrak ve Akgül, 1987
<i>Myrtus communis (Myrtaceae)</i>	Meyve	61.5	Boelens ve Jimenez, 1992
<i>Laurus nobilis (Lauraceae)</i>	Yaprak	62.0	Skrubis, 1992
<i>Nepeta teydea (Lamiaceae)</i>	Yaprak	89.54	Velasco-Negueruela et al., 1989
<i>Eucalyptus sp. (Myrtaceae)</i>	Yaprak	89.64	Zhang et al., 1991
<i>Callistemon rigidus (Myrtaceae)</i>	Yaprak	89.90	Garraffo ve Pannell, 1991



Çizelge 1.2. 1,4-sineol 'un bulunduğu bilinen bazı bitkiler.

Bitki adı	Bitkinin kullanılan kısmı	1,4-Sineol %	Kaynak
<i>Juniperus communis</i> (Cupressaceae)	yaprak	-	Hoerster et al.,1974
<i>Cannabis sativa</i> (Cannabaceae)	yaprak	-	Bercht ve Paris, 1974
<i>Solanum tuberosum</i> (Solanaceae)	-	-	Vaughn ve Spencer 1991
<i>Artemisia annua</i> (Asteraceae)	-	-	Alkhathalan et al.,1991
<i>Citrus aurantiifolia</i> (Rutaceae)	meyve	-	Chamblee et al.,1985
<i>Vitis rotundifolia</i> (Vitaceae)	meyve	-	Welch et al.,1982
<i>Liquidambar styraciflua</i> (Hamamelidaceae)	yaprak	-	Tattje et al.,1980
<i>Cannabis sativa</i> (Cannabaceae)	-	-	Turner et al.,1980
<i>Piper cubeba</i> (Piperaceae)	meyve	-	Rao et al.,1928
<i>Pinus sylvestris</i> (Pinaceae)	yaprak	-	Juvonen ve Huovinen 1972
<i>Mentha piperita</i> (Lamiaceae)	-	1.4	Spindler ve Madsen 1992
<i>Ephedra intermedia</i> (Ephedraceae)	-	12.8	Ji et al.,1997

## 1.2. Düz Kaslar

Kas hücreleri sinir hücreleri gibi kimyasal, elektriksel ve mekanik olarak uyarılan özelliğine sahiptirler. Ancak sinir hücrelerinden farklı olarak aksiyon potansiyeli tarafından harekete geçirilebilen ve kasılabilen yapılar içerirler. Kas hücreleri uyarıldığında, kas hücresinin zarı boyunca yayılabilen aksiyon potansiyeli oluşur (Ganong, 1995).

Kas hücreleri, kimyasal enerjiyi kinetik enerjiye dönüştürebilen organizmanın temel biyokimyasal transdüsörlerdir (Murray, 1990).

İnsan vücudunun en geniş dokusunu oluşturan kas, yeni doğanlarda vücut kütlelerinin %40' ten fazlasını ve yaşlı-erişkinde %30' dan biraz azını oluşturur (Murray, 1990).

Aktin ve miyozin kas hücrelerinde kasılmayı sağlayan proteinlerdir. Sadece kas hücrelerinde değil, değişik yapılarda diğer bütün hücrelerde bulunurlar. Bu proteinler hücre motilitesinde mitoz bölünmeden ve hücre sel yapıların hücre içindeki hareketlerinden sorumludurlar (Ganong, 1995).

Kaslar genel olarak iskelet kası, düz kas ve kalp kası olmak üzere 3 ana gruba ayrılır. Vücudun yaklaşık %40' ını iskelet kası %10' unu düz kas ve kalp kasları oluşturur. Bütün bu kas tiplerinde olduğu gibi aynı kasılma prensipleri düz kaslarda da geçerlidir (Guyton, 2000).

Düz kaslar homojen tek bir yapıdan oluşmazlar. Düz kasta birbirine çapraz olarak bağlı çizgiler bulunmaktadır. Düz kaslar birçok iç organın duvarında bulunurlar. Fonksiyonel olarak sinsisyum oluştururlar ve düzensiz olarak uyarılar oluşturan pacemaker (önder odak) hücreleri içerirler. Gözde ve diğer bazı bölgelerde bulunan düz kaslar kasılma ve innervasyon düzenleriyle bazı açılardan iskelet kasına benzerler (Ganong, 1995).

Düz kaslar dolaşım, solunum, sindirim, boşaltım, üreme, oküler akomodasyon gibi bir çok fizyolojik olayda rol oynarlar (Guyton, 2000).

Düz kaslar genellikle 2-5 mikrometre çapında ve sadece 20-500 mikrometre boyunda küçük hücrelerden oluşur (Guyton, 2000).

Düz kas hücreleri tek çekirdeklidir. İki çekirdekli olan düz kaslar çok nadirdir. Çekirdekler 10-25 mikrometre uzunluğundadır ve hücrenin enine kesitinde %20-50' sini oluştururlar (Gabella, 1994).

### 1.2.1. Düz Kas Tipleri

Her organın düz kası fiziksel boyut, demet veya katlar halinde organizasyon, çeşitli uyarılara verilen yanıt, innervasyon özellikleri ve fonksiyonları açısından farklılıklar gösterir (Guyton, 2000).

Düz kaslar çok birimli düz kas ve visseral düz kas (tek birimli) olarak ikiye ayrılır.

#### 1.2.1.1. Çok Birimli Düz Kaslar

Çok birimli düz kaslar, birbirinden ayrı düz kas liflerinden oluşmuştur. Her lif diğerinden bağımsız olarak çalışır. İskelet kas lifindeki gibi tek sinir ucu ile innerve edilir (Guyton, 2000).

Bu nedenle çok birimli düz kasın kasılması visseral düz kasa göre uyarılabilirlik, yer ve fonksiyon açısından farklılıklar gösterir. Visseral düz kas, dolaşımdaki kimyasal maddelere karşı çok hassastır (Ganong, 1995).

Çok birimli düz kaslar liflerinin dış yüzleri iskelet kası liflerindeki gibi ince kollajen ve glikoprotein fibrillerden oluşan bir bazal membran tabakası ile kaplanmıştır. Bu tabaka lifleri birbirinden ayırmaya yardım eder. Çok birimli düz kas liflerinin en önemli özelliği her lifin bağımsız kasılabilmesi ve sinir sinyalleri ile kontrol edilebilmesidir (Guyton, 2000).

Çok birimli düz kaslar asetilkolin, noradrenalin gibi motor sinir sonlanmalarından salıverilen nörotransmitterler ile uyarılırlar (Ganong, 1995).

Vücutta bulunan çok birimli düz kasların bazı örnekleri, gözün silyer kasının düz kas lifleri, gözün irisinde bulunan düz kaslar, bazı hayvanlardaki üçüncü göz kapakları, büyük damarların düz kasları, bronş çeperindeki düz kaslar, trakeadaki kıkırdak uçları arasındaki düz kaslar ve sempatik sinir sistemi ile uyarıldıklarında tüylerin dikleşmesine neden olan piloerektör kaslardır (Guyton, 2000; Kayaalp, 1993).

### 1.2.1.2. Tek birimli (Üniter) Düz Kaslar

“Üniter” terimi tek bir birim gibi birlikte kasılan yüzlerce veya milyonlarca kas lifi kitlesi anlamına gelir (Guyton, 2000). Bu kaslarda kas hücreleri arasındaki iki komşu hücre zarının birbirine birleştiği noktalarda düşük dirençli bağlantılar vardır (Ganong, 1995). Bu bağlantılar vasıtasıyla bir kas lifinde oluşturulan potansiyel diğer kas lifine aktarılabilir. Aynı zamanda hücre membranını birleştiren bir çok bağlantıda iyonların bir hücreden diğer hücreye kolayca geçmesini sağlar (Guyton, 2000).

Aksiyon potansiyelinin de humoral özellikte bir aracıya ihtiyaç duymaksızın yayılmasını sağlarlar (Kayaalp, 1993). Hücreler arasındaki bu tip kaslara “Sinsisyum yapan düz kaslar” adı verilir (Guyton, 2000). Bu kaslar vücutta mide, bağırsak, safra kanalları, uterus, üreter ve kan damarları gibi bir çok iç organın duvarında yer aldıkları için bunlara visseral düz kaslarda denir (Guyton, 2000).

Düz kaslar, çoğunlukla içi boş organlarda bulunmalarına rağmen dalak, lenf düğümleri gibi içi dolu organlarda da bulunabilirler (Noyan, 1998).

### 1.2.2. Düz Kasların Kontraktıl Elmanları

Her kas lifi birkaç yüz ile birkaç bin arasında miyofibril içerir. Her miyofibrilde yan yana uzanan yaklaşık 1500 miyozin filamentleri ve 3000 aktin filamentleri vardır. Bu yapılar kas kasılmasından sorumlu olan büyük polimerize proteinlerdir (Guyton, 2000). Temel kas proteinleri aktin ve miyozindir. Yani bir kas fibrilinin kütlelerinin %75'i suda ve %20' nin üzeri proteinden oluşur (Murray, 1990).

Aktin filamentleri ağırlıklı olarak kas proteinlerinin %25' ini kapsar (Murray, 1990). Bu aktin filamentleri yaklaşık 7 nm kalınlığında ve 1 mikrometre uzunluğundadır. Molekül ağırlıkları 43.000' dir (Ganong, 1995).

Miyofibriller görünüm olarak birbirini izleyen koyu ve açık bantlardan oluşur. I bandı adını alan açık bantlar sadece aktin filamentlerinden oluşurlar. Bu bantlar polarize ışığa izotropiktirler. Koyu bantlar miyozin filamentleri ve aralarına giren aktin filamentlerinden oluşurlar. Polarize ışığa anizotropik

oldukları için A bandı adını alırlar. Ayrıca miyozin filamentlerinin yan tarafından çıkan küçük uzantılar çapraz köprüler oluştururlar (Guyton, 2000).

Aktin filamentleri iki açık renkli ip şeklinde gösterilen çift-sarmal F-aktin protein molekülüdür. İki iplik miyozin molekülündekine benzer şekilde sarmal yapar. Çift F-aktin sarmalındaki ipliklerin her biri, molekül ağırlığı 42.000 kadar olan polimerize G-aktin moleküllerinden oluşmuştur. Sarmalın her ipliğın bir döngüsünde bu molekülüne yaklaşık 13 tane vardır. Her G-aktin molekülüne bir ADP molekülü tutunmuştur. Bu ADP moleküllerinin, kas kasılması sırasında aktin filamentlerinin miyozin filamentlerinin çapraz köprüleri ile etkileştiğı aktif bölgeler olduğı düşünölmektedir. Çift sarmalın iki F-aktin ipliğı üzerindeki aktif bölgeler, aktin filamenti boyunca yaklaşık her 2.7 nm' de bir aktif bölge bulanacak şekilde zikzak biçiminde yerleşmiştir (Guyton, 2000).

Miyozin filamentleri ağırlık olarak kas proteinin %55' ini oluştururlar (Murray, 1990). Bu filament molekül ağırlığı 480.000 olan miyozin proteinlerinin 200 tanesi veya daha fazlasının bir araya gelmesiyle oluşur (Ganong, 1995).

Miyozin molekülü molekül ağırlıkları 200.000 kadar olan iki ağır zincir ile molekül ağırlıkları 20.000 olan dört hafif zincir olmak üzere altı polipeptid zincirinden oluşmuştur. İki ağır zincir çift sarmal oluşturmak üzere birbirine spiral olarak sarılır. Bu sarmala kuyruk adı verilir. Bu zincirlerden her birinin bir ucu kıvrılarak miyozin başı denilen globöler polipeptid yapıyı oluştururlar. Çift sarmal miyozin molekülünün bir ucunda yan yana uzanan iki serbest baş bulunur. Sarmalın devam eden kısmına kuyruk denir (Guyton, 2000).

Miyozin başını oluşturan dört hafif zincirin ikisi bir başa aittir. Bu hafif zincirlerin görevi kas kasılması sırasında başın fonksiyonunu kontrol etmektedir (Guyton, 2000).

Miyozin moleküllerinin kuyrukları demet halinde toplanarak filamentin gövdesini oluşturur. Bir çok baş ise gövdeden dışarı sarkmıştır. Her miyozinin sarmal kısmı başla beraber yana doğru uzanır ve başı vücuttan uzatan bir kol oluşturur. Dışarı doğru uzanan kollar ve başlar, aktin ile birleşince çapraz köprüleri oluşturur (Guyton, 2000).

Miyozin başı ATP' az enzimi olarak fonksiyon gösterir. Bu kas kasılması için temel bir özelliktir (Guyton, 2000).

### 1.2.3. Düz Kas Kasılmasının Temelleri

Bütün kaslar aktin, miyozin ve tropomiyozin içerirler. Troponin sistemi ise sadece omurgalıların çizgili kaslarda bulunur. Böylece kasılmayı düzenleyen mekanizmalar kasılmayla ilgili farklı sistemlerde değişmek zorundadır (Murray, 1990).

Kimyasal çalışmalar sonunda düz kaslar elde edilen aktin ve miyozinin iskelet kasındaki aktin ve miyozine benzer bir yolla etkileştiği gözlenmiştir. Ayrıca miyozin ve aktinin etkileşiminin  $Ca^{++}$  iyonları ile aktive olduğu ve kasılmada ihtiyaç duyulan enerjinin ATP (adenosin trifosfat)' den sağlandığı bilinmektedir. Burada ATP bir fosfatını kaybedecek ADP' ye (adenosin difosfat) yıkılır (Guyton, 2000).

Düz kaslarda iskelet kasındaki aktin ve miyozin filamentlerinin çizgili yapısı yoktur. Yerleşim olarak bakıldığında çok sayıda aktin filamentlerinin yoğun cisimlere tutunduğu görülmektedir. Bu cisimlerin bazıları hücre membranına tutunmuş diğerleri hücre içinde dağılmış ve yoğun cisimleri birbirine bağlayan yapısal protein ağı ile yerlerinde tutunmuşlardır. Komşu hücrelerinin bazı membran yoğun cisimleri interselüler protein köprüleri ile birleşir. Kasılma gücü bu bağlarla bir hücreden diğerine geçer (Guyton, 2000).

Düz kasın hücrelerindeki kontraktıl ünitesinin yapısındaki yoğun cisimden çok sayıda aktin filamentleri uzanmıştır. Bu filamentler yoğun cisimlerin arasında orta kısımda yerleşmiş olan tek bir miyozin filamentinin üstüne biner. İskelet kasının kasılabilir birimine benzeyen bu ünite iskelet kasındaki gibi yapısal olarak düzensiz değildir. Onun yerine düz kasın yoğun cisimleri Z diskleri ile aynı görevi yapar. Düz kaslarda miyozin filamentlerinin çoğunda "yan kutup" denen çapraz köprüler vardır. Böylece bir yandaki köprüler kasıldığında o yana doğru bir kasılma oluşurken diğer yandaki köprülerin kasılması diğer yana kasılma sağlar. Bu mekanizma ile miyozinin aktini bir uçta bir yana doğru hareket ederken başka bir bölümde başka bir yana hareket eder. Bu mekanizma sayesinde iskelet kasında

kasılmayla kasın boyu %30' dan az oranında kasılırken düz kasta bu oran %80' lere kadar çıkabilir (Guyton, 2000).

#### 1.2.4. Kalsiyum İyonlarının Kas Kasılmasındaki Rolü

İskelet kasında olduğu gibi, çoğu düz kasta da kasılma intraselüler kalsiyum iyonlarındaki artış ile başlar. Kalsiyum artışı düz kas lifinin sinirsel yada hormonal yolla uyarılması, lifin gerilmesi veya lifin kimyasal çevresindeki değişikliklerden kaynaklanabilir (Guyton, 2000).

Düz kas hücreleri, troponin yerine, çok miktarda kalmodulin denen bir düzenleyici protein içermektedirler (Guyton, 2000).

Kasılmanın başlaması için  $4 \text{ Ca}^{++}$  iyonu kalmodulin proteini ile reaksiyona girer ve kalsiyum kalmodulin kompleksini oluşturur (Murray, 1990).

Kalmodulin, bazı yönlerden troponine benzese de, kasılmayı başlatma biçimi yönünden farklıdır. Kalmodulin miyozin çapraz köprülerini aktive ederek kasılmayı başlatır (Guyton, 2000).

Aktivasyon ve sonraki kasılma, aşağıdaki sıra ile meydana gelir:

- 1- Kalsiyum iyonları kalmoduline bağlanır.
- 2- Kalsiyum-Kalmodulin kombinasyonu, fosforile edici bir enzim olan miyozin kinazla birleşerek onu aktive eder.
- 3- Miyozin başının düzenleyici zincir denen hafif zincirlerden biri miyozin kinaza yanıt olarak fosforile olur. Bu zincir fosforile değilken, miyozin başı aktinle tutunma-ayrılma döngüsü oluşmaz. Fakat regülatör zincir fosforile olduğunda iskelet kasındaki gibi, baş aktin elementi ile bağlanma ve sonraki bütün döngüsel işlemlerden geçme, dolayısıyla kas kasılmasını sağlama kapasitesine sahiptir (Guyton, 2000).

#### 1.2.5. Düz Kasta Gevşeme

Düz kasın gevşemesi, sarkoplazmadaki serbest kalsiyum iyon konsantrasyonunun  $10^{-7}$  mol/L altına düşmesiyle meydana gelir (Murray, 1990).

