

**ALFA-TERPİNEOL'UN İZOLE SIÇAN MİDE
FUNDUS, DUODENUM VE İLEUM
ÜZERİNDE FARMAKOLOJİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Nusretullah REŞİDİ

Yüksek Lisans Tezi

Yüksek Lisans Tezi

**ALFA-TERPİNEOL'UN İZOLE SIÇAN MİDE FUNDUS, DUODENUM VE İLEUM
ÜZERİNDE FARMAKOLOJİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ECZ. NUSRETULLAH REŞİDİ

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Süleyman AYDIN

Ekim 2001

Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca Ecz. Nusretullah Reşidi'nin Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "ALFA-TERPİNEOL'UN İZOLE SIÇAN MİDE FUNDUS, DUODENUM VE İLEUM ÜZERİNDE FARMAKOLOJİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI" başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

M/10 /2001

Adı-Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı): *Doc. Dr. Süleyman AYDIN*

Üye : *Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK*

Üye : *Doc. Dr. Kubilay URUNER*

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 04.10.2001 tarih ve ...26... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK

ÖZET

α -Terpineol doğada ve çeşitli endüstriyel ürünlerde bulunan uçucu bir maddedir. Farmakolojik açıdan antibakteriyel ve düretik etkili, pulmoner damar, trakea ve ileumda gevşetici olduğu bildirilmiş olmakla birlikte, konu üzerinde deneysel çalışmalar az ve yetersizdir. Sıçan mide fundus ve duodenum üzerindeki etkisi bugüne kadar çalışılmamıştır. α -terpineol'un etki mekanizmasının kalsiyum kanalları üzerinden olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda α -terpineol'un sıçan mide fundus, duodenum ve ileum üzerindeki etkisi ve etki mekanizması araştırılmıştır.

İzole sıçan fundus, duodenum ve ileum üzerinde α -terpineol'un doza bağlı olarak gevşetici etkisinin bulunduğu ve α -terpineol'un gevşetici etkisine en fazla fundusun duyarlı olduğu görülmüştür. Asetilkolin ve KCl kasılmalarına karşı belirgin bir etkisi gözlenmemiş, adrenerjik, kolinerjik ve opioid reseptörlerle etkileşmediği bulunmuştur. İleumda tetraetilamonyum (TEA), L-Arjinin ve No-ARG ile yapılan deneylerde, nitrik oksit ile ve K^+ -kanallarıyla etkileşmediği gözlenmiştir. İmidazol varlığında α -terpineol etkisinin değişmemiş olması, imidazol ile etkileşen siklik nukleotidlerin rolünün bulunmadığını göstermiştir.

Fundusta metilen mavisinin etkili olmaması, duodenumda ise No-ARG varlığında α -terpineol'un gevşetici etkisinin artış göstermiş olması, izole sıçan fundus duodenum ve ileum arasında, α -terpineol etkisi açısından farklılıklar bulunduğunu göstermiştir.

K^+ -depolarize $CaCl_2$ kasılmalarını sadece 10^{-4} M dozunda uygulanan α -terpineol'un inhibe ettiği, daha düşük dozlarda etkisiz olduğu, fakat metilen mavisi varlığında duodenum ve ileumdaki gevşetici etkinin anlamlı derecede arttığı bulunmuştur. Sonuç olarak, α -terpineol'un gevşetici etkisinde kalsiyum kanallarının birincil rol oynamadığı, α -terpineol'un etki mekanizmasının guanil siklaz üzerinden olduğu sonucuna varılmıştır.

ABSTRACT

α -Terpineol is a volatile chemical found in nature and several industrial products. Although it has been shown to possess antibacterial, diuretic effects and dilatatory effects on pulmonary vessel, trachea and ileum, pharmacological studies on this chemical is scarce not sufficient. The mechanism of action of α -terpineol is reported to be via calcium channels and its effects on the rat fundus and duodenum were not investigated to date. The aim of this study is to investigate the pharmacological effects of α -terpineol on the isoalted rat fundus, duodenum and ileum.

α -Terpineol was observed to have a dose dependent inhibitory effect on isolated rat fundus, duodenum and ileum. Isolated rat fundus was the most sensitive among them. There were no effect on acetylcholine- and KCl-induced contractions and no significant interaction with the adrenergic, muscarinic and opioid receptors.

Tetraethylammonium, L-Arginine and No-ARG tests on ileum showed that K^+ -channels and NO did not play a role in the relaxant effect of α -terpineol. Experiments with imidazol indicated that there were no role of imidazole sensitive cyclic nucleotides on the effect of α -terpineol.

The lack of methylene blue on the relaxant effect α -terpineol, but the augmentation of the relaxant effect of α -terpineol on the duodenum in the presence of No-ARG and methylene blue and the augmentation of the relaxant effect of α -terpineol on the ileum only in the presence of methylene blue indicated the different actions of α -terpineol on the tested organs.

It was observed that α -terpineol inhibited $CaCl_2$ induced contractions on K^+ -depolarized ileum only at the 10^{-4} M but not at lower doses suggested that the role of calcium channels did not have a primary role in the relaxant effects of α -terpineol. Since a significant augmentation of the relaxant effect of α -terpineol in the presence of methylene blue, it is concluded that guanyl cyclase enzyme plays the major role in the mechanism of action of α -terpineol.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım sırasında büyük bir anlayış ve özveriyle her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen, bana bilimsel araştırma zevkini aşıl原因; deneysel farmakoloji alanında gelişmeye olanak sağlayan, değerli hocam, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü müdürü ve Farmakoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK'e,

Farmakoloji alanına adım attığımdan beri bilgilerinden yararlandığım, tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen değerli hocam; Doç. Dr. Süleyman AYDIN'a,

Tezimin hazırlanması ve araştırmalarım sırasında, büyük bir zevk ve anlayışla bana yardımcı olan farmakoloji da benimle beraber yüksek lisans yapan arkadaşım Özgür Taşkın'a ve laboratuvarın tüm ekibine,

Her zaman destekleri ve teşvikleri ile bana büyük moral kaynağı olan sevgili aileme ve değerli arkadaşlarıma,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
1.1. α -Terpineol	1
1.1.1. Ekonomik Açıdan Terpineol	4
1.1.2. Endüstriyel Terpineol'un Elde Edilmesi	4
1.1.3 α -Terpineol'un Farmakolojisi	6
1. 2. Gastrointestinal Düz Kaslar	10
1.2.1. Düz Kas Tipleri	11
1.2.1.1. Tek-birimli (<i>single unit</i>) düz kaslar	11
1.2.1.2. Çok-birimli düz kaslar	11
1.2.2. Siklik Nükleotidlerin (sAMP,sGMP) Lokalizasyon, Biosentez ve Yıkımları	12
1.2.3. Düz Kasların Kontraktil Elemanları	12
1.2.3.1. Düz kas myozin filamintleri	14
1.2.3.2. Aktin Filamenti	15

1.2.4. Aktin filamenti ile myozin filamenti arasındaki etkileşme	15
1.2.5. Kasılmanın Kalsiyum İyonları ile Düzenlenmesi	16
1.2.6. Defosforilasyon ve Gevşeme	16
1.2.6.1. Ekstraselüler Kalsiyum	19
1.2.6.2. Endoplazmik (Sarkoplazmik) retikulum ve kalsiyozomlarda depolanmış salıverilebilir Ca^{2+}	19
1.2.7. Gastrointestinal Düz Kasın Elektriksel Aktivitesi	20
1.2.7.1. Yavaş dalga	20
1.2.7.2. Dikensi potansiyeller	21
2. MATERYAL VE YÖNTEM	22
2.1. Materyal	22
2.1.1. Deney Hayvanları	22
2.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar	22
2.2. YÖNTEM	23
2.2.1. İzole Organ Banyosu Deneyleri	23
2.2.2. İzole Mide Fundus Deneyleri	23
2.2.3. İzole Duodenum Deneyleri	24
2.2.4. İzole İleum Deneyleri	25
2.2.4.1. K^{+} -depolarize izole ileum üzerinde $CaCl_2$ deneyleri	25
2.2.4.2. İstatistiksel hesaplamalar ve verilerin değerlendirilmesi	26
3. BULGULAR	27
3.1. α -terpineol'un asetilkolin yanıtlarına etkisi	27
3.2. α -terpineol'un KCl yanıtlarına etkisi	27

3.3. α -terpineol'un gevşetici etkileri	27
3.4. İmidazol'ün α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi	27
3.5. Atropin'in α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi	27
3.6. L-Arjinin'in α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi	28
3.7. Nitro-L-Arjinin'in α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi	28
3.8. Metilen blue (MB)'nun α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi	28
3.9. Labetalol'un α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi	28
3.10. Nalokson'un α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi	28
3.11. α -terpineol'un K^+ -depolarize ileum üzerindeki etkisi.	29
3.12. Tetraetilamonyum'un α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi	29
4. TARTIŞMA	51
5. KAYNAKLAR	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
1.1 α -Terpineol ve izopren'in kimyasal yapısı	1
1.2 Linalool'un α -Terpineol'a dönüşü	6
3.1. İzole rat fundusunda α -terpineol'un asetilkolin yanıtları üzerindeki etkisi	30
3.2. İzole rat duodenumunda α -terpineol'un asetilkolin yanıtları üzerindeki etkisi	31
3.3 İzole rat ileumunda α -terpineol'un asetilkolin yanıtları üzerindeki etkisi	32
3.4 İzole rat fundusunda α -terpineol'un KCl yanıtları üzerindeki etkisi	33
3.5. İzole rat duodenumu üzerinde α -terpineol'un KCl yanıtları üzerindeki etkisi	34
3.6. İzole rat ileumu üzerinde α -terpineol'un KCl yanıtları üzerindeki etkisi	35
3.7 İzole sıçan fundusunda α -terpineol'un gevşetici etkisi	36
3.8 α -terpineol'un izole rat duodenum gevşetici etkisi	37
3.9 α -terpineol'un izole rat ileumunda gevşetici etkisi	38
3.10. İzole rat fundusunda α -terpineol yanıtları üzerinde imidazol, atropin, No-ARG ve metilen blue etkisi	39
3.11 İzole rat duodenumunda α -terpineol yanıtları üzerinde imidazole, atropin, No-ARG ve metilen blue etkisi	40
3.12 İzole rat ileumunda α -terpineol yanıtları üzerinde imidazol, atropin, No-ARG ve metilen blue etkisi	41
3.13. İzole rat fundus, duodenum, ve ileum'unda α -terpineol yanıtları üzerinde imidazol etkisi	42
3.14. İzole rat fundus, duodenum, ve ileum'unda α -terpineol yanıtları üzerinde atropin etkisi	43
3.15. İzole rat ileum'unda α -terpineol yanıtları üzerinde L-arjinin ve No-ARG etkisi	44
3.16. İzole rat fundus, duodenum'unda α -terpineol yanıtları üzerinde No-ARG etkisi	45
3.17. İzole fundus ve duodenum'unda α -terpineol yanıtları üzerinde metilen blue etkisi	46
3.18. İzole sıçan duodenumunda α -terpineol üzerinde Labetalol ve Nalokson etkisi	47
3.19. İzole sıçan ileumunda α -terpineol yanıtları üzerinde Labetalol ve Nalokson etkisi.	48
3.20. İzole rat ileum'unda 10^{-6} ve 10^{-4} M α -terpineol'un CaCl_2 kasılmaları üzerine etkisi	49
3.21. İzole sıçan ileumunda α -terpineol yanıtları üzerinde α -terpineol'un gevşetici etkisi üzerinde tetraetilamonyum(TEA) etkisi	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1. α -Terpineol'un bazı bitki yağlarındaki miktarı	2
Çizelge.1.2 Terpineol'un bazı fiziksel özellikleri	4
Çizelge 1.3 Terpineol'un <i>in vitro</i> ortamında antibakteriyal aktivitesi	7
Çizelge 1.4 Terpineol'un Antifungal Aktivitesi	7
Çizelge 1.5 4 ve 24 saatlik inkübasyonda İki Sıra Hücrelere karşı Tea Tree Oil Komponentleri ve Kontrol Grubun IC ₅₀ (g/L) Değerleri	9

KISALTMALAR

ACE	Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
ACh	Asetilkolin
ADP	Adenozin difosfat
ATP	Adenozin trifosfat
DAG	Diasilgliserol
DMSO	dimetilsülfoksid
EDRF	Endotelce bağılı gevşetici faktör
GDP	Guanozin difosfat
GRK	G proteinine kenetli reseptör kinaz
GTP	Guanozin trifosfat
IC ₅₀	Cevabı %50 oranında azaltan madde dozunun molaritesi
İP ₃	İnozitoltrifosfat
L-ARG	L-arjinin
LD	Letal doz
No-ARG	N ^o -Nitro-L-Arjinin
MB	Metilen blue
MHZK	Myozin hafif zincir kinaz
MIC	Minimum inhibitör konsantrasyon
NLX	Nalokson
NO	Nitrik oksid
NOS	Nitrik oksid sentaz
PDE	Fosfodiesteraz
PIP ₂	Fosfatidil inozitol 4,5-bifosfat (Fosföinozitol difosfat)
PKA	Protein kinaz A
sAMP	Adenozin 3',5'-siklik monofosfat
sGMP	Guanozin 3',5'-siklik monofosfat t
SR	Sarkoplazmik retikulum
TTX	Tetrodotoksin
TEA	Tetraetilamonyum
Vmaks	Reaksiyonun maksimum hızı

1. GİRİŞ ve AMAÇ

1.1. α -Terpineol

Monoterpenler, izopren türevleridir. İzopren türevleri ile ilgili ilk çalışmalar 19.yüzyılda başlamıştır. 1818'de Labillardière terementi ile araştırmalar yaparken karbon:hidrojen oranı 5:8 olan bir bileşiğe erişmiştir. 1826'da Farady kauçuk ile terementi arasındaki benzerliği araştırırken Kauçuęun formülünü, C_5H_8 olarak vermiştir. 1860'da Williams kauçuğun 30-350 °C'de pirolizi sonucu elde ettiği aynı üniteye "izopren" adını vermiştir (Şekil 1.1). 1868'de Hlasiwetz ve Hinterberger, terementi buharından elde ettikleri sıvı ürünün formülünü C_5H_8 olarak bildirmiştir, 1884'de Tilden, kauçuğun kuru distilasyon ile elde edilen ürünle terementiden elde edilen aynı izopren olduğu açıklamıştır. 1884-1887 yılları arasında bu konuda araştırmalarını Otto Wallach "izopren kuralı"nı açıklamaya çalışmış, C_5H_8 ünitelerine hemiterpen, $C_{10}H_{16}$ ünitelerine de gerçek "terpen", $(C_5H_8)_x$ ünitelerine de politerpen demiştir. Diğer alt gruplar (seskiterpen, diterpen vb) daha sonra açıklanmıştır ve $(C_{10}H_{16})$ formülüne uyanlar politerpen sınıfına dahil edilmiştir. İzopren kuralı, daha sonraki araştırmalara ışık tutmuştur. 1920'de Ruzicka, Wallach'ın hipotezi doğrultusunda izopren'in açık formülünü çizerek konuya katkıda bulunmuştur (1-3).



Şekil 1.1 α -Terpineol ve izopren'in kimyasal yapısı

"Terpen" terimi ilk defa Kekule tarafından terementi yağındaki $C_{10}H_{18}$ formülüne uyan hidrokarbonlar için, "terpenoit" terimi ise izopren ünitesi taşıyan sekonder metabolitleri 1955'lerde kullanılmıştır (4).

Monoterpenler, iki izopren ünitesinden oluşan 10 karbonlu terpenlerdir. Uçucu yağların ve oleozinlerin karakteristik bileşenleridir. Uçucu yağ taşıyan bitkilerin salgı sistemlerinde depolanırlar, diğer bitkilerde ise minor metabolitler olarak bulunurlar (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. α -Terpineol'un bazı bitki yağlarındaki miktarı

Bitkinin Adı	Yağ %	α -Terpineol %	Kaynak
<i>Salvia sclarea L. (Labiatae)</i>	1,9	47,4	5
<i>Thymus clicicus (Labiatae)</i>	1,5	33,44	6
<i>Thymus revolutus. (Labiatae)</i>	0,47	30,46	6
<i>Tetradenia riparia (Labiatae)</i> taze yaprak	1,9	22,6	7
<i>Dorystoechas hastata (Labiatae)</i> çiçek	2,5	21,1	8
<i>Dorystoechas hastata (Labiatae)</i> kuru yaprak yağı	2	20,4	8
<i>Salvia potentillifolia (Labiatae)</i>	0,80	10,2	9
<i>Salvia desoleana (Labiatae)</i>	2,4	9,2	5
<i>Melaleuca cajuputi subsp cajuputi powell</i> cajuput oil	94,5	8,2	10
<i>Thymus sipyleus (Labiatae)</i>	1,2	7,28	6
<i>Vitex agnus-castus L. f.rosea</i> çiçek	0,33-0,52	7,24	11
<i>Cleistopholis patents (Annonaceae)</i> , meyve	0,04	5,68	12
<i>Aucoumea klaineana (Burseraceae)</i> , oleoresin	5	5,2	13
<i>Peumus boldus (Monimiaceae)</i> yaprak	90	5,2	14
<i>Cleistopholis patents (Annonaceae)</i> yaprak	0,05	4,32	15
<i>Lantana orangemene</i>	0,2	3,44	16
<i>Homalomena occulta (Araceae)</i> kuru Rhizom	0,79	2,88	17
<i>Melaleuca alternifolia (tea tree oil)</i>	96,7	2,4	10
<i>Poliomintha incana (Labiatae)</i>	2,6	2,0	18
<i>Curcuma aromatica salisp (Zingiberaceae)</i> rhizom	0,86	0,38	19
<i>Ocimum minimum. L. (Labiatae)</i>	1,03	0,3	20
<i>Ocimum gratissimum. L. (Labiatae)</i>	1,59	0,3	20
<i>Salvia officinalis. L. (Labiatae)</i>	-	0,1	5

Günümüzde yapısı tayin edilmiş 70 kadar monoterpen bilinmektedir. İki izopren ünitesinin çok farklı kombinasyonlarda bir araya gelmesi, 40 ayrı iskelete sahip olduklarını ortaya koyar. Ayrıca alkol, ester, keton, ve aldehit gibi grupları da taşırlar.

Ticari terpineol olarak tanımlanan sıvı terpineol tek bir madde olmayıp, terpinen-1-ol, terpinen-4-ol, α -terpineol, cis- ve trans- β -terpineol, γ -terpineol ve δ -terpineol'ü birlikte içerir (21).

α -Terpineol'un bir çok içecek ve yiyeceklerde bulunduğu gösterilmiştir. rnek olarak alkollü içecekler, gıda ve strnlerinin kokusunu düzeltmek için α -terpineol diğer monoterpenlerin yanında, özellikle şaraplarda kullanıldığı bildirilmiştir (22). Ayrıca rasemik α -terpineol izomerleri, R(-)-rasemik linalool'u oluşturması amacıyla da aromatik şaraplara konulabilmektedir (23). Portakal ve limon usaresi 1 ay için uygun sıcaklık (35-45 °C) ve pH'da saklanması sırasında α -terpineol, prekursorlerinden (d-limonen ve linalool'den) oluşarak sıvı içindeki miktarında artış gösterir (24).

α -Terpineol'un meyve su ve aromalarındaki varlığına örnek olarak, kayısıda (25), mango usaresinde (26), mandalina suyunda (27), zm aromasında (28) ve domates suyu ve salçasında, özellikle saklama sırasında iken miktarında artış olduğu bildirilmiştir (29). α -Terpineol matbaacılık sanayiisinde mürekkep eriteni olarak da çok kullanışlı olduğu öne sürülmüştür (30).

Uçucu yağ içeren bitkilerin sayısı oldukça fazladır. Bu bitkilerden çok kolay elde edilebilen ve koku verici rrnler arasında önemli bir grubu oluşturur. Bu bileşiklerden monosiklik monoterpen bir alkol olan terpineol, çeşitli türevlerinin hazırlanmasına elverişli bir yapıda olması ve fiyatının ucuz olması gibi nedenlerle parfüm laboratuvarlarında geniş bir kullanım bulmuştur (21). Terpineoller grubu, terpen'in su çekici maddeler ile muamelesi sonucu oluşan bir izomer alkoller karışımıdır (21). İzomerleri içerisinde doğada en fazla bulunan α -terpineoldr. Terpineol renksiz, viskozitesi az, leylak kokulu bir sıvıdır (izelge 1.2) (21).

Terpineol'un α -, β - ve γ - olmak zre z farklı izomeri vardır. α -Terpineol, (α , α , 4-trimetil-3-sikloheksen-1-metanol; p-ment-1-en-8-ol) C₁₀ H₁₈ O; molekül ağırlığı 154.25. C% 77.87, H %11.76, O %10.37 formülüne sahiptir ve d- ve l- α -terpineol olmak zre iki farklı izomer sahiptir (31).

Çizelge 1.2. Terpeneol'un bazı fiziksel özellikleri

Özellikler	Standard terpeneol
Renk	Renksiz
Görünüş	Viskoz sıvı
Spesifik ağırlık (20°C)	0.936 - 0.941
Optik çevirme	(-0° 10') - (+0° 10')
Kırılma indeksi	1.4825 - 1.4850
Etanolde%70 çözünürlük	1k, 2k etanolde çözünür

d- α -Terpeneol 1903'de petitgrain yağından, *l*- α -terpeneol ise 1908 de çam yağından izole edilmiştir. *dl*- α -Terpeneol 1888 de cajeput yağından izole edilmiştir. α -terpeneol'un *d* ve *l* izomerleri Cologne ve ark tarafından 1959 ve 1960'ta sentezlenmiştir. Stereokimyasal incelenmesi de aynı tarihlerde yapılmıştır (31). Sıvı terpeneol'ün elde edilmesinde *oleum terebinthinae* (terebentin esansı), *pine oil* (çam yağı), pinen ve sülfat terebentininden yararlanılır. Endüstride en çok uygulanan, terebentin esansından yararlanılan yöntemdir (21).

Terpeneol'ün antiseptik, antimikrobiyal, diüretik, etkileri bilinmekle beraber, bu özelliklerinden bugün için yararlanmamaktadır. Asıl kullanım alanı parfümeri, kozmetik ve sabun sanayiidir. Leylak kokulu parfümlerin bileşiminde yer alır (21).

1.1.1. Ekonomik Açıdan Terpeneol

Yıllık terpeneol üretimi 16.500 ton kadardır. Kesin değerler olmamakla birlikte yalnız parfümeri endüstrisindeki terpeneol tüketimi 10.000 tonu bulmaktadır. Türkiye'de kullanılan terpeneol Almanya, Bulgaristan, A.B.D, Hollanda, İspanya, İngiltere, İsrail, İsviçre, İtalya ve Yunanistan'dan ithal edilmektedir. 1984 yılında 24.928 kg, 1985 yılında (11 aylık) 19.729 kg terpeneol ithal edilmiştir, parasal değeri ise sırasıyla 62.008 dolar ve 48.417 dolardır (21).

1.1.2. Endüstriyel Terpeneol'un Elde Edilmesi:

Terpeneol, sentezle de elde edilen bir bileşiktir ve sentezinde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. 4g tween 20 karıştırılmış 340g %20'lik H₂SO₄ üzerine 85g terebentin esansı, sürekli karıştırılarak damla-damla ilave edilir. Başlangıçta 10-15 °C de tutulan karışımın sıcaklığı, ilk birkaç damladan sonra 30°-35 °C ye kadar yükseltilir. Bu

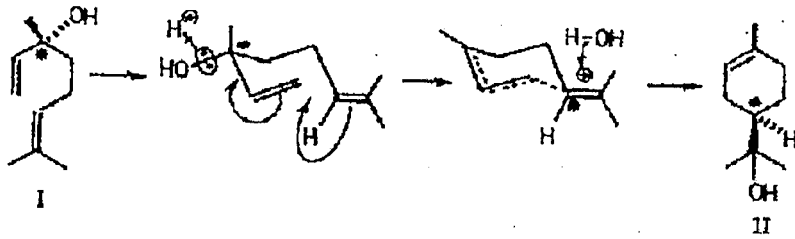
sıcaklıkta 60 saat kadar karıştırılır. Oluşan çökelek süzildükten sonra, %10'luk Na₂CO₃ çözeltisi ve daha sonra su ile yıkanır. Terpinhidrat etanolden kristallendirilir (67.3g). Dehidratasyon için pH 2,7 olan 96g ftalik asit çözeltisi üzerine 16g terpinhidrat ilave edilir ve karışımın sıcaklığı 99°-100 °C'ye ayarlanır. Geri çeviren soğutucu altında ve devamlı karıştırılarak 15 saat ısıtılır. Oluşan terpineol, clevenger apareyinde distilasyonla ayrılır. Susuz Na₂SO₄ ile suyundan kurtarılır (12.06 gr). Yarısentezde başlangıç materyali olarak kullanılan terementi esansı, çam yağı ve pinen'in eldesinde çeşitli çam ağaçlarından örneğin Fransa'da *Pinus maritima* A.B.D'de *P. palustris* İtalya, Yunanistan ve İspanya'da *P. halepensis* ve orta Avrupa'da *P. nigra* var. *austriaca*'dan yararlanılır. Bu ağaçlardan elde edilen oleorezinin % 20-30'u uçucu yağdır ve bir ağaçtan ortalama 1-1.5 litre oleorezin alınmaktadır (21).

