

HYPERICUM PERFORATUM L. ve HYPERICUM CALYGINUM L.
BİTKİLERİNİN SANTRAL SİNİR SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Hülya BERBEROĞLU

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakoloji Ana Bilim Dalında
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman : Prof.Dr. Yusuf ÖZTÜRK

Nisan-1994

4

Uzm.Ecz. Hülya BERBEROĞLU'nun DOKTORA LİSANS tezi olarak hazırladığı "*Hypericum perforatum* L. ve *Hypericum calycinum* L. Bitkilerinin Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkileri" başlıklı bu çalışma jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

03/06/1994

Üye: Prof.Dr. Yusuf ÖZTÜRK

Üye: Prof.Dr. Melih ALTAN

Üye: Doç. Dr. Keuser EROL

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 12.05.1994 gün ve04..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| ŞEKİL ve ÇİZELGELER LİSTESİ | 4 |
| ÖZET | 5 |
| SUMMARY | 6 |
| TEŞEKKÜR | 7 |
| | |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ | 8 |
| | |
| 2. GENEL BİLGİLER | 10 |
| 2.1. Yüzme Testi | 10 |
| 2.1.1. Yüzme Testi Nedir ? | 10 |
| 2.1.2. Yüzme Testini Neler Değiştirir ? | 10 |
| 2.1.3. Yüzme Sürecinin Etkileri | 14 |
| 2.2. "Tail-Flick" Testi | 17 |
| 2.2.1. Bir Aljezi ve Analjezi Testi Olarak "Tail-Flick" | 17 |
| 2.2.2. Aljezi ve Analjezinin Oluşum Mekanizmaları | 18 |
| 2.2.3. "Tail-Flick" Testini Etkileyen Fizyolojik Faktörler | 21 |
| 2.2.4. "Tail-Flick" Testini Etkileyen İlaçlar | 26 |
| 2.3. "Rota-Rod" Testi | 36 |
| 2.3.1. "Rota-Rod" Testinin Tanımı | 36 |
| 2.3.2. "Rota-Rod" Testini Etkileyen Fizyolojik ve Farmakolojik Faktörler | 37 |
| 2.4. Çalışmada Kullanılan Hypericum Türlerine İlişkin Bilgiler | 40 |

İÇİNDEKİLER (devam)

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| 3. GEREÇ ve YÖNTEMLER | 43 |
| 3.1. Bitkisel Materyal | 43 |
| 3.2. Hayvanlar | 43 |
| 3.3. Farelerde Yüzme Dayanıklılık Testi | 43 |
| 3.4. Farelerde "Tail-Flick" Testi | 44 |
| 3.5. Farelerde "Rota-rod" (Zorlamalı Motor Aktivite) Testi | 44 |
| 3.6. Genel Davranış ve Hipokratik Tarama | 45 |
| 3.7. Verilerin İstatistiksel Analizi | 46 |
| 4. SONUÇLAR | 47 |
| 4.1. Farelerde Yüzme Testi Sonuçları | 47 |
| 4.2. Farelerde "Tail-Flick" Testi Sonuçları | 47 |
| 4.3. Farelerde "Rota-Rod" Testi Sonuçları | 48 |
| 4.4. Genel Davranış ve Hipokratik Tarama | 48 |
| 5. TARTIŞMA | 55 |
| KAYNAKLAR | 59 |
| ÖZGEÇMİŞ | 82 |

SEKİL ve ÇİZELGELER LİSTESİ

| | Sayfa |
|---|-------|
| Tablo 1 İnsan ve diğer memeli türlerinin santral sinir sistemlerinde bulunan bazı opioid peptidler | 23 |
| Tablo 2 <i>Hypericum calycinum</i> ve <i>Hypericum perforatum</i> bitkilerinden hazırlanan %50 alkol-sulu ekstrelerin farelerde yüzme performansı üzerine etkileri | 49 |
| Tablo 3 <i>Hypericum calycinum</i> ve <i>Hypericum perforatum</i> bitkilerinden hazırlanan %50 alkol-sulu ekstrelerin farelerde "Tail-Flick" reaksiyon zamanı üzerine etkileri | 51 |
| Tablo 4 <i>Hypericum calycinum</i> ve <i>Hypericum perforatum</i> bitkilerinden hazırlanan %50 alkol-sulu ekstrelerin farelerde "Rota-Rod" reaksiyon zamanı üzerine etkileri | 53 |
| Şekil 1 Omurilik dorsal boynuzu substantia gelatinosa tabakasında enkefalin- substans P etkileşim modeli | 20 |
| Şekil 2 Kapı-Kontrol Teorisi | 35 |
| Şekil 3 Farelerde yüzme dayanıklılık testi sonuçları | 50 |
| Şekil 4 Farelerde "Tail-Flick" testi sonuçları | 52 |
| Şekil 5 Farelerde "Rota-Rod" testi sonuçları | 54 |

ÖZET

Geleneksel Türk halk tıbbında, *Hypericum perforatum* L. ve diğer *Hypericum* türleri çeşitli amaçlarla örneğin, sedatif, analjezik, antispazmodik, athelmintik, ekspektoran, diüretik, iştah açıcı, karaciğer koruyucu, antiseptik, yara iyi edici olarak kullanılmaktadır. Bu etnomedikal özelliklerinin yanısıra, *H. perforatum*'dan hazırlanan standardize ekstreler bazı nöropsikiyatrik bozuklukların klinik tedavisi için kullanılmaktadır. Bunların nöropsikiyatrik bozuklukların tedavisinde kullanımı avantajlıdır, çünkü bunları yan etkileri daha azdır ve ilaç bağımlılığı yapmazlar. *H. perforatum*'un içerdiği "hiperisin" e bağlı olarak oluşturduğu tek ciddi yan etki sadece albino hayvan türlerinde bildirilmiş olan fotosensitizasyondur.

Bu çalışmanın ana amacı *Hypericum calycinum*'un alkollü ekstrelerinin santral sinir sistemi üzerindeki etkilerini *H. perforatum* ile karşılaştırarak araştırılmasıydı. Ayrıca, daha önceden *H. perforatum* için uygulanmayan farklı yöntemler kullanılarak bu bitkinin santral sinir sistemi üzerindeki etkilerinin yeniden sınanması da amaçlanmıştı. Bu amaçla şu yöntemler kullanıldı: "Yüzme Dayanıklılık", "Tail-Flick", "Rota-Rod Zorlamalı Motor Aktivite" testleri ve Hipokratik Tarama (Genel davranış). Bu testlerde sadece erkek albino fareler kullanıldı.

"Tail-Flick" testlerinde elde edilen bulgulara göre, *H. perforatum* ve *H. calycinum* ekstrelerinin analjezik aktiviteleri bulunmaktadır. Bu gözlem aynı zamanda *H. perforatum*'un geleneksel Türk halk tıbbındaki analjezik amaçlı kullanımını da doğrulamaktadır. Öte yandan, *H. calycinum*'un analjezik özellikleri ilk kez bu çalışmada bildirilmektedir. Yüzme ve "Rota-Rod" testlerinde elde edilen bulgular alkollü *H. perforatum* ve *H. calycinum* ekstrelerinin santral sinir sistemindeki depresif etkilerini açıkça göstermektedir. Bu çalışmadaki tüm bulguların bir araya değerlendirilmesi bu her iki *Hypericum* türünün aşağı yukarı eşit güçte depresif etkilerinin olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle, *H. calycinum*'un minimal bir yan etki riski ile nöropsikiyatrik bozuklukların tedavisi için kullanımı uygun olabilir.

SUMMARY

In Turkish folk medicine, *Hypericum perforatum* L. and other *Hypericum* species have been used for various purposes, such as sedative, analgetic, antispasmodic, anthelmintic, expectorant, diuretic, appetitive, liver protective, antiseptic, wound healing etc. Beside of their ethnomedical properties, standardized extracts prepared from *H. perforatum* L. have been used for the clinical management of some neuropsychiatric disorders. Their use in the management of neuropsychiatric disorders is advantageous, as they possess lower side effect and lack of drug dependence. A mere serious side effect of *H. perforatum* extracts due to their "hypericin" content is the photosensitization which have been reported only in albino animal species.

The main purpose of the present study was to investigate the pharmacological effects of *Hypericum calycinum* L. alcoholic extracts on the central nervous system by comparing with those of *H. perforatum*. It was also aimed to re-examine the effects of *H. perforatum* on the central nervous system using different methods which have not been employed earlier. For this purpose, following methods were employed: "Swimming Endurance", "Tail-Flick", "Rota-Rod Forced Motor Activity" tests and "Hippocratic Screening (Gross behaviour) in which only male albino mice were used.

According to the findings of "Tail-Flick" tests, both *H. perforatum* and *H. calycinum* extracts exerted analgetic activities. This observation also confirmed the analgetic use of *H. perforatum* in Turkish folk medicine. On the other hand, the analgetic properties of *H. calycinum* are reported first in this study. The findings obtained in the swimming and "Rota-rod" tests clearly indicated depressant activities of *H. perforatum* and *H. calycinum* alcoholic extracts on the central nervous system. Taken together the present experimental findings suggested that alcoholic extracts prepared from both *Hypericum* species have depressant activities almost at the same magnitude. Therefore, it may be suitable to use *H. calycinum* clinical management of neuropsychiatric disorders with minimal risk of side effects.

TEŞEKKÜR

Doktora çalıŐmalarımın bu noktaya gelmesinde gerçekten çok büyük emeği geçen, çalıŐmalarımın her kademesinde beni yalnız bırakmayıp destekleyen gerçek ve mükemmel bilim adamı Prof.Dr. Yusuf ztrk e,

Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi Müdürü ve Anadolu Eczacılık Fakültesi Dekanı Sn. Prof.Dr. K.Hsn Can Başer'e,

Deneysel çalışmalarda değerli yardımlarını esirgemeyen ArŐ.Gör. Süleyman Aydın ve ArŐ.Gör. Rana Beis'e

ÇalıŐmalarımı gerçekleŐtirirken bulduğum huzurlu bilimsel ortamda tüm emeği geçenlere teŐekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde biyomedikal alandaki çalışmaların ana amaçlarından birisi yeni terapötik modalitelerin araştırılmasıdır. Bu amacın altında yatan temellerden birisinin ticari kazanç olduğu düşünülebilir ve bu bir ölçüde doğrudur. Çünkü, ilaç geliştirme çok pahalı bir süreçtir ve bu sürecin işleyebilmesi için büyük miktarda para gereklidir. İlaç geliştirme sektörüne yatırım yapan girişimciler, elbette ki ekonomik baskılara karşı koymak ve yatırım alanlarını genişletmek amacıyla ticari kazançlarını düşünmek zorundadır. Ancak, şu idealistik yaklaşım noktası unutulmamalıdır: "Bilim, genellikle insanlık yararını ön plana çıkaran sistemli çalışmalar bütünüdür". Bu nokta, yeni terapötik modalite ya da bir diğer deyişle yeni ilaç geliştirme çalışmalarının ana bilimsel mantığını oluşturmaktadır. Bu nedenle, tüm dünyada gerek kimyasal sentez gerekse bitkilerden ekstraksiyon (yada benzeri bir başka teknik) yöntemleri ile gece-gündüz çok sayıda araştırmacı yeni ilaç geliştirme "düşünün" peşinde koşmaktadır. Bu sürecin "düş" olarak kabul edilmesi çok yanlış bir düşünce değildir. Çünkü, sentezlenen yada bitkilerden izole edilen yüzlerce hata binlerce yeni maddenin sadece birkaçı ilaç olabilme şansını yakalayabilmektedir. Ancak, düşsel nitelikler taşıyan bu ilaç-geliştirme çalışmalarının sürdürülmesi gereklidir. Radikal tedavisi bulunmamış hastalıklar, sürekli rezistans geliştiren infeksiyonlar ve yan etkisi fazla olan ilaçlar gibi önemli sağlık problemleri sürekli ve yeni çözümler beklemektedir. Bu problemler, çözüm olarak "Yeni İlaç Geliştirme" çabalarının sürekli olmasını gerektirmektedir.

Günümüzün stresli çağdaş kent yapısında nörolojik ve psikiyatrik bozukluklu taşıyan birey sayısı giderek artış göstermektedir. Bu durum, nörofarmakoloji ve psikofarmakolojinin işinin artmasına, yani bu alanda kullanılacak ilaçlara talebin artmasına neden olmaktadır. Bu alanda halen kullanılan ilaçların bir bölümü az ya da

çok bağımlılık oluşturma özelliği taşıırken diğer bir bölümünün yan etkileri fazladır. Bu durumda, yeni ilaç alternatiflerinin kullanılması kaçınılmaz bir olgudur. Gerçekten de *Hypericum perforatum* L. bitkisinden hazırlanan ekstreler müstahzar olarak belirtilen bu indikasyon alanında özellikle Almanya'da bazı nöropsikiyatrik bozuklukların tedavisinde başarı ile kullanılmaktadır. Bu bitkiden hazırlanan müstahzarların en önemli avantajı bağımlılık oluşturmaması ve yan etkilerinin az olmasıdır. *H. perforatum*'dan hazırlanan bu müstahzarın tek ve en önemli dezavantajı ise, açık saç-ten renkli ve albino bireylerde fotosensitizasyona yol açmasıdır. Söz konusu bu etki bitkinin bileşiminde bulunan "hiperisin" isimli bir maddeden kaynaklanmaktadır.

Öte yandan unutulmaması gereken önemli bir farmakolojik kurala göre, yeni geliştirilen bir ilaç, eskisine göre daha güçlü etkiye ve daha az yan etkiye sahip olmalıdır. Bunun aksi durumda, artık geliştirilmeye çalışılan ilacın pratikte bir değeri kalmayacaktır. Bu temel düşünceler gözönüne alınarak, tez kapsamında "hiperisin" içermediği bilinen *Hypericum calycinum* L. un santral sinir sisteminde *H. perforatum*'a benzer etkilerinin bulunup bulunmadığı araştırılmıştır. Bir başka deyişle, bu tezin amacı *H. calycinum*'un da *H. perforatum* gibi bazı nöropsikiyatrik bozuklukların tedavisi için kullanım değerinin olup olmayacağına ilişkin ipuçlarının elde edilmesidir. Bu yolla belki de daha az yan etkili, bağımlılık yapmayan ilaç ve yeni bir terapötik modalite elde edilmesine ufak da olsa bir katkı sağlanmış olacaktır. Ayrıca, bu arada *H. perforatum*'un santral sinir sistemi üzerindeki iyi bilinen etkileri literatürde belirtilenlerden farklı farmakolojik metodlar ile doğrulanmış ve *H. calycinum* ile karşılaştırılmıştır. Bu arada, *H. calycinum* ve halk arasında ağrı kesici olarak kullanıldığı bildirilen *H. perforatum*'un analjezik etkileri de deneysel olarak araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yüzme Testi

2.1.1. Yüzme Testi Nedir?

Yüzme testi gerek depresyon ve antidepresif etki gerekse adaptojenik aktivitenin test edilmesi için yaygın biçimde kullanılan test metodlarından biridir. Bu test, rodentler üzerinde uygulanan depresyon modellerinden biri olup, çeşitli araştırmacılar tarafından antidepresan ilaçların test edilmesi amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca, birçok araştırmacı fare ve sıçanlarda çeşitli madde ve bitkisel ürünlerin etkisini izleyerek, bunların antistres etkileri olup olmadığını, ayrıca stresin bu hayvanlarda neleri değiştirdiğini araştırmışlardır.

2.1.2. Yüzme Testini Neler Değiştirir?

Bu konuda yayınlanmış çok sayıda rapor bulunmaktadır. Bunlardan birisinde, beslenme ve fosfat tüketiminin yüzme dayanıklılığı üzerine etkisi incelenmiş, fosfatla beslenmeyen sıçanlarda yüzme süresinin kontrol grubuna göre azaldığı, buna karşın fosfatla beslenenlerde bu sürenin uzun olduğu tesbit edilmiştir. Az beslenen bir grup sıçanda hipofosfatemisi görülmüş ve yüzmenin fosfat tüketimini arttırdığı sonucuna varılmıştır. Bir diğer deyişle, fosfat tüketen grupta yüzme süresi istatistiksel olarak anlamlı biçimde pozitif yönde etkilenmiş ve fosfatemisi ile negatif korelasyon göstermiştir (27).

Bir grup araştırmacı yüzme üzerinde yeni bir alfa-2 adrenerjik reseptör antagonisti olan atipamezol'ün etkisini izlemişler ve bu deneyi açık havada "Plus-maze" ve yüzme testi olarak iki ayrı bölgede çalışmışlardır. Sonuçta atipamezol'ün kontrol grubuna göre yüzme süresini değiştirmedigi görülmüştür. "Plus-maze"deki sıçanlar üzerinde

atipamezol dozuna bağımlı olarak lökomotor aktivite üzerinde suprese edici etki göstermiştir. Bu etki, 5 dakika gibi bir sürede görülmüş ve 10 dakikada kaybolmuştur. Yani, erken fazda motor aktivite azalmıştır. Ayrıca, bu deney sırasında sıçanların yüksek ses çıkardıkları gözlenmiştir (97).

Diğer bir grup araştırmacı, farelerin yüzme testindeki davranışları üzerine genotipi ve dopamin reseptörlerin etkisini araştırmışlardır. D₁ dopamin reseptör agonisti SKF-38393'ün 10 mg/kg lık dozunun yüzme faaliyetini arttırdığı, D₁ antagonisti SCH-23300'ün ise yüzme faaliyetini azalttığı sonucuna varmışlardır. Buna paralel çalışmaları D₂ Dopamin reseptörlerinin, yüzme üzerine etkisinin olmadığını kaydetmişlerdir. Özetlenecek olursa, D₁ ve D₂ dopamin reseptörleri farelerin yüzmelerini düzenlemekte farklı etkiler göstermişlerdir. Ayrıca, bu deneylerin sonucunda genetik farklılıkların da farelerde yüzme süresini etkilediği bildirilmiştir (137).

Yüzme testi uygulanması sonucu sıçan ve farelerde depresyon görülmektedir. Bu depresyon immobiliteye neden olmaktadır. Ancak, bu immobilite sıçanların gelişimi ile non-lineer bir ilişki göstermekte (120) ve antidepresan maddelerle ortadan kalkmaktadır. Örneğin, antidepresan aktivitesi bulunduğu bildirilen gepiron'un etkisi yüzme testiyle araştırılmış ve yüzme performansı üzerine oluşan etkide serotonin 5-HT_{1A} reseptörlerinin rolü olduğu saptanmıştır (42). Sentetik bir kortikosteroid olan deksametazon da yüzme eksersizinin yarattığı stresi antagonize etmektedir (131). Barselona'daki araştırmacılar tarafından trisiklik antidepresan ilaçlar olan imipramin ve desipramin'in etkileriyle klorür kanal blokleri olan pikrotoksin'in karşılıklı etkileşime girip girmediği yüzme testiyle araştırılmış ve sonuçta bu iki trisiklik antidepresan ilacın antiimmobilite etkisinin (120) pikrotoksin tarafından artırıldığı sonucuna varılmıştır (61). Bilindiği gibi, santral sinir sistemi stimulanı olan pikrotoksin GABA'nın inhibitör

etkisini önleyerek dizinhibisyon yapar. Bu tarz etkiyi bikukulin de göstermektedir. Antidepresan ilaç tedavisinin etki mekanizmasında ve depresyondaki muhtemel GABAerjik transmisyon birçok çalışmada incelenmiştir (17,62). Pikrotoksin presnaptik inhibisyonu ve striknine rezistan postsinaptik inhibisyonu bloke etmektedir. Bu etki, inhibitör nörotransmitter olan GABA'nın antogonisti olmasından kaynaklanmaktadır. Depresyonda GABA'nın fonksiyonuna ilişkin hipotezi destekleyen çok sayıda deneysel gözlem bulunmaktadır. GABAmimetik ilaçlar antidepresan özellikler gösterirler ve buna ilişkin doğrulayıcı testlerden birisi de yüzme testine tabi tutularak deprese edilen sıçanlardır (17).