Miyozin başının fosforilasyonu dışında daha önce söz edilen olaylar otomatik olarak tersine döner. Bu olayların oluşması için düz kas hücre sıvısında bulunan miyozin fosfataz adlı başka bir enzime ihtiyaç vardır (Guyton 2000).

Daha sonra döngü durur ve kasılma kesilir. Dolayısıyla, kasın gevşemesi için gerekli zaman, büyük ölçüde hücredeki aktif miyozin fosfataz miktarı ile belirlenir (Guyton, 2000).

#### 1.2.6. Düz Kas Kasılmasında Sinirsel ve Hormonal Kontrol

Düz kas, iskelet kasından farklı olarak sinir sinyalleri, hormonal uyarı, kasın gerilmesi ve bazı başka yollar gibi bir çok sinyal tarafından uyarılabilir (Guyton, 2000).

Düz kasın iki önemli özelliği asetilkolin ve noradrenalinin etkilerinden ortaya çıkmıştır. Bunlardan biri, sinirsel aktive olmadan spontan olarak aktivite göstermesi, bir diğeri ise dolaşımda bulunan ve lokal sinirlerden salgılanan kimyasal maddelere karşı olan duyarlılığıdır (Ganong, 1995).

Bu farklılıkların başlıca nedeni, düz kas membranının kontraktıl işlemi başlatabilecek bir çok reseptör tipi içermesidir. İskelet kasından diğeri bir farkı da, bazı reseptörlerin düz kas kasılmasını inhibe etmesidir (Guyton, 2000).

Düz kasta, iskelet kası liflerinde bulunan oldukça düzenli sinir-kas kavşağı yoktur. Onun yerine, düz kası innerve eden otonom sinir lifleri vardır. Bu lifler genellikle bir kas lifi tabakasının üstünde diffüze olarak dallanır. Çoğu zaman bu lifler düz kas lifleri ile direkt temas etmezler, onun yerine yaygın kavşaklar (diffuse junctions) transmitter maddeleri birkaç nanometreden birkaç mikrometreye varan uzaklıktan düz kası çevreleyen matrikse salgırlar. Daha sonra transmitterler hücreye difüze olur. Ayrıca, bir çok kas hücre tabakasının olduğu yerlerde, sinir lifleri genellikle sadece dış tabakayı innerve eder ve uyarı daha sonra bu dış tabakadan iç katlara doğru aksiyon potansiyelinin iletimi ya da trasmitter maddenin difüzyonu ile yayılır (Guyton, 2000).

Sinirsel innervasyonun işlevi, kasılmayı başlatmaktan çok kasılmanın düzenlenmesidir. Otonom sinir sisteminin bir bölümünün uyarılması genel olarak



kasın aktivasyonuna neden olurken diğer bölüm kas aktivasyonunu azalmaktadır (Ganong, 1995).

Düz kası innerve eden otonom sinirler tarafından salgılanan en önemli trasmitterler asetilkolin ve norepinefrindir, fakat hiçbir zaman ikisi aynı sinir lifinden salgılanamaz. Asetilkolin bazı organlarda düz kas lifleri için eksitatör, diğerlerinde ise inhibitördür. Bir kas lifini asetilkolin eksite ediyorsa, kural olarak norepinefrin inhibe eder. Bunun tersi de geçerlidir (Guyton, 2000).

Nörotransmitterler, immunoglobulinler ve hormonlar gibi endojen maddeler, etki gösterebilmek için hücre membranında bulunan kendilerine özgü reseptörlere ihtiyaç duyarlar. Bu reseptörlere bağlanarak membrandan bilgiyi sitoplazmaya aktarırlar. Hücre yüzeyine bağlanan hormonlar, ligand reseptör etkileşimi sonucu oluşan ikinci haberciler olarak adlandırılan moleküller ile intraselüler metabolik olaylarla haberleşirken, ikinci haberci olan sAMP' nin pek çok hormonun metabolik etkilerine aracılık ile ettiği bilinmektedir.

Sinyal iletiminde önemli bir nokta, hücre içersinde protein kinazların katalizörlüğünde proteinlerin fosforilasyonudur. Proteinler fosforilasyonla aktif ya da inaktif forma geçerler.

Bir sinyalin, membranın iç tarafına iletilmesinde iki ana mekanizma bulunmaktadır:

1- Spesifik protein-protein etkileşimi.

2- Sinyal iletimi: Sinyalin gelerek protein-protein etkileşmesi sonucunda reseptörün sitoplazmik bölgesindeki enzim aktivitesi stimüle olur ve bununla beraber diğer reaksiyonlar da aktive olur. Reseptör aktivasyonu ile bir seri reaksiyon başlar. Önce G proteini, daha sonra tirozin-spesifik protein kinazlar aktive olur. Daha ileri aşamada iyon kanalları aktive olur.

G proteinleri GTPaz ailesinin bir üyesidir. Bu proteinler GTP'ye bağlanarak hidrolize neden olurlar ve çeşitli hücrel olaylarda görev alırlar.

G proteinleri inaktif GDP formunda bulunur.  $\alpha$ ,  $\beta$ , ve  $\gamma$  alt ünitelerinden oluşan heterotrimerik bir yapıya sahip olan G proteinleri sinyal iletim

mekanizmasında 7 alfa heliks yapısındaki transmembran reseptörlerine bağlanırlar. Sinyal, G proteinlerinden bir sonraki efektör molekülüne aktarılır.

Reseptör, G proteinine bağlanır, G proteininin  $\alpha$  alt birimi,  $\beta\gamma$  alt birim kompleksinden ayrılarak aktive olur. Bu işlemler sırasında GDP'nin GTP'ye dönüşmesi ve GTPnin G proteinine bağlanması önemli rol oynar. Aktive olan G proteini reseptörle yaptığı kompleksten kendini ayırdığı zaman bir fosfat hidrolizi ve sonuçta protein tekrar inaktif forma döner.

G proteine bağlı reseptörlerin sitoplazmik bölgelerinin fosforilasyonu sAMP bağımlı protein kinazların (protein kinaz A) ya da protein kinaz C'nin aktivasyonu ile gerçekleştirilir. Reseptörün hormonal aktivasyonu protein kinaz A'nın aktivasyonuna neden olur. Bunu da G proteinler ve adenil siklaz ile sAMP üzerinde gerçekleştirir. sAMP hücre içinde protein kinaz A enzimini aktive ederek fosforilasyonu sağlar. Protein kinaz A, 2 katalitik (C) ve 2 düzenleyici (R) alt ünitelerden oluşan tetramerik bir enzimdir.  $R_2C_2$  formundaki protein kinaz A inaktiftir. sAMP (R) alt ünitesine bağlanarak (C) katalitik ünitesinin serbest kalmasına neden olur ve bu şekilde protein kinaz A aktif forma geçer. G proteinin bağlı olduğu başlıca ikinci haberciler sAMP, diaçil gliserol (DAG) ve inositol fosfatlardır.

İkinci habercilerde hidrofobik yapıdaki DAG ve fosfatidil inositol fosfat membran bağımlı olanlardır. Hidrofilik yapıdaki sAMP, sGMP inositol fosfat ve  $Ca^{++}$  ise sitoplazmada serbest halde bulunurlar.

Hücre membranının içerdiği fosfatidil inositol fosfolipidinin inositol halkasının 4' ve 5' pozisyonundan spesifik kinazlarla fosforize edilmesi sonucu fosfatidil inositol 4,5-difosfat ( $PIP_2$ ) oluşur.  $PIP_2$  fosfolipaz C (PLC) enzimi tarafından hidroliz edilerek 1,2-diaçil gliserol (DAG) ve 1,4,5-inositol trifosfata ( $IP_3$ ) dönüşür.

$IP_3$ 'lar hücre içi organelli olan endoplazmik retikulum üzerindeki spesifik  $IP_3$  reseptörüne bağlanarak sitoplazmaya serbest kalsiyum iyon geçişini sağlarlar.

Diaçilgliserol (DAG) membranda yerleşmiş bulunan ve polaritesinin özelliği nedeniyle hücre zarında kalır, sitoplazmaya geçmez. Diaçilgliserol protein kinaz C'nin alt ünitesini aktive eder ve aktive olan protein kinaz C

fosforilasyona neden olarak hücrede çoğalma, büyüme, farklılaşma gibi metabolik olaylarda görev yapar (Gerhard, 1999).

### 1.3. Vas deferens (Ductus deferens)

Vas deferens, spermin epididymisten uretra'ya hareketini sağlayan kalın duvarlı tüp şeklinde düz kaslı bir yapıdır.

Ductus epididymis, epididymis'in kuyruk kısmında kalınlaşarak ductus deferens adını alır. Önce kıvrıntılı, daha sonra düz bir seyir gösteren ductus deferens, epididymis'in arka ve medial tarafından yukarı doğru uzanır. Funiculus spermaticus içinde yukarı çıkar ve canalis inguinalis'den geçerek karın boşluğuna geçer. Ductus deferens'in son bölümü genişleyerek ampulla ductus deferentis adını alır. Ductus deferens'in en son kısmı daralarak aşağı doğru uzanır. Prostata'nın tabanı yakınında vesicula seminalisin kanalı ile bir dar açığı oluşturacak şekilde birleşir ve *ductus ejaculatorius*'u oluşturur. Prostata arka-üst kısmından giren ductus ejaculatorius, lobus medius'un arka sınırı boyunca ön ve aşağı doğru uzanarak, urethra'nın pars prostaticasında colliculus seminalis'in her iki yanına açılır (Arıncı ve Elhan, 1995).

Ductus deferens yaklaşık 0.2 m uzunluktadır. Duvarı kalın, lümeni dar, müsküler tübüler bir yapıdadır. Üç tabakadan oluşur:

1- Tunica mucosa: Yıldız şeklindedir.

a) Epitel

b) Lamina propria.

2- Tunica muscularis: En kalın tabakadır. (1-1.5 mm Kalınlıkta). İç ve dış longitudinal, ortada sirküler yönlü düz kas fibrillerinden oluşur. En iyi sirküler tabaka gelişmiştir. Hem kuvvetli kas tabakasının bulunuşu, hem de lamina propriadaki elastik fibriller nedeniyle mukoza kıvrılarak lümeneye yıldız biçimini kazandırır.

3- Tunica adventitia: Bol kan damarı ve sinir içeren fibro elastik bağ dokusudur. (Paker, 1995).

Vas deferens; kobay, sıçan, tavşan, fare gibi laboratuvar hayvanlarından kolaylıkla izole edilebilen, çeşitli fizyolojik ve farmakolojik çalışmalar için oldukça yararlı olan bir dokudur.

Vas deferens, uygulanan maddeye karşı düz kasların mekanik cevaplarının ya da eksitatör sinirlerin uyarılması sonucu oluşan cevapların kaydedilebilen geleneksel izole organ banyosu çalışmaları için uygundur. Organ banyosu tekniklerinde yapılan modifikasyonlarla, vas deferens dokusu düz kas hücrelerinin elektrofizyolojisi ve nörotransmitterlerin salınımı ve inaktivasyon çalışmaları için kullanılabilir (Staff of Edinburgh and McLeod, 1970).

Rodent vas deferensiyle yapılan çalışmalar, otonom nöroefektör kavşak için ilginç ve kullanışlı bilgiler sağlamıştır. Vas deferens ile yapılan çalışmalar, vasküler ve gastrointestinal sistem gibi visseral organlardaki nöroefektör mekanizmalar hakkında açıklayıcı bilgilere ulaşılmasını sağlamaktadır.

Floresan boyama yöntemleri ile 1962'de Flack, vas deferensin yoğun bir sempatik sinir ağı içerdiğini göstermiştir. Aynı yıl Sjöstrand bu dokuda çok miktarda noradrenalin bulunduğunu saptamıştır. Yapılan çalışmalar eksojen olarak uygulanan noradrenalinin vas deferenste kasılmaya neden olduğunu ve adrenerjik reseptör antagonistlerinin vas deferens dokusunda bu kasılmaların bir bölümünü inhibe ettiğini bulmuşlardır. Postgangliyonik sempatik nöronları tahrip eden 6-hidroksidopamin ile muamele edilince vas deferensin sinirsel uyarılara cevabı durmuştur. Rezipin ile muamele edilince de, kobay vas deferensinde noradrenalin düzeylerinde deplezyon olmuş ve nörojenik cevabın bir kısmı inhibe olmuştur. Vas deferensin sempatik nöronlarının stimülasyonu, iki ayrı komponentin kasılması ile sonuçlanır. Kobay, sıçan, fare ve tavşan vas deferenslerinde bu bifazik cevapları görmek mümkündür (Westfall and Westfall, 2001).

Elektriksel stimülasyon ile oluşan çalışmaların bifazik doğası ve adrenerjik antagonistlerin nörojenik cevabı tam anlamı ile inhibe edememesi; ikinci bir nörotransmitterin varlığını düşündürmüştür. Vas deferens stimülasyonu sonucu purin'lerin salıverildikleri ve vas deferenste purinerjik sinyal iletiminin varlığı, gösterilmiştir (Burnstock, 1977; Westfall et al., 1978). Söz konusu purinlerin

salınımının tetrodotoksine duyarlı olduğu ve bu salıverilmenin nöronal kaynaklı olduğu anlaşılmıştır. Burnstock ve Westfal gibi araştırmacıların çalışmaları ile vas deferensden ATP ve noradrenalin salıverildiği, bu nedenle vas deferens dokusunda non-adrenerjik, non-kolinerjik purinerjik sinyal ileti sisteminin varlığı gösterilmiştir (Westfall and Westfall, 2001).

1996' da Todorov ve arkadaşları kobay vas deferensinden endojen ATP ve noradrenalin nöronal salınımını yüksek basınçlı gaz kromatografisi (HPLC) ile ortaya koymuşlardır. Yapılan çalışmalar vas deferens'in bifazik cevabının başlangıçtaki fazik kısmının ATP aracılıklı olduğunu, sonraki tonik fazının ise noradrenalin aracılıklı olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmalar sırasında kobay vas deferensinde sinirsel uyarı sonucu bazı sempatik nöronlardan ATP ve noradrenalinin yanı sıra nöropeptid Y'nin de salındığı bulunmuştur. Kobay vas deferens'inde kolinerjik innervasyonun da var olduğu bilinmektedir. Kolinerjik lifler mukozalarda bulunmalarının yanı sıra, sirküler kas tabakasında bulunan sinirlerin yaklaşık %30'unu oluştururlar. Frensis ve Iwayoma (1972)'ya göre vas deferens'in longitudinal kaslarında adrenerjik sinir lifleri vardır (Westfall and Westfall, 2001).

Vas deferens' in çeşitli bölgeleri sinirsel uyarıya ve eksojen agonistlere farklı cevaplar verir. Prostatik uçtaki segmentler uyarıldığında hızlı fazik cevap gözlenirken epididimal uçtaki segmentler uyarıldığında daha yavaş tonik kasılmalar gözlenir. Vas deferensin her iki ucu da ATP ve noradrenaline cevap verse de; prostatik uçtaki segmentler ATP'ye, epididimal uç ise noradrenaline daha duyarlıdır. Bunun nedeni kavşak sonrası purinerjik ve adrenerjik cevap dağılımının farklı olmasındandır (Westfall and Westfall, 2001).

ATP ve noradrenalin dışındaki bazı maddeler de vas deferens'in kasılmalarını etkileyebilirler. Örneğin muskarinik agonist olan karbakol vas deferens'te M<sub>2</sub>-muskarinik reseptörler aracılıklı kasılmaya neden olmaktadır. Histamin muhtemelen kavşak sonrası H<sub>1</sub>-histaminerjik reseptörleri ile kasılmaya neden olmaktadır.

Vas deferens'te sempatik sinirlerin üzerinde bulunan kavşak öncesi reseptörler, noradrenalin ve ATP' nin salınımını modüle ederler. Noradrenalin

salıveren tüm sinirlerde presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör stimülasyonu ile noradrenalin salınımı azaltılır. Söz konusu  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerin fare, sıçan, kobay vas deferensinde noradrenalinin yanı sıra ATP salınımını da düşürdüğünü ortaya konulmuştur (Westfall and Westfall, 2001).

Ksilazin ve klonidin gibi bazı  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistleri ATP salınımını noradrenalin salınımından daha fazla azaltırlar.

Çeşitli türlerin vas deferensinde nörotransmitter salınımını etkileyen bazı presinaptik reseptörler bulunmuştur. Bu reseptörler arasında,  $\beta_2$ -adrenerjik reseptörler, kolinerjik nikotinik reseptörler, NPY reseptörü  $Y_2$ ,  $GABA_B$ , histamin, endotelin ve natriüretik peptid reseptörleri sayılabilir (Westfall and Westfall, 2001).

Vas deferens'de etkin olan nörotransmitterlerin yıkımı sinaptik aralıkta hemen gerçekleşir. Noradrenalin sinaptik aralığa salınır salınmaz spesifik transporterı aracılığıyla sinir ucuna geri alınır ve MAO enzimleri (monoaminoksidaz enzimleri) ile yıkılır yada sinaptik vezikülün içine tekrar paketlenir. ATP ise asetilkolin gibi ekstraselüler aralıkta parçalanır. Basamaklı şekilde ADP ve AMP' yi içeren üç basamaklı bir işlemle adenezine yıkılır. Adenosin daha sonra çevre dokular tarafından alınır (Westfall and Westfall, 2001).

