

**2-, 3- ve 4-METİLFENOKSİASETİK ASİD İLE
KARVAKROL ASETAT' IN DÜZ KASLAR
ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

Ecz. Özgür Devrim CAN

Yüksek Lisans Tezi

**2-, 3- ve 4-METİLFENOKSİASETİK ASİD İLE
KARVAKROL ASETAT' IN DÜZ KASLAR
ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

Ecz. Özgür Devrim CAN

Yüksek Lisans Tezi

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Süleyman Aydın

Eylül 2002

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Özgür Devrim CAN' ın 2-, 3- ve 4-METİLFENOKSİASETİK ASİD İLE KARVAKROL ASETAT' IN DÜZ KASLAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİ başlıklı Farmakoloji Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans tezi ..12.09.2002 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Dr. Süleyman AYDIN
Üye : Dr. Yusuf ÖZÜRK
Üye : Dr. Kerem EROL
Üye :
Üye :

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 09.09.2002 tarih ve ...20.... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Yusuf ÖZÜRK

ÖZET

Bu çalışmada, 2-, 3-, 4-metilfenoksiasetik asid ve karvakrol asetat maddelerinin izole sıçan düz kaslarında asetilkolin (ACh) ve KCl ile oluşturulan kasılmalar üzerindeki farmakolojik etkileri araştırılmıştır. İzole organlar arasında, mide fundus, duodenum, ileum, mesane, vas deferens ve aorta bulunmaktadır. Her maddenin üç farklı dozu (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M) teste tabi tutulmuştur.

Yapılan çalışmalar sonucunda 4-metilfenoksiasetik asid' in hiç bir organda etkili olmadığı, 3-metilfenoksiasetik asid' in sadece duodenum ve mesane üzerinde etkili, test edilen diğer organlarda etkisiz olduğu görülmüştür. 2-metilfenoksiasetik asid, 3-metil' li türevine benzer şekilde duodenumda KCl ile mesanede ise ACh ile oluşturulan kasılmaları artırıcı yönde etkili olmuş, bu etkilere ek olarak fundusta ACh kasılmaları üzerinde inhibisyon yapmıştır. Duodenumdaki etkisi ise atropin sülfat' tan etkilenmemiştir. Her üç maddenin tüm organlar üzerindeki etkileri birlikte değerlendirildiğinde, metil grubunun pozisyonunun etkide önemli rolü olduğu ve en etkili türevin 2-metil' li türev olduğu anlaşılmıştır.

Karvakrol asetat' ın sadece izole sıçan mide fundus ve ileum üzerinde ACh ve KCl kasılmalarına olan etkisi araştırılmıştır. Mide fundusta ACh ve KCl yanıtları üzerinde etkili olmadığı, fakat atropin sülfat varlığında KCl yanıtlarının inhibe olduğu görülmüştür. İleumda ise hem ACh hem KCl yanıtları karvakrol asetat' ın 10^{-4} M dozunda inhibe olmuştur. Maddenin ileumdaki inhibitör etkisi ve fundustaki inhibisyonun ancak atropin varlığında istatistiksel olarak anlamlı hale gelmesi, karvakrol asetat' ın etkisinde muskarinik reseptörlerin ve/veya mekanizmaların rol oynadığını göstermiştir. İleumda KCl kasılmalarının inhibe olması muskarinik reseptörlere ek olarak 2-metilfenoksiasetik asid' in yaptığına benzer şekilde, voltaja bağlı iyon kanallarıyla bir etkileşmenin varlığını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: düz kas, fenoksiasetik asid, karvakrol asetat, sıçan

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the pharmacological activity of 2-, 3-, 4-methylphenoxyacetic acids and carvacrol acetate on the acetylcholine (ACh) and KCl induced contractions of various isolated rat smooth muscles including fundus, duodenum, ileum, bladder, vas deferens and aorta. Three different doses (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M) of each test substances were used.

As a result of the experiments 4-methylphenoxyacetic acid had no activity on the tested organs, 3-methylphenoxyacetic acid was observed to be active only on duodenum and bladder. Like observed on 3-methylphenoxyacetic acid, 2-methylphenoxyacetic acid augmented the contractions on duodenum induced by KCl and the contractions induced by ACh. In addition to these effects it inhibited ACh induced contraction on fundus and the contractions of duodenum was not affected by atropin sulphate. When the data obtained from all the isolated organs taken into consideration, the position of the methyl group appeared to be important in terms of activity and 2-methyl derivative was most active.

The activity of carvacrol acetate was investigated on isolated rat fundus and ileum on the ACh and KCl induced contractions. It was active neither on ACh nor KCl induced contraction on fundus but KCl responses were inhibited in the presence of atropine. ACh and KCl induced contractions of ileum were inhibited by 10^{-4} M carvacrol acetate. Inhibitory action of the substance on ileum and the statistically significant augmentation of inhibition by atropine sulphate on fundus suggested the involvement of muscarinic receptors and/or mechanisms. In addition to these muscarinic mechanisms, as observed in 2-methylphenoxyacetic acid, the inhibition of KCl induced contractions on ileum suggested the role of the involvement of voltage dependent ion channels in the mechanism of action of carvacrol acetate.

Keywords: smooth muscle, phenoxyacetic acid, carvacrol acetate, rat.

TEŞEKKÜR

Bilimsel anlayışı ve bilgi birikimi ile daima yolumu aydınlatacağına inandığım ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum sayın hocam, Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK'e,

Bilimsel yeteneklerini, disiplinini ve yaratıcılığını her zaman örnek aldığım, bu çalışmanın her aşamasında beni özveriyle destekleyen değerli hocam Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür Yardımcısı, Doç Dr. Süleyman AYDIN'a,

Tez maddelerimi sentezleyerek, bu çalışmanın gerçekleşmesine katkıda bulunan Eczacılık Meslek Bilimleri Bölüm Başkanı ve Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı sayın hocam Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK'a,

Çalışmalarım sırasında bilgileri ve deneysel becerileri ile bana rehberlik eden hocalarım Yard. Doç. Dr. Rana BEİS'e ve Arş.Grv. Tuba DEMİR'e,

Araştırmalarım sırasındaki yardımlarından dolayı yüksek lisans öğrencisi arkadaşım İsmail Tütüncü' ye,

Benden maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, sevgi ve emekleriyle beni bu güne ulaştıran sevgili aileme,

Yaşamımın her alanında en büyük desteğim olan eşim Arş. Grv. Nafiz Öncü Can'a ve onun sevgili ailesine,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	
1.1. Fenoksiasetik Asid Türevlerinin Etkileri	1
1.1.1. Diüretik aktiviteye sahip fenoksiasetik asid türevleri	2
1.1.2. Hipokolesterolemik etkili fenoksiasetik asid türevleri	3
1.1.3. Trombosit agregasyonunun inhibisyonuna neden olan fenoksiasetik asid türevleri	3
1.1.4. Selektif β_3 adrenerjik reseptör agonisti olan fenoksiasetik asid türevleri	4
1.1.5. Antihipertansif etkili fenoksiasetik asid türevleri	4
1.1.6. Antifungal etkili fenoksiasetik asid türevleri	4
1.1.7. Antiinflamatuvar etkili fenoksiasetik asid türevleri	4
1.1.8. Herbisid etkili fenoksiasetik asid türevleri	4
1.2. 2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik Asid Maddelerinin Kimyasal Özellikleri	7
1.3. 2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik Asid Maddeleri ile Daha Önce Yapılmış Çalışmalar	7
1.4. Karvakrol Asetat ile İlgili Genel Bilgi	9

1.4.1.	Karvakrol	9
1.4.2.	Karvakrol asetat	10
1.5.	Düz Kaslar	14
1.5.1.	Düz kasların sınıflandırması	14
1.5.1.1.	Çok birimli düz kaslar	14
1.5.1.2.	Tek birimli düz kaslar	15
1.5.2.	Düz kasların plastisite özelliği	16
1.5.3.	Düz kasların kasılması	16
1.5.3.1.	Düz kas kasılmasının iskelet kası kasılmasından farklılıkları	16
1.5.3.2.	Düz kasların kontraktıl elemanları	20
1.5.3.3.	Aktin ve miyozin filamentlerinin etkileşmesi	21
1.5.3.4.	Düz kasın kasılmasında Ca^{2+} iyonunun kaynağı ve rolü	21
1.5.3.5.	Düz kas gevşemesi, defosforilasyon	23
1.5.3.6.	Düz kas kasılmasının sinirsel kontrolü	25
1.5.3.7.	Düz kas kasılmasına lokal doku faktörlerinin ve hormonların etkisi	30
1.5.3.8.	Visseral düz kasların gerilme ile uyarılması	30
1.5.3.9.	Düz kasta membran potansiyelleri ve aksiyon potansiyeli	31
2.	MATERYAL VE YÖNTEM	
2.1.	Materyal	34
2.1.1.	Deney hayvanları	34
2.1.2.	Kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar	34
2.1.2.1.	Kimyasal maddeler	34
2.1.2.2.	Kullanılan cihaz ve malzemeler	35
2.2.	Yöntem	36
2.2.1.	İzole organ banyosu deneyleri	36

2.2.2.	2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik asid maddeleri ile yapılan deneyler	36
2.2.2.1.	İzole mide fundus deneyleri	36
2.2.2.2.	İzole duodenum deneyleri	37
2.2.2.3.	İzole ileum deneyleri	37
2.2.2.4.	İzole mesane deneyleri	37
2.2.2.5.	İzole vas deferens deneyleri	38
2.2.2.6.	İzole aorta deneyleri	38
2.2.3.	Karvakrol asetat ile yapılan deneyler	38
2.2.3.1.	İzole mide fundus deneyleri	38
2.2.3.2.	İzole ileum deneyleri	39
2.2.4.	İstatistiksel hesaplamalar ve verilerin analizi	39
3.	BULGULAR	
3.1.	2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik asid Maddeleri ile Yapılan Deneyler	40
3.1.1.	İzole mide fundus deneylerinin sonuçları	40
3.1.2.	İzole duodenum deneylerinin sonuçları	40
3.1.3.	İzole ileum deneylerinin sonuçları	41
3.1.4.	İzole mesane deneylerinin sonuçları	41
3.1.5.	İzole vas deferens deneylerinin sonuçları	41
3.1.6.	İzole aorta deneylerin sonuçları	41
3.2.	Karvakrol asetat ile Yapılan Deneyler	42
3.2.1.	İzole mide fundus deneylerinin sonuçları	42
3.2.2.	İzole ileum deneylerinin sonuçları	42
4.	TARTIŞMA	84
5.	KAYNAKLAR	90

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Karvakrol ve karvakrol asetat maddelerinin molekül şekilleri	13
Şekil 1.2.	2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik asid maddelerinin molekül şekilleri	13
Şekil 1.3.	Genel sinyal transdüksiyon mekanizması	29
Şekil 3.1.	2-Metilfenoksiasetik asid'in izole mide fundusta ACh yanıtları üzerine inhibitör etkisi	43
Şekil 3.2.	3-Metilfenoksiasetik asid'in izole mide fundusta ACh yanıtları üzerine etkisi	44
Şekil 3.3.	4-Metilfenoksiasetik asid'in izole mide fundusta ACh yanıtları üzerine etkisi	45
Şekil 3.4	2-Metilfenoksiasetik asid'in izole mide fundusta KCl yanıtları üzerine etkisi	46
Şekil 3.5.	3-Metilfenoksiasetik asid'in izole mide fundusta KCl yanıtları üzerine etkisi	47
Şekil 3.6.	4-Metilfenoksiasetik asid'in izole mide fundusta KCl yanıtları üzerine etkisi	48
Şekil 3.7.	2-Metilfenoksiasetik asid'in izole duodenumda ACh yanıtları üzerine etkisi	49
Şekil 3.8	3-Metilfenoksiasetik asid'in izole duodenumda ACh yanıtları üzerine etkisi	50
Şekil 3.9	4-Metilfenoksiasetik asid'in izole duodenumda ACh yanıtları üzerine etkisi	51
Şekil 3.10	2-Metilfenoksiasetik asid'in izole duodenumda KCl yanıtları üzerine eksitatör etkisi	52
Şekil 3.11	3-Metilfenoksiasetik asid'in izole duodenumda KCl yanıtları üzerine eksitatör etkisi	53
Şekil 3.12	4-Metilfenoksiasetik asid'in izole duodenumda KCl yanıtları üzerine etkisi	54

Şekil 3.13	Atropin sülfat varlığında 2-metilfenoksiasetik asid'in izole duodenumda KCl yanıtları üzerine etkisi	55
Şekil 3.14.	Atropin sülfat varlığında 3-metilfenoksiasetik asid'in izole duodenumda KCl yanıtları üzerine etkisi	56
Şekil 3.15.	2-Metilfenoksiasetik asid'in izole ileumda ACh yanıtları üzerine etkisi	57
Şekil 3.16.	3-Metilfenoksiasetik asid'in izole ileumda ACh yanıtları üzerine etkisi	58
Şekil 3.17.	4-Metilfenoksiasetik asid'in izole ileumda ACh yanıtları üzerine etkisi	59
Şekil 3.18.	2-Metilfenoksiasetik asid'in izole ileumda KCl yanıtları üzerine etkisi	60
Şekil 3.19.	3-Metilfenoksiasetik asid'in izole ileumda KCl yanıtları üzerine etkisi	61
Şekil 3.20.	4-Metilfenoksiasetik asid'in izole ileumda KCl yanıtları üzerine etkisi	62
Şekil 3.21.	2-Metilfenoksiasetik asid'in izole mesanede ACh yanıtları üzerine eksitator etkisi	63
Şekil 3.22.	3-Metilfenoksiasetik asid'in izole mesanede ACh yanıtları üzerine eksitator etkisi	64
Şekil 3.23.	4-Metilfenoksiasetik asid'in izole mesanede ACh yanıtları üzerine etkisi	65
Şekil 3.24.	2-Metilfenoksiasetik asid'in izole mesanede KCl yanıtları üzerine etkisi	66
Şekil 3.25.	3-Metilfenoksiasetik asid'in izole mesanede KCl yanıtları üzerine etkisi	67
Şekil 3.26.	4-Metilfenoksiasetik asid'in izole mesanede KCl yanıtları üzerine etkisi	68
Şekil 3.27.	2-Metilfenoksiasetik asid'in izole vas deferenste fenilefrin yanıtları üzerine etkisi	69

Şekil 3.28.	3-Metilfenoksiasetik asid'in izole vas deferenste fenilefrin yanıtları üzerine etkisi	70
Şekil 3.29	4-Metilfenoksiasetik asid'in izole vas deferenste fenilefrin yanıtları üzerine etkisi	71
Şekil 3.30.	2-Metilfenoksiasetik asid'in izole vas deferenste KCl yanıtları üzerine etkisi	72
Şekil 3.31.	3-Metilfenoksiasetik asid'in izole vas deferenste KCl yanıtları üzerine etkisi	73
Şekil 3.32.	4-Metilfenoksiasetik asid'in izole vas deferenste KCl yanıtları üzerine etkisi	74
Şekil 3.33.	2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik asid'in fenilefrin ile prekontrakte edilmiş izole aorta üzerine etkileri	75
Şekil 3.34.	Karvakrol asetat'ın izole mide fundusta ACh yanıtları üzerine etkisi	76
Şekil 3.35	Karvakrol asetat'ın izole mide fundusta KCl yanıtları üzerine etkisi	77
Şekil 3.36	Atropin sülfat varlığında karvakrol asetat'ın izole mide fundusta KCl yanıtları üzerine inhibitör etkisi	78
Şekil 3.37	Karvakrol asetat'ın izole ileumda ACh yanıtları üzerine inhibitör etkisi	79
Şekil 3.38	Karvakrol asetat'ın izole ileumda KCl yanıtları üzerine inhibitör etkisi	80
Şekil 3.39	Atropin sülfat varlığında karvakrol asetat'ın izole ileumda KCl yanıtları üzerine inhibitör etkisi	81

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Karvakrol asetat taşıyan başlıca bitkiler ve uçucu yağlarındaki karvakrol ve karvakrol asetat miktarları	11
Çizelge. 3.1. Test edilen maddelerin organlara ve etki sonuçlarına göre sınıflandırılması	82

KISALTMALAR DİZİNİ

ACh	Asetil kolin
ADP	Adenozindifosfat
ATP	Adenozintrifosfat
$\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Bizmut nitrat
Ca^{2+}	Kalsiyum iyonu
CaCl_2	Kalsiyum klorür
CH_2Cl_2	Diklorometan
CO_2	Karbondioksit
DAG	Diaçilgliserol
DMSO	Dimetilsülfoksit
FE	Fenilefrin
GDP	Guanozin difosfat
GTP	Guanozin trifosfat
HIO_3	İyodik asit
HIV	Human immunodeficiency virus (İnsan immünyetmezlik virüsü)
IL3	İnterlökin 3
IP_3	İnositol 1, 4, 5-trifosfat
IP_4	İnositol 1, 3, 4, 5-tetrakisfosfat
KCl	Potasyum klorür
KH_2PO_4	Potasyum dihidrojen fosfat
KOH	Potasyum hidroksit
MeCN	Asetonitril
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Magnezyum sülfat
MHZK	Miyozin hafif zincir kinaz
NaCl	Sodyum klorür
NaH_2PO_4	Sodyum dihidrojen fosfat
NaHCO_3	Sodyum hidrojen karbonat
NaOH	Sodyum hidroksit
NMR	Nükleer magnetik rezonans
PIP	Fosfotidil 4-fosfat
PIP_2	Fosfotidilinositol 4, 5-difosfat (Fosfoinositoldifosfat)
PKA	Proteinkinaz A
PKC	Proteinkinaz C
sAMP	Adenozin 3', 5'-siklik monofosfat
sGMP	Guanozin 3', 5'-siklik monofosfat
UV	Ultraviyole
$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Çinko nitrat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.1 Fenoksiasetik Asid Türevlerinin Etkileri

Tavşan eritrositleriyle yapılan bir çalışmada hemolitik etkili bir madde olan etilen glikol fenil eter'in kanda bulunan ana metabolitinin fenoksiasetik asid olduğu (1), köpeklerde yapılan bir biyotransformasyon çalışmasında ise parsiyel β -adrenerjik reseptör agonisti olan doksaminol'e ait metabolitler arasında fenoksiasetik asid bulunduğu bildirilmiştir (2). İskelet kas gevşeticisi olan mefenesin ile sıçanlarda yapılan çalışmalarda, 2-metilfenoksiasetik asid'in idrarla atılan bir mefenesin metaboliti olduğu gösterilmiştir (3). Ayrıca boya, mürekkep, banyo tuzları, deterjanlar, çeşitli kozmetikler ve topikal antiseptiklerde koruyucu olarak bulunabilen 2-fenoksietanol'ün, insan ve sıçan derilerinde perkütan olarak uygulandığında fenoksiasetik aside metabolize edildiği (4) dolayısıyla günlük yaşamda ilaç-dışı maddelere maruz kalma sonucunda da fenoksiasetik asid'in vücutta oluşabildiği gösterilmiştir.

Çeşitli mantar türlerinde bulunan penisilin V amidaz enzimi, penisilin V'yi, 6-aminopenisilanik asid'e ve fenoksiasetik asid'e hidrolize eder (5-7). Fenoksiasetik asid, penisilin V molekülünün yan zincir prekürsörüdür (8, 9) ve *Penicillium chrysogenum*'un, penisilin V üretmesinde gerekli bir ortam komponentidir (10). Fenilasetik asid'in ve fenoksiasetik asid'in hidroksilli türevlerinde, aromatik halkadaki hidroksilin pozisyonu, *Penicillium chrysogenum*'un penisilin üretme kapasitesini ve oluşan penisilin toksisitesini belirler ayrıca bu *Penicillium* türü fenilasetik asid ve fenoksiasetik asid'i glutatyonla bağlı bir mekanizma ile detoksifiye etmektedir. (11).

Bir mantar olan *Aspergillus nidulans*, oldukça spesifik bir fenilasetik asid transport sistemine sahiptir ve fenoksiasetik asidleri de transport ederek bu maddeleri karbon kaynağı olarak kullanır (12).

Fenoksiasetik asid'in, insan eritrosit hücrelerinde IL3 gereksinimini ortadan kaldırdığı ve kemik iliği hücrelerinin proliferasyonunu stimüle ettiği *in vitro* ve *in vivo* koşullarda gösterilmiştir (13).

Fenoksiasetik asid ve hidrokspiperidin parçalarına sahip olan, [2-[1-[3-(N, Ndimetilkarbamoil)-3, 3-difenilpropil]-4-hidrokspiperidin-4-il]fenoksi]asetik asid maddesinin, mü-opioid resepetör antagonisti olduğu izole kobay ileum preparatında gösterilmiştir (14).

Oksijen atomlarından alkil köprüleriyle bağlanmış olan çok sayıda fenoksiasetik asid'in oluşturduğu bileşiği içeren, ısıya sensitif bir tabakası olan, bir termal yazıcı materyali geliştirilmiştir (15).

1.1.1 Diüretik aktiviteye sahip fenoksiasetik asid türevleri

Etakrinik asid (16-20), tienilik asid (21-23) ve indakrinon (16, 20) diüretik aktiviteleri bildirilmiş olan fenoksiasetik asid türevi maddelerdir.

Kimyasal yapısı 2, 3-dikloro-4-(2-metilenbutiril)fenoksiasetik asid olan etakrinik asid, diüretik aktivitesini, Henle kulpunun meduller kalın çıkan kolunda, sodyum/potasyum/2 klor kotransport sistemini inhibe ederek gösterir (17, 20). Fenoksiasetatlar, hidrofobik bağlanma özelliklerine ve moleküldeki elektronik dağılımlarına bağlı olarak, klor transportunu geri dönüşümlü (reversibl) olarak inhibe ederler (24). Etakrinik asid ve benzer fenoksiasetik asidler oksijenlenmiş eritrosit hücrelerinde anyon hareketlerini inhibe ederler. Bu inhibisyon, klor transportunda rol oynayan membran proteininin apolar bölgeleri ile etakrinik asid arasındaki hidrofobik etkileşimden kaynaklanır (25).

Kimyasal yapısı 2, 3-dikloro-4-(2-tiyenilkarbonil)fenoksiasetik asid olan tienilik asid, ürikosürik özellikleri olan yeni bir diüretiktir (22). Bu ilaç, hipertansif hastaların tedavisinde (22, 23) kullanılmaktadır.

İndakrinon ise, ürikosürik özellikleri olan bir başka fenoksiasetik asid türevi diüretiktir (26). İndakrinon'un (-) enantiyomerinin natriüretik etki yöresi Henle kulpunun meduller kalın çıkan koludur, (+) enantiyomeri ise diüretik etkisini distal tübülün başlangıcında gösterir (20).

E-[4-(3-okso-1alkenil)fenoksi]asetik asid (74), [2, 3-dikloro-4-(2, 2-diasetilvinil)fenoksi]asetik asid, ve *E*-[2, 3-dikloro-4-(2-nitrofenil)fenoksi]asetik asid salüretik olup etakrinik asid ile aynı etki mekanizmaya sahip diüretik aktivitesi saptanmış olan diğer fenoksiasetik asid türevleridir (27, 28).

1.1.2. Hipokolesterolemik etkili fenoksiasetik asid türevleri

Fenoksiasetik asid esterlerinin antihiperlipidemik etkileri vardır (29). 4-(4-klorobenzil)fenoksiasetik asid esterlerinin antilipidemik etkisi bildirilmiştir (30). Antihiperlipidemik bir ilaç olan klofibrat benzeri bir seri fenoksiasetik asid türevi sentezlenmiştir. 2-metoksi-5-nitro-4-(2-propenil)fenoksiasetik asid başta olmak üzere, sentezlenen türevlerin anlamlı bir hipokolesterolemik etkiye sahip oldukları, düşük dansiteli lipoprotein kolesterol ve trigliserid düzeylerini anlamlı ölçüde azaltırken, yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol düzeyini artırdıkları gözlenmiştir (31).

1.1.3. Trombosit agregasyonunu inhibe eden fenoksiasetik asid türevleri

4-[2-(benzensülfonamido)etil]fenoksiasetik asid, tromboksan reseptör antagonistidir (32-34) ve bu antagonist etkisi nedeniyle insan trombositlerinde antitrombotik ve antiagregan etkiye sahiptir (35). Bu madde, koroner damarlarda tromboksan A₂ aracılıklı kasılmalar üzerinde zayıf bir inhibisyon göstermektedir. Bu inhibisyonun nedeni, koroner damarlar ile trombositler arasındaki farklı tromboksan reseptörleridir (32). Maddenin sıçanlar ve köpekler üzerinde yapılan uzun dönem çalışmalar sonucu toksisitesinin görülmemiş olması ve ilk klinik çalışmalarda yan etkinin saptanmaması nedeniyle klinikte kullanılma şansı olduğu bildirilmiştir (36).

Yapısal olarak 4-[2-(benzensülfonamido)etil]fenoksiasetik asid benzeri bir diğer madde olan p-[4-amidinobenzensülfonamido)etil]fenoksiasetik asid'in fibrinojen reseptör antagonisti aktivite gösterdiği (37), yine fenoksiasetik asid türevlerinden olan 4-[2-(4-substitüeyefenilsülfonilamino)etiltiyo]fenoksiasetik asid ve benzeri maddelerin tromboksan A₂ reseptör antagonisti oldukları (38), 4-(6-amidino-2-naftilaminokarbonil)fenoksiasetik asid ve 4-(6-amidino-2-naftalen karbokamido)fenoksiasetik asid maddelerinin glikoprotein (Gp) IIb/IIa antagonisti olduğu (23), 2-(3-(2-(4, 5-difenil-2-okzazolil) etil) fenoksi)asetik asid'in ise prostasiklin parsiyel agonisti olduğu (39, 40) bildirilmiştir. Dolayısıyla bu maddelerin hepsinin trombosit agregasyonunu inhibe edici özellikleri bulunmaktadır.

1.1.4. Selektif β_3 -adrenerjik reseptör agonisti olan fenoksiasetik asid türevleri

Bir fenoksiasetik asid türevi olan [4-[-2-[2-(3-klorofenil)-2-hidroksietil]amino]propil]fenoksiasetik asid ve sodyum tuzu, selektif β_3 -adrenerjik reseptör agonisti aktiviteye sahiptir (41, 42). Madde, kobay *taenia caecum*'undaki gevşeme cevabının oluşumunda (43), yağ hücrelerindeki lipolitik aktivitede (42), sıçan beyaz yağ hücrelerindeki lipolizde (44), sıçan özofagusundaki gevşeme cevabının oluşumunda (45) ve β_3 -adrenerjik reseptörlerinin etkinliğini göstermek üzere agonist olarak kullanılmıştır.

1.1.5. Antihipertansif etkili fenoksiasetik asid türevleri

Bir fenoksiasetik asid türevi olan tikrinafen [2, 3-dikloro-4-(2-tienilkarbonil)fenoksiasetik asid], antihipertansif bir ilaçtır ve kumarin antikoagülanların etkilerini potansiyalize ederek bazı hastalarda kanamalara neden olur (46).

1.1.6. Antifungal etkili fenoksiasetik asid türevleri

Fenoksiasetik asid türevlerinin ve 2-metilfenoksiasetik asid'in deri patojenleri olan *Tricophyton rubrum* ve *T. mentagrophytes* üzerine antifungal etkileri gösterilmiştir (47).

1.1.7. Antiinflamatuvar etkili fenoksiasetik asid türevleri

Fenoksiasetik asid'in metil esteri, iritan ve allerjik kontakt dermatiti önlemek ve tedavi etmekte etkili bir ajandır. Topikal %1'lik uygulamanın, dermal nötrofilik infiltrasyonu ve dermal kapiller damar dilatasyonunu büyük oranda azalttığı; deriyi epidermal hiperproliferasiyondan ve hiperkeratitisten koruduğu, kontakt hipersensitivitenin oluşumunu önlediği gösterilmiştir (48).

1.1.8. Herbisid etkili fenoksiasetik asid türevleri

Fenoksiasetik asidlerin özellikle klorlu türevlerinin herbisid etkileri hakkında çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu türevlerden üzerinde en çok çalışmış olanları; 2, 4-diklorofenoksiasetik asid (49-69), 2, 3-diklorofenoksiasetik asid (51), 3, 4-diklorofenoksiasetik asid (51), 2, 4, 5-triklorofenoksiasetik asid (51, 60, 62, 65, 70), 2-metil-4-klorofenoksiasetik asid (51, 57, 60, 61, 71, 73) ve 2-(2, 4-diklorofenoksi)propiyonik asiddir (51).

Fenoksiasetik asid yapısındaki herbisidlerin ağız yoluyla alınması sonucu, koma ve periferik nöropati oluştuğu (72), 2-metil-4-klorofenoksiasetik asid'in ağız yoluyla alınması ile ağızda yanma, ekstremitelerde ağrı ve ciddi hipotansif krizler ortaya çıktığı bildirilmiştir (73).

Bu maddelere mesleki ya da başka nedenlerle uzun süre maruz kalan kişilerde ise yumuşak doku sarkomalarının (74), akciğer kanserinin (75) ve non-Hodgkin lenfomalarının (71, 76, 77) görülme insidansının arttığı belirtilmiştir. Özellikle 2-metil-4-klorofenoksiasetik asid (71) ve 2, 4-diklorofenoksiasetik asid (56) herbisidlerinin non-Hodgkin lenfoma riskini anlamlı oranda artırdığı ancak 2, 4-diklorofenoksiasetik asid'in kullanımı ile non-Hodgkin lenfoması oluşumu arasındaki güçlü nedensel ilişkiye rağmen maddenin karsinojenik etkisinin zayıf olduğu rapor edilmiştir (68).

Söz konusu herbisidler insan üreme sistemi üzerinde toksik etkilidirler. Bu maddelere gebelik öncesi dönemde maruz kalan dişilerde erken düşük riski arttığı ortaya konulmuştur (78). Doza ve uygulama yoluna bağlı olarak, 2, 4-diklorofenoksiasetik asid (65) ve 2, 4, 5-triklorofenoksiasetik asid maddelerinin farelerde prenatal ölüme ve düşük fetüs ağırlığına sebep olmalarının yanında, yarı damak ve benzeri malformasyonları da artırdıkları bildirilmiştir. Bu teratojenik etkilerin fenoksiasetik asid ile görülmemesi, halkadaki klor substitüentinin toksik etki üzerindeki önemini gösterir (70). Ayrıca 2, 4-dikloro fenoksiasetikasid ve pikloram içeren Tordon 75D ticari isimli herbiside 9 hafta boyunca yüksek dozda maruz kalan erkek sıçanların testis ağırlıklarında ciddi bir azalma görülmüş, üreme hücrelerinin depleasyonu ile seminifer tübüllerde daralma gözlenmiştir (79).

2-metil-4-klorofenoksiasetik asid ve 2, 4-diklorofenoksiasetik asid türevlerinin tavuk embriyolarındaki hepatik ilaç metabolize edici enzimler üzerinde toksik etkileri gösterilmiştir (57). 2, 4-diklorofenoksiasetik asid ve 2, 4, 5-triklorofenoksiasetik asid gibi anyonik ksenobiyotiklerin, organik asid transport sistemi aracılığıyla karaciğer ve böbreklerde yüksek oranda biriktiği ve bunun sonucunda toksisite riskinin artmasına neden olduğu bildirilmiştir (62).

Fenoksiasetik asid yapısındaki herbisidler, *koroid pleksus'* da nörotransmitter metabolitlerinin transportunu inhibe ederler (80).

Toksik etkileri en çok araştırılmış türev olan 2, 4-diklorofenoksiasetik asid'in kromozomlarda kırıklar, kopmalar ve yer değiştirmeler ile karakterize sitotoksik, mutajenik (66) ve genotoksik (49) etkileri vardır. Bu maddeye uzun süre maruz kalan işçilerde, kromozom bozukluklarının arttığı *in vitro* olarak tespit edilmiştir (59).

2, 4-Diklorofenoksiasetik asid gibi organik anyonlara maruz kalmak, santral sinir sistemi üzeride de toksisiteye neden olur (58). Sıçanlarda doğumdan sonraki 2 - 25 günde oral yolla alınan madde beyinde monoamin düzeylerini, antikolinesteraz aktiviteyi ve öğrenmeyi değiştirir (52). Maddeye laktasyon sırasında maruz kalan sıçanların *nukleus rafe dorsalis'* lerinde bulunan serotonin nöron somalarında büyüme, yoğunluk artışı ve nöron uzunluklarında anlamlı bir artış gözlenmiştir (55). 2, 4-diklorofenoksiasetik asid n-butil ester'in sıçanlarda lokomotor aktiviteyi deprese ettiği gösterilmiştir (64).

2, 4-Diklorofenoksiasetik asid ile 60 dakika inkübe edilen izole sıçan hepatositlerinin sayılarında %20 oranında azalma görülmüştür (63).

Herbisid olarak kullanımına rağmen, 2, 4-diklorofenoksiasetik asid'e çimlenme döneminde maruz kalan pirinç, mısır ve buğday tohumlarında kök gelişiminde problemler olduğu ve primer kökler boyunca nodüller meydana geldiği rapor edilmiştir (53, 54, 81).

2, 4-Diklorofenoksiasetik asid'i yıkan bakterilerin, yıkımdan sorumlu ve iyi karakterize edilmiş genleri vardır (50). Topraktaki mikroplara 2, 4-dikloro fenoksiasetik asid'i yıkan tfdA geni gibi katabolik genlerin konjugasyon yolu ile transferi, bu tip herbisidlerin olumsuz etkilerini ortadan kaldırır (67). *Pseudomonas putida* pR0301, toprakta bulunan fenoksiasetik asid'i ve 2, 4-dikloro fenoksiasetik asid'i biyodegradasyona uğratar, böylece toprak fenoksiasetik asidler'in oluşturduğu fitotoksisiteden kurtulmuş olur (82). Ayrıca bu herbisid gama ışına ile de yıkıma uğramaktadır (69).

Yukarıda adı geçen herbisidlerin bakır komplekslerinin antimikrobiyal aktiviteleri olduğu tespit edilmiştir (51).

1.2 2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik Asid Maddelerinin Kimyasal Özellikleri

2-Metilfenoksiasetik asid (Şekil 1.2.), ticari olarak elde edilebilen (Lancaster Synthesis ve Alfa Aesar firmaları tarafından satılan) bir maddedir. Maddenin erime noktası 152-154°C ve molekül ağırlığı 166.18'dir.