α -Pinenen elde edilen ve perfümeride kullanılan terpineol ve ham terpineolun gaz kromatografisiyle incelenmesi sonucunda, sırasıyla α -terpineol %37 ve %62; γ -terpineol %14 ve %23; sis- β - terpineol %12.5 ve %6.5; trans- β - terpineol izomeri %2 ve %3 karışımından ibaret olduğu gösterilmiştir (32).

1937'da terpenden terpineol elde etmek için % 40.3 terpinhidrat 35-40 saat karıştırılmıştır. 1 kısım pinen 1,75 (%22-25) H₂SO₄, %2 jelatin (emulgatör) karıştırılmış, karışıma bir miktar terpen hidrat kristalları eklenmiş; filtrat tekrar 0.25 kısım, %22-25 H₂SO₄ ile 5-6 saat için tekrar karıştırılmıştır. Ham pinen su ile yıkandıktan sonra Na₂CO₃ çözeltisi ile muamele edilip filtrat kurtulmuş % 89.4 terpineol oluşturmak için 6-7 saat için geri çeviren soğutucuda 14-200 °C da % 0.5 (CO₂H)₂ ile kaynatılmıştır (33). Katyon değiştirici reçine kullanarak (-)- α -pinen den terpineol elde edilişi için: dioksan, H₂O (36 g) ve (-)- α -pinen (136.2 g) karışımına amberrilist 15 (68.1g) ilave edilmiş 62 °C de 20 saat boyunca karıştırılarak çoğunluğu α izomeri olmak üzere % 50.1 terpineol elde edilmiştir (34). Çinli araştırmacılar tarafından 1999'da terpineol elde edilişinde reaksiyon zamanının kısalması için çeşitli katalizörler kullanılmıştır. Bu yöntem ile uygulamada kısa zamanda fazla ürün elde etmesi mümkün olduğu öne sürülmüştür (35). SO₄ radikalının sulu oksijensiz ortamda, siklohekzenlerin, α -terpineol ve 2-metil- α -terpineol'un çifte bağlarını koparacağını ve hidroksillendireceği öne sürülmüştür (36).

α -Terpineol üretimi α -pinen'in mikrobiyal oksidasyonu sonucunda da elde edilmiştir. Bu yöntemde α -pinen 96 saat boyunca *Candida tropicalis* mayasına maruz bırakılmış ve oksidasyon sonucunda %77 (+)- α -terpineol üretilmiştir (37). Üzüm (*Vitis vinifera*) ve şerbetçiotu (*Humulus lupulus*) da bulunan α -terpineol'e ilave olarak şarap ve bira oluşumunda rol oynayan mikroorganizmalar tarafından linalool ve nerol'den α -terpineol izomerlerinin oluştuğu bildirilmiştir (38). *Ambrosiozyma monospora* mayasının sıvı kültürde inkübasyonu sonucunda diğer monoterenlerin yanısıra bir miktar α -terpineol oluştuğu bildirilmiştir (39).

Uçucu yağ elde etme yöntemi olarak su buharı distilasyon yönteminin kullanılması ve uçucu yağın bileşiminde linalool bulunması durumunda, linalool'un uçucu yağlarda α -terpineol'un prekürsörü olduğu ileri sürülmüştür. Organik asit ortamda linalool dehidrate olup siklik şekline dönüşür, tekrar rehidrate olup terpineol'u oluşturur. Bu nedenle terpineol'un genellikle su buharı distilasyonu gibi kimyasal işlemler sırasında oluşan bir madde olduğu da ileri sürülmüştür (Şekil 1.4.) (40).



Şekil 1.2 Linalool'un α -Terpineol'a dönüşümü.

Uçucu yağ taşıyan bitkilerin muhafazası sırasında, fermentasyon sonucu linalil asetat hidroliz olup linalool ve asetik asid'e, buhar distilasyonu sırasında ise linalool'un çoğunun α -terpineol'a dönüşeceği öne sürülmüştür (40). Bitkilerden başka, α -terpineol'un bazı hayvanlardan feromon olarak salgılandığı bildirilmiştir (41).

1.1.3. α -Terpineol'un Farmakolojisi:

α -Terpineol'un antibakteriyel ve antifungal etkili olduğu bilinmektedir (Çizelge 1.3. ve 1.4). Dezenfektanlara düşük miktarda (%5.6) α -terpineol konulmasıyla gram-negatif bakterilere karşı iyi sonuç alındığı bildirilmiştir (42).

Çizelge 1.3. Terpineol'un in vitro ortamında antibakteriyal aktivitesi

Bakteri	Ortam	MIC	Sonuç	Kaynak
<i>Bacillus cereus</i>	Agar	-	İnaktif	43
<i>Escherichia coli</i>	Sıvı kültür	1000 mcg/ml	Şüpheli	44
<i>Escherichia coli</i>	Agar	-	Aktif	45
<i>Escherichia coli</i>	Agar	-	İnaktif	43
<i>Escherichia coli</i>	Agar	8.0 mikrolitre	Aktif	46
<i>Listeriya monocytogenes</i>	Sıvı kültür	1000 mcg/ml	Şüpheli	44
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Agar	-	İnaktif	43
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Agar	8.0 mikrolitre	İnaktif	46
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Agar	8.0 mikrolitre	Aktif	46
<i>Salmonella typhimurium</i>	Sıvı kültür	1000 mcg/ml	Şüpheli	44
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar	-	İnaktif	43
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar	8.0 mikrolitre	Aktif	46
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar	8.0 mikrolitre	Aktif	46
<i>Vibrio vulnificus</i>	Sıvı kültür	1000 mcg/ml	Şüpheli	44

Çizelge 1.4. Terpineol'un Antifungal Aktivitesi

Organizma	Ortam	Aktivite	Kaynak
<i>Penicillium cyclopium</i>	Agar	inaktif	43
<i>Candida albicans</i>	Agar	inaktif	43
<i>Aspergillus aegyptiacus</i>	Sıvı kültür	aktif	47
<i>Trichoderma viride</i>	Agar	inaktif	43
<i>Aspergillus aegyptiacus</i>	Agar	aktif	45

α -Terpineol transdermal penetrasyon artırıcı materyallerin formülasyonunda yer almıştır (48). Deri veya mukoza anestezisinde α -terpineol'un aktif bir ajan olduğu, anestetik bileşimlerde seyreltici, taşıyıcı, eksipian olarak da kullanabileceği ve α -terpineol taşıyan anestezik terkiplerin, topikal, mukoza membranı veya deri tabakası içine s.c. injeksiyonunun sakıncalı olmadığı belirtmiştir (49).

Fare derisi üzerinde yapılan *in vitro* çalışmada, deriden prednisolon'un difüzyonunu artırmak için, terpineol ve asetil terpineol test edilmiş ve penetrasyon artırıcı etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (50).

α -Terpineol, linalool ve pulegon gibi bazı monoterpenlerin hamam böceği, solucanlar ve çeşitli haşereler üzerinde insektisidal etkileri test edilmiş ve bu maddelerin adı geçen haşereler üzerine toksik etkili oldukları gözlenmiştir. Bu toksik etki ile haşerelerin üreme ve büyümesinin engellendiği bildirilmiştir. α -Terpineol'un bütün pire tiplerine karşı güçlü ve hızlı uzaklaştırıcı bir etken olduğu bildirilmiştir (51, 52). Başka bir araştırmaya göre terpineol'un %20 yağlı (parafin) solusyonu veya %10 alkol emulsyonu insan derisini 73 saat boyunca sivrisineklerden kuyacağı belirtilmiştir (53).

Mutajenik etkisi bulunmayan kafur, 1,8-sineol ve (-)-mentol gibi monoterpenlerden farklı olarak, α -terpineol'un doza bağlı olarak artan mutajenik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (54).

Sıçanlarda 29+16mg/kg linalool+ α -terpineol karışımının i.p. injeksiyonu safra akışını anlamlı miktarda artırdığı ileri sürülmüştür (55). Karaciğer sitokrom enzimleri ile etkileşerek mikrozomal enzimleri inhibe ettiği gösterilmiştir (55). Nitekim α -terpineol katabolizmasında rol oynayan enzim, CYP108 gen ailesine ait bir sitokrom P450 enzimidir ve terpineol için spesifik olduğu için "P450_{terp}" adı verilmiştir (56; 57).

İnsan karaciğer hücreleri (HepG2) ve epitelial doku hücrelerinin (HeLa) 4 saatlik ve 24 saatlik periodik inkübasyonunda Tea tree oil (*Melaleuca alternifolia* bitkisinin yağı)'nın komponentleri olan terpinen-4-ol, α -terpineol ve 1,8-sineol'a maruz bırakılmış ve IC₅₀ (g/l) değerleri elde edilmiştir. Tea tree oil, 1,8-sineol, α -terpineol ve terpinen-4-ol'un sitotoksik etkileri karşılaştırmalı bir şekilde, aspirin ve şiddetli bir zehir olan cıva klorür kontrol grubu olarak seçilerek incelendiği zaman, bu komponentlere karşı epitel hücreleri dirençli ve sağlıklı iken, karaciğer hücreleri daha duyarlı ve hasas tepki gösterdikleri gözlenmiştir (Çizelge 1.5).

Tea tree oil'in komponentlerinin toksisitesinin sırasıyla; α -terpineol > tea tree oil > terpinen-4-ol > 1,8-sineol olduğu bildirilmiştir. Bir başka deyişle, toksisite açısından bakıldığında, tea tree oil'in komponentleri arasında α -terpineol en fazla toksik etkiye sahiptir ve kontrol grubu olarak kullanılan cıva klorürden daha az, aspirinden daha fazla toksik etkilidir (58).

α -Terpineol, diğer bazı monoterpenlere benzer şekilde antitrombotik etkiye sahiptir. Örneğin yapılan bir çalışmada sitral %55.2, sitronellol %41.8, geraniol %56.6,

nerol %54.9, α -terpineol %47.5 ve d-limonen %21.6 oranında antitrombotik etkili olduğu bulunmuştur (59).

Çizelge 1.5. 4 ve 24 saatlik inkübasyonda İki Sıra Hücrelere karşı Tea Tree Oil Komponentleri ve Kontrol Grubun IC₅₀ (g/L) Değerleri .

Hücreler	HeLa		HepG2	
	4 saat	24 saat	4 saat	24 saat
Tea Tree Oil	2.80±0.90	2.70±0.07	2.80±0.30	0.02±0.006
1,8-Sineol	3.80±0.40	2.5±0.50	3.00±0.65	0.14±0.06
Terpinen-4-ol	2.70±0.30	0.14±0.012	0.50±0.09	0.06±0.01
α -Terpincol	1.10±0.20	0.15±0.01	0.80±0.22	0.02±0.008
Cıva klorür (HgCl ₂)	0.05±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01	0.01±0.005
Aspirin	2.40±0.42	1.40±0.27	2.10±0.40	0.25±0.03

α -Terpineol'un absorpsiyonu, dağılım ve atılım kinetiği [³H] α -terpineol ile incelenmiştir. Oral, i.v. veya inhalasyon yolu ile α -terpineol'a maruz kalmış deney hayvanlarında α -terpineol hızla absorbe olmuş ve geniş dağılım göstermiştir. Trakea kası, kulak, kalp, karaciğer ve böbreklere ve plazma proteinine bağlandığı, değişmemiş formunun idrarla atıldığı, eliminasyon yarı-ömrünün ise inhalasyon yolu ile 5.9, oral 8.5 ve i.v. 13.33 saat olduğu gösterilmiştir (60).

Sıçanlarda α -terpineol biotransformasyonu karaciğer mikrozomal sitokrom P450 sistemini etkiler. α -Terpineol'a maruz kalmış sıçanların idrarı yapılan gaz-kromatografisi/mass spektrometri incelemesinde, idrardan, α -terpineol, p-ment-1,2,3-triol, oleuropeik asid, dihidrooleuropeik asid, ve daha az miktarda olmak üzere, bilinmeyen bir metabolit bulunmuştur. Ayrıca α -terpineol'a maruz kalmış sıçanların, ilk üç günde P450 enzimlerinin arttığı gözlenmiştir (61).

İntraselüler enzimlerden biri olan alkalın fosfataz pH 8,5-10 arasında p-nitrofenil fosfatı, p-nitrofenol'e ve fosfata ayırmaktadır. Enzimin serumdaki düzeyi, kemik hastalıklarında (osteojenik sarkom, riekets) ve safra asitleri yapım bozukluğunda (tıkanma sarılığı, siroz gibi) yükselmektedir (62). Sıçanlarda LD₅₀ dozundaki α -terpineol (2.9g/kg) intragastrik uygulanmasının, sıçan beyinindeki alkalın fosfatazı, l-borneol'a nazaran daha az ve önemsiz derecede inhibe etmektedir (63).

Günde 3ml %20 terpineol'un i.m injeksiyonunun diüretik etki gösterdiği ve idrarla K^+ , Na^+ ve Cl^- un vücuttan atılmasını artırdığı bildirilmiştir (64). Kardiak ödemi olan hastalarda 2-6 hafta boyunca biraz daha yüksek doz, (50 mg oral) hidroklorotiazid uygulaması 2 ml i.v. terpineol'e nazaran hafif etkili olduğu ve 750 mg (oral veya rektal) syntophyllin'e nazaran daha aktif olduğu, uzun süreli uygulanmasının ise uriner sistemi ve böbrek fonksiyonlarını, hematopezi bozmadığı ve gastrointestinal bölgede irritasyon yapmadığı gözlenmiştir (64).

Bir başka araştırmada α -terpineol'un antiastmatik etkili olduğu rapor edilmiştir (65). Kobaylarda α -terpineol bütün hava yollarına dilatasyon yaratmıştır. Duyarlığı ovalbumin ile artırılmış deneklerde iki dakika için %1 α -terpineol inhalasyonu akciğer resistansını ortadan kaldırmıştır. Bu etkinin ne propranolol (5 mg/kg i.v.) ne de rezerpinden (5 mg/kg i.v.) etkilenmemiş olması, α -terpineol'un bu etkisinin adrenerjik reseptörler ya da adrenerjik sinirler üzerinden olmadığını göstermiştir (66).

α -Terpineol'un antiallerjik, antitusif, kolagog, ekspektoran etkileri, ayrıca ACE-inhibitörü (100 μ g/ml), aldoz-reduktaz inhibitörü (100 μ g/ml), motor-depresan, nematisit (MIC=1mg/ml), termisit ekileri de olduğuna ilişkin resmi bir web sitesinde kısa bilgilere rastlanmıştır (67).

1. 2. Gastrointestinal Düz Kaslar

Bilindiği gibi düz kaslar, istem dışı çalışan ve az ya da çok spontan mekanik etkinliği olan ancak, *in vivo* ortamda nörohumoral unsurlar ile işlevleri düzenlenebilen dokulardır. Düz kaslar, mekanik etkinliğe sahip iç organları olan hayvanlar ve insanlarda fizyolojik işlevlerin sürdürülmesi için gereklidir. Bu fizyolojik işlevler arasında, kardiyovasküler regülasyon, solunum, boşaltım, sindirim, ekzokrin salgılamalar, dişi ve erkeklerde üreme, oküler akomodasyon gibi önemli işlevlerde düz kasların, önemli görevler üstlendiğini görürüz (68).

Gastrointesinal kanaldaki düz kas lifleri 200-500 mikrometre uzunlukta ve 2-10 mikrometre çapındadır ve 1000 kadar paralel liften oluşmuş demetler şeklinde düzenlenmişlerdir. Düz kas liflerinin her demeti birbirinden gevşek bağ dokusu ile ayrılmıştır. Longitudinal kas tabakasında bu demetler barsak kanalı boyunca uzunlamasına uzanır, sirküler kas tabakasında ise bağırsağın çevresinde uzanırlar (69).

1.2.1. Düz Kas Tipleri: Bozler (1948) tarafından düz kaslar mekanik ve elektrofizyolojik özellikleri dikkate alınarak iki ana gruba ayrılmıştır (70).

1.2.1.1. Tek-birimli (*single unit*) düz kaslar: Bunlara viseral düz kaslar adı da verilir. Bu tip düz kaslarda, düz kas hücreleri tıpkı kalpte olduğu gibi fonksiyonel bir sinsisyum (şebeke) oluştururlar. Yüzlerce veya binlerce hücreden oluşan şebeke içindeki düz kas hücreleri arasında kısıruk kavşaklar (gap junctions) denilen sıkı temas yerleri vardır. Bu yerlerde iyonlar ve metabolitler bir hücreden diğerine serbestçe akabilirler. Aksiyon potansiyeli kısıruk kavşağın bir tarafındaki hücre membranından diğerine elektriksel kenetlenme nedeniyle hümoral nitelikte bir aracı olmaksızın geçer. Şebeke içinde bazı hücreler tempocu (pacemaker) özelliğine sahiptir. Burada başlayan spontan depolarizasyon genellikle yavaş hızda bütün şebekeye yayılır ve peristaltik kasılmalara neden olabirler. Bu olay için sinsisyumla kenetlenmiş bir sinirsel devrenin katkısına ihtiyaç yoktur. Böyle bir düz kaslı yapı, *in vitro* durumda da spontan hareketlerini sürdürür. Yapının gerilmesi, depolarizasyon yaparak spontan hareketleri tetikleyebilir.

Tek-birimli düz kaslı yapılara örnek olarak, visserlerin çerperinde tabaka halinde bulunan düz kaslardır. Gastrointestinal, üreter, uterus ve safra yollarının düz kasları, uterus hariç, diğerlerinde seyrek veya yoğun bir intrinsik nöron şebekesi ve gangliyonlar düz kasa eşlik eder (70).

1.2.1.2. Çok-birimli düz kaslar: Bunlar bağımsız düz kas hücrelerinden oluşurlar. Hücreler arasında yakın temas yerleri yoktur. Her hücre diğerinden bağımsız olarak kasılır. Kasılmaların eşgüdümü düz kas hücrelerini innerve eden parasempatik veya sempatik sinirler gibi nöronal devreler tarafından sağlanır. Düz kaslı yapının *in vivo* durumda olsun, *in vitro* olsun spontan kasılmalar göstermesi mümkün değildir. Yapının sinir sisteminin elektriksel uyarılması, bütün düz kasların simültane bir şekilde toplu kasılmasına ve kuvvet geliştirmesine neden olur. Örneğin, büyük damarların düz kasları, bronş çerperindeki düz kasları, trakeada kıkırdak uçları arasında yer alan düz kaslar, gözde iristeki konstriktör ve dilatör düz kaslar, bazı hayvanların göz küresi önündeki niktitan membran ve ciltteki pilomotor düz kaslardır (70).

Visseral düz kasın kasılma ve gevşeme olaylarının sırası

1. Asetilkolin gibi kastırıcı agonistlerin reseptörlere bağlanması.

2. Hücre içine Ca^{+2} girişinde artma.
3. Kalmoduline bağımlı myozin hafif zincir kinaz aktivasyonu.
4. Myozinin fosforilasyonu.
5. Myozinin aktine bağlanması ve myozin ATP az aktivitesinde artırma.
6. Kasılma.
7. Değişik fosfatazlarla myozinin defosforile olması.
8. Kilitlenmiş köprüler sayesinde kasılmanın veya gevşemenin uzaması (72).

1.2.2. Siklik Nükleotidlerin (sAMP,sGMP) Lokalizasyon, Biosentez ve Yıkımları :

Siklik nükleotidler, normal koşullarda hücre içine de yerleşmiş endojen bileşiklerdir. Siklik nükleotidlerin biosentezi, çeşitli uyarıların, örneğin diğer nörohumoral unsurların etkisi sonucu hücre zarının sitoplazmaya bakan yüzünde lokalize olduğu kabul edilen nükleotid (adenilat veya guanilat) siklaz enzimi aracılığıyla yapılır. Biosentezde genel olarak üç fosfor grubu taşıyan nükleotid (ATP veya GTP) prekürsör olarak kullanılır. Bu yolla oluşan siklik nükleotid, hücre içindeki spesifik protein kinazları aktive ederek hücreye özgü biyolojik yanıtı oluşturacak bir dizi biyokimyasal tepkimeye başlatabilecektir.

Biyolojik yanıtı ortaya çıkaran siklik nükleotid, bundan sonraki basamakta siklik nükleotid fosfodiesteraz enzimi ile 5'-monofosfat biçimine (5'-AMP veya 5'-GMP) yıkılır. Siklik nükleotidleri yıkan fosfodiesteraz enzim'in teofilin ya da papaverin ile inhibisyonu dokunun niteliğine bağlı olmak üzere, ya sAMP, ya sGMP, yada her ikisinin birden düzeylerinin artmasına neden olur.

Siklik nükleotidlerin sentezini sağlayan nükleotid siklaz çeşitli endojen veya ekzojen bileşikler tarafından uyrılabilir, böylece uyarılan reseptöre kenetli nükleotid siklazın cinsine göre hücrede ya sAMP ya da sGMP düzeyi artar. Ayrıca Ca^{2+} , Mg^{2+} , gibi metal iyonlarının da nükleotid siklaz etkinliği üzerine etkili olduğu gözlenmiştir. Ca^{2+} iyonları konsantrasyona bağlı olarak adenilat siklaz enzimini hem aktive hem inhibe edebilirken, diğer iyonların da sözü edilen enzimin etkinliği için gerekli olduğu ortaya konmuştur (68).

1.2.3. Düz Kasların Kontraktıl Elemanları

Düz kasların kontraktil elemanları, iskelet kaslarında ve kalp kasında olduğu gibi aktin ve myozin filamentleridir. Hücrelerin örgütlenme düzeni düz kasta, adı geçen diğer iki kas lifindekinden farklı olduğu gibi, düz kaslarda hücre içindeki aktin ve myozin filamentlerinin örgütlenme düzeni de diğer hücrelerdekinden farklıdır.

Aktin filamentlerinin bir ucu serbest, diğer ucu ise Z bandı ya da Z diski denilen ve filamentöz proteinden oluşan bir transvers diske bağlanmıştır. Z bandı, bir myofibrille kısıtlı bir yapı değildir. Bir myofibrilden diğerine bir hücredeki bütün myofibrilleri kesecek şekilde uzanır. Böylece, Z diskleri, bir kas lifi içindeki bütün myofibrilleri enine yönde birbirine bağlar ve çeşitli myofibrillerin aktin filamentlerini aynı hizaya getirir. Bu hizalanma nedeniyle, myofibriller gibi kas lifleri de münavebeli açık ve koyu bantlardan oluşur. Bu durum iskelet ve kalp kaslarının mikroskopta "çizgili" gözükmesini sağlar.

Ardışık Z diskleri arasında kalan myofibril bölümü sarkomer adını alır. Sarkomerler kas hücresinin kontraktil birimleridir. Z diskinin hizalı olması nedeniyle bazı kaynaklarda bir lif içinde yanı hizada olan yüzlerce veya binlerce sarkomere de aynı ad verilir. Sarkomerde myozin filamentleri iki ucu serbest şekilde ortada yer alırlar. Yanlarından aktin filamentine doğru uzanan çapraz köprüler "*cross bridges*" denilen molekul uzantılarıyla aktin filamentleri ile temas halindedirler ve kontraksiyon sırasında onlara bağlanırlar (70).

Düz kas hücrelerinde de kontraktil elemanlar aktin ve myozin filamentleridir. Düz kas hücreleri, iskelet kasları gibi yoğun ve sıkışık bir filament düzeni göstermezler. Elektron mikroskopisi ile inceleme mümkün olana kadar düz kas hücresinde kontraktil bir yapı görülmesi mümkün olmamıştır. Son zamanlarda uygulanan özel elektron mikroskopisi yöntemleri ile filamentlerin düz kas hücresindeki örgütlenmesi hakkında bilgi edinilmeye başlamıştır (70).