İzole sıçan mide fundus ve ileum gibi gastrointestinal organlara ek olarak, diğer düz kaslı yapılardan kendine özgü farklılıklara sahip olan vas deferens üzerinde 1,8-sineol ve 1,4-sineol'un etkilerinin araştırılması, bu çalışmanın konusunu oluşturmaktadır.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1 Deney Hayvanları

Yapılan deneylerde, erkek ve dişi Albino Wister sıçanlar (200-300 gr.) kullanılmıştır. Deney hayvanları, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim dalı tarafından, normal oda sıcaklığında, iyi hayvanlandırıran havalandırılan odalarda yetiştirilmiş, çeşme suyu ve Esyem A.Ş., (Eskişehir)' den temin edilen standart yem ile beslenmiştir.

#### 2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

##### 2.1.2.1. Kimyasal Maddeler

NaCl	(Merck)
KCl	(Merck)
CaCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	(Merck)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	(Merck)
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	(Merck)
NaHCO <sub>3</sub>	(Merck)
Glukoz	(Merck)
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	(Merck)
Asetilkolin.HCl	(Merck)
Fenilefrin	(Merck)
DMSO	(Merck)
Atropin Sülfat	(Sigma)
Naloxon	(Sigma)
Labetalol	(Sigma)
Metilen Blue	(Sigma)
Nitro-L-Arginin	(Sigma)
1,4-Sineol (1,4-Cineole)	(Sigma)
1,8-Sineol (1,8-Cineole)	(Sigma)

##### 2.1.2.2. Kullanılan cihaz ve malzemeler

İzole ogan banyosu	(Ugo-Basile, Italy, Cat. 4050)
İzotonik transdusır	(Ugo-Basile, Italy, Cat. 7006)
Kayıt edici	(Ugo-Basile, Gemini, Italy, Cat. 7070)

Hassas terazi	(Mettler, Almanya)
Enjektörler	(1, 5, 10 ml, Hayat A.Ş., (Türkiye))
Cerrahi malzemeler	

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. İzole organ banyosu deneyleri

Erkek ve dişi Albino sıçanlar servikal dislokasyon ile öldürdükten sonra, mide fundus, ileum, ve vas deferens izole edilerek Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonu (mmol/L cinsinden: NaCl, 117.5; KCl, 4.7; CaCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 2.5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.18; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 1.18 ; NaHCO<sub>3</sub>, 25.0 ve glukoz, 11.1) içine alınmıştır (Krebs and Henseleit 1932).

Deney için alınan organlar, çevrelerindeki yağ ve bağ dokularından temizlendikten sonra, sıcaklığı 37 °C olan, izole organ banyosuna, mide fundus 1.5 g , ileum 1 g ve vas deferens preparatları 0.5 g gerim uygulanarak asılmıştır. İzole organ banyosuna asılan organlar, çalışma boyunca, %95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> ile gazlandırılmıştır. Mide fundus, ileum ve vas deferens cevapları izotonik transdüsör aracılığı ile kaydedilmiştir. Organlar her 15 dakikada bir fizyolojik solüsyon ile yıkanarak, en az bir saat süreyle dinlendirildikten sonra deneysel çalışmalara başlanmıştır. Çalışma süresince, her doz-cevap alımından sonra, organ fizyolojik solüsyon ile yıkanarak en az 15 dakika fizyolojik çözeltiyle inkübe edilmiştir. Test maddeleri olarak 1,8-sineol ve 1,4-sineol (Sigma, St. Louis, ABD) ve test maddelerinin çözücüsü olarak DMSO (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Bu nedenle her bir deneyde kontrol amacıyla DMSO cevaplarına karşı doz-cevap çalışmaları yapılmıştır.

### 2.2.2. 1,4-Sineol ve 1,8-Sineol ile yapılan deneyler

#### 2.2.2.1. İzole sıçan mide fundus deneyleri

Mide fundus çalışmaları için klasik yöntemlerle hazırlanan preparatlar kullanılmıştır (Staff of Edinburgh and McLeod, 1970). Organ, 20 ml'lik banyoya, 1.5 g gerim uygulanarak asılmış, cevaplar izotonik transdüsör aracılığı ile kaydedilmiştir.

Organlar, bir saat süre ile inkübe edildikten sonra, asetilkolin (ACh)'e karşı kumulatif doz-cevapları alınmıştır. Daha sonra 1,4- ve 1,8-sineol



maddelerinin her birinin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M dozlarının varlığında ACh' e karşı 5 dakika süre ile organa karşı maruz bırakılarak cevapları alınmıştır.

Aynı işlemler, izole sıçan mide fundusunun 40 mM potasyum klorür (KCl) ile kastırılarak, prekontrakte haldeki organ üzerinde 1,4- ve 1,8-sineol [ $10^{-10}$  -  $10^{-3}$  M] uygulanarak cevapları alınmıştır.

#### 2.2.2.2. İzole ileum deneyleri

İzole sıçan ileum deneyleri için valva iliocaecalis' ten 10-20 cm uzaklıktan 1-1,5 cm'lik segmentler alınmıştır. Organ 20 ml' lik banyoya 1 g gerim uygulanarak asılmış ve cevaplar izotonik transdusör aracılığı ile rekorder ile kaydedilmiştir.

Standart bir kastırıcı agonist olarak kullanılan ACh dozlarına [ $10^{-9}$  -  $10^{-3}$  M] test maddeleri olan 1,8-sineol ve 1,4-sineol' nin her birinin  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarında, 5 dakika süre ile maruz bırakılarak test edilmiştir.

Alınan deneysel sonuçlar nedeniyle izole sıçan ileumu üzerinde KCl ile deneyler yapılmamıştır.

#### 2.2.2.3. İzole vas deferens deneyleri

Erkek sıçanlardan vas deferens bütünü alınarak hazırlanan preparatlar 20 ml'lik banyoya, 0.5 g gerim uygulanarak asılmış ve cevapları izotonik transdusör aracılığı ile rekorder ile kaydedilmiştir. Organlar en az bir saat süre ile inkübe edildikten sonra fenilefrin (Phe) veya KCl dozlarına karşı organ cevapları alınmıştır. Test maddeleri DMSO içinde çözüldüğünden, kontrol amacıyla DMSO için ayrıca doz-cevap çalışmaları yapılmıştır.

2.2.2.3.1. Vas deferensde fenilefrin kasılmasına karşı 1,4- ve 1,8-sineol etkisi.

Organlar, yukardaki anlatıldığı gibi hazırlandıktan ve yeterince inkübe edildikten sonra fenilefrin (Phe) cevapları alınmıştır. 5 dakika süre ile banyo ortamına konulan test maddelerine (1,4-Sineol [ $10^{-4}$  M] ve 1,8-Sineol [ $10^{-4}$  M]) maruz bırakılan izole organların kumulatif olarak uygulanan fenilefrin dozlarına karşı cevaplar alınmıştır. Aynı işlemler atropin sülfat, nalokson, labetalol, nitro-L-arginin, imidazol ve metilen mavisi varlığında, her biri için ayrı ayrı olmak

üzere, tekrarlanmıştır [Okamura et. al., 1990]. Bu antagonistler,  $10^{-5}$  M dozunda uygulanmış ve her bir deneyde denek sayısı en az 6 olarak seçilmiştir.

#### 2.2.2.3.2. Vas deferensde KCl kasılmasına karşı 1,4- ve 1,8-sineol etkisi.

İzole edilen ve organ banyosunda en az bir saat inkubasyona tabi tutulan organlar, 40 mM KCl ile kastırılmış (prekontrakte edilmiş), daha sonra organ prekontrakte halde iken test maddeleri olan 1,4-sineol ve 1,8-sineol'un [ $10^{-10}$  -  $10^{-3}$  M] kumulatif cevapları alınmıştır. Bu işlemler, atropin sülfat, labetalol, nalokson, L-NoARG, imidazol ve metilen mavisi varlığında tekrarlanmıştır. Tüm deneylerde denek sayısı en az 6 ve antagonistler  $10^{-5}$  M dozunda uygulanmıştır.

#### 2.2.3. İstatistiksel hesaplamalar ve veri analizi

İstatistiksel hesaplamalar için elde edilen deneysel veriler, Minitab ver. 11.12 paket programı (<http://www.minitab.com>) ile tek yönlü varyans analizi (anova) kullanılarak hesaplanmıştır. Anova sonrası çoklu karşılaştırma için Tukey HSD yöntemi uygulanmış ve  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Şekiller, SigmaPlot® paket programı ile çizilmiştir. Grafiklerde yer alan her bir değer, Ortalama  $\pm$  Ortalamanın Standart Hatası (mean  $\pm$  s.e. mean) olarak belirtilmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. İzole sıçan mide fundus deneylerinin sonuçları

İzole sıçan mide fundus preparatları ile yapılan çalışmalarda. 1,4-sineol ve 1,8-sineol'ün  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M konsantrasyonları kullanılmıştır. Test edilen dozlarda, test maddelerinin ACh kasılmalarına karşı her hangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.1 ve 3.2).

Ayrıca 1,4-sineol ve 1,8-sineol'ün ( $10^{-10}$  –  $10^{-3}$  M) konsantrasyonlarına karşı fundus'ta 40 mM KCl ile prekontrakte izole sıçan fundusu üzerinde, istatistiksel olarak her hangi bir anlamlı etkiye rol açmadığı bulunmuştur (Şekil 3.3).

#### 3.2. İzole sıçan ileum deneylerinin sonuçları

İzole sıçan ileum preparatı ile yapılan çalışmalarda, 1,4-sineol ve 1,8-sineol'ün üç farklı dozunda ( $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M) ACh kasılmalarına karşı istatistiksel olarak anlamlı her hangi bir etki gözlenmemiştir (Şekil 3.4 ve 3.5).

İleumdaki ACh kasılmaları üzerinde 1,4-sineol'un 1,8-sineol'e göre ( $10^{-4}$  M) daha fazla inhibisyona yol açtığı, ancak bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.6). Daha yüksek dozlarda (örneğin  $10^{-3}$  M) 1,4-sineol etkisi test edilmemiştir.

#### 3.3. İzole sıçan vas deferens deneylerinin sonuçları

##### 3.3.1. Vas deferens üzerinde fenilefrin kasılmalarına karşı 1,8- ve 1,4-sineol etkisi.

İzole sıçan vas deferensi üzerinde yapılan çalışmalarda, sadece  $10^{-4}$  M dozunda uygulanan test maddelerinin (1,4-sineol ve 1,8-sineol'ün) fenilefrin kasılmalarına karşı istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir etkisinin bulunmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.7).

Muskarinik kolinerjik reseptör antagonisti olan atropin sülfat [ $10^{-5}$  M] ve opioid reseptör antagonisti olan nalokson [ $10^{-5}$  M] varlığında; 1,8-sineol ve 1,4-sineol'ün vas deferensde Phe cevapları üzerinde istatistiksel olarak anlamlı her hangi bir etkisinin olmadığı, adrenerjik reseptör antagonisti olan labetalol [ $10^{-5}$  M] varlığında ise Phe kasılmalarının inhibe olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.8 ve 3.10).

Nitrik oksid sentaz (NOS) inhibitörü olan Nitro L-Arginin'in (L-NoARG)( $10^{-5}$  M) varlığında hem 1,8-sineol'ün hem 1,4-sineol'ün test edildiği deneylerde inhibisyona yol açtığı bulunmuştur.  $10^{-5}$  M dozunda uygulanan L-NoARG, test maddelerinin  $5 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $5 \times 10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M dozlarında inhibisyon yaptığı gözlenmiştir (Şekil 3.9 ve 3.11). İmidazol ise sadece 1,8-sineol'un kullanıldığı testlerde ve tek bir doz üzerinde ( $10^{-6}$  M)

inhibisyon yapmış (Şekil 3.9) fakat 1,4-sineol'un kullanıldığı testlerde etki göstermemiştir (Şekil 3.11). Test edilen dozdaki metilen mavisinin ( $10^{-5}$  M) her iki test maddesi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı bulunmuştur (Şekil 3.9 ve 3.11).

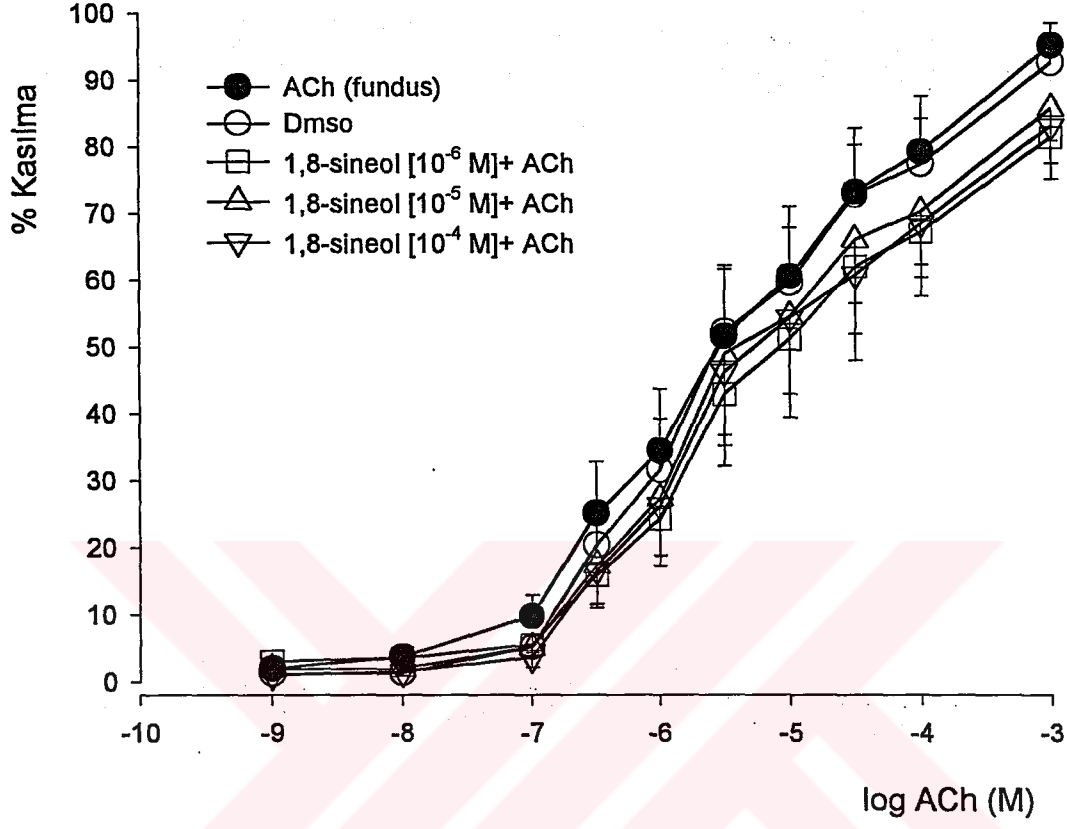
### 3.3.2. KCl kasılmalarına karşı 1,8-sineol ve 1,4-sineol etkisi.

1,4-sineol ve 1,8-sineol'ün 40 mM KCl ile prekontrakte izole vas deferens üzerinde inhibisyon yaptıkları gözlenmiştir. 1,8-sineol sadece  $10^{-3}$  M dozunda anlamlı bir inhibisyona yol açarken, 1,4-sineol'un  $10^{-7}$ ,  $5 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $5 \times 10^{-6}$  M dozlarında inhibisyon yaptığı bulunmuştur (Şekil 3.12).

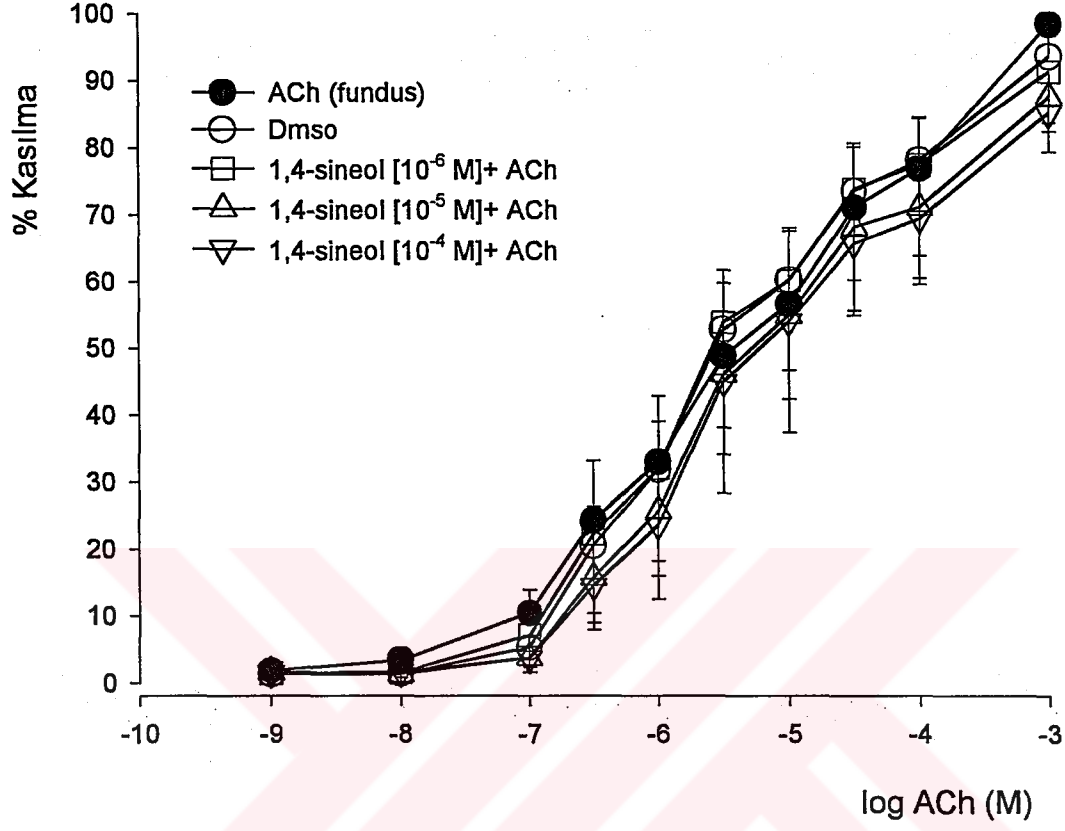
40 mM KCl ile prekontrakte izole vas deferensinde, labetalol ve atropin [ $10^{-5}$  M] varlığında 1,8-sineol'un daha fazla inhibisyon yaptığı gözlenmiştir. Labetalol varlığında 1,8-sineolün  $5 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $5 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M dozlarında inhibisyon olduğu, fakat atropinin varlığında  $10^{-6}$  M dozunda inhibisyon görülmüştür. Nalokson varlığında 1,8-sineol kasılmalarında herhangi bir farklı etki gözlenmemiştir (Şekil 3.13).