Başka bir grup araştırmacı ise sıçanlara sertralin verdikten sonra yüzme testi uygulamışlar ve immobilitenin azaldığını gözlemişlerdir. Sertralin (1S.4S-N-metil-4-(3,4-diklorofenil) 1,2,3,4-tetrahidro-1-naftilamin) antidepresan bir ilaçtır (37). Bu ilaç, katekolamin salınımı üzerine hafif bir etki yaparak sıçan beyninin snaptosomal preparatlarında serotonin salınımını güçlü bir biçimde inhibe eder (99). Diğer antidepresan ilaçlarda olduğu gibi sertralin ile yapılan tedavi noradrenalin reseptörüne bağlı adenilat siklaz duyarlılığını, beta-adrenerjik reseptörlerin sayısını ve aynı zamanda sıçanların serebral korteksindeki 5-HT₂ reseptörlerinin duyarlılığını azaltmaktadır (99,166). Bunlar, trisiklik antidepresan ilaçlar, MAO (monoaminoksidaz) inhibitörleri ve iprindol, mianserin ve viloksazin gibi maddelerdir (155). Sıçanlarda sertralin'in etkisi üzerinde santral serotonerjik nöronların rolü araştırılmış ve sonuçta sertralin'in, yüzme testi uygulanan sıçanlarda antidepresan tipte etkiler yarattığı ve bu etkilerin sertralin'in santral nöronlara 5-HT salınımını inhibe etme özelliğinden bağımsız olduğu görülmüştür (37). Endojen opiyatlar yüzme performansında, adrenal medullada bulunan kappa reseptörlerini etkileyerek yüzme işlevini regüle ederler (90).

Yüzme performansını etkileyen bitkisel ürünler de bulunmaktadır. *Panax ginseng* bitkisinin kökünün (Ginseng) de antistres etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Bu bitkinin gövde, yaprak, çiçek ve tohumları da ilaç olarak kullanılmaktadır. *P.ginseng*'in kardiyotonic ve tranquilizan etkisi olduğu saptanmış ve yaşam enerjisini arttırdığı ileri sürülmüştür. Ginzenoidler, "Ginseng" in farmakolojik aktif komponentleri olup, bitkide %4 oranında bulunmaktadır. "Ginseng" in nöronal aktivite üzerinde hem inhibe edici hem de aktive edici etkileri vardır. Sıçanlarda şartlı refleksin oluşumu incelendiğinde, 20 mg/kg dozda uygulamadan sonra "Plus-Maze" içindeki hayvanların öğrenme yeteneği ve hafızalarının önemli ölçüde arttığı kanıtlanmıştır. Ancak bu etki, doz arttırıldığında azalmıştır. "Ginseng" in sulu ekstresi farelerin yüzme süresini uzatmaktadır (39,175). "Ginseng" in yorgunluğa karşı etkisi "Trend-Wheel" deneyi uygulanan farelerde de gözlenmiştir (31). Bu etki insanlarda üzerinde de araştırılmıştır (39,175). Büyük bir olasılıkla bu reaksiyon, oksijen tüketiminin azaltılması ile yakından ilişkilidir. Bazı araştırmacılar, "Ginseng" in glikojen ve yüksek enerji sağlayan fosfatların daha ekonomik kullanımına neden olduğuna inanmaktadırlar. Bu durum, laktik ve asetik asit metabolizmalarının ilerlemesine ve birikimine olmaktadır (39,175).

Ocimum sanctum bitkisi de fare ve sıçanlar üzerinde yapılan testlerde adaptojenik (antistres) özellik göstermektedir (172). İlaç farelerin yüzmedeki fiziksel dayanıklılığını arttırmakta, sıçanlarda ise strese bağlı ülseri önlemektedir. Çalışmalar, bu bitkinin hayvanlarda strese bağlı birçok biyolojik değişmeye karşı dayanıklılığı non-spesifik olarak arttırdığını göstermektedir (24).

Coolonopsis pilosa kökünden hazırlanan dekoksasyon farelere intragastrik yolla verildiğinde yüzme yeteneğinin arttığı gözlenmiştir (1). Fakat, başka bir çalışma bu bitkinin alkollü ekstresinin aynı dozda 5 gün boyunca intragastrik verilmesinin yüzme kabiliyetini arttırmadığını belirtmektedir (2). Bu bitki iştahsızlık, zayıflık, solunum yetersizliği gibi durumlarda kullanılmakta, yaşam enerjisini arttırmaktadır (39).

Ocimum sanctum, *Schizandra chinensis*, *Sedum rosea*, *Withania somnifera*, *Aralia elata* ve *Celastrus panikalatus* ekstrelerinin farelerin santral sinir sistemi üzerindeki depresan etkileri değerlendirilmiştir (30,172). Hipnotik bir ilaç olan pentobarbital (50 mg/kg) farelere verilmiş ve bu ilaçların ekstrelerinin meydana getirdiği etkilerle karşılaştırıldığında etki süresi cinsiyet ve doza bağlı azalma veya artma gösterip göstermediği araştırılmıştır. Sonuçta bütün bu ekstrelerin narkosis etkiyi arttırdığı belirlenmiştir. Bu bitki ekstreleri, pentobarbitalin santral sinir sistemi üzerindeki depresan etkisini sinerjik olarak arttırmaktadır (9).

Türk halk tıbbında diaforetik, sedatif, diüretik olarak kullanılan *Alcea pallida* ve *Tilia argentea*'nın da adaptojenik etkileri olabileceği düşünülerek bu bitkilerden hazırlanan taze infüzyonların farelerin yüzme performansı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bulgular her iki bitkinin de, yüzme süresini bir antistres etki meydana getirerek uzattığını göstermektedir (14,146). Bundan başka, *Ziziphora tenuior*, *Ziziphora taurica* subsp. *taurica* ve *Ziziphora taurica* subsp. *cleonioides* bitkilerinden hazırlanan uçucu yağların herhangi bir toksik etki göstermeksizin farelerde yüzme performansını azalttığı da saptanmıştır (Öztürk, Y., Yayınlanmamış çalışma).

2.1.3. Yüzme Sürecinin Etkileri

Yüzme olayı ağırlıksız olarak gerçekleşen bir hareket olup sıçanlarda yer çekimine karşı olan topuk yükünü ortadan kaldırmakta ve *Tibialis anterior* gibi fleksorların yükünü arttırmaktadır (13,163). Bazı araştırmacılar, yeni doğmuş sıçanlara yüzme testi uygulamışlar ve bunlarda motor sistem yeterince gelişmediği için değişken davranışlar tesbit etmişlerdir (35). Yapılan araştırmalar, farelerde yüzme egzersizleri sırasında plazma insülin düzeyinin düştüğünü, glukagon düzeylerinin yükseldiğini göstermektedir (96). Kısa süren bir yüzme döneminin farelerde glukozla stimule edilen insülin sekresyonunu inhibe ettiği ve bazal plazma glukagon düzeylerini yükselttiği saptanmıştır. Bu değişimler otonom sinir sistemi aracılığı ile gerçekleşmektedir ve alfa-2 adrenerjik reseptör blokeri olan yohimbin tarafından tersine çevrilmektedir (58,95).

Japonya'da bir grup araştırmacı besin kısıtlaması ve yüzme ekzersizinin hiperlipidemiye normalize ettiğini ve adriamisin verilerek oluşturulmuş nefritik sendromlu sıçanlarda yüzmenin böbrek disfonksiyonu gelişimini önlediğini saptamışlardır (141).

20 ve 60 gün boyunca erkek ve dişi sıçanlarda soğukta yüzme stresinin lipid ve lipoprotein metabolizması üzerindeki etkileri incelenmiş ve serum total kolesterol, yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (HDL-C) ve lesitin kolesterol asetiltransferaz (LCAT) aktivitelerinin her iki cins sıçanda azaldığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca, serbest yağ asitlerinin arttığı, 20 günlük bir dönem içinde yüzdürülen dişi sıçanlarda total kolesterol/HDL-C oranının düştüğü, erkek sıçanlarda bu oranın değişim göstermediği, trigliseridlerin ise her iki cins sıçanda da değişmediği, lipoprotein dağılım yüzdesinin erkek hayvanlarda herhangi bir fenotip değişim göstermediği, ancak istisna olarak 40 gün işlem gören sıçan grubunda çok düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (VLDL-C) yüzdesinin azaldığı ve düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (LDL-C) yüzdesinin arttığı görülmüştür. Sıçanların vücut ağırlıklarında, 60 gün süreyle yüzme ekzersizi uygulanan

erkek hayvan grubu dışında değişim gözlenmiştir. Kısaca soğukta sürekli yüzme ekzersizi uygulanan erkek hayvan grubu dışında bir değişim gözlenmemiştir. Yani, sıçanların HDL-C ve LCAT faaliyetini düşmesi nedeni ile lipoprotein metabolizmasını etkilediği ve 5°C de 10 dakika süre içinde tamamen yorularak tükendikleri görülmüştür (138,187).

Sıçanlarda uygulanan yüzme ekzersizinde adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve prostaglandin E₂ (PGE₂) salınımı görülmektedir (193). Bir başka deyişle, plazmada artan PGE₂ düzeyleri, yüzme eforunun sonucunda ACTH salınımı artışıyla ilişkilidir. Bu veriler, strese bağlı olarak oluşan reaksiyonlarda prostaglandinlerin önemli bir rol oynadığı hipotezini desteklemektedir (193).

Yüzme ekzersizinde hayvanların içine girdiği suyun sıcaklığı büyük önem taşımaktadır. Soğuk su içinde yüzme süresinin önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır (76). Ayrıca, düşük sıcaklıklarda yüzdürülen sıçanlarda serum çinko, bakır, magnezyum, ve kalsiyum düzeylerinde de önemli değişimler belirlenmiştir. Ayrıca, ekzersize giren hayvanlarda su sıcaklığı ile bağlantılı olmamak koşuluyla kontrol grubuna göre serum magnezyum, kalsiyum ve bakır iyonu konsantrasyonları belirgin biçimde yüksek bulunmuştur (46,106).

Yüzme ekzersizi sonucunda stres ve ACTH salınımına bağlı olarak serum kortizol düzeylerinde de artış görülmüş, buna karşın tükrük İmmüoglobulin A (Ig A) düzeylerinde azalma saptanmıştır. Ancak, Ig A ve kortizol düzeylerinin değişimleri arasında herhangi bir korelasyon belirlenememiştir (183). Ancak, bu deney hayvanları bağışıklık sisteminin suprese olmasına bağlı olarak solunum infeksiyonlarına karşı dayanıksız duruma düşmektedir.

Tükenene kadar yüzdürülen sıçanlarda kalb ve iskelet kaslarında Tip I, Tip IIa, Tip IIb lifler ile pürin nükleotidleri, fosfokreatinin, amonyak ve laktik asit düzeyleri de araştırılmıştır. Söz konusu bu araştırma, önceden "training" uygulanarak ve

uygulanmadan yüzdürülen sıçanlar biçiminde iki grup kullanılarak gerçekleştirilmiştir (195). Yüzme süresi, önceden "training" uygulanmayanlarda daha uzun olmuştur. ATP de azalma, IMP de ise artış görülmüştür. Yinelenen "training" uygulamalarından sonra kalpteki IMP konsantrasyonu iskelet kaslarındaki göre önemli ölçüde düşük bulunmuştur. AMP düzeyleri ise yüksek olarak belirlenmiştir (195). Yüzme sıçanların kardiak miyozin izograflarında adaptasyona da neden olmaktadır. Kronik yüzme kalpte hipertrofiye ve izomiyozin ile noradrenalin miktarlarında artışlara neden olmaktadır (4).

Diğer bir araştırmada ise, yüzme esnasında sıçanların bir grubunun bir sapa, diğer bir grubunun ise bir ipe tutunarak kaçmaya yeltenmesine izin verilmiştir. Sonuçta, ipe tutunup kaçma girişiminde bulunan hayvanların yüzme sürelerinin sapa tutunarak kaçmayı deneyen hayvanlarinkine göre daha uzun olduğunu görülmüştür. Bu olayda, ipe tutunarak dinlenebilen hayvanların daha az efor harcamaları rol oynamaktadır (139). Genetik zellikler de yüzme süresinde etkili olan faktör arasındadır (107).

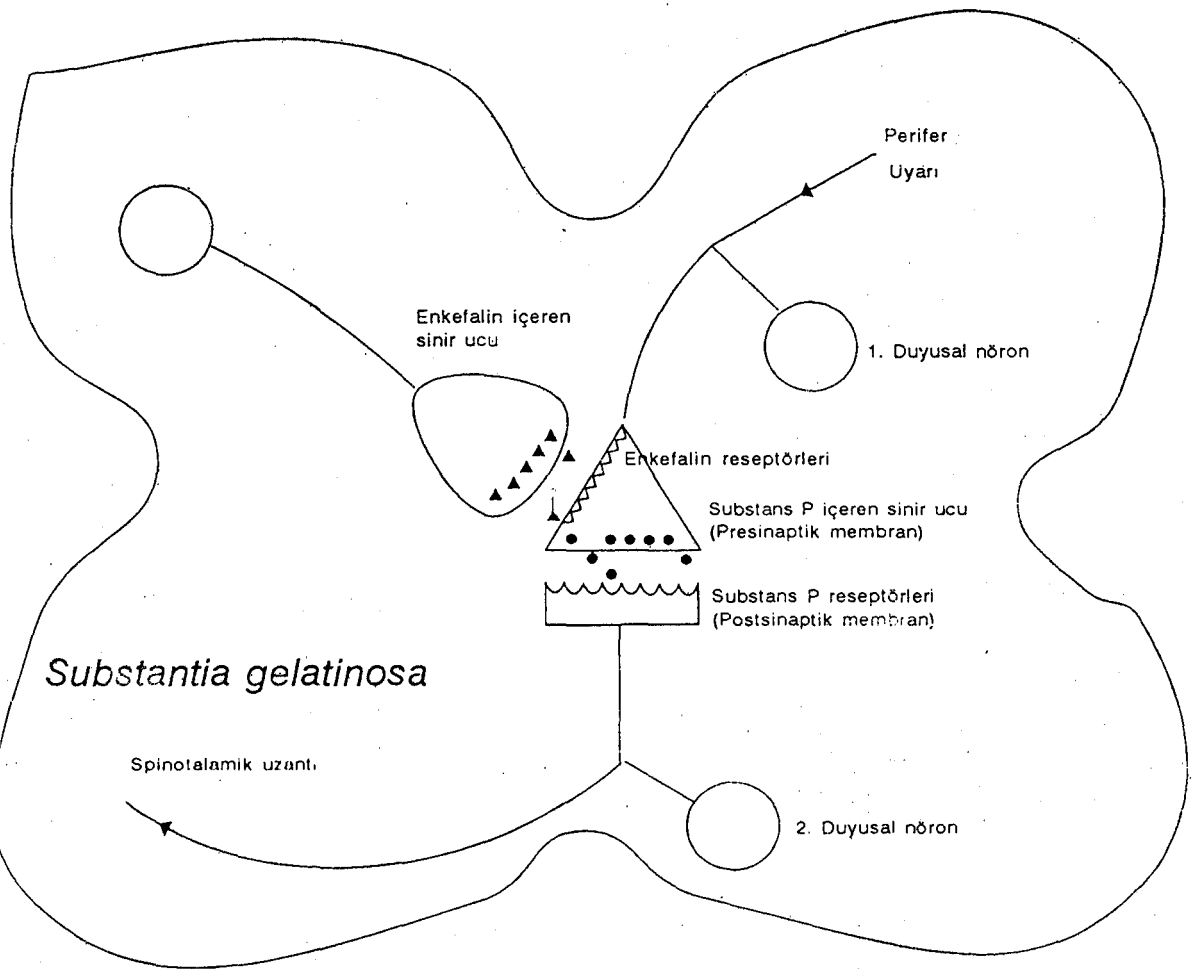
2.2. "Tail-Flick" Testi

2.2.1. Bir Aljezi ve Analjezi Testi Olarak "Tail-Flick"

"Tail-Flick", aljezi ve analjezinin ölçümü için kullanılan deneysel yöntemlerden birisidir. Aljezi ve analjezinin deneysel olarak ölçümü için yaygın olarak Şu yöntemler kullanılır:

1. Sıcak levha (Hot-plate),
2. Kıvrınma cevabı (Writhing response),
3. Randall-Stellito analjezimetresi,
4. Tail-Flick yöntemi.

substans P içeren sinir ucundaki opiyat resept6rleri ile etkileşerek substans P nin salınımını inhibe etmektedir. Böylece, ağrılı uyarıların santral sinir sistemi'ne iletimi önlenmektedir (92).



Şekil 1 Omurilik dorsal boynuzu substantia gelatinosa tabakasında enkefalin- substans P etkileşim modeli (92).

Ağrı s¼reci, gelişmiş organizmaların oldukça önemli bir uyarı mekanizmasıdır. Ancak, endojen opiyatlar ile diğer bazı ağrı oluşturan ve önleyen endojen bileşiklerin bulunmasıyla bu mekanizmanın aydınlığa kavuşması konusundaki umut verici hızlı gelişmeler, hiç kuşkusuz sonuğa en verimli ve en güvenli ağrı kesici yöntemlerin bulunmasını olası kılacaktır (145).

2.2.3. "Tail-Flick" Testini Etkileyen Fizyolojik Faktörler

1970'lerin başında santral sinir sisteminin çeşitli bölgelerinde morfin ve benzeri ilaçların etkilediği opiyaterjik reseptörlerin varlığının radyoligand bağlama yöntemleri ile gösterilmesi, beyindeki bazı alanların elektiriksel uyarılmaları sonucu analjazi oluşması ve özellikle bunun opioid antagonistleri ile önlenebilmesi santral sinir sistemi'de opiyat benzeri endojen nöromedyatörlerin bulunduğunun öngörülmesine neden olmuştur. 1975'de domuz beyininden metionin-enkefalin (met-enkefalin) ve lösin-enkefalin (lö-enkefalin) adında iki pentapeptid izole edilmiştir (81,82). Enkefalinlerin bulunmasını 31 amino asitli bir peptid olan beta-endorfin'in ve 17 amino asitten oluşan analjezik etkili bir diğer peptid olan "dinorfin" ve fragmanlarının bulunuğu izlemiştir (176). Opiyaterjik reseptörler aracılığı ile santral sinir sistemi'de etki oluşturan peptidlere, "endojen opioid peptidler" adı verilir. Endojen opiyatlar (endorfinler ve enkefalinler) duyumsanmasını azaltmakta veya önleyebilmektedir (144). Opioid peptidlerin deney hayvanlarına intraserebroventriküler injeksiyonu analjezik (antinosiseptif) etki ile birlikte belirgin davranışsal etkiler de oluşturmaktadır. Bunların başlıcaları kaslarda rijidite, immobilité, katalepsi, sedasyon ve konvülziyonlardır. Tablo 1 de santral ve periferik sinir sistemindeki etkileri nedeniyle analjezik etkiler gösteren bellibaşlı bazı opioid peptidler ve aminoasid sayıları özetlenmiştir.

Bu etkileri oluşturmada beta-endorfin ile enkefalinler arasında kantitatif ve kısmen de kalitatif yönden fark vardır. Beta-endorfin in etki gücü ile etki süresi enkefalinlerinkinden çok daha fazladır, enkefalinler sedasyondan ziyade hiperaktivite oluştururlar. Ancak, gerek beta-endorfin ve gerekse enkefalinler sıçan beyninin lateral ventrikülüne injekte edildiklerinde EEG (Elektroensefalogram) de epileptiform etkinlik gösterirler ve bu etkinlik nalokson ve benzeri opiyat antagonistleri ile antagonize edilmektedir (186). Erkek sıçanlara 14 gün boyunca intravenöz injeksiyonla insan beta-endorfini ve kontrol olarak serum fizyolojik veren araştırmacılar 11.gün aktif sakınma testi, 12.gün analjezi ("Tail flick") testi ve 13. gün sıcak levha testi yapmışlardır. Beta-endorfin'in, sakınma testinde etkili olmadığı, "Tail-Flick" testinde etkili olduğu görülmüştür. Diğer testlerde ise beta-endorfinin analjezik etkisi olmadığı tesbit edilmiştir (113). Bu gözlem, beta-endorfinin kan-beyin engelini aşamadığını akla getirmektedir. Kronik intratekal kateter yerleştirilmiş sıçanlara insan beta-endorfini verildiğinde "Tail-Flick" testinde gecikmiş reaksiyonlar görülmüştür. Molar konsantrasyon dikkate alındığında beta-endorfin'in morfin'den 25 kat daha etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca, beta-endorfin'in yarattığı analjezik etki morfin'den yaklaşık 3 kat daha uzun sürmüştür (201). Bazı araştırmacılar, sıçanlara uygulanacak "Tail-Flick" testleri için kullanılmak üzere ucuz bir reflex aksiyon zamanlıyıcısı gerçekleştirmişlerdir (86). Bir diğer çalışmada ise beta-endorfin santral olarak uygulandığı zaman morfin'den 17-18 kat daha güçlü analjezik etki göstermiştir. Intravenöz verildiğinde ise bu etki 3-4 kat olmuştur. Söz konusu bu analjezik etkiler nalokson tarafından bloke edilmiştir (113,114). Bu bulgular da, beta-endorfin'in kan-beyin engelini kolay aşamadığını ve periferik dokularda yıkıma uğradığını göstermektedir.