Düz kas hücrelerinde aktin filamentlerinin bağlandığı Z diskerine benzeyen hizalanmış ve düzenli dağılım gösteren bağlanma yerleri bulunmaz. Bu hücrelerde aktin filamentleri yoğun cisimler "*dense bodies*" denilen bağlanma noktalarına yapışmış durumundadır. Bu hücrede çok sayıda yoğun cisimler bulunur. Bunların bir kısmı hücre membranı içindedir; diğerleri ise sitoplazma içinde yer almışlardır. Bu yapılar

birbirinden kopuk durumda değildir; özel yapısal proteinlerden oluşan bir "iskele" sistemi ile birbirlerine bağlanmak suretiyle buldukları yerde kalmaları sağlanmıştır. Ayrıca birbirine yakın hücrelerin, membranlarındaki yoğun cisimlerden bazıları hücre - arası protein köprüleri ile kendi aralarında bağlanmışlardır. Bu hücreler-arası köprü sistemi, bir yapı içindeki düz kas hücrelerinin bireysel kasılma kuvvetlerinin birbirine eklenmesini sağlar (70). Birbirine yakın yoğun cisimlere bağlanmış iki aktin filamenti demetinden oluşan düz kasa özel füziform myofibrillerin ortasında kalın myozin filamentler bulunur.

Yukarıda açıklandığı gibi aktin ve myozin filamentlerinin fiziksel örgütlenmesi bakımından düz kas hücreleri ile iskelet kası hücreleri arasında büyük farklar vardır. İki kas tipi arasında eksitasyon-kontraksiyon keneti, kontraksiyon sürecinin Ca^{2+} iyonları tarafından kontrolü, kontraksiyonun gelişme hızı ve süresi ile enerji ekonomisi bakımından da farklar vardır (70).

Düz kasta bulunan ve kontraksiyon mekanizmasının Ca^{2+} kalmodulin kompleksiyle tetiklenmesine aracılık eden myosin hafif zincir kinazı (*myosin light chain kinase*), iskelet kasında bulunursa da tetiklemede rol oynamaz.

İskelet kasında, hücrenin her tarafına yayılmış gelişkin bir sarkoplazmikretikulum (SR) veya sarkotubul şebekesi olduğu halde, düz kasta (SR) rudimenter düzeydedir. Bunun iki pratik sonucu şunlardır: i) iskelet kası, düz kasa göre çok daha hızlı kasılır. ii) iskelet kası, T tubullerinin depolarizasyonu sonucu tetiklenen ve SR'den sarkoplazma içine fıskıran intraselüler kalsiyum aracılığı ile kasıldığından, deneysel koşullarda kalsiyumsuz ortam çizgili kas kasılmasını etkilemez (70). Halbuki düz kasın kasılması, kasın yerine ve türüne göre az veya çok ekstraselüler Ca^{2+} iyonuna bağlıdır. Çizgili kas hücresinde çok sayıda mitokondri bulunur, bu çizgili kasın hızlı kasılması için yoğun şekilde gereksinimi bulunan ATP'nin hızlı bir şekilde üretimi için gerekli bir durumdur. Düz kaslarda, çizgili kaslarda olduğu kadar yoğun mitokondri bulunmaz (70).

1.2.3.1. Düz kas myozin filamentleri :Myozin filamenti her birinin ağırlığı 480,000 kadar olan bir çok myozin molekülünden oluşmuştur. Myozin molekülü, her birinin ağırlığı 200,000 kadar olan iki ağır zinciri ile molekül ağırlıkları 20,000 olan

dört hafif zincir olmak üzere altı polipeptid zincirinden oluşmuştur. İki ağır zincir bir çift sarmal oluşturmak üzere birbirini etrafına spiral olarak sarılır. Bu zincirlerden her birinin bir ucu kıvrılarak myozin başı denen globüler polipeptid yapıyı meydana getirir. Dolayısıyla, çift sarmal myozin molekülünün bir ucunda yan yana uzanan iki serbest baş vardır, sarmalın devam eden kısmına kuyruk denir.

İkisi bir başa ait olmak üzere, dört hafif zincir de myozin başının kısımlardır ve kasılma sırasında başın fonksiyonunu kontrol etmeye yardım eder. Ayrıca başı vücuttan uzatan kısma kol (boyun), kollar ve başlara birlikte çapraz- köprü denir (69).

Çapraz köprüler iki noktada ileri geri bükülebilirler, bu noktalara menteşe (*hinge*) denilir. Menteşelerden biri kol ile kafa arasında, diğeri kolun diğeri ucunda onun filamentin gövdesine girdiği yerdedir. Filamentin orta kısmında çapraz köprü bulunmaz sadece kuyruklar bulunur. Çapraz köprüler, filament boyunca gövdeden aynı hizada çıkmazlar, ardışık iki çapraz köprü arasında 120 derecelik bir dönme vardır. Böylece köprüler filamentin etrafında her yönde uzanırlar. Myozin aktive edilince demetten çıkan kollar ve ona bağlı kafalar menteşeler etrafından uygun şekilde açılmak suretiyle aktin filamentini hareket ettirirler (70).

Myozin'in fonksiyonel önemi olan diğeri bir özelliği, kafa kısımlarının aktine-bağımlı ATP'az etkinliği göstermesidir. Böylece aktinle etkileşme başladığı zaman kafanın etrafında ATP molekülleri ADP'ye hidroliz edilerek açığa çıkan enerji çapraz köprülerin ve aktin'in mekanik hareketine ve kas kasılmasına neden olur (70).

1.2.3.2. Aktin Filamenti: Aktin, iki zincirli F-aktin protein molekülünden ibarettir. Her 70nm'lik mesafada 360°'lik tam bir burulma olur. Heliks oluşturan zincirlerin her biri yaklaşık 42 KDa'lık polimerize G-aktin moleküllerinden oluşur. Her bir zincirin bir tam burulmaya uyan 70nm'lik kısmında yaklaşık 13 tane polimerize G-aktin molekülü bulunur. Bu moleküllerin her birine birer ADP molekülü bağlanmıştır. Bu ADP moleküllerinin aktin filamentinin myozin'in çapraz köprülerinin kafalarıyla etkileşen (aktif noktaları) nı oluşturduğu sanılmaktadır aktif noktalar arasındaki mesafe 2nm kadardır. Aktin filamentinin uzunluğu ise 1mikrometre (1000nm) kadardır (70).

1.2 4. Aktin filamenti ile myozin filamenti arasındaki etkileşme :

Düz kas hücrelerinde, myozin çapraz köprülerinin kafa kısmındaki regülatör hafif zincirin, myozin hafif zincir kinazı tarafından fosforile edilmesi, çapraz köprüleriyle aktin üzerindeki aktif noktaların etkileşmesini başlatır. Bu etkileşme sırasında kafaların ardışık aktif noktalarla bağlanmaları kafanın ve kolun menteşelerden bir yönde bükülmesiyle aktin moleküllerinin myozin'in merkezi yönünde yürütür. Kafanın kola doğru bükülmesi, bağlandığı aktif noktayı ve onu taşıyan aktini, iki aktif nokta arasındaki mesafe kadar hareket ettirir. Bu olaya güç darbesi (*power stroke*) denilir. Bu hareket için enerji ATP'nin hidrolizi ile sağlanır. Bükülen kafa, bağlandığı aktif noktadan ayrılıp geriye kaykılarak ve bir sonraki aktif noktaya bağlanır. Bu olay peş peşe devam eder, her bir güç darbesi, myozin merkezinin iki tarafındaki aktin moleküllerini birbirine doğru kademeli bir şekilde yaklaştırır. Böylece kasılma meydana gelir (70).

Kasılma gücü, birim zaman zarfında aktin'in aktif noktaları ile bağlanan çapraz köprü sayısı ("*cycling*" hızı) ile orantılıdır (70).

1.2.5. Kasılmanın Kalsiyum İyonları ile Düzenlenmesi :

Çoğu düz kasta iskelet kasında olduğu gibi kasılma intraselüler kalsiyum iyonlarındaki artışı ile başlar. Kalsiyum artışı düz kas lifinin sinirsel, hormonal yolla uyarılması, lifin gerilmesi veya lifin kimyasal çevresindeki değişikliklerden kaynaklanabilir (69).

Düz kas hücreleri kalmodulin denilen bir düzenleyici protein içerir. Hücrenin Ca^{2+} düzeyi artınca "4 Ca^{2+} kalmodulin" ikili kompleksi oluşur, bu ikili kompleks myozin hafif zincir kinaz (MHZK)'a bağlanır ve üçlü kompleks oluşur ve molekül üzerinde bulunan aktif (katalitik) nokta açılır, enzim fosforilasyon yapmaya başlar (70).

Myozin hafif zincirinden biri myozin kinaza yanıt olarak fosforile olur. Bu zincir fosforile değilken, başın aktinle tutunma–ayrılma döngüsü meydana gelmez (69).

Myozin hafif zincir kinaz tarafından fosforile edilen hafif zincir, Mg-ATPaz'ın hızını düz kasta artırır. V_{maks} bin kez artabilir. Mg ATPaz, aktin–myozin etkileşmesi sırasında güç darbesi ve bunun sonucu olan kontraksiyon için gerekli enerjiyi ATP hidrolizi suretiyle sağlayan enzimdir. MHZK düz kasta myozin çapraz köprülerinin cycling hızını ve dolayısıyla kasılmasını ve gücün artırır (70).

1.2.6. Defosforilasyon ve Gevşeme:

Kalsiyum iyonunun sarkoplazmada kritik bir düzeyin altına düşmesi düz kasın hücre sıvısında bulunan myozin fosfatazın aktivasyonuna neden olur. Bu enzim fosforile edilmiş myozin hafif zinciri molekülünden fosfat gruplarının koparılmasına neden olur. Böylece çapraz köprülerin kafasıyla aktin'in aktif noktaları arasındaki etkileşmeyi inhibe eder. Myozin hafif zincirlerinin defosforile olması, kasın gevşemesine neden olur (70).

Düz kasta mandal (*latch*) mekanizmasının varlığı nedeniyle defosforilasyona rağmen kasılma devam edebilir. Bu durumda düz kaslı yapılar, fosforilasyon ve çapraz köprü cycling hızının düşmesine ve ATP tüketiminin başlangıç düzeyin çok daha aşağısına inmesine rağmen tonik kasılmayı maksimuma yakın bir düzeyde sürdürürler. Mandal durumunun mekanizması için en fazla yandaş bulunan görüşe göre: defosforile olmuş çapraz köprülerin aktin molekülüne tutunmuş olarak kalmaları ve oradan ayrılıp tekrar bağlanma (*cyclig*) hızının yavaşlaması ile karakterizedir.

Mandal durumu kalsiyuma bağımlıdır ve kalsiyumun ortamda azalmasıyla ortadan kalkar. Mandal durumu patolojik durumlarda artar, bronş ve diğer düz kaslı yapılarda gelişen çözülmesi zor spazmları açıklayabilir (70).

Defosforile köprülerin kural-dışı olarak aktine bağlı kalmasında, fosforile köprülerin aktinden ayrılmasında ve gevşemede *kaldesmon*, (70). *kalponin* ve *kaltropin* adı verilen proteinlerin de rol oynadığı gösterilmiştir (71).

Düz kasın gevşemesi için kalsiyum iyonlarını aktin ve myozin filamentlerini çevreleyen intraselüler sıvıdan uzaklaşması önemlidir. Bunun için kalsiyum iyonlarını ekstraselüler sıvıya ya da sarkoplazmik retikuluma pompalayan kalsiyum pompaları önemli rol oynarlar. Bu pompalar iskelet kasında hızlı çalışan sarkoplazmik retikulum pompalarına göre daha yavaş çalışır (69).

KCl ile depolarize edilmiş kobay ve tavşan ileumunda $CaCl_2$ ile oluşturulan kasılmalar, papaverin tarafından nonkompetitif biçimde önlenmektedir. Bu etki, papaverinin kısmen kalsiyum iyonunun uptake'ini önleyerek, kısmen de fosfodiesteraz inhibisyonuyla hücre içi sAMP düzeyini yükselterek gevşemeye neden olduğunu göstermektedir.

Düz kaslarda bir gevşeme mekanizması daha tanımlanmıştır. Bu da kalmodulinin selektif olarak antagonize edilmesidir. Bu amaçla çeşitli bileşikler sentezlenmiştir ve bunlardan en önemlileri W-5 ve W-7 olarak bilinen naftalen sülfonamid türevleridir. Bu bileşikler Ca^{2+} -kalmodulin kompleksinin oluşumunu önleyerek düz kaslarda gevşemeye neden olurlar (68).

Membran depolarizasyonu sonucu kasılmanın meydana gelmesi olayına "elektromekanik kenetlenme" denilir. Düz kas kasılmasında elektromekanik kenetlenme olabilmesi için çizgili kas gibi mutlaka aksiyon potansiyeli şeklinde şiddetli ve hızlı bir potansiyel değişmesi gerekmez, aksiyon potansiyeli yapmayacak kadar zayıf depolarizasyon dalgalanmaları da yavaş bir şekilde kasılmayı sağlayabilir (70).

Düz kaslarda çizgili kaslardan farklı olarak, depolarizasyon esas olarak, Na^+ akımına değil Ca^{2+} akımına bağlıdır. Düz kas hücresindeki depolarizasyonun Ca^{2+} 'a olan bağımlılığı nedeniyle tetrodotoksin (TTX) gibi selektif sodyum kanal blokörleri, sinir depolarizasyonunu önler fakat düz kas depolarizasyonunu ve elektromekanik kenetlenmeyi önlemez (73). Farmakomekanik kenetlenme sonucu meydana gelen kasılmanın düz kaslarda en yaygın mekanizması, fosfoinozitid'in hidrolizine bağlıdır. Şöyle ki, hücre membranında agonistler tarafından aktive edilmiş reseptör, $G_{q/11}$ proteini aracılığı ile membrandaki fosfolipaz C enzimini aktive eder; o da fosfotidilinozitol-4,5-difosfatı hidroliz ederek iki tane ikinci ulak oluşturur (inozitol trifosfat (IP_3) ve diasilgliserol (DAG)) (73).

İkinci haberci ya da ikinci ulak (second messenger) olarak çalışan IP_3 , hücrenin endoplazmik retikulumundaki kendi reseptörüne bağlandıktan sonra, sitoplazmaya salıverilen serbest Ca^{2+} aracılığı ile, DAG ise protein C kinazı aktive ederek hücrenin son cevabı ile sonuçlanan bir post-reseptör olaylar dizisini başlatır. Diasilgliserol tekrar fosforlanarak fosfatidik aside dönüşür, o da inozitolla birleşik polifosfatlanarak fosfoinozitidlere dönüşür (71; 73).

Protein kinaz C, düz kasta Ca^{2+} 'dan bağımsız bir şekilde kontraksiyon meydana getirebilir. Protein kinaz C'nin kaldesmon'nu fosforile edebildiği gösterilmiştir. Protein kinaz C aktivasyonunun, damar düz kas hücre membranında yavaş Ca^{2+} kanallarını fosforile etmek suretiyle onları stimüle ettiği ve bu şekilde kalsiyuma bağlı kasılma

yapabildiğini gösteren kanıtlar da vardır. Bazı agonistlerin, kanalın inhibitör düzenleyici proteinlerini adenilat siklaz veya guanilat siklaz aktivasyonu yaparak sAMP'ye bağımlı veya sGMP'ye bağımlı protein kinazlar aracılığı ile fosforile etmek suretiyle yavaş kalsiyum kanallarını bloke edebileceklerini gösteren deneysel bulgular da elde etmişlerdir (70).

Bazı durumlarda düz kasta kalsiyum düzeyi uzunca bir süre eşik-üstü değerde seyrettiği halde, insiyel kısa süreli yanıtın sonra tonik bir yanıtın ortaya çıkmadığı gözlemlenmiştir. Bunun nedeni kontraktıl düzenleyici mekanizmada Ca^{2+} 'a karşı desensitizasyon gelişmesidir (70).

Farmakomekanik kenetlenmede rol oynayan sarkoplazmik Ca^{2+} iyonlarının, ekstraselüler ve intraselüler olmak üzere başlıca iki kaynağı vardır:

1.2.6.1. Ekstraselüler Kalsiyum: Kalsiyum esas olarak voltaja bağımlı veya reseptörle çalıştırılan Ca^{2+} kanalları ile konsantrasyon farkına göre hücre içine girer. İstirahat durumunda intraselüler Ca^{2+} 0.1 μ M, ekstraselüler Ca^{2+} on bin kez daha yüksek yani yaklaşık 1 mM düzeyindedir. Ekstraselüler sıvı, kas hücresi için sonsuz büyüklükte bir Ca^{2+} kaynağıdır. Bu yolla hücre içine giren kalsiyum hem kontraktıl mekanizmayı etkiler hem de sarkoplazmik retikulum ve diğer depolarda replasyon yapar.

Farmakomekanik kenetlenmede önemli rol oynayan inozitol 1,4,5-trifosfat (IP_3) ve inozitol 1,3,4,5-tetrakisfosfat gibi inozitol fosfat türü ikinci ulakların; bir taraftan hücre-içi depolardan Ca^{2+} salıverilmesini artırırken, öte yandan membran kalsiyum kanallarından ekstraselüler Ca^{2+} 'un girişini artırması muhtemeldir (70).

1.2.6.2. Endoplazmik (Sarkoplazmik) retikulum ve kalsiyozomlarda depolanmış salıverilebilir Ca^{2+} : Düz kas hücrelerinde sarkoplazmik retikulum rudimenter durumdadır. Sadece bazı düz kaslarda sarkoplazmik retikulum biraz gelişmiştir; fakat bu, iskelet kaslarındakiyle kıyaslanabilecek kadar belirgin değildir. Bu düz kaslarda hücre membranı kaveol'ler (*caveoli*) adı verilen ve iskelet kaslarındaki T tubullarını rudimenter şekli gibi kabul edilebilecek çukurluklar gösterir ve bunlar sarkoplazmik retikulum membranı ile temas halindedir. Bu tür düz kaslar nisbeten hızlı kasılırlar.

Düz kas hücresinde kalsiyum depolayan ana organel olan sarkoplazmik retikulum yanında kalsiyozom denilen veziküller de bulunur. Kalsiyozomlar da

retikulum gibi inozitoltrifosfat (IP₃) reseptörlerine sahiptir ve bunların aktivasyonu IP₃ tarafından Ca²⁺ saliverilmesini sağlar. SR'da IP₄ reseptörlerinin de bulunduğu ve bunların aktivasyonu sonucu açılan kalsiyum kanallarında kalsiyozomlara Ca²⁺ transferini sağlandığı ileri sürülmüştür. Ayrıca IP₃ ve özellikle IP₄'ün hücre membranındaki yavaş Ca²⁺ kanallarını açarak içe yönelik kalsiyum akımı oluşturduğu böylece SR'da replesyon yaptığı gözlemlenmiştir (70).

Hücre içi serbest kalsiyum konsantrasyonunu azaltan kalsiyum pompaları dışında kalmodulin ve myozin de tamponlama mekanizmasına katkısı vardır. Mitokondriler fizyolojik konsantrasyondaki kalsiyum tamponlanmasında rol oynamazlar, fakat patolojik durumlarda sitoplazmik Ca²⁺ anormal derecede yüksek düzeye çıktığında çok yüksek kapasiteli reversibl kalsiyum deposu görevi yaparlar (70).

1.2.7. Gastrointestinal Düz Kasın Elektriksel Aktivitesi:

Gastrointestinal düz kasta 2 temel elektriksel dalga tipi bulunur.

1.2.7.1. Yavaş dalga: Yavaş dalgalar kalsiyum iyonun düz kas içine girişine neden olmazlarken sodyum iyonunun girişini sağlarlar. Bu sebepten yavaş dalgalar mide hariç kas kasılmasına neden olmazlar, aksiyon potansiyeli değildirler, istirahat membranı potansiyelindeki yavaş ve ritmik değişikliklerdir. Şiddetleri 5-15 milivolt arasında değişir ve frekansları insan midesinin korpusunda yaklaşık 3, duodenumda 12, terminal ileumda yaklaşık 8 veya 9 kadardır (69).

Yavaş dalgaların mekanizması, bir görüşe göre düz kas hücre membranındaki sodyum pompasının (Na,K-ATPaz'ın) hızındaki ritmik değişmelere bağlıdır. Bu pompanın aktivitesi sırasında 2K⁺ içeri pompalarken, 3Na⁺ dışarı pompalanır ve böylece hücre içinden bir pozitif yük kaybına neden olur. Pompa hücreyi hiperpolarize durumda tutmaya çalışır. Pompanın hızı artarsa membran potansiyeli daha negatifleşir; yavaşladığı zaman daha az negatif olur. Böylece, hız değişmesi membran potansiyelinde dalgalanmaya yol açar. Bir feedback kontrol mekanizması nedeniyle dalgalanmaların genişliği belirli bir sınırı geçemez, pompa, hızını otomatik olarak ayarlar. Beta adrenerjik agonistlerin düz kasta pompayı hızlandırmak suretiyle hiperpolarizasyon ve gevşeme yaptıkları bildirilmiştir (70).

1.2.7.2. Dikensi potansiyeller: Sivri (dikensi) potansiyeller gerçek aksiyon potansiyelleridir. Kasın istirahat potansiyeli -40mV dan daha pozitif olduğunda (normal membran istirahat potansiyeli -5 ile -60mV arasındadır) otomatik olarak oluşurlar. Gastrointestinal düz kasta, aksiyon potansiyeli oluşumundan kalsiyum-sodyum kanalları sorumludur. Bu kanallar çok sayıda kalsiyum iyonu yanı sıra az sayıda sodyum iyonunun da girmesine izin verirler (69).

Normal şartlar altında istirahat membran potansiyelleri ortalama -56 milivolttur, fakat bir çok faktör bu düzeye etki edebilir. Potansiyeller daha fazla pozitif olduklarında kas daha kolay uyarılabilir hale gelir. Bu duruma membranın *depolarizasyonu* denir. Potansiyel negatifleştiğinde ise lifler daha az uyarılabilir, bu duruma da *hiperpolarizasyon* denir.

Membranı depolarize eden faktörler. 1- kasın gerilmesi, 2- asetilkolin (ACh) gibi agonist ile uyarılması, 3- sinir uçlarından agonist (ACh) salgılayan parasempatik sinirlerle uyarılması, 4- bazı özel gastrointestinal hormonlar ile uyarılma.

Membran potansiyelini daha da negetifleşiren önemli faktörler ise, 1- norepinefrin veya epinefrin, 2- sinir uçlarından norepinefrin salgılayan sempatik sinirlerin uyarılması (69).

Düz kasların kasılma gevşeme sürecinin düzenlenmesinde karanlık kalmış noktaların bulunmasına karşın, ilaçların bu gün için düz kaslarda etkileşebileceği belirlenen yöreler genel olarak; a) Nükleotidi sentezleyen enzime kenetli reseptör, b) Nükleotid sentezleyen enzim, c) Nükleotidi yıkan enzim, d) Ca^{2+} uptake'i, ve e) Kalmodulin gibi kalsiyum bağlayıcı proteinlerin önemli olduğu bilinmektedir (68).

Spesifik ve etkin düz kas gevşeticilerin bulunabilmesi ancak yukardaki etki yöreleriyle etkileşen ilişkin yeni bileşiklerin geliştirilmesiyle söz konusu olacaktır (68).

Öte yandan α -terpineol'un insanların gerek doğada gerekse sentetik olarak elde edilen bir madde olması ve dolayısıyla besin maddelerinde bulunması, bazı canlılarda α -terpineol katabolize eden özel gen bulunması, α -terpineol için spesifik sitokrom P450 enzimlerinin varlığı ve ayrıca farmakolojik açıdan yeterince araştırılmamış olması nedeniyle, α -terpineol'un gastrointestinal düz kasları üzerinde etkisi bu çalışmada araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Deney Hayvanları:

Deneylerde her iki cinsten albino *Wistar* sıçanları (200-300g) kullanılmıştır. Deney hayvanları Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim dalında yetiştirilmiş, çeşme suyu ve standart yem (Esyem A.Ş., Eskişehir) ile beslenmiştir.

2.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar:

Kimyasal maddeler:

NaCl	(Merck)
KCl	(Merck)
Glikoz	(Merck)
NaHCO ₃	(Merck)
CaCl ₂	(Merck)
MgCl ₂	(Merck)
NaH ₂ PO ₄	(Merck)
MgSO ₄ H ₂ O	(Merck)
Asetilkolin.Cl	(Merck)
İmidazol	(Sigma)
Nalokson.HCl	(Sigma)
Labetalol.HCl	(Sigma)
N ^o -Nitro-L-Arginin (No-ARG)	(Sigma)
L-Arginin	(Sigma)
Metilen blue	(Merck)
Tetraetilamonyum	(Prof. Dr. Hakan GÖKER tarafından sentezlendi)
Atropin sülfat	(Merck)
α-Terpineol	(Sigma)

Kullanılan cihazlar ve melzemeler:

Hassas terazi	(Mettler)
İzole organ banyosu	(Ugo-Basile cat 4050)
İzotonik transducer	(Ugo-Basile cat. 7006)
Recorder Gemini	(Ugo-Basile cat 7070)

Cerrahi alet ve malzemeler

Mikropipet (Eppendorf, Alm.) ve Enjektörler (1, 5, 10 ml, Hayat A.Ş., Türkiye)

2.2. YÖNTEM

2.2.1. İzole Organ Banyosu Deneyleri:

Deneylerde kullanılan sıçanlar servikal dislokasyon ile öldürüldükten sonra karın bölgesi açılarak duodenum, mide ve ileum çıkarılmıştır. Fizyolojik solusyon olarak kullanılan Krebs-Henseleit solusyonu (bileşimi, mmol/L olarak: NaCl, 117.5; KCl, 4.7; CaCl₂.6H₂O, 2.5; KH₂PO₄, 1.18; MgSO₄.7H₂O, 1.18; NaHCO₃, 25.0; ve glukoz, 11.1) içine alınmıştır (74).