1,8-sineol'den farklı olarak, aynı test modelinde 1,4-sineol etkisi üzerinde labetalol, nalokson ve atropinin daha fazla inhibisyona yol açtığı gözlenmiştir (Şekil 3.15). Labetalol varlığında 1,4-sineol'un  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $5 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $5 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M dozlarında inhibisyon olduğu, nalokson ve atropin varlığında  $10^{-6}$ ,  $5 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M dozlarında inhibisyon olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.15).

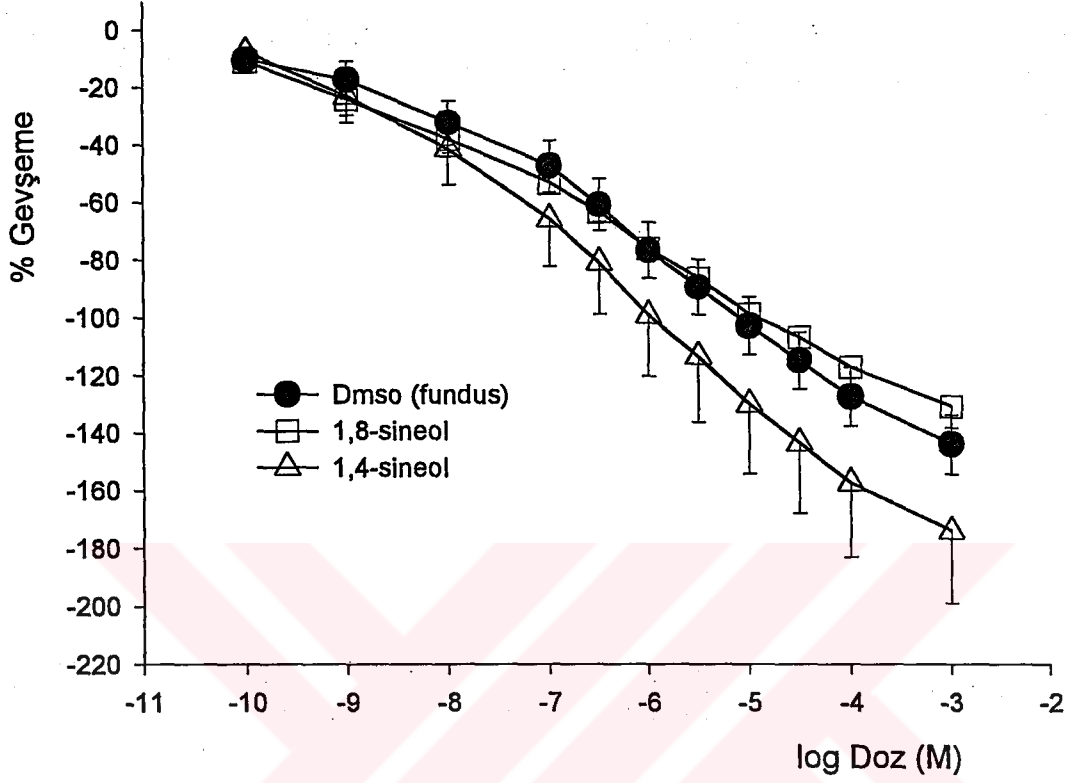
L-NoARG, imidazol ve metilen mavisi varlığında yapılan deneylerde, kullanılan antagonistlerin üçünün de hem 1,8-sineol, hem 1,4-sineol etkileri üzerinde anlamlı olarak inhibisyona neden olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.14 ve 3.16). Metilen mavisi varlığında  $10^{-7}$ ,  $5 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $5 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M dozlarında, L-NoARG ve imidazol'un ise  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $5 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $5 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M dozlarında inhibisyona yol açtıkları gözlenmiştir (Şekil 3.14 ve 3.16).



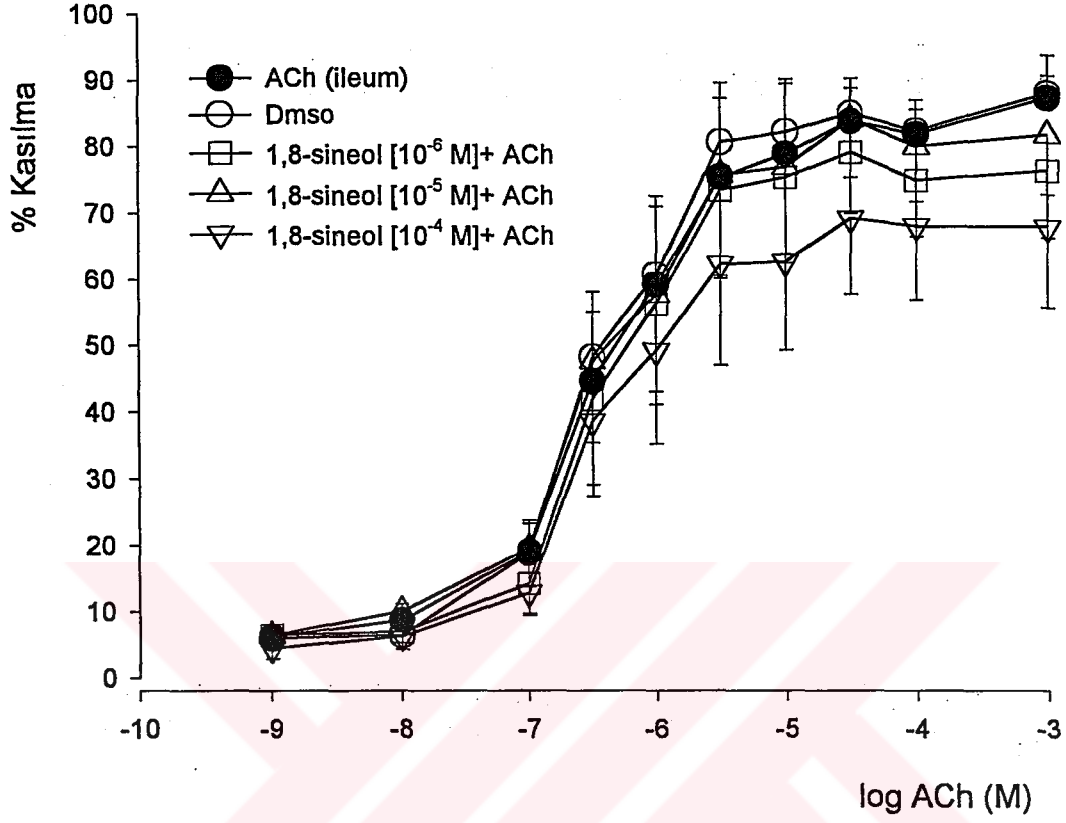
Şekil 3.1. İzole sıçan fundusu üzerinde üç farklı 1,8-sineol ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-6}$  M) dozunun asetilkolin (ACh) kasılması üzerine etkisi. n=6.



Şekil 3.2. İzole sıçan fundusu üzerinde üç farklı 1,4-sineol ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-6}$  M) dozunun asetilkolin (ACh) kasılması üzerine etkisi.

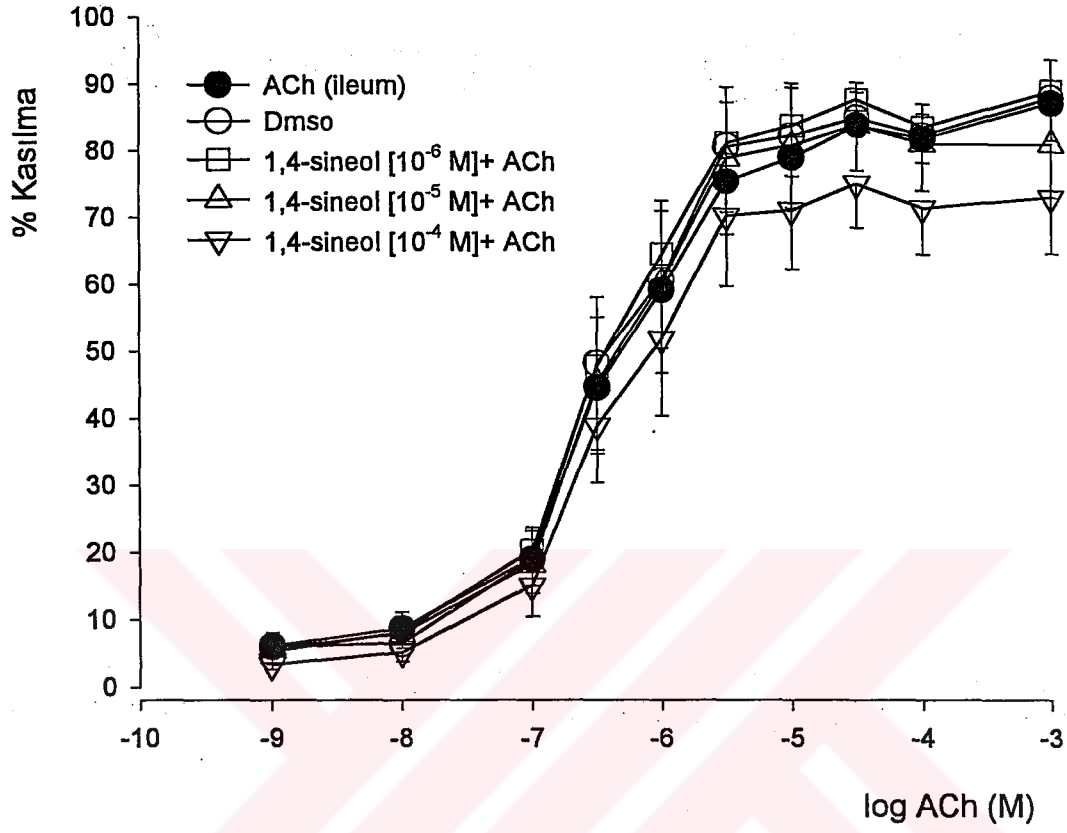


Şekil 3.3. 40 mM KCl ile prekontrakte edilen izole sıçan fundusu üzerinde 1,8-sineol ( $10^{-4}$  M) ve 1,4-sineol'un ( $10^{-4}$  M) gevşetici etkileri. n=6.

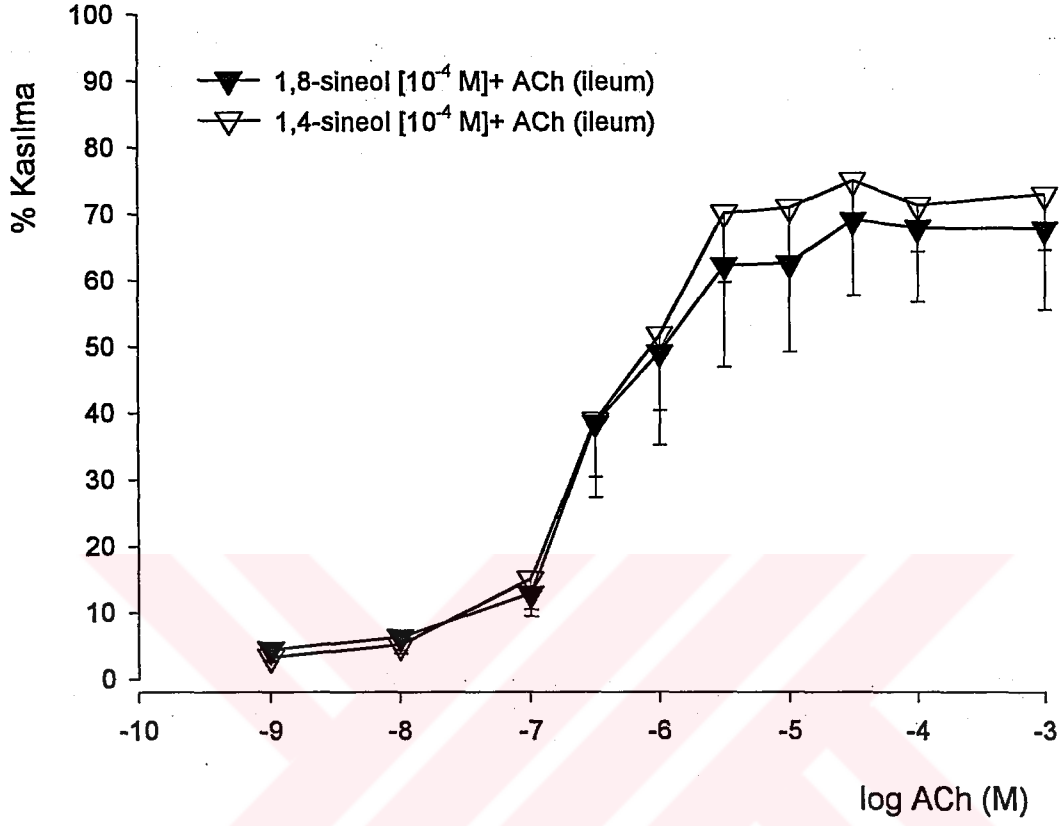


Şekil 3.4. İzole sıçan ileumu üzerinde üç farklı 1,8-sineol ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-6}$  M) dozunun asetilkolin (ACh) kasılması üzerine etkisi. n=6.