2-Metilfenoksiasetik asid, 2-metilfenoksietanol'den, $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ aktivatörü ve $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ko-aktivatörü kullanılarak (83) ya da monokloroasetik asid'in, 2-metilfenol (84) ya da 2-metilfenoksi iyonu ile sıvı ortamda nükleofilik reaksiyona girmesi sonucunda sentezlenebilir (85).

3-Metilfenoksiasetik asid ve 4-metilfenoksiasetik asid maddelerinin (Şekil 1.2.), 3- ve 4-metilfenol ile monokloroasetik asid'in, MeCN içinde, NaOH varlığında, ultrasonik radyasyon altında hidroklorik asid (HCl) ile muamele edilerek sentezlendikleri bildirilmiştir (86). Bu maddeler, piridinyum hidrobromid perbromid (87), bakır (III) periyodat kompleksi (88) ve kinolinyumflorokromat (89) gibi ajanlar ile okside olurlar.

Fenoksiasetik asid maddesinin, UV absorpsiyon spektrumları ile ilgili ilk çalışmalar 1932 yılında yapılmıştır (90). Takip eden yıllarda 2- ve 3-metil fenoksiasetik asid maddelerinin, kütle spektrometresi ile incelenmesi mümkün olmuştur (91).

1.3. 2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik Asid Maddeleri ile Daha Önce Yapılmış Çalışmalar

Fenoksiasetik asidler ile ilgili olarak literatürde rastladığımız ilk farmakolojik çalışma, 1917 yılında H. Thierfelder ve E. Schempp tarafından yapılmıştır. İnsanlar ve köpekler ile yapılan bu çalışmada fenoksiasetik asid'in vücutta metabolize olmadan idrarla atıldığı bildirilmiştir (92). 1918'de F. Fisher ve W. Gluuds, fenoksiasetik asid, 2-metilfenoksiasetik asid ve 4-metilfenoksiasetik asid maddelerini 250 °C'nin üzerinde, KOH ile muamele ederek hidrolizasyon sonucu yüksek verim ile serbest fenol elde etmeyi başarmışlardır (93). 1920 yılında, fenoksiasetik asidlerin türevlendirme çalışmaları yapılmaya başlanmış ve fenoksiasetik asid HIO_3 varlığında iyotlanmıştır (94).

Penicillium türlerinden olan, *Penicillium canescens* SBUG-M 1139'in, karbon kaynağı olarak kullandığı fenoksibütirik asid'in metabolizması sırasında ortamda minör miktarda metilfenoksiasetik asid biriktiği rapor edilmiştir (95).

Fenilasetik asid türevlerinin, fenoksiasetik asid'in, özellikle 2- ve 3-metil fenoksiasetikasid'in, insan ve sığır serum albuminine bağlandığı NMR çalışmaları ile ortaya konulmuştur (96-98).

3- ve 4-Metilfenoksiasetik asid maddelerinin antiinflamatuvar etkileri olduğu ve bu maddelerin çinko ve bakır ile oluşturdukları komplekslerin, sıçan pençesinde karragen ile oluşan ödeme karşı gösterdikleri antiinflamatuvar etkilerinin, karşılık gelen fenoksiasetik asidlerden daha fazla olduğu bildirilmiştir (99-102).

2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik asid maddelerinin, bitki büyümesi üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Bu maddelerin soya fasülyesi hücre kültüründe, aktif büyüme stimulanı aktivitesi gösterirken, patates ve tütün hücrelerinin büyümesini etkilemedikleri, ayrıca 3-metilfenoksiasetik asid'in, 2- ve 4-metilfenoksiasetik asid'den daha aktif olduğu bildirilmiştir (103).

Monometil- ve monohalo-fenoksiasetik asidler, alkaloid taşıyan bitkilerin kalluslarının büyümesini indüklerler (104). Örneğin, 2- ve 4-metilfenoksiasetik asid maddeleri soya fasülyesi kallus hücrelerinin büyümesini stimüle ederler (103). Fenoksiasetik asidler, *Morinda citrifolia* bitkisinin hücre kültüründe büyüme faktörü olan antrakinon oluşumunu düzenlerler ve büyümeyi desteklerler. Ancak, 4-metilfenoksiasetik asid molekülünde 4. konumdaki metil sübstitüenti ile halka arasına eklenen bir oksijen atomu, antrakinon aracılıklı aktivitenin düşmesine neden olur (105).

3-Metilfenoksiasetik asid ve bu maddenin tuzları kozmetiklere, farmasötik preparatlara ve yiyeceklere koku ve lezzet vericiler ile beraber, bunların salınımını kontrol etmek üzere konulur (106).

4-Metilfenoksiasetik asid, bazı metallerin kaplanmasında kullanılmaktadır (107).

2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik asid maddelerine ait çeşitli komplekslerin etkileri üzerine çalışmalar yapılmıştır. Örneğin 3- ve 4-metilfenoksiasetik asid'in fenazon veya antipirin ile oluşturdukları feniloksiasetatobakır komplekslerinin antimikrobiyal etkili oldukları bildirilmiştir (108, 109).

2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik asid maddelerinin kimyasal sentez reaksiyonlarında, başlangıç maddesi olarak veya ara basamaklarda kullanılması ile farmakolojik olarak etkili pek çok madde sentezlenmiştir. Örneğin, 2- ve 4-metilfenoksiasetik asid, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel etkisi olan 2, 5-disübstitüye 1, 2, 4-triazolo[3, 4-b] 1, 3, 4 tiyadiyazol maddesinin (110), 2-, 3- ve 4-metilfenoksiasetik asid ise potansiyel antimikrobiyal ve insektisidal ajan olan 1, 1, 1-trikloro-2, 2-bis (karboksimetoksi aril)etan maddesinin (111) sentezinde kullanılır.

2-Metilfenoksiasetik asid, bir herbisid olan 2-metil-4-klorofenoksiasetik asid sentezinde kullanılan bir başlangıç maddesidir (112).

1.4. Karvakrol Asetat ile İlgili Genel Bilgi

1.4.1. Karvakrol

Karvakrol, timole benzer bir kokusu olan, oda sıcaklığında sıvı olarak bulunan fenolik bir monoterpendir (113). CAS numarası 499-75-2 olan karvakrole '2-metil-5-(1-metiletil)fenol, '5-isopropil(-2-metilfenol)', '2-metil-5-isopropilfenol', 2-hidroksi-4-isopropil-1-metilbenzen', 'p-menta-1, 3, 5-trien-2-ol', '2-hidroksisimen', 'simofenol', 'p-simen-2-ol' ve '5-isopropil-o-krezol' gibi çeşitli isimler verilmiştir (Şekil 1.1) (114)

Karvakrol, sentezi yapılabilen (115) doğal bir bileşiktir ve *Labiatae* familyası başta olmak üzere, *Chenopodiaceae*, *Plantaginacae*, *Umbelliferae*, *Verbenaceae* gibi çeşitli bitki familyalarında bulunduğu bilinmektedir (113-117). Dolayısıyla karvakrol, günlük yaşamda mutfakta kullanılan çeşitli baharatlarda bulunan bir kimyasal maddedir.

Karvakrol ile ilgili bilinen eski yayınlardan birisi 1907 yılında Haller ve Goult tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada karvon'dan yola çıkılarak, bir dizi kimyasal reaksiyon sonucu karvakrol elde edilebildiği ve uçucu yağların kuvvetli

antiseptik özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (115). Aynı yıl Bischoff, α -bromoalifatik asitler'in karvakrol esterlerinin sentezleri hakkında çalışmalar yapmıştır (118). Karvakrol'ün timol'ün yerine antiseptik olarak kullanılabileceği 1914 yılında Anon tarafından bildirilmiştir (119). Antihelmintik etkisi Solmann tarafından 1919'da bildirilmiştir (120). Karvakrol'ün fungusidal aktiviteleri hakkında ilk çalışmalar 1926 yılında yapılmıştır (121). Kısaca, karvakrol'ün dezenfektan (122), antimikrobiyal (123), antifungal (124), antibakteriyel (125), antioksidan (126), antispazmodik (127), insektisidal (128), trombosit agregasyon inhibisyonu (129), *in vitro* asetilkolinesteraz inhibisyonu (130), prostaglandin sentez inhibisyonu ve antiinflamatuvar etki (131) gibi aktiviteleri bildirilmiştir. Bu farmakolojik etkilerinin yanısıra karvakrol'ün 0.03-3.2 mM dozlarında sitotoksik ve genotoksik etkili olduğu, bu toksik etkinin apoptosis'in özelliklerinden birisi olan nükleer fragmantasyon şeklinde genotoksik etki olduğu bildirilmiştir (132). Nitekim daha önce yapılan çalışmalarda karvakrol'ün antitumoral etkisi gösterilmiştir (133,134) Son yıllarda yapılan çalışmalarda, karvakrol'ün derinin *stratum korneum* tabakasındaki lipidleri ekstrakte ederek, derinin geçirgenlik katsayısını yükselttiği (135), ayrıca *Bacillus cereus* bakterisinin hücre membranının lipid tabakasında toplanan karvakrol'ün zarın akışkanlığını artırdığı ve membran potansiyelini düşürdüğü gösterilmiştir (136).

1.4.2. Karvakrol asetat

Karvakrol asetat, karvakrol'ün fenolik hidroksiline, asetil bağlanması ile oluşan yapıdır (Şekil 1.1) (137).

Karvakrol asetat'a ilk kez 1940 yılında *Orthodon chinense* Kudo bitkisinden elde edilen uçucu yağda % 6 oranında, *O. hadai* Kudo türünden elde edilen uçucu yağda ise eser miktarda rastlanmıştır (138) ve daha sonra birçok bitki türünde bulunduğu gösterilmiştir (Çizelge 1.1).

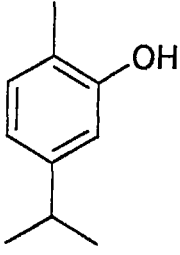
Karvakrol asetat'ın, kara sinekler ve böcekler üzerine topikal, fumigant ve ovisidal insektisid etkileri olduğu gösterilmiştir (139, 140). Karvakrol asetat'ın, prostaglandin sentezini inhibe ederek antiagregan bir aktivite gösterdiği ve bu etkisinin aspirinin etkisinden otuz kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir (141).

Çizelge 1.1 Karvakrol asetat taşıyan başlıca bitkiler ve uçucu yağlarındaki karvakrol ve karvakrol asetat miktarları (Sıralama karvakrol asetat miktarlarına göre)

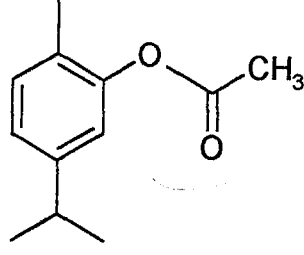
<u>Bitkinin adı</u>	<u>Bitkinin kullanılan kısmı</u>	<u>Yağ %</u>	<u>Karvakrol %</u>	<u>Karvakrol asetat%</u>	<u>Kaynak</u>
<i>Stachys corsica Pers.</i>	tüm bitki	-	-	37,5	142
<i>Satureja parvifolia</i>	yaprak	1,10	34	14,7	143,144
<i>Thymus caespitosus</i>	toprak üstü kısımları	0,2	36,3	8,3	145
<i>Thymus eriphorus</i>	çiçek, tomurcuk, meyva	0,2-0,48	-	6,95	146
<i>Zataria multiflora Boiss. Romn.</i>	kallus	0,1	5,06	5,95	147
<i>Eupatorium argentinum</i>	yaprak	2,1	0,5	4,1	148
<i>Eupatorium hecatanthum</i>	yaprak	2,3	7,1	3,4	148
<i>Eupatorium subhastatum</i>	yaprak	1,9	0,3	3,2	148
<i>Eupatorium arnottianum</i>	yaprak	0,2	0,23	2,11	149
<i>Minthostachys glabrescens</i>	tüm bitki	1	0,7	1,7	150
<i>Lippia micromeria</i>	terminal tomurcular	0,21	26,54	1,59	151
<i>Eupatorium odoratum</i>	yaprak	0,1	0,2	1,3	152
<i>Origanum tythanthum</i>	yaprak	0,3-0,8	9,2-72	0,2-1,4	153
<i>Zataria multiflora Boiss</i>	tepe kısımları	0,2-0,48	25,95	0,72	147
<i>Thymus herba barona Vallicciola</i>	tüm bitki	0,41	75,4	0,7	154
<i>Origanum tythanthum</i>	yaprak, sap	0,5-1,3	18-66	0,6-0,7	153
<i>Phania cajalbanica Borhidi</i>	yaprak	1,0	-	0,3	155
<i>Satureja icarica</i>	toprak üstü kısımları	1,1	56	0,3	156
<i>Origanum haussknechtii Bois</i>	toprak üstü kısımları	0,24	4,34	0,29	157
<i>Origanum boissieri</i>	toprak üstü kısımları	0,32	17,57	0,22	158
<i>Acinos alpinus</i>	toprak üstü kısımları	0,01	8,3	0,2	159

Çizelge 1.1. Karvakrol asetat taşıyan başlıca bitkiler ve uçucu yağlarındaki karvakrol ve karvakrol asetat miktarları (Sıralama karvakrol asetat miktarlarına göre) (Devam)

<u>Bitkinin adı</u>	<u>Bitkinin kullanılan kısmı</u>	<u>Yağ %</u>	<u>Karvakrol %</u>	<u>Karvakrol asetat%</u>	<u>Kaynak</u>
<i>Satureja parnassica subsp. sipylea</i>	yaprak-çiçek	1,45	42,9	0,2	160
<i>Monodora myristica</i>	tohum	4,56	0,5	0,18	161
<i>Origanum onites L</i>	toprak üstü kısımları	2,5	61,68	0,16	162,163
<i>Thymus bovei Benth.</i>	çiçekli bitki	1,75	3,47	0,11	164
<i>Thymus sibthorpii Benth.</i>	topraküstü kısım ları	0,9-1,0	0,28-0,65	0,09-0,11	165
<i>Lippia multiflora</i>	yaprak	1,3	-	0,1	166
<i>Origanum vulgare</i>	toprak üstü kısımları	1,1	16,7	0,1	167
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	-	0,5-0,95	0,1-0,2	0,05-0,1	168
<i>Ageratum houstonianum Mill</i>	yaprak	1	<0,1	<0,1	169
<i>Ageratum conyzoides L.</i>	yaprak	0,7	<0,1	<0,1	169
<i>Thymus striatus Vahl.</i>	toprak üstü kısımları	0,39	5,3	<0,1	170
<i>Thymus leucostomus Hausskn.</i>	toprak üstü kısımları	0,9	5,5	<0,1	171
<i>Origanum vulgare subsp. Hirtum</i>	tüm bitki	1,3-6,6	44,28-77,95	0-0,09	172
<i>Thymus zygis L. subsp. sylvestris</i>	-	0,15-1,4	1	<0,05	173
<i>Thymus leucostomus</i>	toprak üstü kısımları	0,63	22	0,04	174
<i>Thymus haussknechtii</i>	toprak üstü kısımları	0,46	0,8	0,03	175
<i>Origanum calcaratum</i>	CH ₂ Cl ₂ yaprak ekstraktı	0,2	2,43	0,02	176
<i>Thymbra sintenisii Bornm.</i>	toprak üstü kısımları	1,5	43,31	<0,01	177
<i>Origanum microphyllum</i>	çiçek	0,2	0,02	<0,01	176
<i>Tanacetum annuum</i>	toprak üstü kısımları	0,5	0,2	eser	178
<i>Thymus oropedanus</i>	çiçek	1,75	15,6	eser	179



(A)

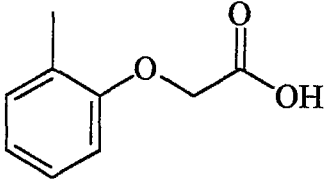


(B)

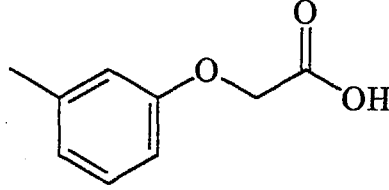
Şekil 1.1. Karvakrol ve karvakrol asetat moleküllerinin şekilleri

(A) Karvakrol

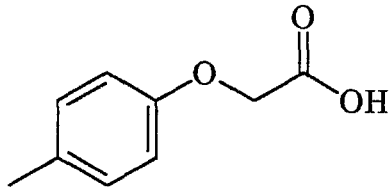
(B) Karvakrol asetat



(A)



(B)



(C)

Şekil 1.2. 2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik asid maddelerinin molekül şekilleri

(A) 2-Metilfenoksiasetik asid

(B) 3-Metilfenoksiasetik asid

(C) 4-Metilfenoksiasetik asid

1.5. Düz Kaslar

İskelet kası ve kalp kasından farklı olarak mikroskopik görünümüleri çizgisiz olan kaslara 'düz kaslar' denir (180). Düz kaslar vücutta oldukça geniş bir yayılıma sahiptir. Tüm visseral dokularda, damarlarda ve sıçan safra kanalı gibi bir istisna dışında tüm tübüler organların duvarlarında bulunurlar (181). Düz kaslar dolaşım, solunum, boşaltım, sindirim, üreme, oküler akomodasyon gibi birçok fizyolojik işlevde rol alırlar (182).

Düz kaslar istem dışı çalışırlar ve işlevleri *in vivo* ortamda nörohumoral unsurlar ile düzenlenir (182). Düz kaslar çapları 20 kat fazla ve boyu binlerce kat uzun olan iskelet kaslarının tersine, genellikle 2-5 µm çapında ve sadece 20-500 µm boyunda küçük hücrelerden oluşurlar (183). İskelet ve kalp kası hücrelerinin silindirik olmasına karşın düz kas hücreleri iğ şeklindedir ve hücre çekirdek taşıyan merkez bölgesinden uçlara doğru daralır (181). Hücreler tek çekirdeklidir, iki çekirdekli hücre sayısı çok azdır. Çekirdek 10-25 µm uzunluğundadır ve hücrenin enine kesitinde %20-50'sini işgal eder (181).

Düz kas hücreleri birbirlerinden gevşek bağ dokusuyla ayrılmışlardır ve 1000 kadar hücreden oluşmuş demetler halinde iç organlarda longitudinal veya sirküler yerleşim gösterirler (183).

1.5.1. Düz kasların sınıflandırması

Düz kaslar mekanik ve elektrofizyolojik özelliklerine bağlı olarak iki gruba ayrılırlar (184).

1.5.1.1. Çok birimli düz kaslar

Birbirlerinden bağımsız düz kas hücrelerinden yapılmışlardır (183). Kasılmaları temel olarak sinir sinyalleri ile kontrol edilir ve genellikle parasempatik veya sempatik tek sinir ucu ile innerve edilirler (184). Bu nedenle bu tip düz kaslar *in vivo* yada *in vitro* ortamlarda spontan kasılmalar göstermezler (184). Kas hücreleri arasında düşük dirençli bölgeler olmadığı için tek bir düz kas hücresi kendi başına ve ancak siniri yoluyla uyarıldığı zaman kasılır (185).

Kas hücrelerinin dış yüzeyleri, hücreleri birbirinden ayırmaya yardımcı olan kollajen ve glikoprotein fibrillerden oluşan bir bazal membran ile kaplanmıştır (183).

Bu kaslar asetilkolin ve noradrenalin gibi nörotransmitterler ile aktive edilirler. Elektriksel uyarı ile bütün düz kas hücreleri beraber kasılarak, kuvvet uygulayarak iş yaparlar (184).

Tek bir kas hücresinin kasılması, iskelet kasının kasılmasına çok benzerdir ancak süresi ortalama on kat daha uzundur (180). Gözün silyer kasının düz kas hücreleri, irisdeki düz kaslar, bazı aşağı grup hayvanlardaki üçüncü göz kapağı, büyük damarların düz kasları, bronş çeperindeki düz kaslar, trakedeki kıkırdak uçları arasındaki düz kaslar ve sempatik sinir sistemiyle uyarıldıklarında tüylerin dikleşmesine neden olan piloerektör kaslar çok birimli düz kaslara örnek olarak gösterilebilirler (183, 184).

1.5.1.2. Tek birimli düz kaslar

Tek bir birim gibi birlikte kasılan çok sayıda kas hücresinden oluşurlar. Bu kaslarda kas hücreleri arasında iki komşu hücre zarının birbirine yapıştığı noktalarda düşük dirençli bağlantılar bulunur (180). Bu bağlantılar metabolitlerin ve iyonların hücreler arasında kolaylıkla akmasını sağlarken (183), aksiyon potansiyelinin de humoral nitelikte bir aracıya gerek duyulmaksızın yayılmasını sağlarlar (184). Hücreler arasındaki bu bağlantılar nedeniyle bu tip kaslar 'sinsisyal düz kaslar' olarak da bilinirler (183).

Fonksiyonel olarak bir sinsisyum oluşturan bu kaslar düzensiz olarak uyarılar oluşturan 'tempocu' (önder odak, *pacemaker*) hücreler içerirler (180). Bu hücrelerin başlattığı spontan depolarizasyon genellikle yavaş bir hızda tüm şebekeye yayılır ve peristaltik kasılmaları oluşturur (184). Kasta gözlenen devamlı ve düzensiz kasılmalar sinir aktivitesinden bağımsızdır. Sinirleri kesilen düz kas preparatlarının *in vitro* ortamda spontan aktivite gösterebilmelerinin nedeni de budur (185). Sinirsel innervasyonun rolü ise kasılmayı başlatmaktan çok kasılmanın düzenlenmesidir (180).

Bu düz kasların bir özelliği de mekanik uyarmaya karşı duyarlı oluşlarıdır. Düz kasın membranı gerilirse membran depolarize olur ve kasılma

yaratır. Düz kaslar, iskelet kaslarına kıyasla çok yavaş kasılmalarına rağmen kasılma güçleri zayıf değildir (185).

Bu kaslar vücutta mide, barsak, safra kanalları, üreter, uterus ve kan damarları gibi bir çok iç organın duvarında buldukları için bunlara 'visseral düz kaslar' da denir (183). Çoğunlukla içi boş organlarda bulunmalarının yanı sıra dalak, lenf düğümleri gibi içi dolu organlarda da bulunurlar (185).

1.5.2. Düz kasların plastisite özelliği

Düz kasların önemli bir özelliği de, kas gerilip boyu uzatıldığında oluşturduğu gerimin (*tension*) değişken oluşudur. Bir düz kasın uzunluğu artırıldığında, önce geriminde bir artış gözlenir. Kas bu yeni uzunluğunda tutulmaya devam edilirse gerim yavaş yavaş düşer, hatta bazen kas gerilmeden önceki düzeyin altına düşer. Sonuç olarak; kasın uzunluğu ile oluşan gerim arasında doğrudan bir ilişki yoktur ve bu nedenle düz kaslar için bir istirahat uzunluğundan söz edilemez (180).

Düz kasların boylarının uzamasına rağmen gerimlerini artırmamaları '*plastisite*' olarak tanımlanır. Bu özellik iç organların fonksiyonlarında önemlidir.

1.5.3. Düz kasların kasılması

1.5.3.1. Düz kas kasılmasının iskelet kası kasılmasından farklılıkları

İskelet kaslarında bulunan 10 -100 μm çaplı, 1-120 mm uzunluğundaki silindirik kas hücrelerinin her biri sarkoplazmik retikulum denilen tübüler bir ağ ile miyofibrillere ayrılmıştır. Miyofibriller, kas hücresi boyunca uzanan 1 μm çapında yapılardır (186) ve her bir miyofibril yaklaşık 1500 miyozin ve 3000 aktin proteini içerir (183).

İskelet kaslarında aktin, tropomiyozin ve troponin (troponin I, troponin T ve troponin C alt-ünitelerini içerir) proteinleri, 50 Å çapında ve 1 μm uzunluğundaki ince filamentleri oluştururken, miyozin proteini 100-150 Å çapında ve 1,6 μm uzunluğundaki kalın filamentleri oluşturur (180).

İç içe geçen ince ve kalın filamentler, iskelet kasının elektron mikroskopundaki karakteristiğini oluşturan, açık ve koyu görülen bandlar yaratırlar (186). Mikroskopta koyu renkli görünen band, kalın filamentleri içeren

A bandıdır ve merkezinde bulunan daha açık renkli H bandı tarafından bölünmektedir. H bandı, kalın filamentlerin hiç çapraz köprü içermediği bölgedir ve ortasından M çizgisi geçer. Açık renkli görünen I bandı ise, ince filamentleri içerir ve koyu renkli Z çizgisi ile bölünmüştür. İnce filamentlerin bir ucu Z diskinde bağlanmıştır ve bu filamentler serbest uçlarını bağlayan ince bir protein ile yerlerinde tutulurlar (183, 186). Z bandı, bir miyofibrilden diğerine uzanarak, hücrenin içindeki tüm miyofibrilleri birbirine bağlar.

İki Z çizgisi arasında kalan miyofibril bölümün '*sarkomer*' olarak adlandırılır. Memeli kaslarında, istirahat halinde sarkomer boyu, 2 - 2,5 μm kadardır (185). Sarkomerler kas hücrelerinin kontraktıl birimleridir. Miyozin filamentleri sarkomerde iki uçları serbest şekilde, ortada yer alırlar (184).

A bandı enine kesilerek elektron mikroskobu ile incelendiğinde, her kalın filamentin düzenli ve hegzagonal biçimde 6 ince filament tarafından sarıldığı görülür (180).

Motor nöronun uyarılması, asetilkolin salgılanması ve nikotink reseptörlerin aktivasyonu sonucu, motor son plak zarında Na^+ ve K^+ geçirgenliği artar. Oluşan son plak potansiyeli kas hücresinde aksiyon potansiyeli oluşturur. Depolarizasyon, kas hücrelerini saran mebranöz bir yapı olan sarkotübül sistemin bir parçası olan T tübül sistemi aracılığı ile kas hücresindeki tüm fibrillere yayılır. Aksiyon potansiyeli, sarkoplazmik retikulumun T tübül sistemi ile ilişkide olan lateral genişleme yerlerinden yani '*terminal sisterna*' dan Ca^{2+} iyonu serbestleşmesine neden olur. Ca^{2+} , troponin C ile bağlanarak aktin üzerindeki miyozin bağlanma bölgelerini açar ve aktin ile miyozin arasında çapraz köprüler kurulur. Miyozin molekülünün başının aktin ile 90 derecelik açısının bozulup kıvrılması, daha sonra aktinden ayrılması ve bir sonraki bağlanma bölgesine ulaşım burası ile bağlanması sonucu ince filamentlerin kalın filamentler üzerinde kayması ile kasılma oluşur.

Ca^{2+} un salıverilmesinden kısa bir süre sonra, sarkoplazmik retikulum duvarında bulunan aktif transport mekanizması, ortamdaki Ca^{2+} u sarkoplazmik retikuluma pompalar. Ayrıca ortamdaki Ca^{2+} terminal sisternalara difüze olur. Ca^{2+} yoğunluğu sarkoplazmik retikulum dışında yeterince azaldıktan sonra, Ca^{2+}

troponinden ayrılır, aktin ile miyozin arasındaki etkileşme sona erer ve böylece kas gevşer.

Kas kasılması için gereken enerji kaynağı ATP'den sağlanır. ATP'nin hidrolizi, miyozin başlarında bulunan adenozin trifosfataz (ATPaz) aktivitesi ile gerçekleşir (180).

İskelet ve kalp kaslarında olduğu gibi düz kasların kontraktıl elemanları da aktin ve miyozin filamentleridir. Ancak düz kas ile iskelet kası arasında aktin ve miyozin filamentlerinin fiziksel organizasyonu, uyarılma kasılma bağlantısı, kasılma işleminin Ca^{2+} iyonu ile kontrolü, kasılma hızı, kasılmanın süresi ve kasılma işlemi için gereken enerji miktarı arasında farklar vardır (183, 184).

Düz kaslarda iskelet kasındaki aktin ve miyozin filamentlerinin çizgili yerleşimi bulunmaz. Son zamanlarda uygulanan elektron mikroskopik tekniklerle filamentlerin düz kas hücresindeki fiziksel organizasyonu hakkında bilgi edinilmeye başlanmıştır (184). Düz kaslarda, çok sayıda aktin filamentleri, bazıları hücre membranına tutunmuş olan, bazıları da hücre içinde dağınık olarak bulunan 'yoğun cisimlere' (*dense bodies*) tutunmuş olarak bulunurlar. Sitoplazma içinde dağınık olarak bulunan yoğun cisimler, yapısal proteinler ağı ile yerlerinde tutulur ve birbirlerine bağlanırlar. Komşu hücrelerin bazı membran yoğun cisimleri de hücreler arası protein köprüleri ile birbirlerine bağlıdırlar. Bu bağlar sayesinde hücrelerin kasılma güçleri birbirlerine eklenmektedir. Düz kasın yoğun cisimleri iskelet kasının Z diskleri ile aynı işi yaparlar (183).

Düz kas hücresinde az sayıda miyozin filamentleri olmasına karşılık, dağınık olarak bulunan ve miyozin filamentlerinin sayıca 5-10 katı kadar aktin filamentleri vardır. Yoğun cisimlerden çok sayıda aktin filamentleri uzanır. Birbirine yakın yoğun cisimlere bağlanmış aktin filamentleri demetinden oluşan düz kasa özel füziform miyofibrillerin ortasında kalın miyozin filamentleri bulunur (184).

Düz kaslarda miyozin filamentlerinin çoğu 'yan kutup' denen çapraz köprülere sahiptir. Bu köprüler ne tarafa doğru kasılırsa kas o tarafa doğru bir kısalma gösterir böylece miyozin, aktini farklı uçlarda farklı taraflara doğru çekebilir. Düz kasın kasılmasında kasın boyu % 80'e kadar kısalabilir (183).

Düz kaslarda çapraz köprü döngüsünün hızını ve aynı kasılma gerimini devam ettirmek için gerekli olan enerji, iskelet kasındaki 1/10-1/300'ü kadardır (183). İskelet kaslarında kasın hızla kasılması sırasında hücrede doğan enerji ihtiyacını karşılamak amacı ile çok sayıda mitokondri bulunurken, düz kaslardaki mitokondri sayısı iskelet kaslarındaki kadar yüksek değildir (184). Düz kaslarda döngü süresinden bağımsız olarak her döngü için sadece 1 ATP molekülü kullanılır. Döngü hızı yavaş olduğu için çapraz köprülerin aktin filamentine bağlı kalma süresi düz kaslarda çok daha uzundur (183).

Çeşitli düz kaslarda kasılma süreleri 0.2 - 30 saniye arasında değişir. Ancak tipik bir düz kasın toplam kasılma süresi 1 - 3 saniyedir. Kasılma, uyarıdan 50 - 100 milisaniye sonra başlar, yarım saniyede tam kasılmaya ulaşılır ve devam eden 1 - 2 saniyede kasılma gücü azalır. Düz kas bu yönden de iskelet kasından çok farklıdır çünkü bu süre iskelet kasının tek bir kasılmasının yaklaşık 30 katı kadardır. Kasılmadaki bu yavaşlığın nedeni düz kasta Ca^{2+} iyonlarına karşı oluşan yanıtın iskelet kasına göre geç oluşmasıdır (183).

İskelet kaslarında kasılma gücü 3 - 4 kg/cm^2 iken, düz kaslarda maksimum kasılma gücü 4 - 6 kg/cm^2 'dir. İskelet kasından da büyük olan bu kasılma gücünün, düz kasta filamentlerin birbirlerine tutunma sürelerinin daha uzun olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (183).

Serbest Ca^{2+} iyonu iskelet kaslarında olduğu gibi, düz kaslarda da kasılmada son derece önemli rol oynar. İskelet kasında iyi gelişmiş bir sarkoplazmik retikulum ve sarkotübül şebekesi vardır. T tübüllerinin depolarizasyonu sonucu, sarkoplazmik retikulundan filamentler üzerine Ca^{2+} boşalması olur. Bu nedenle iskelet kası düz kasa oranla daha büyük bir hızla kasılır ve deneysel koşullarda kalsiyumsuz ortam kasın kasılmasını etkilemez. Oysa düz kasta az gelişmiş bir sarkoplazmik retikulum vardır ve Ca^{2+} hücre dışı ortamdandır (180, 184).

Ca^{2+} -kalmödin kompleksi düz kaslarda miyozin hafif zincir kinaz (MHZK) enzimini aktive ederek kasılmayı başlatır. Bu mekanizma iskelet kasında kasılmanın tetiklenmesinde düz kastaki gibi önemli değildir (184).

1.5.3.2. Düz kasların kontraktıl elemanları

Aktin filamentleri, yaklaşık 7 nm kalınlığında ve 1µm uzunluğundadırlar. Aktin proteininin molekül ağırlığı 43.000'dir (180). Miyozin filamentlerinin etrafında, 10-20 filamentlik demetler halinde bulunurlar (181).

Aktin filamentinin yapı taşı iki iplik taşıyan F-aktin protein molekülüdür. F-aktinin heliks yapısını meydana getiren ipliklerin herbiri, molekül ağırlığı 42.000 olan polimerize G-aktin molekülünden yapılmıştır. Her 70 nm'lik mesafede 360°'lik bir tam burulma olur ve bu kısımda yaklaşık 13 tane polimerize G-aktin molekülü bulunur. Her bir G-aktin molekülüne bir ADP molekülü bağlanmıştır. Bu ADP moleküllerinin, kas kasılmasını oluşturmak üzere miyozin filamentlerinin çapraz köprüleri ile etkileşen aktin filamentinin aktif noktaları olduğu düşünülmektedir. Aktif noktalar arasındaki mesafe 2.7 nm kadardır (183).

Molekül ağırlığı 460.000 olan miyozin proteinlerinin 200 tanesi veya daha fazlası biraraya gelerek, miyozin filamentlerini oluştururlar (180). Her bir miyozin filamentinin boyu 1.6 µm'dir (183).

Kaslarda kalın filamentleri oluşturan miyozin, iki globüler baş kısmı ile uzun bir kuyruk kısmına sahip olan miyozin II'dir. Miyozin II, molekül ağırlıkları 200.000 olan 2 tane ağır ve molekül ağırlıkları 20.000 olan 4 tane hafif olmak üzere toplam 6 polipeptid zincirden oluşur (180).