Tablo 1 İnsan ve diğer memeli türlerinin santral sinir sistemlerinde bulunan bazı opioid peptidler (144).

| Endojen Opioidler | Aminoasid sayıları |
|--|--------------------|
| Beta-endorfin | 31 |
| Gama-endorfin | 17 |
| Alfa-endorfin | 16 |
| Met-enkefalin | 5 |
| Lö-enkefalin | 5 |
| Met ⁵ -enkefalin-Arj ⁶ -Fen ⁷ | 7 |
| Alfa-neoendorfin | 12 |
| Beta-neoendorfin | 11 |
| Kyotorfin | 2 |
| Neokyotorfin | 5 |
| Dinorfinler | Çeşitli |
| Beta-kazomorfinler | Çeşitli |

Lö-enkefalin'in intraserebroventriküler yada intraperitoneal injeksiyonu, morfin uygulamasından 15 dakika önce veya sonra yapıldığında doza bağlı morfin analjezisi oldukça artmaktadır. Ayrıca, lö-enkefalin injeksiyonu metadon ve levorfanol analjezisini arttırırken, parsiyel agonist nalorfin'in etkisini arttırmamaktadır. Met-enkefalinde ise bu tür etkiler görülmemiştir (190). Beta-endorfin, (D-Met²,Pro⁵)-enkefalinamid ve morfin'in tolerans geliştirme kapasiteleri farelerde "Tail-Flick" testi kullanılarak araştırılmıştır. (D-Met²,Pro⁵)-enkefalinamid'in diğer narkotik ajanlara göre biraz daha çabuk tolerans geliştirdiği anlaşılmıştır. Opiyat reseptörlerinin nalokson ile blokajı, "Tail-Flick" testinde ölçülen ağrıya duyarlılığı, yani aljezik etkiyi arttırmıştır. Tüm bu bulgular, endojen opiyat sistemlerinin farklı ağrısız duyu tiplerinde farklı regülatör rollerinin bulunduğunu ifade etmektedir (23).

Beyindeki noradrenalin ve/veya dopamin'in, morfin ve metadon'un analjezik etki yaratmasındaki rolü araştırılmıştır. İki haftalık sıçanlara 6-hidroksidopamin verilerek beyindeki nöronlarda noradrenalin ve/veya dopamin tüketilmiştir. 6-8 Hafta sonra morfin ve metadon'un kontrol ve katekolaminleri tüketilmiş sıçanlarda analjezik etkileri "Tail-Flick" testi ile belirlenmiştir (149). Burada, elde edilen sonuçlardan dopamin'in morfin'le oluşan analjezide önemli rolünün olduğu, ancak metadon ile oluşan analjezide önemli bir rolünün olmadığı anlaşılmıştır (115,127,161).

İntraventriküler yolla beyin içine verilerek asetilkolin'in de analjezik etkisi araştırılmıştır. Asetilkolin'in, morfin ile oluşan analjezik etkiyi arttırdığı görülmüştür. Bu etki, intraperitoneal atropin tarafından bloke edilirken, atropinmetilnitrat veya mekamilamin tarafından bloke edilememiştir. Bu bulgular, morfinin analjezik etkisinin santral kolinerjik mekanizma ile ilgili olduğunu göstermektedir. Çünkü, gerek atropinmetilnitrat gerekse mekamilamin polaritesi nedeniyle atropin'den farklı olarak kan-beyin engelini aşmamaktadır. Ayrıca, asetilkolin'in belirlenen bu etkisine santral

sinir sistemindeki muskarinik reseptörlerin aracılık ettiği de anlaşılmaktadır (152).

Sıçanlara güçlü bir GABA reseptör antagonisti olan musimol'ün intraserebrovenriküler olarak verilmesinin morfin ve beta-endorfin'in analjezik etkisini önlediği "Tail-Flick" testiyle belirlenmiştir. Musimol'ün bu etkinliği bikukulin tarafından tersine çevrilmiştir. Diğer GABA antagonistleri olan İsoguvasin, guvasin ve nipekotik asit de morfinin analjezisini antagonize etmiştir (203,204).

Bazı araştırmalarda, dinorfin ve vasopressin'in aynı nöronlar içinde beraber bulunduğu ve birlikte sabit bir oranda salındığı rapor edilmiştir. Yine bu çalışmalarda, vasopressin ve dinorfin'in fare "Tail-Flick" testinde morfin'in yaptığı analjezik etkiyi modüle ettiği bildirilmektedir. Vasopressin, morfin analjezini artırırken, dinorfin antagonize etmektedir. Bunların ikisi birarada morfinle birlikte verildiğinde morfin etkisi kontrol düzeyine geri dönmüştür (186,199). Yine benzer bir çalışmada, lizin-vasopressin'in nanogram düzeyindeki dozlarının ve analogunun "Tail-Flick" testinde ölçülen latent zamanı uzattığı anlaşılmıştır (100). Dinorfin A'nın sıçanlara intratekal injeksiyonu doza bağlı olarak analjezik etki meydana getirmiş, ancak bu etki naloksan tarafından antagonize olmamıştır (79,133).

Kronik olarak sıcak suda yüzdürülen fareler analjezik tepkiye ve morfin'e karşı önemli tolerans göstermişlerdir (43). Bir grup araştırmacı, 100-200 mikrogram serotonin'i farelerin lumbar intratekal boşluğuna vermişler 40 dakika sonra "Tail-Flick" testi uygulayarak analjezik etkiyi ölçmüşlerdir. Burada, serotonin injeksiyonu "Tail-Flick" cevabında gecikme meydana getirmiştir (191). Diğer bir çalışmada, araştırmacılar noradrenalin, dopamin ve serotonin gibi nörotransmitterlerin, strese bağlı analjezik etkinin düzeyini ve süresini arttırdığını göstermişlerdir. Bu bulgular, "Tail-Flick" testinde gözlenen analjezik etkinin serotonerjik sistemle de ilgisi olduğu görüşünü desteklemektedir (174).

Diabetik farelerde "Tail-Flick" testinin latent süresinde uzama görülmektedir (110). Bu süre uzamasının nedeni büyük bir olasılıkla diabetik nöropati nedeniyle sensomotor sinirlerde oluşan fonksiyonel bozukluklar nedeniyle ortaya çıkan hiporefleksi durumudur.

2.2.4. "Tail-Flick" Testini Etkileyen İlaçlar

Narkotik analjezikler "Tail-Flick" latent zamanını uzatırlar (111). Opium alkaloidi olan morfin ve kodein'i ve morfin-benzeri etki yapan sentetik ve yarı-sentetik ilaçları içeren ilaç grubuna "Narkotik analjezikler" yada "Opoidler" olarak tanımlanmaktadır. Morfin ve kodein gibi doğal alkaloidlerle onların yarı sentetik türevlerine "Opiyatlar" adı verilmektedir. Bazı kaynaklar "opoid" deyimini narkotik analjeziklerin tümü için değil, opiyatlar dışında kalanlar (sentetik olanlar) için kullanırlar. Morfin, ağrı yollarını hem spinal hem de supraspinal düzeyde etkilemektedir. Ancak, morfin ve benzerlerinin sadece spinal düzeyde etki yapması da analjezi oluşması için yeterli olmaktadır.

Narkotik analjezikler, santral sinir sistemindeki nöronlarda, nöromedyatör olarak görev yapan endojen opoid peptidlerin bağlandığı opiyat reseptörlerini aktive ederler. Böylece, endojen opoid peptidlerin etkilerini taklit ederek farmakolojik etkilerini oluştururlar. Narkotik analjeziklerin aktive ettiği opiyat reseptörlerinin mü, mü-1, delta, kapp, sigma ve epsilon alt-tipleri ayırd edilmiş ve bunların opoid peptidlerle ilişkileri kısmen aydınlatılmıştır (192). Bir çalışmada, opiyatların uyardığı solunum depresyonunda farklı reseptörlerin aracılık ettiği, ancak en fazla delta reseptörleri ile ilgili olduğu delta antagonisti nalokson'un yüksek derecede antagonist etkisi görülmüştür (64).

Diğer bir alternatif mekanizma da, ilaçların hiç olmazsa kısmen sinir uçlarından endojen peptid salıvermek suretiyle kendilerine özgü etkilerini indirekt olarak

oluřturmalarıdır. Farelerde morfin'e baęlı analjezik etkinin opioid peptid saliverilmesi suretiyle oluřabileceęini dūřündüren bulgular elde edilmiř olmakla beraber bu tūr bir etki mekanizması tartıřmalı durumdadır.

Beyinde bazı merkezlerin elektriksel olarak stimule edilerek endojen opioid sisteminin aktive edilmesi ve bōylece narkotik analjezik verilmiş gibi analjezik etkinin oluşturulması mōmkündür (123). Bu durumda meydana gelen analjezi nalokson ile ortadan kaldırılmaktadır (10).

Ancak, kuyruğuna elektrik takılarak lezyon meydana getirilmiş olan sıçanlarda, morfin etkisi elektrik verilmediği durumda artmamış, elektrik verilmesi durumunda artmıştır. Fakat istatistiksel analizlerde morfin analjezik etkisindeki değişim yeterli bulunamamaktadır (33).

Narkotik ilaçların ve etkisini taklit ettikleri opioid peptidlerin opioid reseptörlerini aktive etmesinin hücresel düzey eyleme dōnuřmesinde başlıca iki mekanizmanın aracılık ettiği ileri sür÷lmektedir:

1. Adenilat siklaz sisteminin inhibisyonu: Nōroblastoma x glioma hibrid hücre k÷ltürlerinde opioid agonistlerinin adenilat siklazı inhibe ettikleri saptanmıştır. "Opiyat reseptörü-reg÷latör protein-adenilat siklaz" üçlüsünün bu ilaçlara duyarlı nōronların membranında buldukları ileri sür÷lmüştür.

2. Kalsiyum dengesinin değiştirilmesi: Kalsiyum un hücre içindeki depolara bağlanması opioidatlar tarafından arttırıldığı saptanmıştır. Ortam kalsiyum düzeyinin yükseltilmesi, nōronlarda opioid ilaçların etkisini antagonize edebilmektedir (75).

Morfin'in fenolik hidroksil grubundan metillenmiş türevi olan kodein de analjezik olarak kullanılır. Hidromorfon, oksimorfon, eroin, levorfanol ve rasemorfan da analjezik etki gösterir. Narkotik analjeziklerin sentetik agonistleri, meperidin, metadon ve diğer

difenilpropilamin türevleri olan dekstromoramid, fentanil, L-alfa-asetilmetadol ve dekstropropoksifen'dir. Ayrıca, karma etkili opioidler de analjezik etki gösterirler. Bu gruptaki ilaçlar, bazı opioid reseptörleri üzerinde parsiyel agonist, diğerlerinde antagonist etkinlik gösteren ilaçlardır. Bu grupta analjezik olarak kullanılan ilk ilaç olan pentazosin mü reseptörleri üzerinde zayıf antagonist etki, kappa reseptörleri üzerinde güçlü agonist etki ve sigma reseptörleri üzerinde orta derecede agonist etki yapar. Halen tıpta kullanılanlar, pentazosin, nalbutin, buprenorfin'dir. Nalorfin de parsiyel agonist olmakla birlikte analjezik etki göstermektedir. Nalokson ve naltrekson ise opiyat antagonistleridir. Apomorfin verilmesi, morfin'in analjezik etkisini beş değişik farmakolojik testte potansiyalize etmiştir. Bu testlerden birisi de "Tail-Flick" testidir (57).

Opiyat antagonistlerinin etkilerinin araştırılmasında "Tail-Flick" testinden yararlanılmaktadır. Morfin'in "Tail Flick" testinde görülen analjezik etkisinin spesifik bir narkotik antagonist olan nalokson verilerek önlendiği bildirilmektedir (72,189). Naltrekson'un morfin'in analjezik etkisini antagonize etmedeki etkinliği de "Tail-Flick" testi uygulanarak ölçülmüştür (34). Yapılan bir başka "Tail-Flick" deneyinde buprenorfin'in morfin analjezik etkisini antagonize ettiği görülmüştür (48). Yaklaşık yüz organik asidin metadon, siklozosin, nalokson, naltrekson ve diprenarfin ile suda eriyen tuz oluşturma yeteneği araştırılmış ve bu tuzlar intramusküler olarak farelere verilerek morfin'i antagonize etme güçleri belirlenmiştir. Bunların arasında, en uygun süreli etkiyi naltrekson çinko tannat ile naltrekson alimünyum tannat göstermiştir (72).

Bir grup araştırmacı, morfin'in analjezik etkisi üzerine *Avero sativa* ekstresinin antagonistik etkisi olduğunu bildirmektedir. Ekstre farelere intraperitoneal injeksiyonla veya intragastrik olarak verilmiş ve "Sıcak Levha" ve "Tail-Flick" testlerinde morfinin analjezik etkisini antagonize ettiği görülmüştür (44). Bu gözlem, sözkonusu bitki ekstresinde "opiyat antagonistik" etkili bileşik(ler) bulunduğunu düşündürmektedir.

Stresin morfin analjezisi üzerindeki etkileri de "Tail-Flick" testi kullanılarak araştırılabilmektedir. Bir çalışmada, sıçanlara ilk önce serum fizyolojik ardından morfin veya ilk önce morfin ardından serum fizyolojik uygulanmış, serum fizyolojinin ardından morfin uygulandığında kortikosteroid düzeyleri yükselmiş, fakat morfin'in ardından serum fizyolojik verilenlerde yükselmemiştir (59). Morfin ile ilgili diğer bir "Tail-Flick" testi de farelerin gelişimleri sırasında yapılmıştır. Orta düzeyde kronik stres ve kronik narkotik antagonizmanın farelerin gelişimleri sırasında ağrıya ve morfin'in analjezik etkilerine duyarlılığı ölçülmüştür (194). Günde iki kez serum fizyolojik injeksiyonu ile stres meydana getirilmiş ve farelerde, morfin'in analjezik etkisine yetişkin fareler hariç duyarlılığın arttığı görülmüştür (108). Narkotik analjezik etkinin ve opiyat reseptörlerinin yaşa bağlı olarak değişkenlik gösterip göstermediği başka çalışmalarla da araştırılmıştır. Buna göre, morfin'in (5 mg/kg dozda) farklı yaşlardaki farelerde analjezik etkisi "Tail-Flick" deneyi ile araştırılmış; yaşlı farelerde etki biraz daha az olmuştur. Yaşlılar morfin'den sonra biraz daha güçlü olabilmüş ve daha düşük bir yanıtla birlikte intraperitoneal injeksiyondan sonra morfin kana daha az karışmıştır. Beyindeki opioid reseptörlerde ise genç ve yaşlı fareler arasında bir fark bulunamamıştır (194).

Ayrıca, narkotik analjeziklerin etkilerine karşı gelişen toleransın incelenmesinde de "Tail-Flick" testinden yararlanılmaktadır. Bir grup araştırmacı, morfin'e tolare olan ve olmayan sıçanlarda "Tail-Flick" ve "Formalin Ağrı" testleri uygulamışlardır. Morfin'e tolare olmayan hayvanlarda lökomotor davranışlarda minimal düzeyde depresyon yaratan dozlar ile (formalin testinde) etkili bir analjezi görülmüştür. Bu deneylerde 20 günlük morfin injeksiyonundan sonra morfin toleransı ortaya çıkmıştır (1,2). Morfin'in analjezik etkisine tolerans ilk olarak uygun dozda 48 ile 72 saat beklenmesi durumunda incelenmektedir. Dozun 3 kat arttırılması analjezi yerine tolerans sağlamaktadır. Ancak, daha yüksek dozdaki morfin daha fazla tolerans sağlamamaktadır (83). Beyindeki morfin konsantrasyonu "Tail-Flick" testi ile paralel olarak altı gün boyunca izlenmiş, infüzyon

rejimini ilk üç gününde arttığı görülmüştür. İnfüzyon başlamasından 24-48 saat sonra tolerans görülmüş ve 3-6.günler arasında beyindeki morfin konsantrasyonu düşmüştür. İnfüzyon kesilmesinden 24 saat sonra, beyin morfin düzeyi iyice düşmüş, anc.k analjezik etki 72 saat sürmüştür. Araştırmacılar, bu deneylerde beyin morfin konsantrasyonunu florometrik olarak ölçmüşlerdir (74,149,150). Spinal subaraknoid boşluklarına kronik kateterler konan sıçanlara günde iki kez lumbar subaraknoid boşluğa intratekal veya intraperitoneal olarak (20mg/kg) morfin sulfat injekte edildikten 7 gün sonra "Sıcak Levha" ve "Tail-Flick" testlerinde tolerans geliştiği görülmüştür (149,202).

İntraserebroventriküler olarak diazepam veya midazolam verilen sıçanlarda morfinin analjezik etkisinin azaldığı "Tail-flick" testi ile saptanmıştır. Midazolom, santral sinir sisteminde PAG (beyin sapında peri-aqueductal gray matter) bölgesine injekte edildiğinde, morfin'in analjezik etkisini antagonize etmiş ve bu etki bikukulin ile kısmen tersine döndürülmüştür. Bu bulgular, benzodiazepinlerin morfin analjezik etkisi üzerindeki rollerinin, GABA ile birarada olduğu görüşünü desteklemektedir (121). Morfin uygulamasından üç saat sonra kronik olarak diazepam, fenobarbital yada amfetamin verilen fare ve sıçanların "Tail-Flick" testinde bir güçlenme görülmüş ve bu arada plazma kortikosteron düzeyleri düşmüştür (59). Morfin'in "Tail-flick" testi ile ölçülen analjezik etkisi, intraserebroventriküler taurin, GABA veya glisin'in uygulamaları ile antagonize olmuş, EGTA ile güçlenmiş, alfa-glutamat ve alfa-aspartat ile değişmemiştir. EGTA'nın morfin'in analjezik etkisini güçlendirmesi taurin ile geri döndürülmüştür (200). Bir grup araştırmacı, yine "Tail-Flick" testi ile tesbit ettikleri baklofen ve morfin'in analjezik etkisinin uygun nöronal substratlar (GABA gibi) aracılığıyla ortaya çıktığını ifade etmektedirler (157,167). Baklofen veya morfin eşit molar dozlarda PAG (beyin sapında peri-aqueductal grey matter) bölgesine verildiğinde "Tail-Flick" testinde analjezik etkinin geciktiği görülmüştür. Bulgulara göre, baklofen ve morfin'in sistemik uygulamasındaki analjezi GABA/Benzodiazepin/Klorürü kanalı kompleks

elemanlarının aktivasyonuna sebep olmaktadır (112). Bu düşünceyi destekler nitelikte başka gözlemler de bulunmaktadır: Benzodiazepin türevi olan diazepam ve oksazepam ile narkotik analjezik olan morfin ve metadon arasındaki etkileşimler lokomotor aktivite açısından ve farelerdeki analjezi için "Tail-Flick" ve "Sıcak Levha" testlerinde değerlendirilmiştir. Locomotor faaliyetin stimülasyonu için gerekli morfin dozu diazepam ve oksazepam ile azalmıştır. Fakat, sadece oksazepam, metadon'un yarattığı doza bağlı lokomotor aktivite artışında azalmaya neden olmuştur. Diazepam ve oksazepam'ın yarattığı azaltma nalokson'unki ile aynı düzeyde olmuştur (169). Spinal kolonun alt trossik bölgelerine akut olarak nalokson verilen sıçanlarda ısı kuyruk testinde "Tail-flick" tepki zamanını doza bağımlı biçimde kısalttığı görülmektedir. Intratekal olarak pentobarbital injeksiyonunda nalokson'ın bu etkisinin ortadan kalktığı ve nalokson ile pentobarbital arasında non-kompetatif bir antagonizmanın olduğu gözlenmiştir (55).