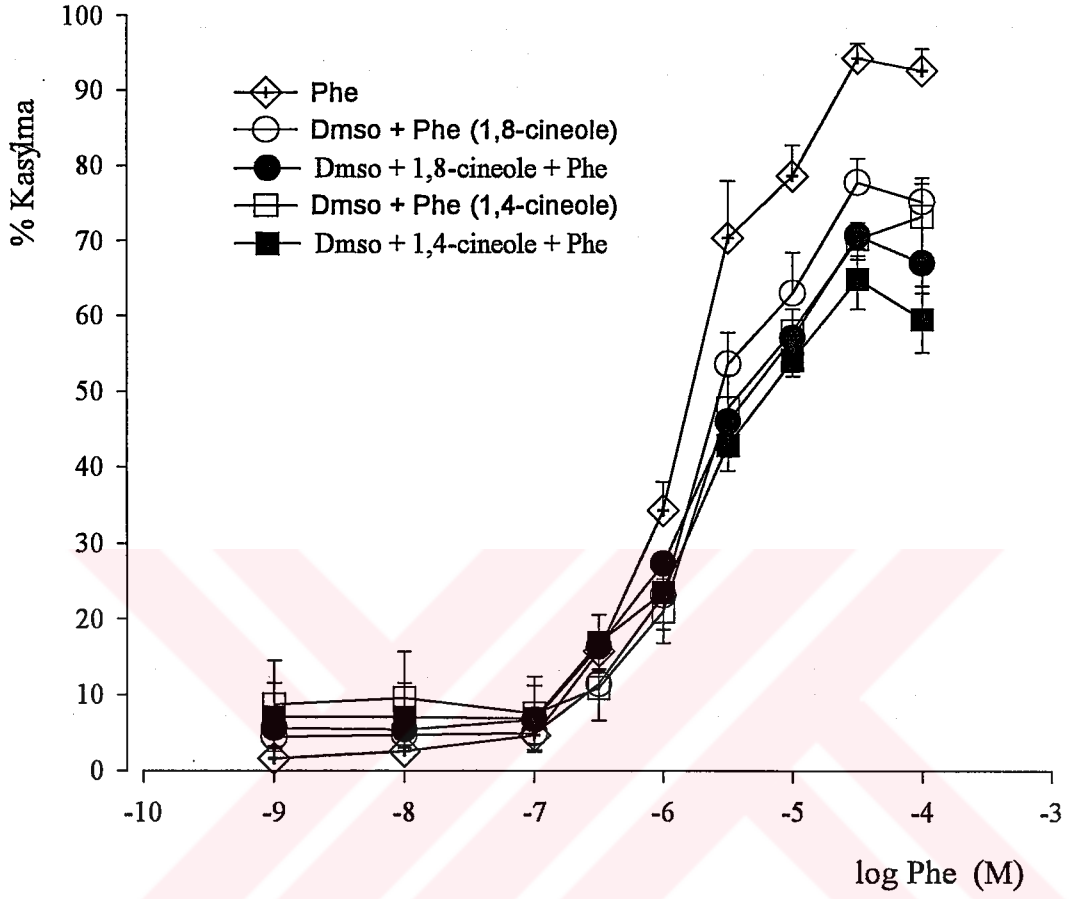




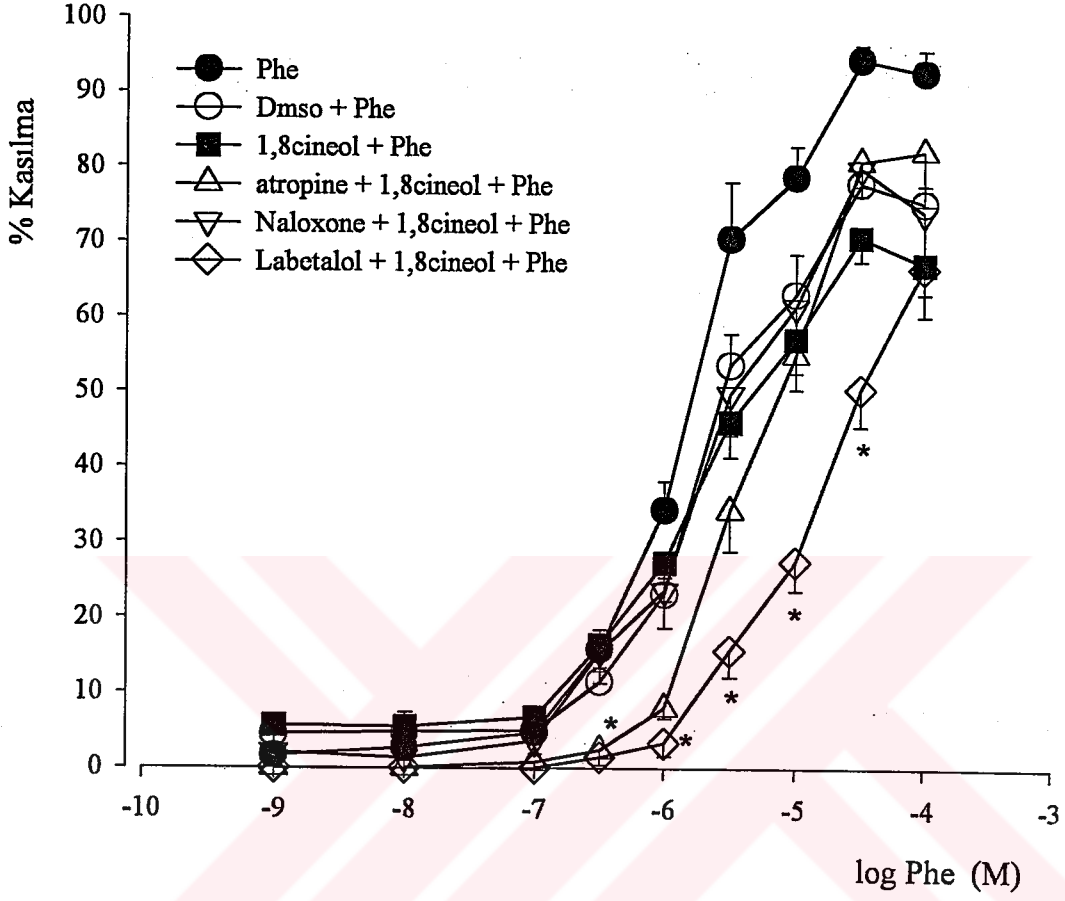
Şekil 3.5. İzole sıçan ileumu üzerinde üç farklı 1,4-sineol ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-6}$  M) dozunun asetilkolin (ACh) kasılması üzerine etkisi. n=6.



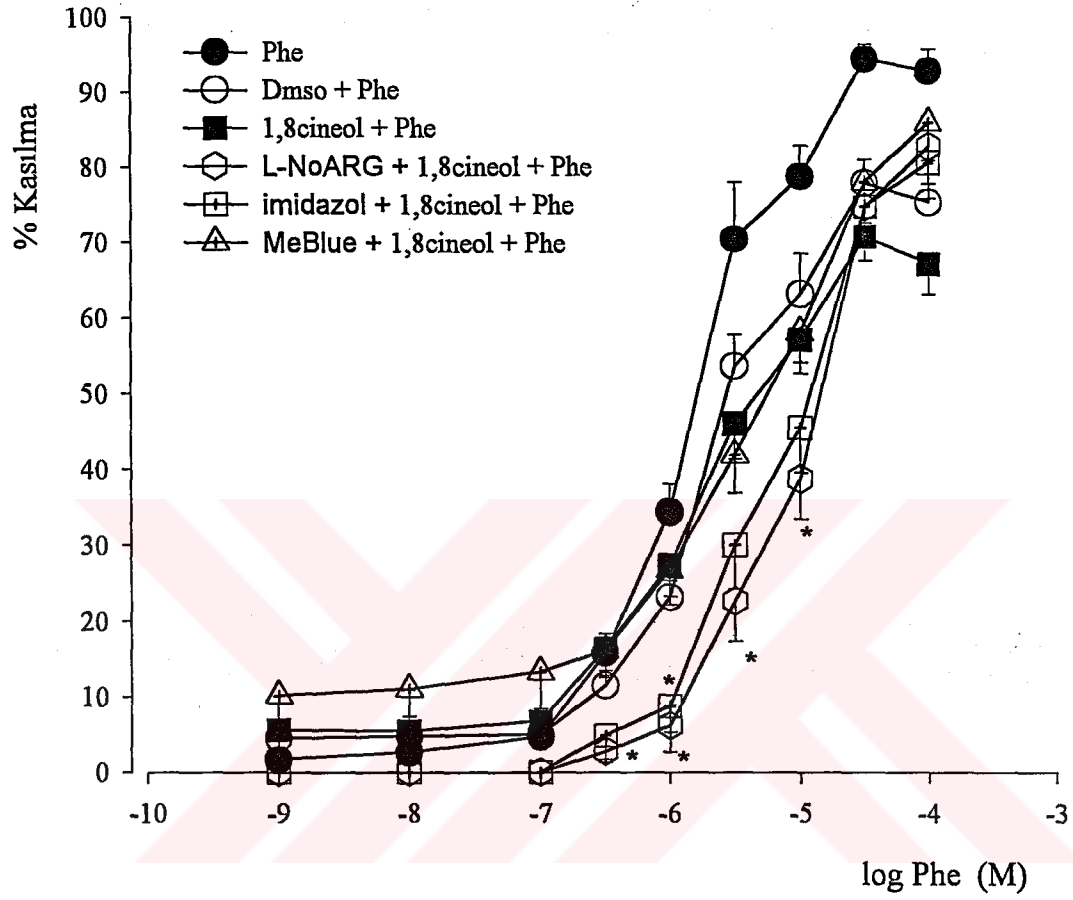
Şekil 3.6. İzole sıçan ileumu üzerinde 1,8-sineol (10<sup>-4</sup> M) ve 1,4-sineol'un (10<sup>-4</sup> M) asetilkolin (ACh) kasılması üzerine etkisinin karşılaştırmalı olarak gösterilmesi. n=6.



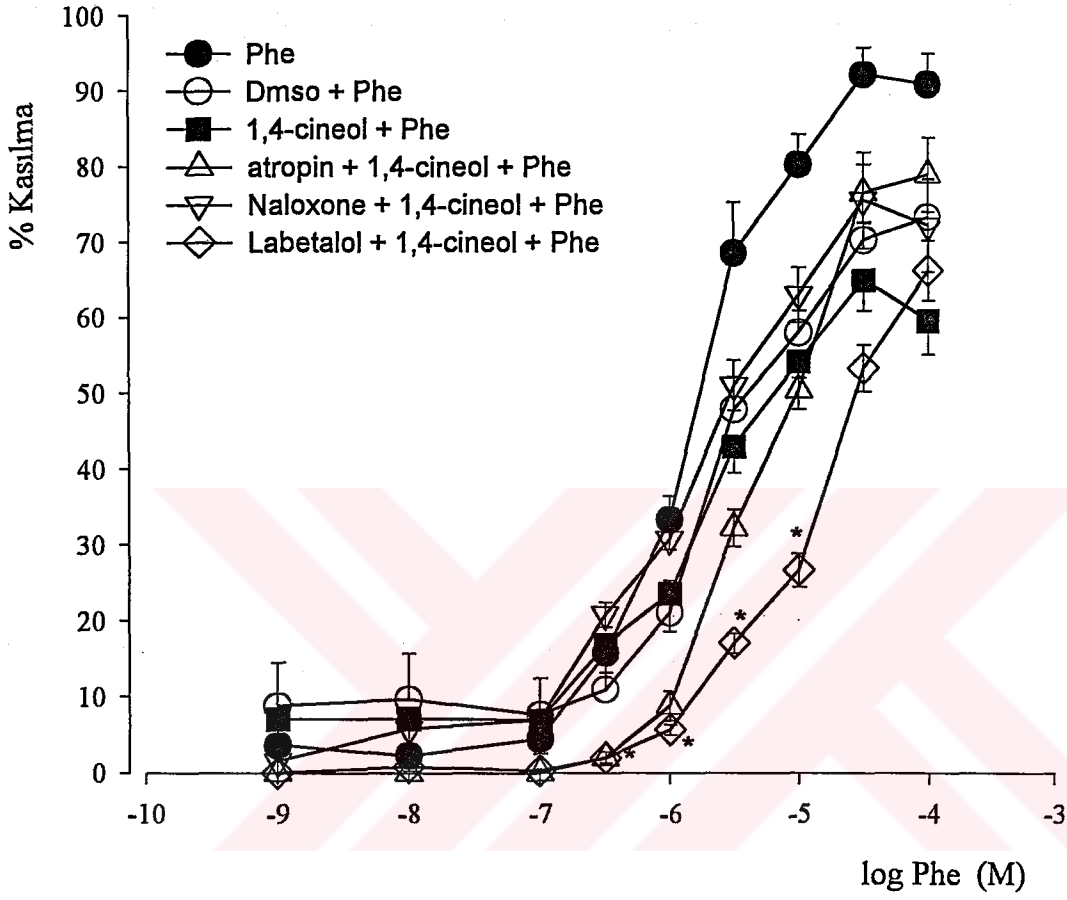
Şekil 3.7. İzole sıçan vas deferensi üzerinde 1,8-sineol ( $10^{-4}$  M) ve 1,4-sineol'un ( $10^{-4}$  M) fenilefrin (Phe) kasılması üzerine etkisi. n=6.



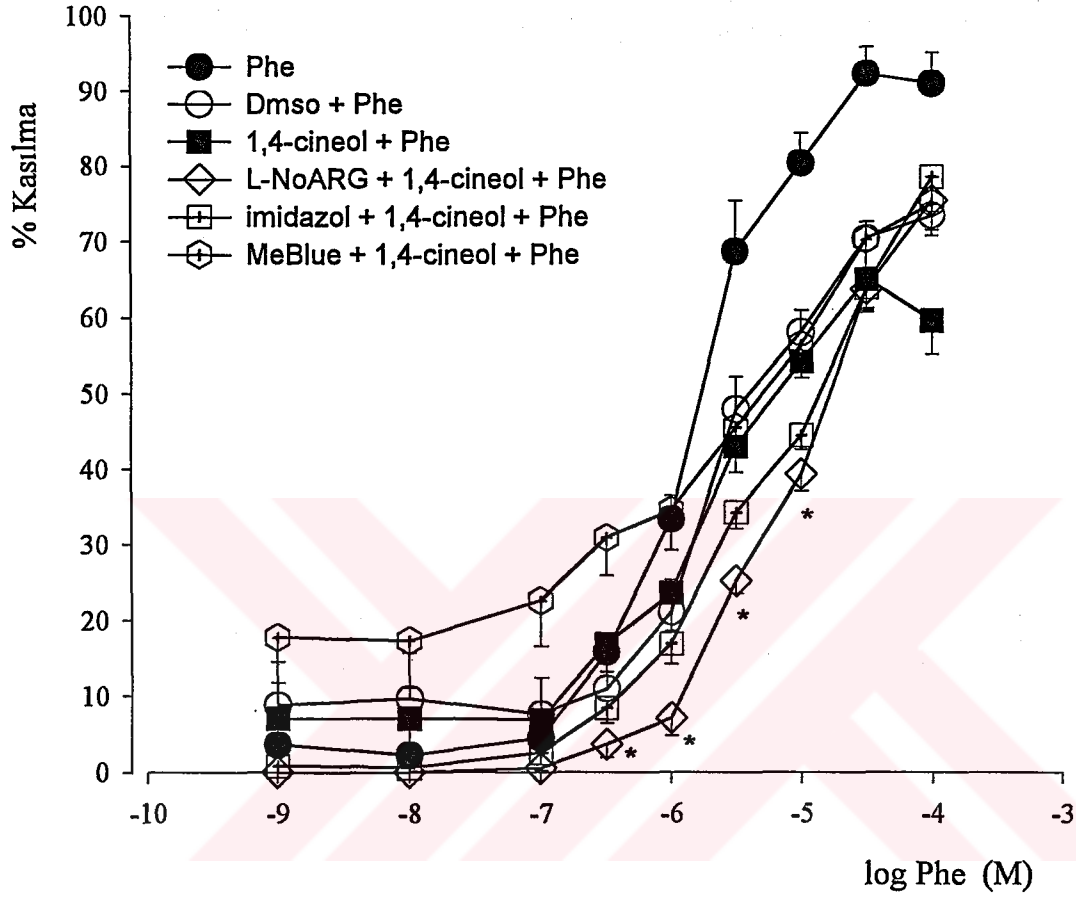
Şekil 3.8. Atropin ( $10^{-5}$  M), nalokson ( $10^{-5}$  M) ve labetalol ( $10^{-5}$  M) varlığında 1,8-sineol'un ( $10^{-4}$  M) izole sıçan vas deferensinde fenilefrin (Phe) kasılması üzerine etkisi (\*)  $p < 0.05$ .  $n=6$ .



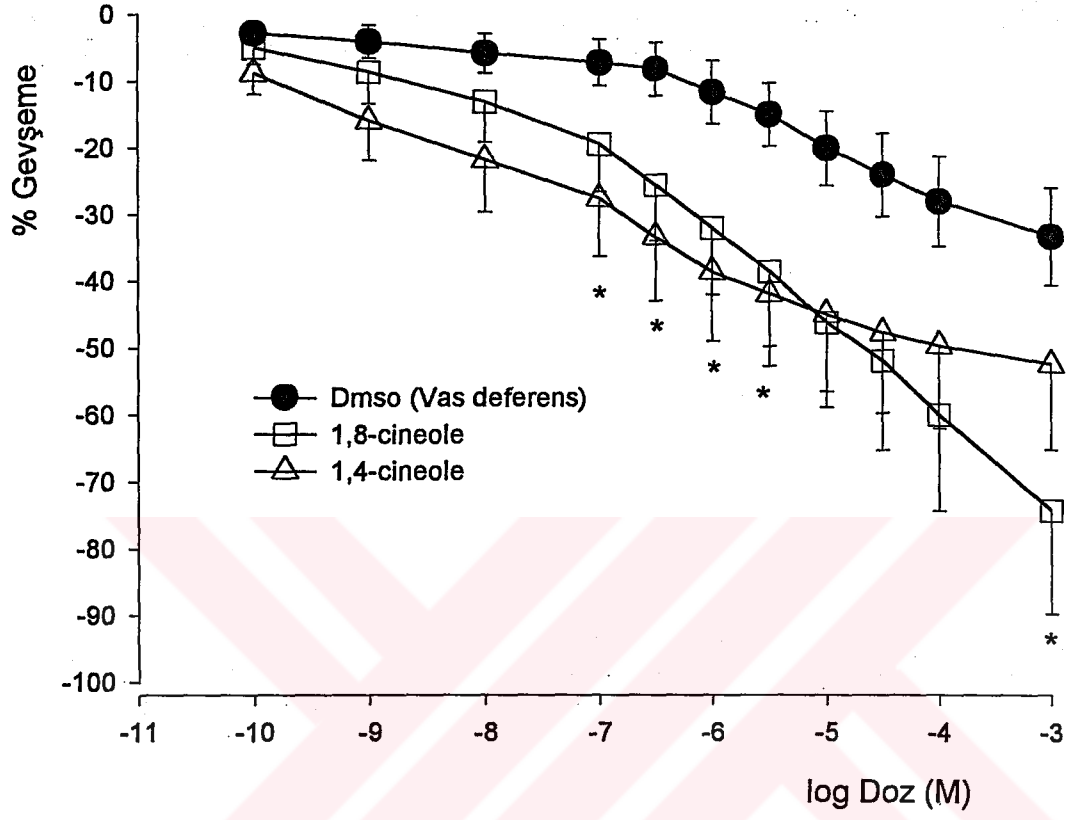
Şekil 3.9. Nitro-L-arjinin ( $10^{-5}$  M), imidazol ( $10^{-5}$  M) ve metilen mavisi ( $10^{-5}$  M) varlığında 1,8-sineol'un ( $10^{-4}$  M) izole sıçan vas deferensinde fenilefrin (Phe) kasılması üzerine etkisi (\*)  $p < 0.05$ . L-NoARG= Nitro-L-arjinin, MeBlue= metilen mavisi. n=6.