İki ağır zincir birbirlerinin etrafına spiral olarak sarılıp bir çift sarmal oluşturarak miyozin molekülünün kuyruğunu meydana getirirler. Bu zincirlerin bir uçları kıvrılarak her biri bir miyozin başına ulaşır. Hafif zincirler de ikişer ikişer olmak üzere miyozin başlarına ulaşırlar ve kasılma sırasında başın fonksiyonunu kontrol etmeye yardımcı olurlar. Globüler peptid yapısına olan baş kısmı, hafif zincirlerin ve ağır zincirlerin N terminal parçalarının birleşmesi ile oluşur (180, 183).

Miyozin başlarını, filamentin gövdesinden ayıran yapılara kol (boyun) denir. Miyozin başları ile gövdeden uzanan bu kollar çapraz köprüleri (*cross bridges*) oluştururlar. Filamentin orta kısmında sadece kuyruklar vardır, çapraz köprü bulunmaz (183).

Çapraz köprüler biri kol ile kafa arasında, diğeri de kolun filamentin gövdesine girdiği yerde olan iki menteşe (*hinge*) noktasında esnektirler yani ileri geri bükülebilirler. Filament boyunca ardışık iki çapraz köprü arasında 120°'lik açı vardır ve bu sayede çapraz köprüler filamentin etrafında her yönde uzanabilirler (183). Miyozin aktive olduğunda kollar ve başlar, menteşeler etrafında gerekli şekilde hareket ederek aktin filamentini hareket ettirirler (184).

Miyozinin globüler baş kısmının aktin bağlama fonksiyonuna ek olarak aktine bağlı ATPaz aktivitesi de vardır. ATP'yi hidrolize eden katalitik kısım, aktin ile etkileşme başladığında ATP molekülünü ADP molekülüne hidroliz eder. Yüksek enerjili fosfat bağının kırılması ile açığa çıkan enerji, aktinin ve çapraz köprülerin mekanik hareketleri için gerekli enerjiyi sağlar (183, 184)

1.5.3.3. Aktin ve miyozin filamentlerinin etkileşmesi

Miyozin hafif zincir kinaz'ın fosforilasyonu sonucu miyozin başlarının çapraz köprüleri ile aktinlerin aktif noktaları arasındaki etkileşme başlar. Miyozin kafaları, kolun menteşelerden bükülmesi ile arka arkaya sıralanmış olan aktif noktalar üzerinde hareket ederek miyozin filamentinin merkezine doğru ilerlerler. Kafa kola doğru büküldüğünde, aktin üzerinde bağlı olduğu aktif noktayı iki aktif nokta arasındaki mesafe olan 2.7 nm kadar hareket ettirir ki bu olaya 'güç darbesi' (*power stroke*) denir. Daha sonra bükülmüş olan miyozin kafası bağlandığı aktif noktadan ayrılır ve geriye doğru bir sonraki aktif noktaya bağlanır. Döngü bu şekilde sürerken miyozin merkezinin iki tarafında bulunan aktin molekülleri birbirlerine doğru yaklaşır ve kasılma oluşur. Kasılma gücü, birim zamanda aktinin aktif noktalarıyla bağlanan çapraz köprü sayısı (*cycling hızı*) ile orantılıdır (184).

1.5.3.4. Düz kasın kasılmasında Ca^{2+} iyonunun kaynağı ve rolü

Düz kas kasılmasını aktive eden Ca^{2+} iyonlarının ekstraselüler ve intraselüler olmak üzere iki kaynağı vardır. Düz kasların kasılmaları hücre dışı Ca^{2+} iyonu konsantrasyonuna bağlıdır. Ekstraselüler ortamın Ca^{2+} iyonu konsantrasyonu düşük bir düzeye indiğinde genellikle düz kas kasılması tamamen durur. Özellikle böyle bir ortamda, düz kas hücrelerinin sarkoplazmik retikulumu kalsiyumunu tükettiğinde bu durum gözlenir (183).

Dinlenim durumunda, Ca^{2+} iyonlarının sitoplazma konsantrasyonları 10^{-7} M iken ekstraselüler ortam konsantrasyonları 10^{-3} M' dir. Bir başka deyişle iç ve dış ortam arasında onbin kat fark bulunmaktadır. Ca^{2+} iyonları çok daha yüksek konsantrasyonda buldukları ekstraselüler ortamdaki voltaja ya da reseptörlere bağlı çalışan kanallar ile hücre içine alınırlar. Düz kas hücreleri küçük olduğu için Ca^{2+} iyonları düz kasın her tarafına difüze olarak kasılma meydana getirebilirler. Difüzyon için 200-300 milisaniye gerekir ki kasılma başlamadan önceki bu zamana '*latent dönem*' denir (183). Bu yollardan biri ile hücre içine giren Ca^{2+} iyonları, kasılma mekanizmasını etkilemesinin yanında sarkoplazmik retikulum ve diğer depolardan da Ca^{2+} salıverilmesini sağlar (184).

Farmakomekanik kenetlenmelerde önemli rolü olan inozitol 1, 4, 5-trifosfat'ın (IP_3), hem ekstraselüler ortamdaki içeriye Ca^{2+} girişini, hem de hücre içi depolardan Ca^{2+} salıverilmesini artırdığı düşünülmektedir (184).

Düz kas hücreleri genellikle az gelişmiş bir endoplazmik retikuluma sahiptirler. Sadece bazı düz kaslarda, iskelet kaslarındaki ile kıyaslanabilecek kadar belirgin olmasa da sarkoplazmik retikulum biraz gelişmiştir. Bu düz kaslarda hücre membranı *kaveol (caveoli)* denilen, iskelet kaslarındaki transvers tübül sisteminin gelişmemiş bir eşdeğeri olan *çukurcuk* 'lar içerirler. *Kaveol* 'ler sarkoplazmik retikulumların membranı ile temas halinde bulunurlar (183). Böyle düz kaslar daha hızlı kasılırlar çünkü çukurcuklarda yayılan bir aksiyon potansiyeli, sarkoplazmik retikulundan Ca^{2+} salıverilmesini sağlar. Düz kas hücrelerinde sarkoplazmik retikulum ne kadar gelişmişse kasılma o kadar güçlü olur. Çünkü hücre membranından içeri Ca^{2+} girişi, Ca^{2+} iyonunun sarkoplazmik retikulundan salıverilmesinden çok daha yavaştır (183).

Düz kas hücrelerinde Ca^{2+} depolayan bir başka yapı da '*kalsiyozom*' adlı veziküllerdir. Bu yapılarda da sarkoplazmik retikuluma olduğu gibi inozitol trifosfat (IP_3) reseptörleri vardır ve bu reseptörler IP_3 tarafından aktive edildiklerinde Ca^{2+} salıverilir (184). Ayrıca sarkoplazmik retikuluma bulunan IP_4 reseptörlerinin aktivasyonu ile açılan Ca^{2+} kanallarından, kalsiyozomlara Ca^{2+}

transferi yapıldığı ileri sürülmüştür. IP₃ ve özellikle IP₄ reseptörlerinin hücre zarındaki yavaş Ca²⁺ kanallarını açarak oluşturduğu içe yönelik Ca²⁺ akımının, sarkoplazmik retikulumda replasyon oluşturduğu gözlenmiştir (184).

Hücre içine giren Ca²⁺ kasılmayı oluşturduktan sonra intraselüler sıvıdan kalsiyum pompaları ile uzaklaştırılır. Bu pompalar Ca²⁺ iyonlarını ekstraselüler sıvıya ve sarkoplazmik retikuluma pompalarlar. Ayrıca, kalmodülün ve mitokondriler de hücre içi Ca²⁺ düzeyini kontrol etmekte görev alırlar. Kalmodulin, hücre membranında aktif Ca²⁺ taşınmasında görevli olan Ca²⁺-ATPaz' ı kontrol eder. Mitokondriler ise sitoplazmik Ca²⁺ iyonunun çok yükseldiği patolojik durumlarda, çok yüksek kapasiteli reversibl Ca²⁺ deposu görevi yaparlar (184).

Intraselüler Ca²⁺ iyonunun artması düz kasta kasılmayı başlatır. Düz kas hücresinin sinirsel veya hormonal yollarla uyarılması, gerilmesi ya da kimyasal çevredeki değişiklikler sonucu hücre içi ortamda Ca²⁺ iyonu artar (183).

Düz kaslarda kasılmayı düzenleyici protein *kalmodulin*'dir. Bu protein 148 aminoasitten oluşmuştur ve 4 yapraklı yoncaı andıran biçimde kıvrımlar yapmıştır. Kalmodulin sitoplazmada bol miktarda bulunur. Ortamdaki Ca²⁺ konsantrasyonu Ca²⁺ iyonunun kalmoduline bağlanmasını belirler (185). Hücre içine Ca²⁺ girince ve Ca²⁺ yoğunluğu belirli bir eşik değerin üzerine çıkınca, kalmodulin 4 adet Ca²⁺ bağlar (185). Ca²⁺-kalmodulin ikili kompleksi MHZK enzimine bağlanarak üçlü bir kompleks oluşturur böylece enzim aktive olur. Aktive olan enzim (MHZK), miyozin başının düzenleyici hafif zincirlerinden birini fosforile eder. Miyozin hafif zincirindeki serin-19'un fosforillenmesi, miyozin Mg-ATPaz aktivitesini başlatır (181). Mg-ATPaz düz kasta kasılma için gerekli olan enerjiyi sağlar (184).

Miyozinin hafif zinciri fosforile olmadığında, miyozin-aktin etkileşme döngüsü oluşmaz. Ancak fosforilasyondan sonra filamentler arasında etkileşim başlar (183).

1.5.3.5. Düz kas gevşemesi, defosforilasyon

Ca²⁺ iyon konsantrasyonu kritik bir değerin altına düştüğünde, düz kas intraselüler sıvısında bulunan başka bir enzim olan miyozin fosfataz miyozinin

düzenleyici hafif zincirinden fosfatı ayırır (183). Böylece miyozin filamentinin kafası ile aktinin aktif noktaları arasındaki etkileşim inhibe olur (184). Ancak, defosforilasyon, gevşemeye neden olur denemez çünkü sitozolik Ca^{2+} konsantrasyonu düştükten sonra bile defosforile olmuş miyozin çapraz köprüleri aktine bağlı kalır, buna 'düz kasın kilitlenmiş köprü olayı' (180) veya mandal (*latch*) mekanizması (183, 184) denir. Bu mekanizma sayesinde, düz kas bir kez tam olarak kasıldığında, fosforilasyon ve çapraz döngü hızının düşmesine rağmen tam kasılma sürdürülebilir. Üstelik, kasılmayı sürdürmek için tüketilen enerji genellikle çok daha azdır böylece düz kaslar az miktarda enerji ile saatlerce tonik kasılmalarını devam ettirebilirler (183).

Düz kaslarda aktin bağlayıcı bazı proteinler de kas kasılmasını düzenlerler. Örneğin, molekül ağırlığı 120-140 kilodalton olan '*kaldesmon*' adlı protein Ca^{2+} yokluğunda aktine bağlanarak aktin-miyozin etkileşimini inhibe eder. Dolayısı ile troponin I' nın iskelet kasında yaptığı işi, kaldesmon düz kasta yapmaktadır (181).

Benzer özellikte diğer bir protein ise '*kalponin*' dir. Kalponin, miyozinin fosforillenmesi ile tetiklenen aktine bağımlı ATPaz aktivitesini, Ca^{2+} iyonlarının varlığında da, yokluğunda da inhibe ederek, aktin ve miyozin arasında köprülerin kurulmasını önler (181).

Kasılma oluştuktan sonra, intraselüler sıvıdaki Ca^{2+} iyonlarının kalsiyum pompaları ile ekstraselüler sıvıya ve sarkoplazmik retikulumu pompalanarak uzaklaştırılması düz kasın gevşemesi açısından büyük önem taşır (183).

Düz kasta gevşeme oluşmasının bir diğer yolu ise kalmodulin'in selektif olarak inhibisyonudur. Bu amaçla sentezlenen maddelerden en önemlileri, W-5 ve W-7 olarak bilinen naftalensülfonamid türevleridir. Bu bileşikler Ca^{2+} -kalmodulin oluşumunu inhibe ederek düz kaslarda gevşemeye neden olurlar (182). Ayrıca, papaverin de kısmen Ca^{2+} iyonunun hücre içine alınmasını önleyerek, kısmen de sAMP'yi hidroliz eden fosfodiesteraz enziminin inhibisyonu ile hücre içi sAMP düzeyini yükselterek düz kaslarda gevşemeye neden olur (182).

Düz kas hücrelerinin membranları, kasılma işlemini başlatabilecek ve inhibe edebilecek özellikte reseptör proteinlerine sahiptir. Bu nedenle de düz

kaslar sinir uyarıları, hormonal uyarılar, kasın gerilmesi ve diğer bazı sinyaller aracılığı ile uyarılabilirler (183).

1.5.3.6. Düz kas kasılmasının sinirsel kontrolü

Memelilerde visseral düz kasları innerve eden otonom sinir lifleri, kas hücresi tabakasının üzerinde dallanırlar ve kas hücreleri ile direk temas etmek yerine '*yaygın kavşaklar*' (*diffuse junctions*) oluştururlar. Bu kavşaklar aracılığı ile salınan transmitterler, birkaç nanometre ile birkaç mikrometre arası uzaklıktan düz kasın etrafını saran matrikse ulaşırlar ve buradan da hücreye difüze olurlar. Kas hücresi tabakalarının çok olduğu yerlerde, sinyali dış katmanlardan içeriye, ya aksiyon potansiyelinin iletimi ya da transmitter maddenin difüzyonu taşır (183).

Düz kasları innerve eden nöronların ince terminal aksonları, eksenleri boyunca dağılan pek çok '*varikozitelere*' (genişlemelere) sahiptir. Bu varikozitelerde bulunan veziküller içinde ise nörotransmitterler bulunur (183). Özellikle çok birimli düz kaslarda olmak üzere, varikoziteler 20-30 nm'lik mesafeler ile direk olarak kas hücresi membranının üzerine yayılır. Bunlara '*temas kavşakları*' denir. Böyle düz kas hücrelerinin latent periyotları daha kısadır (183).

Bir çok visseral düz kas dokusunda eksitasyon ve inhibisyon adrenerjik, kolinerjik, non-adrenerjik non-kolinerjik periferik sinirlerin aktivasyonu ile gerçekleşir (181).

Otonom sinir sistemi tarafından kontrol edilen düz kasların çoğunda hem sempatik hem de parasempatik innervasyon vardır ve bu sistemler belirli bir denge içinde birlikte çalışırlar. Ayrıca gastrointestinal kanal duvarında bulunan ve otonom sinir sisteminin üçüncü bölümü olarak kabul edilen enterik sinir sisteminin '*miyenterik ve submukoz pleksus*' larındaki nöron gövdelerinden çıkan aksonlar, barsak düz kas hücrelerini innerve ederler. Yine barsak duvarı, solunum sistemi ve genitoüriner düz kaslar başta olmak üzere bazı düz kaslarda ve otonom efektör dokularda non-adrenerjik non-kolinerjik sinirlerin, ATP, VIP (vazoaktif intestinal peptid), CGRP (kalsitonon geni ile ilişkili peptid), dinorfin, enkefalinler,

gastrin saliverici peptid, serotonin, nöropeptid Y, somatostatin, P maddesi gibi transmitterlerden birini ya da birkaçını salgıladığı bilinmektedir (187).

Otonom sinir sisteminde impulslar, nöron membranında oluşan depolarizasyon dalgası ile akson ucuna kadar iletilirler. Gelen depolarizasyon dalgası veziküllerin içindeki nörotransmitter maddenin sinaptik aralığa saliverilmesine neden olur. Difüzyon ile sinaptik aralığı aşan nörotransmitter, post sinaptik membranında bulunan özgün reseptör molekülüne bağlanarak post sinaptik hücreyi eksite veya inhibe eder. Otonom sinir ile efektör hücre arasındaki sinaps '*nöroefektör kavşak*' olarak, sinaps sonrası membran ise '*postsinaptik membran*' ya da '*kavşak sonrası membran*' olarak adlandırılır (187)

Otonom sinir sisteminin düz kas kasılmasında son derece önemli yeri olan temel nörotransmitterleri, asetilkolin ve noradrenalindir. Asetilkolin, postgangliyonik parasempatik nöronların uçlarından nöroefektör kavşağa salınır ve kavşak sonrası membranında bulunan muskarinik reseptörleri uyarak etkilerini gösterir. 1980 yılından bu güne kadar yapılan genetik klonlama ve radyoligand bağlanma çalışmaları ile muskarinik reseptörlerin M_1 , M_2 , M_3 , M_4 , ve M_5 olmak üzere 5 farklı alt-tipi bulunduğu ortaya konulmuştur. Noradrenalin (norepinefrin) ise postgangliyonik sempatik sinir terminallerinden nöroefektör kavşağa salınır ve kavşak sonrası membranında bulunan α - ve β -adrenoseptörler üzerinden etki gösterir. α adrenerjik reseptörler, α_1 (α_{1A} -, α_{1B} -, α_{1D} -) ve α_2 (α_{2A} -, α_{2B} -, α_{2C} -) alt-tiplerine sahipken, β adrenerjik reseptörler β_1 -, β_2 - ve β_3 - alt-tiplerine sahiptirler (187). Hem muskarinik reseptörler hem de adrenerjik reseptörler G proteinlerine kenetli reseptörler ailesine dahildirler (180).

Nörotransmitterler, birçok hormon ve yardımcı mediyatörler kavşak sonrası membranını aşamayacak ölçüde hidrofilik oldukları için ancak membrana kenetli özgün reseptörler aracılığı ile sinyal ulaşımını sağlayabilirler. Reseptörler uyarıldıklarında gelen sinyallerin hücre içinde yayılmasını sağlayacak olan ikinci habercileri oluşturacak mekanizmaları tetiklerler. Sinyalin bu şekilde hücre dışı ortamdan hücre içi ortama iletilmesine '*sinyal transdüksiyonu*', reseptör ile ikinci haberciyi sağlayacak olan efektör arasındaki basamağı oluşturan proteine de '*transdüsör*' denir. İyon kanalı, guanilil siklaz ve tirozin kinaz gibi reseptörlerde

aynı protein reseptör ve ikinci haberciyi sağlayacak olan efektör görevini üstlenir, ayrıca bir transdüsera gerek kalmaz. Ancak, G proteinlerine bağlı reseptör sistemleri reseptör, transdüser (G proteini) ve efektör (ikinci haberciyi sentezleyecek olan enzim) yapılarının üçünü de içerir (187).

G proteinleri α , β ve γ altünitelerinden oluşan heterotrimerik yapıda bir proteinlerdir ve membranın sitoplazmik yüzünde, reseptöre yakın bir bölgede bulunurlar. G proteinleri, α alt birimine GDP molekülü bağlı olduğunda inaktif haldedirler. Reseptör uyarıldığında GTP molekülü GDP ile yer değiştirir. GTP bağlayan α alt birimi, β ve γ altbirimlerinden ayrılır. α -GTP aktif formdur ve ikinci haberciyi sentezleyecek olan enzimin aktivitesini düzenler. Yine α alt birimi, GTPaz aktivitesi ile GTP'yi GDP'ye dönüştürür. Oluşan α -GDP, β ve γ altbirimlerini bağlayarak tekrar inaktif formuna döner. G proteinlerinin farklı enzimler ve iyon kanalları ile etkileşen çok çeşidi vardır (187).

G proteinlerinin kenetli olduğu başlıca ikinci haberci sistemleri siklik adenozin monofosfat (sAMP), inozitol fosfatlar ve diaçilgliserol (DAG)'dür.

Bilinen en önemli ikinci habercilerden biri olan sAMP'nin varlığı ilk kez Sotherland ve Rall tarafından 1958'de ortaya konulmuştur (185). Transmembran bir protein olan ve hücre zarını 12 kez kesen adenilil siklaz (*adenylate cyclase*) enzimi Mg^{++} iyonu varlığında, ATP molekülünden sAMP sentezini sağlar. Aktivitesi başlıca G_s ve G_i proteinleri tarafından düzenlenmekle birlikte Ca^{2+} -kalmodulin kompleksinin de bu enzimi aktive etme yeteneği vardır. G_s α alt birimi adenilil siklazı aktive ederken, G_i α alt birimi enzimi inhibe eder. Gerek hücre içi Ca^{2+} iyonu konsantrasyonu, gerekse G proteinlerinin aktivitesi, reseptörler tarafından kontrol edildiği için intraselüler sAMP konsantrasyonu da ekstraselüler sinyaller tarafından belirlenir. sAMP hücre içinde görevini tamamladığında yine Mg^{++} iyonu varlığında fosfodiesteraz enzimlerinin katalitik etkisi ile 5'-AMP (5'-adenozin monofosfat)'a hidroliz edilerek etkisi sona erdirilir (180, 185, 187).

sAMP hücre içinde protein kinaz A enzimini aktive ederek bazı spesifik proteinlerin fosforilasyonunu sağlar. Bu proteinler genellikle değişik substratlara sahip enzimler ya da kontraktıl proteinlerdir. Bunların oluşturduğu reaksiyonlar ile sinyal iletimi sürer ve sonuçta hücrenel yanıt doğar.

sAMP'nin bazı Ca^{2+} ve K^+ kanalları ve hatta DNA üzerinde doğrudan ya da dolaylı olarak etkileri vardır (187).

Hücre içinde sAMP konsantrasyonu, sAMP sentezini artıran ve azaltan reseptörlerin agonistleri verilerek ya da kafein, teofilin, papaverin, izobutilmetilksantin gibi fosfodiesteraz enzim inhibitörleri kullanılarak düzenlenebilir (187)

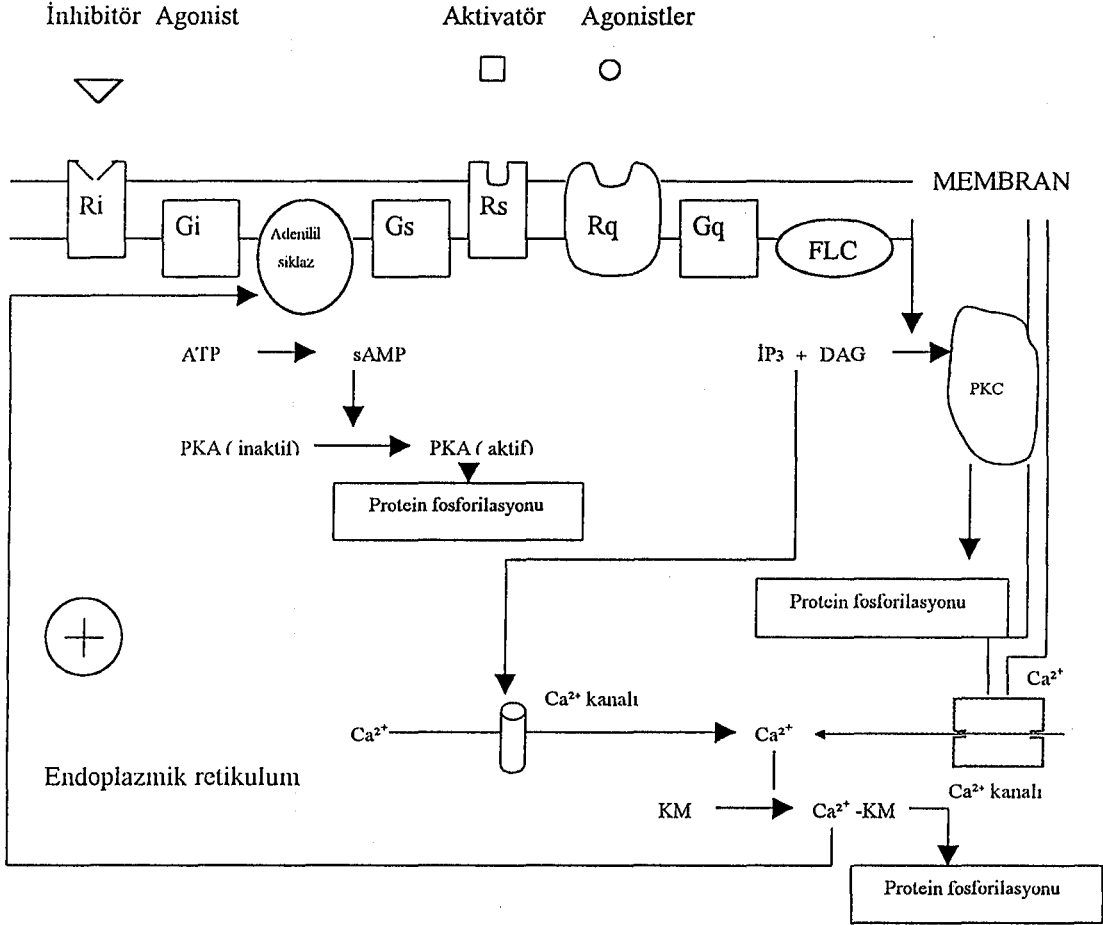
Hücre membranında bulunan fosfatidil inozitol fosfolipidi önce fosfatidil 4-fosfata (PIP) sonra da fosfatidil inozitol 4,5-difosfata (PIP_2) dönüştürülür. PIP_2 ise zarın iç yüzünde bulunan ve aktivitesi G_q ve G_{11} proteinleri ile kontrol edilen fosfolipaz C enzimi tarafından hidroliz edilerek inozitol 1,4,5-trifosfata (IP_3) ve diaçilgliserole (DAG) dönüştürülür.

IP_3 oluştuktan sonra sitoplazma içinde difüze olarak, endoplazmik retikulum üzerindeki reseptörlerine ulaşır ve Ca^{2+} 'un sitoplazma içine salıverilmesini sağlar. IP_3 spesifik bazı fosfatazlar ile önce iki, sonra bir fosfatlı inozitole ve sonra da inozitole dönüşerek yıkılır. İnozitol de diaçilgliserol ile birleşerek tekrar hücre membranına döner ve burada fosfatlanır. Li^+ iyonu, bir fosfatlı inozitolün, inozitole dönüşerek yıkılmasını inhibe ederek fosfolipidlerin tekrar sentezlenmesini önler.

Diaçilgliserol ise hücre zarında kalır ve protein kinaz C' nin 7 alt biriminden birini aktive eder. Aktive olan protein kinaz C spesifik bazı proteinleri fosforile ederek hücrede çoğalma, farklılaşma, büyüme hızı gibi uzun süreli metabolik olaylarda rol alır.

Protein kinaz C, düz kasta Ca^{2+} 'dan bağımsız şekilde kasılma oluşturabildiği gibi damar düz kaslarının hücre membranlarında yavaş Ca^{2+} kanallarını fosforile edip bu hücreleri uyararak Ca^{2+} 'a bağlı kasılmalar da oluşturabilir. Ayrıca protein kinaz C'nin, aktin-miyozin etkileşimini düzenleyen proteinlerden biri olan kaldesmon'u fosforile ettiği gösterilmiştir (184).

Forbol esterleri gibi bazı karsinogen ajanlar, protein kinaz C'yi direk olarak aktive edebildikleri gibi staurosporin, mellitin gibi maddeler de, protein kinaz C'yi inhibe ederler.



Şekil 1.5.3.6. Genel sinyal transdüksiyon mekanizması (187).

Ri, Gi'ye kenetli inhibitör reseptör; PKA, proteinkinaz A; KM, kalmodulin; Rs, Gs'ye kenetli aktivatör reseptör, FLC, fosfolipaz C; DAG, diaçilgliserol, PKC, proteinkinaz C

(+) işareti, Ca²⁺'nın adenilil siklaz aktivitesini düzenlediğini gösterir.

1.5.3.7. Düz kas kasılmasına lokal doku faktörlerinin ve hormonların etkisi

Düz kaslar kendilerini çevreleyen interstisyel sıvıdaki lokal değişikliklere karşı son derece duyarlıdırlar. Örneğin güçlü bir lokal feed-back kontrol sistemi doku alanında bölgesel kan akımını düzenler. Dokuda lokal oksijen eksikliği, aşırı CO₂ birikimi, adenozin, laktik asit, K⁺ iyonu ve H⁺ iyonu konsantrasyonlarının artması, Ca²⁺ iyonu konsantrasyonunun azalmasının yanısıra vücut ısısının azalması gibi faktörler damarlarda lokal vazodilatasyona neden olurlar (183).

Adrenalin, oksitosin, vazopresin gibi hormonların, amin yapılı otokoidler olan histamin ve serotoninin, peptid yapılı otokoidler olan anjiyotensinin, bradikininin, endotelinlerin ve natriüretik peptidin, lipid kökenli otokoidler olan bazı prostaglandinlerin, lökotrienlerin ve tromboksan A₂' nin düz kas kasılması üzerine etkileri vardır.

Düz kas membranında hormonların eksitatör nitelikli reseptörleri, Na⁺ ve Ca²⁺ kanallarını açarlar ve sinir uyarısındaki gibi membranı depolarize ederler. Çoğunlukla aksiyon potansiyeli olmadan depolarizasyon oluşur. Bu depolarizasyon kasılmayı meydana getiren Ca²⁺ iyonu girişi ile birlikte dir.

İnhibitör nitelikli membran reseptörlerinin uyarılması ise, Na⁺ ve Ca²⁺ kanallarını kapatıp bu iyonların hücre içine girişini engelleyerek veya K⁺ kanallarını açıp bu pozitif iyonların hücre dışına çıkmasına neden olarak hiperpolarizasyon yaratır ki bu da kasılmanın inhibe olması demektir.

Hormonlar bazen membran potansiyelini değiştirmeden de kasılma ya da inhibisyon başlatabilirler. Bu durumda hormon, hiçbir iyon kanalı ile ilişkiye girmeden yalnızca reseptör ile etkileşerek ya da doğrudan adenilat siklaz ya da guanilat siklaz enzimleri gibi efektörler ile etkileşerek ikinci haberciler olan sAMP ve sGMP üzerinden etki gösterir (183).

1.5.3.8. Visseral düz kasların gerilme ile uyarılması

Visseral düz kaslar gerildiğinde, yavaş dalga potansiyellerinin etkisi ya da membran potansiyelindeki azalma nedeniyle spontan aksiyon potansiyelleri oluşur. Böylece düz kas aşırı gerilme durumunda otomatik olarak kasılarak gerime karşı direnir. Peristaltik dalgalarla barsak içeriğinin çok dolu bölgeden uzaklaştırılması bu konu ile ilgili iyi bir örnektir (183).

1.5.3.9. Düz kasta membran potansiyelleri ve aksiyon potansiyeli

Çok birimli düz kaslar temel olarak sinir uyarıları ile kasılırlar. Sinaptik kavşağa salıverilen asetilkolin ya da noradrenalin ile düz kas hücre membranında oluşan depolarizasyon ve '*kavşak potansiyeli*' adlı lokal potansiyelin tüm hücresinde yayılması kasılma için yeterli olur. Bu tip düz kaslarda genellikle aksiyon potansiyeli meydana gelmez. Çünkü hücreler aksiyon potansiyeli oluşturamayacak kadar küçüktür (183).

Visseral düz kaslarda membran potansiyelinin sabit bir değeri yoktur, sinirsel innervasyondan bağımsız olarak sürekli ve düzensiz bir membran potansiyelinden söz edilir. Bu potansiyelin kantitatif değeri kas hücreleri arasında değişiklik gösterdiği gibi kasın o andaki durumuna bağlı olarak da değişiklik gösterir. Gerçek bir dinlenme potansiyeline sahip olmasa da dinlenme durumuna yakın bir durumda membran -50 mV ile -60 mV civarında bir potansiyele sahiptir (180).

Visseral düz kaslardaki elektriksel dalgalar, yavaş dalga potansiyelleri ve aksiyon potansiyelleri olmak üzere iki tiptir.

Yavaş dalga potansiyelleri düz kas hücrelerinin lokal bir özelliğidir. Bu potansiyeller kas hücresi membranı boyunca yayılan ve kendini yenileyen bir aksiyon potansiyeli değildirler. Bu dalgalar düz kas hücrelerine Ca^{2+} iyonunun yerine Na^+ iyonunun girişine neden olurlar (183).

Dinlenme membran potansiyelindeki yavaş ve ritmik değişiklikler olan yavaş dalgaların şiddetleri 5-15 mV arasında değişir (183).

Yavaş dalganın mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. İyon kanallarının geçirgenliğinin ritmik olarak azalıp arttığı şeklinde görüşler olsa da mekanizmanın düz kas hücre membranındaki Na^+-K^+ ATPaz adlı sodyum pompasının hızındaki ritmik değişimlere bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu pompa hücre dışına 3 Na^+ iyonu pompalarken, içeriye 2 K^+ iyonu alınır yani pozitif yük kaybı ile hücre hiperpolarize durumda tutulmaya çalışılır. Pompanın aktivitesi arttığında membran potansiyeli daha negatif hale gelirken azaldığında membran potansiyelinin negatifliği azalır. Membran potansiyelindeki bu dalgalanmalar yavaş potansiyelleri oluştururlar (184).

Yavaş dalgaların kendileri kas kasılmasına neden olmazlar ancak potansiyelleri -35 mV'un üzerine çıktığında oluşan aksiyon potansiyeli kas kitlesine yayılır ve düz kas kitlesinde bir seri ritmik kasılma meydana gelir. Dışarıdan bir uyarı olmaksızın düz kasın kendi içerisinde aksiyon potansiyeli oluşturarak kendi kendini uyarmasını sağlayan bu yavaş dalgalara '*pacemaker dalgalar*' da denir.(183)

Aksiyon potansiyelleri düz kaslarda 30-40 düz kas hücrelerinin aynı anda depolarize olması ile doğar. Bu potansiyellerinin oluşmasından sorumlu olan başlıca olay Ca^{2+} iyonlarının hücre içindeki akımıdır. Düz kas hücre zarı iskelet kasına oranla çok daha fazla miktarda voltaj kapılı Ca^{2+} kanalına sahipken, voltaj kapılı Na^+ kanallarının sayısı daha azdır. Ca^{2+} kanalları, Na^+ kanallarına göre daha yavaş açılıp daha uzun süre açık kaldığı için düz kaslarda yavaş aksiyon potansiyelleri oluşur (183). Düz kas hücreindeki depolarizasyonun Ca^{2+} 'a bağımlılığı nedeniyle tetrodotoksin gibi selektif sodyum kanal blokörleri düz kas depolarizasyonunu önleyemez (184).

Visseral düz kasların aksiyon potansiyelleri, sivri potansiyeller ve platolu aksiyon potansiyelleri olmak üzere iki tiptir.