Midenin fundus kısmından alınan stripleri klasik yöntemlere uygun olarak kullanılmıştır (75). İleum ileoçekal valvülden 10-20cm uzaklıktaki segmentlerden 2cm kesilip kullanılmıştır. Duodenum preparatı ise pilor sfinkterinden hemen sonra duodenumun ilk 2-3cm bölümünden, yaklaşık 1,5-2,5cm olmak üzere hazırlanmıştır.

Alınan izole organlar çevre dokulardan temizlendikten sonra, izole organ banyosuna aktarılmıştır. İzole organ banyosu sıcaklığı 37° C de sabitlenmiş ve izole organ banyosundan %95 O₂, %5 CO₂ gazları geçirilerek dokuların oksijenlenmesi sağlanmıştır. Duodenum ve ileum 1g, mide fundusa 1.5g gerim uygulanmıştır. Organların cevapları izotonik transduserler aracılığı ile rekorder'de kaydedilmiştir.

Test maddesi izole organ banyosunda (20 ml'lik banyoda) 10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³ M konsantrasyonlarda organlar üzerindeki etkisi denenmiştir. Test maddesinin KCl ve asetilkolin (ACh) cevabında oluşturduğu değişiklikler kaydedilmiştir. Metilen blue (10⁻⁵ M), imidazol (10⁻⁵ M) ve atropin sülfat (10⁻⁵ M), nalokson.HCl (10⁻⁵ M), labetalol (10⁻⁵ M), No-ARG (10⁻⁵ M), L-arjinin (10⁻⁴ M) ve tetraetilamonyum (10⁻⁴ M) varlığında test maddesi olan α -terpineol'un KCl ve asetilkolin cevabı üzerindeki etkisi ayrı ayrı incelenmiştir. Duodenum, fundus ve ileum üzerine ve yukarıda adı geçen maddeler arasında deneyin gidişatından ileri gelen farklı uygulamalar sözkonusu olmuştur.

2.2.2. İzole Mide Fundus Deneyleri:

Mide fundus, izole organ banyosunda bir saat inkübe ettikten sonra asetilkolin ve KCl ile ayrı ayrı doz -cevabı alınmıştır. Organlar Krebs-Henseleit solusyonu ile yıkanmış ve doz aralıklarında en az 15 dakikalık inkübasyona tabi tutulmuştur.

Test maddesinin çözücüsü olarak dimetilsulfoksit (DMSO) kullanıldığı için dokuların 0,1ml saf DMSO ile etkileşmesi ve 0,1ml DMSO varlığında agonistlerin kasılma cevabı kaydedildi. Organlar 10^{-6} ve 10^{-4} M α -terpineol ile 5 dakika kontakt zamanından sonra asetilkolin ve KCl ile ayrı- ayrı kastırıldı ve böylece α -terpineol varlığında agonistlerin kontakasyonundaki değişiklikler kaydedildi.

Organlar 10^{-3} - 10^{-9} M olmak üzere 7 farklı doz α -terpineol ile maruz kalmadan önce, asetilkolin ile çalışırken 10^{-4} M asetilkolin, KCl ile çalışırken 25mmol KCl ile prekontrakte edilmiştir, ardından α -terpineol'un dozları (10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M) uygulanmıştır.

İzole organ banyosundaki mide fundus preparatları, atropin (10^{-5} M), imidazol (10^{-5} M), No-ARG (10^{-5} M) ve Methylene blue (10^{-5} M) varlığında 25mmol KCl ile ayrı ayrı prekontrakte edildikten sonra α -terpineol'un gevşetici etkisinde oluşan değişiklikler kaydedilmiştir (74).

2.2.3. İzole Duodenum Deneyleri:

Duodenum, izole organ banyosunda bir saat inkübe edildikten sonra asetilkolin ve KCl ile ayrı ayrı doz cevabı alınmıştır. Organlar Krebs solusyonu ile yıkanmış ve doz-cevap aralıklarında en az 15 dakikalık inkübasyonuna tabi tutulmuş ve test maddesi çözücüsü olarak (DMSO) kullanıldığı için dokuların 0,1ml saf DMSO ile etkileşmesi ve 0,1ml DMSO varlığında agonistlerin kontraksiyon cevabı kaydedilmiştir.

Duodenum 10^{-6} ve 10^{-4} M α -terpineol ile 5 dakika kontakt zamanından sonra asetilkolin ve KCl ile ayrı-ayrı kastırıldıktan sonra α -terpineol varlığında agonistlerin kontraksiyonundaki değişiklikler kaydedilmiştir.

Organ 7 doz α -terpineol' ile maruz kalmadan önce , asetilkolin ile çalışırken 10^{-4} M asetilkolin, KCl ile çalışırken 25mmol KCl ile prekontrakte edilmiştir, ardından α -terpineol'un (10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M) dozları uygulanmıştır. Bu deney ayrıca 0,1ml'lik 7 doz saf DMSO ile de gerçekleştirilmiştir ve alınan cevaplar α -terpineol+DMSO'deki cevaplarla karşılaştırılmıştır.

İzole duodenum, herbiri ayrı denekler kullanılmak üzere, atropin (10^{-5} M) ve imidazole (10^{-5} M) No-ARG (10^{-5} M), Methylene blue (10^{-5} M), Nalokson (10^{-5} M)ve Labetalol (10^{-5} M)'e maruz bırakıldıktan 5 dk sonra 25mmol KCl ile prekontrakte

edilmiş ve ardından α -terpineol'un dozları uygulanmıştır ve α -terpineol'un oluşturduğu değişiklikler kaydedilmiştir.

2.2.4. İzole İleum Deneyleri:

İleum, duodenum için uygulanan yönteme benzer şekilde olmak üzere, izole organ banyosunda bir saat inkübe edildikten sonra asetilkolin ve KCl ile ayrı ayrı doz-cevabı alınmıştır. Organlar Krebs-Henseleit solusyonu ile yıkanmış ve dozlar arasında en az 15 dakikalık inkübasyonlar uygulanmıştır.

Test maddesi çözücüsü olarak dimetilsulfoksit (DMSO) kullanıldığı için dokuların 0,1ml saf DMSO ile etkileşmesi ve 0,1ml DMSO varlığında agonistlerin kontraksiyon cevabı kaydedildi.

İzole ileum stripleri 10^{-6} ve 10^{-4} M α -terpineol ile 5 dakika kontakt zamanından sonra asetilkolin ve KCl ile ayrı-ayrı kastırıldı ve böylece α -terpineol varlığında agonistlerin kontakstyonundaki değişiklikler kaydedildi.

Organ 7 doz α -terpineol' ile maruz kalmadan önce, asetilkolin ile çalışırken 10^{-4} M asetilkolin, KCl ile çalışırken 25mmol KCl ile prekontrakte edilmiştir, ardından α -terpineol'un (10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M) dozları uygulanmıştır.

α -Terpineol'un doza bağımlı olarak asetilkolin ve KCl'un oluşturduğu cevabı alınmış ve bu deney ayrıca 0,1ml'lik 7 doz saf DMSO ile de gerçekleştirilerek alınan cevaplar α -terpineol+DMSO'deki cevaplarla karşılaştırılmıştır. İzole ileum stripleri 10^{-5} M atropin ile maruz bıraktıktan sonra 25mmol KCl ile prekontrakte edilmiş ve ardından α -terpineol'un dozları uygulanmıştır. Atropin için uygulanan yönteme benzer şekilde imidazol (10^{-5} M), No-ARG (10^{-5} M), methylene blue (10^{-5} M), nalokson (10^{-5} M), labetalol (10^{-5} M), L-arginin (10^{-4} M), ve tetraetilamonyum'a (10^{-5} M) maruz bırakılarak 5 dakikalık kontakt zamanından sonra 25 mmol KCl ile kastırılmış ve α -terpineol'un etkisi incelenmiştir.

2.2.4.1. K^+ -depolarize izole ileum üzerinde $CaCl_2$ deneyleri

İzole ileum üzerinde α -terpineol'un Ca^{2+} antagonist etkisi olup olmadığını test etmek için K^+ - ile depolarize edilen izole ileum preparatları kullanılarak $CaCl_2$ varlığındaki cevaplara bakıldı. Organlar 15 dakikada bir normal Tyrode solusyonu (76)

(NaCl 137: KCl 2,2: MgCl₂ 0,1-0,5: NaH₂PO₄ 0,4: NaHCO₃ 11,9: Glikoz 5,5 (mmol/L)) ile 15 dakika da bir yıkanmak üzere 45 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur. Organın sağlamlığından emin olabilmek için asetilkolin doz-cevabı alındı. Organ normal tirod solusyonu ile yıkanıp 15 dakika inkübasyonundan sonra kalsiyumsuz fizyolojik çözelti (mmol/L):NaCl 97: KCl 40: NaHCO₃ 11,9: NaH₂PO₄ 0,4: Glikoz 5,5. ile 6 defa düzenli bir şekilde yıkandı ve ortamdan Ca²⁺ kalıntıları temizlendikten sonra 0.03; 0.1; 0.3 ve 1 mmol CaCl₂ çözeltisi ile doz-cevabı kaydedilmiştir.

Organ tekrar normal tirod solusyonuyla yıkandı ve inkübasyona tabi tutulduktan sonra 6 defa kalsiyumsuz fizyolojik çözeltisi ile tekrar yıkandı ve çözücünün etkisini kontrol etmek için 0,1ml DMSO ile 5 dakika maruz bırakıldıktan sonra CaCl₂ ile doz-cevabı alınmıştır.

Organlar, normal tirod solusyonu ile yıkanıp ve dinlendirildikten sonra 6 defa kalsiyumsuz fizyolojik solusyon ile yıkanmış ve organ bu çözeltideyken 10⁻⁶ ve 10⁻⁴M α-terpineol ile 5 dakika ayrı ayrı maruz bırakılmıştır. Daha sonra CaCl₂ doz-cevabı alınmış ve test maddesi olan α-terpineol (10⁻⁶ ve10⁻⁴ M) varlığında CaCl₂ ile elde edilen kasılmalar kaydedilmiştir (77, 78).

2.2.4.2. İstatistiksel hesaplamalar ve verilerin değerlendirilmesi

Değerlendirilmeye alınan deneysel verilerin manipulasyon hatalarından arındırılmış olmasına dikkat edilmiş ve veriler, en az beş denekten alınmıştır. Deneysel veriler Microsoft® NT v.4.0 işletim sistemi üzerinde çalışan Minitab® ver.11.12 paket programı (<http://www.minitab.com>) kullanılarak Student *t* testi ve/veya tek yönlü varyans analizi kullanılarak hesaplanmıştır. Varyans analizini takiben Tukey HSD çoklu karşılaştırma yöntemi uygulanmış ve p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir. Şekillerde yer alan her bir değer, ortamala±ortalamanın standard hatası (±s.e.mean) olarak gösterilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. α -terpineol'un asetilkolin yanıtlarına etkisi

α -Terpineol'un izole sıçan fundusu asetilkolin yanıtları üzerinde sadece $5 \times 10^{-7} \text{M}$ dozunda anlamlı bir inhibisyon yaptığı (Şekil 3.1), izole sıçan duodenumunda herhangi bir etkisinin olmadığı (Şekil 3.2), izole ileumda ise 10^{-9}M , 10^{-8}M ve 10^{-7}M dozlarında anlamlı bir inhibisyona neden olduğu görülmüştür (Şekil 3.3).

3.2. α -terpineol'un KCl yanıtlarına etkisi

α -terpineol'un izole sıçan fundusu üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı (Şekil 3.4), duodenumda 10^{-6}M α -terpineol'un KCl ile oluşturulan kasılmayı istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, arttırdığı (Şekil 3.5) dikkatimizi çekmiştir. Fakat ileum üzerindeki 20 mmol KCl kasılması üzerinde 10^{-4}M α -terpineol'un istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyon yaptığı (Şekil 3.6) gözlenmiştir.

3.3. α -terpineol'un gevşetici etkileri

İzole sıçan fundus, duodenum ve ileum'u üzerinde α -terpineol'un güçlü ve doza bağlı olarak artan gevşetici etkisi bulunduğu gözlenmiştir. α -Terpineol'un gevşetici etkileri fundusta 10^{-5}M , 10^{-4}M ve 10^{-3}M dozlarında; duodenumda 10^{-4}M ve 10^{-3}M dozlarında; ileumda ise sadece 10^{-3}M dozunda olduğu bulunmuştur. Dolayısıyla, α -terpineol'un gevşetici etkilerine karşı, çözücü olarak kullanılan DMSO etkileriyle karşılaştırıldığı zaman, en fazla duyarlı olan organın fundus, en az duyarlı olan organın ise ileum olduğu görülmüştür (Şekil 3.7, 3.8, 3.9). Bu bulgular, test maddesi olarak kullanılan α -terpineol'un gevşetici etkileri açısından, test edilen organlar arasında farklılıklar bulunduğunu göstermektedir.

3.4. İmidazol'ün α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi

Test edilen 10^{-5}M dozundaki imidazol'un izole fundus, duodenum ve ileumda α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir etkiye sahip olmadığını göstermiştir (Şekil 3.10, 3.11, 3.12, ve 3.13).

3.5. Atropin'in α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi

Test edilen atropin'in fundus ve duodenumda etkisiz olduğu, ileumda ise sadece 10^{-4} M dozunda α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde inhibitör etkiyi artırdığı, diğer dozlarda ise istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir etkiye sahip olmadığı görülmüştür (Şekil 3.10, 3.11, 3.12, ve 3.14).

3.6. *L-Arjinin'in α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi*

EDRF (nitrik oksit) yapımında rol alan L-Arjinin (10^{-4} M) varlığında α -terpineol'un izole sıçan ileum üzerindeki gevşetici etkilerinin değişmediği bulunmuştur (Şekil 3.15).

3.7. *Nitro-L-Arjinin'in (NoARG) α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi*

Test edilen 10^{-5} M dozundaki Nitro-L-Arjinin'in (No-ARG)'in α -terpineol'un duodenumdaki gevşetici etkilerini artırdığı, fakat fundus (Şekil 3.10 ve 3.16) ve ileumda etkisiz olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.15). α -terpineol'un duodenumdaki gevşetici etkisinin No-ARG tarafından 10^{-7} M, 10^{-6} M ve 10^{-5} M dozlarında artırıldığı bulunmuştur (Şekil 3.16).

3.8. *Metilen blue (MB)'nin α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi*

Test edilen 10^{-5} M dozundaki metilen mavisinin (Metilen blue, MB)'in duodenum ve ileum üzerinde α -terpineol'un gevşetici etkilerini artırıcı yönde etkili olduğu (Şekil 3.11, 3.12, 3.17), fakat No-ARG da görüldüğü gibi fundus üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.10, ve 3.17).

3.9. *Labetalol'un α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi*

Non spesifik adrenerjik reseptör blokörü olan labetalol varlığında α -terpineol'un izole sıçan duodenumu ve ileum üzerindeki gevşetici etkilerinin değişmediği bulunmuştur (Şekil 3.18 ve 3.19).

3.10. *Nalokson'un α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi*

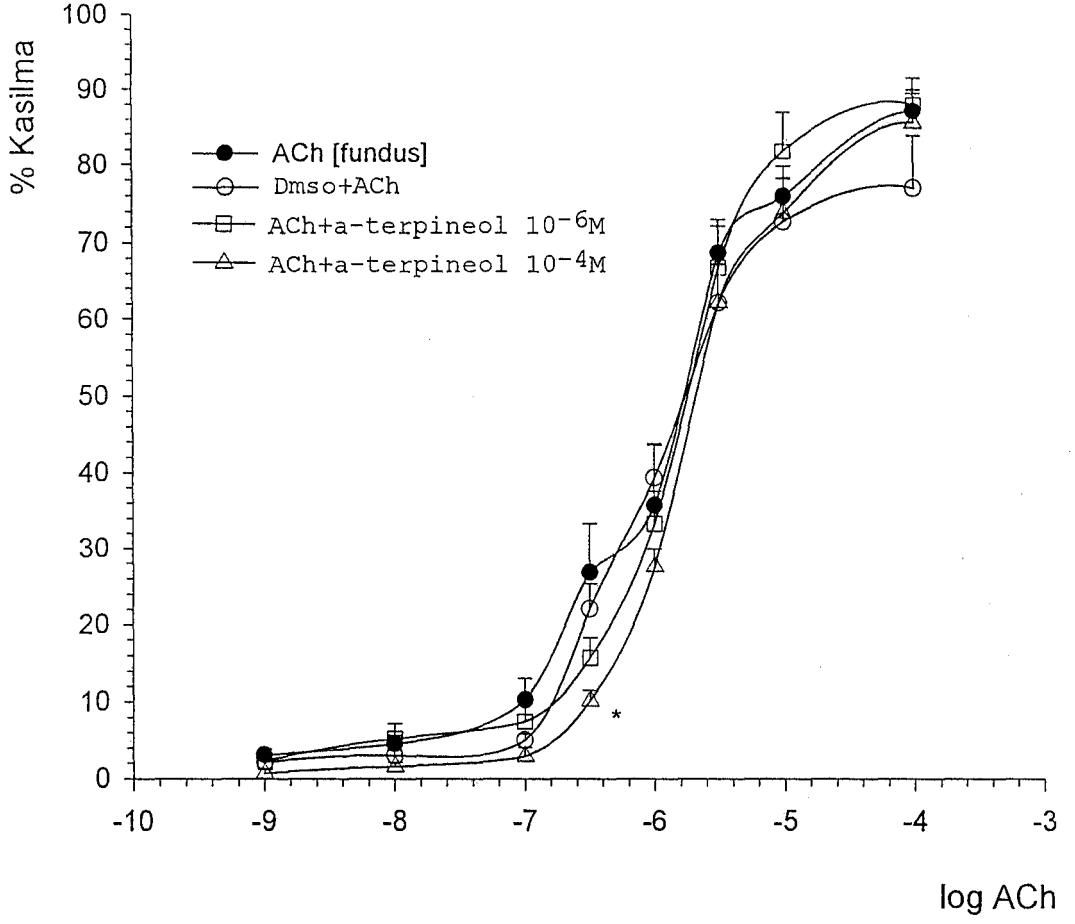
Non spesifik opioid reseptör antagonisti olan nalokson (10^{-5} M) varlığında α -terpineol'un izole sıçan duodenum ve ileum üzerindeki gevşetici etkilerinin istatistik olarak anlamlı derecede değişmediği gözlenmiştir (Şekil 3.18 ve 3.19).

3.11. α -terpineol'un K^+ -depolarize ileum üzerindeki etkisi.

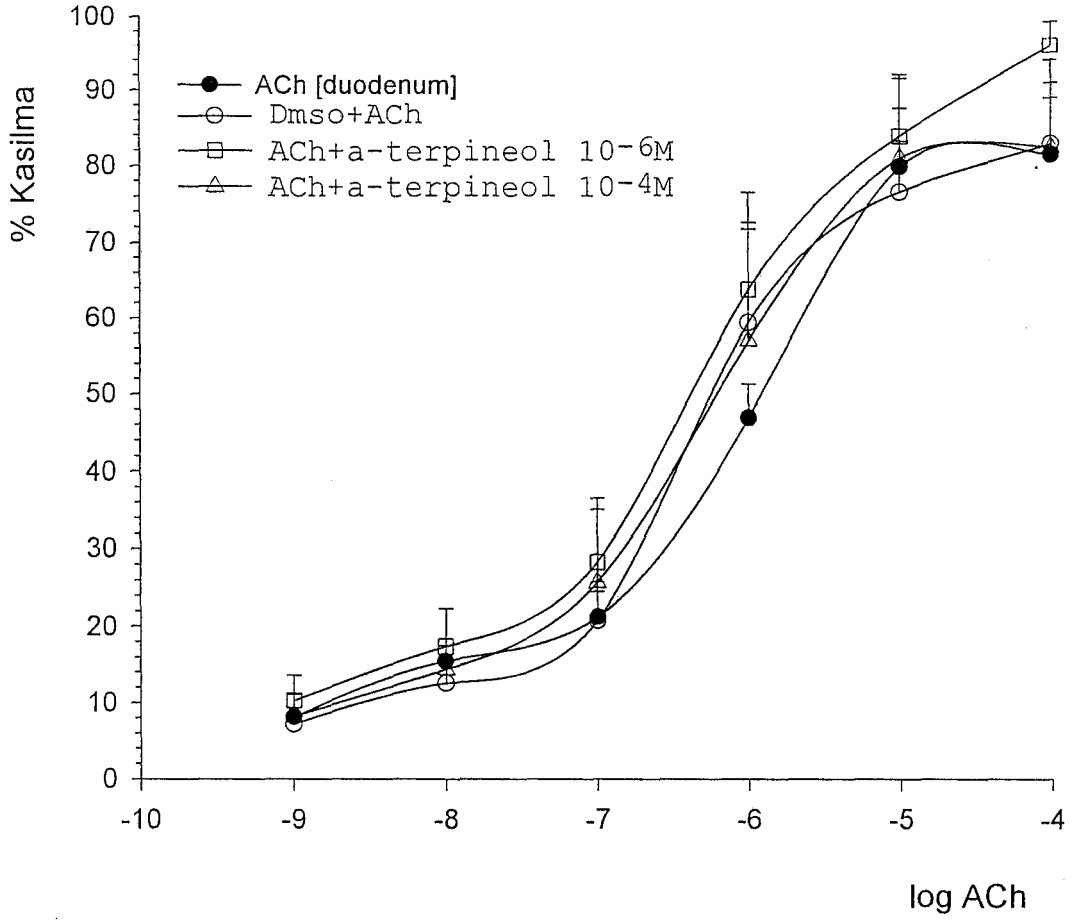
α -Terpineol'un 10^{-4} M dozunda 0.3 mmol ve 1 mmol $CaCl_2$ ile oluşturulan potasyum depolarize Tyrode çözeltisindeki izole ileum üzerinde anlamlı olarak inhibisyon yaptığı görülmüştür. 10^{-6} M dozunda ise α -terpineol'un kalsiyum cevapları üzerine herhangi bir etkisinin bulunmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.20).

3.12. Tetraetilamonyum'un α -terpineol'un gevşetici etkileri üzerinde etkisi

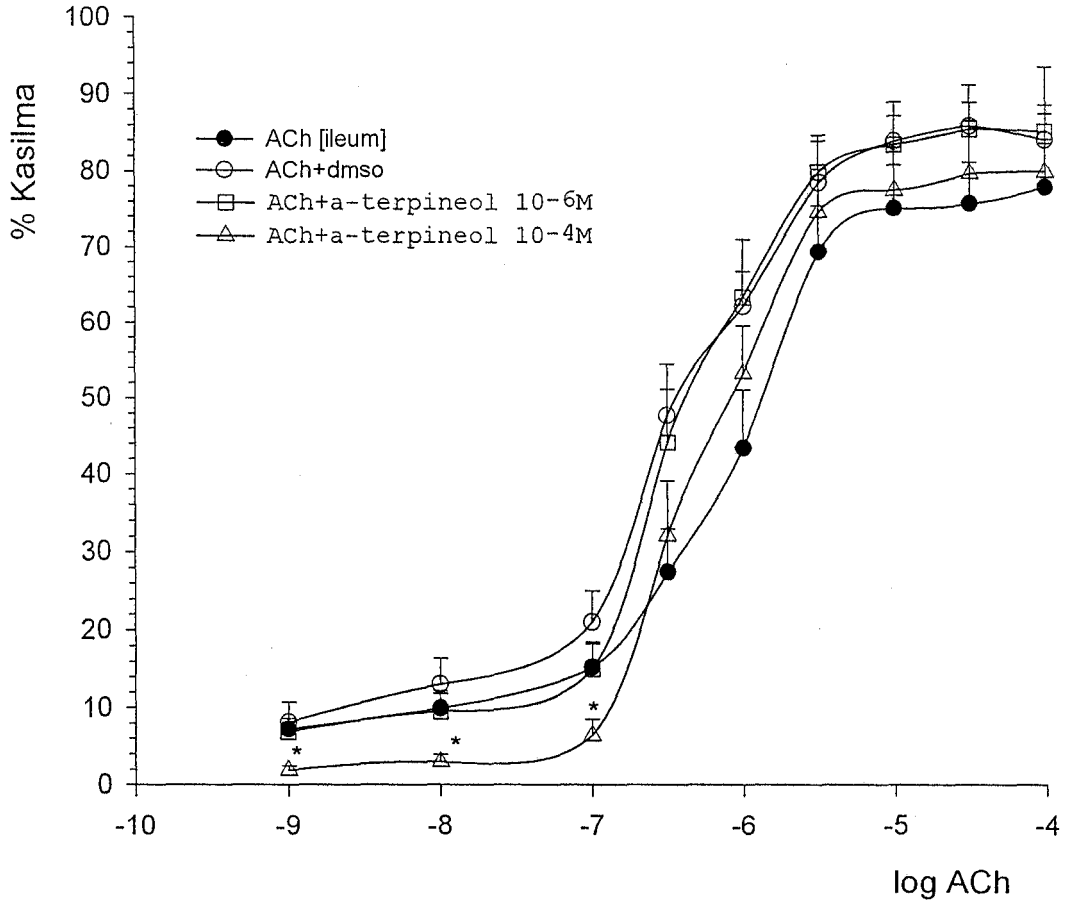
Potasyum kanal blokörü olan Tetraetilamonyum (TEA) (10^{-4} M) varlığında α -terpineol'un izole sıçan ileum üzerindeki gevşetici etkilerinin değişmediği gözlenmiştir (Şekil 3.21).