Şekil 3.10. Atropin ( $10^{-5}$  M), nalokson ( $10^{-5}$  M) ve labetalol ( $10^{-5}$  M) varlığında 1,4-sineol'un ( $10^{-4}$  M) izole sıçan vas deferensinde fenilefrin (Phe) kasılması üzerine etkisi (\*)  $p < 0.05$ .  $n=6$ .

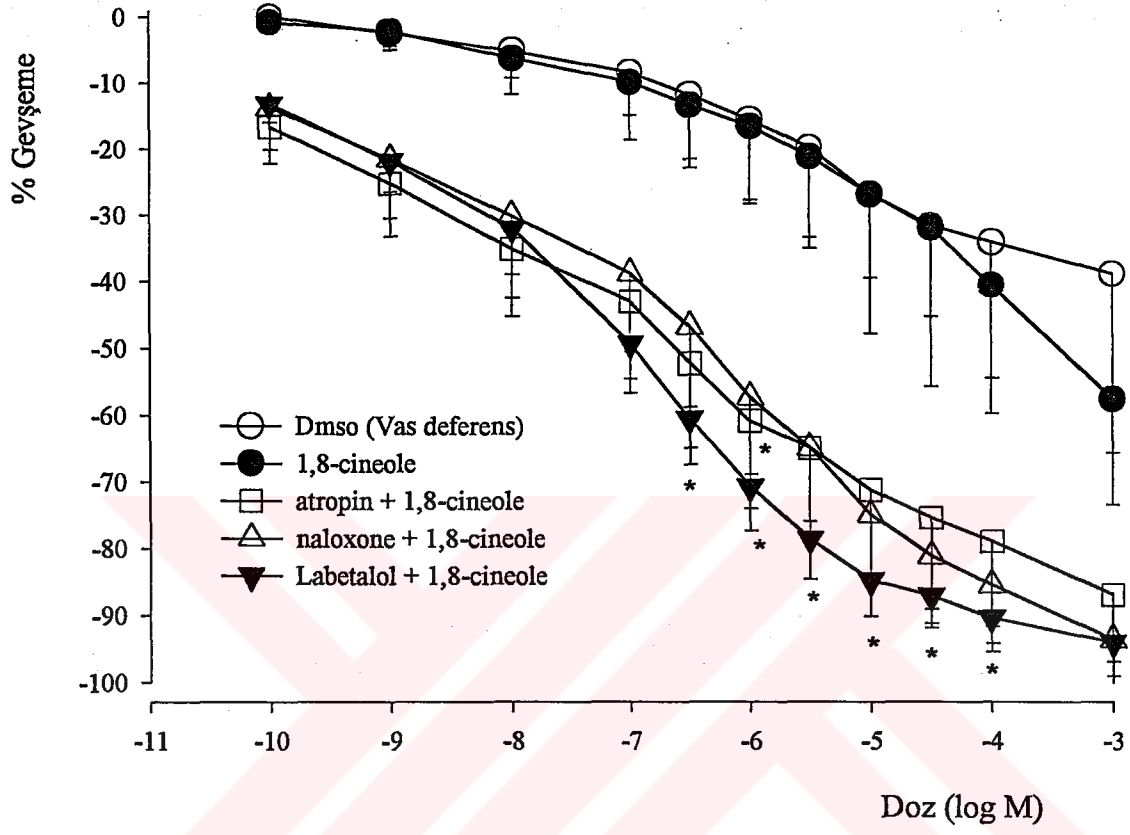


Şekil 3.11. Nitro-L-arjinin ( $10^{-5}$  M), imidazol ( $10^{-5}$  M) ve metilen mavisi ( $10^{-5}$  M) varlığında 1,4-sineol'un ( $10^{-4}$  M) izole sıçan vas deferensinde fenilefrin (Phe) kasılması üzerine etkisi (\*)  $p < 0.05$ . L-NoARG= Nitro-L-arjinin, MeBlue= metilen mavisi. n=6.

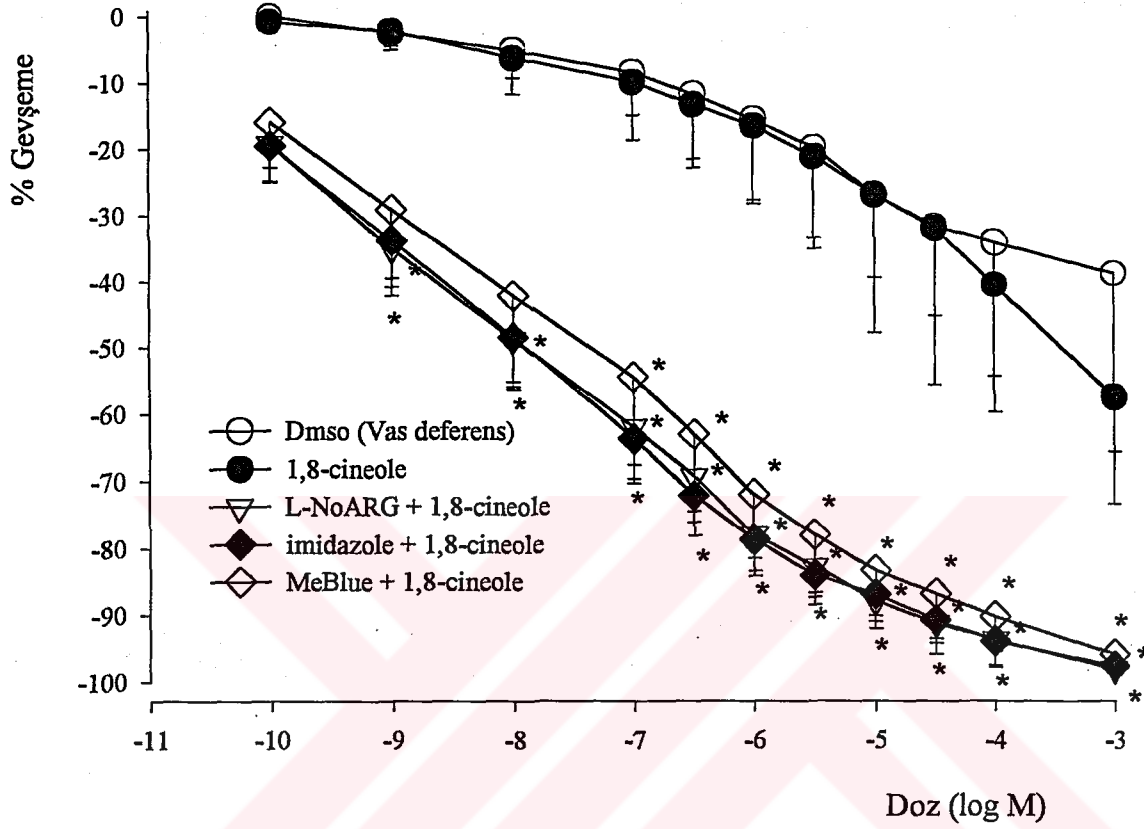


Şekil 3.12. 40 mM Potasyum klorür (KCl) ile prekontrakte izole sıçan vas deferensi üzerinde 1,8-sineol ( $10^{-4}$  M) ve 1,4-sineol'un ( $10^{-4}$  M) gevşetici etkileri. (\*)  $p < 0.05$   $n=11$ .

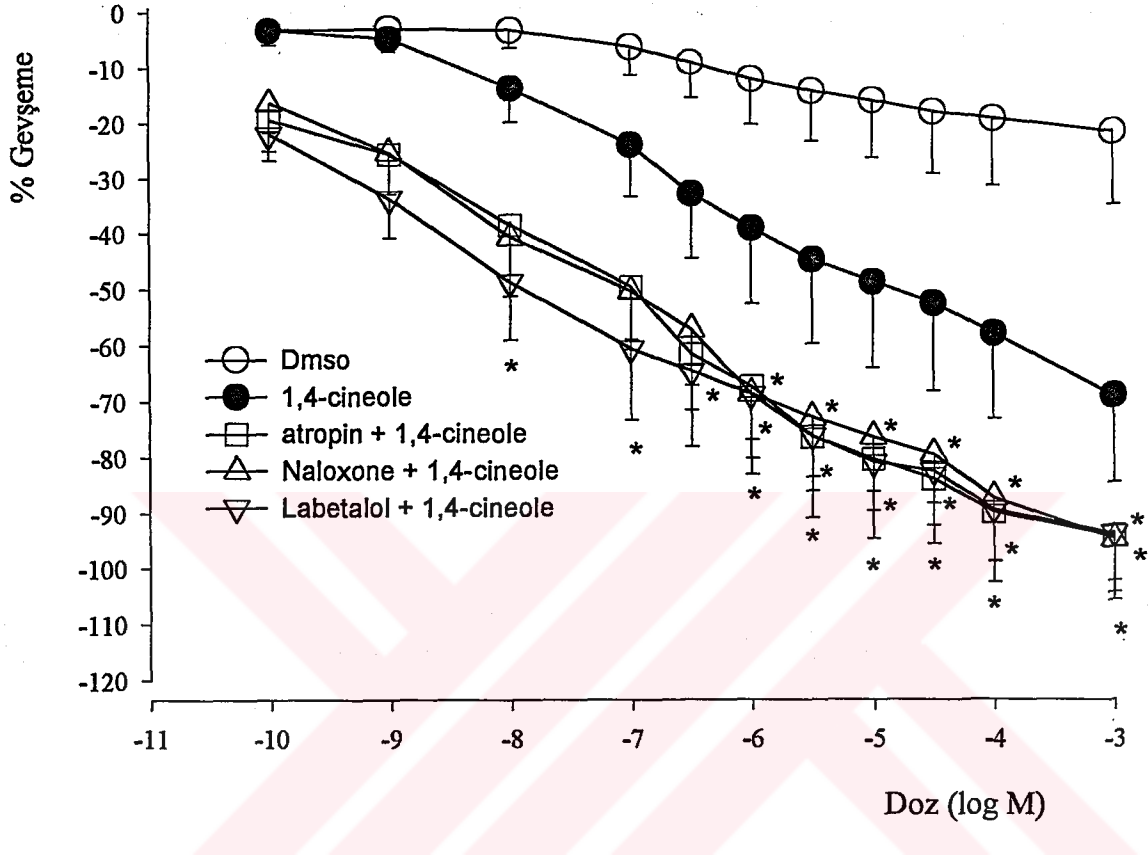




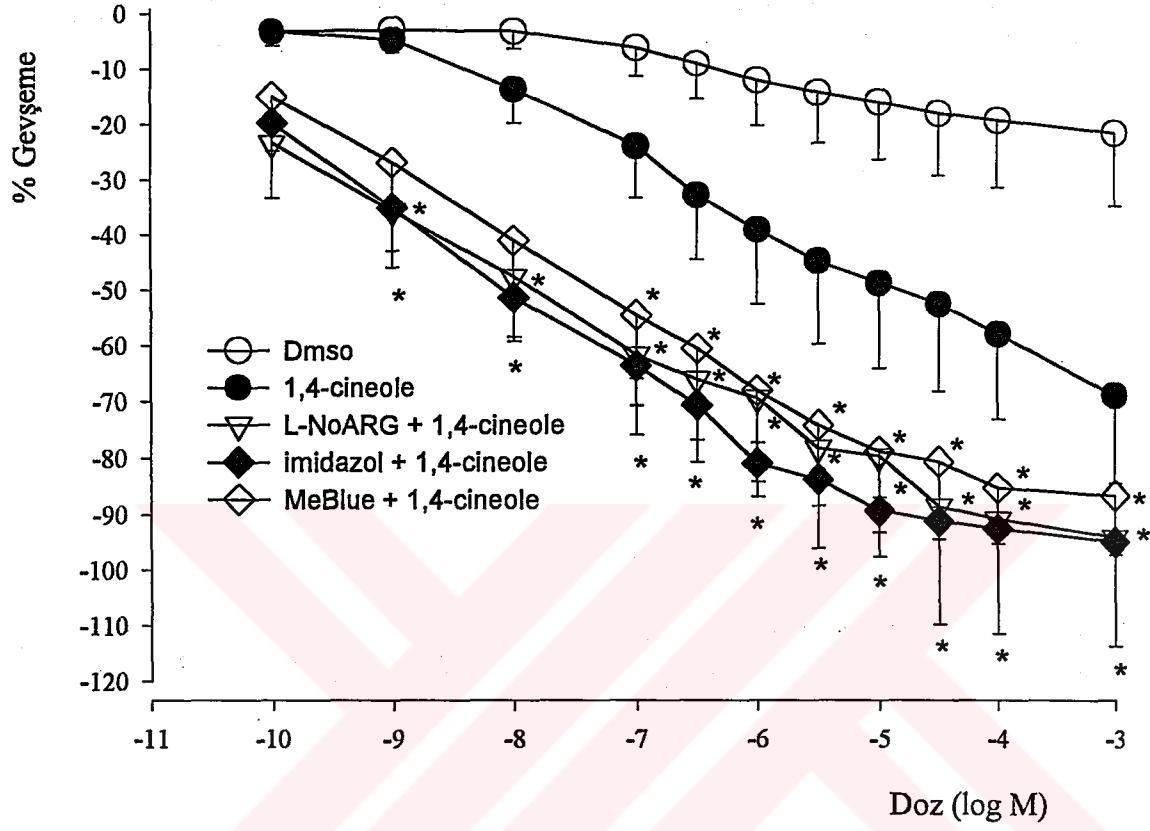
Şekil 3.13. 40 mM Potasyum klorür (KCl) ile prekontrakte izole sıçan vas deferensi üzerinde, atropin ( $10^{-5}$  M), nalokson ( $10^{-5}$  M) ve labetalol ( $10^{-5}$  M) varlığında 1,8-sineol'un ( $10^{-4}$  M) etkisi (\*)  $p < 0.05$ .  $n=6$ .



Şekil 3.14. 40 mM Potasyum klorür (KCl) ile prekontrakte izole sıçan vas deferens üzerinde, Nitro-L-arjinin ( $10^{-5}$  M), imidazol ( $10^{-5}$  M) ve metilen mavisi ( $10^{-5}$  M) varlığında 1,8-sineol'un ( $10^{-4}$  M) etkisi (\*)  $p < 0.05$ . L-NoARG= Nitro-L-arjinin, MeBlue= metilen mavisi.  $n=6$ .



Şekil 3.15. 40 mM Potasyum klorür (KCl) ile prekontrakte izole sıçan vas deferensi üzerinde, atropin ( $10^{-5}$  M), nalokson ( $10^{-5}$  M) ve labetalol ( $10^{-5}$  M) varlığında 1,4-cineol'un ( $10^{-4}$  M) etkisi (\*)  $p < 0.05$ .  $n=6$ .



Şekil 3.16. 40 mM Potasyum klorür (KCl) ile prekontrakte izole sıçan vas deferens üzerinde, Nitro-L-arjinin ( $10^{-5}$  M), imidazol ( $10^{-5}$  M) ve metilen mavisi ( $10^{-5}$  M) varlığında 1,4-sineol'un ( $10^{-4}$  M) etkisi (\*)  $p < 0.05$ . L-NoARG= Nitro-L-arjinin, MeBlue= metilen mavisi. n=6.

#### 4. TARTIŞMA

Oksijenli monoterpen olan 1,8-sineol'un çeşitli farmakolojik etkileri bildirilmiştir. Bu etkiler arasında antibakteriyel (Giamakis et al., 2001), antifungal (Kabemba et al., 2002), antikolinesteraz (Perry et al., 2001), antimutajenik (Shamon et al., 1994), koleretik (Bell et al., 1981), sitokrom p450 enzim indüeyici ve testosteron hidroksilasyonunu stimule edici (Hiroi et al., 1995), arachidonic asid salıverilmesini inhibe edici (Juergens, 1994), dermatit yapıcı (De Groot ve Weyland, 1992), böcek kaçırcı (insect repellent) (Bowers, 1993), mast hücre degranüle edici (Santos ve Rao, 1998), sekretolitik (Dorow et al., 1987) ileumda (Taylor et al., 1985) ve duodenumda spazmolitik etkili (Zarzuelo et al., 1987) trankilizan (Goebel, 1996) ve santral etki (Aydın et al., 1998) sayılabilir. Sitotoksik (Ruch ve Sigler, 1994) ve antitusif (Laude et al., 1994) etkisinin bulunmadığı bildirilmiş, öte yandan hem insanlarda dışmacunu kullanımına bağlı astma nedeni olarak (Subiza et al., 1992) hem de astmalı insan deneklerinde antiinflamatuvar etkisi rapor edilmiştir (Juergens et al., 2003).

Toksisitesi oldukça düşük olan 1,8-sineol'un toksisite değerlerinin yanısıra. (LD50: 2.5 g/kg rat, 50 mg/kg fare (Duke 1977) allerjen (Subiza et al., 1992) ve enflamatuvar (Santos ve Rao, 1998) etkisileri bildirilmiştir. Sineol'un bazı etkilerine ilişkin çelişkili raporlar özellikle dikkati çekmektedir. Bunlar arasında antiinflamatuvar etkisinin olduğunu (Juergens et al. 2003) ve olmadığını (Ocete et al., 1989), antitumor etkisinin varlığını (Shamon et al., 1994) ve yokluğunu (Russin, et al., 1989) ve düz kaslar üzerindeki spazmolitik ve spazmojenik etkilerini bildiren çalışmalar dikkati çekmektedir (Zarzuelo et al., 1987, Taylor et al., 1985).