Sivri (dikensi) potansiyeller, sinir liflerinin transmitter maddeleri, elektrik uyarısı, hormon etkisi, germe veya kas hücreinin spontan üretimi gibi yollarla oluşabilen membran potansiyeli -40 mV' dan daha pozitif olduğunda meydana gelen ve 10-50 milisaniye süren aksiyon potansiyelleridir.

Platolu aksiyon potansiyelleri, başlangıçları tipik sivri aksiyon potansiyelleri ile aynı olan ancak repolarizasyonları geciken (birkaç yüz milisaniye-1sn) aksiyon potansiyelleridirler. Üreter düz kası, bazı damar düz kasları ve bazen de uterus düz kası gibi düz kas hücrelerinde oluşan uzun süreli kasılmalardan sorumludurlar (183).

In vitro ortamda düz kas kasılmasında ise izole edilen bir barsak preparatına asetilkolin verildiğinde muskarinik reseptörler aracılığı ile fosfolipaz C'nin ve IP_3 'ün aktivite edilmesi sonucu hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonu artar, kasın ritmik kasılmaları aktifleşir, membran potansiyeli azalır, dikensi çıkıntılarının frekansı artar. Kolinerjik sinirlerin *in vivo* uyarılması da kavşak sonrası

membranında eksitator potansiyeller oluşturun kas kasilmasını artırır. Benzer etkiler *in vivo* soğuk uygulanması ve kasın gerilmesi ile de gözlenir (180).

Diğer yandan izole edilen bir barsak preparatına noradrenalin verildiğinde ise asetilkolin ile oluşan etkilerin tersine membran potansiyelinin arttığı, dikensi çıkıntılarının frekansının azaldığı ve kasın gevşediği görülür. Noradrenerjik sinirlerin *in vivo* uyarılması ise kaşak sonrası membranında inhibitör potansiyeller oluşturun kasın kasilmasını inhibe eder. Noradrenalin β adrenerjik resptörlerini aktive ettiğinde sAMP konsantrasyonundaki değişiklik ve hücre içi Ca^{2+} un daha fazla bağlanarak ortamdaki uzaklaştırılması ile, α adrenerjik resptörlerini aktive ettiğinde ise kas hücresinden Ca^{2+} çıkışının artırılması ile inhibitör etkisini gösterir(180).

Düz kas kasılma mekanizması içerisinde kullanılacak bir ilacın ya da etkisi deneysel olarak incelenecek maddenin etkileşmesi olası olan yöreler; nörotransmitterlerin özgün reseptörleri, reseptörlerle kenetli bulunan ve ikinci habercileri sentezleyen enzimler yani efektörler, hücre içinde ikinci habercileri yıkan enzimler, Ca^{2+} iyonlarının hücre içi konsantrasyonunu düzenleyici mekanizmalar ve kalmodulin gibi kalsiyum ile beraber çalışan proteinler olarak sıralanabilir. Düz kas gevşemesini sağlayan spesifik etkili ilaçların geliştirilmesinde bu etki yörelerini hedef almak esastır (182).

Çeşitli maddelerin düz kas kasılması üzerindeki eksitator ve inhibitör etkilerinden yola çıkılarak maddelerin etki mekanizmaları hakkında bilgi edinmek mümkün olabileceği gibi reseptör ve bu reseptörlerin dağılımları hakkında da inceleme yapma olanakları doğmaktadır.

Boya, mürekkep, banyo tuzu, deterjanlar ve kozmetiklerin kullanımının yanında, doksaminol ve mefenesin gibi ilaçların vücutta metabolize olması ile de maruz kalınabilen fenoksiasetik asid'in 2-, 3- ve 4-metil'li türevleri hakkında hemen hemen hiç farmakolojik çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma, metil-fenoksiasetik asid maddesinin üç ayrı izomerinin farmakolojik etkilerini ve sübstitüsyon farklılığının aktivite üzerine etkisini araştırmak, ayrıca Türkiye florası da dahil olmak üzere bazı bitkilerde bulunan karvakrol asetat adlı maddenin gastrointestinal düz kaslar üzerindeki aktivitelerini incelenmek üzere yapılmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Deney hayvanları

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

2.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar

2.1.2.1. Kimyasal maddeler

CaCl ₂	(Merck)
Glukoz	(Merck)
KCl	(Merck)
KH ₂ PO ₄	(Merck)
MgSO ₄ .7H ₂ O	(Merck)
NaCl	(Merck)
NaHCO ₃	(Merck)
NaH ₂ PO ₄	(Merck)
Asetilkolin.HCl	(Merck)
Atropin sülfat	(Merck)
Fenilefrin	(Merck)
DMSO	(Merck)
2-Metilfenoksiasetik asid	(*)
3-Metilfenoksiasetik asid	(*)
4-Metilfenoksiasetik asid	(*)
Karvakrol asetat	(*)

(*) Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı tarafından sentezlenmiştir.

2.1.2.2. Kullanılan cihaz ve malzemeler

Hassas terazi	(Mettler)
İzole organ banyosu	(Ugo-Basile, Italy, cat. 4050)
İzotonik transdusır	(Ugo-Basile, Italy, cat. 7006)
İzometrik transdusır	(Ugo-Basile, Italy, cat. 7003)
Recorder Gemini	(Ugo-Basile, Italy, cat. 7070)
Enjektörler	(1, 5, 10 ml, Hayat A.Ş., (Türkiye)
Mikropipet	(Eppendorf, Alm.)
Cerrahi malzemeler	

2.2. Yöntem

2.2.1. İzole organ banyosu deneyleri

Dişi ve erkek albino sıçanlar servikal dislokasyon ile öldürüldükten sonra aorta, duodenum, vas deferens, mesane detrusor kasi, mide fundus ve ileum izole edilerek Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonu (mmol/L cinsinden: 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 (188).

Deney hayvanlarından alınan organlar, çevrelerindeki yağ ve bağ dokularından temizlendikten sonra, sıcaklığı 37 °C olan, izole organ banyosuna, duodenum, ileum, aorta ve mesane preparatları 1 g, mide fundus preparatları 1,5 g ve vas deferens preparatları 0,5 g gerim uygulanarak asılmıştır. İzole organ banyolarına asılan dokular, çalışma boyunca, %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılmıştır. Duodenum, ileum, mesane, mide fundus ve vas deferens cevapları izotonik; aorta cevapları ise izometrik transdüsör aracılığı ile rekorderlar tarafından kaydedilmiştir.

Organlar 15 dakikada bir fizyolojik solüsyon ile yıkanarak bir saat süreyle inkübe edildikten sonra doz çalışmasına başlanmıştır. Çalışma süresince, her doz-cevap alımında sonra, organ fizyolojik solüsyon ile yıkanarak en az 15 dakika inkübe edilmiştir.

2.2.2. 2-, 3, ve 4-Metilfenoksiasetik asid maddeleri ile yapılan deneyler

2.2.2.1. İzole mide fundus deneyleri

Mide fundus çalışmalarını için klasik yöntemlerle hazırlanan preparatlar kullanılmıştır (189). Organ, 20 ml'lik banyoya, 1,5 g gerim uygulanarak asılmış ve cevaplar izotonik transdüsör aracılığı ile rekorder tarafından kaydedilmiştir.

Organ daha önce belirtildiği şekilde, bir saat süreyle inkübe edildikten sonra, asetilkolin (ACh)'e karşı doz-cevapları alınmıştır. Daha sonra, 2-, 3- ve 4-metil fenoksiasetik asid maddelerinin herbirinin 10⁻⁶, 10⁻⁵ ve 10⁻⁴ M dozlarının varlığında ACh'e karşı doz-cevaplar alınmıştır. Aynı işlemler, standart kastırıcı olarak KCl kullanılması ile tekrarlanmıştır.

2.2.2.2. İzole duodenum deneyleri

İzole duodenum deneyleri için pilor sfinkterinden sonra gelen duodenumun inici kısmından alınan segmentler kullanılmıştır. Organ 20 ml'lik banyoya, 1 g gerim uygulanarak asılmış ve cevaplar izotonik transdusır aracılığı ile rekorder tarafından kaydedilmiştir.

Her 15 dakikada bir Krebs-Henseleit fizyolojik solüsyonu ile yıkanarak bir saat süreyle inkübe edilen ve her doz-cevap alımından sonra, fizyolojik solüsyon ile yıkanarak en az 15 dakika inkübasyona bırakılan organın, standart agonistlere karşı (ACh ve KCl) ayrı ayrı doz-cevapları alınmıştır. Bu işlemden sonra 2-metilfenoksiasetik asid, 3-metilfenoksiasetik asid ve 4-metilfenoksiasetik asid maddelerinin herbirinin sırası ile 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozlarının, ACh kasılmalarına karşı doz-cevapları alınmıştır. Aynı işlemler, standart kastırıcı olarak KCl kullanılması ile tekrarlanmıştır.

2.2.2.3. İzole ileum deneyleri

İzole ileum deneyleri için valva iliocaecalis'den 10-20 cm uzaklıktan 2 cm'lik segmentler alınmıştır. Organ 20 ml'lik banyoya 1g gerim uygulanarak asılmış ve cevaplar izotonik transdusır aracılığı ile rekorder tarafından kaydedilmiştir.

2-metilfenoksiasetik asid, 3-metilfenoksiasetik asid ve 4-metilfenoksiasetik asid maddelerinin herbirinin 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarda sudaki çözeltileri hazırlanmıştır. Standart kastırıcı (ACh ve KCl) ile alınan doz-cevaptan sonra organ, test maddesinin uygulanan dozuna 5 dakika süreyle maruz bırakılarak ACh ile doz-cevabı alınmıştır. Üç farklı maddenin, üç farklı dozu ile cevaplar alınmıştır. Aynı işlemler, standart kastırıcı olarak KCl kullanılması ile tekrarlanmıştır.

2.2.2.4. İzole mesane deneyleri

İzole mesane çalışmaları için klasik yöntemlerle hazırlanan preparatlar kullanılmıştır (190, 191). Organ 20 ml'lik banyoya 1 g gerim uygulanarak asılmış ve cevaplar izotonik transdusır aracılığı ile rekorder tarafından kaydedilmiştir.

Organ bir saat süreyle inkübe edildikten sonra, ACh'e karşı doz-cevaplar alınmıştır. Daha sonra 2-, 3- ve 4-metilfenoksiasetik asid maddelerinin herbirinin 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozlarının varlığında ACh'e karşı doz-cevaplar alınmıştır. Aynı işlemler standart kastırıcı olarak KCl kullanılarak tekrarlanmıştır.

2.2.2.5. İzole vas deferens deneyleri

Erkek sıçanlardan vas deferensin bütünü alınarak hazırlanan preparatlar 20 ml' lik banyoya, 0,5 g gerim uygulanarak asılmış ve cevaplar, izotonik transdusör aracılığı ile rekorder tarafından kaydedilmiştir.

Organ, bir saat süreyle inkübe edildikten sonra fenilefrin' e karşı doz-cevapları alınmıştır. Daha sonra 2-, 3- ve 4-metilfenoksiasetik asid maddelerinin herbirinin 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozlarının varlığında fenilefrine karşı doz-cevaplar alınmıştır. Aynı işlemler standart kastırıcı olarak KCl kullanılması ile tekrarlanmıştır.

2.2.2.6. İzole aorta deneyleri

Aorta preparatları, deney hayvanı öldürülür öldürülmez zaman kaybetmeksizin göğüs kafesleri açılarak aorta thoracica, diafragmatik uçtan başlanarak arcus aortaya doğru dikkatle kesilip çıkartılmıştır. 3-5 mm uzunluğunda alınan preparat hassas bir şekilde sürterek endotelinden temizlenmiştir. 20 ml'lik banyoya 1 g gerim uygulanarak asılmış ve cevaplar izometrik transdusör aracılığı ile rekorder tarafından kaydedilmiştir.

10^{-6} M fenilefrin (FE) ile kastırılan (prekontrakte edilen) aorta preparatına, test maddeleri olan 2-metilfenoksiasetik asid, 3-metilfenoksiasetik asid ve 4-metilfenoksiasetik asid'in 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozları uygulanmış ve cevaplar kaydedilmiştir.

2.2.3. Karvakrol asetat ile yapılan deneyler

2.2.3.1. İzole mide fundus deneyleri

Karvakrol asetat'ın sudaki çözünürlüğü düşük olduğu için test maddesinin çözücüsü olarak dimetilsulfoksit (DMSO) kullanılmıştır. Bu nedenle standart agonistlere (ACh, KCl) karşı doz-cevaplar alındıktan sonra 20 mL'lik banyo için 0,2 ml DMSO/20 mL banyo varlığında agonistlerin (ACh, KCl)

kasılma cevapları kaydedilmiştir. Daha sonra test maddelerinin 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarının varlığında, kasılma cevapları kaydedilmiştir. Ayrıca karvakrol asetat'ın 10^{-4} M dozunun, 10^{-6} M atropin sülfat varlığında KCl'e karşı kasılma cevabı da kaydedilmiştir.

2.2.3.2. İzole ileum deneyleri

Standart agonistlere (ACh, KCl) karşı kasılma cevapları alındıktan sonra, 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarda hazırlanan test maddelerini denemeye başlamadan önce 0,2 ml DMSO/20 mL banyo varlığında agonistlerin kasılma cevapları kaydedilmiştir. Ayrıca karvakrol asetat'ın tüm dozları denendikten sonra 10^{-6} M atropin sülfat varlığında, 10^{-4} M dozunun KCl'e karşı cevabı da alınmıştır.

2.2.4. İstatistiksel hesaplamalar ve verilerin analizi

İstatistiksel hesaplamalar için en az beş hayvandan alınan veriler kullanılmıştır. Bu 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 analizinden sonra, Tukey HSD çoklu karşılaştırma yöntemi uygulanmış ve $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Grafikler SigmaPlot^(R) paket programı ile çizilmiştir ve grafiklerde yer alan her bir değer, ortalama \pm ortalamanın standart hatası (\pm s.e. mean) olarak belirtilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. 2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik Asid ile Yapılan Deneylein Sonuçları

3.1.1. İzole mide fundus deneyleinin sonuçları

İzole sıçan mide fundus preparatı ile yapılan çalışmalarda ACh kasılmalarına karşı sadece 2-metilfenoksiasetik asid' in inhibitör etkili olduğu, 3-metil- ve 4-metilfenoksiasetik asid' in etkili olmadığı görülmüştür (şekil 3.1 - 3.3)

2-Metilfenoksiasetik asid' in 10^{-4} M konsantrasyonu test edildiğinde, 10^{-4} ve 10^{-3} M ACh kasılmalarına karşı anlamlı bir inhibisyon yaptığı gözlenmiştir. Benzer şekilde, 2-metilfenoksiasetik asid' in teste tabi tutulan 10^{-5} M konsantrasyonunun sadece 10^{-3} M ACh kasılmalarına karşı anlamlı bir inhibisyon yaptığı görülmüştür. Test maddesinin 10^{-6} M konsantrasyonda herhangi bir anlamlı etkiye yol açmadığı bulunmuştur (şekil 3.1)

Her üç test maddesinin de, fundusta KCl yanıtları üzerine, istatistiksel olarak anlamlı etkisi görülmemiştir (şekil 3.4 - 3.6).

3.1.2. İzole duodenum deneyleinin sonuçları

2-, 3 ve 4-metilfenoksiasetik asid maddelerinin, test edilen 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M dozlarının hiçbirisinin izole sıçan duodenum preparatında, ACh yanıtları üzerinde etkisi olmadığı gözlenmiştir (şekil 3.7 - 3.9)

Diğer yandan KCl ile oluşturulan kasılmalar üzerinde 2-metil ve 3-metilfenoksiasetik asidin eksitator etkili olduğu fakat 4-metilfenoksiasetik asidin etkisiz olduğu görülmüştür (şekil 3.10 - 3.12).

Hem 2-metilfenoksiasetik asidin hem de 3-metilfenoksiasetik asidin 10^{-5} ve 10^{-4} M dozlarında 32 mM KCl ile oluşturan kasılmalar üzerinde eksitator bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (şekil 3.10 - 3.11).

2-Metil ve 3-metilfenoksiasetik asid' in KCl ile oluşturulan kasılmalar üzerindeki eksitasyonunun atropin sülfat varlığında değişmediği, dolayısıyla etkide kolinerjik mekanizmaların rol oynamadığı anlaşılmıştır (şekil 3.13 - 3.14).

3.1.3. İzole ileum deneylerinin sonuçları

İzole sıçan ileumu üzerinde yapılan çalışmalarında, 2-, 3- ve 4-metil fenoksiasetik asid maddelerinin hiçbirinin test edilen dozlarda (10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M) ne ACh ne de KCl ile oluşturulan kasılmalar üzerinde herhangi bir etkileri olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.15 - 3.20).

3.1.4. İzole mesane deneylerinin sonuçları

İzole sıçan mesane preparatlarında 2-metilfenoksiasetik asid ve 3-metilfenoksiasetik asid, ACh kasılmalarına karşı anlamlı bir eksitasyona neden olmuş fakat 4-metilfenoksiasetik asid türevinin ACh kasılmalarına karşı herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.21 – 3.23).

2-Metilfenoksiasetik asid' in 10^{-4} M dozunun 10^{-4} M ACh ile oluşturulan kasılmayı artırdığı, 3-metilfenoksiasetik asid' in ise 10^{-5} M dozunun benzer şekilde kasılmada artış oluşturduğu görülmüştür (Şekil 3.21 – 3.22).

Bu maddelerin mesanede KCl ile oluşturulan kasılmalar üzerinde herhangi bir etkilerinin bulunmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.24 - 3.26).

3.1.5. İzole vas deferens deneylerinin sonuçları

İzole sıçan vas deferensi üzerinde yapılan çalışmalarında, 2-, 3- ve 4-metilfenoksiasetik asid maddelerinin hiçbirinin test edilen dozlarda (10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M) ne fenilefrin ne de KCl ile oluşturulan kasılmalar üzerinde herhangi bir etkileri gözlenmemiştir (Şekil 3.27 - 3.32).

3.1.6. İzole aorta deneylerinin sonuçları

10^{-6} M fenilefrin ile prekontrakte edilen izole sıçan aortası üzerinde 2-, 3 ve 4-metilfenoksiasetik asid maddelerinin test edilen (10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M) dozlarında, özellikle 10^{-5} M dozunda olmak üzere metil sübstitüentinin konumuna bağlı olarak bir inhibisyon görülmekte, fakat maddelerin 10^{-4} M dozunda bu özellik kaybolmaktadır.

Test edilen bu maddelerin 10^{-5} M dozunda prekontrakte aorta üzerindeki kasılmaya etki değerlerine sayısal olarak değerlendirilecek olursa, 2-metil-, 3-metil- ve 4-metilfenoksiasetik asid sırasına göre şöyledir: -3.66 ± 5.57 , -9.88 ± 7.18

-17.5±16.48. Veriler ortalama ± standard sapma olarak verilmiştir. Bu değerlere göre 2-metil'li türev en az, 4 metil'li türev en fazla inhibisyona neden olmuştur (Şekil 3.33).

3.2 Karvakrol asetat ile yapılan deney sonuçları

3.2.1. İzole mide fundus deneylerinin sonuçları

10^{-6} M, 10^{-5} M ve 10^{-4} M dozlarında izole mide fundus üzerine uygulanan karvakrol asetat ne KCl ne de ACh yanıtları üzerine herhangi bir etkide bulunmamıştır (Şekil 3.34 – 3.35 ve Çizelge 3.1).

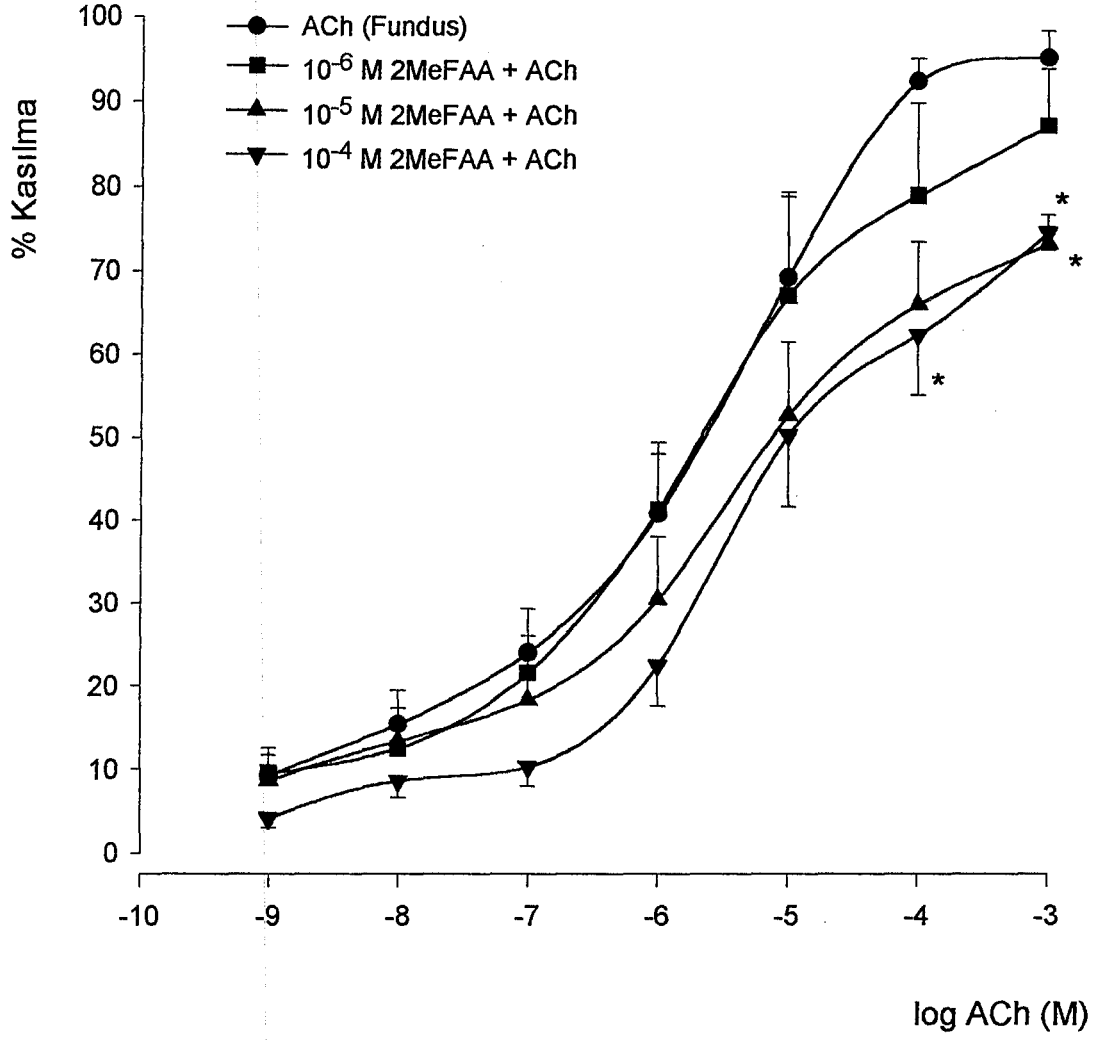
Karvakrol asetat' ın 10^{-4} M dozunda, 10^{-6} M atropin sülfat varlığında, 64 mM KCl ile oluşan kasılmalarda istatistiksel olarak non-kompetitif bir inhibisyona yol açtığı gözlenmiştir (Şekil 3.36 ve Çizelge 3.1).

3.2.2. İzole ileum deney sonuçları

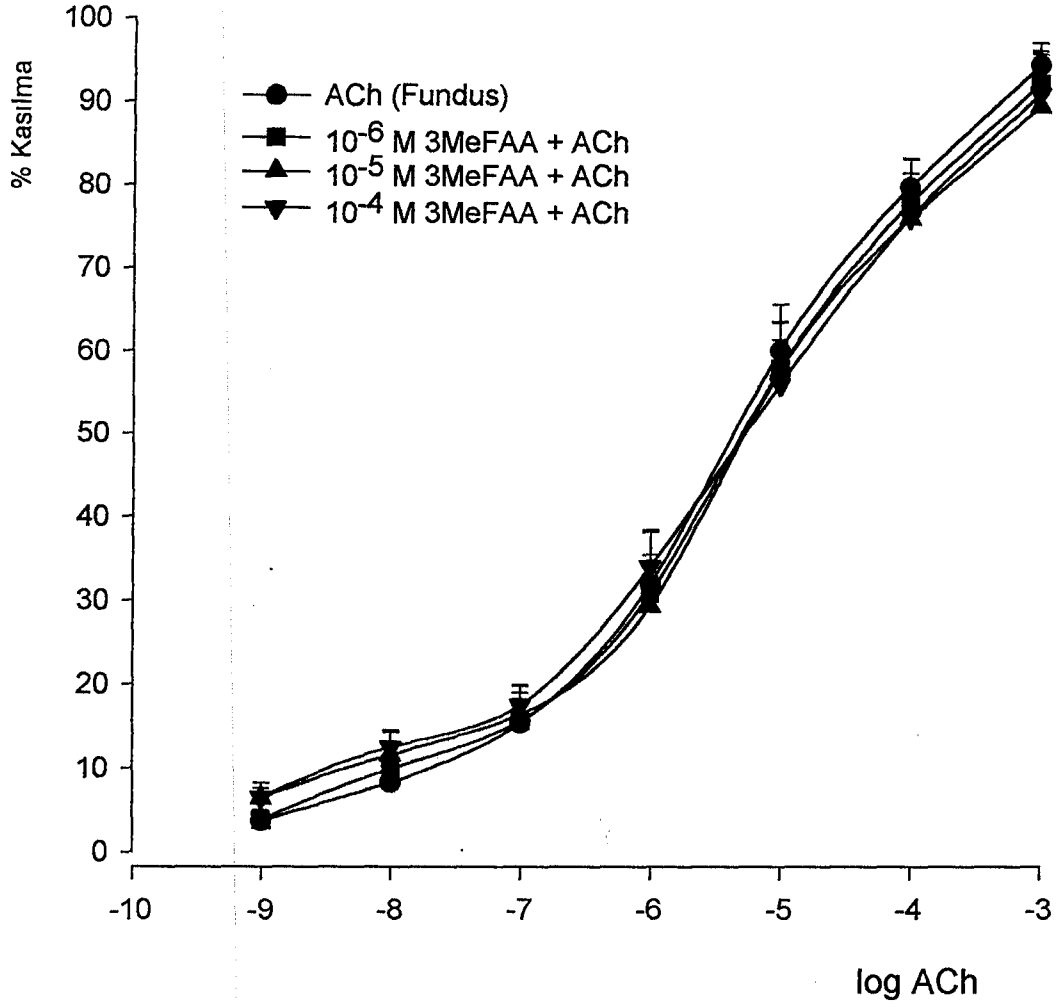
Karvakrol asetat' ın 10^{-4} M dozunda, uygulanan tüm ACh dozları üzerinde güçlü bir non-kompetitif inhibitör etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Karvakrol asetat 10^{-5} ve 10^{-6} M dozlarında anlamlı bir etkide bulunmamıştır (Şekil 3.37 ve Çizelge 3.1).

KCl kullanılarak yapılan çalışmalarda, karvakrol asetat' ın 10^{-5} ve 10^{-6} M dozlarında etkisiz olduğu, 10^{-4} M dozunda ise 32 mM ve 64 mM KCl ile oluşan kasılmalar üzerinde non-kompetitif inhibisyon oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 3.38).

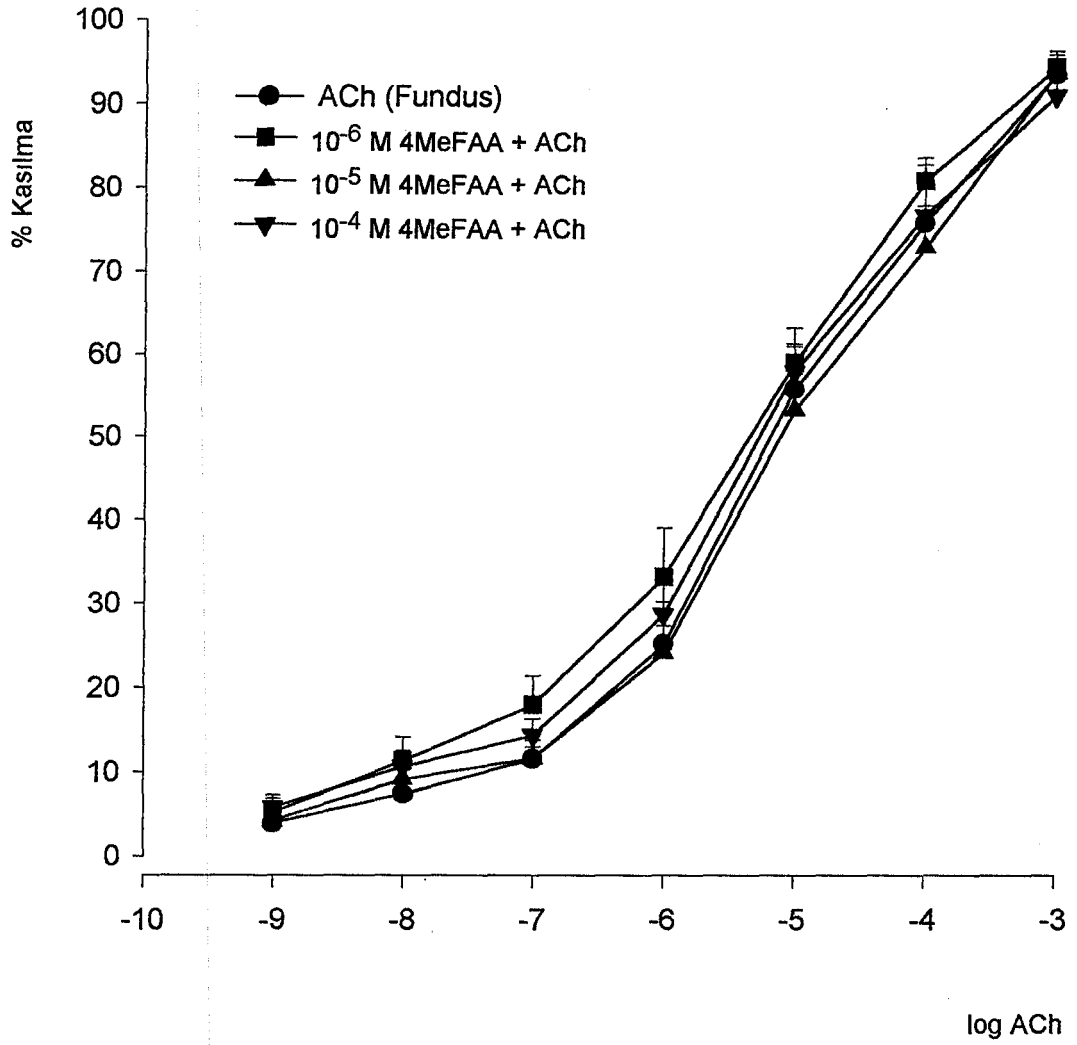
İzole sıçan ileumu üzerinde, 10^{-6} M atropin sülfat varlığında, 10^{-4} M dozundaki karvakrol asetat' ın, KCl ile oluşan kasılmalar üzerindeki inhibitör etkisinde bir artış olduğu gözlenmektedir. Ancak inhibitör etkideki bu artış 10^{-4} M karvakrol asetat ile karşılaştırıldığı zaman istatistiksel olarak anlamlı değildir (Şekil 3.39).