Sıçanlara desipramin verilmesinin morfin'in analjezik etki gücü ve süresini uzattığı da "Tail-Flick" testi ile belirlenmiştir. Ayrıca, desipramin'den sonra plazmadaki morfin konsantrasyonu çok yükselmiştir. Bunun nedeninin büyük bir olasılıkla metabolize edilmemiş morfin'in dolaşımdaki düzeylerinin yükselmesine bağlı olduğu sanılmaktadır (70,142). Yine morfin injeksiyonundan sonra, klonidin, klorpromazin ile bu ilaçların kombinasyonlarının sıçanlara injeksiyonu yapılmış ve "Tail-Flick" testi uygulanarak ilaçların etkileşimleri incelenmiştir. Sonuçta, morfin analjezisinin klonidin veya klorpromazin tarafından arttığı ancak, klonidin analjezisinin klorpromazin tarafından antagonize edildiği ortaya çıkmıştır (68). Bu testte, klonidin'in morfin'den on kat daha fazla analjezik etkisi görülmüştür. Klonidin, morfin'in analjezik etkisini beş kat arttırırken, morfin de klonidin'in etkisini dört kat arttırmıştır. Klonidin'in agonistik etkisi nalokson ile tersine dönmemiş fakat, klonidin'in morfin tarafından etkisinin arttırılmasını nalokson önlemiştir. Klonidin'in etkili dozunun yarattığı analjezik etki bu opiyat antagonisti tarafından antagonize edilememiştir (60,177).

Başka bir grup araştırmacı, sıçanlarda substantia nigra'nın tek taraflı stimülasyonun refleksi olarak motor nöronların fonksiyonlarının ağrı ile ilişkisini "Tail-Flick" testi kullanarak izlemişlerdir (94). Nigral stimülasyon monosnaptik alfa-refleksi aktivitesini kolaylaştırırken, gamma-refleksi aktivitesini nalokson azaltmış, morfin ise alfa-refleksinin gücünü azaltmış, ancak alfa-refleksi salınım sayısını değiştirmemiştir. Nigral stimülasyon "Tail-Flick" tepkisinin reaksiyon süresini uzatmıştır. Nalokson, nigral stimülasyonun analjezik etkisini değiştirmemiştir. Sonuçta, nigral nöronların mono ve polynaptik refleksi beyin kökünden, spinal kolon arasındaki yol ile ters yönde, nigral nöronların inaktivasyonunun refleksi aktivitesini benzer biçimde etkilediği ve morfin'in, santral sinir sistemini etkileyerek, nosiseptif refleksi etkilediği anlaşılmıştır (94).

Intraserebroventriküler verilen Lantanyum klorür'ün analjezik etki yaptığı farelerde "Tail-Flick" ve "Sıcak Levha" testleri, sıçanlarda ise "Tail-Flick" testi ile saptanmıştır. Bu analjezik etki, narkotik antagonist nalokson veya kalsiyum klorür'ün periferik uygulaması ile azalmıştır. Ayrıca, morfin'e tolere edilen rodentler aynı zamanda lantanyum'un etkilerine de tolere olmuşlardır (75). Bu bulgular, opiyat reseptörlerinin aktivasyonu sırasında hücre içi kalsiyum düzeylerinin önemli rol oynadığı hipotezini destekleyen güçlü bir kanıttır, çünkü lantanyum voltaja-bağımlı kalsiyum kanallarının bir antagonistidir.

Bir kas gevşeticisi olan orfenadrin sitrat ın analjezik etkisi de fareler üzerinde "Tail-Flick" testi kullanılarak araştırılmıştır (84). Dört gün boyunca propranolol verilen farelerde 8.injeksiyondan sonra morfin'in normal etkili dozuna karşı tolerans gelişmektedir. Nalokson ise bu etkiyi antagonize etmektedir. Propranolol ve morfin birarada verildiğinde 5. gün analjezik etki, sadece morfin verilen gruba göre iki kat artmıştır (40).

Fareler, tek doz ve yinelenen pargolin uygulamalarının sonucunda yetişkin fareler morfin uygulamasına daha tolere gözükmüşlerdir. Morfin analjezisi "Tail-Flick" testinde,

tolere farelerde pargilin'in akut uygulamasında daha güçlenmiş fakat, tekrarlanan pargilin uygulamasında antagonize olmuştur. Pargilin tolere olmayan farelerde de benzer etki yapmıştır. Morfin analjezisi akut pargilin uygulamasıyla potansiyelize olmakta, ancak kronik pargilin uygulamasında antagonize edilmektedir (89). Reserpin, santral sinir sisteminde serotonerjik sinapslarda impuls aşırımını etkileyen serotonin tüketici bir ilaçtır. Sıçanlarda rezerpin (4 mg/kg dozda) ağrıya duyarlılık (hiperaljezi) durumu yaratmaktadır. Serotonin, 5-hidroksitrofan, kuipazin, rezerpin'in meydana getirdiği hiperaljezi'yi tersine çevirir (78,103). Yine serotonin in, substans P nin analjezik etkisini bloke ettiği de tesbit edilmiştir (85). Bazı narkotiklerin, narkotik antagonistlerin dopamin ve noradrenalin'in fare beyni üzerindeki etkileri "Tail-Flick" testi uygulanarak değerlendirilirken morfin'in analjezik etkisi yanında katekolamin sentezini arttırdığını da ölçebilmişlerdir (26). Tüm bu gözlemler, santral sinir sistemindeki monoamin metabolizmasının da narkotik analjeziklerin "Tail-flick" testi ile deney hayvanlarında ölçülen analjezik etkilerinde önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır.

Nikotin'in de termal stimülasyon üzerinde güçlü bir analjezik etki yaptığı "Tail-Flick" testi ile tespit edilmiştir. Nikotin'in bu etkisi santral etkili nikotik ve muskarinik antagonistler tarafından bloke edilmiştir. Bu çalışma, nikotin'in selektif olarak bazı ağrılı stimülasyonları belki de asetilkolin salınımını sağlayarak azalttığını düşündürmektedir (164,185).

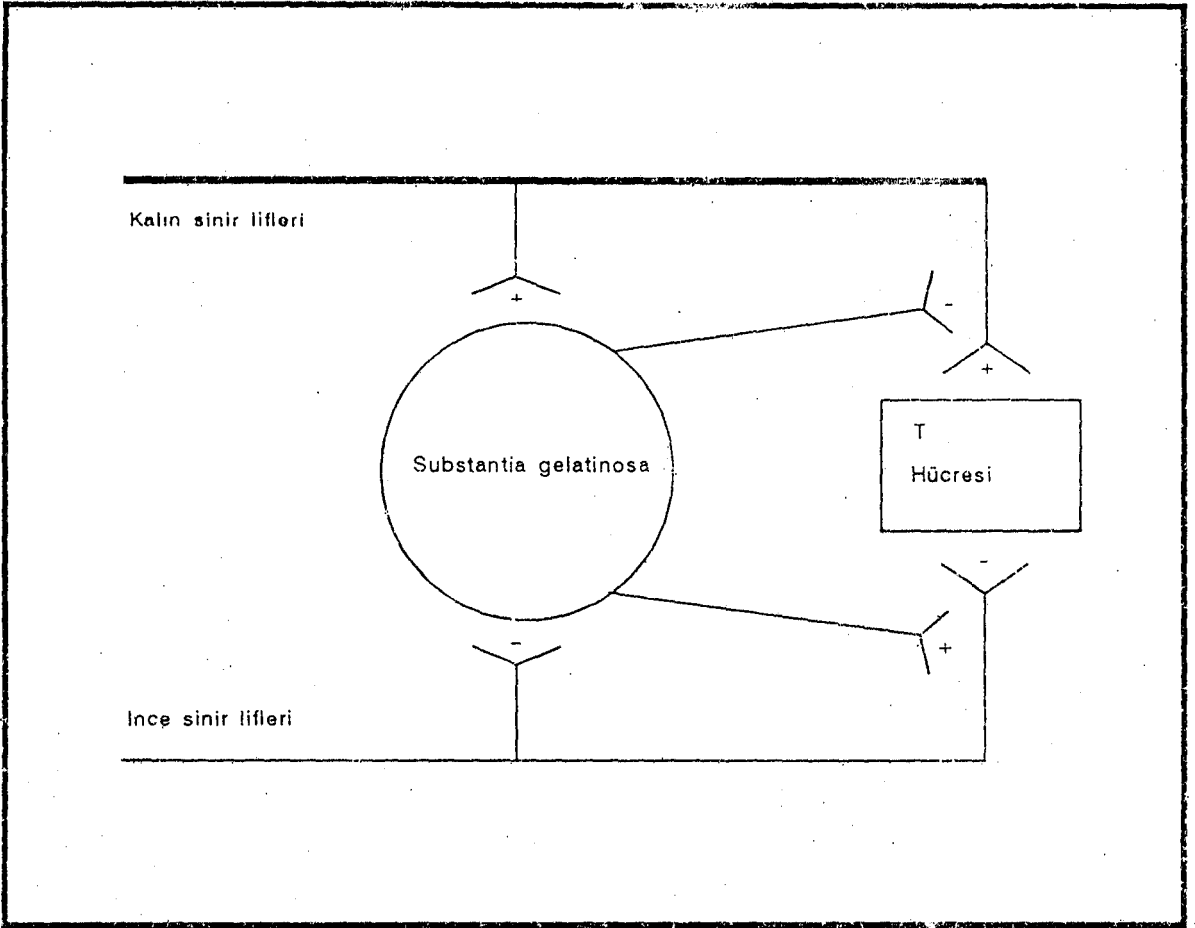
Santral sinir sisteminde elektrik stimülasyonunun meydana getirdiği analjezik etki ile morfin'in yarattığı analjezik etki arasında büyük benzerlik görülmüştür. "Tail-Flick" testinde, bulgular beyinde morfin'in ve santral elektrik stimülasyonun bir ağrıyı inhibe eden sistem oluşturduğunu ileri sürmektedir. Böyle bir etkinin oluşması nedeniyle, elektrik stimülasyonunda beyindeki monoaminlerin rol oynadığı ileri sürülmektedir (11,67,77).

Bazı mekanik stimulusyonlar sonucunda da rodentlerde analjezik etkiler görüldüğü tesbit edilmiştir (80). Ancak, sıcak "Tail-Flick" ve kuyruğu sıcak suya sokma testlerinde analjezik etkinin önemli ölçüde azaldığı fakat, tümüyle ortadan kalkmadığı görülmektedir (80). Gürültünün bile sıçanlarda analjezik etki yaptığı belirlenmiştir (91).

Akupunktur gibi, transkutan elektrik sinir stimulusyonu (TESS) yöntemi, ağrıların ilaçsız tedavi edilmesine olanak sağlayan ve mekanik stimulusyona dayalı bir yöntemdir (145). TESS tarafından tarafından ağrının denetimi en iyi biçimde MELZAK ve WALL tarafından 1965 de tanımlanan "Kapı kontrol Teorisi" kullanılarak açıklanmıştır (19). Buna göre, cildin stimulusyonu üç yapıya sinyal gönderen sinir potansiyellerine neden olmaktadır:

1. Substantia gelatinosa'daki hücreler,
2. Dorsal kolon lifleri,
3. Dorsal boynuzlardaki santral transmisyon (T) hücreleri.

Bu teori üç varsayım üzerine kurulmuştur (Şekil 2). Dorsal kolona gelen afferant sinyaller bu kapı-kontrol sisteminin etkinliğine yardımcı olmaktadır. T hücreleri ağrı duyumsanmasından sorumlu nöral sistemleri aktive etmektedir. Substantia gelatinosa'ya gelen ince liflerin uyarılması sonucu substantia gelatinosa'nın T hücreleri üzerindeki inhibitör etkinliği azalmaktadır. Bu ise, ağrı duyumsanmasına neden olmaktadır. Bu liflerin Substans P ve periferik ağrı mediyatörleri bradikinin ve prostaglandinler tarafından uyarıldığı bilinmektedir (88). Substantia gelatinosa'ya gelen kalın ve miyelinli liflerin uyarılması ise, S. gelatinosa'nın T hücreleri üzerindeki inhibitör etkinliğini artırır, dolayısıyla ağrı algılanmasında azalma durumu ortaya ortaya çıkar. TESS'in amacı bu liflerin etkin biçimde uyarılmasını sağlamaktır. Ayrıca, endojen opiyatların (endorfinler ve enkefalinler) bulunması da bu teorinin önemli desteklerinden birisi olmuştur. Endojen opiyatlar ağrı duyumsanmasını azaltmakta ve önleyebilmektedir (144).



Sekil 2 Kıapı-Kontrol Teorisi (19).

2.3. "Rota-Rod" Testi

2.3.1. "Rota-Rod" Testinin Tanımı

Deney hayvanlarında davranışsal değişimlerin ölçülmesinde kullanılan testlerden biri olan "Rota-Rod Yürüme" testinden fare ve sıçanlarda "lökomotor aktivitenin" ölçümünde yaygın olarak yararlanılmaktadır. Bu test ile aslında denge, motor aktivite ve kas gücü fonksiyonlarının koordinasyonu ve bu koordinasyon üzerine ilaçlar ile çeşitli fizyolojik faktörlerin etkileri ölçülebilmektedir. Ayrıca, yeni ilaç geliştirme çalışmaları (22,170,173,184) ve bazı maddelerin nörotoksisitelerinin ölçülmesinde (129,135,151,160,197) test olarak kullanılmaktadır. Yeni ilaç geliştirme çalışmalarında istenen terapötik etkilerin yanısıra, istenmeyen yan etkilerin araştırılması açısından da "Rota-Rod" testi önem kazanmaktadır. Örneğin, kimyasal yapı olarak 3-[gama-(p-florobenzoil)propil]- 2,3,4,4a,5,6- heksahidro- 1-(H)-pirazino(1,2-a)kinolin olarak bilinen 69/183 maddesi aslında antihipertansif etkili bir bileşiktir (158), ancak santral sinir sistemi üzerindeki yan etkileri "Rota-rod" testi ile araştırılmıştır (170). Antiepileptik amaçla sentezlenmiş olan N-aminometil piperazin-3,3-dietil 2,4-piridinon ve 5-fenilmetilenhidantoin türevlerinde nörotoksik etkiler de yine "Rota-Rod" testi sayesinde araştırılmıştır (22,197). Özellikle tarımsal amaçlarla kullanılan bazı endosulfan, airdrin gibi insektisid ve maneb gibi fungusidlerin nörotoksisitelerinin belirlenmesinde bu test yaygın olarak kullanılmaktadır (129,151). Ayrıca, bitkilerden elde edilen bazı ekstre ve etken maddelerin de nörofarmakolojik taraması için "Rota-Rod" testi kullanılmaktadır (105).

Yeni geliştirilen bir yöntemle göre "Rota-Rod" testi non-narkotik analjezik ilaçların test edilmesinde kullanılmaktadır. Bu test, aslında "Rota-Rod" testinin "Kıvrınma Testi" ile kombine edilmesi suretiyle oluşturulmuştur. Buna göre, intraperitoneal olarak % 3

lük asetik asid verilen fareler, "Rota-Rod" testine alınmaktadır. Periton bölgesinde gelişen şiddetli ağrı nedeniyle motor koordinasyonu bozulan bu fareler erken düşmektedir. Asetik asid ile beraber non-narkotik analjezik ilaçların verilmesi durumunda ise periton bölgesindeki ağrı azaldığı ya da ortadan kalktığı için motor koordinasyon bozulmamakta ve fareler daha uzun süre yürüyebilmektedir. Non-narkotik analjezik ilaçların bu etkisi doza bağımlı olarak görüldüğünden bu testin non-narkotik ilaçlar için oldukça güvenli olduğu ileri sürülmektedir (171).

Bu testte hayvanlar belli bir hızda dönmekte olan bir mil üzerinde yürümeye bırakılmaktadır. Hayvan, yorulduğu, motor sinirlerde iletimin yavaşladığı, çizgili kaslarında gevşeme olduğu, dengesinin bozulduğu ve sedasyon oluştuğu durumda bu dönen milden aşağıya düşmektedir. Ancak, bu davranış, "yüzme" gibi içgüdüsel değil, edinsel bir davranıştır. Ayrıca, "Rota-rod" testindeki hayvan davranışı bir ölçüde refleksif bir davranış olan "Tail-flick" reaksiyonundan da farklıdır. Bu nedenle, bu test uygulanmadan önce fare ve sıçanların mutlaka bir kaç gün boyunca günde 5-10 kez kısa süreli eğitim (training) seanslarına alınması gerekmektedir. Aksi takdirde hayvanların döner mil üzerinde yürüme süreleri standardize edilemeyeceğinden, deneysel bir hata kaynağı ortaya çıkacaktır.

2.3.2. "Rota-Rod" Testini Değiştiren Fizyolojik ve Farmakolojik Faktörler

Tek başlarına kafeslere yerleştirilen erkek farelerin yaklaşık %45'inde izolasyon stresine bağlı olarak anksiyete ile birlikte "Özgüven kaybı" görülmektedir. Diğer davranış değişimlerinin yanısıra, lökomotor aktivite ("Rota-Rod" testi ile ölçülebilen) testinde artış gözlenmektedir. Diazepam, klordiazepoksid, klorpromazin, barbiton ve imiramin gibi ilaçlar bu "Özgüven kaybı" ve bu arada artmış olan lökomotor aktivitede azalmaya neden olmaktadır. Tersine olarak, amfetamin ve LSD'nin bu davranışsal yanıtları arttırdığı

görülmektedir (102). "Rota-Rod" testinde gözlenen performans, denge ve motor fonksiyon ile yakından ilgili olduğu için serebellum (beyincik) büyük önem kazanmaktadır. Gerçekten de, farelerin serebellum dokusunda "Purkinje hücresi" kaybı olduğunda ataksi görüldüğü ve "Rota-Rod" performanslarının azaldığı gözlenmiştir. Alkol de bu davranışsal değişimleri arttırmaktadır (140). Alloksan ya da streptozotosin ile oluşturulan deneysel diabet de 5-10 haftalık bir dönemde sıçanlarda gelişen nöropatiye bağlı olarak motor koordinasyon bozukluğuna ve "Rota-Rod" performansında düşmeye neden olmaktadır. Bu tablo, levokarnitin asetil tedavisi ile düzeltilmektedir (148).

Erkek sıçanlarda gonadal fonksiyonların "Rota-Rod" performansı ve bu arada diğer davranışsal parametreler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla gerçekleştirilen deneysel çalışmada, erkek sıçanlarda neonatal olarak gerçekleştirilen kastrasyon işleminin "Rota-Rod" yürüme süresini azalttığı saptanmıştır. Bu sonuç ve diğer davranışlarda kastrasyona bağlı olarak görülen etkiler, gonadal hormonların (progesteron, testosteron, vs.) motor fonksiyonlarla ilişkili davranışlar üzerinde regülatör işlevlerinin bulunduğunu ortaya koymaktadır (154).

Anksiyolitik, sedatif ve miyorelaksan etkiler taşıyan benzodiazepin grubu ilaçlar da fare ve sıçanlarda "Rota-Rod" yürüme süresini kısaltmaktadır. Bunlar arasında, diazepam, klordezmetildiazepam, klobazam, lorazepam, klonazepam, nitrazepam, oksazepam, flunitrazepam, medazepam ve klordiazepoksid bulunmaktadır (32,36,101). Benzodiazepinlerin bu etkisinin ilacın beyin dokusundaki konsantrasyonları ile doğru orantılı olduğu anlaşılmıştır (32). Benzodiazepinlerle ilgili ilginç bir gözlem ise, immünomodulatör etkili bir dipeptid olan adamantilamid'in benzodiazepin'lerin farelerde "Rota-Rod" performansı üzerindeki etkisini önlemesidir (36). Benzodiazepinlerle ilgili bu gözlemler, fare ve sıçanlarda "Rota-Rod" performansının düzenlenmesinde GABA/Benzodiazepin/Klorür kanalı kompleksinin etkili olduğunu

düşündürmektedir. Bu düşünceyi destekleyen diğer kanıtlardan biri de, baklofen'in farelerde "Rota-Rod" performansını azaltmasıdır (117,118). Bilindiği gibi miyorelaksan etkili baklofen spesifik bir GABA_B agonistidir (29,156). Baklofen, omurilikte bulunan reseptörlerini etkileyerek santral etkili çizgili kas gevşetici etki ortaya çıkarmaktadır (156). İlaç geliştirme çalışmaları sırasında sentezlenen, GABA_B reseptör antagonisti CGP 35348, baklofen'in "Rota-Rod" testindeki bu etkisini antagonize etmektedir (117,118). Baklofen'in sözkonusu bu etkisi, GABA_A reseptör antagonistleri olan pikrotoksin ve bikukulün (87) tarafından da önlenmektedir. Pikrotoksin ve bikukulün'in bu etkilerinin GABA salınımını arttırmaları sonucunda indirekt olarak GABA_B reseptör stimülasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir (118). Tüm bu gözlemler, santral sinir sistemindeki GABAerjik sistemin "Rota-Rod" performansının düzenlenmesinde rolü olduğu göstermektedir.