1,4-sineol hakkında santral etkileri (Aydın ve Beis, 2001) dışında herhangi bir deneysel farmakolojik çalışmaya rastlanmamıştır.

Doğada var olduğu uzun zamandır varlığı bilinen (çizelge 1.1) ve çeşitli farmasötik preparatlarda bulunan bir madde olan 1,8-sineol ile doğada çok daha az bulunan (çizelge 1.2) ve henüz üzerinde yeterince farmakolojik çalışma yapılmamış olan 1,4-sineol üzerinde bu tez konusu çerçevesinde yapılan çalışmalarda her iki test maddesinin izole sıçan fundusu (Şekil 3.1 – 3.3) ve izole

sıçan ileumu üzerinde etkili olmadıkları (Şekil 3.4 – 3.6), fakat test edilen düz kaslar arasında sadece vas deferens üzerinde etkili oldukları görülmüştür. Gastrointestinal düz kasları üzerinde etkili olmamasına rağmen, gastrik harabiyeti önleyici (Santos ve Rao, 2001) ve endotoksemik şokta karaciğer harabiyetini önleyici etkisi bildirilmiştir (Santos et al., 2001). Dolayısıyla 1,8-sineol'un gastrointestinal düz kaslardan daha çok gastrointestinal organların parenkimal dokusunda önemli rol oynadığı düşünülebilir. Nitekim, 1,8-sineol metabolize eden spesifik sitokrom p450 enzimleriyle etkileştiği bilinmektedir (Pass et al., 2001).

İzole sıçan vas deferens üzerinde adrenerjik agonist olan fenilefrin ile oluşturulan kasılmalar üzerinde test edilen her iki maddenin herhangi bir etkilerinin bulunmadığı (Şekil 3.7), muskarinik reseptör antagonisti olan atropin, opioid reseptör antagonisti olan nalokson varlığında her iki test maddesinin herhangi bir etki yapmadığı görülmüştür (Şekil 3.8). Dolayısıyla adrenerjik reseptör aracılığıyla oluşturulan kasılmalar üzerinde 1,8- ve 1,4-sineol'un herhangi bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır (Şekil 3.7 – 3.11).

KCl ile prekontrakte izole sıçan vas deferens üzerinde 1,8-sineol ve 1,4-sineol'un inhibisyon yaptıkları görülmüştür (Şekil 3.12). Bilindiği gibi, KCl ile depolarizasyona bağlı membrandaki iyon kanalları açılması ile intraselüler serbest kalsiyum iyonlarının artışı üzerinden kasılma gerçekleşmektedir (Sanders ve Ozaki, 1994). Dolayısıyla, 1,8- ve 1,4-sineol'un iyon kanalları üzerinden etkili olarak düz kas gevşemesine yol açtıkları anlaşılmıştır. Ancak, bu maddelerin düz kas gevşetici etkilerinin fundus ve ileum üzerinde değil, sadece vas deferense spesifik olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.1–3.6, 3.12). 1,8-sineol'un sadece  $10^{-3}$  M dozunda etkili iken, 1,4-sineol'un  $10^{-7}$ ,  $5 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $5 \times 10^{-6}$  M dozlarında inhibisyon yapmış olması nedeni ile, 1,4-sineol'un 1,8-sineol'den farmakolojik etki açısından oldukça farklı olduğu anlaşılmıştır (Şekil 3.12).

Fundus ve ileum gibi gastrointestinal düz kaslarda da iyon kanallarının var olduğu bilinmektedir (Tomita ve Iino, 1994). Vas deferense özgü bu spesifik etkinin neden ileri geldiğine dair açıklayıcı herhangi bir bilgi, bu çalışma çerçevesinde elde edilen deneysel veriler ışığında bulunmamaktadır. Böyle bir

spesifik etkinin önceden tarafımızdan öngörülmemiş olması ve şimdiye kadar rapor edilmemiş yeni bir bulgu olması nedeniyle bu spesifik etki, daha sonra yapılacak yeni bilimsel araştırmaların konusu olmaya adaydır. Öte yandan, 1,8-sineol'un olfaktor epiteli hücreleri üzerindeki etkisinin amilorid ile bloke edildiğinin rapor edilmiş olması (Frings ve Lindemann, 1988), sineol'un vas deferens üzerindeki etki mekanizmasına ilişkin düşüncemizi desteklemektedir.

Öte yandan, vas deferens, opioid reseptörler için bir biyoessey organı olması (Kayaalp, 2001; Ward et al., 1982; Lord et al., 1977) nedeniyle, bu maddelerin özellikle opioid reseptörlerle etkili olduklarını öngörmek mümkündür ve test edilen maddelerin bu açıdan etkilerinin detaylı olarak araştırılması gerekmektedir. Nitekim, daha önce yapılan çalışmalarda 1,8-sineolun opioid agonisti olabileceği ileri sürülmüş (Aydın et. al, 1998), lateral hipotalamus üzerinde etkisi olabileceği ileri sürülmüş (Kogure ve Onoda, 1983), 1,4-sineol'un ise ilk kez santral etkisi çalışılarak analjezik etkisi gösterilmiştir (Aydın et. al., 2001). Beklenen sonuçların aksine, ne 1,8-, ne de 1,4-sineol etkisi üzerinde, opioid reseptör antagonisti olan nalokson varlığında herhangi bir antagonistik etki görülmemiş olması (Şekil 3.8, 3.10, 3.13,, 3.15), bu maddelerin periferik reseptörler üzerinde herhangi bir etkilerinin olmadığını düşündürmektedir.

KCl ile prekontrakte vas deferens üzerinde 1,8-sineol, labetalol varlığında daha fazla inhibitör etki göstermiş olması (Şekil 3.13) fakat fenilefrin kasılmalarında etkisiz olması, 1,8-sineol ile adrenerjik reseptörlerin doğrudan bir etkileşme içinde olmadığını fakat dolaylı bir etkileşme içinde olduğunu düşündürmektedir. İmidazol, L-NoARG ve metilen mavisi varlığında 1,8-sineol'un inhibitör etkisinin artmış olması, 1,8-sineol'un etki mekanizmasında nitrerjik yolak dahil olmak üzere, birden fazla mekanizmanın rol oynadığını düşündürmektedir. KCl ile prekontrakte vas deferens üzerinde, imidazol, L-NoARG ve metilen mavisi ile benzer şekilde etkileşmenin 1,4-sineol varlığında da olduğu görülmektedir. Test edilen her iki madde bu açıdan benzer özellikler göstermiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızda test edilen 1,8- ve 1,4-sineol'un, test edilen dozlarda gastrointestinal düz kaslar üzerinde etkisiz olduğu anlaşılmış, izole sıçan

vas deferens üzerinde inhibitör etkili olduğu ilk kez tarafımızdan bu çalışmada gösterilmiş bulunmaktadır. Bu etkinin kolinerjik muskarinik ve adrenerjik sistemle doğrudan ilişkili olmadığı, iyon kanalları ve intraselüler iyonik mekanizmalar üzerinden olduğu düşünülmektedir. Gözlenen bu etkiler açısından 1,4-sineol'un, sadece 10<sup>-3</sup> M dozda etkili olan 1,8-sineolden daha fazla inhibisyona yol açtığı bu çalışmada gösterilmiş bulunmaktadır. Nitrerjik sistem üzerinden inhibe olduğu bilinen fundus (Mule ve Serio, 2003) üzerinde etkili olmayan, fakat nitrik oksid sentezleyen enzimlerin varlığının gösterilmiş olduğu vas deferens üzerinde gevşetici etkileri tarafımızdan gösterilmiş olan 1,8- ve 1,4-sineol vas deferens üzerindeki etki mekanizması hakkında yeni çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.





## 5. KAYNAKLAR

- Arıncı, K., Elhan, A.: *Anatomi*. 1.cilt, Güneş Kitabevi, Ankara 1995.
- Alkathalan, H. Z., Al-Zoman, M.M., Basha, R.M., Mousa, A.A., Al. Hazimi, H.M.G.: Essential oils of some Saudi Pulicaria and Artemisia species. *Orient J. Chem.* **74**: 204-209 (1991).
- Asakawa, Y, Toyota, M, Ishida, T.: Biotransformation of 1,4-cineole, amono terpene ether. *Xenobiotica* **18**: 1129-1134 (1988).
- Austerweil, G.: An isomer of cineole (1,4-cineole), *Bull. Soc. Chim.*, **45**, 862-869 (1929).  
Chem. Abstr. **24**: 2453<sup>7</sup> (1930).
- Aydin, S, Demir, T, Öztürk, Y.: Analgesic effects of nepeta italica l., evidence for a new opioid compound, 1,8-cineol. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, **358** (1): p35217 suppl. 1 1998.
- Aydin, S., Beis, R.: Naloxone sensitive analgesic activity of 1,4-cineole. XIVth World Congress of Pharmacology, July 7-12 2002, San Francisco, California USA
- Baser, K. H. C., Öztürk, N.: Composition of the essential oil of Dorystoechas Hastata, A. Monotypic Endemic from Turkey. *J. Essent Oil Res.* **44**: 369-374 (1992).
- Bayrak, A., Akgül, A.: Composition of essential oils from Turkish Salvia species. *Phytochemistry* **263**: 846-847 (1987).
- Bell, G. D., Clegg, R. J., Cohn, M. R., Duggleby, J. E., Ellis, W. R., Mac Donald, I. A., Middleton, B., White, D. A.: Terpene therapy for gallstones. effects of individual monoterpenes on bile flow, bile composition and hepatic cholesterogenesis in the rat. *Brit J Pharmacol* **721**:104-106 (1981)
- Blumenthal, M., Goldberg, A., Brinckmann, J.: *Herbal Medicine*, s.118-124, European Comission, 2000.
- Boelens, M.H., Jimenez, R.: The chemical composition of Spanish Myrtle oils. part. Ii. *J. Essent Oil Res* **43**: 349-353 (1992).
- Bowers, W. S., Ortego, F., You, X. Q., Evans, P. H.: Insect repellents from the chinese prickly ash zanthoxylum bungeanum. *J. Nat. Prod.*, **566**:935-938 (1993)
- Buchbauer, G., Jirovetz, L., Wasicky, M., Nikiforov, A.: Volatiles of common horsechestnut (Aesculus hippocastanum L.) Hippocastanaceae blossoms. *J. Essent. Oil Res.*, **61**: 93-95 (1994).

- Burger, M. A.: Two new essential oils, *Riechstoffind*, 4, 121 (1929). *Chem. Abstr.* 24: 687<sup>7</sup> (1930).
- Burnstock, G.: Cholinergic, adrenergic, and purinergic neuromuscular transmission. *Fed. Proc.*, 36: 2434-2438, (1977).
- Chamblee, T. S., Clark J. R., B. C., Radford, T., Iacobucci, G. A.: General method for the high-performance liquid chromatographic prefractionation of essential oils and Flavor mixtures for gas chromatographic-MASS spectrometric analysis. *J Chromatogr.* 3301: 141-151 (1985).
- Chapra, M. M., Harda. K. L.: The essential oil of the fruit rinds of *Michelia cham Paca*. *Perfumery Essential oil Record* 12, 817-19 (1963). *Chem. Abstr.* 60: 5271c (1963).
- Dassler, H. G., Dube., G.: The action of terpene oxides on different of insects. *Anz. Schadlingskunde.* 30: 86-8 (1957). *Chem. Abstr.* 51: 15873i (1957).
- De Groot, A. C., Weyland, J. W.: Systemic contact dermatitis from tea tree oil. *Contact Dermatitis* 274:279-280 (1992)
- Della-Porta, F., Reverchon, G. E.: Constituents of *Vitex Agnus-Castus* L. essential oil. *Senatore, Flav. Fragr. J.*, 113: 179-182 (1996).
- Dorow, P., Weiss, T., Felix, R., Schmutzler, H.: Effect of a secretolytic and a combination of piene. limonene and cincole on mucociliary clearance in patients with chronic pulmonary obstruction. *Arzneim-Forsch.*, 37: 1378-1381 (1987).
- Farhat, G. N., Affara, N. I., Gali Muhtasib, H. U.: Seasonal changes in the composition of te essential oil extract of east Mediterranean sage (*Salvia Libanotica*) and its toxicity in mice. *Toxicon* 39: 1601-1605 (2001).
- Fleisher, A., Fleisher, Z.: The essential oils from *Mentha longifolia* growing in Sinai and Israel.. *J. Essent. Oil Res.*, 31: 57-58 (1991).
- Frings, S., Lindemann, B.: Odorant response of isolated olfactory receptor cells is blocked by amiloride. *J. Membr. Biol.*, 105: 233-243, (1988).
- Gabella, G.: *Structure of smooth muscle*. In: Szekeres, L., Papp, J. Gy. (Eds.), *Pharmacology of smooth muscle*. Springer Verlag, Berlin (1994).
- Ganong, W. F.: *Tıbbi Fizyoloji. Çeviri Türk Fizyolojik Bilimleri Derneği Ankara* 17. Baskı. Barış Kitapevi. s. 12, 42-46, 84, 67-87 (1995).
- Gao, S., Singh, J.: In vitro percutaneous absorption enhancement of a lipophilic drug tamoxifen by terpens. *J. Cont. Realese* 51: 193-199 (1988).

- Garraffo, H. M., Pannell, L. K.: The essential oil of the leaves of *Callistemon rigidus*. *J. Essent Oil. Res.* **36**: 465-466 (1991).
- Giamakis, A., Kretsi, O., Chinov, I., Spyropoulos, G. C.: Eucalyptus camaldulensis: volatiles from immature flowers and high production of 1,8-cineole and  $\beta$ -pinene by invitro cultures, *Phytochemistry*, **58**: 351-355 (2001).
- Giovanni P.: A study of the principles which can be extracted from plants used for perfumery and from medicinal plants of Sicily. *Ann. Chim. Applicata*, **13** 97-147, 1923 [*Chem. Abstr.*, **18**: 147<sup>7</sup>, 1924].
- Goebel, H. J.: Essential oils for enhancement of mental efficiency. Patent-Ger Offen-4,447,336:4pp-. (1996).
- Goldstein, P. T.: Separating 1,4-cineoles from 1,8-cineoles. *Chem. Abstr.* **97**: 216517<sub>z</sub> (1982).
- Gomes-Carneiro, M. R., Felzenszwalb, I., Paumgarten, F. J. R. Mutagenicity testing of  $\pm$ -Camphor, 1,8-cineole, citral, citronellal, (-)-menthol and terpinol with the salmonella/microsome assay. *Mutation Res.*, **416**: 129-136 (1998).
- Gora, J., Kalembe, D.: Chemical composition of essential oil from *Mentha spicata*, *Herba Pol.* **54**, 269-75 (1979). *Chem. Abstr.* **92**: 211831j (1980).
- Graciela, M., Griselda, A., Santi, M., Noemi, R., Juan, A.: The essential oil of *Matricaria chamomilla* L. (Chamomile). *Essenze Deriv Agrum.*, **551**: 52-61 (1985).. *Chem. Abstr.* **105**: 84920x (1985).
- Güvenalp, Z., Cakir, A., Harmandar, M., Gleispach, H.: The essential oils of *Artemisia austriaca* Jacq. and *Artemisia speiigera* C. Koch. from Turkey. *Flav. Fragr. J.*, **131**: 26-28 (1998). *Chem. Abstr.* **128**: 274932a (1998).
- Guyton, A. C.: Tibbi Fizyoloji , 9<sup>ed</sup> ,Türkçe çeviri editoru.Cavusoglu,H, Nobel Tip Kitabevleri.s 67-78, 87-93.1996.
- Hämäläinen, J.: The fate of cineole in the organism. *Helsingfors. Skand. Arch. Physiol.*, **24**:1-12, 1910 [*Chem. Abstr.*, **5**:1792<sup>8</sup>, 1910].
- Hiroi, T., Miyazaki, Y., Kobayashi, Y., Imaoka, S., Funae, Y.: Induction of hepatic p450s in rat by essential wood and leaf oils. *Xenobiotica*, **255**:457-467 (1995).
- Hoerster, H., Csedo, C., Racz, G.: Gas-Chromatographic analysis of the volatile oil from Juniper leaves (*Juniperus communis*) Harvested in Romania. *Rev Med.*, **20**: 79 (1974). *Chem. Abstr.* **82**: 21701n (1974).