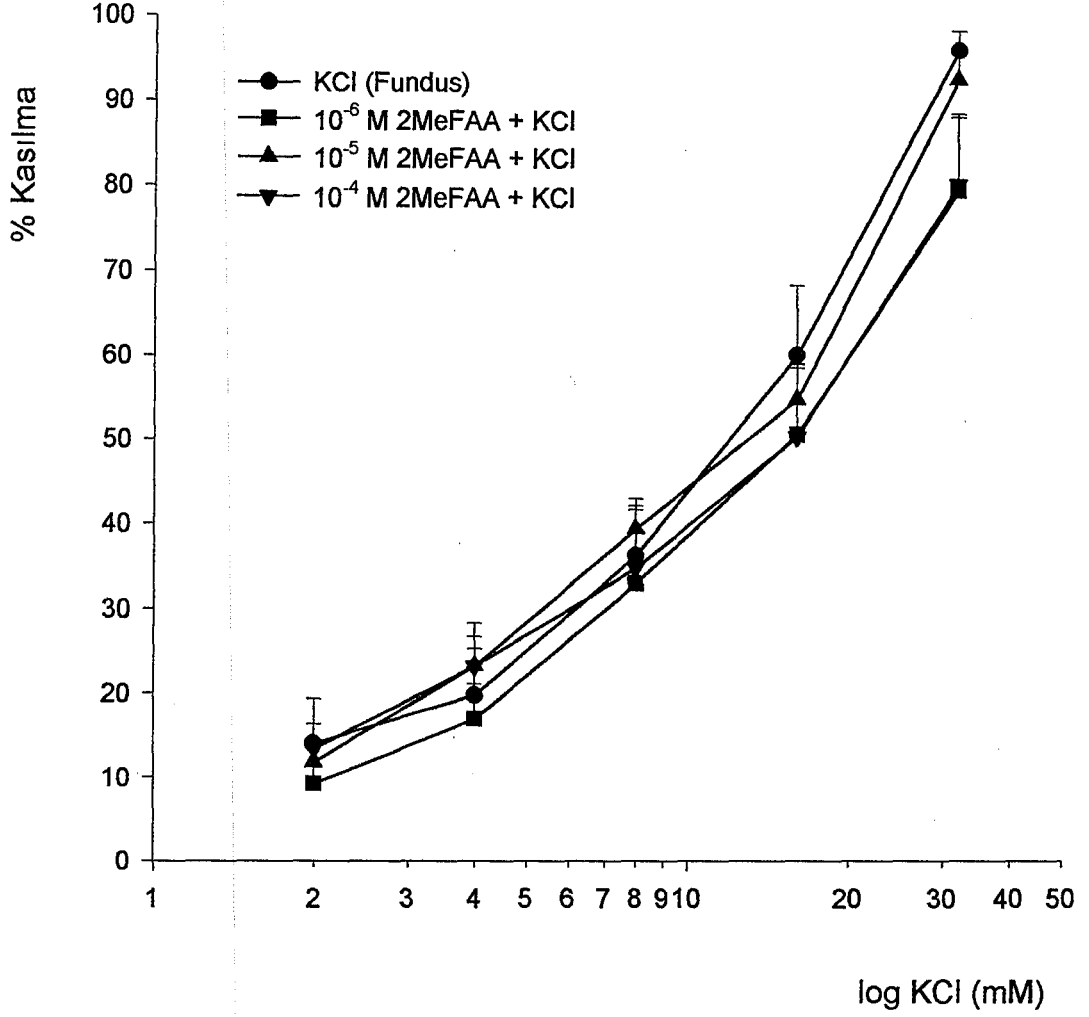
Şekil 3.1. 2-Metilfenoksiasetik asid' in izole mide fundusta ACh yanıtları üzerine inhibitör etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. $p < 0.05$ (n=5)



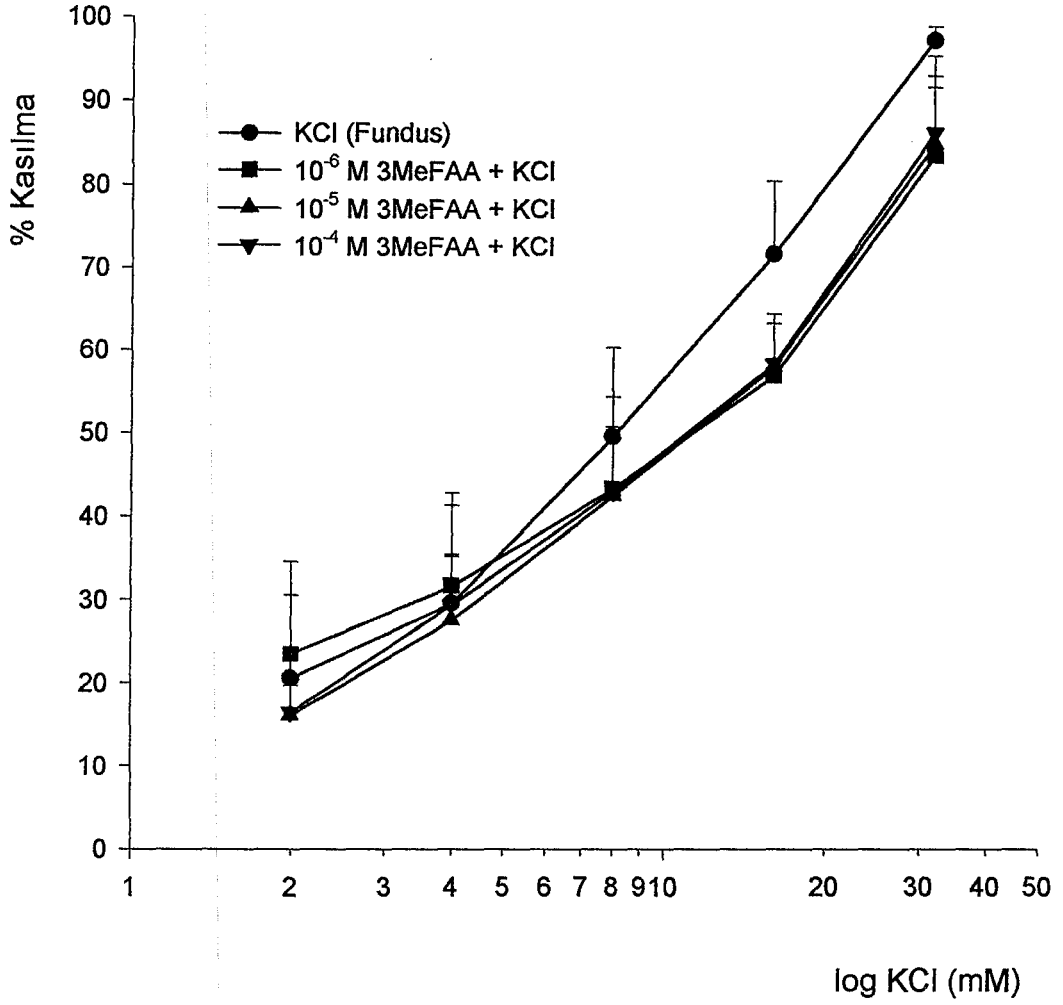
Şekil 3.2. 3-Metilfenoksiasetik asid' in izole mide fundusta ACh yanıtları üzerine etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. (n=5).



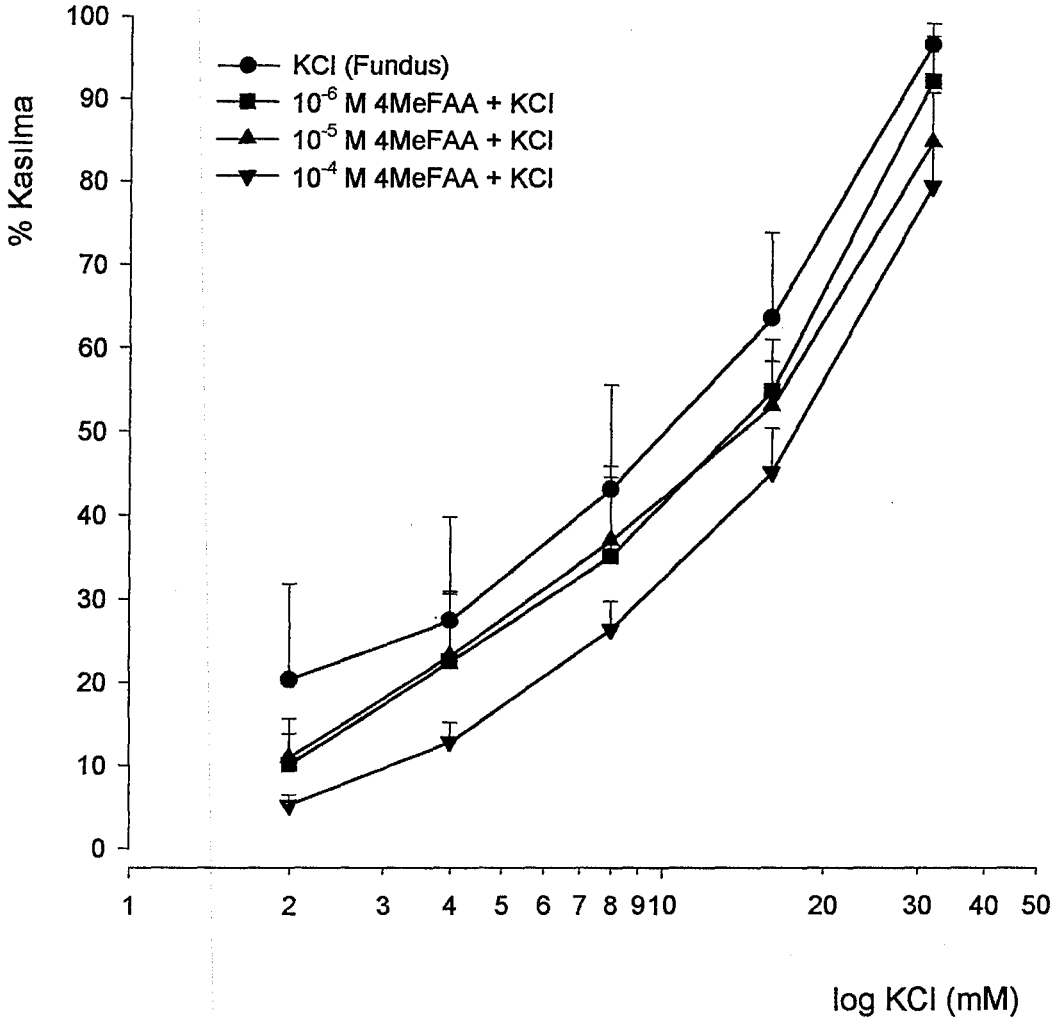
Şekil 3.3. 4-Metilfenoksiasetik asid' in izole mide fundusta ACh yanıtları üzerine etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. (n=5)



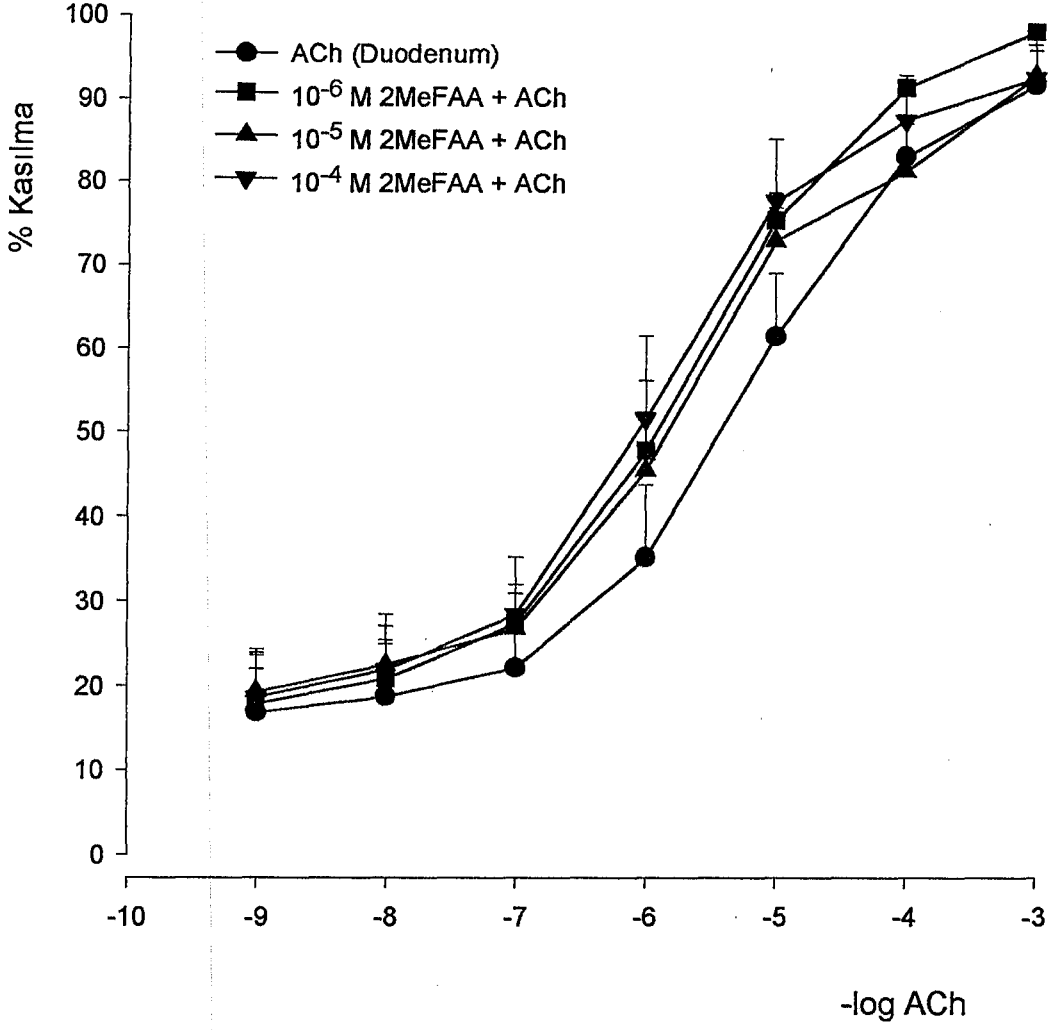
Şekil 3.4 2-Metilfenoksiasetik asid' in izole mide fundusta KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



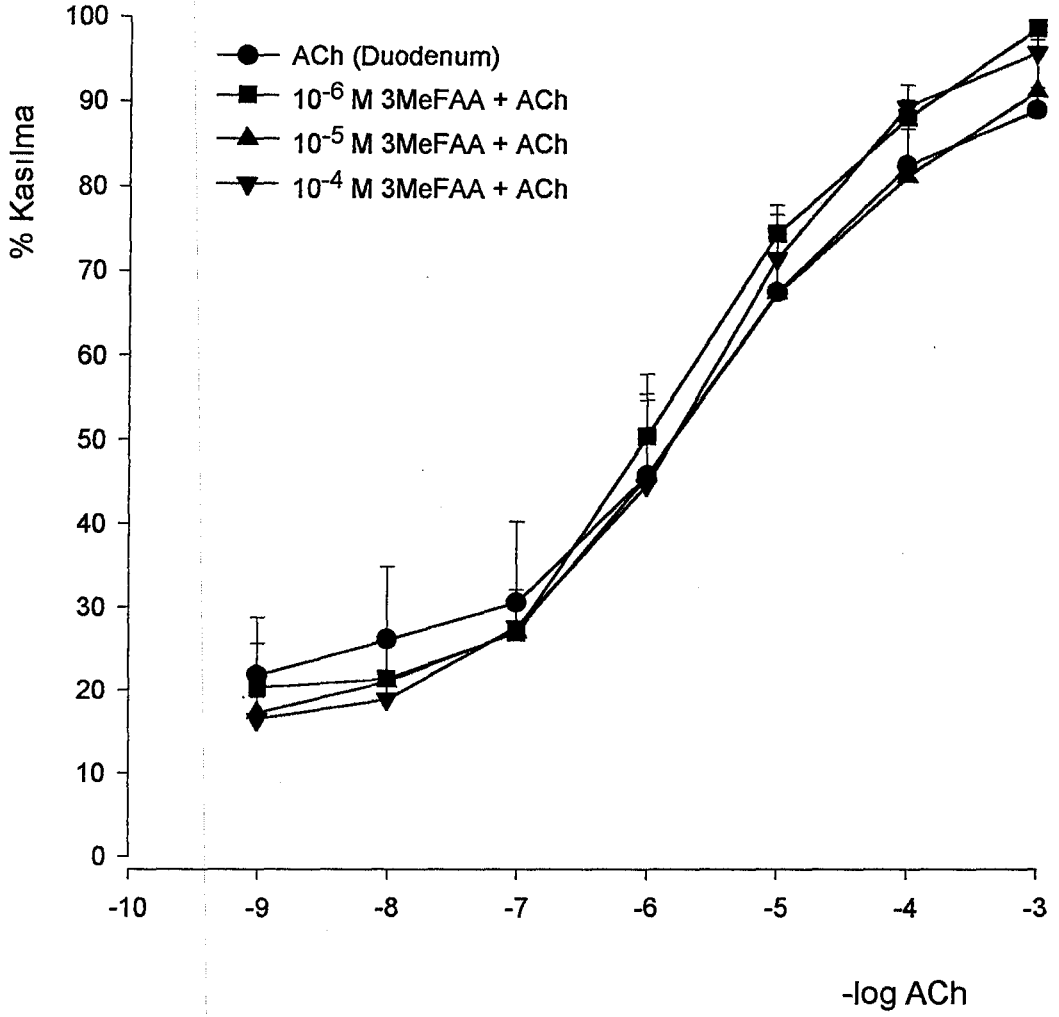
Şekil 3.5. 3-Metilfenoksiasetik asid⁷ in izole mide fundusta KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



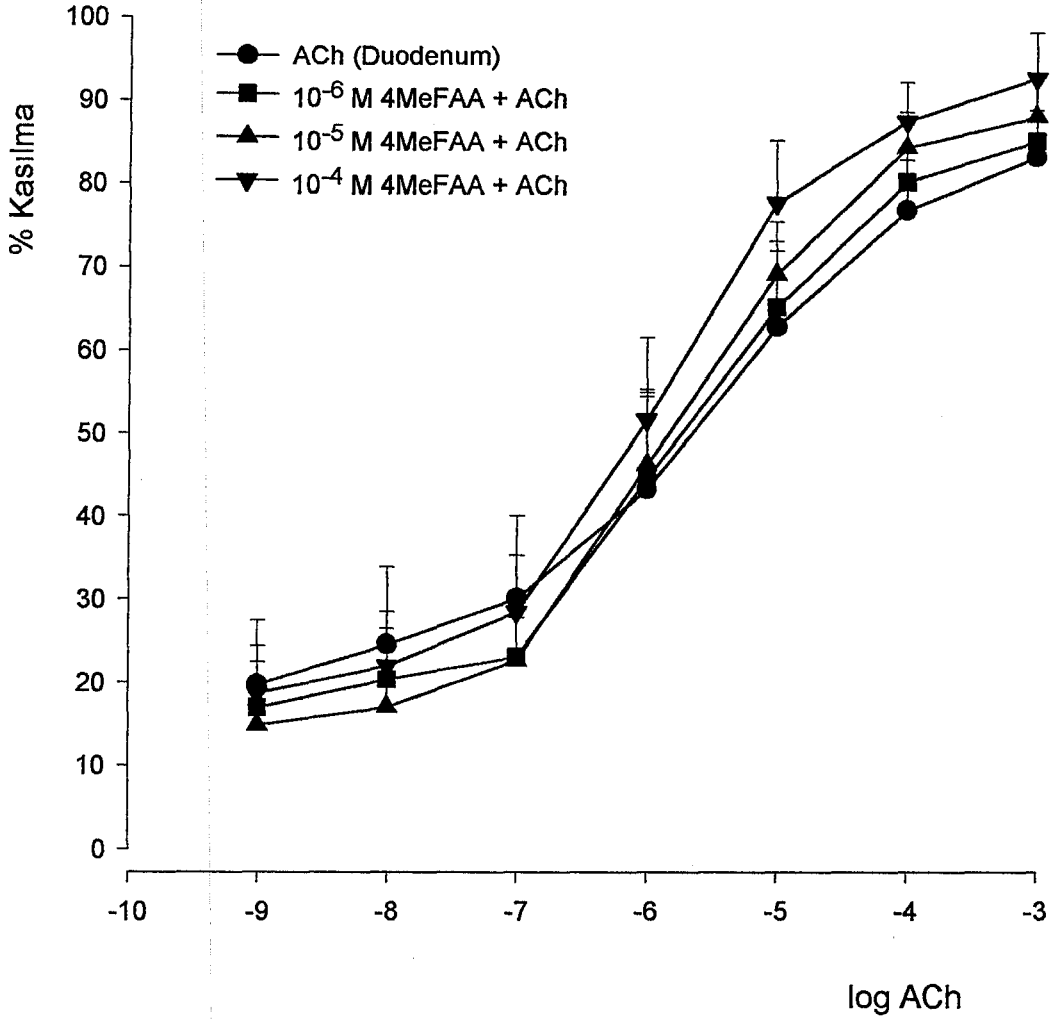
Şekil 3.6. 4-Metilfenoksiasetik asid' in izole mide fundusta KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



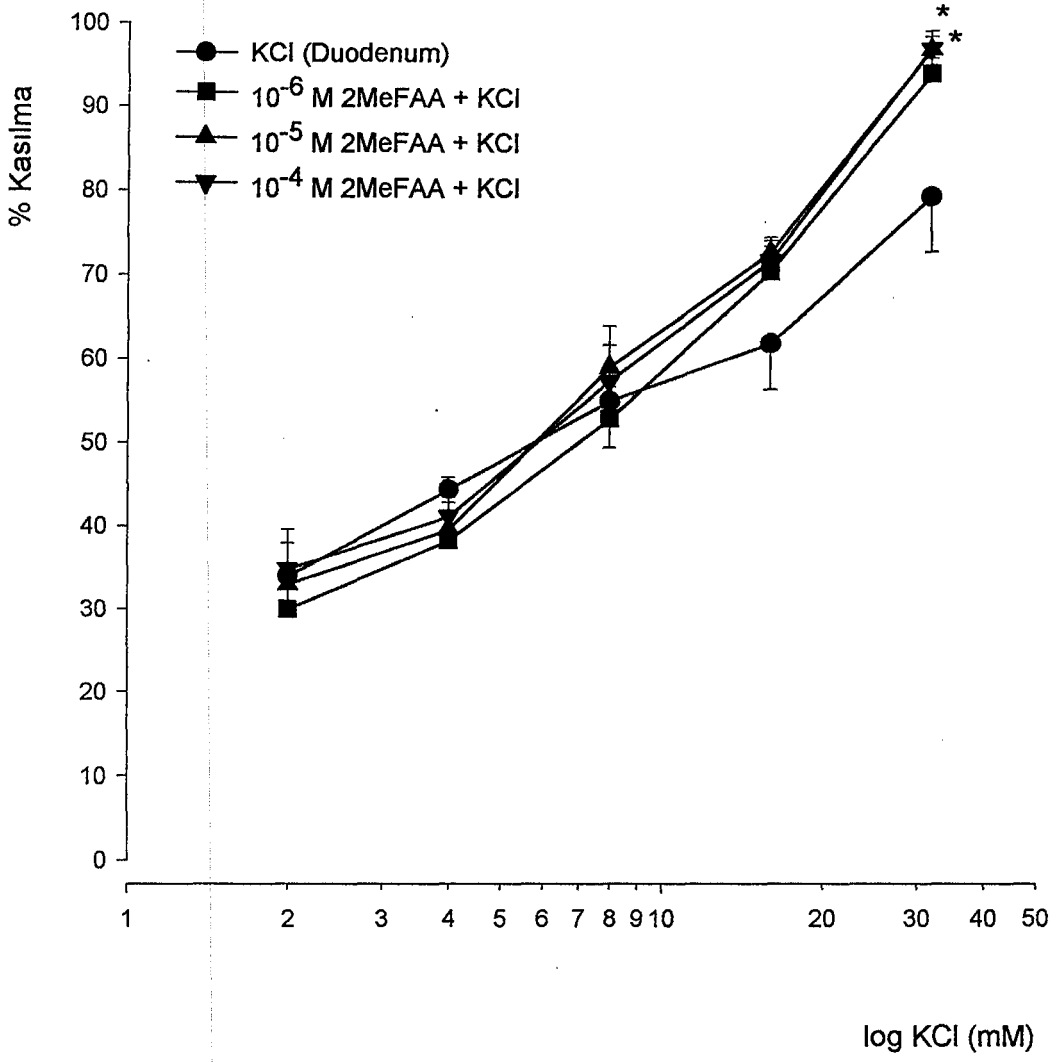
Şekil 3.7. 2-Metilfenoksiasetik asid' in izole duodenumda ACh yanıtları üzerine etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. (n=5)



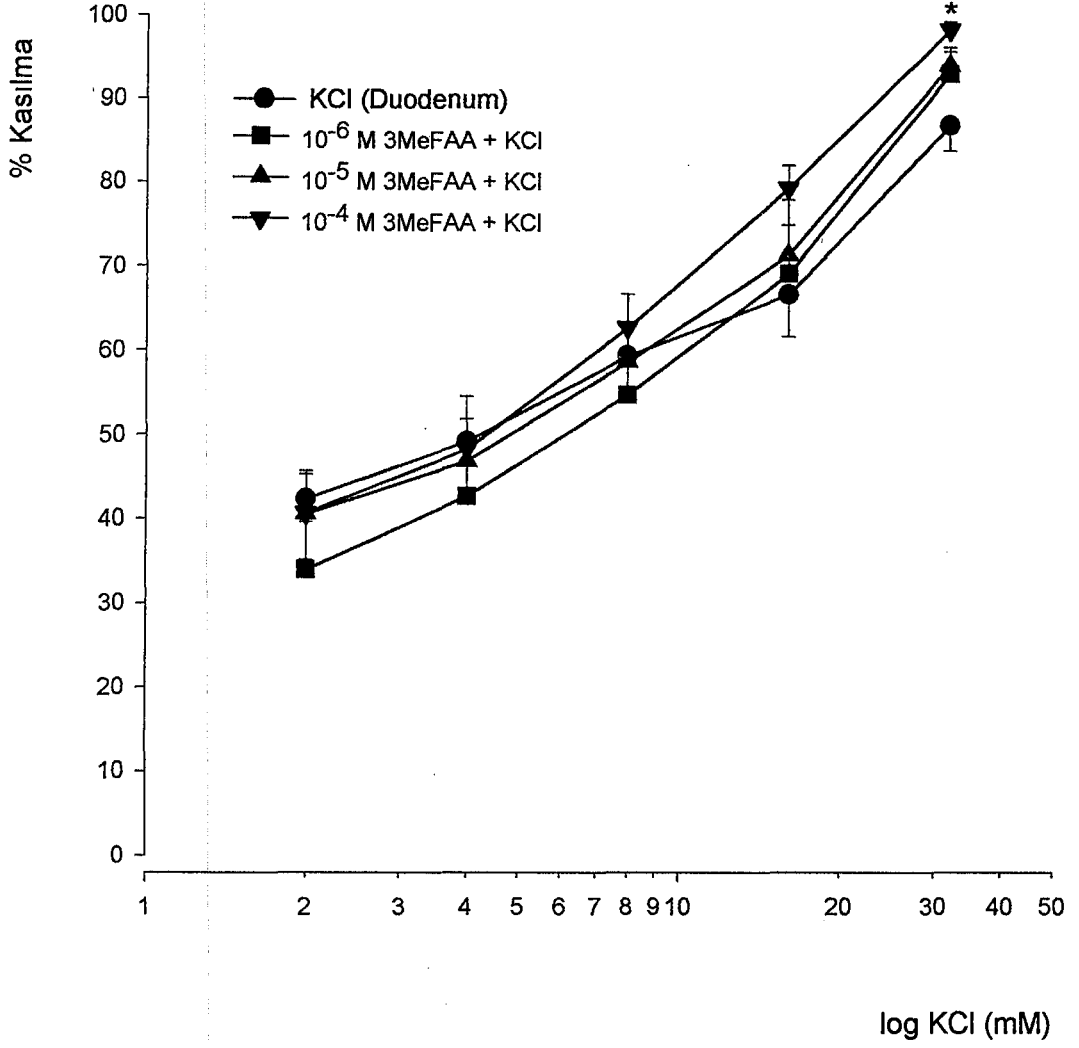
Şekil 3.8 3-Metilfenoksiasetik asid' in izole duodenumda ACh yanıtları üzerine etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. (n=5)



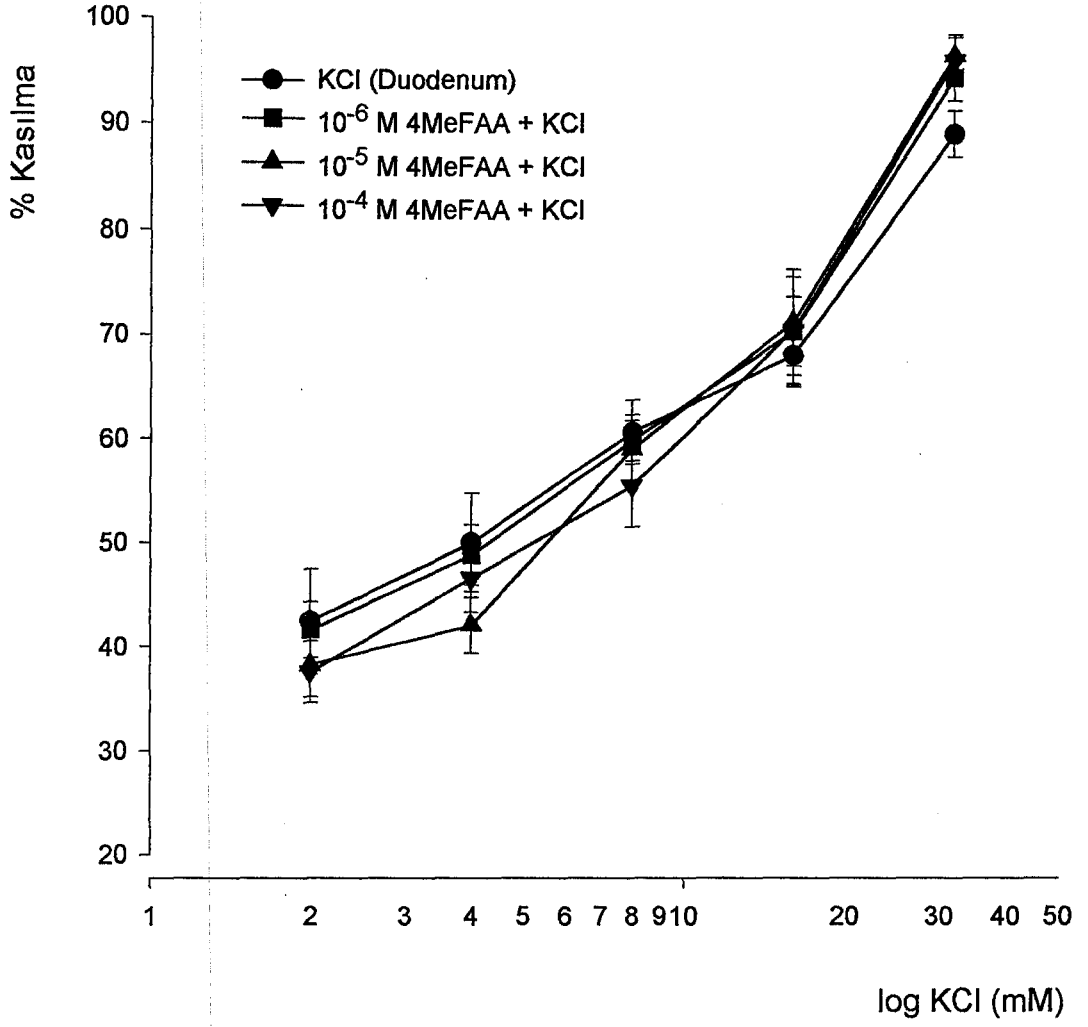
Şekil 3.9 4-Metilfenoksiasetik asid' in izole duodenumda ACh yanıtları üzerine etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. (n=5)



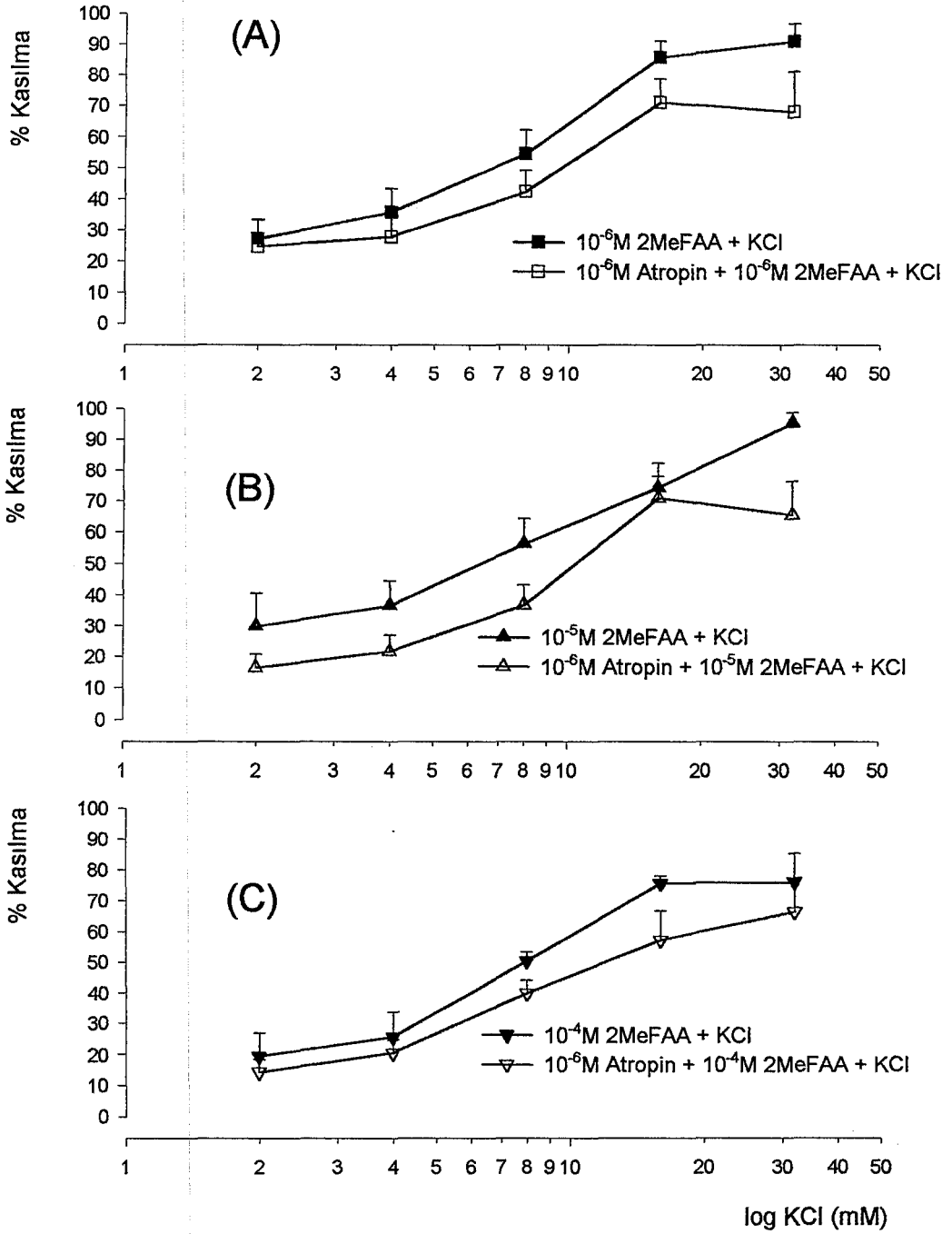
Şekil 3.10 2-Metilfenoksiasetik asid' in izole duodenumda KCl yanıtları üzerine eksitator etkisi. $p < 0.05$ ($n=5$).