Trisiklik antidepresan ilaçlar olan imipramin ve amitriptilin'in de "Rota-Rod" performansını düşürdüğü bildirilmektedir (49). Alkol'ün etkileri, diğer ilaçlarla santral sinir sistemi düzeyindeki etkileşimleri ve alkolün etkilerine karşı gelişen tolerans da "Rota-Rod" testinde yoğun bir biçimde araştırılmaktadır. Imipramin ve amitriptilin, kısa süreli uygulamalarında, alkol'ün "Rota-Rod" performansı üzerindeki etkilerini arttırırken, uzun süreli uygulamalarında bir değişime neden olmamaktadır (49). Ancak, diğer bir trisiklik antidepresan ilaç olan doksepin'in "Rota-Rod" performansında alkol'e bağlı olarak ortaya çıkan değişimleri etkilememesi ilginç bir gözlemdir. Üstelik bu ilaç, alkol uygulamasına bağlı olarak, hipotermi, sedasyon, EEG değişimleri gibi santral sinir sisteminde görülen diğer etkileri de değiştirmemektedir (50). Alkol'ün motor koordinasyon üzerindeki etkilerine karşı gelişen tolerans "Rota-Rod" testi kullanılarak araştırılmaktadır. Bir kalsiyum kanal antagonisti olan verapamil'in oluşan toleransı önlediği bildirilmektedir (178). Katı bir genel anestezi olan ketamin'in yinelenen uygulamaları ile santral sinir sistemindeki stimulan etkilerinin arttığı bildirilmiştir.

Ketamin'in bu etkisi "Rota-Rod" testi ve bir diğler motor aktivite (Ambulator davranış) testi uygulanarak araştırılmıştır. Yinelenen ketamin dozlarının, bu ilacın sedatif etkisine bağılı olarak "Rota-Rod" performansını azaltıcı etkisini değıştirmediği anlaşılmıştır (189). Bağımlılık yapıcı ve narkotik amaçlarla suistimal edilen ilaçlardan biri olan fensiklidin (PCP)'in non-teratojenik dozlarda neonatal sıçanlara uygulanması sonucunda, yavrularda gelişim sırasında ve tamamlandığında, "Rota-Rod" performansının düştüğü görülmektedir. Bu gözlem, gebelikte bu bağımlılık yapıcı ajanın kullanılmasının, doğacak bebeklerde denge ve motor koordinasyon bozukluğu ile beliren davranışsal gelişim bozukluklarını oluşturabileceğine ilişkin bir kanıt olmaktadır (134).

Bitkisel ürünlerin etkileri de "Rota-Rod" testinde araştırılmaktadır. Birer deniz algı olan *Phaeodactylum tricornutum* ve *Dunaliella tertiolecta*'nın santral sinir sistemindeki davranışsal etkileri incelenirken diğler testler yanında "Rota-Rod" testi de kullanılmıştır. Buna göre, adı geçen bu iki bitkiden hazırlanan sulu ekstre "Rota-Rod" performansını azaltırken, spontan motor aktivite ve rektal temperatürde azalmaya neden olmaktadır. Ancak, pentilentetrazol'ün oluşturduğu konvülziyonlar ile oksotremorin'in oluşturduğu tremor, salivasyon ve diareyi bu bitkiden hazırlanan ekstreler önlememektedir (105).

2.4. Çalışmada kullanılan *Hypericum* Türlerine İlişkin Bilgiler

Guttiferae familyasına ait olan *Hypericum perforatum* L. bütün Türkiye'de ve Avrupa'da yabancı olarak yetişmektedir (20). Deniz seviyesinden 2500 m yüksekliğe kadar bulunabilen, 10-110 cm boyunda, nisan-eylül aylarında çiçeklenen, parlak sarı çiçekli yaprakları üzerinde noktacıklar halinde yağ bezeleri bulunan çok yıllık otsu bir bitkidir (51). Halk arasında "Sarı kantaron", "Yaraotu", "Binbirdelikotu", "Kanotu", "Mayasılotu" ve "Kuzukıran" adlarıyla bilinen bu bitki yatıştırıcı, kurt düşürücü, antiseptik, yara iyi edici

özellikler taşımaktadır ve özellikle yanık yaralarının tedavisinde kullanılmaktadır (20,21). Bunların yanısıra, mide ülseri, şeker hastalığı, soğuk algınlığı (18), mide bağırsak hastalıkları, sarılık, karaciğer ve safra hastalıklarında kullanıldığı bildirilmektedir (143).

Yukarıda sayılan kullanım alanlarından başka, haricen inflamasyon ve hemoroitlerde, homeopatik olarak koksaljilerde (kalça ağrılarında), hidrofobi, hipersensivite, felç, romatizma, siyatik, tetanoz, ülserasyonlar, berelenmelerde de kullanılmaktadır (31,56). Yaraları iyileştirici etkisiyle bilinen *H. perforatum* halk tababetinde antikanser ve antitümoral etkili olarak da dikkati çekmektedir (56,64,73,129).

Matritensis Farmakope'nin 2. baskısında yara, ülser ve tümörlerin iyileştirilmesinde kullanıldığı, antiikter dekoksion olarak karaciğer harabiyetlerinde, evrensel antidot olarak birçok zehirlenmelerde, epilepsi ve antihisterik olarak, sindirim problemlerinde ve uyarıcı olarak, romatizma ağrıları ve nöralji olgularında İspanya'da kullanıldığı aynı kaynakta yer almaktadır (65). İngiltere'de sedatif, analjezik, antiseptik, nöralji, siyatik, menopozal nöroz ve lokal olarak da yaralarda kullanıldığı ve depresif durumlarda kontrendike olduğu bildirilmektedir (31). Öte yandan, antidepresif amaçla kullanımı olduğu ve giderek bu amaçla kullanımının yaygınlaşmakta olduğu ve MAO inhibisyonu yaptığı bildirilmektedir (179,196). Pulmoner amaçla (52,199) ekspektoran olarak ve Ruslar tarafından bronşiyal astım tedavisi için kullanıldığı bildirilmektedir (101). Haricen, sadece gut ve romatizma için değil, aynı zamanda sulu ekstresinin saç dökülmesine karşı kullanıldığı da belirtilmektedir (56). Zeytinyağındaki taze yapraklarının, yine harici yara ülserasyonlarında kullanıldığı, dahilen fotosensitizasyona yol açmasına (56) karşın, güneş yanıklarında ve kozmetik olarak kullanılabilirdiği bildirilmekte, ancak, kozmetik preparatlarda kullanımının çok az düzeyde olduğu belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda, antitüberküler (56,130) etkileri bildirilen

H.perforatum, Sovyetler Birliği'nde daha çok enfeksiyonlara karşı, A.B.D'nde ise besin prezervasyonunda kullanılmaktadır (182). Koleretik etkili (56,130) ve sarılığa karşı kullanıldığı söylenen bu bitki, aynı zamanda diüretik etkiye de sahiptir (56,73,196).

Rusya, Çekoslovakya, Polonya ve Romanya gibi Doğu Avrupa ülke farmakopelerinde diüretik ve astrenjan olarak yer alan *H. perforatum*'un kullanımı özellikle Avrupa'da giderek yaygınlaşmaktadır. Ürolojik amaçla Enuresibletten(R), Incontinura(R), Rhoviral(R) adları ile de nörolojik amaçla satışa sunulmuş preparatları bulunmaktadır (196). Nitekim, son yapılan çalışmalar ile de antidepresif etkinliği tekrar doğrulanmıştır (140). Antidepresif etkisinin, "hiperisin" adındaki kimyasal bileşiğin monoaminoksidaz (MAO) inhibisyonu yapmasıyla olduğu düşünölmektedir (65,182,196). Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar, bu bitkinin MAO inhibisyonu yapan bileşiğinin "hiperisin" olamayacağı yolunda kanıtlar sergilemektedir (159).

Literatürde *Hypericum calycinum*'un etnomedikal kullanımına ilişkin herhangi bir rapora rastlanmamıştır. Deneysel olarak gerçekteştirilen bir çalışmada bu bitkinin tüm topraküstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin insan kolon karsinomunda sitotoksik etkisi görölmüştür (52). Diğer bir deneysel çalışmada ise *H.calycinum*'un çeşitli bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkileri gözlenmiştir (165). *H. calycinum*'un kimyasal bileşimine baktığımızda *H. perforatum*'a benzer maddelerin bulunduğu görölmekte, ancak *H.perforatum*'dan farklı olarak hiperisin'in eser miktarlarda bulunduğu anlaşılmaktadır (122,162).

Hypericum perforatum L.'un bileşimine bakıldığında tanen, uçucu yağ, flavonoidler (rutin, hiperozit, kersetol) hiperisin, psödohiperisin, kolin, glikozitler, alkoloidler, çiçeklerinde de karotenoidler bulunduğu görölmektedir (31,56).

3. YÖNTEM VE GEREÇLER

3.1. Bitkisel Materyal

İnegöl-Domaniç karayolu civarından toplanıp gölgede kurutulduktan sonra herbaryum örnekleri alınmış *Hypericum perforatum* L. ve *Hypericum calycinum* L. bitkilerinin herbirinin herbasından 50 g alınıp % 50 (h/h) alkol-su ile ekstre edilmiş, ekstre süzöldükten sonra vakum altında alkolü uzaklaştırıldıktan sonra liyoflizasyon ile kuru ekstre elde edilmiştir. Ekstre verimleri *H. perforatum* ve *H. calycinum* için sırasıyla % 27.4 ve % 29.4 (a/h) olarak hesaplanmıştır.

3.2. Hayvanlar

Tüm çalışmalarda 30-45 g ağırlığında yetişkin erkek albino fareler kullanılmıştır. Fareler, farmakolojik deneylerin öncesinde $20 \pm 6^{\circ}\text{C}$ de, iyi havalandırılmış odalarda yaşatılmıştır. Ayrıca, deneyler öncesinde hayvanların, gürültü vb. stres yaratan koşullardan olabildiğince uzak tutulmalarına özen gösterilmiştir. Beslenmeleri amacıyla standart yem palletleri verilmiş istedikleri kadar yem ve su tüketmelerine izin verilmiştir.

3.3. Farelerde yüzme dayanıklılık testi

Farelerde yüzme dayanıklılık testi için kullanılan yöntem daha önce literatürde tanımlanmıştır (14,146,155). Kısaca belirtilecek olursa, her grupta beşer hayvan olmak üzere üç ayrı gruptan oluşan erişkin erkek albino fareler (30-45 g) kullanıldı. Bir grup kontrol olarak kullanılmış, diğer gruba ise 250 mg/kg dozlarda intraperitoneal olarak *Hypericum perforatum* ve *Hypericum calycinum* ekstrelerinden serum fizyolojik içinde hazırlanan çözeltilerden iniekte edildi. Kontrol hayvanlarına ise aynı hacimde serum

fizyolojik verildi. Maksimum injeksiyon hacmi olarak 0.2 ml nin aşılmasına özen gösterildi. İnjesiyonlardan bir saat sonra tüm fareler içinde 26-28°C de ve 15 cm lik derinlik sağlayacak biçimde su dolu bir plastik kap içinde yorulana kadar yüzdürüldüler. Bu yüzmeye öncesi bir saatlik dönem sırasında hayvanların davranışları gözlemlendi ve fark edilen değişimler not edildi.

Yüzme testinin bitiş noktası olarak hayvanların 20 sn suya batık olarak kaldığı an belirlendi ve bu noktada hayvan su içinden çıkarılarak her bir hayvan için yüzme süresi not edildi. Her grup için ortalama yüzme zamanları hesaplandı.

3.4. Farelerde "Tail-Flick" Testi

Farelerde "Tail-flick" testi daha önce tanımlanmış olan yöntemler esas alınarak yapılmıştır (26,54). Bu testin uygulaması için her grupta beşer fare olmak üzere üç grup fare kullanıldı. Gruplardan birincisine, kontrol olarak 0.1 ml serum fizyolojik enjekte edildi. Diğer iki grup fareye ise 250 mg/kg intraperitoneal yolla serum fizyolojik içinde hazırlanmış *Hypericum perforatum* ve *Hypericum calycinum* ekstrelertinden aynı hacimde injekte edildi. Bitki ekstraktları de 0.2 ml yi geçmeyen hacimlerde verildi. İnjesiyonlardan yarım saat sonra farelerin kuyruklarına birer damar pensu (Bull clamp) tutturularak hayvanın reaksiyon zamanı bir kronometre yardımı ile ölçüldü. Burada gözlenmesi gereken reaksiyon hayvanın dönerek kuyruğundaki pensu ısırma ve pensten kurtulmaya yeltenmesidir. Her grup için reaksiyon sürelerinin ortalamaları hesaplandı.

3.5. Farelerde "Rota-rod" (Zorlamalı Motor Aktivite) Testi

Lökomotor aktivite testi olarak da adlandırılan bu farmakolojik test daha önce tanımlanan yöntemlere göre uygulandı (54,102,170). Bu amaçla, Ugo Basile (Varese,

İtalya) firmasınca üretilmiş olan "Rota-rod" cihazı (No.7600) kullanıldı. Deneyin gerçekleştirilmesi için 20 adet erişkin erkek fare alınarak bir hafta süreyle günde üç kez ikişer dakikalık seanslar halinde "Rota-rod" cihazının beş santim çapında yavaşça dönen (dakikada 60 tur hızda) çubuğu üzerinde yürütüldü. Böylece hayvanlar "Rota-rod" cihazına alıştırlarak eğitildiler (training). Bu farelerden eğitim kabul etmeyen beş adedi elimine edilerek bitki ekstralarının test edilerek bitki ekstralarının test edilmesi amacıyla beşer fareden oluşan üç deney grubu oluşturuldu. Belirtilen eğitim süresinin sonunda, "Rota-rod" döner çubuğu üzerinde 2.5 dakikadan az süre ile kalabilen hayvanlar eğitilmemiş kabul edilip deneylerde kullanılmadılar. Gruplardan ilkinde kontrol amacıyla 0.1 ml serum fizyolojik diğer gruplara da serum fizyolojik içinde hazırlanmış *Hypericum perforatum* ve *Hypericum calycinum* ekstralarından 250 mg/kg dozda intraperitoneal yolla ve 0.1 ml lik hacmi geçmeyecek şekilde verildi. İnjesiyonlardan birer saat sonra tüm hayvanlar "Rota-rod" cihazına konarak yürüme süreleri ölçüldü. Testin bitiş zamanı olarak hayvanların dönen çubuk üzerinden düştüğü an belirlendi. Herbir grup için ortalama yürüme süreleri hesaplandı.

3.6. Genel Davranış ve Hipokratik Tarama

Yüzme ve "Rota-rod" testlerinde enjesiyonları takibeden bir saat boyunca hayvanlar gözlenmiştir. Farelerde sedasyon ataksi, katalepsi ve narkoz gibi santral sinir sistemi depresyonu veya canlılık, motor aktivite artışı, öfori, konvulsiyon gibi santral sinir sistemi stimülasyonu belirtilerinin ortaya çıkıp çıkmadığı kalitatif olarak gözlenmiştir (54,119)

3.7. Verilerin İstatistiksel Analizi

Hayvanlardan elde edilen tüm değerler, tek tek deneysel verilerin aritmetik ortalamasıdır. Ayrıca, ortalamanın standart hatası (OSH) hesaplanmış ve bu ortalama değerlerin saç tarafında (\pm) olarak verilmiştir. Her bir deneyde kullanılan hayvan sayısı (n) olarak ifade edilmiştir. Kontroller ile bitki ekstresi uygulanan hayvanlar arasında görülen farklılıklar Student t-testi ve varyans analizi uygulanarak istatistiksel açıdan araştırılmıştır (63,69). Deney sonuçları olarak elde edilen tüm verilerin istatik analizleri için IBM PS/2 Model 80 marka bilgisayarda işletilen ve BASIC programlama dilinde yazılmış bir hesaplama programı kullanılmıştır (181). Tezde kullanılan grafikler Harvard Graphics Version 3.0 kullanılarak çizilerek ve tez Lotus Manuscript Versio 2.0 programı ile yazılarak bilgisayarda hazırlanmıştır.

4. SONUÇLAR

4.1. Farelerde Yüzme Testi Sonuçları

Tez deneyleri sırasında metodolojik açıdan dikkat çeken önemli bir nokta bulunmaktadır. Tez deneyleri sırasında kontrol grubu için ölçülen ortalama yüzme süresinin daha önce literatürde belirtilen (14,146) sürelerin yaklaşık 2.5 katı kadar uzun olduğu görülmektedir. Çelişkili gözükken bu durumun açıklaması farelerin yüzdüğü suyun sıcaklığındaki farklılık ile açıklanabilir. Literatürde belirtilen bu ölçümler 24-26°C lik su sıcaklığında gerçekleştirilmişken (14,146), deneylerimiz 26-28°C lik su sıcaklığında yürütülmüştür. Daha önceden de belirtildiği gibi deney hayvanlarının içinde yüzdürüldüğü su sıcaklığı son derece büyük önem taşımaktadır. Yüzme testindeki su sıcaklığının düşmesi hem fiziksel hem de emosyonel yönden fareleri etkilemekte ve yüzme sürelerinin kısalmasına neden olmaktadır (46,76,106). Orta derecede düşük su sıcaklığı bile deney hayvanlarında soğuk stresi yaratırken (76) ileri derecede soğuk su ise hayvanların metabolizmasını ve bu arada çizgili kas performansını olumsuz yönde etkilemektedir (46).

Farelere 250 mg/kg dozda intraperitoneal olarak verilen *Hypericum perforatum* ve *Hypericum calycinum* extrelerinin yüzme dayanıklılık süresini istatistiksel yönden anlamlı ölçüde ($p < 0.05$) kısalttığı görülmektedir (Şekil 3; Tablo 2). Bu testte, *H. perforatum* ve *H. calycinum*'un yüzme performansı üzerindeki etkilerinin aşağı yukarı eşit potence oluştuğu görülmektedir.

4.2. Farelerde "Tail-Flick" Testi Sonuçları

250 mg/kg dozda intraperitoneal olarak uygulanan her iki *Hypericum* ekstresinin de farelerde "Tail-Flick" reaksiyon zamanını istatistiksel açıdan anlamlı ($p < 0.05$) bir biçimde uzattığı görülmektedir. Bu bulgu her iki bitki ekstresininde analjezik etkilerinin olduğunu göstermektedir (Şekil 4; Tablo 3). Burada eşit dozlarda uygulanan *Hypericum calycinum* ekstresinin *Hypericum perforatum* ekstresine göre daha fazla analjezik etkisinin olduğu görülmektedir. Ancak, bu iki *Hypericum* ekstresinin analjezik etkileri arasında görülen bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p > 0.10$).

4.3. Farelerde "Rota-Rod" Testi Sonuçları

Bir hafta süreyle eğitim (training) alan farelere aynı dozlarda (250 mg/kg) intraperitoneal olarak uygulanan *Hypericum perforatum* ve *Hypericum calycinum* ekstrelerinin "Rota-rod" performansını önemli ölçüde kısalttığı görülmektedir (Şekil 5; Tablo 4). Lökomotor aktivitede ("Rota-rod" performansında) görülen bu kısalma istatistiksel açıdan da oldukça anlamlıdır ($p < 0.001$). Eşit dozlarda uygulanan her iki *Hypericum* ekstrenin de farelerde lokomotor aktiviteyi aşağı yukarı eşit ölçüde azalttığı anlaşılmaktadır.