- Huovinen, K. S.: Finnish Pine oil Juvonen, *Farm. Aikak.* 81: 80-84 (1972).
- Ichiro, S.: Gelatinous pyrethroid insecticide formulation. (Nippon Ekisho K. K.). Jpn. *Kokai Tokyo koho JP* 61, 243, 007 [86, 243, 007] (1986). *Chem. Abstr.* 106: 191223g (1987).
- Iraj, R.: Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of thymus x-parlock and zataria multiflora. *Life and Medical sciences online [Online computer file]*. 1(2000). *Chem. Abstr.* 136: 205/476 (2002).
- Ji, L., Xu, Z., Pan, J. G., Yang, J.: GC-MS Analysis of constituent of essential oils from stems of Ephedra sinica. E. intermedia, and E. equisetina. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 228: 489-492 (1997). *Chem. Abstr.* 128: 306187e (1997).
- Johnson, H. E., Separation of cineoles from hydrocarbons by azeotropic distillation with phenols. 2, 459-432 (1949). *Chem. Abstr.* 43: 2476, (1949).
- Juergens, U. R., Dethlefsen, U., Steinkamp, G., Gillissen, A., Reppes, R., Vetter, H.: Antiinflammatory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respirat. Med.*, 97: 250-256, 2003.
- Juergens, U. R.: Essential oils as inhibitors of arachidonic acid release in treatment of inflammatory diseases. Patent-Ger Offen-4,319,554 (1994).
- Kabemba, D., Kusewicz, D., Swiader, K.: Antimicrobial properties of the essential of Artemisia asiatica Nakai. *Phytother. Res.*, 16: 288-291 (2002).
- Kato, R.: Constituents of the volatile oil from the leaf of Litsea cubeba. *Ind Chem. Sect.* 54: 465-6 (1951). *Chem. Abstr* 47: 5637j (1953).
- Kayaalp, S. O.: Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji. 2.cilt, 9.baskı, Hacettepe-TAŞ, Ankara, 2000.
- Kayaalp, S. O.: *Düz kas fizyolojisi ve farmakolojide kullanılan ölçüm yöntemleri II*. Türk Farmakoloji Derneği Sempozyumları Dizisi. s. 5-22, Ankara, 1993.
- Kogure, S., Onoda, N.: Response characteristics of lateral hypothalamic neurons to odors in unanesthetized rabbits. *J. Neurophysiol.*, 50 :609-617, (1983).
- Koumaglo, H. K., Dotse, K., Glitho, I. A., Garneau, F. X., Moudachirou, M., Addae-Mensah, I.: Essential oils of Cymbopogon schoenanthus and Lippia multiflora from Togo. *Riv. Ital. Essenze Parfumi Piante Offic Aromi Saponi Cosmet.* (1996). 7: 680-691 (1996). *Cem. Abstr.* 125: 67148x (1996).

- Krauss, G.: Biochemistry of signal transduction and regulation. 2<sup>nd</sup> Ed. S. 226-282, Wiley-VCH, Weinheim, 2001.
- Krebs, H. A., Henseleit, K.: Untersuchungen über die Harnstoffbindung im Tierkörper. *Z. Physiol. Chem.* **210**: 33-66 (1932).
- Kwang-Geun, L., Takayuki, S.: Antiaoxidant activities of volatile componenets isolated from Eucalyptus species. *J. Sci. Food Agr.*, **81**: 1573-1579 (2001). *Chem. Abstr.* **136**: 189178e (2002).
- Laude, E. A., Morice, A. H., Grattan, T. J.: The antitussive effects of menthol, camphor and cineole in conscious guinea pigs. *Pulm. Pharmacol.*, **73**: 179-184, (1994).
- Linn. Rao, B. S., Shintre, V. P., Simonsen, J. L.: The constituents of some Indian essential oils. Part XXIII. The essential oil from the fruits of Piper cubeba. *J. Soc. Chem. Ind.*, **47**: 92t-94t (1928).
- Liu, W. G., Goswami, A., Steffek, R. P., Chapman, R. L., Sariaslani, F. S., Steffens, J. J., Rosazza, J. P.N.: Stereochemistry of microbiological hydroxylations of 1,4-cineole. *J. Org. Chem.*, **53**: 5700-5704 (1988).
- Lombard, R.: Raman Spectra of several terpene oxides. *Bull. Soc. Chim. France*, 522-526 (1947). *Chem. Abstr.* **42**: 460<sup>a</sup> (1947).
- Lopez, G., Morales, R., Figueiredo, A. G., Barroso, J. G., Pedro, L. G., Pais, M.: The essential oil of two endemic Portuguese Thyme species: *Thymus capitellatus* Hoffmanns & Link and *T. lotocephalus*. *Flav. Fragr. J.*, **81**: 53-57 (1993). *Chem. Abstr.* **118**: 240444w (1993).
- Lord, J. A. H., Waterfield, A. A., Hughes, J., Kosterlitz, H. W.: Endogenous opioid peptides: multiple agonists and receptors. *Nature*, **267**: 495-499, 1977.
- Macchioni, F., Cioni, P. L., Flamini, G., Morelli, I., Perrucci, S., Franceschi, Macchioni, G., Ceccarini, L.: Acaricidal activity of Pine essential oils and their main components against *Tyrophagus putrescentiae*, a stored Food Mite. *J. Agr. Food Chem.*, **50**: 4586-4588 (2002).
- Manez, S., Jimenez, A., Villar, A.: Volatiles of *Sideritis mugronensis* flower and leaf. *J. Essent. Oil. Res.*, **35**: 395-397 (1991).
- Masato, N., Fujihara, Y.: The decomposition reaction of cineoles with acids in the presence of synthetic zeolites. *Nippon kagaku kaishi*, **2**: 217-219 (1986). *Chem. Abstr.* **106**: 33329<sub>z</sub> (1987).

- Masato, N., Yashihito, F.: Studies on the thermolysis of terpenes in mixed fused salts. IV. On the products in thermolysis of 1,8-terpin and derivatives by use of mixed fused salts. *Yukagaku* 32: 444-6 (1983). *Chem. Abstr.* 100: 6861m (1984).
- Mathela, C. S., Kharkwal, H., Laurent, R.: Investigations on Himalayan Nepeta species. VI. Essential Oil Of Nepeta discolor Benth. *J. Essent. Oil Res.*, 65: 519-521 (1994).
- Mirand, M., Perez, Z. J., Henriques, R. D., Study on the main components of 19 Eucalyptus species acclimatized in Cuba, *Rev. Cubana Farm.*, 15: 106-114 (1981). *Chem. Abstr.* 96: 40710v (1982).
- Mitsuo, M., Yoshiaki, N., Keiichi, Y., Hiromu, K., *Chem. Express*, 7: 721 -724 (1992). *Chem. Abstr.* 117: 208677t (1992).
- 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: 713-723 (2001).
- Moteki H., Hibasami H., Yamada Y., Katsuzaki H., Imai K. and 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. *Oncology Reports* 9: 757-760 (2000).
- Mourey, A., Canillac, N. Anti-Listeria monocytogenes activity of essential oils components of conifers. *Food Control* 13(4-5): 289-292 (2002). *Chem. Abstr.* 13(13): 182178t (2002).
- Mule, F., Serio, S.: NANC inhibitory neurotransmission in mouse isolated stomach: involvement of nitric oxide, ATP and vasoactive intestinal polypeptide. *Br. J. Pharmacol.*, 140:431-437, (2003).
- Muller, A., Nature of the addition products of cineole with inorganic and organic acids. *Reichstoffind*, 4: 143-144 (1929). *Chem. Abstr.* 24: 687<sup>7</sup> (1930).
- Muller-Riebau, F., Berger, B., Yegen, O.: Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *J. Agr. Food. Chem.* 438: 2262-2266 (1995).
- Murray. R. K., Mayes, P. A., Granner. D. K., Rodwell. V. W.: Harper'in Biyokimyası. s. 788-801, Hacettepe-TAS, Ankara, 1990.
- Nicolette S. L. P., Houghton, P. J., Sampson, J., Theobland, A. E., Hart, S., Lis-Balchin, M., Hoult, J. R. S., Evans, P., Jenner, P., Milligan S., Perry. E. K. In-vitro activity

- of *S. Lavandulaefolia* (spanish sage) relevant to treatment of Alzhemier's disease. *J. Pharm. Pharmacol.*, **53**: 1347-1356 (2001).
- Noyan, A.: Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 10. Baskı. Meteksan A.Ş. s. 122, 125-138, 386, 417, 418 Ankara, 1998.
- Ocete, M. A., Risco, S., Zarzuelo, A., Jimenez, J.: Pharmacological activity of the essential oil of *Bupleurum gibraltarium*: Anti-inflammatory activity and effects on isolated rat uteri. *J. Ethnopharmacol.*, **25**: 305-313, (1989).
- Okamura, T., Yoshida, K., Toda, N.: Suppression by methylene blue of prostaglandin I<sub>2</sub> synthesis in isolated dog renal arteries. *J. Pharmacol. Exper. Ther.*, **254**: 198-203, (1990).
- Opinion of the Scientific Committee on Food on eucalyptol, *SCF/CS/Flavour/20 ADD2 final*, 23 April (2002).
- Öztürk, Y., Düz kasların siklik nükleotidler ile ilişkisi. *Biyokimya dergisi*, **7**: 62-75 (1982).
- Palamand, S. R.: Controlling light stability in malt beverages (*Busch Industrial Products Corp.*) *V. S. US* 4, 389, 421 (1981). *Chem. Abstr.* **99**: 103733g (1983).
- Palamand, S. R.: Controlling light-struck flavor in beverages. (Anheuser-Busch Cos, Inc) *Can CA* 1, 199, 517 (1986). *Chem. Abstr.* **104**: 166924v (1986)
- Parker, C. E.: Determination of eucalyptol in *Eucalyptus* oil. *Pharm. Ztg.*, **52**: 879, (1907) *Chem. Abstr.*, 2:446<sup>2</sup>, 1907.
- Pass, G. J., McLean, S., Stupans, I., Davies, N.: Microsomal metabolism of the terpene 1,8-cineole in the common brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*), koala (*Phascolarctos cinereus*), rat and human. *Xenobiotica*, **31**: 205-221, (2001).
- Pedro L. G., Santos P. A. G., Dasilva J. A., Figueireda A. C., Barroso J. G., Deans S. G., Looman A., Scheffer J. J. C.: Essential oils from Azorean *Laurus azorica*. *Phytochemistry* **57**: 245-250 (2001).
- Perry, N. B., Brennan M. J., Vanklink J. W., Warwick H., Douglas M. H., McGimpsey J. A., Smallfield B. M., Anderson R. E. Essential oils from new zealand manuka and kanuka, chemotaxonomy of leptospermum. *Phytochemistry*, **44**: 1485-1494 (1997).
- Purvis, J. E., The absorption spectra of some derivatives of phenol and other substances, *J. Chem. Soc.*, **125**, 406-418 (1924). *Chem. Abstr.* **18**: 1434<sup>4</sup> (1924).

- Ramanoelina, P. A. R., Bianchini, J. P., Gaydou, E. M.: Chemical composition of essential oil of *Helichrysum bracteiferum*. *J. Essent Oil Res.* **45**: 531-532 (1992).
- Rao, B. S., Shintre, V. P., Simonsen, J. L.: The constituents of some indian essential oils. Part XXIRI. The essential oil from the fruits of piper cubeba, Linn. *J. Soc. Chem. Ind.*, **47**:92t-94t (1928).
- Remedia. Pharmaceuticals containing terpene-bile acid mixtures for the lysis of cholesterol-containing calculi. *Pharmazeutische Praeparate G. m. b. H Ger. Offen.* DE 3, 723, 940 (1989). *Chem. Abstr.* **111**: 109047g (1989).
- Romagni, J. G., Duke, S. O., Dayan, F. E. Inhibition of plant asparagine synthetase by monoterpene cioneles. *Plant Physiol.* **123**: 725-732 (2000). *Chem. Abstr.* **133**: 160819s (2000).
- Ruch, R. J., Sigler, K.: Growth inhibition of rat liver epithelial tumor cells by monoterpenes does not involve ras plasma membrane association. *Carcinogenesis*, **154**:787-789, (1994).
- Russin, W. A., Hesly, J. D., Elson, C. E., Tanner, M. A., Gould, M. N: Inhibition of rat mammary carcinogenesis by monoterpenoids. *Carcinogenesis*, **1011**: 2161-2164, (1989).
- Rustaiyan, A., Komeilizadeh, H., Shariatpanahi, M. S., Jassbi, A. R., Masoudi, S., Comparative study of the essential oils of three *Achillea* species from Iran. *J. Essent Oil Res.* **102**: 207-209 (1998). *Chem. Abstr.* **128**: 319351d (1998).
- Sanders, K. M., Ozaki, H.: *Excitation-contraction coupling in gastrointestinal smooth muscles*. In: Szekeres, L., Papp, J. Gy. (Eds.), *Pharmacology of smooth muscle*. Springer Verlag, Berlin (1994).
- 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**: 331-337, (2001).
- 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**: 253-258, 1997.
- Santos, F. A., Silva, R. M., Tome, 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**: 505-511, (2001).



- Scott, D. H., Allan R. C., Andre, S., Argy C. G., Dudick M. H.: PCT Int. Appl. Wo 02, 50, 001 (Cl. C07c39/14), 2002, USA ppt. PV256, 787, 2000. *Chem. Abstr.* 137: 52091x (2002).
- Shah, N. C.: Chemical constituents of *Hyssopus officinalis* L.: 'Zufe Yabis'a Unani drug from U. P. Himalaya, India. *Indian Perfum.*, 351: 49-52 (1991). *Chem. Abstr.* 115: 99066d (1991).
- Shamon, L. A., Chen, C., Mehta, R. G., Steele, V., Moon, R. C., Pezzuto, J. M.: A correlative approach for the identification of antimutagens that demonstrate chemopreventive activity. *Anticancer. Res.*, 145: 1775-1778, (1994).
- Skrubis, B. G.: Seven wild aromatic plants growing in Greece and their essential oils. *Flavour Ind.*, 3: 566 (1972).
- Spindler, P., Madsen, C.: Subchronic toxicity study of Peppermint oil in rats. *Toxicol. Lett.* 622/3: 215-220 (1992).
- Staff of Dept. Pharmacology, University of Edinburgh and McLeod, L. J.: Pharmacological experiments on isolated preparations. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1970.
- Subiza, J., Subiza, J. L., Valdivieso, R., Escibano, P. M., Garcia, R., Jerez, M., Subiza, E.: Toothpaste flavor-induced asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 906:1004-1006, (1992).
- Tattje, D. L., Bos, R., Bruins, A. P.: Constituents of essential oil from leaves of *Liquidambar styraciflua*. *Planta Med.* 381: 79-85 (1980).
- Taylor, B. A., Duthie, H. L., Luscombe, D. K.: Mechanism by which peppermint oil exerts its relaxant effect on gastrointestinal smooth muscle. *J. Pharm. Pharmacol.*, 37:104 (1985).
- Tomita, T., Iino, S.: Ionic channels in smooth muscle. In: Szekeres, L., Papp, J. Gy. (Eds.), *Pharmacology of smooth muscle*. Springer Verlag, Berlin (1994).
- Turner, C. E. L., Sohly, M. A., Boeren, E. G.: Constituents of *Cannabis sativa* L. XVII. A review of the natural constituents. *J. Nat. Prod.* 432: 169-234 (1980).
- Vaughn, S. F., Spencer, G. F., Powell, R. G. Inhibition of potato sprouting using volatile monoterpenes U.S. Pat. Appl. US 634, 853 (1991). *Chem. Abstr.* 115: 90986w (1991).

- Vaughn, S. F., Spencer, G. F.: Volatile Monoterpenes Inhibit Potato Tuber Sprouting. *Amer. Potato J.*, **68**: 821-831 (1991).
- Velasco-Negueruela, A., Perez-Alonso, M. J., Buades Rodriguez, A.: Essential Oil Analysis Of *Nepeta Teydea* Webb. & Berth. *Flav. Fragr. J.*, **44**: 197-199 (1989). *Cem. Abstr.* **112**: 185538d (1989).
- Ward, S. J., Portoghese, P. S., Takemori, A. E.: Improved assays for the assessment of [kappa]- and [delta]-properties of opioid ligands. *Eur. J. Pharmacol.*, **85**:163-170, (1982).
- Watanabe, T., Iwadare, T., Yoshigi, H.: Cineole-containing liquid for tissue fixation. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 01,290,602. *Chem. Abstr.* **113**: 20530c (1990).
- Welch, R. C., Johnston, J. C., Hunter, G. L. K.: Volatile Constituents Of The Muscadine Grape (*Vitis Rotundifolia*). *J. Agr. Food Chem.*, **30**:681-684 (1982).
- Westfall, D. P., Stitzel, R. E., Rowe, J. N.: The postjunctional effects and neuroal release of purine compounds in the guinea-pig vas deferens. *Eur. J. Pharmacol.*, **50**:27-38, (1978).
- Westfall, T. D., Westfall, D. P., Pharmacological techniques for the in vitro study of the vas deferens. *J. Pharmacol. Toxicol. Meth.*, **45**: 109-122 (2001).
- Yoshiaki, A., Yukiko, U., Sumiko, T., Hideyuki, I., Tsutomu, H., Takashi, Y., Yasuhide, T.: Constituents and their antioxidative effects in eucalyptus leaf extract used as a naturel food additive . *Food Chem.*, **77**: 47-56 (2002). *Chem. Abstr.* **137**: 62377j (2002).
- Zarzuelo, A., Navarro, C., Crespo, M. E., Ocete, M. A., Jimenez, J., Cabo, J.: Spasmolytic activity of *Thymus membranaceus* essential oil. *Phytother. Res.*, **13**:114-116, (1987).
- Zhang, S. H., Jin, S., Wang, W. Y.: Studies On The Volatile Components Of The Essential Oil From The Leaves Of *Eucalyptus* From Yunnan Province. *Beijing Daxue Xuebao Ziran Kexueban.* **27**: 414-418 (1991). *Chem. Abstr.* **116**: 221303s (1991).