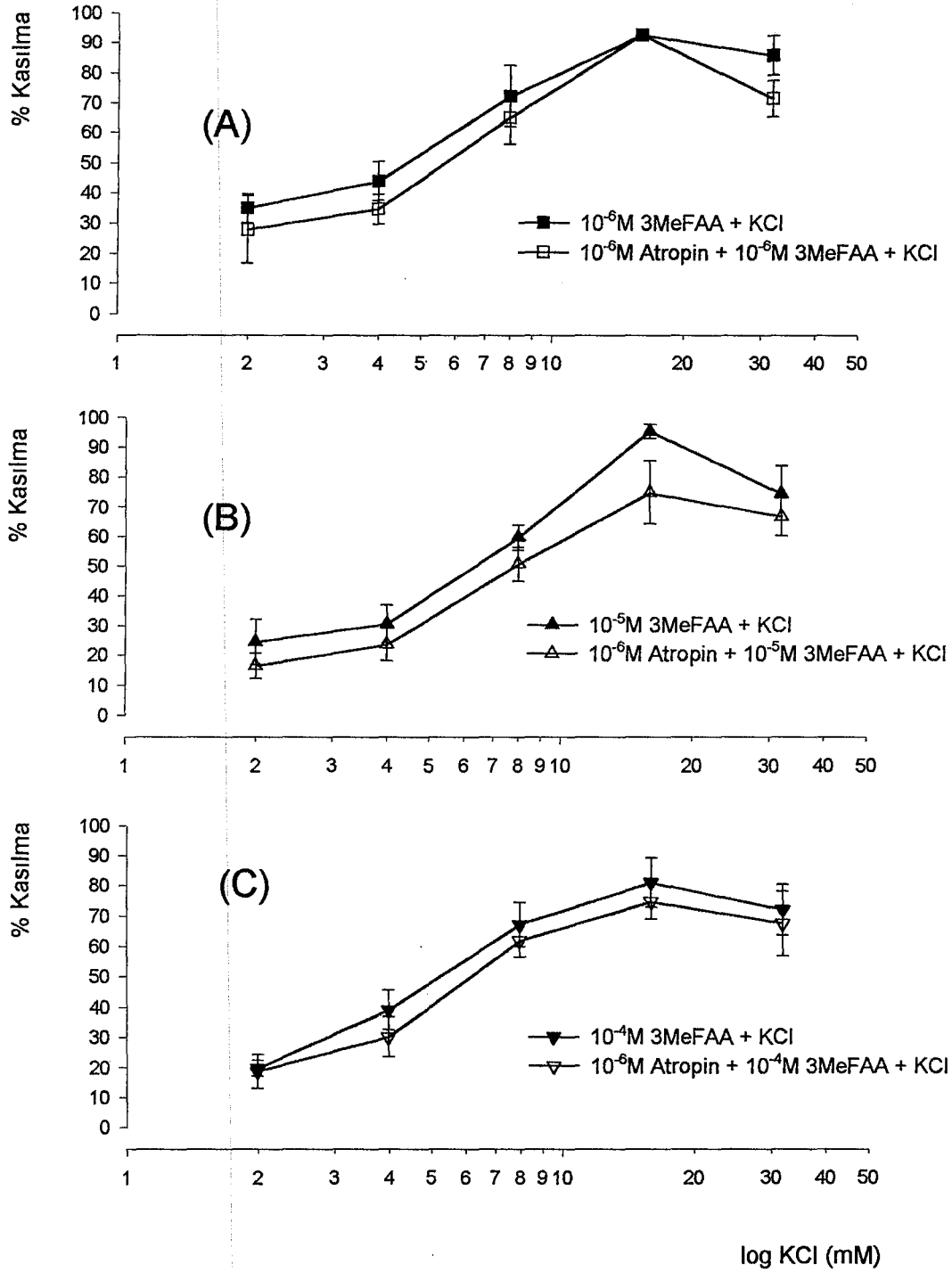
Şekil 3.11 3-Metilfenoksiasetik asid' in izole duodenumda KCl yanıtları üzerine eksitator etkisi. $p < 0.05$ (n=5).



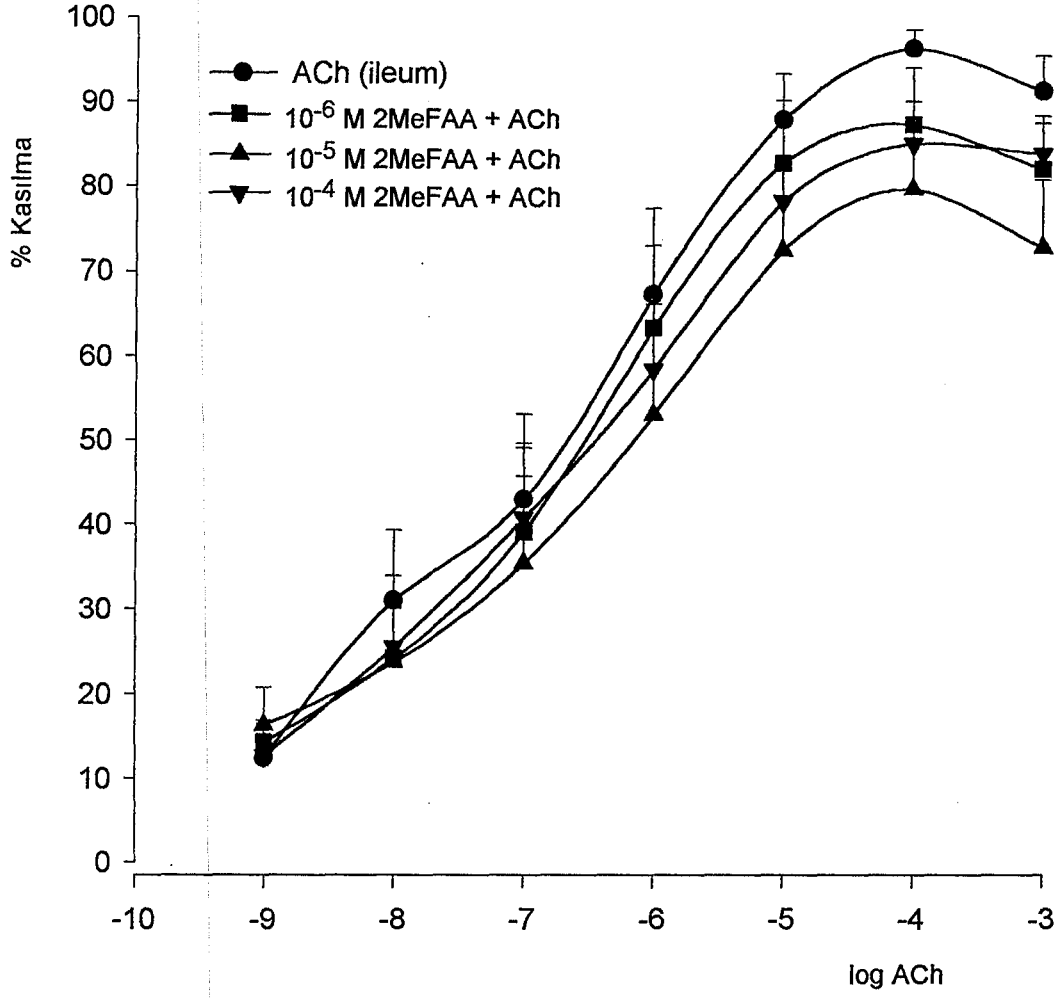
Şekil 3.12 4-Metilfenoksiasetik asid' in izole duodenumda KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



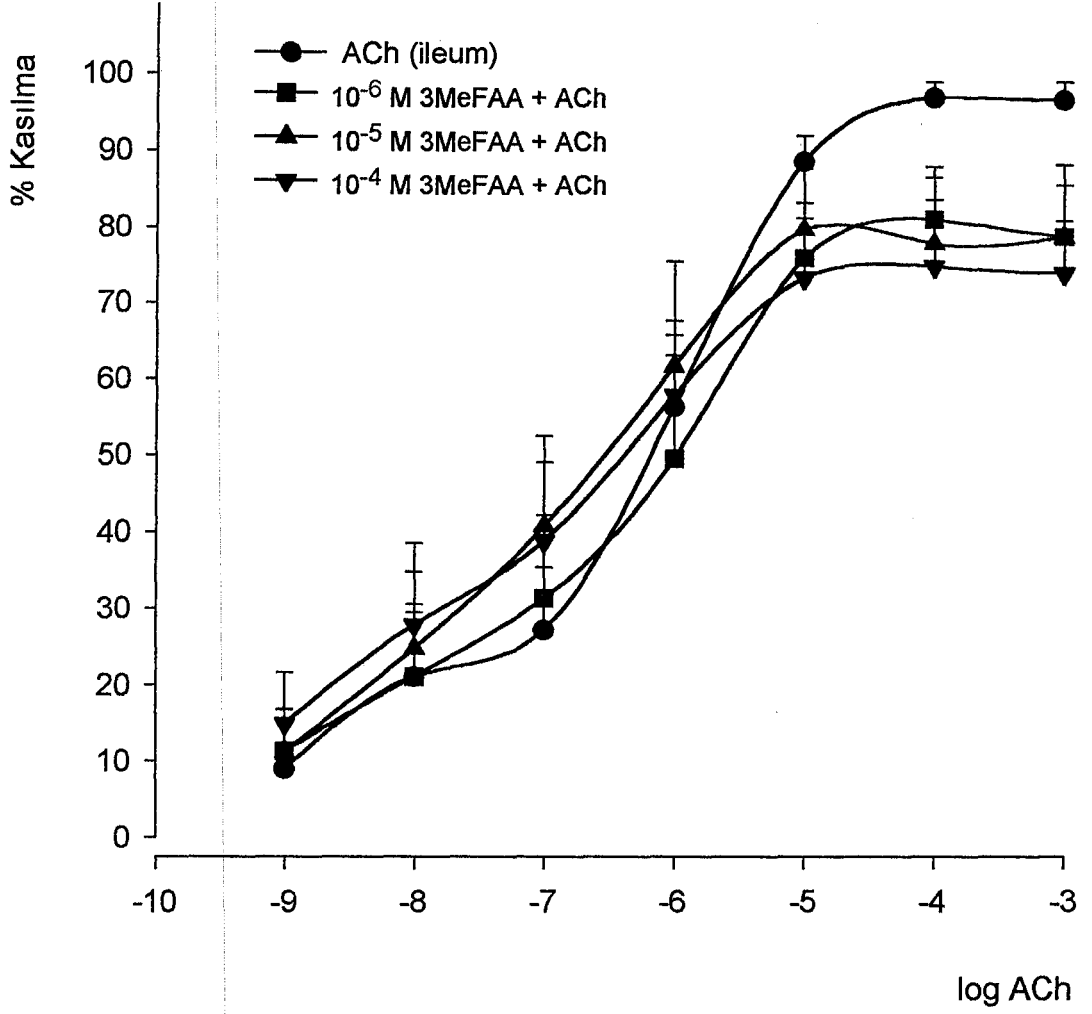
Şekil 3.13 Atropin sülfat varlığında 2-metilfenoksiasetik asid' in izole duodenum'da KCl yanıtları üzerine etkisi. A=10⁻⁶ M, B=10⁻⁵ M ve C= 10⁻⁴ M dozlarında 2-metilfenoksiasetik asid ile alınan sonuçları göstermektedir. (n=5)



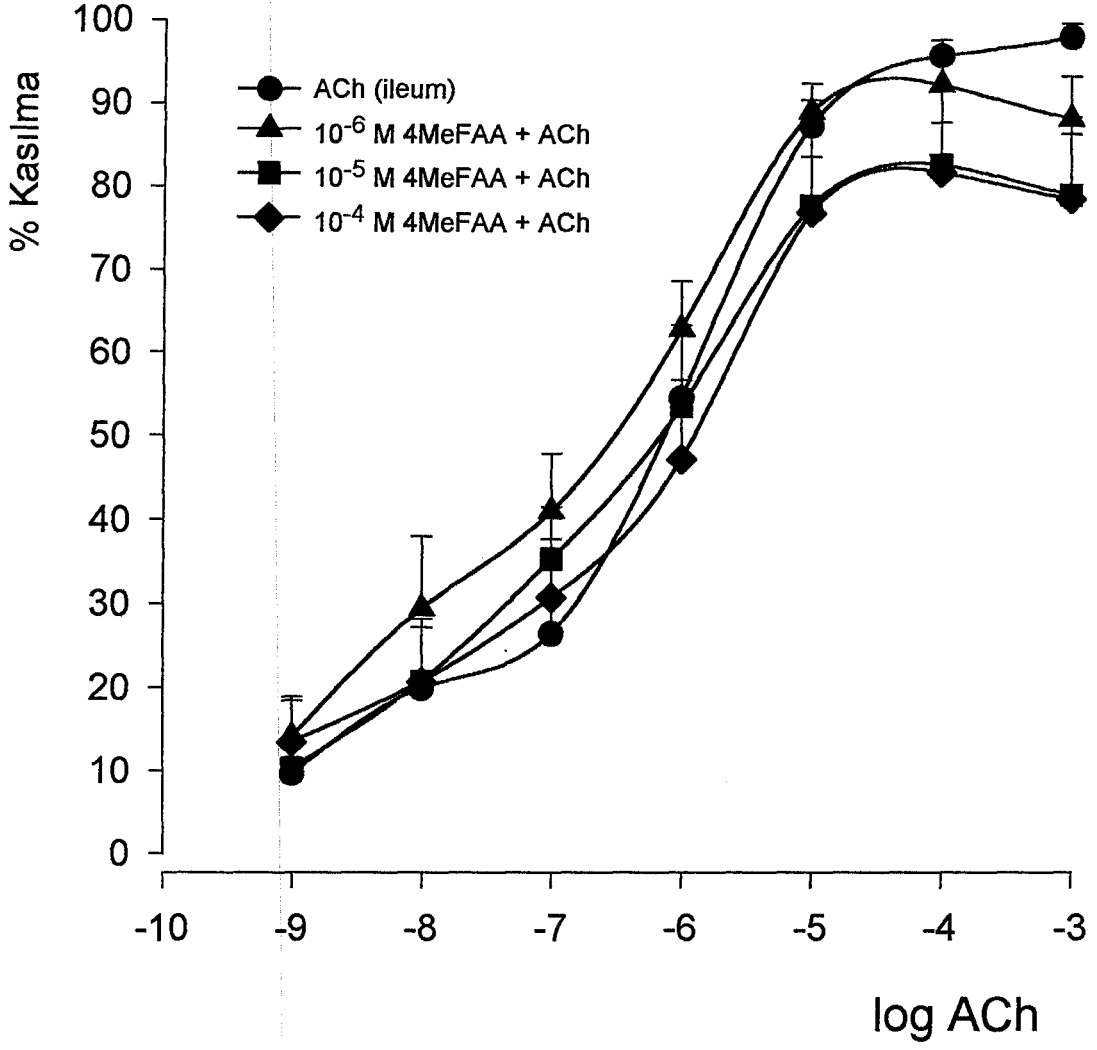
Şekil 3.14. 3-Metilfenoksiasetik asid' in izole duodenumda atropin sülfat varlığında KCl yanıtları üzerine etkisi A= 10^{-6} M, B= 10^{-5} M ve C= 10^{-4} M dozlarında 3-metilfenoksiasetik asid ile alınan sonuçları göstermektedir.(n=5)



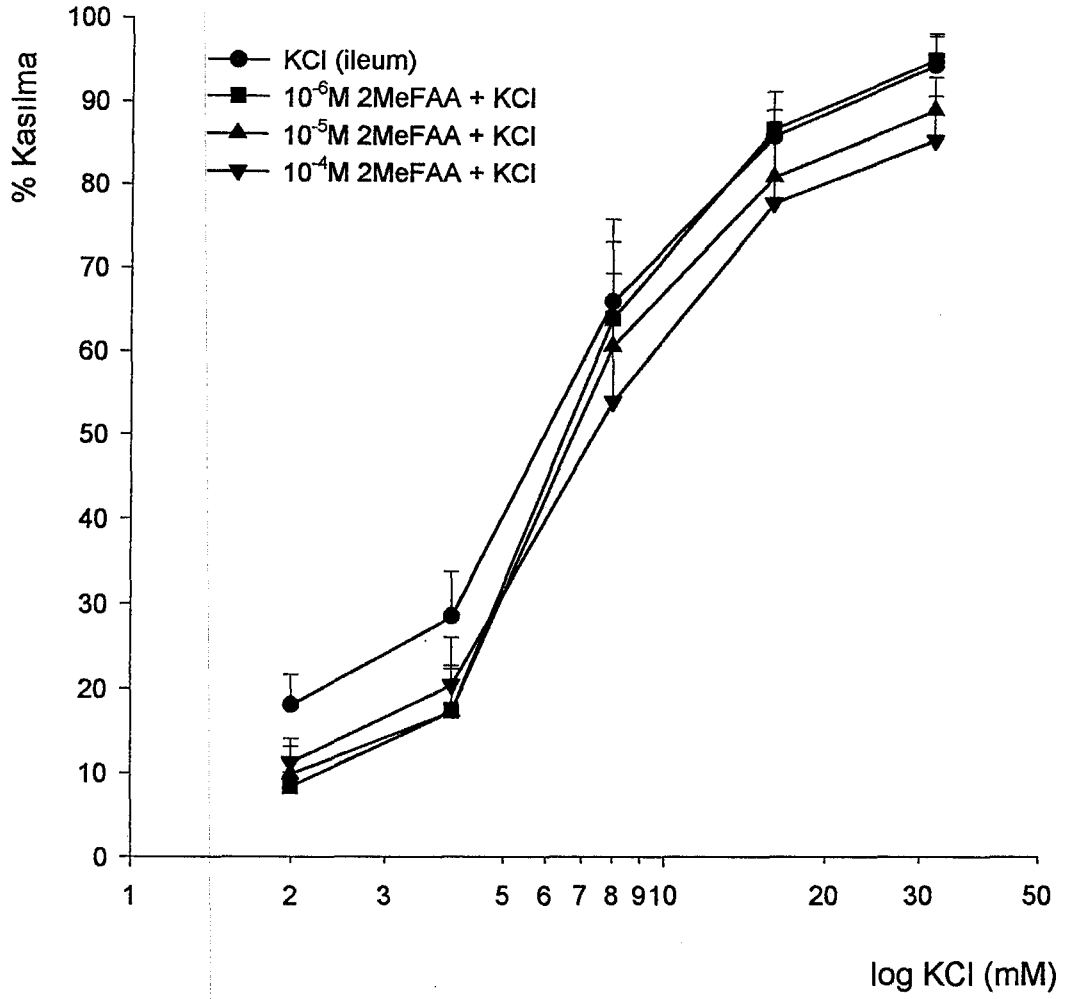
Şekil 3.15. 2-Metilfenoksiasetik asid' in izole ileumda ACh yanıtları üzerine etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. (n=5)



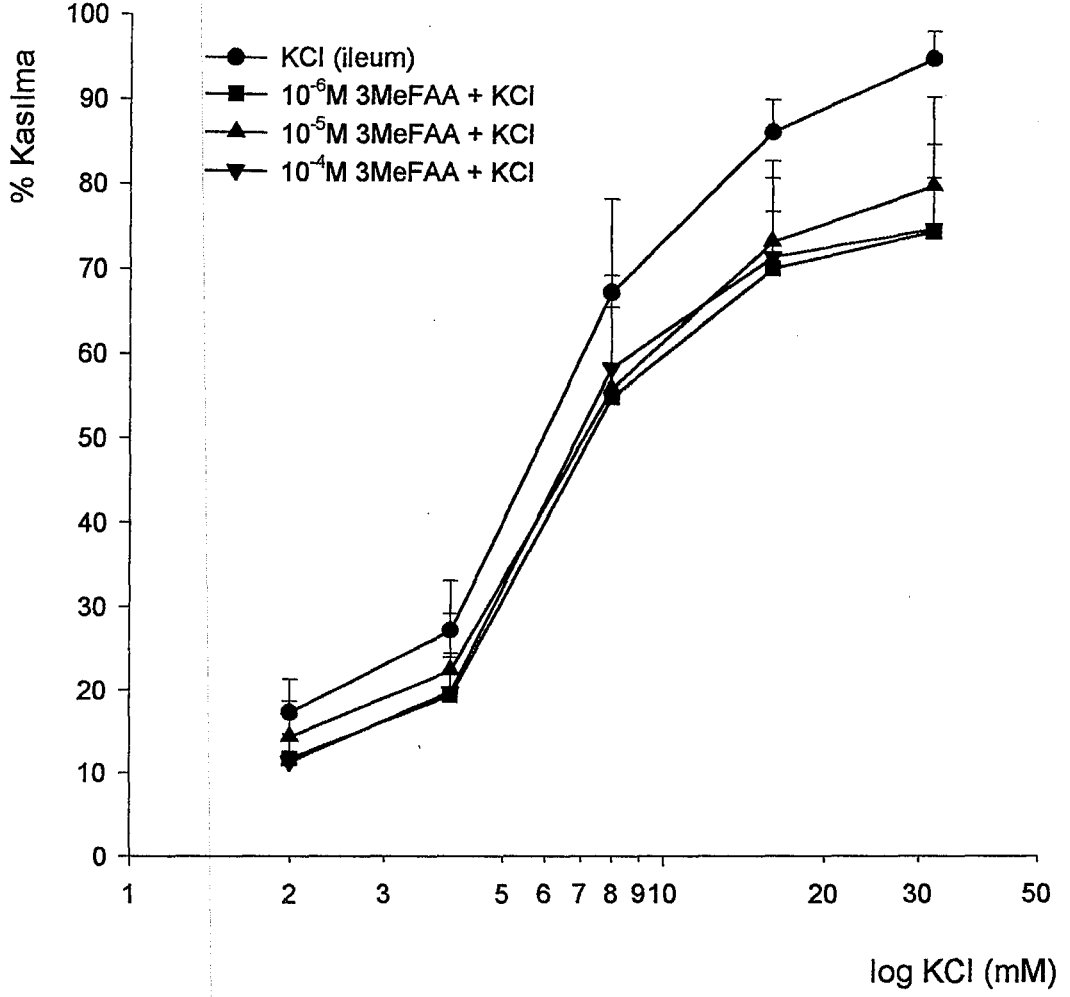
Şekil 3.16. 3-Metilfenoksiasetik asid' in 'izole ileumda ACh yanıtları üzerine etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. (n=5)



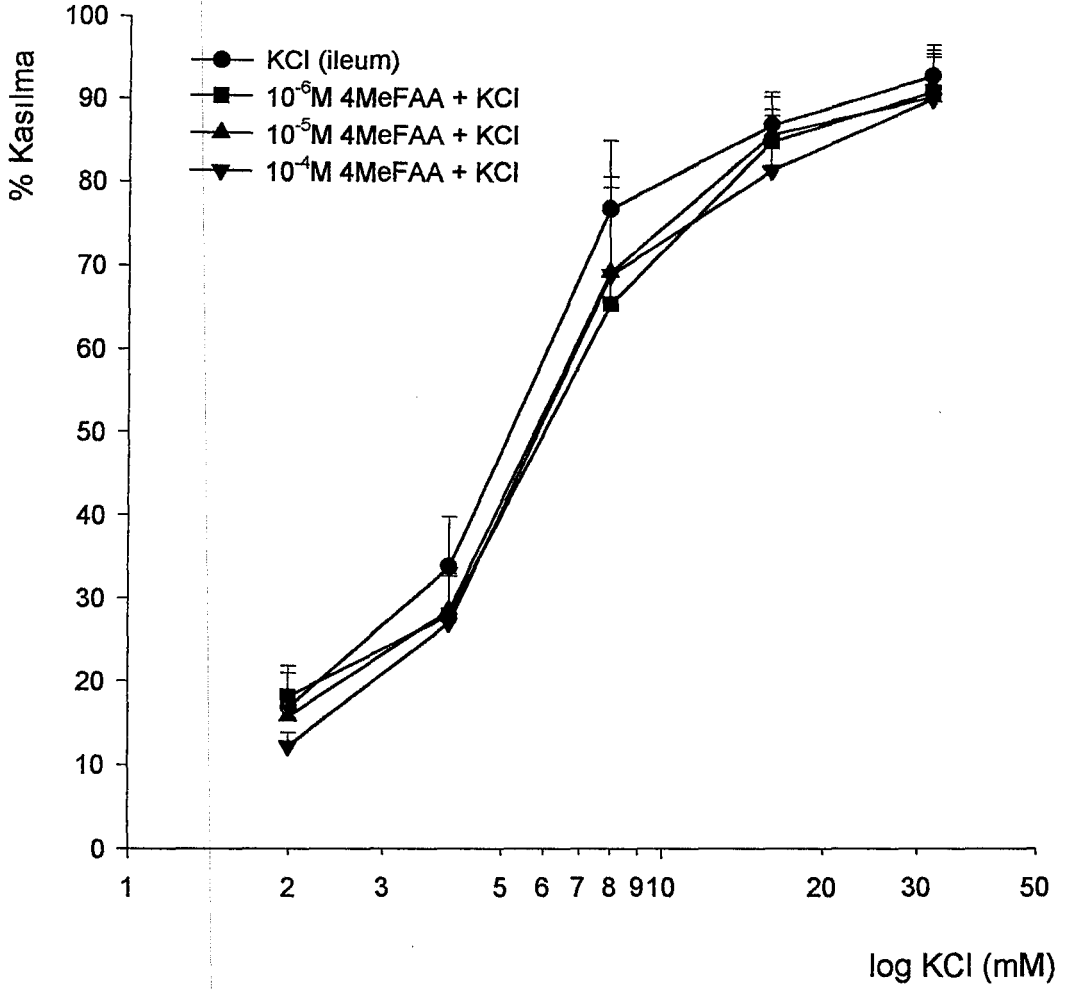
Şekil 3.17. 4-Metilfenoksiasetik asid' in izole ileumda ACh yanıtları üzerine etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. (n=5)



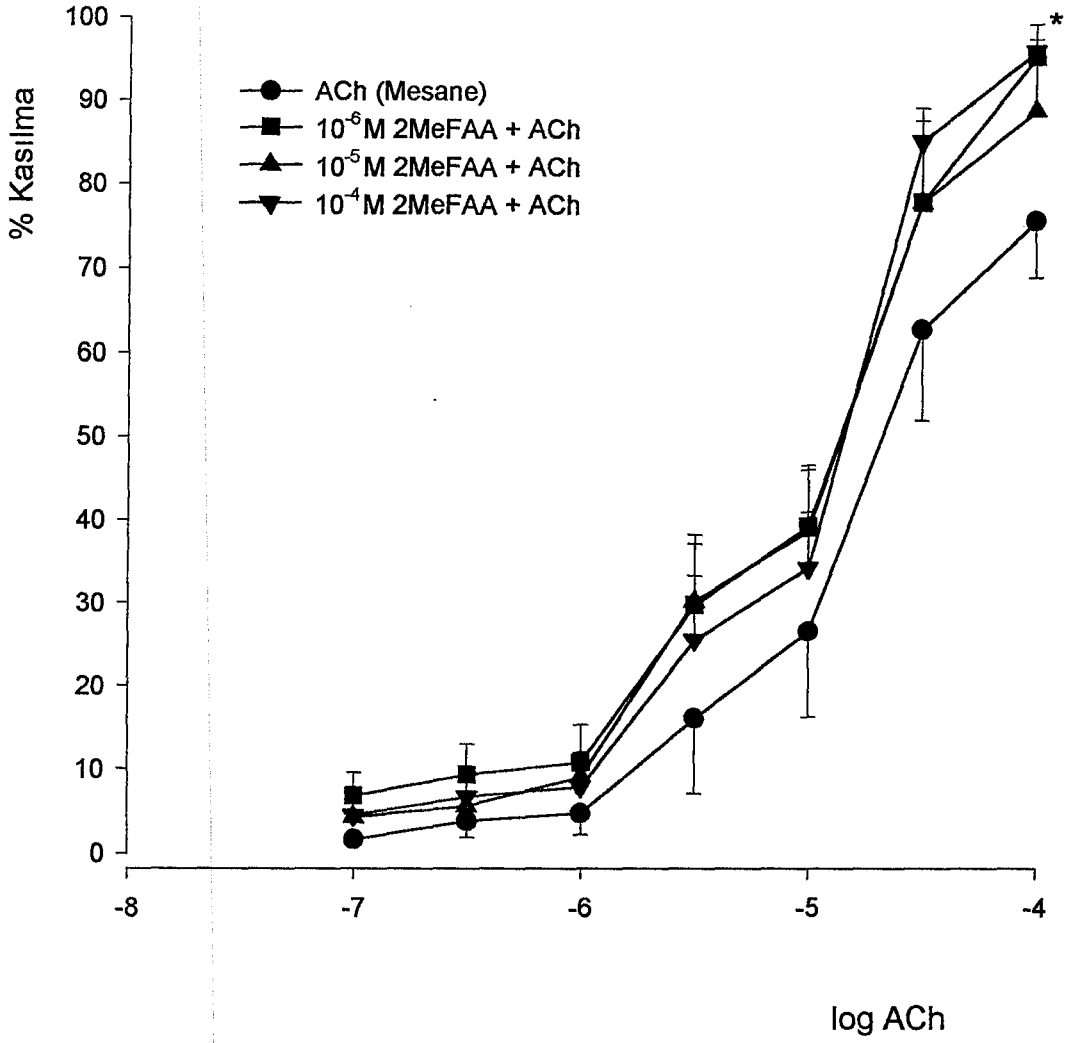
Şekil 3.18. 2-Metilfenoksiasetik asid' in izole ileumda KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



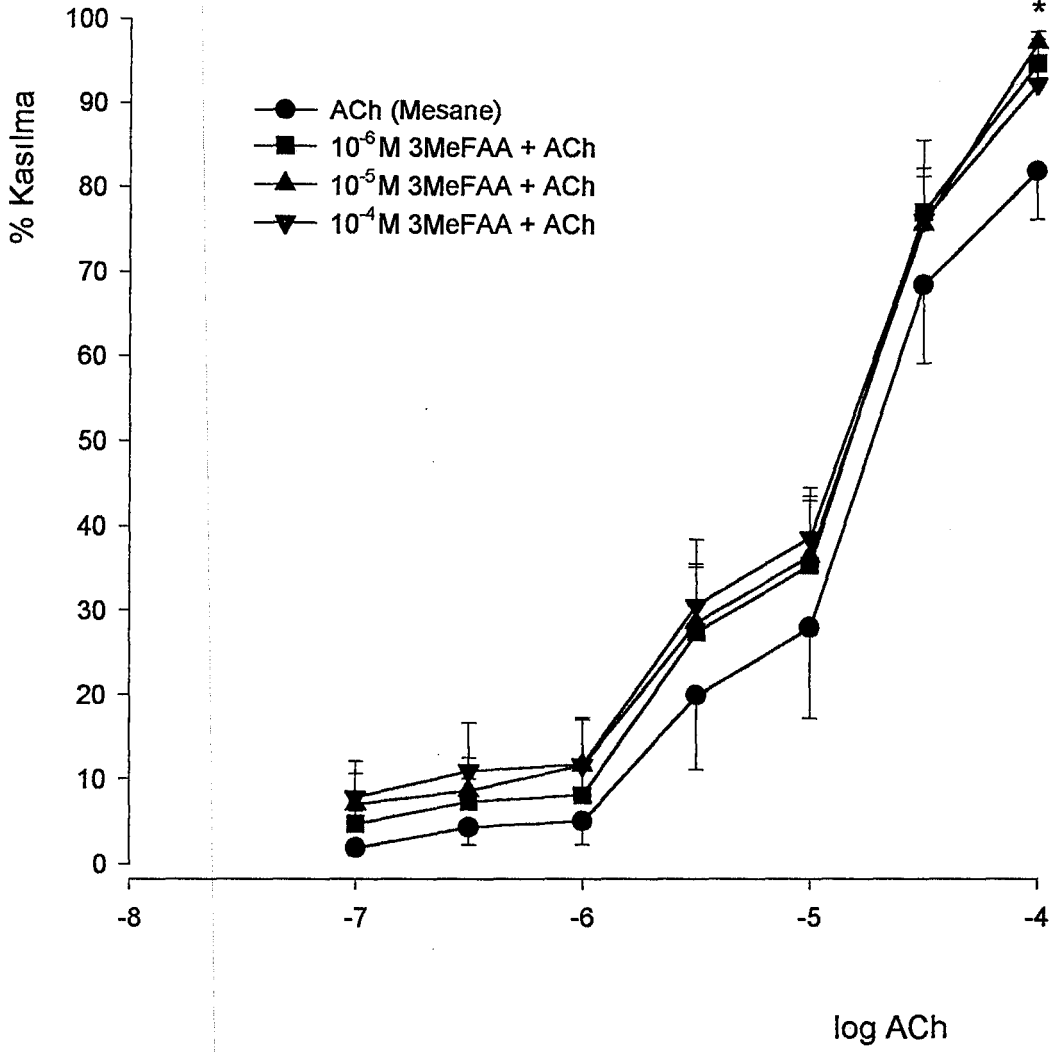
Şekil 3.19. 3-Metilfenoksiasetik asid' in izole ileumda KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



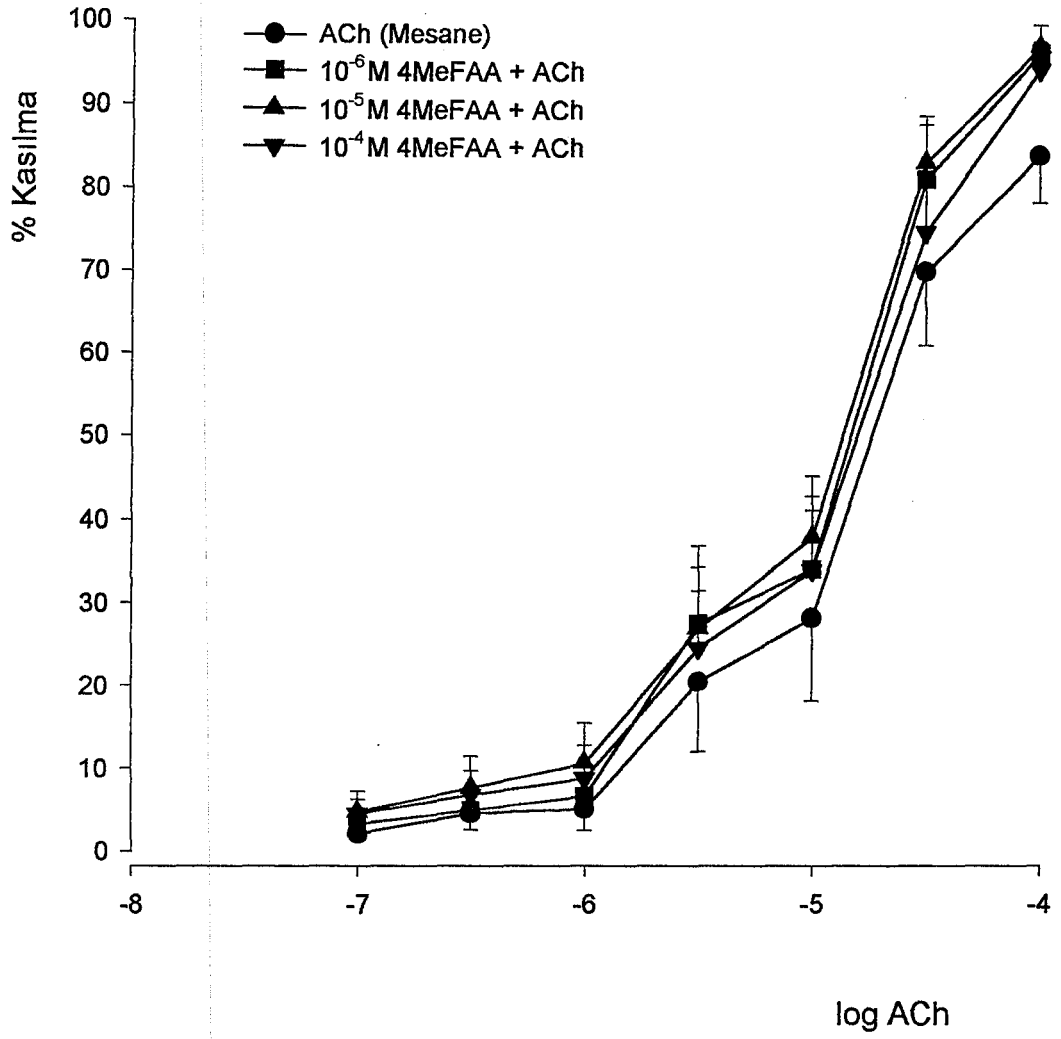
Şekil 3.20. 4-Metilfenoksiasetik asid' in izole ileumda KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