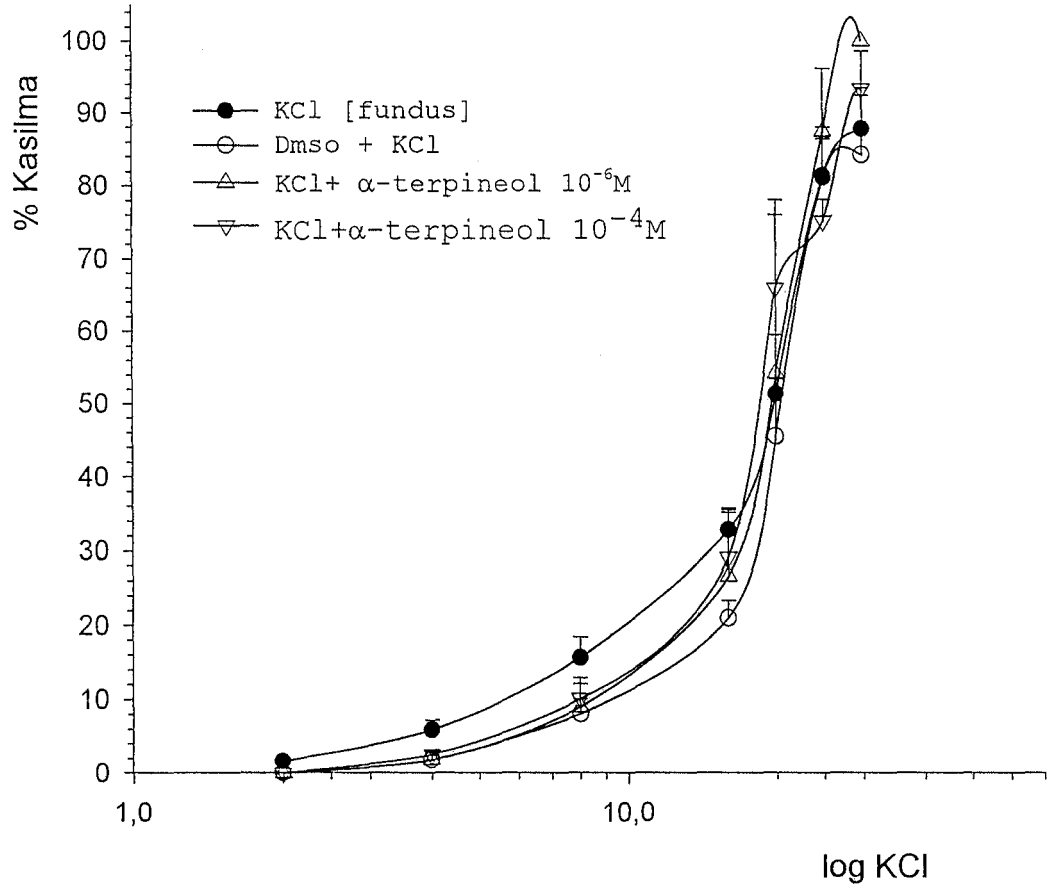
Şekil 3.1 İzole sıçan fundusunda α -terpineol'un ACh yanıtları üzerinde etkisi. * $p < 0.05$.



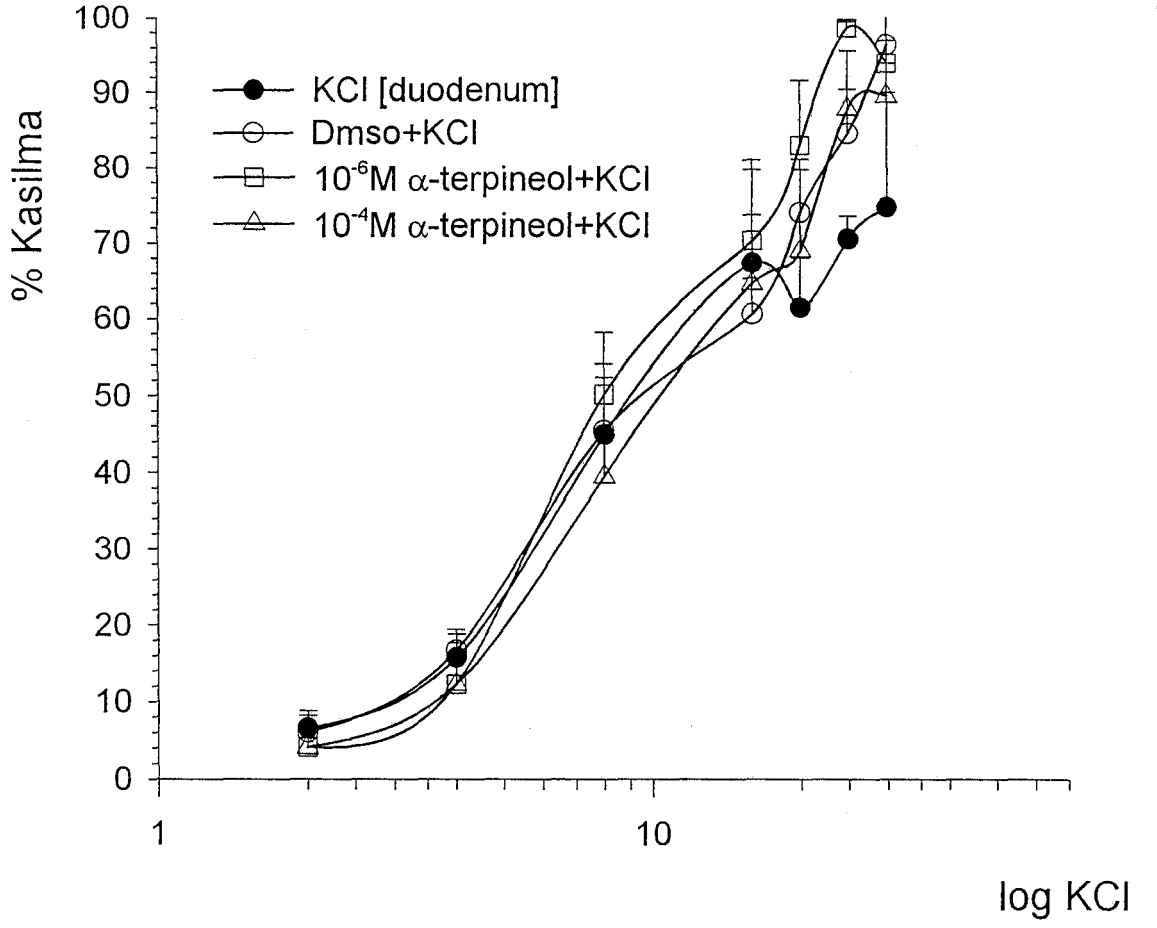
Şekil 3.2 İzole sıçan duodenumunda α -terpineol'un ACh yanıtları üzerinde etkisi. * $p < 0.05$.



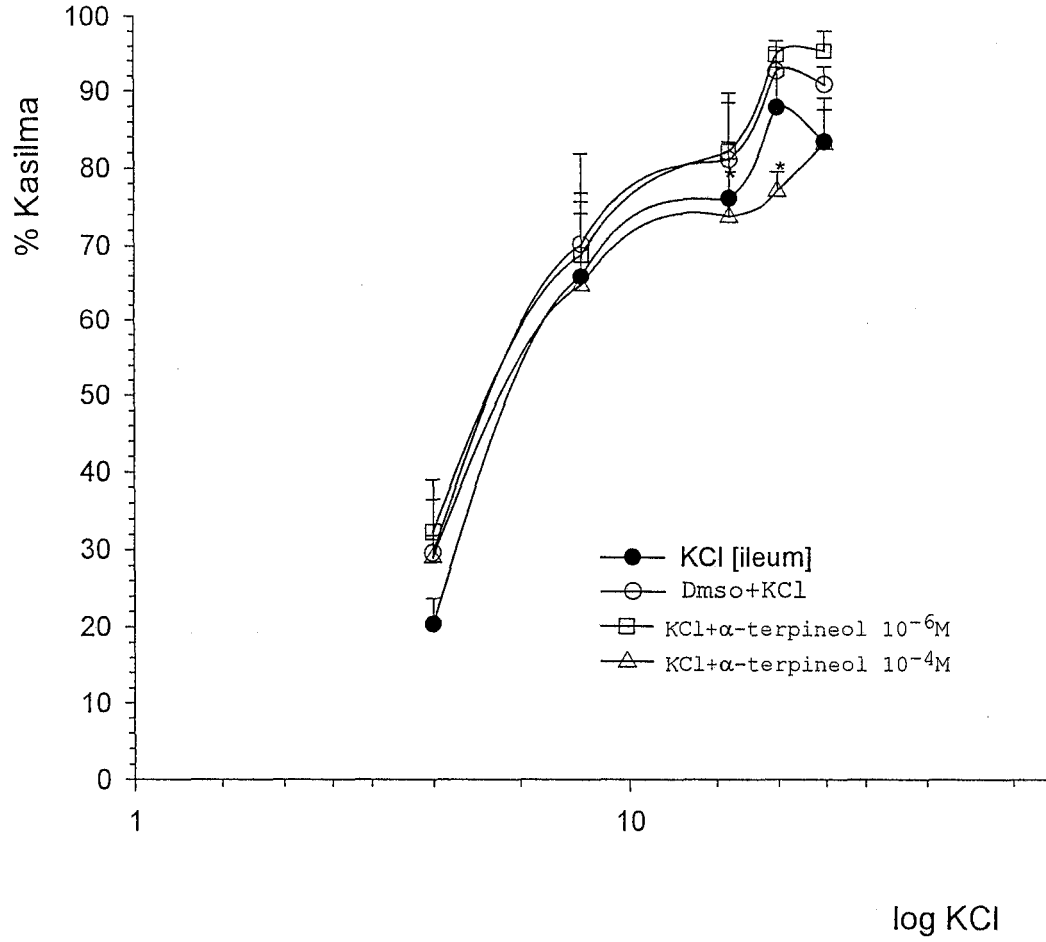
Şekil 3.3 İzole sıçan ileumunda α -terpineol'un ACh yanıtları üzerinde etkisi. * $p < 0.05$.



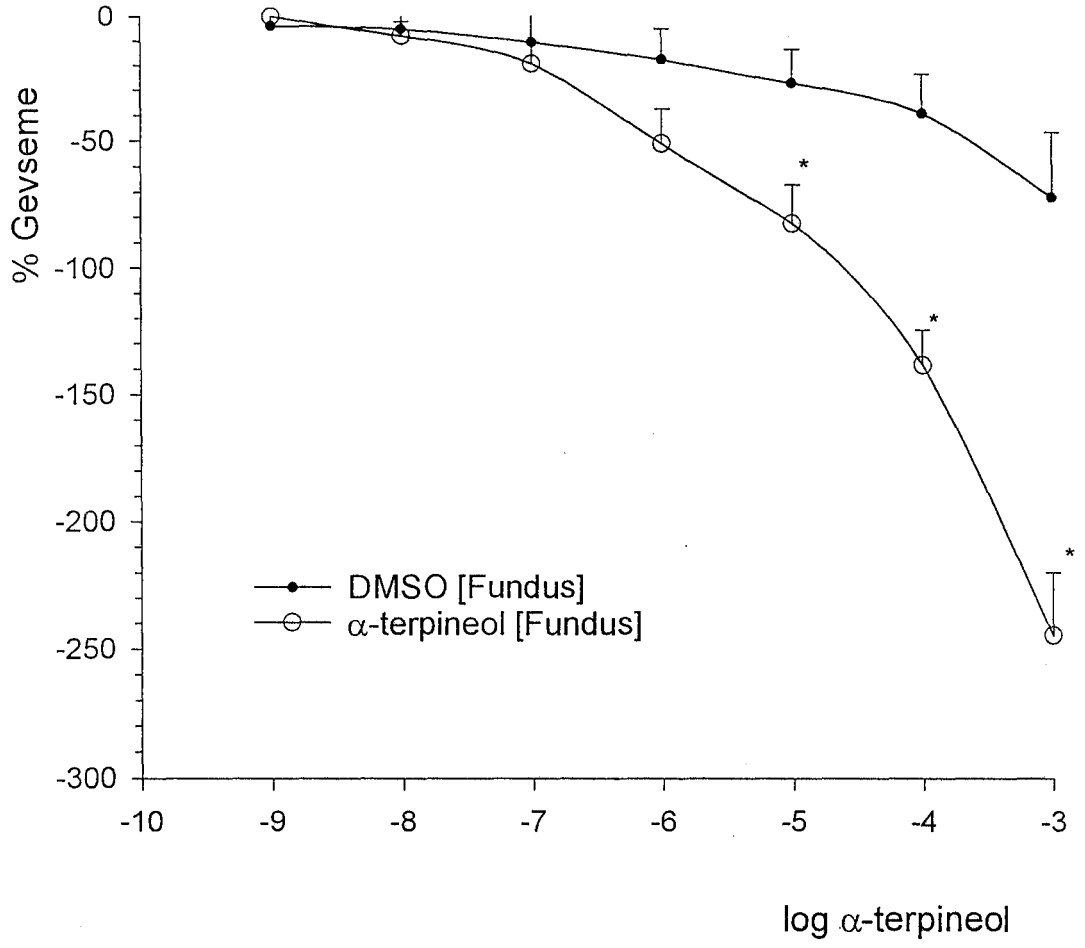
Şekil 3.4 İzole sıçan fundusunda α-terpineol'un KCl yanıtları üzerinde etkisi. *p<0.05.



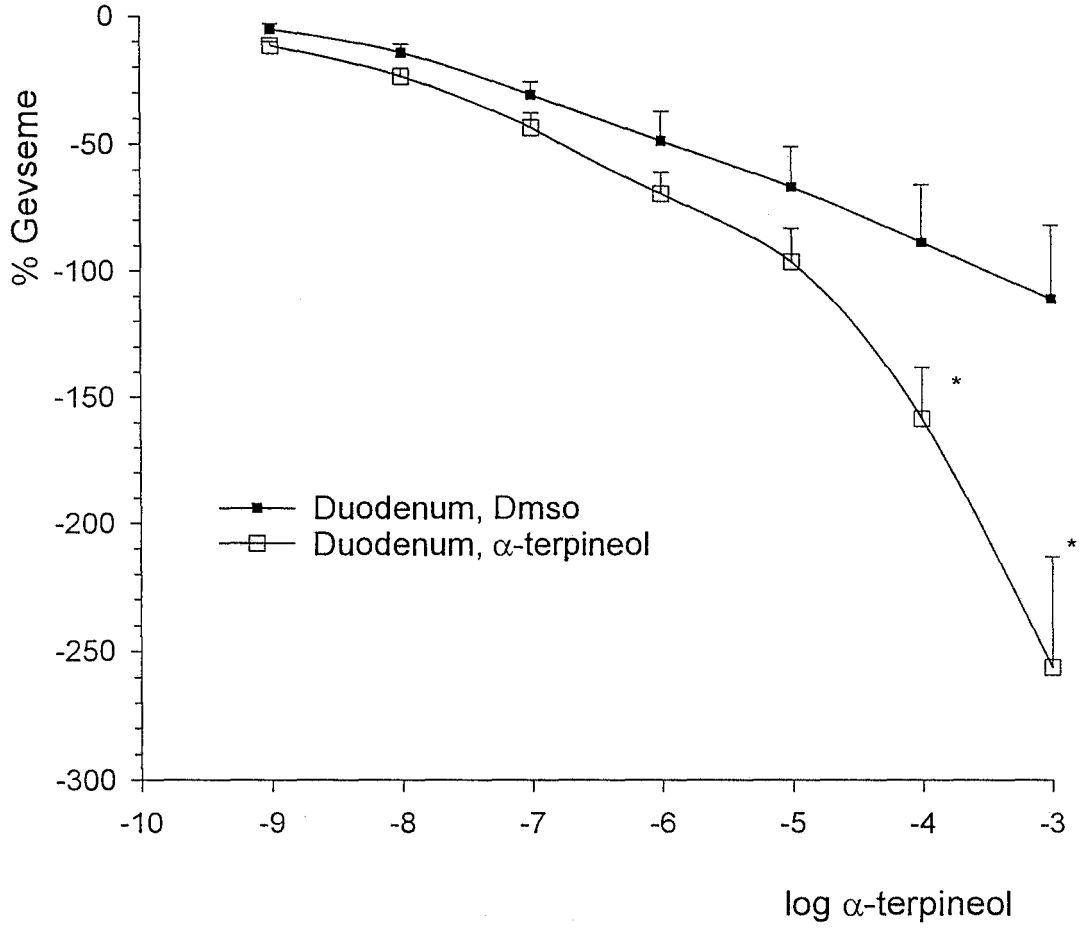
Şekil 3.5 İzole sıçan duodenumunda α -terpineol'un KCl yanıtları üzerinde etkisi. * $p < 0.05$.



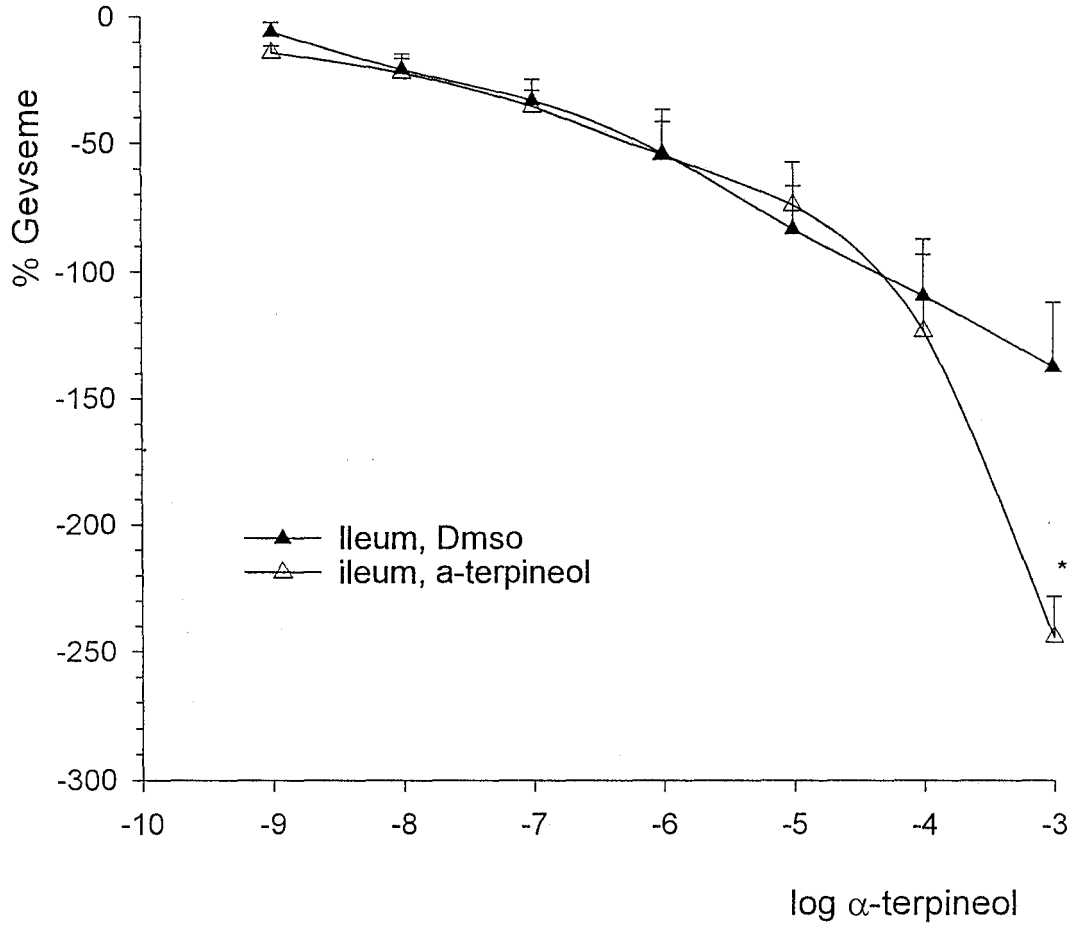
Şekil 3.6 İzole sıçan ileumunda α-terpineol'un KCl yanıtları üzerinde etkisi. *p<0.05.



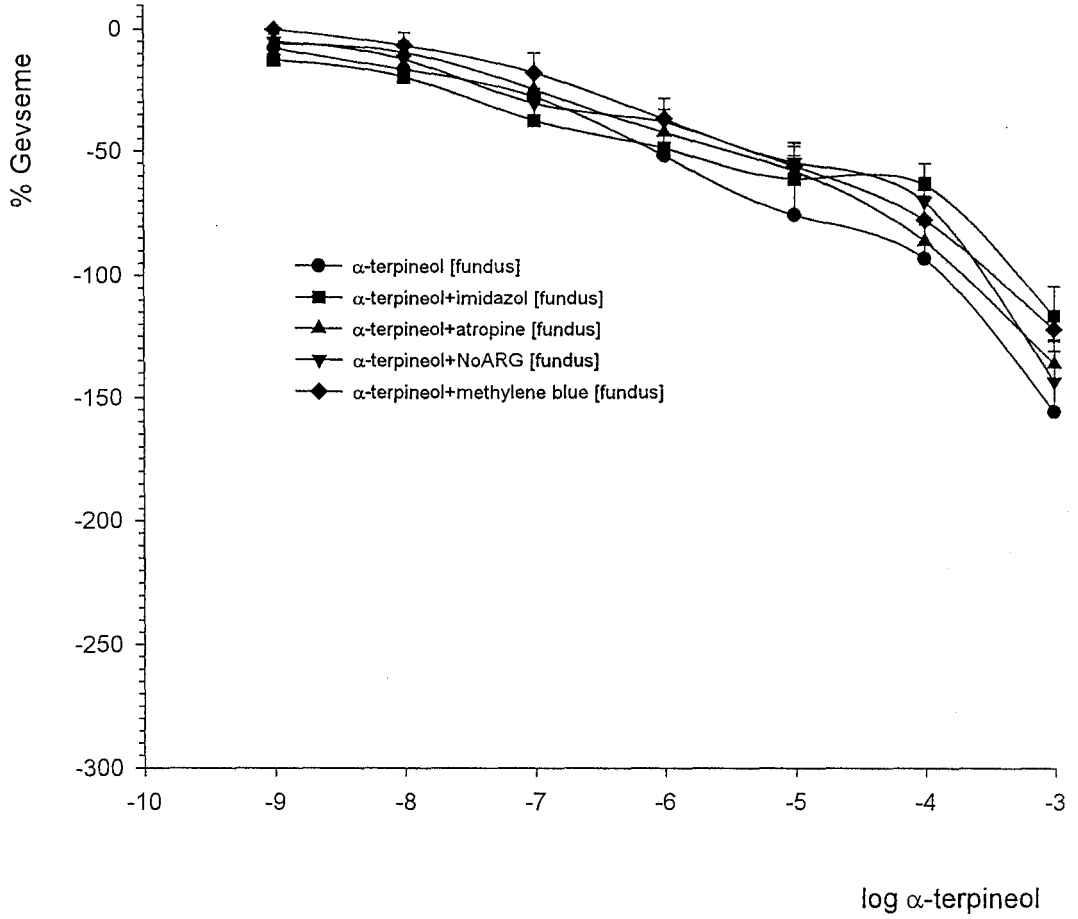
Şekil 3.7 İzole sıçan fundusunda α -terpineol'un gevşetici etkisi. * $p < 0.05$.