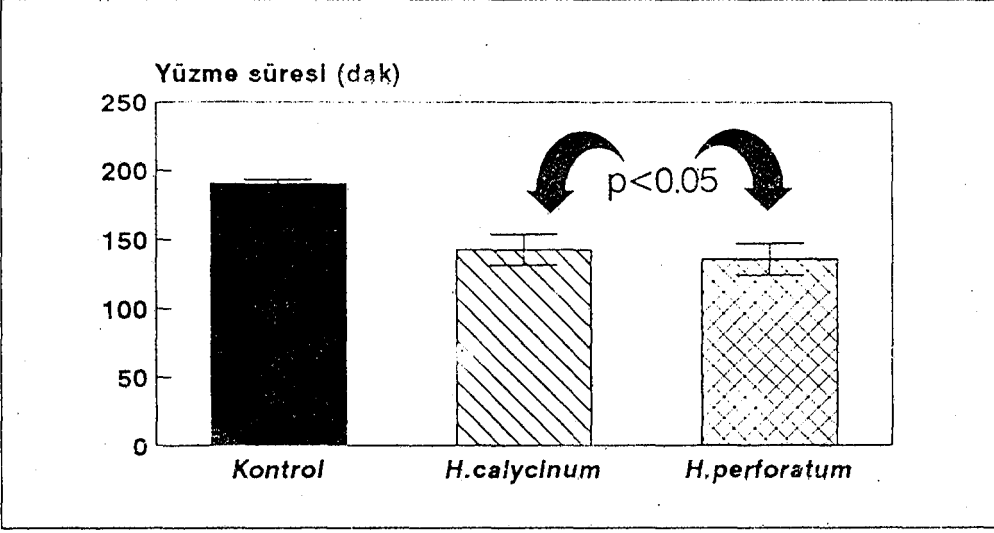
4.4. Genel Davranış ve Hipokratik Tarama

Yüzme ve "Rota-rod" testlerinde intraperitoneal olarak verilen bitki ekstrelerinin injeksiyonunu izleyen bir saat boyunca hayvanlar kalitatif olarak gözlenmiştir. *Hypericum* ekstrelerinin injeksiyonundan sonra sedasyon, ataksi ve katelepsi gibi santral sinir sistemi depresyonuna ilişkin belirtilerin ortaya çıktığı gözlenmiştir. Bunun dışında, uygulanan dozda (250 mg/kg) yüzme, "Tail-flick" ve "Rota-rod" testlerinin birkaç gün sonrasında bile hiçbir hayvanın ölmediği dikkat çekmektedir.

Tablo 2 *Hypericum calycinum* (HC) ve *Hypericum perforatum* (HP) bitkilerinden hazırlanan %50 alkol-sulu ekstrelerin farelerde yüzme performansı üzerine etkileri (n: her deney grubunda kullanılan deney hayvanı sayısı, OSH: ortalamanın standart hatası)

| Grup | Yüzme süresi \pm OHS (dak) | n | İstatistik anlam |
|---------|---------------------------------|---|-------------------|
| Kontrol | 191 \pm 2.52 | 5 | |
| HC | 141.75 \pm 11.16 | 5 | p<0.05 F=29 |
| HP | 135.75 \pm 11.52 | 5 | p<0.05 F=28.03 |

Farelerde Yüzme Testi



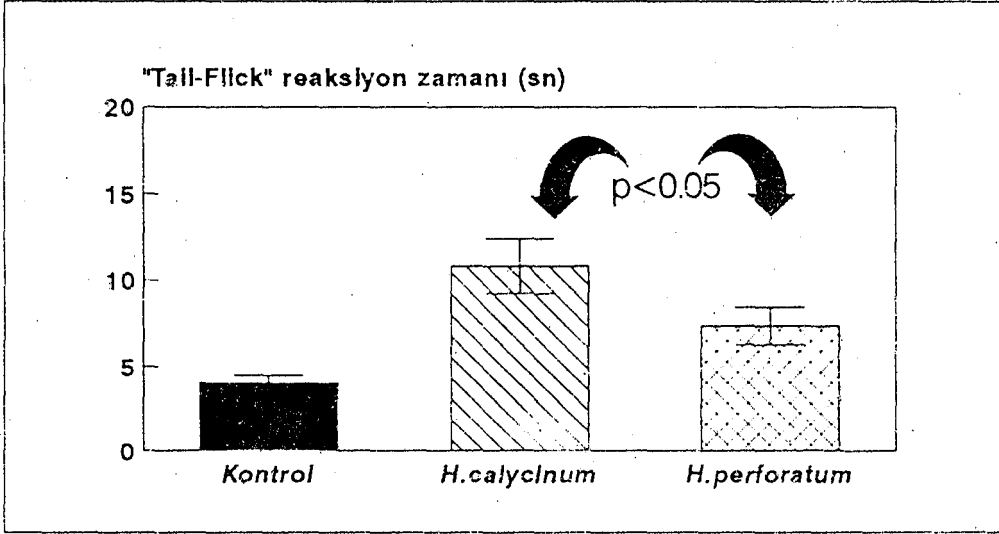
Vertikal çizgiler \pm standart hataları göstermektedir

Sekil 3 Farelerde yüzme dayanıklılık testi sonuçları

Tablo 3 *Hypericum calycinum* (HC) ve *Hypericum perforatum* (HP) bitkilerinden hazırlanan %50 alkol-sulu ekstrelerin farelerde "Tail-Flick" reaksiyon zamanı üzerine etkileri (n, herbir deney grubunda kullanılan deney hayvanı sayılarını; OSH, ortalama değerlerin standart hatalarını göstermektedir).

| Grup | Reaksiyon zamanı \pm OSH (sn) | n | İstatistik anlam |
|---------|---------------------------------------|---|-----------------------|
| Kontrol | 4.04 \pm 0.43 | 5 | |
| HC | 10.79 \pm 1.59 | 5 | p < 0.05 F = 78.5 |
| HP | 7.35 \pm 1.08 | 5 | p < 0.05 F = 24.15 |

Farelerde Analjezik Aktivite

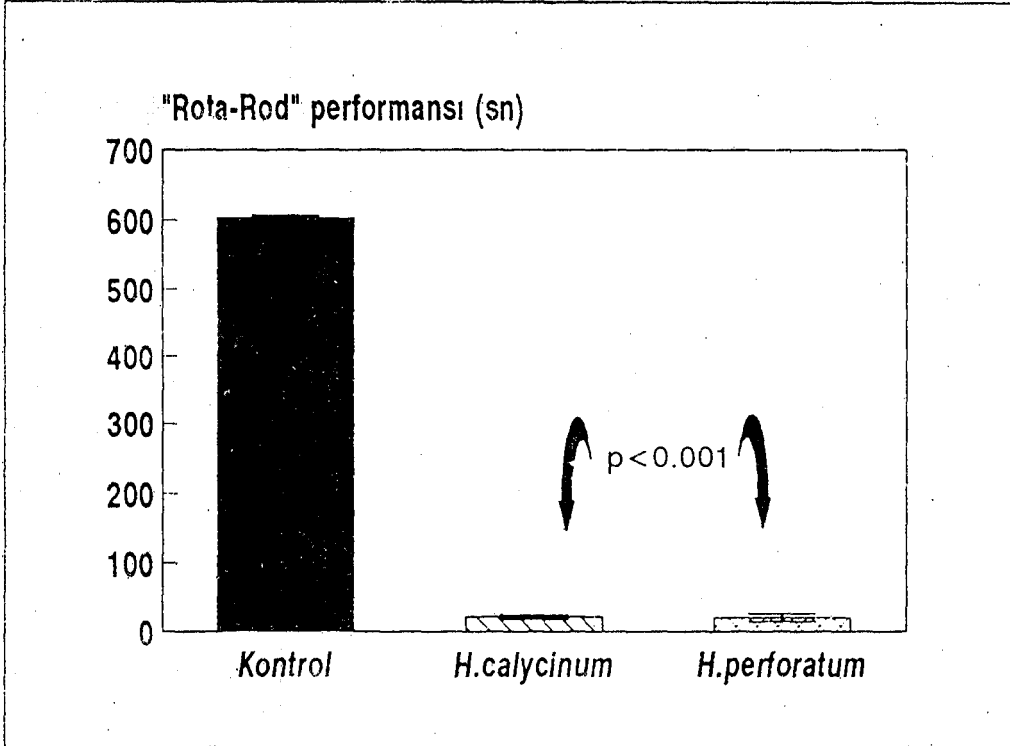


Sekil 4 Farelerde "Tail-Flick" testi sonuçları

Tablo 4 *Hypericum calycinum* (HC) ve *Hypericum perforatum* (HP) bitkilerinden hazırlanan %50 alkol-sulu ekstrelerin farelerde "Rota-Rod" reaksiyon zamanı üzerine etkileri (n, herbir deney grubunda kullanılan deney hayvanı sayılarını; OSH, ortalama değerlerin standart hatalarını göstermektedir).

| Grup | Düşme zamanı \pm OHS (sn) | n | İstatistik anlam |
|---------|--------------------------------|---|-------------------------|
| Kontrol | 604.20 \pm 3.59 | 5 | |
| HC | 22 \pm 3.59 | 5 | p < 0.001 F = 400.77 |
| HP | 21 \pm 5.71 | 5 | p < 0.001 F = 246.84 |

Farelerde Lökomotor Aktivite



Sekil 5 Farelerde "Rota-Rod" testi sonuçları

5. TARTIŞMA

Bu tez kapsamında ele alınan bitkilerden *Hypericum perforatum* gerek kimyasal gerekse farmakolojik açıdan oldukça fazla araştırılmış olan bir bitkidir. Bileşiminde flavonoid, lignan, terpenik ve kinoid yapıda maddelerin yer aldığı bilinmektedir (122,136). Bitkinin halk arasında yara iyi edici, antiseptik olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Bundan başka mide ülseri ve mide-barsak hastalıkları, şeker hastalığı, sarılık ve diğer karaciğer-safra kesesi hastalıklarında da etnomedikal olarak kullanıldığı görülmektedir (18,143). Ayrıca, haricen inflamasyon ve hemoroidlerde, romatizma, siyatik ve koksajilerde yine halk arasında kullanılmaktadır (31,56). Rusya'da bronşial astım tedavisi için ekspekteran olarak kullanıldığı bildirilmektedir (52,56,199). *H. perforatum*'un halk arasında kullanımının ötesinde bilimsel olarak deneysel çalışmalarda kanıtlanmış olan ve gelecek için önem taşıyan etkileri de bildirilmiştir. Bunlar arasında, antiviral (3,167), anti HIV (16,109,198), hepatoprotektif (147) ve immunostimulan (53) etkiler önem kazanmıştır.

Ancak, bu tez kapsamında ele alınan aktiviteler daha çok santral sinir sistemini ilgilendirmektedir. İspanya'da antiepileptik ve antihisterik, stimulan ve analjezik olarak kullanıldığı bildirilmektedir (65). İngiltere'de de sedatif ve analjezik olarak nörolojik amaçlarla, siyatik, menapozomal nevroz durumlarında kullanıldığı bildirilmektedir (31). Depresif semptomlar gösteren kadınlarda bu bitkiyle yapılan klinik çalışmalarda anksiyete, anoreksi, ilgi kaybı, hipersomnia veya insomnia gibi depresyon belirtilerinin önemli ölçüde düzelme gösterdiği anlaşılmıştır (132). Batı avrupa ülkelerinde nörolojik amaçla satışa sunulmuş olan ve *H.perforatum* ekstresi içeren ticari müstahzarlar bulunmaktadır (196). Nitekim, son çalışmalarla *H.perforatum*'un antidepresif etkinliği doğrulanmıştır (140).

Bu antidepresif etkinin mono amin oksidaz (MAO) inhibisyonu ile ilgili olduğu sanılmaktadır. Gerek bitkinin (179,196) gerekse bileşiminde bulunan hiperisin isimli kinoid yapılı bileşiğin (65,182,196) MAO inhibisyonu yaptığı gösterilmiştir. Çalışmalarımızda elde ettiğimiz bulgular *H.perforatum*'un halk arasında bilinen analjezik ve klinikte yararlanılan antidepresan etkinliğini doğrulamaktadır. Bu bitkinin "Tail- Flick" testi ile analjezik etkisi deneysel olarak ilk kez bu tez çalışmasında kanıtlanmıştır. Ayrıca, *H.perforatum*'un oldukça iyi bilinen antidepresan etkisinin de doğrulanmasında "Rota-Rod" lokomotor aktivite ve yüzme dayanıklılık testleri de ilk kez bu tez çerçevesinde değerlendirilmiştir. Daha önce de belirtildiği gibi, bu etkilerin MAO inhibisyonundan kaynaklandığı ve bundan da hiperisin'in sorumlu olduğu düşünülebilir. Ancak, *H. calycinum* ile yaptığımız çalışmalarda da gerek analjezik gerekse santral sinir sisteminde depresan aktiviteler saptanmıştır. *H. calycinum*'un bileşiminde ancak eser oranda hiperisin bulunduğu (162) ve sözkonusu bu bitkinin "Tail- Flick" "Rota-Rod" ve yüzme testlerinde *H. perforatum*'a hemen hemen eşdeğer bir etki gösterdiği dikkate alınırsa analjezik ve santral sinir sisteminde depresan etkilerin hiperisin'in MAO inhibisyonu yapıcı etkisi ile bağlantılı olmadığı yargısına varılabilir. Her ne kadar MAO inhibisyonunun deney hayvanlarında santral serotonin düzeylerinin artmasına neden olduğu ve analjezik etki ile spontan motor aktivite inhibisyonu oluşumuna katkıda bulunduğu gösterilmişse de MAO inhibisyonunun tek başına analjezik etki oluşturmaya yeterli olmadığı belirtilmektedir (25,92). Gerçekleştirilen son çalışmalar da *Hypericum perforatum* ile oluşan MAO inhibisyonundan hiperisin in sorumlu olmadığını düşündürmektedir (159).

Hypericum calycinum'un santral sinir sistemi depresyonu ve MAO inhibisyonu yaptığına ilişkin en ufak bir etnomedikal ve deneysel farmakolojik bir kanıt bulunmamaktadır. Üstelik bu bitkinin biyolojik aktivitesi üzerinde çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Bildirilen biyolojik aktiviteler arasında *H.calycinum*'un toprak üstü

kisimlerinden hazırlanan petrol eterli ekstrelerin sitotoksik aktivitesi belirtilmektedir (52). Belirtilen diğer aktiviteler ise *in vitro* antibakteriyel ve antifungal etkilerdir (165). *H.calycinum*'un kimyasal bileşimine baktığımızda *H. perforatum*'a benzer maddelerin bulunduğu, ancak *H.perforatum*'dan farklı olarak hiperisin'in eser miktarlarda rastlandığı anlaşılmaktadır (122,162).

Bu durum, *H. calycinum* ile hazırladığımız ekstrenin analjezik aktivitesinden, "Rota-Rod" lökomotor aktivite azalmasından ve yüzme performansı düşmesinden sorumlu etken maddesinin hiperisin olmadığını düşündürmektedir. Kimyasal bileşim olarak *H.perforatum* ve *H. calycinum*, hiperisin dışında, büyük benzerlik gösterdiğinden MAO inhibe edici ve santral sinir sistemi deprese edici etkilerinin benzer(aynı) maddeler tarafından oluşturulduğu düşünülebilir. Gerçekten de *H.perforatum*'un hiperisin içermeyen fraksiyonlarının daha güçlü MAO inhibisyonu yaptığı çok yeni çalışmalarla saptanmıştır (159).

Yine çalışmalarımızla elde ettiğimiz bulgular, *H.calycinum*'dan hazırlanacak ekstrelerin de tıpkı *H.perforatum*'dan hazırlanan ticari müstahzarlar gibi sedatif ve antidepresan olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Üstelik, bu bitkiden hazırlanacak ekstreler, *H.perforatum*'dan hazırlanan ticari müstahzarlara göre bir üstünlük taşıyacaktır: Daha önce de belirtildiği gibi *H.perforatum* bazı canlı türlerinde özellikle albino ve açık saç ile ten rengine sahip canlılarda fotosensitizasyon oluşturma eğilimi taşımaktadır. Bitkide görülen bu fotosensitizasyon eğiliminin hiperisin'den kaynaklandığı bildirilmektedir (56). Bu durumda, aynı etkileri gösteren ve yaklaşık olarak eşit etki potansi gösteren fakat hiperisin içermeyen *Hypericum calycinum* ekstreleri nörolojik amaçlı kullanım yönünden *H.perforatum* ekstrelerine göre avantajlı gibi gözükmektedir.

Bu tez çalışmasında elde edilen olumlu gözlem ve bulgularımıza karşın, *Hypericum calycinum*'un belirlenen etkileri santral sinir sistemine ilişkin farklı farmakolojik deney

sistemlerinde doğrulanması gerekmektedir. Çünkü, santral sinir sistemi organizmanın en karmaşık yapı ve fonksiyon özelliklerini taşıyan sistemdir. Bu çok fonksiyonlu sistemde *H. calycinum*'un çeşitli endojen sistemlerde test edilerek etkinlik, potens, güvenilirlik ve olası yan etkilerinin belirlenmesi gerekmektedir. Özellikle, *H. calycinum*'un monoaminoksidaz enzimi üzerindeki etkileri test edilmelidir. Ayrıca, bu *Hypericum* türlerinin endojen opiyat sistemi ve bu sistemin tez çalışmasında gözlenen etkiler arasındaki ilişkileri ayrıntılı bir biçimde araştırılmalıdır. Bu çalışmalar, yan etki ve bağımlılık potansiyeli düşük ilaç geliştirme açısından önem taşıyacaktır. Ayrıca, "hiperisin" taşımadığı bildirilen diğer *Hypericum* türleriyle de farmakolojik ve toksikolojik çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- 1- Abbott, F.V., Melzack, R. and Leber, B.F.: Morphine analgesia and tolerance in the tail-flick and formalin tests: dose-response relationships. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 17: 1213-1219, 1982.
- 2- Abbott, F.V., Melzack, R. and Samuel, C.: Morphine analgesia in tail-flick and formalin pain tests in mediated by different neural systems. *Exp. Neurol.* 75: 644-651, 1982.
- 3- Abraham, Z., Bhakuni, D.S., Garg, H.S., Goel, A.K., Mehrotra, B.N. and Patnaik, G.K.: Screening of Indian plants for biological activity. Part XII. *Ind. J. Exp. Biol.* 24: 48-68, 1986.
- 4- Advani, S.V., Geenen, D., Malhotra, A., Factor, S.M. and Scheuer, J.: Swimming causes myosin adaptations in the rat cardiac isograft. *Circ. Res.* 67: 780- 783, 1990.
- 5- Advokat, C.: Environmental modulation of analgesic tolerance induced by morphine pellets. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 14: 139-142, 1981.
- 6- Advokat, C.: Evidence for conditioned tolerance of the tail-flick reflex. *Behav. Neural Biol.* 29: 385-389, 1980.
- 7- Advokat, C.: Analgesic tolerance produced by pellets is facilitated by analgesic testing. *Pharmacol. Biocem. Behav.* 14: 133-137, 1981.
- 8- Advokat, C: Effect of environmental novelty and electroconvulsive shock on the tail-flick reflex after placebo or morphine pellet implants. *Psychopharmacology* 80: 351-354, 1983.