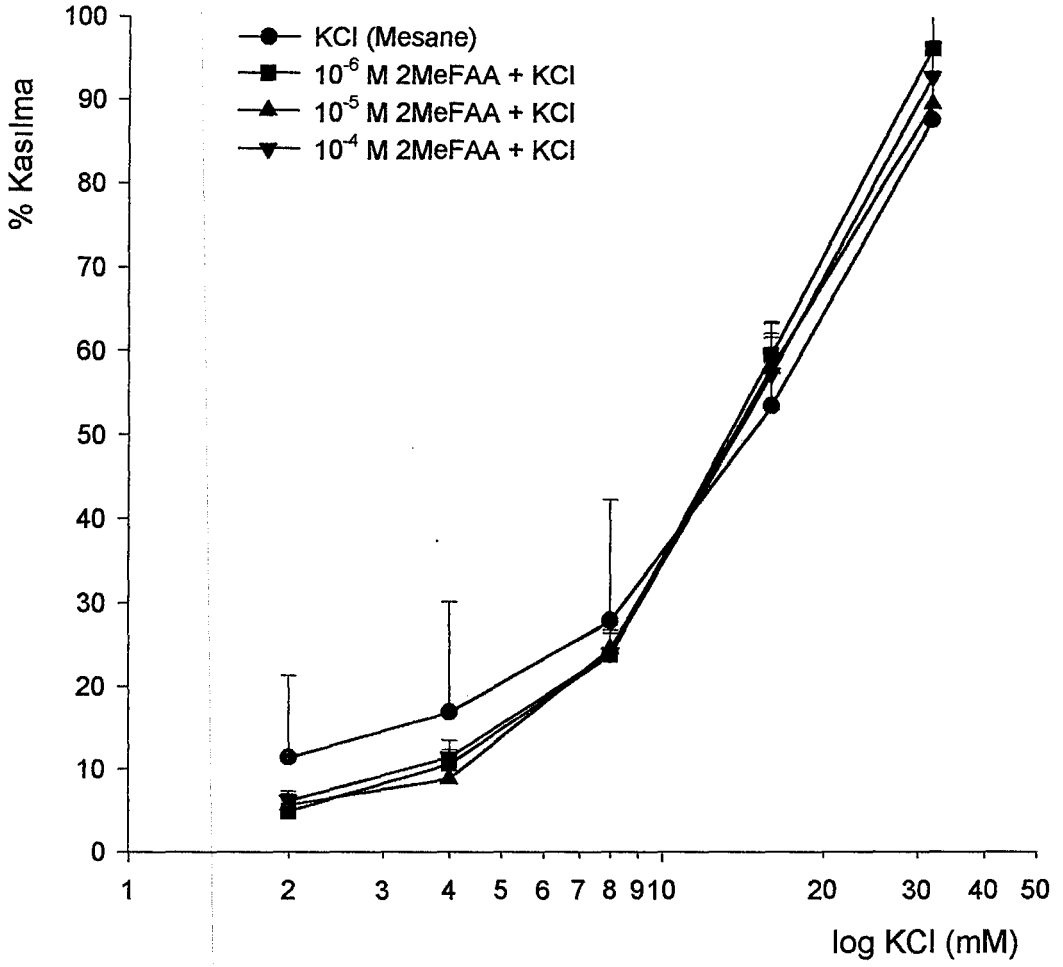
Şekil 3.21. 2-Metilfenoksiasetik asid' in izole mesanede ACh yanıtları üzerine eksitator etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. $p < 0.05$ (n=5)



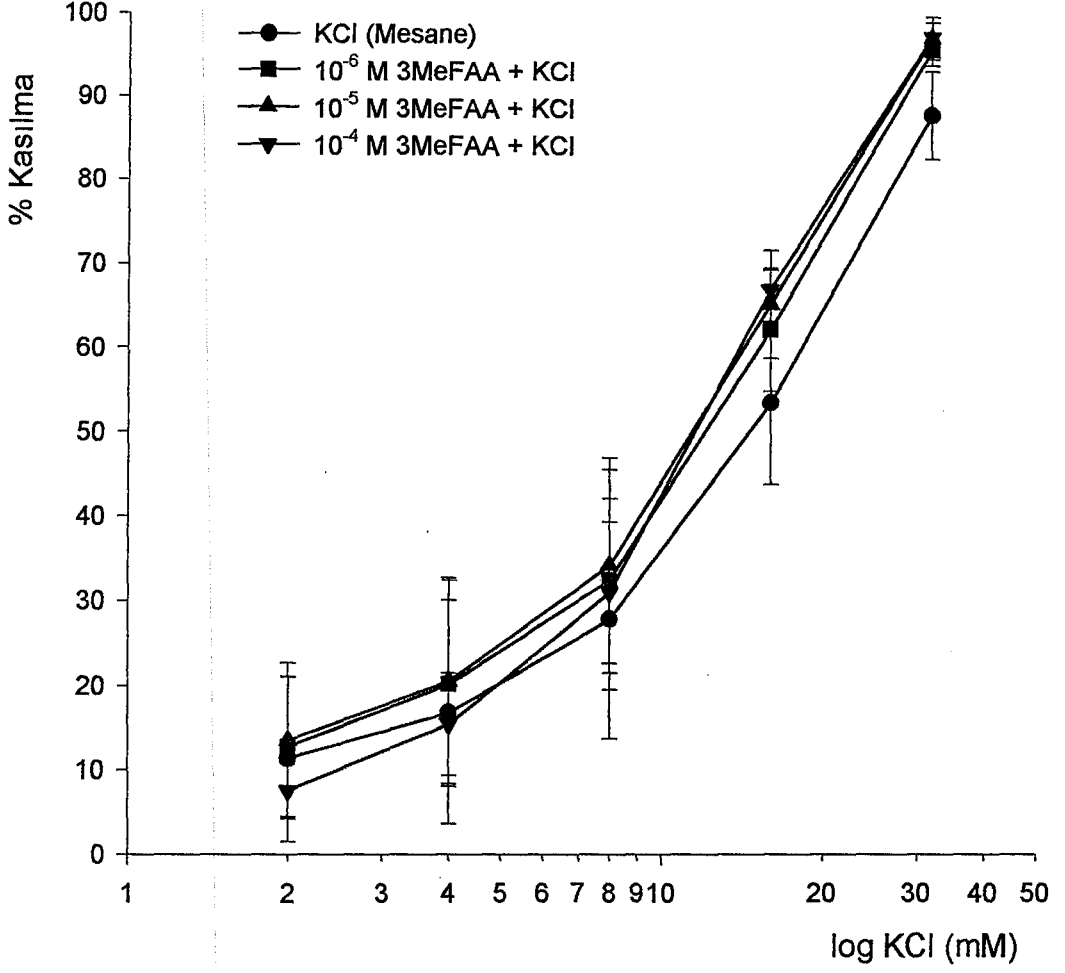
Şekil 3.22. 3-Metilfenoksiasetik asid' in izole mesanede ACh yanıtları üzerine eksitator etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. $p < 0.05$ (n=5)



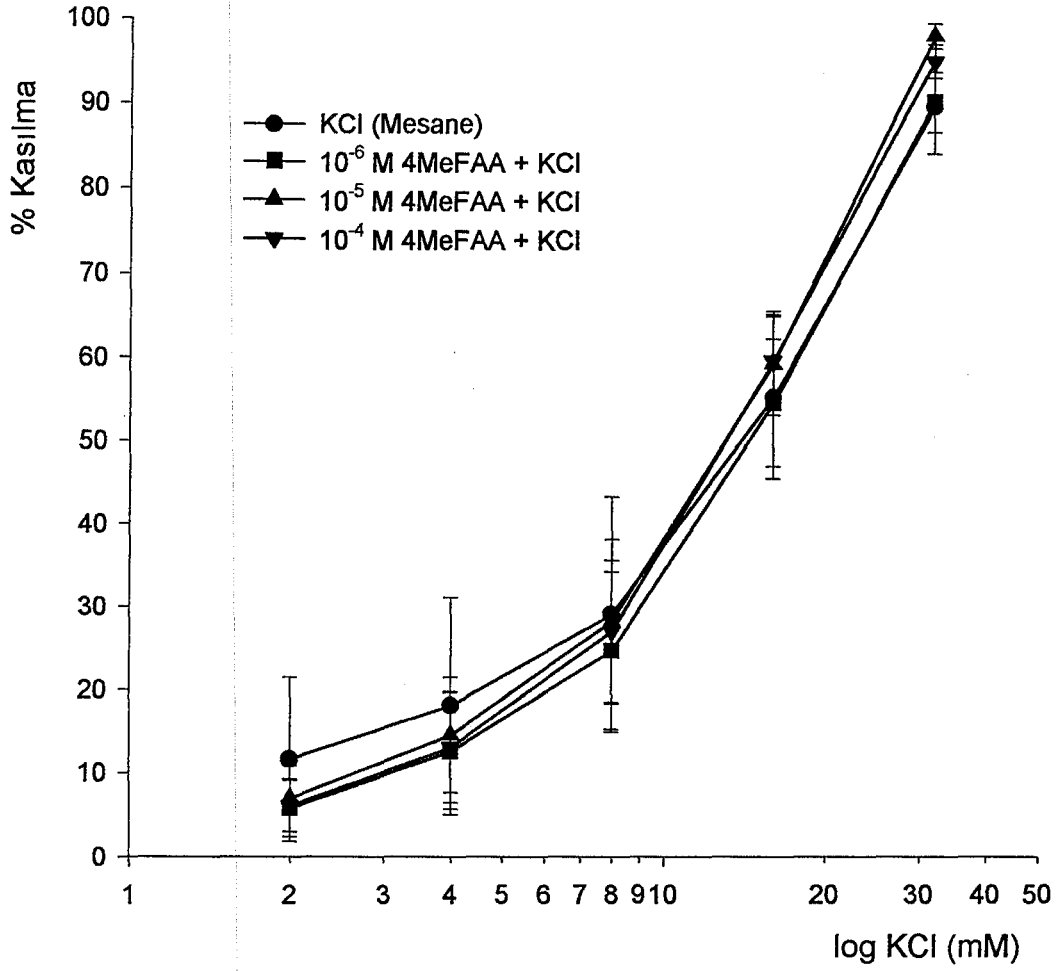
Şekil 3.23. 4-Metilfenoksiasetik asid' in izole mesanede ACh yanıtları üzerine etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. (n=5)



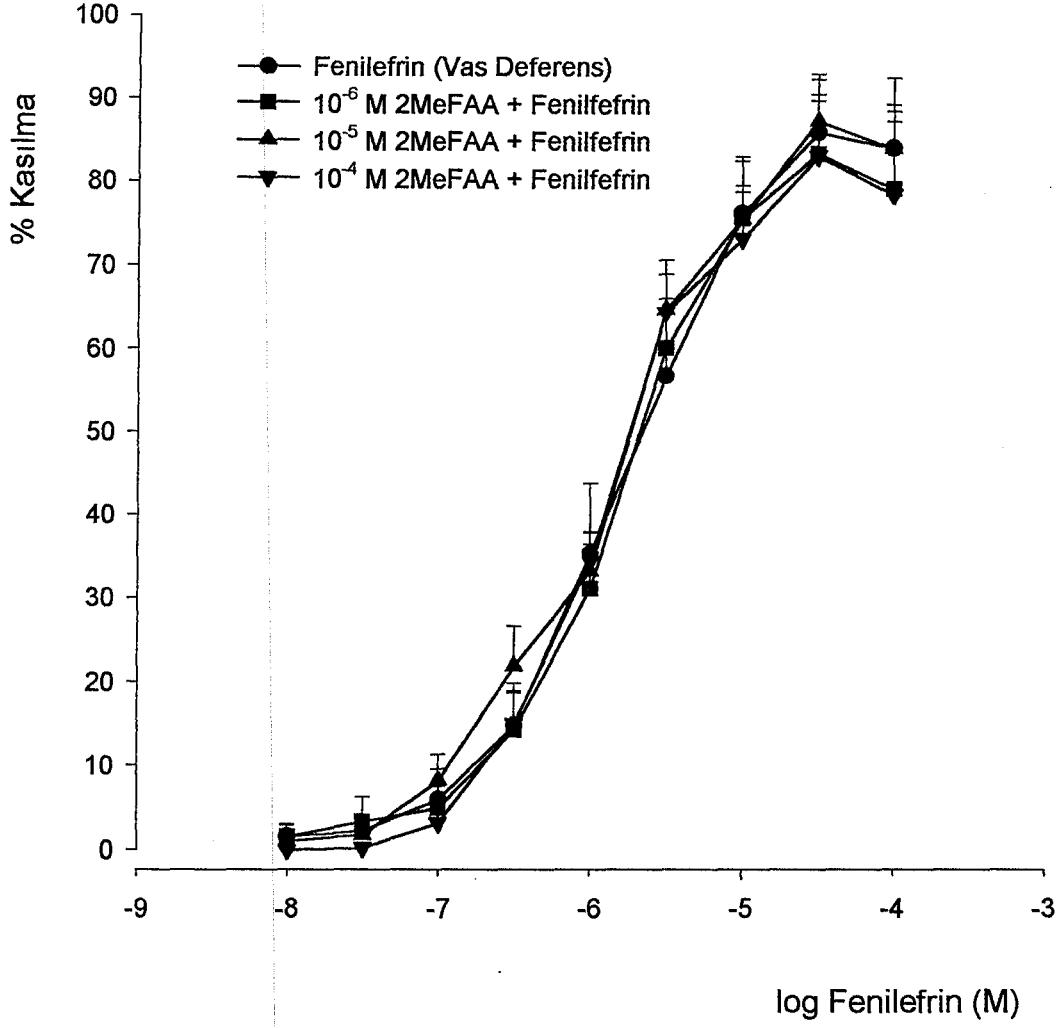
Şekil 3.24. 2-Metilfenoksiasetik asid' in izole mesanede KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



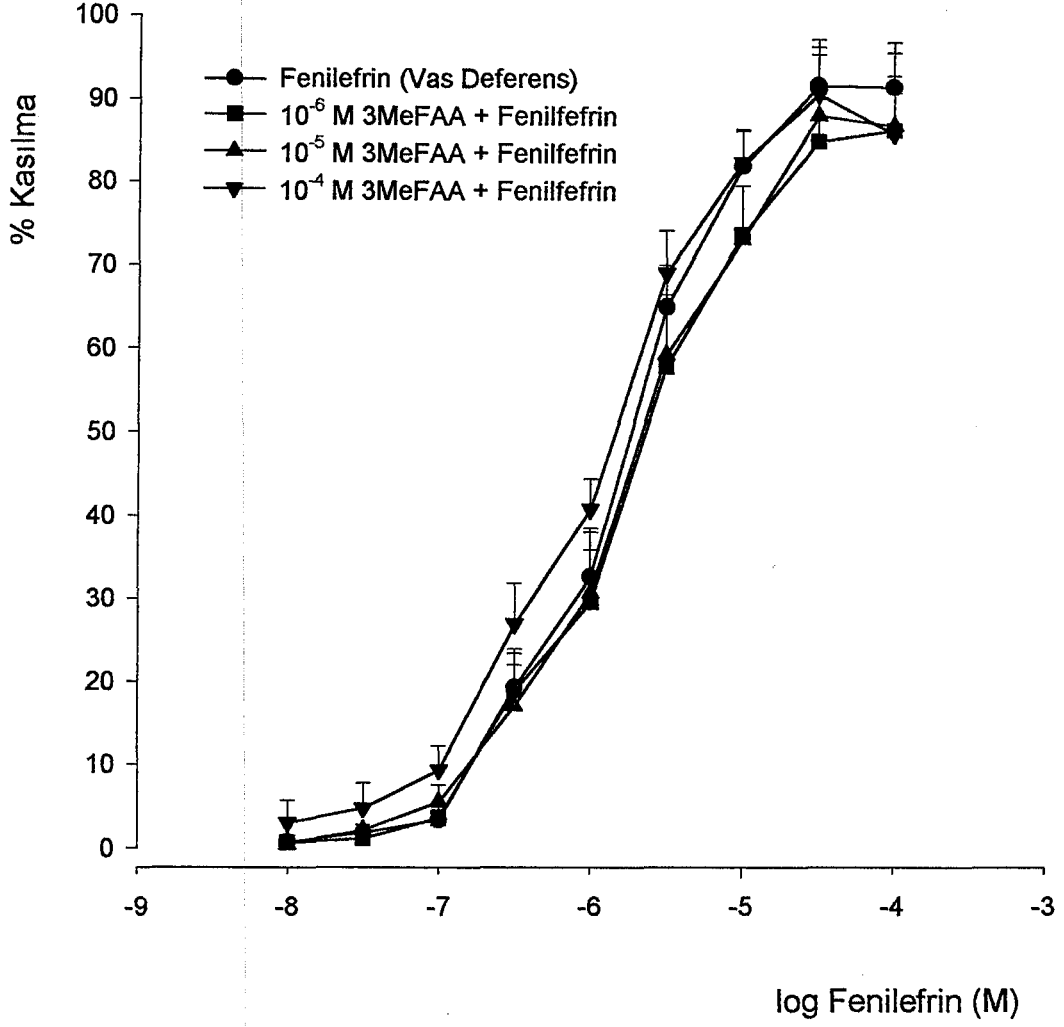
Şekil 3.25. 3-Metilfenoksiasetik asid' in izole mesanede KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



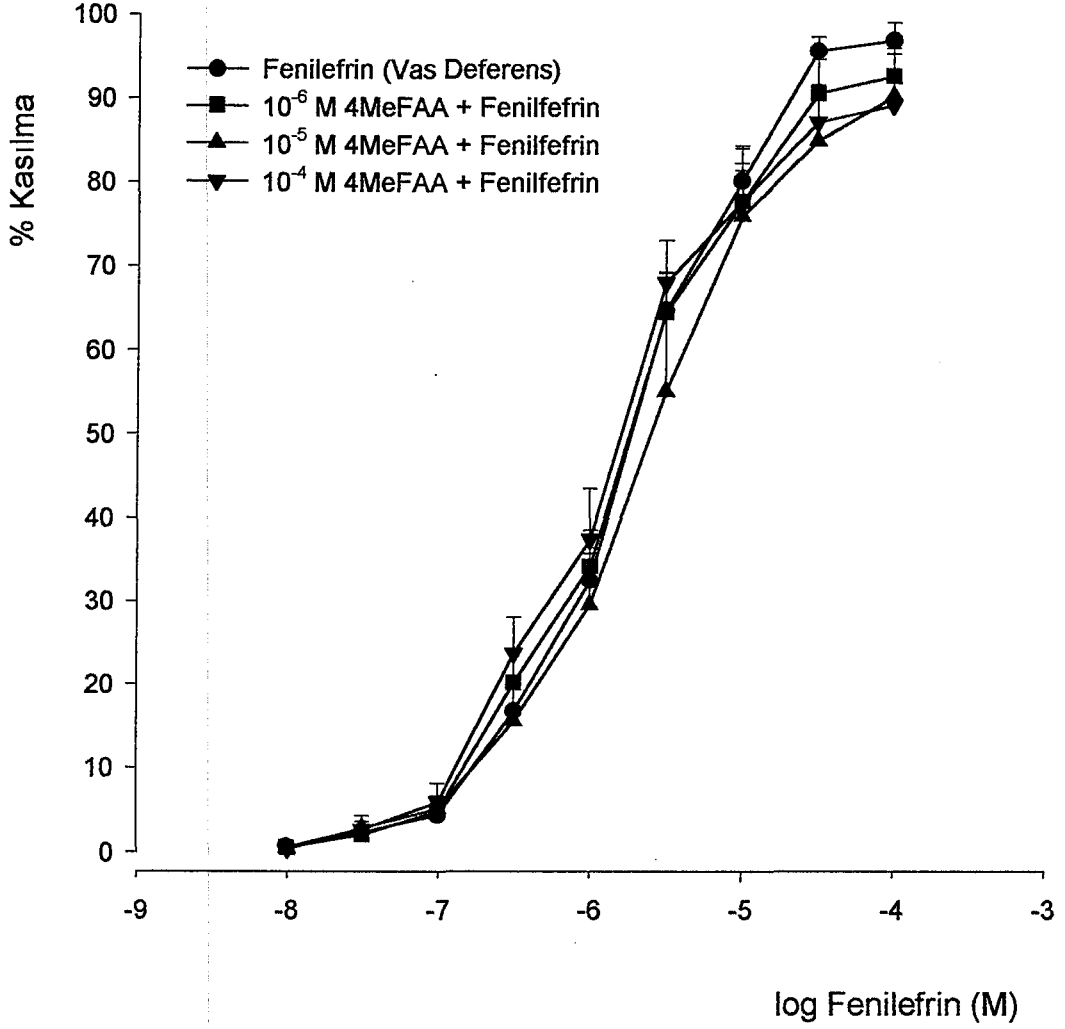
Şekil 3.26. 4-Metilfenoksiasetik asid' in izole mesanede KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



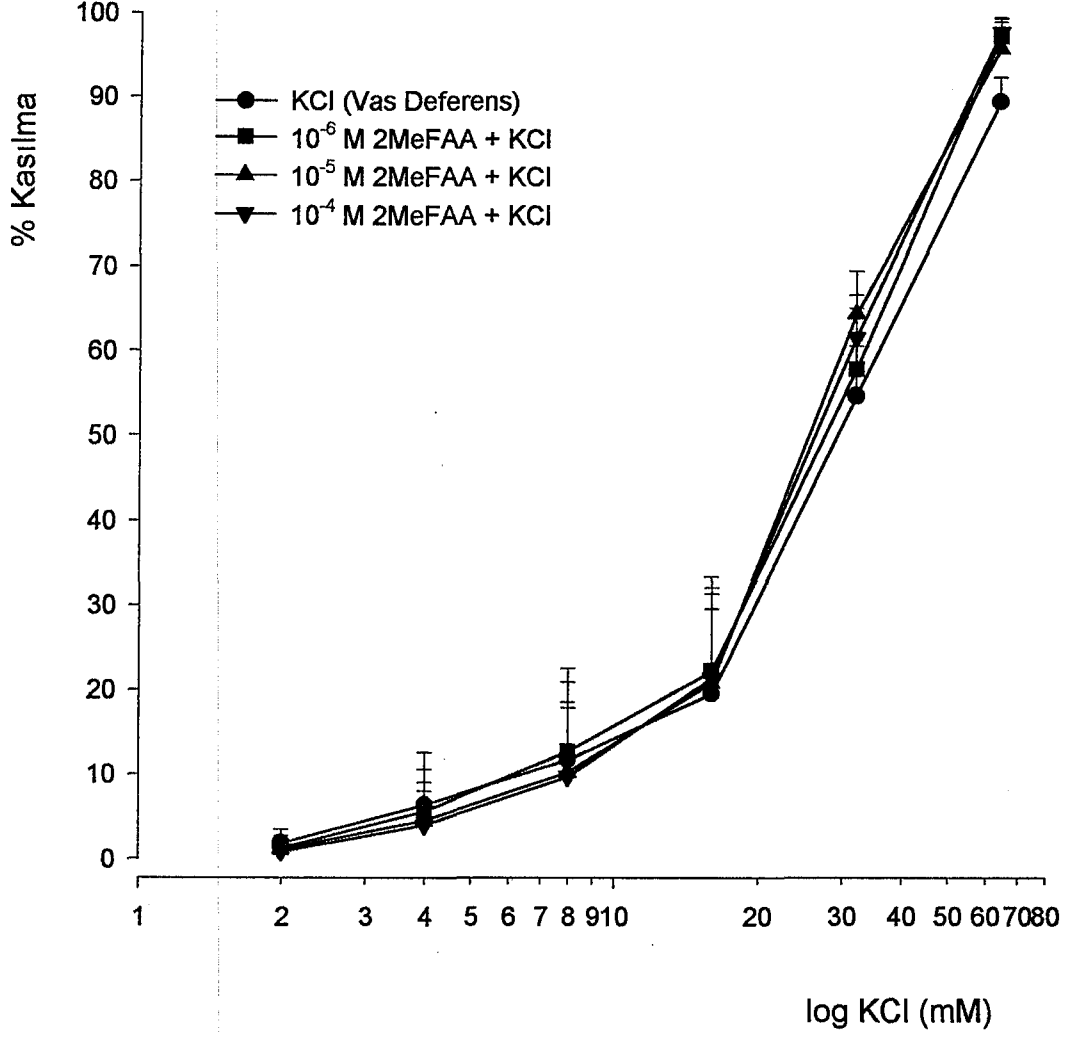
Şekil 3.27. 2-Metilfenoksiasetik asid' in izole vas deferenste fenilefrin yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



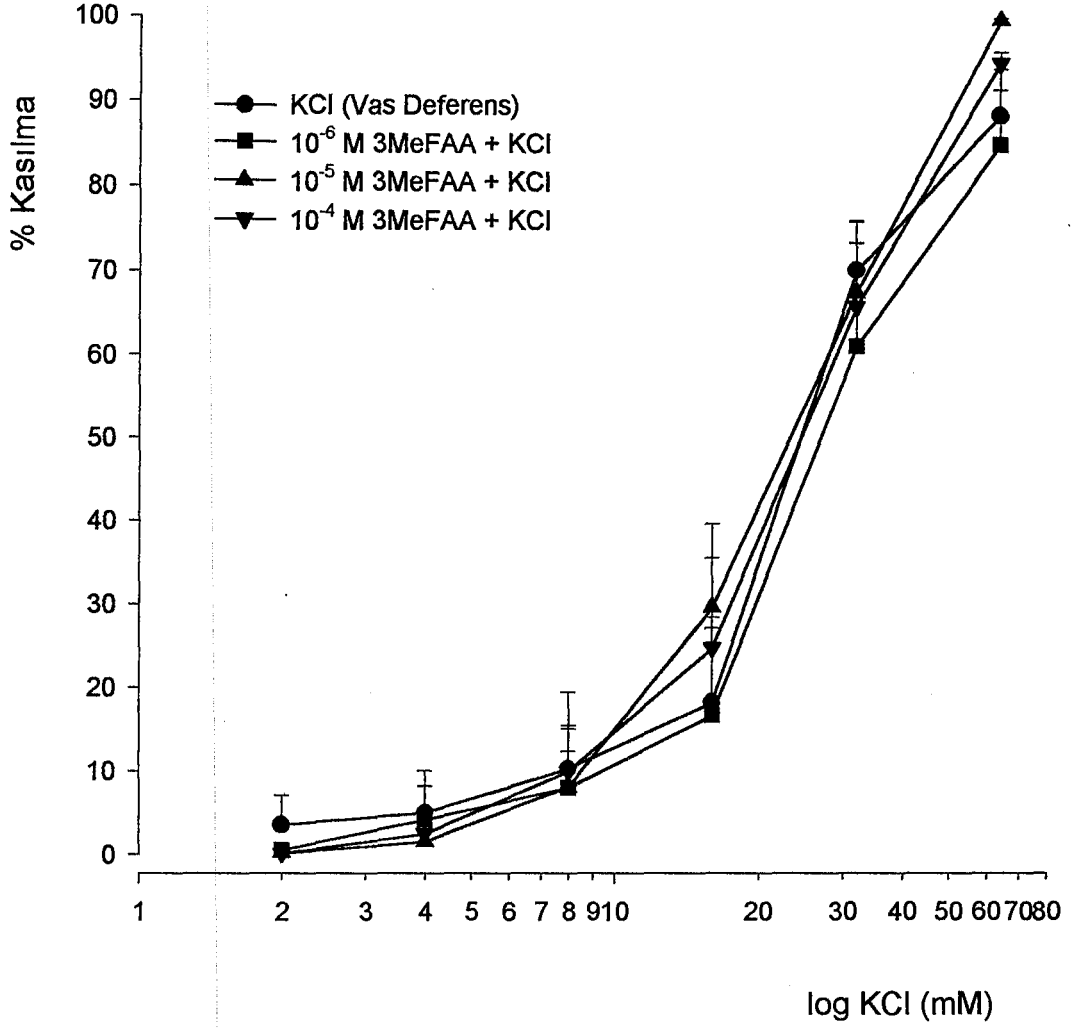
Şekil 3.28 3-Metilfenoksiasetik asid' in izole vas deferenste fenilefrin yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



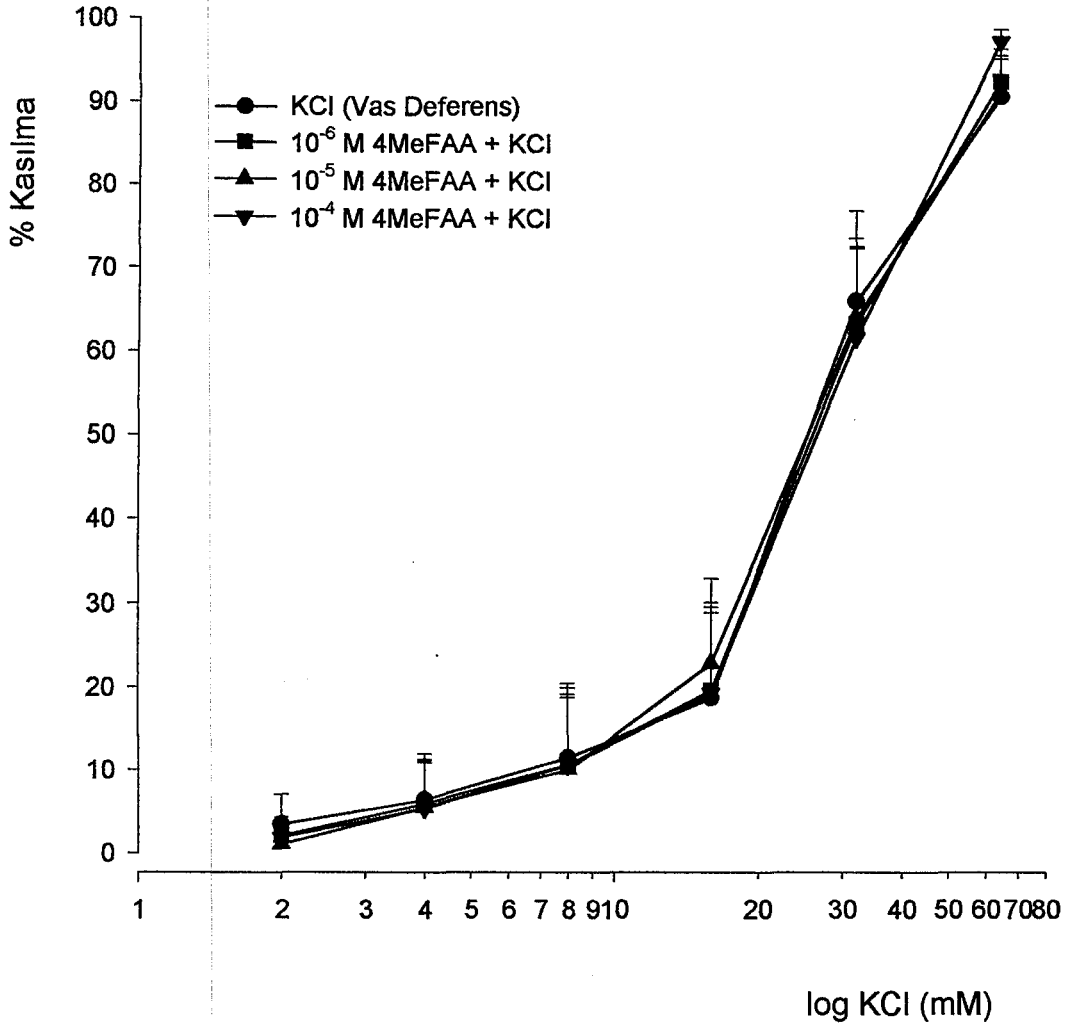
Şekil 3.29. 4-Metilfenoksiasetik asid' in izole vas deferenste fenilefrin yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



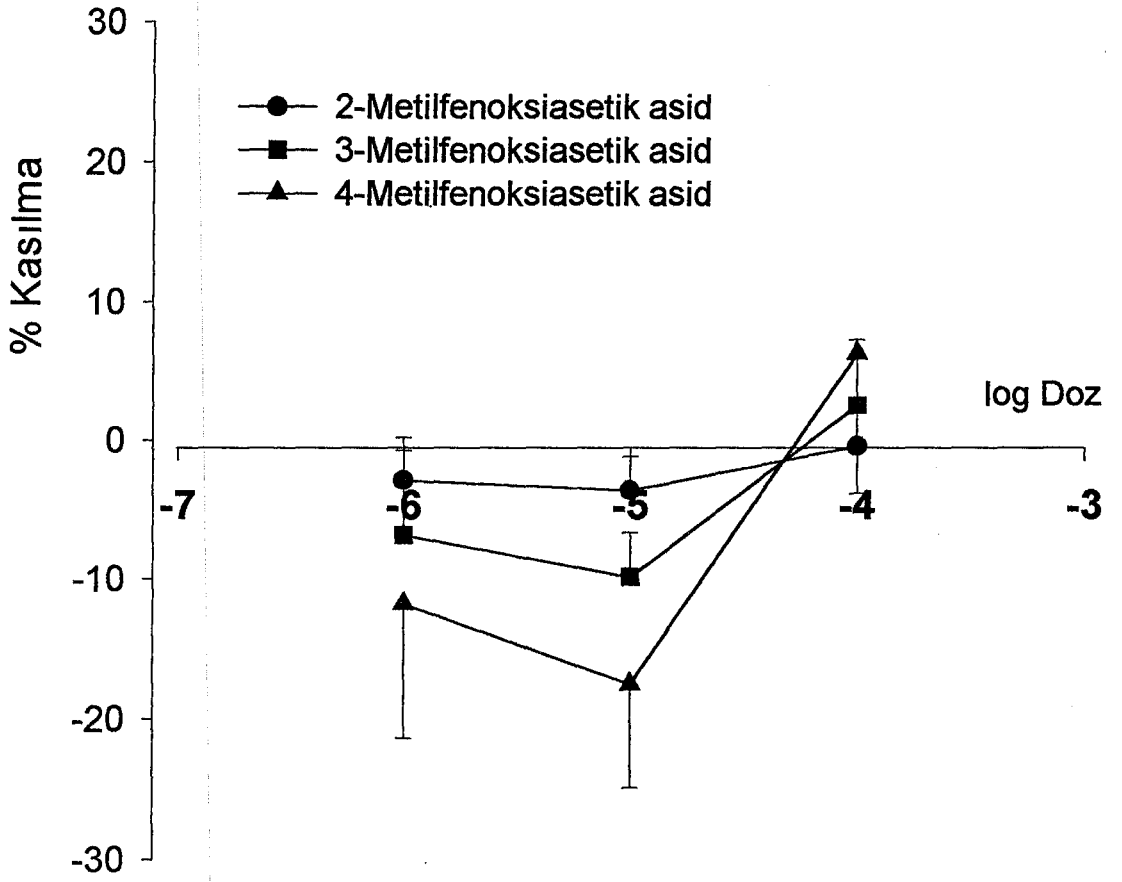
Şekil 3.30. 2-Metilfenoksiasetik asid' in izole vas deferenste KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