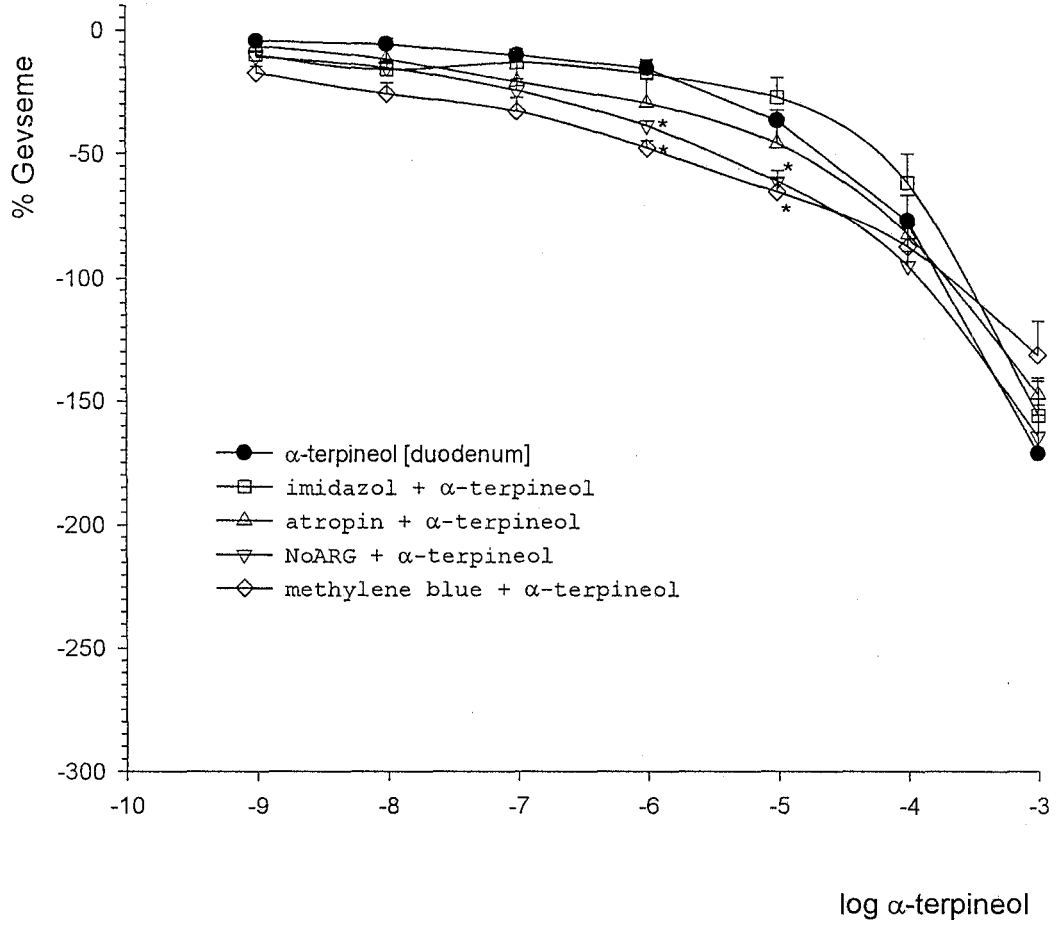
Şekil 3.8 İzole sıçan duodenumda α -terpineol'un gevşetici etkisi. * $p < 0.05$.



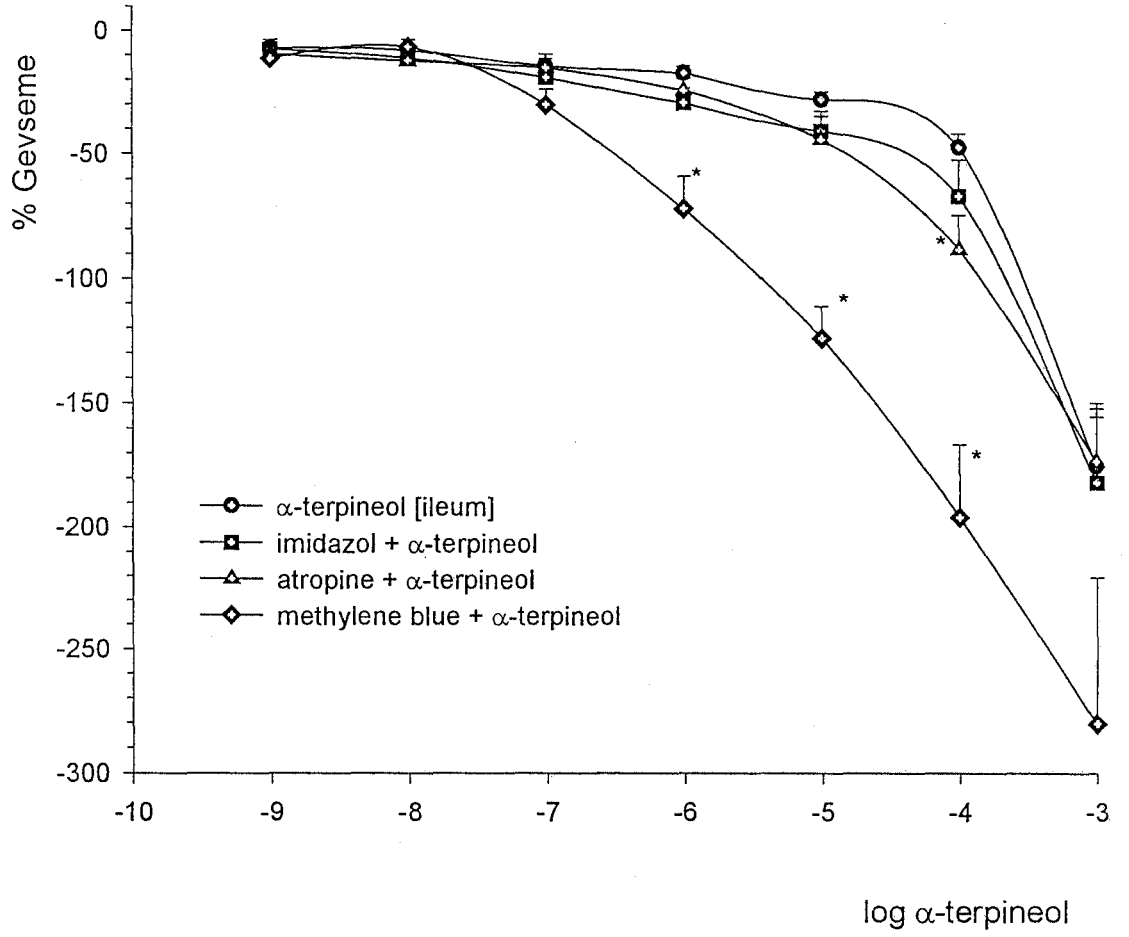
Şekil 3.9 İzole sıçan ileumunda α -terpineol'un gevşetici etkisi. * $p < 0.05$



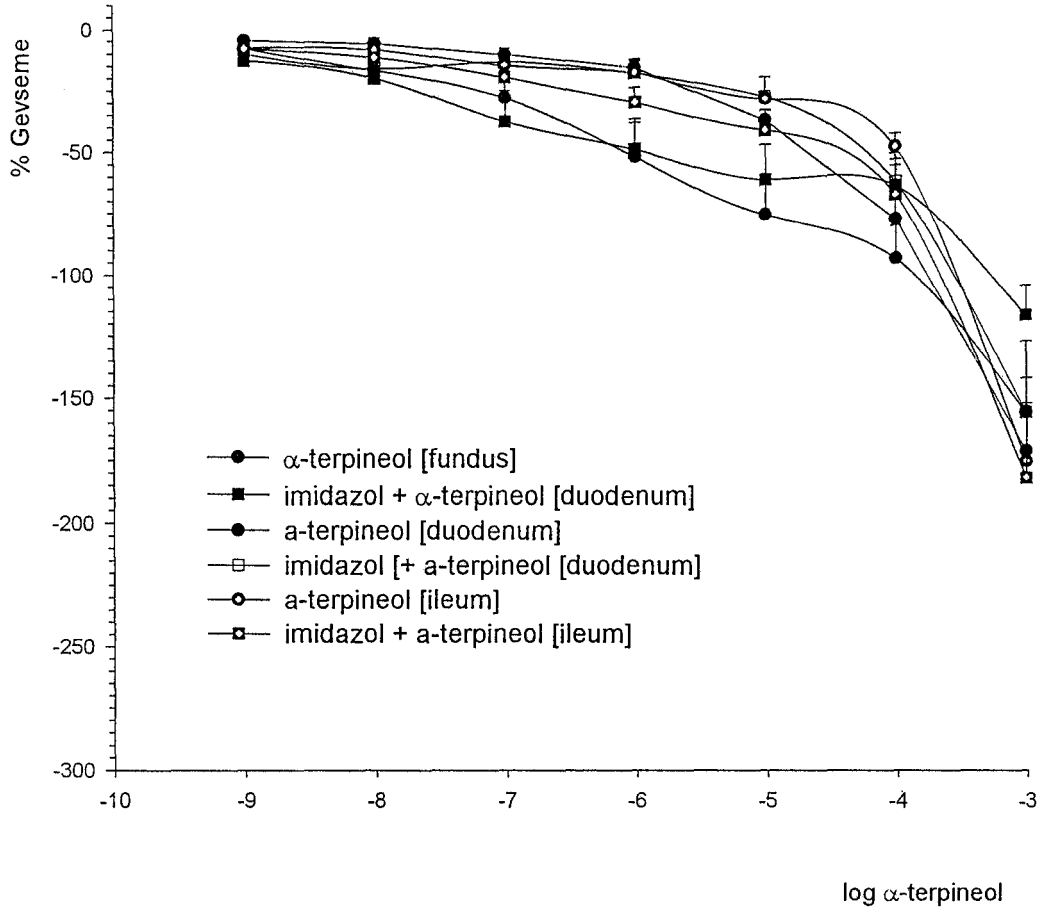
Şekil 3.10 İzole sıçan fundusunda α -terpineol'un gevşetici etkisi üzerinde imidazol, atropin, metilen blue ve No-ARG etkisi.



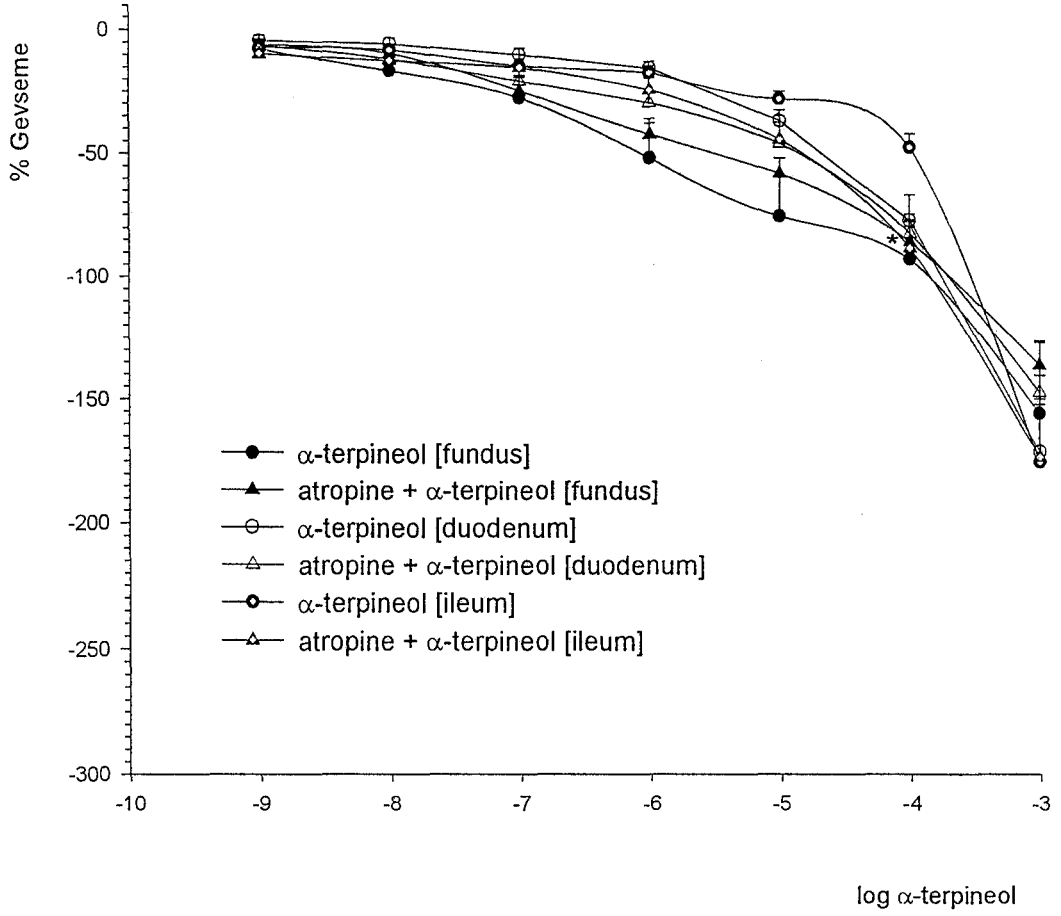
Şekil 3.11 İzole sıçan duodenumunda α -terpineol'un gevşetici etkisi üzerinde imidazol, atropin, metilen blue ve No-ARG etkisi. * $p < 0.05$



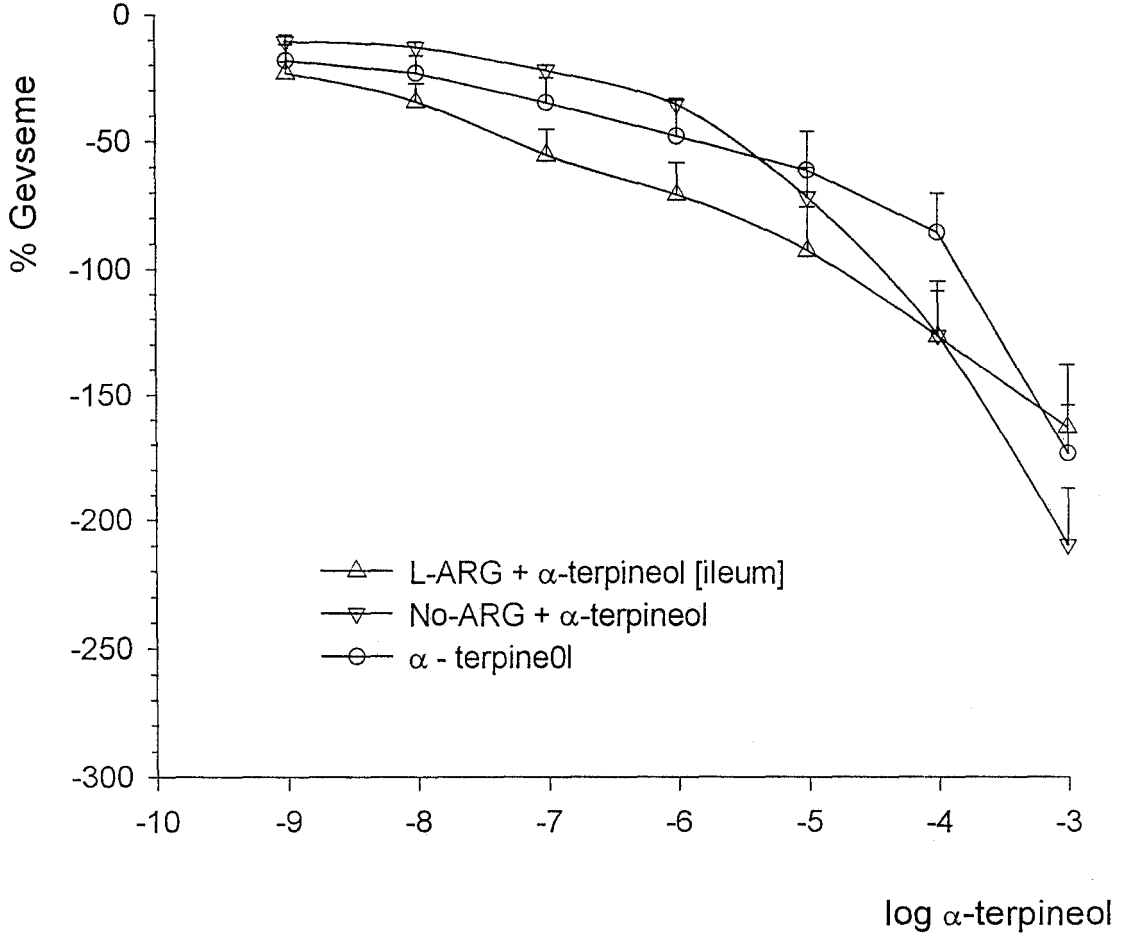
Şekil 3.12 İzole sıçan ileumunda α -terpineol'un gevşetici etkisi üzerinde imidazol, atropin ve metilen blue etkisi. * $p < 0.05$



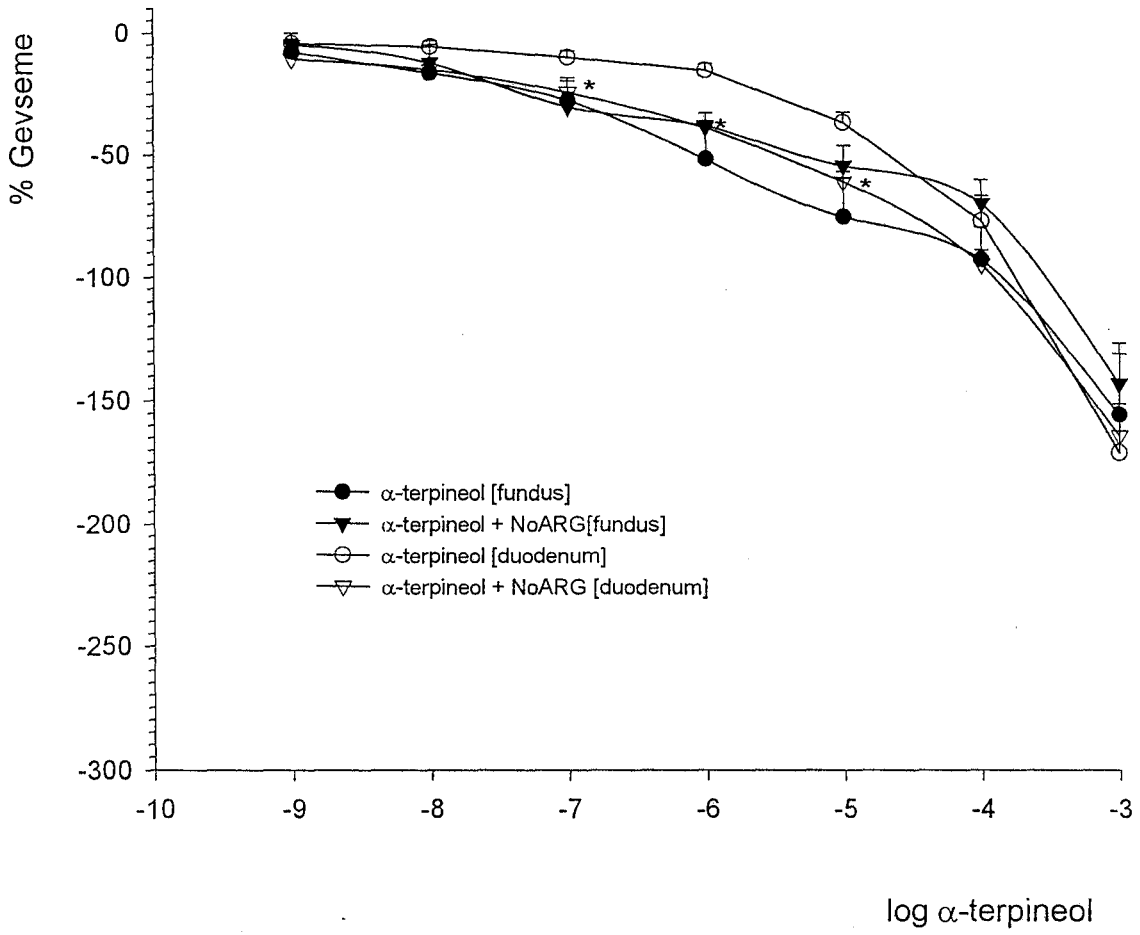
Şekil 3.13 İzole sıçan fundus, duodenum ve ileumunda α -terpineol yanıtları üzerinde imidazol etkisi.



Şekil 3.14 İzole sıçan fundus, duodenum ve ileumunda α -terpineol yanıtları üzerinde atropin etkisi. * $p < 0.05$.

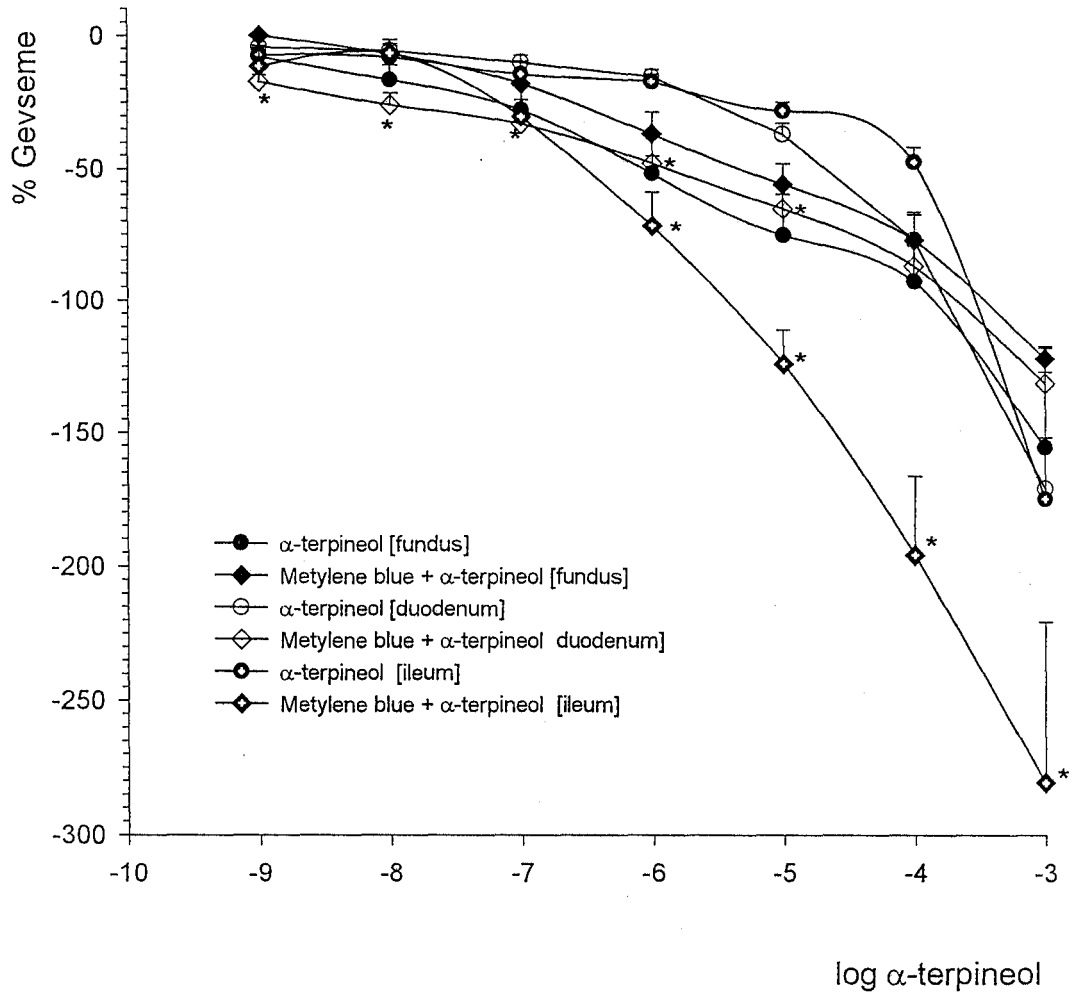


Şekil 3.15 İzole sıçan ileumunda α -terpineol yanıtları üzerinde L-Arjinin (L-ARG) ve No-ARG etkisi.