- 9- Ahumada, F., Trincido, M.A., Arellano, J.A., Hancke, J. and Wikman, G.: Effect of certain adaptogenic plant extract on drug induced narcosis in female and male mice. *Phytother. Res.* 5: 29-31, 1991.
- 10- Akil, H., Mayer, D.J. and Libeskind, J.C.: Antagonism of stimulation-produced analgesia by naloxone, a narcotic antagonist. *Science* 191, 961-962, 1976.
- 11- Akil, H. and Libeskind, J.C.: Monoaminergic mechanisms of stimulation produced analgesia. *Brain. Res.* 94: 279-296, 1975.
- 12- Araya, O.S. and Ford, E.J.H.: An investigation of photosensitization caused by ingestion of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) by calves. *J. Comp. Pathol.* 91: 135-141, 1981.
- 13- Armstrong, R.B. and Laughlin, M.H.: Is rat soleus muscle recruited during swimming? *Brain Res.* 258: 173-176, 1983.
- 14- Aydın, S., Öztürk, Y., Başer, K.H.C., Kırimer, N. and Kurtar-Öztürk, N.: Effects of *Alcea pallida* L.(A.) and *Tilia argentea* Desf.ex.DC infusions on swimming performance in mice. *Phytother. Res.* 6: 219-220, 1992.
- 15- Barasi, S. and Duggal, K.N.: The effect of local and systemic application of dopaminergic agents on tail-flick latency in rat. *Eur. J. Pharmacol.* 117: 287-294, 1985.
- 16- Barbofollo, C. and Chisari, G.: Antimicrobial activity of three *Hypericum* species. *Fitoterapia* 58: 175-177, 1987.
- 17- Bartholini, G., Lloyd, K.G., Scatton, B., Zivkovic, B and Morselli, P.L.: The GABA hypothesis of depression and antidepressant drug action. *Psychopharmacol. Bull.* 21: 385-388, 1985.
- 18- Başer, K.H.C., Honda, G. and Miki, W.: *Herbs drugs and herbalists in Turkey*. Studia Cultures of Asia and Africa, Tokyo, 1986.

- 19- Baxter, K.G.: Transcutaneous nerve stimulation. *J. Kansas Med. Soc.* 84, 18-26, 1983.
- 20- Baytop, T.: *Türkiye'nin tıbbi ve zehirli bitkileri*. İst. Ün. Yay. no:1039, İstanbul, 1963.
- 21- Baytop, T.: *Türkiye'de bitkiler ile tedavi*. İst. Ün. Yay. no: 3255, İstanbul, 1984.
- 22- Belcheva, I., Stoytchev, T. and Alov, P.: Comparative study of the anticonvulsive activity of N-aminomethylpiperazine-3,3-diethyl-2,4-pyridinediones with the activity of known antiepileptic agents. *Acta Physiol. Pharmacol. Bulg.* 10: 59-63, 1984.
- 23- Bentson, G.G. and Walker, J.M.: Effect of opiate receptor blockade on pain sensitivity in the rat. *Brain. Res. Bul.* 2: 157-159, 1977.
- 24- Bhargava, K.P. and Singh, N.: Antistress activity of *Ocimum sanctum* Linn. *Ind. J. Med. Res.* 73: 443-451, 1981.
- 25- Bianchi, M., Mantegazza, P. and Panerai, A.E.: Effects of two different reversible monoamine oxidase A inhibitors on nociceptive thresholds in rat. *Eur. J. Pharmacol.* 219: 113-116, 1992.
- 26- Bloom, A.S., Dewey, W.L., Harris, L.S. and Brosius, K.K.: The correlation between antinociceptive activity of narcotics and their antagonists as measured in the mouse tail-flick test and increased synthesis of brain catecholamines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 198: 33-41, 1976.
- 27- Bolaert, P.E., Gimenez, M., Robinherbier, P., Escanye, J.M., Malle, J.P., Robert, J. and Larcan, A.: Respective effects of Malnutrition and phosphate depletion on endurance swimming and muscle metabolism in rats. *Acta. Physiol. Scand.* 144: 1-8, 1992.
- 28- Bonnet, K.A. and Petterson, K.E.: A modification of the jump-flick technique for measuring pain sensivity in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 3: 47-55, 1975.

- 29- Bowery, N.G., Hill, D.R., Hudson, A.I., Doble, A., Middlemiss, D.N., Shaw, J. and Turnbull, M.: (-)Baclofen decreases neurotransmitter release in mammalian CNS by an action at novel GABA receptor. *Nature* 283: 92-94, 1980.
- 30- Brenkhman, I.I.: *Man and biologically active substances: the effect of drugs, diet and pollution on health*, pp. 1-71. Pergamon, New York, 1980.
- 31- *British herbal pharmacopoeia*. British herbal medicine association, part 1, West Yorks, p.117, 1976.
- 32- Caccia, S., Carli, M., Garattini, S., Paggesi, E., Rech, R. and Samanin R.: Pharmacological activities of clobazam and diazepam in the rat: relation to drug brain levels. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 243: 275-283, 1980.
- 33- Calvino, B., Levesque, G. and Besson, J.M.: Possible involvement of the amygdaloid complex in morphine analgesia as studied by electrolytic lesions in rats. *Brain. Res.* 233: 221-226, 1982.
- 34- Capozza, R.C., Schmitt, E.E. and Sendelbeck, L.R.: Development of chronometers for narcotik antagonists. *Natl. Inst. Drug. Abuse. Res. Monogr. Serv.* 4: 39-42, 1975.
- 35- Cazalets, J.R., Menard, I., Cremieux, J. and Ciarac, F.: Variability as a characteristic of immature motor systems an electromyographic study of swimming in the Newborn rat. *Behav. Brain Res.* 40: 215-226, 1990.
- 36- Celedova, L., Krsiak, M. and Janku, I.: Immunomodulator adamantylamide dipeptide antagonizes benzodiazepine-induced rota-rod deficit in mice. *Acta Nerv. Super. Praha* 31: 291-293, 1989.
- 37- Cervo, L., Grignashi, G., Rossi, C. and Samanin, R.: Role of central serotonergic neurons in the effect of sertraline in rats in the forced swimming test. *Eur. J. Pharmacol.* 196: 301-305, 1991.

- 38- Cervo, L. and Samanin, R.: Evidence that dopamine mechanisms in the nucleus accumbens are selectively involved in the effect of desipramine in the forced swimming test. *Neuropharmacology* 26: 1469-1472, 1987.
- 39- Chang, H.M. and But, H.: *Pharmacology and applications of Chinese materia medica*. Vol. 1, 1986.
- 40- Chipkin, R.E., Dewey, W.L., Harris, L.S. and Lovental, W.: Effect of propranolol on antinociceptive and withdrawal characteristics of morphine. *Biochem. Behav.* 3: 843-847, 1975.
- 41- Chojnacka-Wojcik, E., Tatarczynska, E., Wiczynska, B., Lewandowska, A. and Przegalinski, E.: The pharmacological profile of chlordesmethyldiazepam and other benzodiazepines. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 38: 207-213, 1986.
- 42- Chojnacka-Wojcik, E., Tatarczynska, E., Golembiawska, K. and Przegalinski, E.: Involvement of 5-HT_{1A} receptors in the antidepressant like activity of gepirone in the forced swimming tests in rats. *Neuropharmacology* 30: 679-690, 1991.
- 43- Christie, M.J., Trisdikoon, P. and Cheaher, G.B.: Tolerance and cross tolerance with morphine resulting from physiological release of endogenous opiates. *Life Sci.* 31: 839-845, 1982.
- 44- Connor, J., Connor, T., Marshall, P.B., Raid, A. and Turnbull, M.J.: The pharmacology of *Avena sativa*. *J. Pharm. Pharmacol.* 27: 92-98, 1975.
- 45- Cooper, M.R and Jhonson, A.W.: *Poisonous plants in Britain*. HMSO, London, p.132, 1984.
- 46- Cordova, A., Gimenez, M. and Escanero, J.F.: Effect of swimming to exhaustion at low temperatures, on serum Zn, Cu, Mg and Ca in rats. *Physiol. Behav.* 48: 595-598, 1990.

- 47- Costa, M. and Furness, J.B.: Neuronal peptides in the intestine. *Brit. Med. Bull.* 38 : 247-252, 1982.
- 48- Cowan, A., Lewis, J.W. and Macfarlane, I.R.: Agonist and antagonist properties of buprenorphine, a new antinociceptive agent. *Br. J. Pharmacol.* 60: 537-545, 1977.
- 49- Czernecka, E., Kowalczyk, K. and Kozbial, H.: Interaction between central effects of ethanol and tricyclic antidepressants, imipramine and amitriptyline in mice and rats. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 41: 231-237, 1989.
- 50- Czarnecka, E. and Pietrzak, B.: The effect of doxepine on the central action of ethanol. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 43: 471-478, 1991.
- 51- Davis, P.H.: *Flora of Turkey and East Aegean Islands*. Vol.2, Edinburgh, p.400, 1967.
- 52- Decostered, L.A., Stoeckli-Evans, H., Chapuis, J.C., Sordat, B. and Hostettmann, K.: New cell growth- inhibitory cyclohexadinone derivatives from *Hypericum calycinum* L. *Helv. Chim. Acta* 728, 1833-1845, 1989.
- 53- Delavue, P., Lalloutte, P. and Tessier, A.M.: Stimulation of the phagocytic activity of reticuloendothelial system by plant drugs. *Planta. Med.* 40: 49-54, 1980.
- 54- Dhawan, B.N.: Evaluation of acute toxicity and CNS effects of natural Products in: Workshop on pharmacological techniques for study of natural products. Eskişehir, p.15-38, 1993.
- 55- Doi, T. and Jurna, J.: Intrathecal pentobarbital prevents naloxan induced facilitation of the tail-flick response in rat. *Neurosci. Lett.* 32: 81-84, 1982.
- 56- Duke, J.A.: *Handbook of Medicinal Herbs*. CRC, Boca Raton, Florida, p.242, 1985.
- 57- Dunai-Kovacs, Z. and Szekely, J.I.: Effect of apomorphine on the antinociceptive activity of morphine. *Psychopharmacology* 53: 65-72, 1977.

- 58- Dunning, B.E., Kalsson, S. and Ahren, B.: Contribution of galanin to stress induced impairment of insulin secretion in swimming mice. *Acta Physiol. Scand.* 143: 145-152, 1991.
- 59- Eisenberg, R.M.: Short-term tolerance to morphine: effects of diazepam, phenobarbital, and amphetamine. *Life Sci.* 30: 1615-1623, 1982.
- 60- Felding, S., Wilker, J., Hynes, M., Szewczak, M., Novick, W.J. Jr. and Lal, H.: A comparison of clonidine with morphine for antinociceptive and antiwithdrawal actions. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 207: 899-905, 1978.
- 61- Fernandezteruel, A., Escorinucla, R.M., Boix, F. and Tobena, A.: Picrotoxin changes the effect of imipramine and desipramine in rats in the forced swimming test. *Eur. J. Pharmacol.* 181: 35-42, 1990.
- 62- Fernandezteruel, A., Escorinucla, R.M., Boix, F., Langoni, B., Corda, M.G. and Tobena, A.: Imipramine and desipramine decrease the GABA stimulated chloride uptake, and antigabaergic agents enhance their action in the forced swimming test in rats. *Neuropsychobiology* 23: 147-152, 1990.
- 63- Finney, D.J.: *Statistical methods in biological assay.* p. 69-75. Griffin, London, 1978.
- 64- Florez, J. and Pazos, A.: Comparative effects of opioid peptides on respiration and analgesia in rats. *Life Sci.* 31: 1275-1277, 1982.
- 65- Frances, C.: Hypericum: historical study of Hypericum. In: *The history of medicinal and aromatic plants*, Adly, A. (Ed.), Hamdard Foundation, Karachi, Pakistan, p.100, 1982.
- 66- Fraytag, W.E.: Estimation of hypericin and identification of pseudohypericin in *Hypericum perforatum* L. by HPLC. *Dtsch. Apoth. Ztg.* 124: 2383-2386, 1984.

- 67- Giesler, G.J.Jr. and Liebeskind, J.C.: Inhibition of visceral pain by electrical stimulation of periaqueductal gray matter. *Pain* 2: 43-48, 1976.
- 68- Gleeson, R.M. and Atrens, D.M.: Chlorpromazine hyperalgesia antagonizes clonidine analgesia, but enhances morphine analgesia in rats tested in a hot water tail-flick paradigm. *Psychopharmacology* 78: 141-146, 1982.
- 69- Goldstein, A.: *Biostatistics. An introductory text*, pp. 51-60. Mac Millan, New York, 1964.
- 70- Goldstein, F.J., Mojaverian, P., Ossipov, M.H. and Swanson, B.N.: Elevation in analgetic effect and plasma levels of morphine by desipramine in rats. *Pain* 14: 279-282, 1982.
- 71- Gorelick, D.A., Catlin, D.H., George, R. and Li, C.H.: Beta-endorphin is behaviorally active in rats after chronic intravenous administration. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 9: 385-386, 1978.
- 72- Gray, A.P. and Guardina, W.J.: Long-acting narcotic antagonist complexes. *Natl. Inst. Drug. Abuse. Res. Monogr. Ser.* 4: 21-26, 1976.
- 73- Grieve, M.: *A modern herbal*, Penguin, New York, p.708, 1982.
- 74- Haigler, H.J. and Mittleman, R.S.: Analgesia produced by direct injection of morphine into the mesencephalic reticular formation. *Brain Res. Bull.* 3: 655-662, 1978.
- 75- Haris, R.A., Loh, H.H. and Way, E.L.: Antinociceptive effects of lanthanum and cerium in non-tolerant and morphine tolerant-dependent animals. *J. pharmacol. Exp. Ther.* 196: 288-297, 1976.
- 76- Harri, M. and Kuusela, P.: Is swimming exercise or cold exposure for rats? *Acta Physiol. Scand.* 126: 189-197, 1986.

- 77- Hayes, R.I., Bennet, G.J., Newlon, P.G. and Mayer, D.J.: Behavioral and physiological studies of non-narcotic analgesia in the rat elicited by certain environmental stimuli. *Brain Res.* 155: 69-90, 1978.
- 78- Heinz, G. and Jurna, I.: The antinociceptive effect of reserpine and haloperidol mediated by the nigrastrial system: antagonism by naloxone. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 306: 97-100, 1979.
- 79- Herman, B.H. and Goldstein, A.: Antinociception and by intrathecal dynorphin A. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 232: 27-32, 1985.
- 80- Hill, R.G. and Ayliffe, S.J.: The antinociceptive effect of vaginal stimulation in the rat is reduced by naloxan. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 14: 631-632, 1981.
- 81- Hughes, J.T.: Isolation of an endogenous compound from the brain with pharmacological properties similar to morphine. *Brain Res.* 88, 295-298, 1975.
- 82- Hughes, J.T., Smith, T.W., Kosterlitz, H.W., Fothergill, L.A., Morgan, B.A. and Morris, H.R.: Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* 258, 577-579, 1975.
- 83- Huidobra, F., Toro, J.P. and Leongway, E.: Studies on tolerance development to single doses of morphine in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 198: 318-329, 1976.
- 84- Hunskaar, S., Berge, O.G. and Hole, K.: Antinociceptive effects of orphenadrine citrate in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 111: 221-226, 1985.
- 85- Hylden, J.L. and Wilcox, G.L.: Intrathecal serotonin in mice; analgesia and inhibition of a spinal action of substance P. *Life. Sci.* 33: 785-795, 1983.
- 86- Isabel, G., Wright, D.M. and Henry, J.L.: Design for an inexpensive unit for measuring tail-flick latencies. *J. Pharmacol. Methods.* 5: 241-247, 1981.

- 87- Iversen, L.L.: Biochemical pharmacology of GABA. In: *Psychopharmacology- A Generation of Progress* (Eds. Lipton, M.A., DiMascio, A. and Killam, K.F.), Raven Press, New York, 1978, p.25-38.
- 88- Iversen, L.L.: Substans P. *Brit. Med. Bull.* 38, 277-282, 1982.
- 89- Iwamoto, E.T., Ho, I.K. and Way, E.L.: Effect of pargyline on morphine tolerance and physical dependence development in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 38: 261-268, 1976.
- 90- Jeffrys, D. and Funder, J.W.: The forced swimming test-effects of glucose administration on the response to food deprivation and adrenalectomy. *Eur. J. Pharmacol.* 205:1267-1270, 1991.
- 91- Jensen, T.S. and Smith, D.F.: Effect of emotions on nociceptive threshold in rats. *Physiol. Behav.* 28: 597-599, 1982.
- 92- Jessel, T.M.: Opiate inhibition of substance P release from the rat trigeminal nucleus, *in vitro*. *J. Physiol.* 270, 50-57P, 1977.
- 93- Johnson, A.E.: Photosensitizing toxins from plants and their biological effects. In: *Plant and Fungal Toxins*, Keeler, R.F., Tu, A.T. (Ed.), Marcel Decker Inc., New York, p.345-360, 1983.
- 94- Jurna, I., Heinz, G., Blinn, G. and Neil, T.: The effect of substantia nigra stimulation and morphine on alpha- motoneurons and the tail-flick response. *Eur. J. Pharmacol.* 51: 239-250, 1978.
- 95- Karlsson, S. and Ahren, B.: Insulin and glucagon secretion in swimming mice: effects of autonomic receptor antagonism. *Metabolism* 39: 724-732, 1990.
- 96- Karlsson, S. and Ahren, B.: Insulin and glucagon secretion in swimming mice effects of adrenalectomy and chemical sympathectomy. *J. Auton. Nerv. System* 32: 183-190, 1991.

- 97- Kauppila, T., Tanila, H., and Carlson, S. and Taira, T.: Effects of atipamezole, a novel alfa-2-adrenoceptor antagonist, in open-field, plus-maze, two compartment exploratory, and forced swimming tests in rat. *Eur. J. Pharmacol.* 205: 177-182, 1991.
- 98- Kikuchi, T., Kadota, S., Matsuda, S., Tanaka, K. and Namba, T.: Studies on the constituents of medical plants in Sri Lanka II: Isolation and structures of new gamma-pyrone and related compounds from *Hypericum mysoronse* Heyne. *Chem. Phar. Bull.* 33: 557-564, 1985.
- 99- Koe, B.K., Weissman, W.M., Welsch, W.M. and Browne, R.G.: Sertralin, 1S, 4S-n-Methyl-4-(3,4-dichlorophenyl)- 1,2,3,4-tetrahydro-1-naphthylamine, a new uptake inhibitor with selectivity for serotonin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 226: 686-695, 1983.
- 100- Kordower, J.H., Sikorszky, V. and Bordnar, R.J.: Central antinociceptive effects of lysine-vasopressin and an analogue. *Peptides* 3: 613-617, 1982.
- 101- Kostowski, W., Plaznik, A., Pucilowski, O., Trzaskowska, E. and Lipinska, T.: Some behavioral effects of chlorodesmethyldiazepam and lorazepam. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 33: 592-602, 1981.
- 102- Krsiak, M.: Timid-singly-housed mice: their value in prediction of psychotropic activity of drugs. *Br. J. Pharmacol.* 55: 141-150, 1975.
- 103- Kulkarni, S.K. and Robert, R.K.: Reversal by seretonergic agents of reserpin-induced hyperalgesia in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 83: 325-328, 1982.
- 104- Kuraishi, Y., Hirota, N., Satoh, M. and Takagi, H.: Antinociceptive effects of intratecal opioids, noradrenaline and serotonin in rats; mecanical and thermal algesic tests. *Brain-Res.* 326: 168-171, 1985.

- 105- Laguna, M.R., Villar, R.M., Cadavid, I. and Calleja, J.M.: Effects of *Phaeodactylum tricornutum* and *Dunalellia tertiolecta* extracts on the central nervous system. *Planta Med.* 56: 152-157, 1990.
- 106- Laires, M.J, and Alves, F.: Changes in plasma, erythrocyte, and urinary magnesium with prolonged swimming exercise. *Magnes. Res.* 4: 119-22, 1991.
- 107- Lalonde, R.: Acquired immobility response in weaver mutant mice. *Exp. Neurol.* 94: 808-811, 1986.
- 108- Larson, A.A.: Nociception in mice after chronic stress and chronic narcotic antagonists during maturation. *Brain Res.* 243: 324-328, 1982.
- 109- Lavie, G., Valentie, F., Levin, B., Mazur, Y., Gallo, G., Lavie, D., Weiner, D. and Meruelo, D.: Studies of the mechanisms of action of the antiretroviral psedohypericin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 5963-5967, 1989.
- 110- Levine, A.S., Morley, J.E., Wilcox, G., Brown, D.M. and Handwerker, B.S.: Tail pinch behavior and analgesia in diabetic mice. *Physiol. Behav.* 28: 39-43, 1982.
- 111- Levine, J.D., Murphy, D.T., Seidenwurm, D., Cortez, A. and Fields, H.L.: A study of the quantal (all-or-none) change in reflex latency produced by opiate analgesics. *Brain Res.* 201: 129-141, 1980.
- 112- Levy, R.A. and Proudfit, H.K.: Analgesia produced by microinjection of baclofen and morphine at brain stem sites. *Eur. J. Pharmacol.* 57: 43-55, 1979.
- 113- Li, C.H., Yamashiro, D., Tseng, L.F. and Loh, H.H.: Synthesis and analgesic activity of human endorphin. *J. Med. Chem.* 20: 325-328, 1977.
- 114- Loh, H.H., Tseng, L.f., We., E. and Li, C.H.: Beta endorphin is a potent analgesic agent. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73: 2895-2898, 1976.

- 115- Loomis, C.W., Cervenko, F.W., Jhamandas, K., Sutak, M. and Milne, B.: Analgesia and autonomic function following intrathecal administration of morphine and norepinephrine to the rat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 63: 656-662, 1985.
- 116- Maier, S.F., Drugan, R.C. and Grau, J.W.: Controllability, coping behavior and stress-induced analgesia in the rat. *Pain* 12: 47-56, 1982.
- 117- Malcangio, M., Ghelardini, C., Giotti, A., Malmberg-Aiello, P. and Bartholini, A.: CGP35348, a new GABA_B antagonist, prevents antinociception and muscle relaxant effect induced by baclofen. *Br. J. Pharmacol.* 103: 1303-1308, 1991.
- 118- Malcangio, M., Malmberg-Aiello, P., Giotti, A., Ghelardini, C. and Bartholini, A.: Desensitization of GABA_B receptors and antagonism by CGP 35348, prevent bicuculline- and picrotoxin-induced antinociception. *Neuropharmacology* 31: 783-791, 1992.
- 119- Malone, M.H.: Pharmacological approaches to natural product screening and evaluation. In : *New natural product and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity*, Wagner, H. and Wolff P. (Ed.), p.23-53, Springer, Berlin, 1977.
- 120- Mancinelli, A., Dranno, V., Stasi, M.A., Lecci, A., Boisini, F. and Meli, A.: Effect of enantiomers of propranolol on desipramin-induced anti-immobility in forced swimming test in rat. *Pharmacol. Res.* 23: 47-50, 1991.
- 121- Mantegazza, P., Parenti, M., Tommiso, R., Vita, P., Zambotti, F. and Zonta, N.: Modification of the antinociceptive effect of morphine by centrally administered diazepam and midazolam. *Br. J. Pharmacol.* 75: 569-572, 1982.

- 122- Mathis, C. and Ourisson, G.: Chemo-taxonomic study of the genus *Hypericum*. III. The distribution of saturated hydrocarbons and monoterpenes from the essential oil of *Hypericum*. *Phytochemistry* 3: 133-141, 1964.
- 123- Mayer, D.J., Wolfe, T.L., Akil, H., Corder, B. and Libeskind, S.C.: Analgesia from electrical stimulation in the brainstem of the rat. *Science* 174: 1351-1354, 1971.
- 124- Menarb, I., Cremieux, J. and Cazalet, J.R.: Non-linear development of the stroke swimming rate during rat ontogeny. *Compt. Rend. Acad. Sci. Ser. Lavie* 312: 233, 1991.
- 125- Meruelo, D., Lavie, G. and Lavie, D.: Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little toxicity at effective doses: Aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 5230-5340, 1988.
- 126- Miglecz, E., Szekely, J.I. and Dunai-Kovacs, Z.: Comparison of morphine, beta-endorphin and enkephalinamide. *Psychopharmacology* 62: 29-34, 1979.
- 127- Milne, B., Cervanko, F., Jhamadas, K., Loomis, C. and Sutak, M.: Analgesia and tolerance to intrathecal morphine and norepinephrine infusion via implanted mini-osmotic pumps in the rat. *Pain* 22: 165-172, 1985.
- 128- Mishra, M.B., Tewari, J.P. and Bapat, S.K.: A preliminary pharmacological screening of *Hypericum perforatum*. *Labdev* 3: 272, 1965.
- 129- Morato, G.S., Lemos, T. and Takahashi, R.N.: Acute exposure to maneb alters some behavioral functions in the mouse. *Neurotoxicol. Teratol.* 11: 421-425, 1989.
- 130- Morelli, I., Bonari, E., Pagni, A.M., Tomei, P.e., Menichini, F. and Amedei, L.: Selected medicinal plants. *FAD Plant Prod. Prot. Pap.* 53: 82-86, 1983.
- 131- Mousa, S., Miller, C.H.Jr. and Couri, D.: Dexamethasone and stress-induced analgesia. *Psychopharmacology* 79: 199-202, 1983.

- 132- Muldner, H. and Zoller, M.: Antidepressive effect of a *Hypericum* extract standardized to the active hypericine complex: Biochemistry and clinical studies. *Arzneim. Forsch.* 34: 918-920, 1984.
- 133- Nakazava, T., Ikeda, M., Kaneko, T. and Yamatsu, K.: Analgesic effects of dynorphine A and morphine in mice. *Peptides* 6: 75-78, 1985.
- 134- Nebeshima, T., Yamaguchi, K., Hiramatsu, M., Ishikawa, K., Furukawa, H. and Kameyama, T.: Effects of prenatal ve perinatal administration phencyclidine on the behavioral development of rat offspring. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 28: 411-418, 1987.
- 135- Nedev, H., Rolka, K., Minchev, S., Kupryzewski, G., Kolasa, K. and Kleinrok, Z.: Opiate-like peptides. Part XI. 2-[2-phenyl-1,3-indandionyl]-amides of enkephalin analogs. Synthesis and analgesic activity. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 40: 303-311, 1988.
- 136- Nielsen, H., and Arend, S.P.: Structure of the xanthonolignoid kielcorin. *Phytochemistry* 17: 2040-2041, 1978.
- 137- Nikuluna, E.M., Skrinskaya, J.A., Popova, N.K.: Role of Genotype and dopamine receptors in behavior of in bred mice in a forced swimming test. *Phychopharmacology* 105: 525-529, 1991.
- 138- Nishimura, H., Tsuda, A., Ida, Y. and Tanaka, M.: The modified forced-swim rats: Influence of rope a straw-suspension climbing behavior. *Physiol. Behav.* 43: 665-668, 1988.
- 139- Northup, L.R.: Additive effects of ethanol and Purkinje cell loss in the production of ataxia in mice. *Psychopharmacology* 48: 189-192, 1976.

- 140- Okpanyi, S.N., Weischer, M.L.: Tier experimentelle untersuchungen zur psychotropen wirksamkeit eines *Hypericum* Extractes. *Arzneim. Forsch.* 37: 10-13, 1987.
- 141- Osato, S., Onoyama, K., Okuda, S., Sanai, T., Hori, K. and Fujishima, M.: Effect of swimming excercise on the progress of renal dysfunction in rat with focal glomerulosclerosis. *Nephron* 55: 306-311, 1990.
- 142- Ossipov, M.H., Malseed, R.T. and Goldstein, F.S.: Augmentation of central and peripheral morphine analgesia by desipramine. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 259: 222-229, 1982.
- 143- Özgür, O.: Türkiye'nin tıbbi ve aromatik bitkileri. 1990 (yayınlanmamış çalışma).
- 144- Öztürk, Y.: Endojen opiyatlar ve ağrı. *Ank. Ecz. Od. Bül.* 5(5): 36-40, 1983.
- 145- Öztürk, Y.: Transkutan elektrik sinir stimülasyonu (TESS) ve ağrıların ilaçsız önlenmesi. *Ank. Ecz. Od. Bül.* 5(3), 51-53, 1983.
- 146- Öztürk, Y., Aydın, S., Başer, K.H.C., Kırımer, N. and Öztürk, N.: *Alcea pallida* L. ve *Tilia argentea* Desf.Ex.DC Bitkilerinin farelerde yüzme performansı üzerine etkileri: Antistres aktivite. 9. *Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı*. Bildiriler kitabı, Başer, K.H.C. (Ed.), 16-19 Mayıs, 1991.
- 147- Öztürk, Y., Aydın, S., Başer, K.H.C., Kırımer, N. and Kurtar- Öztürk, N.: Hepatoprotective activity of *Hypericum perforatum* L. alcoholic extract in rodents. *Phytother. Res.* 6: 44-46, 1992.
- 148- Pacifici, L., Bellucci, A., Piovesan, P., Maccari, F., Gorio, A. and Ramacci, M.T.: Counteraction on experimentally-induced diabetic neuropathy by levocarnitin acetyl. *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.* 12: 231-236, 1992.

- 149- Patrick, G.A., Dewey, W.L., Huger, F.P., Daves, E.D. and Harris, L.S.: Disposition of morphine in chronically infused rats: relationship to antinociception and tolerance. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 205: 556-562, 1978.
- 150- Patrick, G.A., Spaulding, T.C., and Harris, L.S.: Relationship of brain morphine levels to analgesic activity in acutely treated mice and rats and pellet implanted mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 193: 876-883, 1975.
- 151- Paul, V., Balasubramanian, E., Sheela, S. and Krishnamoorthy, M.S.: Effects of endosulfan and aldrin on muscle coordination and conditioned avoidance in rats. *Pharmacol. Toxicol.* 71: 254-257, 1992.
- 152- Pedigo, N.W. and Dewey, W.L.: Comparison of the antinociceptive activity of intraventricularly administered acetylcholine to narcotic antinociception. *Neurosci. Lett.* 26: 85-90, 1981.
- 153- Pedigo, N.W., Dewey, W.L. and Harris, L.S.: Determination and characterization of the antinociceptive activity of intraventricularly administered acetylcholine in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 193: 845-852, 1975.
- 154- Pérez, J., Burunat, E., Arevalo, R.M. and Rodriguez, M.: Gonadal influences on behavioral deterioration with aging of male rats. *Horm. Behav.* 23: 457-465, 1989.
- 155- Porsolt, R.D., Anton, G. and Jalfre, M.: Behavioral despair in rat: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur. J. Pharmacol.* 47: 379-391, 1978.
- 156- Price, G.W., Wilkin, G.P., Turnbull, M.J. and Bowery, N.G.: Are baclofen-sensitive GABA_B receptors present on primary afferent terminals of the spinal cord? *Nature* 307: 71-74, 1984.
- 157- Proffit, H.K. and Levy, R.A.: Delimitation of neuronal substrates necessary for the analgesic action of baclofen and morphine. *Eur. J. Pharmacol.* 47: 159-166, 1978.

- 158- Rastogi, R.P., Bhattacharji, S., Bhaduri, A.P., Gupta, C.M. and Kamboj, P.: *Central Drug Research Institute R&D Highlights. Drug Research Perspectives: A CDRI Series*, Central Drug Research Institute, Lucknow, India, p.36-46, 1991.
- 159- Reuter, H.D.: *Hypericum als pflanzliches antidepressivum. Ztschr. Phytother.* 14: 239-254, 1993.
- 160- Rolka, K., Kolasa, K., Kleinrok, Z. and Kupryzewski, G.: Opiate-like peptides. Part VIII. Metylamides and dimethylamides of [D-Leu⁵]-enkephalin and [D-Ala², D-Leu⁵]-enkephalin. Synthesis and analgesic activity. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 38: 391-402, 1986.
- 161- Rosecrans, J.A., Elchisak, M.A. and Harry, G.S.: Morphine and methadone induced antinociception in rats permanently depleted of brain dopamine. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 229: 287-300, 1977.
- 162- Roth, L.: Hypericin content of various varieties of *Hypericum perforatum* *Dtsch. Apoth. Ztg.* 63: 653, 1953.
- 163- Roy, R.R., Hutchison, D.L., Pierotti, D.J., Hodgson, J.A. and Edgerton, V.R.: EMG patterns of rats ankle extensors and flexors during treadmill locomotion and swimming. *J. Appl. Physiol.* 70: 2522-2529, 1991.
- 164- Sahley, T. and Bentson, G.G.: Antinociceptive effects of central and systemic administrations of nicotine in rat. *Psychopharmacology* 65: 279-283, 1979.
- 165- Sakar, M.K. and Tamer, A.U.: Antimicrobial activity of different extracts from some *Hypericum* species. *Fitoterapia* 61: 464-466, 1990.
- 166- Sanders-Bush, E., Breeding, M., Knoth, K. and Tsutsumi, M.: Sertraline-induced desensitization of serotonin 5-HT-2 receptor transmembrane signaling system. *Psychopharmacology* 99: 64-72, 1982.

- 167- Sawynok, J.: Monoamines as mediators of the antinociceptive effect of baclofen. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 323: 54-57, 1983.
- 168- Serkedjiava, J., Manolova, N., Zgorniak-Nowosielka, J., Zawilinska, B. and Grzybek, J.: Antiviral activity of the infusion (SHS-174) from flowers of *Sambucus nigra* L., aerial parts of *Hypericum perforatum* L., and roots of *Saponaria officinalis* L. against influenza and herpes simplex viruses. *Phytother. Res.* 43: 97-100, 1990.
- 169- Shannon, H.E., Holzman, S.G., Davis, D.C.: Interactions between narcotic analgesics and benzodiazepine derivatives on behaviour in mouse. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 199: 389-399, 1976.
- 170- Singh, G.B., Srimal, R.C. and Dhawan, B.N.: Pharmacological studies on 3-[gamma-(p-fluoronezoyl)propyl]-2,3,4,4a,5,6-hexahydro-1-(H)-pyrazino(1,2-a)quinoline hydrochloride (Compound 69/183). Part IV: Other CNS effects and acute toxicity. *Arzneim. Forsch.* 28: 1641-1644, 1978.
- 171- Singh, P.P., Junnagar, A.Y. and Varma, R.K.: A test for analgesics: In coordination in writhing mice. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 9: 9-11, 1987.
- 172- Singh, T.J., Gupta, P.D., Khan, S.Y. and Mishra, K.C.: Preliminary pharmacological investigations of *Ocimum sacuum* Linn. *Indian J. Pharm.* 32: 92-94, 1970.
- 173- Skoldinov, A.P., Rayevskii, K.S., Likhosherstov, A.M., Stavroskaja, A.W., Ruger, C., Rostock, A. and Rohnert, H.: Synthese und neurologische Wirkung neuer 11-substituierter-5H-dibenzo[b,e][1,4]diazepine. *Pharmazie* 32: 812-813, 1984.
- 174- Snow, A.E., Tucker, S.M. and Dewey, W.L.: The role of neurotransmitters in stress induced antinociception. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 16: 47-50, 1982.
- 175- Sonnenborn, U. and Proppert, Y.: Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *Ztschr. Phytother.* 11: 35-49, 1990.

- 176- Spampinato, S. and Candeletti, S.: Characterization of dynorphine A-induced antinociception at spinal level. *Eur. J. Pharmacol.* 110: 21-30, 1985.
- 177- Spaulding, T.C., Fielding, S., Venafro, J.J. and Lal, H.: Antinociceptive activity of clonidine and its potentiation of morphine analgesia. *Eur. J. Pharmacol.* 58: 19-25, 1979.
- 178- Sullivan, J.T.: Effects of verapamil on the acquisition of ethanol tolerance. *Life Sci* 52: 1295-1300, 1993.
- 179- Suzuki, O., Katsumato, Y., Oya, M., Blandt, S. and Wagner, H.: Inhibition of monoamino oxidase by hypericin. *Planta Med.* 50: 272-274, 1984.
- 180- Szekely, J.I., Dunai-Kovacs, Z., Miglecz, E., Ronai, A.L. and Bajusz, S.: *In vivo* antagonism by naloxane of morphine, beta-endorphine and a syntetic enkephalin analog. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 207: 878-883, 1978.
- 181- Tallarida, R.J. and Murray, R.B.: *Manual of pharmacological calculation with computer programs*, p. 1-50, Springer-Verlag, New York, 1981.
- 182- Teucher, E.: *Pharmazeutische Biologie*, Friedr. Vieweg and Sohn, Braunschweig, p.250-293, 1990.
- 183- Tharp, G.D. and Barnes, M.W.: Reduction of saliva immunoglobulin levels by swim training. *Eur. J. Appl. Physiol.* 60: 61-64, 1990.
- 184- Tongia, S.K., Trivedi, C.P., Mathar, S.V., Chouhan, R.S. and Kaushal, R.: Neuropharmacological actions of some newly synthesized Mannich bases. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 25: 269-273, 1981.
- 185- Tripathi, H.L., Martin, B.R. and Aceto, M.D.: Nicotine-induced antinociception in rats and mice; corelation with nicotine brain levels. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 221: 91-96, 1982.

- 186- Tseng, L.F. and Fujimoto, J.M.: Differential actions of intrathecal naloxone on blocking the tail-flick inhibition induced by intraventricular beta-endorphin and morphine in rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 232: 74-79, 1985.
- 187- Tsopanakis, C. and Tesserommatis, C.: Cold swimming stress-effects on serum lipids, lipoproteins and LCAT activity in male and female rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 38: 813-816, 1991.
- 188- Tulunay, F.C., Jen, M.F. and Loh, H.H.: Possible physiological control of morphine analgesia in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 83: 317-319, 1982.
- 189- Ushihashi, Y., Kuribara, H., Morita, T. and Fujita, T.: The repeated administration of ketamine induces an enhancement of its stimulant action in mice. *Jpn. J. Pharmacol.* 61: 149-151, 1993.
- 190- Vaught, J.L. and Takemori, A.E.: Differential effects of leucine and methionine enkefalin on morphine-induced analgesia, acute tolerance and dependence. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 208: 86-90, 1976.
- 191- Wang, J.K.: Antinociceptive effect of intrathecally administered serotonin. *Anesthesiology* 47: 269-271, 1977.
- 192- Ward, S.J. and Takemori, A.E.: Relative involvement of mu, kappa and delta receptor mechanisms in opiate mediated antinociception in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 224: 525-520, 1983.
- 193- Watanabe, T., Morimoto, A., Sakato, Y., Long, N.C., Murakami, N.: Prostaglandin-E₂ is involved in adrenocorticotrophic hormone release during swimming exercise in rats. *J. Physiol.* 433: 719-726, 1991.
- 194- Webster, G.W., Shuster, L. and Eleftheriou, B.E.: Morphine analgesia in mice of different ages. *Exp. Aging Res.* 2: 221-233, 1976.

- 195- Weicker, H., Hageloch, W., Luo, J., Müller, D., Werle, E. and Sahling, K.M.: Purin nucleotides and AMP deamination during maximal and endurance swimming exercise in heart and skeletal muscle of rats. *Int. J. Sports Med.* 11(Suppl 2): 568-577, 1990.
- 196- Wichtl, M.: *Teedrogen*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, p.257, 1989.
- 197- Wong, P.T. and Tan, S.F.: Pharmacological profiles of 5-phenylmethylenhydantoin and its methoxy substituted derivatives. *Jpn. J. Pharmacol.* 49: 309-315, 1989.
- 198- Wood, S., Huffman, J., Weber, N., Andersen, D., North, J., Murray, B., Sidwell, F., Hughes, B.: Antiviral activity of naturally occurring anthraquinone derivatives. In: *Bonn Bacons, International Symposium on Biology and Chemistry of Active Substances*, Bonn, Germany, July 11-22, 1990.
- 199- Yang, L.L., Yen, K.Y., Kiso, Y. and Hiko, H.: Antihepatotoxic actions of Farnosan plant drugs. *J. Ethnopharmacol.* 19: 103-110, 1987.
- 200- Yamamoto, H.A., McCain, H.W., Misawa, S. and Way, E.L.: Effects of aminoacids, especially taurine and gamma-aminobutyric acid (GABA), on analgesia and calcium depletion induced by morphine in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 71: 177-184, 1981.
- 201- Yaksh, T.L. and Henry, J.L.: Antinociceptive effects of intrathecally administered human beta-endorphin in the rat and cat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 56: 754-759, 1978.
- 202- Yaksh, T.L. and Kohl, R.L. and Rudy, T.A.: Induction of tolerance and withdrawal in rats receiving morphine in spinal subarachnoid space. *Eur. J. Pharmacol.* 42: 275-284, 1977.

- 203- Zambotti, F., Zonta, N., Parenti, M., Tommasi, R., Vicentini, L., Conci, F. and Mantegazza, P.: Peri-aqueductal gray matter involvement in the muscimol-induced decrease of morphine antinociception. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 318: 368-369, 1982.
- 204- Zonta, N., Zambotti, F., Vicentini, L., Tommasi, R. and Mantegazzo, D.: Effects of some GABA-mimetic drugs on the antinociceptive activity of morphine and beta-endorphin in rats. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 316: 231-234, 1981.