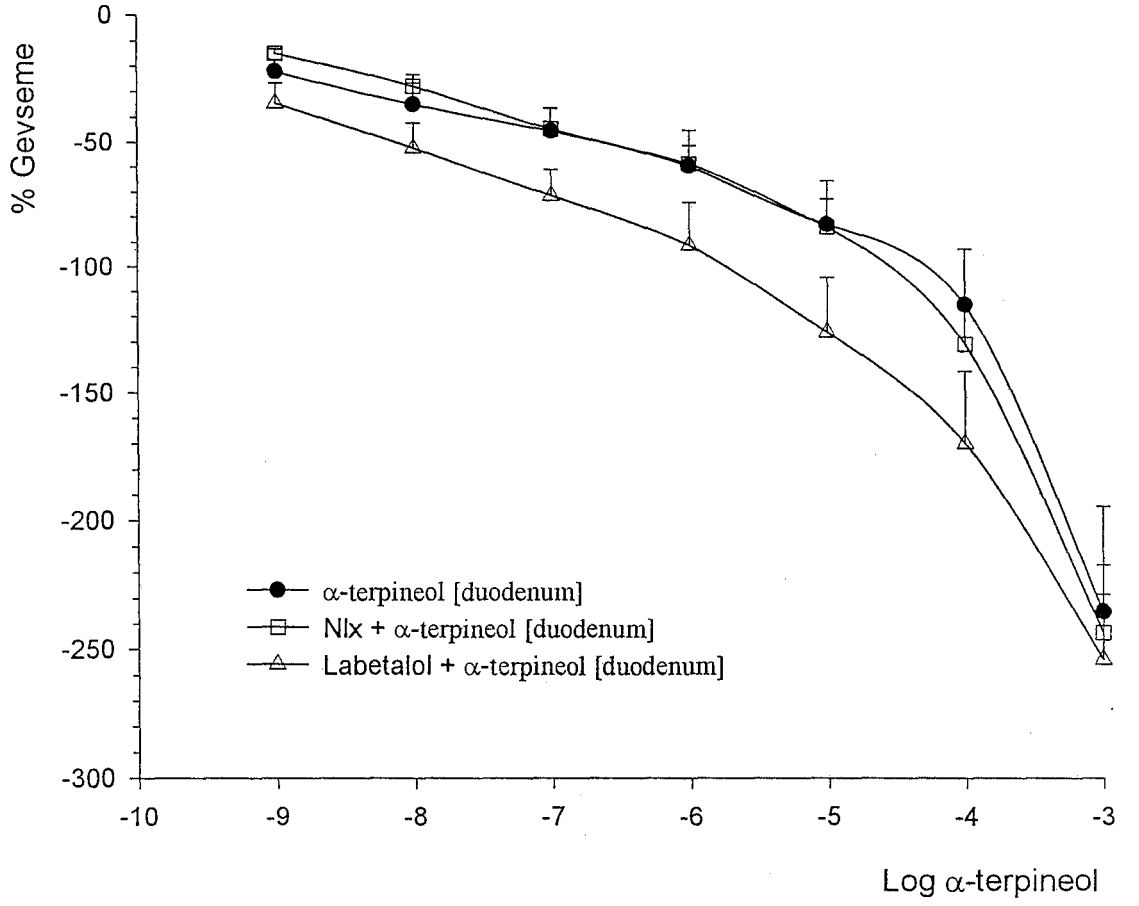


Şekil 3.16 İzole sıçan fundus ve duodenumda a-terpineol yanıtları üzerinde NoARG etkisi.

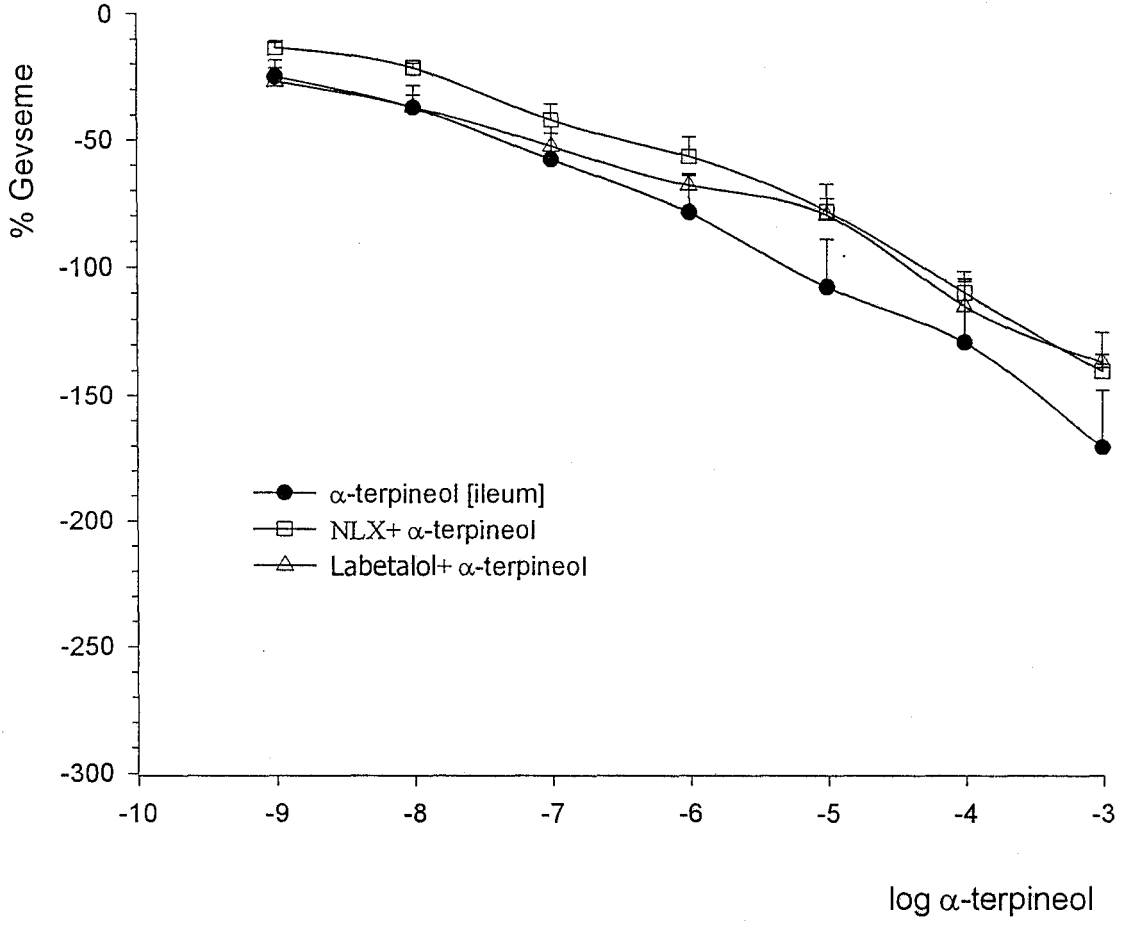
*p<0.05.



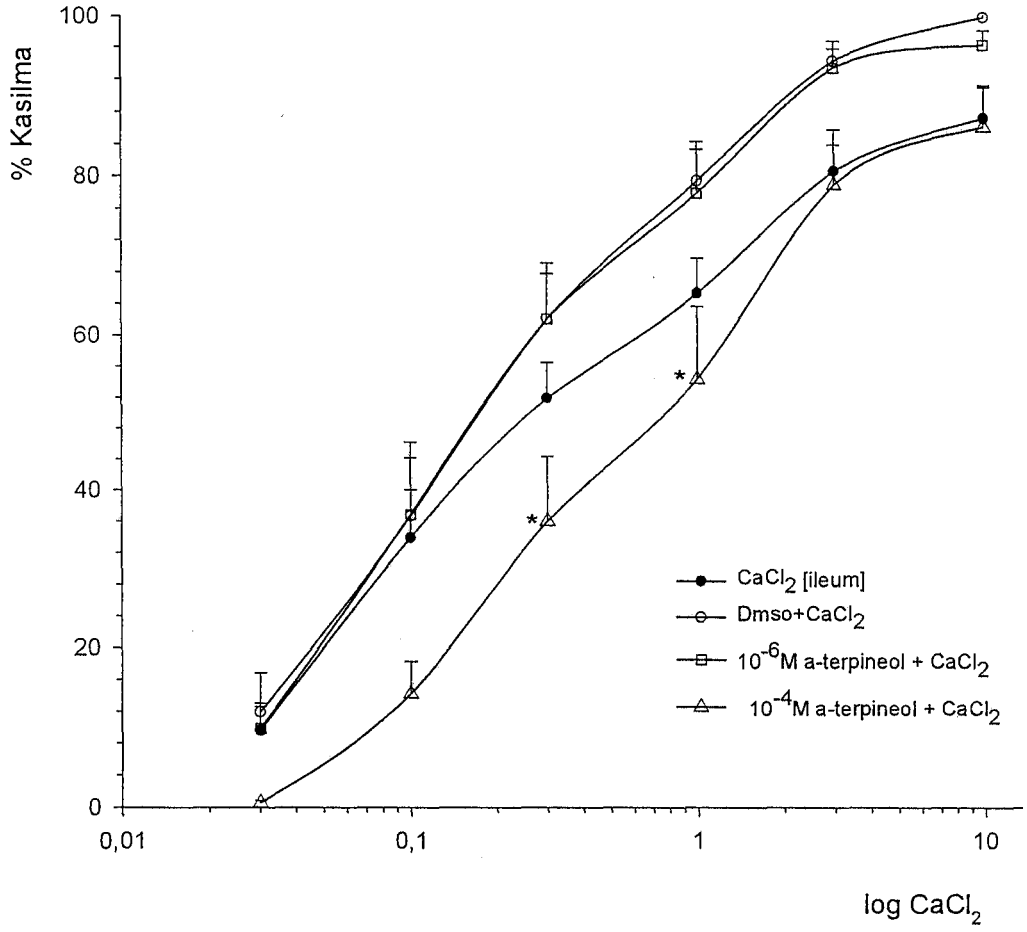
Şekil 3.17 İzole sıçan fundus ve duodenumda α -terpineol yanıtları üzerinde metilen blue etkisi. *p<0.05.



Şekil 3.18 İzole sıçan duodenumunda α -terpineol yanıtları üzerinde Labetalol ve Nalokson etkisi.

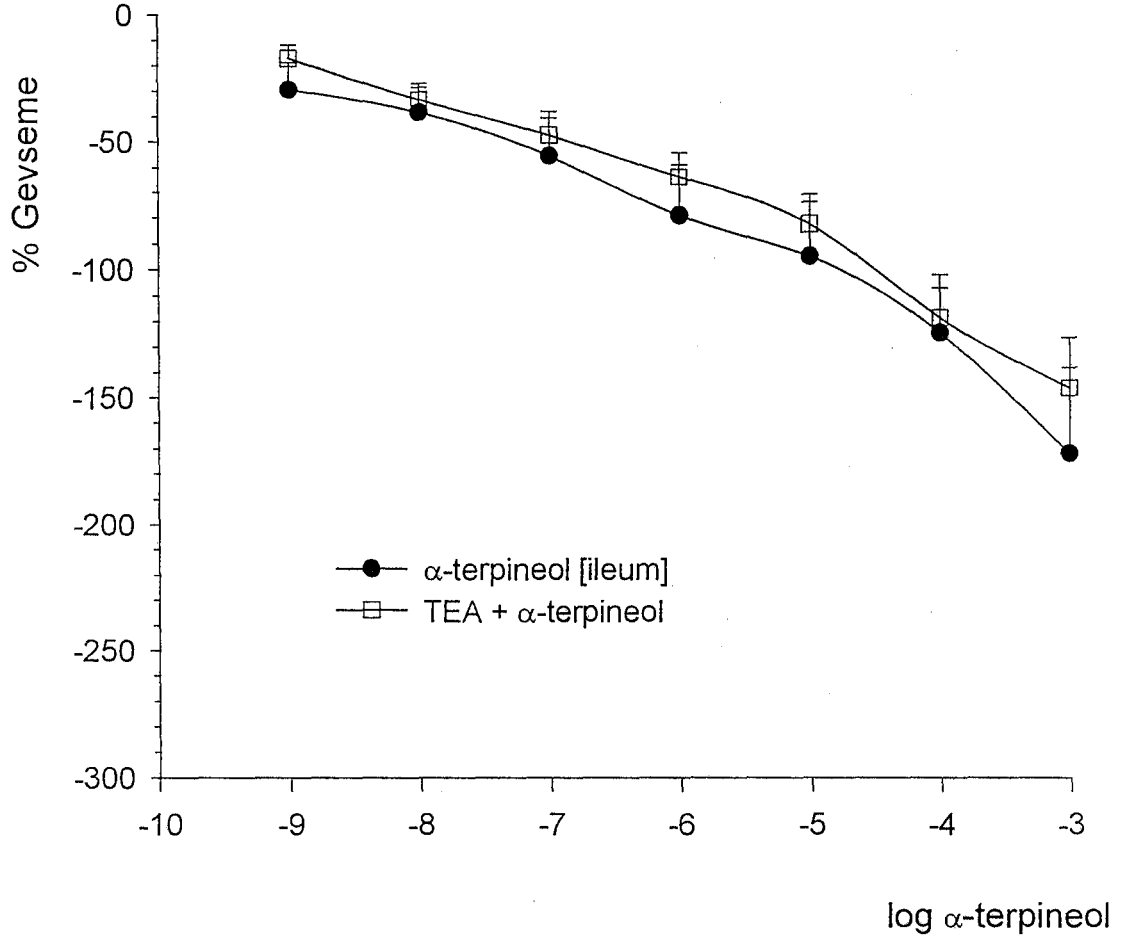


Şekil 3.19 İzole sıçan ileumunda α -terpineol yanıtları üzerinde Labetalol ve Nalokson etkisi.



Şekil 3.20 İzole sıçan ileumunda 10⁻⁴ ve 10⁻⁶ M α-terpineol'un CaCl₂ kasılmaları üzerine etkisi.

(Karşılaştırmalar çözücü olarak kullanılan DMSO ile yapılmıştır). *p<0.05.



Şekil 3.21 İzole sıçan ileumunda α -terpineol yanıtları üzerinde α -terpineol'un gevşetici etkisi üzerinde Tetraetilamonyum (TEA) etkisi.

4. TARTIŞMA

Bitkilerde varlığı gösterilen (Çizelge 1.1) ve ayrıca bazı hayvanlarda özel maddeleri, feromonları oluşturan moleküllerden birisi (41) olan α -terpineol için *Pseudomonas* gibi bakteri plazmitlerinde özel gen bulunmakta ve yine α -terpineol için sentezlenen özel sitokrom enzimleri sayesinde bu bakteri için bir karbon kaynağı oluşturmaktadır (56, 57). Ayrıca günlük yaşamda tüketilen şarap, bira ve süt ürünleri ve çeşitli meyve suyu ve içeceklerde bulunan uçucu bir maddedir (38, 39). Karaciğer mikrozomal enzimleriyle etkileştiği gösterilmiş olan (55) α -terpineol ile yapılmış olan farmakolojik çalışmalar son derece azdır ve bu çalışmanın konusu olarak ele alınmıştır.

α -Terpineol ile yapılan çalışmalarımız sonucunda izole sıçan fundus, duodenum ve ileum preparatları üzerinde doza bağlı olarak gevşetici etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Şekil 3.7-3.9). α -Terpineol'un fundus, duodenum ve ileum üzerindeki gevşetici etkisi olmakla birlikte, fundusta 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M dozlarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gevşemeye yol açarken (Şekil 3.7), duodenumda 10^{-4} ve 10^{-3} M dozlarında (Şekil 3.8) ve ileumda ise sadece 10^{-3} M dozunda istatistiksel olarak anlamlı bir gevşetici etki göstermiştir (Şekil 3.9).

α -Terpineol'un asetilkolin kasılmaları üzerinde duodenumda anlamlı bir etkisinin bulunmadığı (Şekil 3.2) anlaşılmıştır. Duodenumdan farklı olarak, α -terpineol'un fundusta istatistiksel olarak sadece 5×10^{-7} M ile oluşan ACh kasılmasını 10^{-4} M α -terpineol'un inhibe ettiği (Şekil 3.1), ileumda ise gene 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M ACh kasılmasını α -terpineol'un 10^{-4} M dozunda inhibitör etkili olduğu bulunmuştur (Şekil 3.3).

α -Terpineol'un KCl kasılmaları üzerinde fundusta ve duodenumda etkisiz (Şekil 3.4, 3.5), ileumda ise 10^{-4} M α -terpineol'un 20 mM KCl dozunda kasılmayı azaltıcı yönde etkili olduğu bulunmuştur (Şekil 3.6).

α -Terpineol'un izole sıçan fundus, duodenum ve ileum üzerindeki etkileri, bugüne kadar elde ettiğimiz bilgiler ışığında, ilk kez tarafımızdan çalışılmış ve α -terpineol'un bu organlar arasında yukarıda belirtilen farklı etkileri şimdiye kadar

literatürde daha önce bildirilmemiştir. Daha önce kobay ileumunda yapılmış olan bir araştırmada α -terpineol'un antispazmodik etkisi bildirilmiş ancak bu etkinin, bizim bulgularımızda farklı olarak, 60 mM KCl kasılmasıyla karşı elde edildiği rapor edilmiştir (79). Bulgularımızdaki bu farklılığın, adı geçen araştırmada kullanılan yöntemde yağda çözünür bir bileşik olan α -terpineol'un doğrudan fizyolojik çözeltiye eklenmiş olmasından ileri geldiği ya da deneysel sonuçlarımızın gösterdiği gibi izole sıçan mide, duodenum ve ileum organlarının α -terpineol'e karşı gösterdiği farklı yanıtlara benzer şekilde, kobay ile sıçan arasında α -terpineol'e karşı türe özgü farklı etkilerin varlığından ileri geldiği düşünülebilir.

Fundus üzerinde α -terpineol'un gevşetici etkisi üzerinde atropin, metilen blue, imidazol ve No-ARG tarafından etkilenmediği görülmüştür (Şekil 3.10). Duodenum ve ileum üzerinde α -terpineol'un gevşetici etkisi fosfodiesteraz aktivatörü olan imidazol (80), opioid reseptör antagonisti nalokson (81, 82), non spesifik adrenerjik reseptör antagonisti labetalol (83), nitrik oksit (NO) prekursoru olan L-arjinin (84) ve potasyum kanal blokörü tetraetilamonyum (85) ile etkileşmediği, atropin ile sadece ileumda ve α -terpineol'un 10^{-4} M dozunda olmak üzere gevşetici etkisinde artış olduğu bulunmuştur. Duodenumda metilen blue ve No-ARG tarafından α -terpineol'un gevşetici etkisinde anlamlı artış olduğu, fakat ileumda No-ARG'in etkisiz, metilen blue ile gevşetici etkide artış olduğu gözlenmiştir. K^{+} -depolarize ileumda $CaCl_2$ kasılmaları üzerinde 10^{-6} M α -terpineol'un etkisiz olduğu fakat 10^{-4} M dozunda $CaCl_2$ kasılmalarını inhibe ettiği gözlenmiştir (Şekil 3.10-3.21). Dolayısıyla α -terpineol'un gevşetici etkisinde, adrenerjik muksarinik ve opioid reseptörlerin rol oynamadığı sonucuna varılmıştır.

α -Terpineol'un antiastmatik ve bronşial düz kasları gevşetici etkisinin gösterildiği bir çalışmada adrenerjik sistem ile α -terpineol'un herhangi bir etkileşmesinin bulunmadığı, deneysel bulgularımıza paralel olarak daha önce gösterilmiştir (66).

K^{+} -depolarize ileumdan elde edilen sonuçlar, α -terpineol'un sadece 10^{-4} M gibi yüksek dozda kalsiyum kanal inhibisyonu yaptığını, ancak daha düşük dozlarda herhangi bir etkisinin bulunmadığını göstermiştir (Şekil 3.20). Dolayısıyla α -

terpineol'un kalsiyum kanalları ile sadece yüksek dozda etkileştiğini ve gevşetici etkisinde birincil derecede rol oynamadığını çalışmalarımızda gösterilmiştir. Bazı fenolik bileşiklerin antispazmodik etkisinin (86) ve α -terpineol'un pulmoner damar düz kaslarındaki gevşetici etkisinin voltaja bağlı kalsiyum kanal blokajı ile gerçekleştiği (87) ve α -terpineol'un prokain kadar etkili lokal anestetik etkiye sahip olduğu (88) bildirilmiştir. Bazı fenolik bileşiklerin sodyum kanallarını bloke ettiği düşünülecek olursa (89) α -Terpineol'un gevşetici etkisinden kalsiyum kanal blokajından farklı olarak sodyum kanallarıyla etkileşmesinin de rolü olabileceği düşünülebilir fakat sodyum kanallarının düz kaslarda, kalsiyum kanallarına göre çok daha az önem taşıdığı bilinmektedir (90). Bu nedenle, α -Terpineol'un gevşetici etkisinden sodyum ve kalsiyum kanallarının birincil düzeyde etkili olmadıkları düşünülmelidir.

Düz kasların kasılma ve gevşemesinde önemli rol oynadığı bilinen potasyum kanallarının (91) α -terpineol'un gevşetici etkisinde rolü bulunmadığı, non selektif potasyum kanal inhibitörü olan tetraetilamonyum (85) ile yapılan çalışmalarımız sonucunda anlaşılmıştır (Şekil 3.21). Bu bulgular α -terpineol'un, potasyum kanal inhibisyonu yaptığı bildirilen limonen gibi diğer monotерpenlerden (92) farklı bir etki mekanizmasına sahip olduğunu göstermektedir.

NO ve sGMP gastrointestinal sistem ve rat ileumunda non-adrenerjik non-kolinerjik gevşemede çok önemli bir role sahiptir (93). Çalışmalarımızda NO prekursoru olan L-Arjinin'in (84) α -terpineol'un gevşetici etkisinde herhangi etkisinin olmaması, NO'un α -terpineol gevşemelerinde herhangi bir rolünün bulunmadığını düşündürmektedir. Fakat nitrik oksit sentaz inhibitörü olan No-ARG (84, 93) varlığında α -terpineol'un duodenumda üzerindeki gevşetici etkide anlamlı bir artışın olması, NO yolağında çalışan siklik nükleotidlerin duodenumda olası bir rolün varlığını düşündürmüştür.

Bir siklik nükleotid fosfodiesteraz aktivatörü olan imidazol (80) ile α -terpineol etkileşmesinin olmaması, α -terpineol'in gevşetici etkisi üzerinde imidazol ile etkileşen siklik nükleotidlerin rol oynamadığını göstermiştir.

Guanil siklazın sGMP oluşumunda ve düz kas gevşemesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (93). NO sentaz inhibitörü olan No-ARG ve guanil siklaz inhibitörü olan (94) metilen mavisinin fundusta etkili olmayıp sadece duodenumda etkili olması, ileumda ise sadece metilen mavisinin α -terpineol'un gevşetici etkisini artırması, duodenum ve ileumda α -terpineol'un gevşetici etkisinde guanil siklazın rol oynadığını göstermektedir. Fakat metilen mavisini ile guanil siklaz etkisinin inhibisyonu sonucunda α -terpineol'un gevşetici etkisinin azalmayıp, tam aksine daha da artmış olması, α -terpineol'un etkisinin meydana gelmesinde guanil siklaz ve sGMP nin alışılmadık bir şekilde etkili olabileceğini düşündürmüştür.

Bilindiği gibi guanil siklaz ve sGMP oluşumunda rol oynayan fosfodiesteraz (PDE) enzimlerinin 11 adet gibi çok sayıda izozimleri olduğu ve bu enzimler arasında spesifik aktivatör ve inhibitörleri henüz keşfedilmemiş enzim çeşitleri olduğu bilinmektedir (95). PDE enzimlerinin bazılarının son yıllarda gevşetici etkinin tersine, kastırıcı özelliğe de sahip oldukları bildirilmiştir (96, 97). NO - sGMP yolağının gevşetici etkisinin aksine kastırıcı olabileceği (98) bildirilmiştir. Bu bilgilere ek olarak, *particulate guanil siklaz* (pGC) adı verilen NO'ya duyarsız guanil siklazın varlığı bilinmektedir (99, 100). İzole ileumda, α -terpineol'un gevşetici etkisi üzerinde L-ARG ve No-ARG'ın etkisiz fakat metilen mavisini ile etkilemiş olması, α -terpineol'un ileumdaki etki mekanizmasında NO'ya duyarlı olmayan guanil siklazın rol oynadığını, duodenumda ise NO'ya duyarlı guanil siklazın rol oynadığını göstermiştir.

Dolayısıyla, bulgularımız α -terpineol'un selektif bir şekilde olmak üzere, tüm guanil siklaz ve/veya PDE enzimlerini etkilemek yerine, sadece kastırıcı özellik taşıyan guanil siklaz ve/veya PDE izozimlerine etkili olabileceğini düşündürmektedir. α -Terpineol'un kastırıcı özellikteki PDE enzimleri üzerinde etkili olarak metilen mavisini varlığında α -terpineol gevşemesinin arttığı düşünülebilir ki bu yaklaşımın daha ileride yapılacak araştırmalar ile açıklığa kavuşturulması gerekmektedir. Feromonların olfaktor sistemde guanil siklazlar ile kendilerine özgü bir şekilde selektif olarak etkili oldukları bilinmektedir (101). Doğada feromon bir molekül olarak da var olan α -terpineol'un da (41) benzer şekilde etki ettiği düşünülmelidir.

α -Terpineol'un fundus üzerinde metilen mavisi varlığında gevşetici etkisinin değişmemiş olması, guanil siklaz enzimi ile α -terpineol'un etkileşmesinin fundusta olmadığını ve organlar arasında bu açıdan önemli farklılıklar bulunduğunu göstermektedir. α -Terpineol etkisine en duyarlı organ olan fundus üzerinde, α -terpineol'un etkisinde guanil siklaz ve sGMPnin rol oynamamış olması, başka gevşetici faktörlerin de sözkonusu olduğunu düşündürmektedir.

α -Terpineol ile gözlenen izole sıçan fundus, duodenum ve ileum gevşemelerinin, deneylerde kullanılan antagonistlerin hiç birisi tarafından antagonize edilmemiş olması nedeniyle, α -terpineol'un etki mekanizmasının deneysel çalışmalarımız sonucunda kesin olarak açıklığa kavuşmamıştır. Bu nedenle, feromonlar tarafından kullanıldığı bildirilen spesifik guanil siklazlara ek olarak, α -terpineol'un bilinen ya da henüz özellikleri açıklanmamış olan reseptörler (102) ile etkileşmesinin de olabileceği düşünülmelidir.

Bu yaklaşıma ek olarak, α -terpineol'un wortmannin gibi doğrudan myozin hafif zincir kinaz inhibisyonu yapıp yapmadığı, kaldesmon ve kalponin gibi gevşemeyi artırıcı intrasellüler proteinler (71, 90) ile α -terpineol'un etkileşmesi olup olmadığı, ya da henüz α -terpineol ile etkileştiği gösterilmemiş olan başka reseptörler ile etkileşip etkileşmediğinin ortaya çıkarılması için yeni araştırmalara gerek vardır. Dolayısıyla α -terpineol'un izole sıçan fundus, duodenum ve ileum preparatları üzerinde farklı derecelerde olmak üzere gevşetici etkili olduğu, metilen mavisi ve No-ARG ile fundusta etkileşmeyip sadece duodenum ve ileum üzerinde etkileştiği ancak düz kaslar üzerindeki gevşetici etkisinin mekanizması üzerinde yeni araştırmaların yapılması ışığında gerçekleşmektedir.

Bu bulgulara ek olarak, daha önce yapılan çalışmalarda sindirim sisteminde antispazmodik etkili fenolik bileşiklerin aynı zamanda antioksidan etkili olduğu da bildirilmiştir (86). Bu nedenle α -terpineol'un da antioksidan etkisi üzerinde de yeni araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

5. KAYNAKLAR

1. MCCASKILL, D. and CROTEAU, R., *Recent Advances in Terpenoid Biosynthesis: Implications For Essential Oil Production*. *Plantes Aromatiques Et Medicinales*, 4^{emes} Rencontres Internationales-Nyons, 5, 6, 7 p 92 (1994).
2. MANN, J., *Chemical Aspects of Biosynthesis*, Oxford Sci. Publ., Oxford (1994).
3. POPTER, J.W. and SPRUGEON, S.L., *Biosynthesis of Isoprenoid Compounds: Conversion of Acetyl-coenzyme A to Isopentenyl Pyrophosphate*, QUERSHI, N., and PORTER, J.W (Ed.), PP. 47-94, Vol.2, John Wiley and sons, Inc., New York (1981).
4. DEV, S., *Isoprenoids*, In: *Natural Products of Woody Plants, Chemicals Extraneous to The Lignocellulosic Cell Wall*, Rowe, J.W.(Ed.), PP. 691-807, Vol .2, Springer-Verlag Berlin, (1989).
5. ALESSANDRA, T.P., MARIO D.L.MORETTI., and CLAUDIA, J., *Chemical Composition and Antimicrobial Action of The Essential Oil of Salvia desoleana and S.sclarea*. *Planta Med.* 65:752-753 (1999).
6. MERİÇLİ, F. and TANKER, M., *The Volatile Oils of Some Endemic Thymus Species Growing in Southern Anatolia*. *Planta Med.* 340 (1986).
7. WILLIAM, E.C., DAVID, W., GAMMON., PETER, S., MERYL, A., and TERTIA, D.P., *Composition and Antimalarial Activity In vitro of The Essential Oil of Tetradenia riparia*. *Planta.Med.* 63:270-271 (1997).
8. MERİÇLİ, F. and TANKER, M., *The Volatile Oils of Some Endemic Thymus Species Growing in Southern Anatolia*. *Planta Med.* 340 (1986).
9. SARER, E., *The Essential oil from salvia potentillifolia*. *Planta.Med.* 56:528 (1990).
10. CHRISTOPH, F., KAULFERS, P.M., STAHL-BISKUP, E., *A Comparative Study of The In vitro Antimicrobial Activity of Tea Tree Oils S.L.With Special Reference To The Activity of β -Triketones*. *Planta Med.* 66:556-559 (2000).
11. ZELIAN, M., NIKOLA, B., and ANKICA, A., *The essential oil composition of vitex agnus-castus f.rosea leaves and flowers*. *Planta Med.* 64:286-287 (1998).
12. OLUSEGUN, E., INTO LAAKSO., and RAMIO, H., *Volatile components of cleistopholis patens*. *Planta Med.* 338-339 (1988).

13. LIANG GUANG-Y., CATHARINE, D.B., ALEXANDR, I., GRAY and PETER, G.W.,
The volatile oil of the oleoresin of *Aucoumea Klaineana* Collected in Gabon.
Planta.Med. 368 (1988).
14. ROSER, V., VALENZUELA, L., HELIA, B., SALVADOR, C., MARCO, M., and
TOMAS, A., Composition and Antimicrobial Activity of The Essential Oil of *Peumus
boldus* Leaves. *Planta Med.*, **65**:178-179 (1999).
15. OLUSEGUN, E., INTO, L., OGUNTOMEIN. and RAIMO, H., Volatile components of
cleistopholis patens. *Planta Med.*, 338-339 (1988).
16. BASLAS, R.K., KUMAR, P., Chromatographic Separation of Essential of *Lantana
orangemene*. *Chem. Abstr.* **94**:162585n (1981).
17. CHENG-MING, Z., CHUA, Y., HAI-LIN, S., SHENG-XIANG, Q., and GUO-YIN C.,
Volatile Constituents of The Rhizome of *Homalomena occulta*. *Planta Med.* **57**:391
(1991).
18. ERIC, J., LEWIS and EDWIN, C.F., The Essential oil of *Poliomintha incana*. *Planta
Med.* **56**:224-225 (1990).
19. KOJIMA, H., K., YANAI, T., TOYATA, A., Essental oil constituents from Japanese and
Indian *Curcuma aromatica* rhizomes. *Planta Med.* **64**:380-381 (1998).
20. ANA PAULA MARTINS., LIGIA R., SALGUEIRO., ROSER, V., FELIX, T.,
SALVADOR, C., JOSEPH, C., ANTONIO, P. C. and TOMAS, A., Composition of The
Essential Oil of *Ocimum canum*, *Ogratissimum* and *O.minimum*. *Planta.Med.* **65**:187-
188 (1999).
21. TANKER, N., TEMİZER, H., *Türkiye 'de Terpeneol Elde Edilişinde Yararlanacak Doğal
Kaynaklar*. VI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı, ŞENERE, B.(Ed.),
Ankara, Gazi Üniversitesi Basım-Yayın Yüksekokulu Matbaası, s 209-215.(1986)
22. KALLIO, H., PAAVO, T., PYYSALO, T., HONKANER, E. J., Giving food or drinks,
especially liquors, an aroma of wild berries. *Chem. Abstr.* **88**:49253r (1978).
23. EMILA GARICA, M., The chirality of α -terpineol in aromatic wines. Detection of chiral
of chiral or racemic linalool addition in wines. *Chem. Abstr* **132**:22340g (2000).
24. HALEVA-TOLEDO, E., NAIM, M., ZEHAVID, U., ROUSEFF, R.L., Formation of α -
terpineol in citrus juices, model and buffer solutions. *Chem. Abstr.* **132**:49357e (2000).

25. RODRIGUEZ, F., SECK, S., CROUZET, J., The volatile Components of Rouge du Roussillon Apricots. *Chem. Abstr.* 93:130875_v(1980).
26. ASKAR, A., EL-SAMAHY, S.K., ADB EL-BAKI, M.M., Preparation of mango jice concentrates. *Chem. Abstr.* 94:155198_k(1981).
27. SHIMODA.M., FURUKAWA, F., MIYAKE, M., OSAJIMA, Y., Studies on off-flavor formed during storage of satsuma mandarin juice. Part II. *Chem. Abstr.* 94:101587, (1981).
28. TERRIER, A., BOIDRON, J.N., RIBEREAU-GAYON, P., Muscat grape aromas. *Chem. Abstr.* 79:51949_e (1973).
29. COULIBALY, Y., SECK, S., CROUZET, J., Changes of tomato juice volatile components during storage. *Chem. Abstr.* 91:106718_j (1979).
30. KOZO, S., KAZUYUKI, S., KOJIMA, K., conductor and resistor printing inks. *Chem. Abstr.* 81:128808_j (1974).
31. THE MERCK INDEX An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. 10th Ed., Merck & Co, Inc. Rahway, N.J. U.S.A.(1983).
32. BAKHTINOVA, A. A., KELLER, G G., RANDINOVA, I.E., Gas chromatographic analysis of a mixtutre of isomeric terpineols. *Chem. Abstr.* 81:111402_z (1974).
33. ACHARYA, B.G.S. and WHELLR, T.S., Production of terpineol from pinene. *Chem. Abstr.* 32:3763₇ (1973).
34. KIKUCHI, N., SAITO, T., KATO, M., SUGANO, Y., Terpineol. *Chem. Abstr.* 89:197755_s(1978).
35. Xi, W., QIU, W., HUI, F., SHAO, Y., Synthesis of Terpineol By The Mixed Catalyst of TEBA and HPA. *Chem. Abstr.* 131:19138_w(1999).
36. KOLTZENBURG., GUENTHER., BASIN, E., STEENKEN, S., Kinetics and stereochemistryof SO₄-induced hydroxylation of cyclohexenes in aqueons solution. *Chem. Abstr.* 110:17239_n (1988).
37. CHTTERJEE, T., DE, B.K., BHATTACHARYYA, D.K., Microbial oxidation of α -pinene to (+)- α -terpineol by candida tropicalis. *Chem. Abstr.* 131, 20,272009_t (1999).

38. KING, A., DICKINSON, R. J., Biotransformation of monoterpene alcohols by *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii* and *Kluyveromyces lactis*. *Yeast*. 16:499-506, 2000.
39. ANDREASKLINGENBERG., EWALD.S., Production of monoterpenes in liquid cultures by the Yeast *Ambrosiozyma monospora*. *Planta.Med* 264-265 (1985).
40. BICCHI, C., Industrial Quality Control Of Essential Oils by Capillary GC In: P. SANDRA, C. BICCHI (Eds.) *Capillary Gas Chromatography In Essential Oil Analysis*, Huthig, Heidelberg pp215-217.(1987)
41. BURGER, B.V., LE ROUX, M., GARBERS, C.F., SPIES, H.S., BIGALKE, R.C., PACHLER, K.G., WESSELS, P.L., CHRISTH, V., MAURER, K.H., Further compounds from the pedal gland of the bontebok (*Damaliscus dorcas dorcas*). *Z. Naturforsch.*, 32:49-56 (1977).
42. DANN, T.W., SGARAMELLA, P., Disinfectant cleaner composition. *Chem. Abstr.* 100:9014y (1984).
43. ROSS, S.A., EL-KELTAWI, N.E., MEGALLA, S.E., Antimicrobial Activity of Some Egyptian Aromatic Plants. *Fitoterapia* 51:201-205 (1980).
44. KIM, J.M., MARSHALL, M.R., WEI, C.I., Antibacterial Activity of Some Essential Oil Components Against Five Foodborne Pathogens. *J. Agr. Food. Chem.*, 4311:2839-2845 (1995).
45. KEDZIA, B., KRZYZANIAK, M., HOLDERNA, E., Effect of Yarrow Essential oil (*Oleum Millefolii*) And Its Components On Pathogenic Microorganisms. *Herba Pol.*, 363:117-125 (1990).
46. HINOUE, J.B., HARVALA, C.E., HINOUE, E.B., Antimicrobial Activity Screening Of 32 Common Constituents Of Essential Oils. *Pharmazie* 444:302-303 (1989).
47. BATT, C., SOLBERG, M., CEPONIS, M., Volatile Components Of Carrot Seed Oil On Growth And Aflatoxin Production By *Aspergillus Parasiticus* *J. Food. Sci.* 483:762-764 (1983).
48. GRIFFIN, M.J., KARALI, T.T., PENZOTTI, STANLEY, C.Jr., RYDZIK, R.M., SCHMIDT, C.M., Pentadimine transdermal composition and patch. *Chem. Abstr.* 119:56173b (1993).

49. VEGNERS, R., Anesthetic compositions containing α -terpineol. *Chem. Abstr.* 132:40566q (2000).
50. YAMAHARA, J., KASHIWA, H., KISHI, K., FUJIMARA, H., Dermal penetration enhancement by crude drugs in vitro skin permeation of prednisolone enhanced by active constituents in cardamom seed. *Chem. Abstr.* 110:218929_w (1989).
51. COATS, J.R., KARR, L.L., DREWES., CHARLES., D., Toxicity and neurotoxic effects of monoterpenoids in insects and earthworms. *Chem. Abstr.* 113:36025_c (1991).
52. FEDDER, M.L., NOVOKRESHCHENOVA, N.S., TSENTR, T.R., Use of repellents against fleas. *Chem. Abstr.* 56:15275f (1962).
53. ANDREEV, K.P., VANOVICH, G.I., KUDRYAVTSEVA, and SOBOLEVA, R.G., New insect repellents for protection of humans and animals from bloodsucking flies, mosquitoes, midges and gnats. *Chem. Abstr.* 54:12463e (1960).
54. GOMESCARNERIRO, M.R., FELZENSWALB, I., PAUMGARTTEN, F.J.R., Mutagenicity Testing of (+/-)-Camphor, 1,8-Cineole, Citral, Citronellal, (-)-Menthol and Terpineol with the Salmonella/Microsome Assay. *Mutation Res.*, 416:129-136 (1998).
55. DEOLIVEIRA-ACAX., FIDALGONETO-AA., PAUMGARTTEN, F.J.R., In-Vitro Inhibition of Liver Monooxygenases by Beta-Ionone, 1,8-Cineole, (-)-Menthol and Terpinol. *Toxicology*, 135:33-41 (1999).
56. ANDERSSON, L.A., JOHNSON, A.K., PETERSON, J.A., Active-Site Analysis of P450 Enzymes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 345:79-87 (1997).
57. PETERSON, J.A., Lu, J.Y., GEISSELSODER, J., GRAHAM-LORENCE, S., CARMONA, C., WITNEY, F., LORENCE, M.C., Cytochrome p450terp. Isolation and purification of the protein and cloning and sequencing of its operon. *J. Biol. Chem.*, 267:14193-14203 (1992).
58. DAVID, N.L., *Australian Tea Tree Oil: Efficacy, Toxicity, Irritancy and Stability*. Progress In Essential Oil Research BAŞER, K.H.C, KIRIMER, N, (Eds) Proceedings of The 28th Internatinal Symposium on Essential Oil Eskişehir, Turkey.(1997).
59. OSHIBA, S., TAMADA, T., MATSUTA, H., Terpenes as antithrombotic agents. *Chem. Abstr.* 106:27811j (1987).

60. ZHOU, H., ZHENG, Q., MO, Q., BIAN, R., Kinetic aspects of absorption distribution, and excretion of [³H] α -terpineol in guinea pigs. *Chem. Abstr.* **108**:142778g (1988).
61. MADYASTHA, K. M., SRIVATSAN, V., Biotransformations of α -terpineol in the rat. *Chem. Abstr.* **109**:68374z (1988).
62. GÖZÜKARA, M. E., *Biokimya* 2, 2. Baskı İnönü Üniv Tıp Fak Malatya. s652-653.(1994).
63. TALAPIN, V.I., PALANT, L.G., Study of mechanisms of neurotoxic action of terpene derivatives. *Chem. Abstr.* **113**:36025c (1990).
64. RIPKA, O., Diuretic action of terpineol, a juniper oil constituent. *Chem. Abstr.* **61**:15244g (1964).
65. SUN, J., Novel active constituents of Ephedra sinica. *Chem. Abstr.* **99**:200395p (1983).
66. CHEN, J., YANG, Q., BIAN, R., Effects of α -terpineol on pulmonary mechanics in guinea pigs. *Chem. Abstr.* **103**:116039u (1985).
67. URL <http://www.ars-grin.gov/duke/chem-activities.html/>
68. ÖZTÜRK, Y., Düz kasların siklik nükleotidlerle ilişkisi. *Biyokimya Dergisi* **7**:62-75, (1982).
69. GUYTON HALL *Tıbbi Fizyoloji*, 9^{ed}, Türkçe çeviri editörü. Çavuşoğlu, H., Nobel Tıp Kitabevleri. s.76, 98, 103, 793, 794.(1996).
70. KAYAALP, S.O., Hacetepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı., *Düz kas Fizyolojisi ve Farmakolojide Kullanılan Ölçüm Yöntemleri II*.Türk Farmakoloji Derneği Eğitim Sempozyumları dizisi. Ankara, s.5-22.(1993).
71. BARANY, M., *Biochemistry of smooth muscle contraction*. Academic Press Inc. Sandiago-California, 227-229 (1996).
72. GANONG, W.F., *Tıbbi Fizyoloji*. çeviri Türk Fizyolojik Bilimleri Derneği Ankara 17.Baskı. Barış Kitabevi. s.99.(1995).
73. KAYAALP, S.O., *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 8. basım, Hacetepe-TAŞ. s.81, 432, 464, 487, 1130, 1156, 1157.(1998).
74. KREBS, H.A., HENSELEIT, K., Untersuchungen über die Harnstoffbindung im Tierkörper. *Z. Physiol. Chem.* **210**:33-66 (1932).

75. McLcod L. J. and Staff of Edinburgh., *Pharmacological experiments in isolated tissues*.
Edinburgh (1972).
76. BOWMAN, W.C., RAND, M.J., *Textbook of pharmacology*. 2nd Ed., Blackwell, Oxford
(1980).
77. KENNY, B.A., FRASER, S., KILPATRIK, A.T., SPEDDING, M., Quantification of the
affinity of drugs acting at the calcium channel, *Br J Pharmacol*. **100**, 211-216, (1990).
78. SPEDDING, M., Assessment of "Ca²⁺-antagonist" effects of drugs in K⁺-depolarized
smooth muscle. *Naunys-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol*. **318**:234-240 (1982).
79. MAGALHAES, P.J.C., CRIDDLE, D.N., TAVARES, R.A., MELO, E.M., MOTA, T.L.,
LEAL-CARDOSO, J.H., Intestinal myorelaxant and antispasmodic effects of essential
oil of croton nepetaefolius and its constituents cineole, methyl-eugenol and terpineol.
Phytother. Res. **12**:172-177 (1998).
80. PÖCH, G., and KUKOVETZ, W.R., Einfluss von theophyllin und imidazol auf die
wirkung von histamin am meerschweincheherzen. *Naunyn- Schmiedeberg's Arch.*
Pharmac. exp .path. **260**:187-188.(1968).
81. MARKOWITZ R., JABOBSON, J., BAIN, G., KORNETSKY, C., Naloxone blockade of
morphine analgesia: A dose-effect study of duration and magnitude. *J. Pharmacol.*
Exper. Ther. **199**:385-388 (1976).
82. TAKEMORI A.E., PORTOGHESE P.S., Comparative antagonism by naltrexone and
naloxone of mu, kappa and delta agonists. *Eur. J. Pharmacol*. **104**:101-104 (1984).
83. VAN ZWIETEN, P.A., Basic pharmacology of alpha-adrenoceptor antagonists and hybrid
drugs. *J. Hypertens*. **6**(suppl.):s3-s11 (1988).
84. MONCADA, S., PALMER, R.M.J. and HIGGS, E.A., Nitric Oxide: Physiyology,
Pathophysiology, and Pharmacology. *Pharmacol. Rev*. **43**:109-142 (1991).
85. TAKIZAWA, S., OZAKI, H., KARAKI, H., Interleukin-1beta-induced oxide-dependent
and-independent inhibition of vascular smooth muscle contraction. *Eur. J. Pharmacol*.
330:143-150 (1997).
86. SGARAGLI, G.P., VALOTI, M., GORELLI, B., FUSI, F., PALMI, M., MANTOVANI,
P., Calcium antagonist and antiperoxidant properties of some hindered phenols. *Br. J.*
Pharmacol. **110**:369-377 (1993).

87. ZHENG, X., CHEN, L., BIEN, R., Effect of α -terpineol on rabbit pulmonary artery. *Chem. Abstr.* **101**:48375g (1984).
88. GHELARDINI, C., GALEOTTI, N., MAZZANTI, G., Local anaesthetic activity of monoterpenes and phenylpropanes of essential oils. *Planta Med.* **67**:564-566 (2001).
89. HAESLER, G., PIEPENBRINK, A., BUFLER, J., DENGLER, R., ARONSON, J.K., PIEPENBROCK, S., LEUWER, M., Structural requirements for voltage-dependent block of muscle sodium channels by phenol derivatives. *Br. J. Pharmacol.* **132**:1916-1924 (2001).
90. SANDERS K. M., OZAKI, H., *Excitation-contraction coupling in gastrointestinal smooth muscles*. In: Szekeres, L., Papp, J. Gy. (Eds.), *Pharmacology of smooth muscle*. Springer Verlag, Berlin (1994).
91. TOMITA T., IINO, S., *Ionic channels in smooth muscle*. In: Szekeres, L., Papp, J. Gy. (Eds.), *Pharmacology of smooth muscle*. Springer Verlag, Berlin (1994).
92. KAWAI F., Odorant suppression of delayed rectifier potassium current in newt olfactory receptor cells. *Neurosci Lett.*, **269**:45-48 (1999).
93. KANADA, A., HATA, F., SUTHAMMATPONG, N., MAEHARA, T., ISHII, T., TAKEUCHI, T., YAGASAKI, O., Key roles of nitric oxide and cyclic GMP in nonadrenergic and noncholinergic inhibition in rat ileum. *Eur. J. Pharmacol* **216**:287-292 (1992).
94. SHIBATA, C., BALSIGER, B.M., ANDING, W.J., DUENES, J.A., MILLER, V.M., SARR, M.G., Functional changes in nonadrenergic, noncholinergic inhibitory neuros in ileal circular smooth muscle after small bowel transplantation in rats. *Dig. Dis. Sci.* **43**:2446-254 (1998).
95. ALEXANDER, S., PETERS, J., MATHIE, A., MACKENZIE, G., SMITH A. *TIPS Nomenclature supplement* (2001).
96. MOHAN, P., BRUTSAERT, D.L., PAULUS, W.J., SYS, S.U., Myocardial contractile response to nitric oxide and cGMP.: *Circulation.*, **93**:1223-1229 (1996).
97. FLESCHE, M., KILTER, H., CREMERS, B., LENZ, O., SUDKAMP, M., KUHN-REGNIER, F., BOHM, M., Acute effects of nitric oxide and cyclic GMP on human myocardial contractility. *J-Pharmacol-Exp-Ther.* **281**:1340-1349.(1997).

98. FUJIWARA, M., ANDERSSON, K., PERSSON, K., Nitric oxide-induced cGMP accumulation in the mouse bladder is not related to smooth muscle relaxation. *Eur J Pharmacol.* **401**:241-250 (2000).
99. Blute, T. A., Lee, H. K., Huffmaster, T., Haverkamp, S., Eldred, W. D.: Localization of natriuretic peptides and their activation of particulate guanylate cyclase and nitric oxide synthase in the retina. *J. Comp. Neurol.*, **424**:689-700, (2000).
100. Lucas, K. A., Pitari, G. M., Kazerounian, S., Ruiz-Stewart, I., Park, J., Schulz, S., Chepenik, K. P., Waldman, S. A.: Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol Rev.*, **52**: 375-414, (2000).
101. ZUFALL, F., MUNGER, S.D., From odor and pheromone transduction to the organization of the sense of smell. *Trends Neurosci.* **24**:191-193 (2001).
102. CIVELLI, O., NOTHACKER, H.P., SAITO, Y., WANG, Z., LIN, S.H.S., REINSCHEID, R.K. Novel neurotransmitters as natural ligands of orphan G-protein-coupled receptors. *Trends Neurosci.* **24**:230-237 (2001).