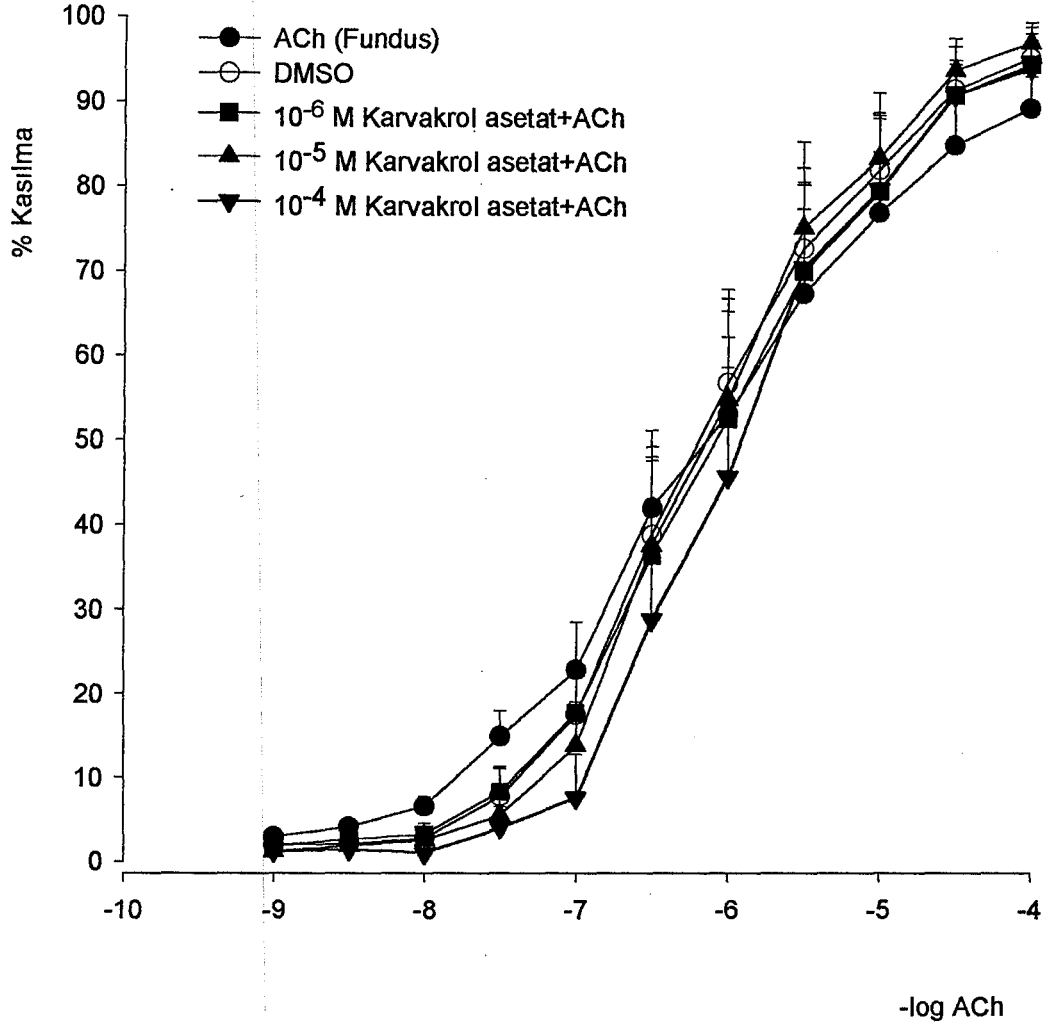
Şekil 3.31. 3-Metilfenoksiasetik asid' in izole vas deferenste KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



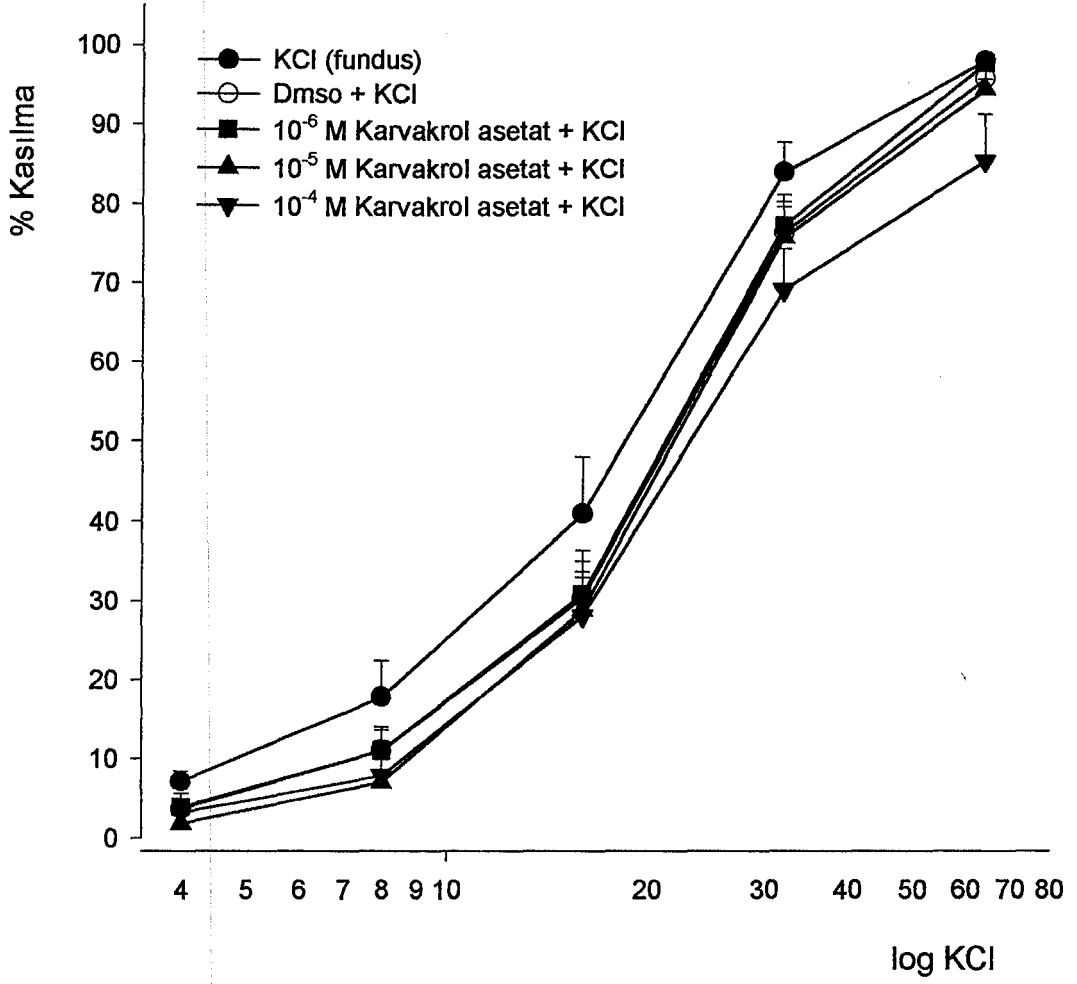
Şekil 3.32. 4-Metilfenoksiasetik asid' in izole vas deferenste KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



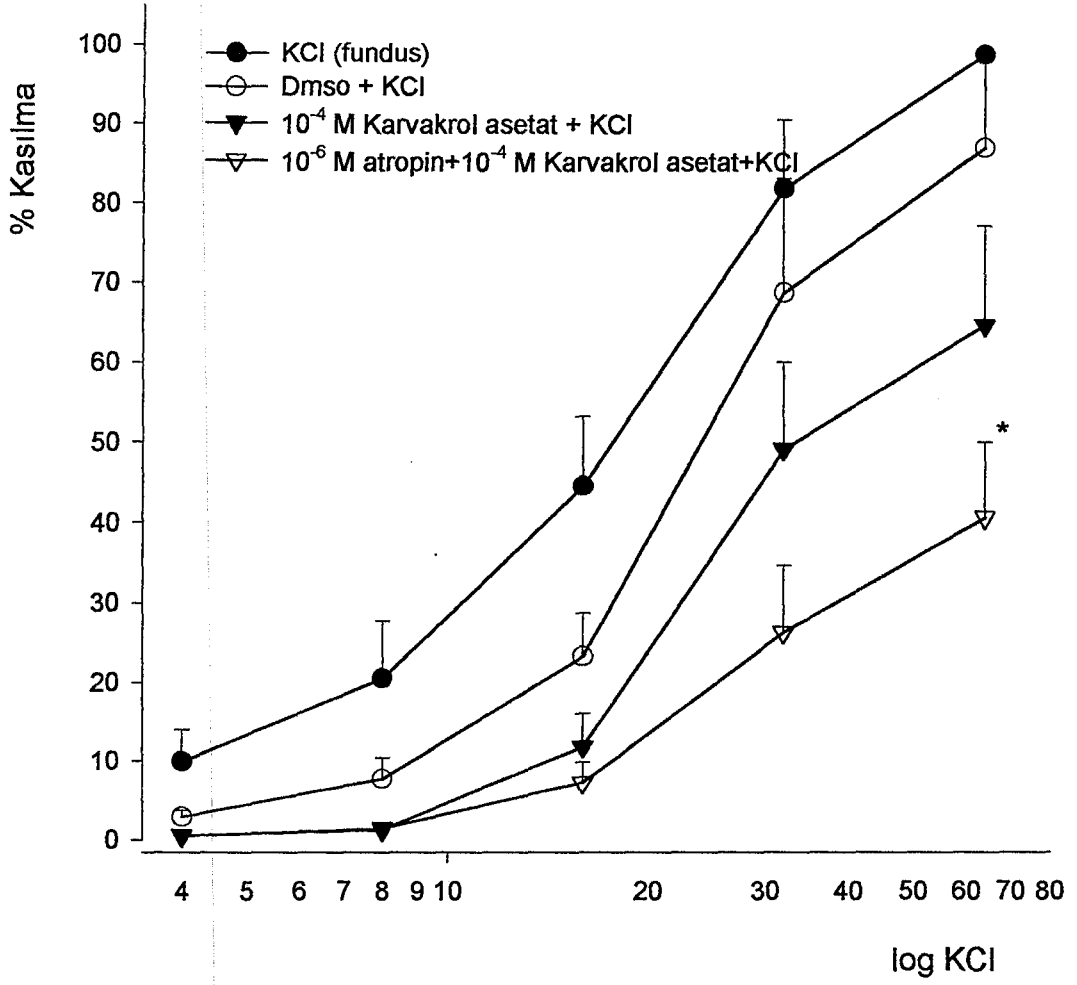
Şekil 3.33. 2-, 3- ve 4-Metilfenoksiasetik asid' in fenilefrin ile prekontrakte edilmiş izole aorta üzerine etkileri. (n=5)



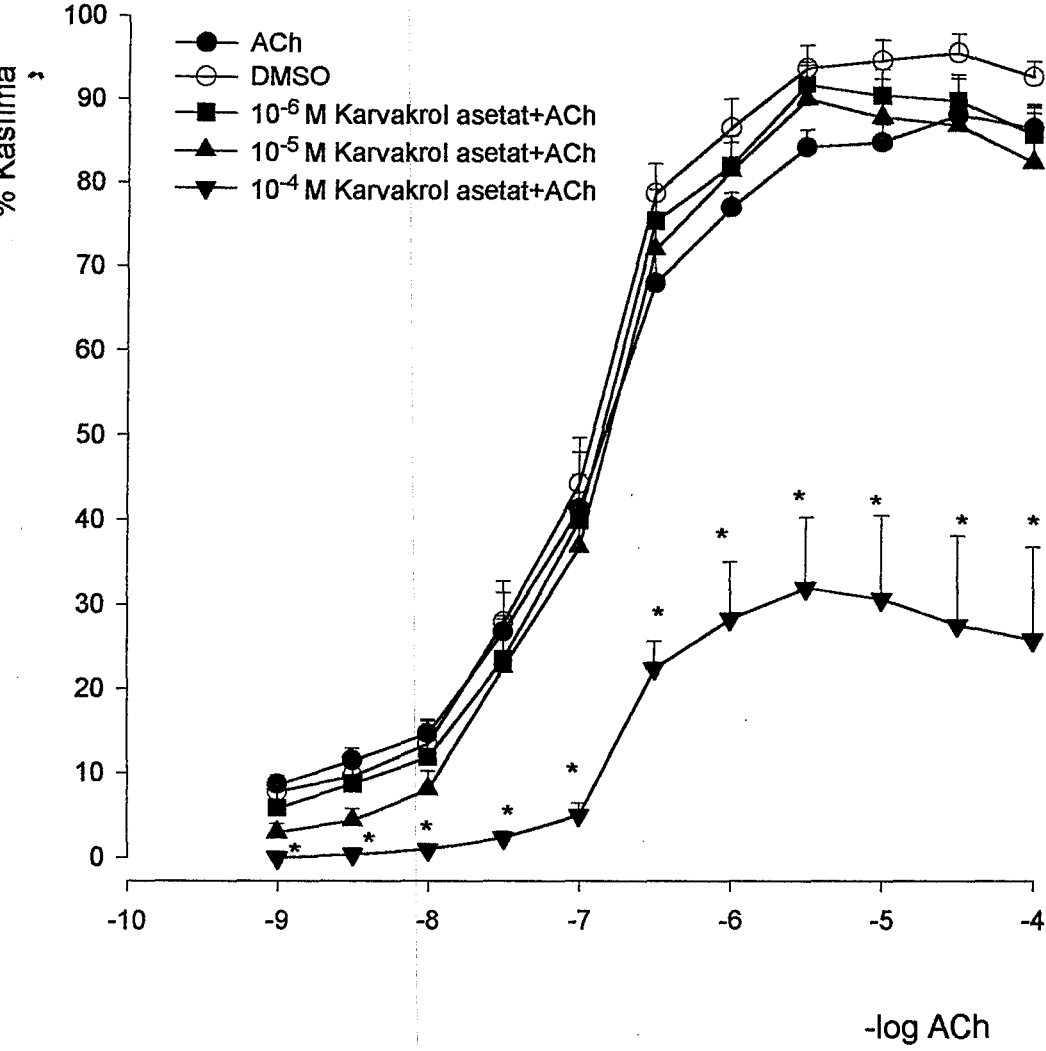
Şekil 3.34 Karvakrol asetat'ın izole mide fundusta ACh yanıtları üzerine etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. (n=5)



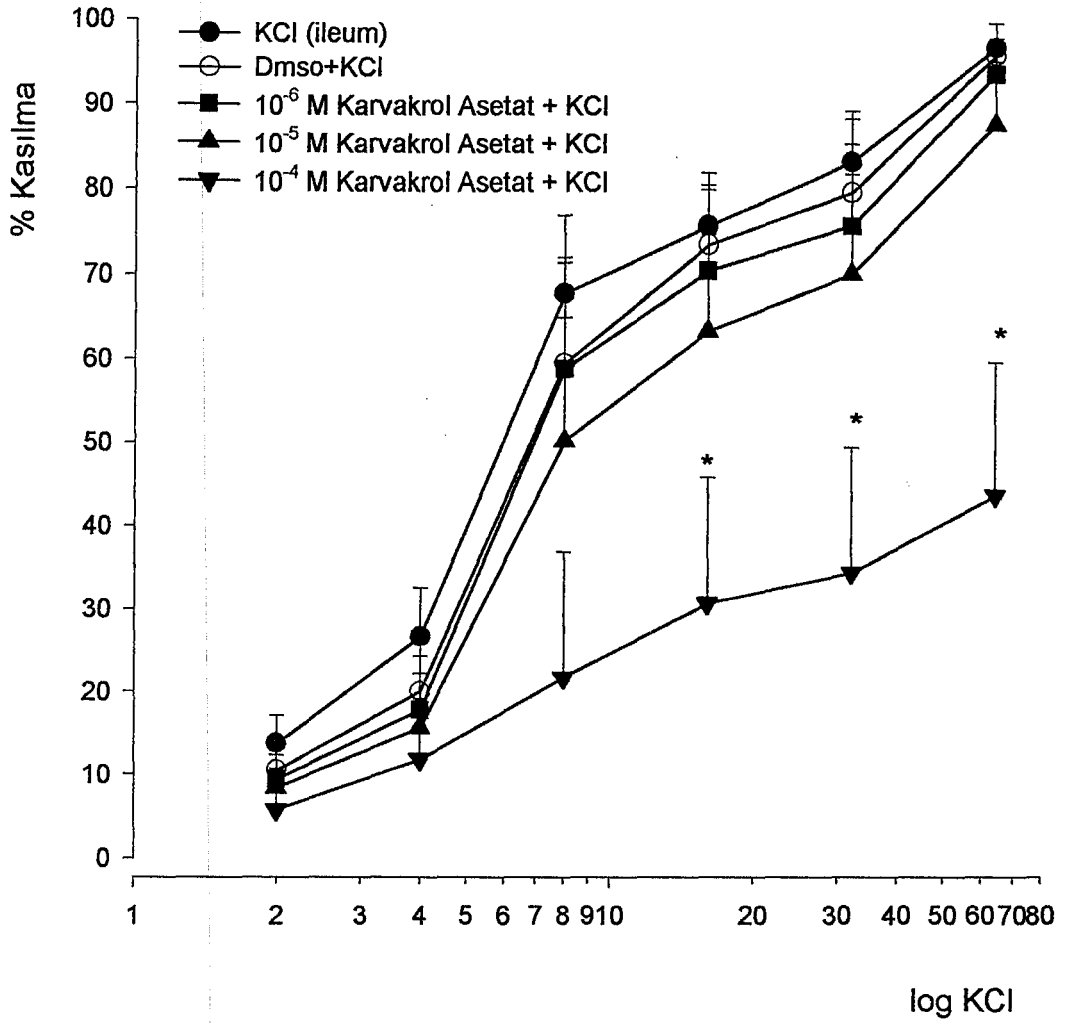
Şekil 3.35 Karvakrol asetat'ın izole mide fundusta KCl yanıtları üzerine etkisi. (n=5)



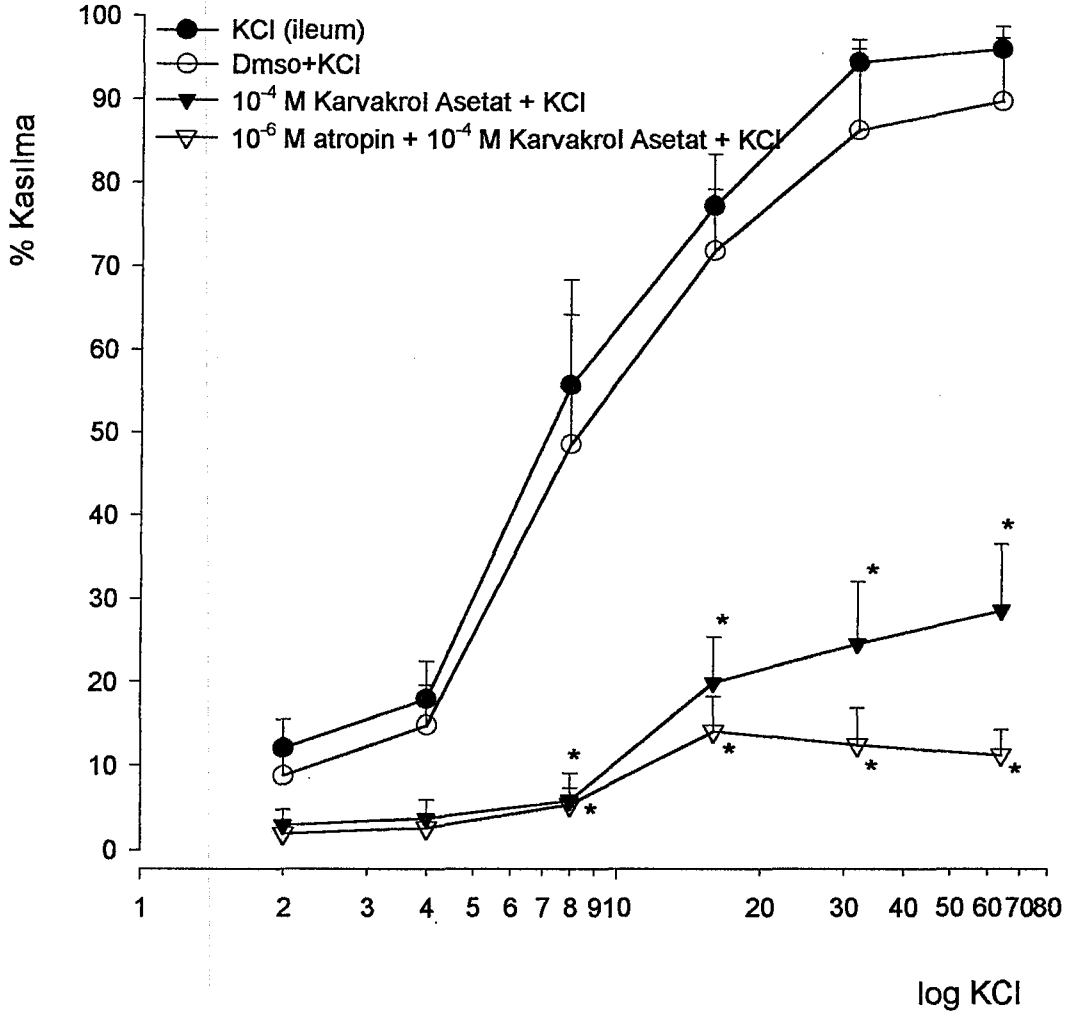
Şekil 3.36 Karvakrol asetat'ın izole mide fundusta atropin sülfat varlığında KCl yanıtları üzerine inhibitör etkisi. $p < 0.05$ (n=5)



Şekil 3.37 Karvakrol asetat'ın izole ileumda ACh yanıtları üzerine inhibitör etkisi. ACh dozları molarite (M) olarak verilmiştir. $p < 0.05$ (n=5)



Şekil 3.38 Karvakrol asetat'ın izole ileumda KCl yanıtları üzerine inhibitör etkisi. $p < 0.05$ (n=5)



Şekil 3.39 Karvakrol asetat' ın izole ileumda atropin sülfat varlığında KCl yanıtları üzerine inhibitör etkisi $p < 0.05$ (n=5)

Karvakrol asetat' ın 10^{-4} M dozunda oluşturulan yanıtlar ile 10^{-6} M atropin varlığında oluşturulan yanıtlar arasında istatistiksel olarak anlamlılık yoktur. ($p > 0.05$) (n=5)

Çizelge 3.1 Test edilen maddelerin organlara ve etki sonuçlarına göre sınıflandırılması

<u>Organ ve Test Maddesi</u>	<u>ETKİ</u>
1. Fundus	
Fundus-ACh	
2metil-fenoksiasetik asid [fundus-ACh]	inhibisyon [10^{-4} M ve 10^{-5} M]
3metil-fenoksiasetik asid [fundus-ACh]	etkisiz
4metil-fenoksiasetik asid [fundus-ACh]	etkisiz
Fundus-KCl	
2metil-fenoksiasetik asid [fundus-KCl]	etkisiz
3metil-fenoksiasetik asid [fundus-KCl]	etkisiz
4metil-fenoksiasetik asid [fundus-KCl]	etkisiz
2. Duodenum	
Duodenum-ACh	
2metil-fenoksiasetik asid [duodenum-ACh]	etkisiz
3metil-fenoksiasetik asid [duodenum-ACh]	etkisiz
4metil-fenoksiasetik asid [duodenum-ACh]	etkisiz
Duodenum-KCl	
2metil-fenoksiasetik asid [duodenum-KCl]	eksitasyon [10^{-4} M ve 10^{-5} M]
3metil-fenoksiasetik asid [duodenum-KCl]	eksitasyon [10^{-4} M]
4metil-fenoksiasetik asid [duodenum-KCl]	etkisiz
Duodenum, Atropin + KCl	
2metil-fenoksiasetik asid [duodenum-atropin-KCl]	etkisiz
3metil-fenoksiasetik asid [duodenum-atropin-KCl]	etkisiz
3. İleum	
İleum-ACh	
2metil-fenoksiasetik asid [ileum-ACh]	etkisiz
3metil-fenoksiasetik asid [ileum-ACh]	etkisiz
4metil-fenoksiasetik asid [ileum-ACh]	etkisiz
İleum-KCl	
2metil-fenoksiasetik asid [ileum-KCl]	etkisiz
3metil-fenoksiasetik asid [ileum-KCl]	etkisiz
4metil-fenoksiasetik asid [ileum-KCl]	etkisiz
4. Mesane	
Mesane-ACh	
2metil-fenoksiasetik asid [mesane-ACh]	eksitasyon [10^{-4} M]
3metil-fenoksiasetik asid [mesane-ACh]	eksitasyon [10^{-5} M]
4metil-fenoksiasetik asid [mesane-ACh]	etkisiz

Çizelge 3.1 (Devam) Test edilen maddelerin organlara ve etki sonuçlarına göre sınıflandırılması

<u>Organ ve Test Maddesi</u>	<u>ETKİ</u>
Mesane-KCl	
2metil-fenoksiasetik asid [mesane-KCl]	etkisiz
3metil-fenoksiasetik asid [mesane-KCl]	etkisiz
4metil-fenoksiasetik asid [mesane-KCl]	etkisiz
5. Vas deferens	
Vas deferens-KCl	
2metil-fenoksiasetik asid [Vas deferens-KCl]	etkisiz
3metil-fenoksiasetik asid [Vas deferens-KCl]	etkisiz
4metil-fenoksiasetik asid [Vas deferens-KCl]	etkisiz
Vas deferens-Fenilefrin	
2metil-fenoksiasetik asid [Vas deferens-FE]	etkisiz
3metil-fenoksiasetik asid [Vas deferens-FE]	etkisiz
4metil-fenoksiasetik asid [Vas deferens-FE]	etkisiz
2metil-fenoksiasetik asid [Vas deferens-FE]	etkisiz
3metil-fenoksiasetik asid [Vas deferens-FE]	etkisiz
4metil-fenoksiasetik asid [Vas deferens-FE]	etkisiz
6. Aorta	
Fenilefrin-prekontrakte	etkisiz
7 Fundus	
Fundus-ACh	etkisiz
10 ⁻⁶ M Karvakrol asetat	etkisiz
10 ⁻⁵ M Karvakrol asetat	etkisiz
10 ⁻⁴ M Karvakrol asetat	etkisiz
Fundus-KCl	
10 ⁻⁶ M Karvakrol asetat	etkisiz
10 ⁻⁵ M Karvakrol asetat	etkisiz
10 ⁻⁴ M Karvakrol asetat	etkisiz
10 ⁻⁶ M Atropin + 10 ⁻⁴ M Karvakrol asetat	inhibisyon
8. İleum	
İleum-ACh	
10 ⁻⁶ M Karvakrol asetat	etkisiz
10 ⁻⁵ M Karvakrol asetat	etkisiz
10 ⁻⁴ M Karvakrol asetat	inhibisyon [tüm dozlarda]
İleum-KCl	
10 ⁻⁶ M Karvakrol asetat	etkisiz
10 ⁻⁵ M Karvakrol asetat	etkisiz
10 ⁻⁴ M Karvakrol asetat	inhibisyon [16, 32, 64 mM KCl]
10 ⁻⁶ M Atropin + 10 ⁻⁴ M Karvakrol asetat	inhibisyon [8, 16, 32, 64 mM KCl]

4. TARTIŞMA

Fenoksiasetik asid'in, mefenesin'de olduğu gibi ilaç olarak alınması ile (3), ya da boya, mürekkep, banyo tuzu, deterjanlar, çeşitli kozmetikler ve bazı antiseptiklere maruz kalma sonucunda vücutta oluşan bir metabolit olduğu (4) bilinmektedir. Fenoksiasetik asid'in özellikle klor ile türevlendirilmiş şekilleri herbisid etki gösterir ve çevresel bir öneme sahiptirler (49-69, 51, 57, 60, 61, 71). Bu maddelerin monoamin düzeylerini değiştirme ve kolinesteraz enzimiyle etkileşme (52) de dahil olmak üzere bazı etkileri bildirilmiş, ancak genellikle klorlu türevlerin toksik etkileri (63) üzerinde çalışmaların yapıldığı görülmüştür.

Günlük yaşamda sıkça karşılaşılabildiğimiz maddelerin metaboliti olarak insan ve canlılarda oluşan fenoksiasetik asidler, aynı zamanda çeşitli maddelerin ve ilaçların sentezlerinde başlangıç maddesi veya ara bileşik olarak kullanılırlar. Ayrıca bu maddelerin bazı kompleksleri çeşitli ilaçların yapısında da bulunabilmektedir (110-112). Aynı substituentin *orto-*, *meta-* ya da *para-* konumunda bulundurulmasına göre farmakolojik etkilerin farklılaştığı bilinmektedir (192). Bu nedenle, bu çalışmada molekül üzerindeki metil grubunu *orto-*, *meta-* ve *para-* pozisyonunda taşıyan fenoksiasetik asid'in üç ayrı türevinin, bir diğer ifadeyle fenoksiasetik asidin 2-, 3- ve 4-metil'li türevlerinin (2-metilfenoksiasetik asid, 3-metilfenoksiasetik asid, 4-metilfenoksiasetik asid) düz kaslar üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

2-metilfenoksiasetik asid ile karşılaştırıldığında, 2-metilfenoksi ortak yapısına sahip olan, ancak aromatik halkanın 5. pozisyonunda bir izopropil grubu taşıyan ve alifatik yan zincirinde asetik asid yerine asetil grubu bulunduran karvakrol asetat da çalışmamızda test maddesi olarak kullanılmış olan bir diğer maddedir (Şekil 1.1. ve Şekil 1.2.). Bu yapısal yakınlığa ek olarak karvakrol asetat test maddesi olarak, bu çalışmalarda kullanılmış olan monometilfenoksiasetik asidler gibi üzerinde hemen hiç farmakolojik araştırmanın yapılmadığı bir madde özelliği taşımaktadır. Bu bilgilere ek olarak son zamanlarda farmasötik endüstride de çeşitli kimyasal maddelerin yanısıra küçük moleküller üzerinde çalışmalar yapıldığı bildirilmektedir (193).

Çalışmamızdan elde edilen bulgulara göre, 4-metilfenoksiasetik asid'in teste tabi tutulan üç farklı dozun (10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M) hiçbirinin test edilen organlar (fundus, duodenum, ileum, mesane, vas deferens ve aorta) üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye yol açmadığı bulunmuştur (Çizelge 3.1, Şekil 3.3, 3.6, 3.9, 3.12, 3.17, 3.20, 3.23, 3.26, 3.29, 3.32). Aorta üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye yol açmamış olmakla birlikte, 10^{-5} M dozunda en fazla inhibisyona neden olan türev olması dikkati çekmiştir (Şekil 3.33).

3-Metilfenoksiasetik asid sadece duodenum ve mesane üzerinde etki göstermiş, test edilen diğer organlarda herhangi bir etki göstermemiştir. Her iki organda kasılmayı artırıcı yönde etki etmiş ancak duodenumda KCl ile oluşturulan kasılmayı artırırken, mesanede ACh ile oluşturulan kasılmaları artırdığı görülmüştür. Duodenumdaki etkisi, 10^{-4} M dozunda uygulandığında sadece 32 mM KCl ile oluşturulan kasılmada gözlenmiştir (Şekil 3.11). Duodenumdan farklı olarak, maddenin mesaneye uygulanan 10^{-5} M dozunda sadece 10^{-4} M ACh ile oluşturulan kasılmaları artırdığı bulunmuştur (Şekil 3.22).

KCl ile oluşan düz kas kasılmalarında, hücre zarında oluşan depolarizasyon sonucu voltaja bağlı kalsiyum kanallarının açılması ve hücre içinde artan serbest kalsiyum iyon konsantrasyonu nedeni ile kasılma olduğu bilinmektedir (194, 195). ACh ile oluşan kasımlarda ise muskarinik reseptörlerin spesifik olarak uyarılması ile G_q proteinleri üzerinden IP_3 yolağının aktivasyonu ve bunun sonucunda endoplazmik retikulumdan salınarak sitoplazmada artan serbest kalsiyum iyon konsantrasyonu nedeniyle kasılmanın gerçekleştiği bilinmektedir (196). 3-Metilfenoksiasetik asid'in duodenum üzerinde KCl kasılmalarını artırmasının muskarinik reseptörler üzerinden olmadığı atropin kullanılarak yapılan deneylerle anlaşılmıştır (Şekil 3.14).

3-Metilfenoksiasetik asid'in iyon kanallarını açarak intrasellüler serbest kalsiyum konsantrasyonunu yükseltmesi durumunda, hem KCl ile hem ACh ile oluşan kasımlarda bir artış olması beklenmelidir. Ancak, ACh ile oluşan kasımlardaki artışın fundus, duodenum, ileum gibi organlarda görülmeyip sadece mesanede görülmüş olması, iyon kanalları üzerinden etki olasılığını

azaltmaktadır. Deneylemizden elde edilen bulgular ışığında, mesaneye spesifik (iyon kanalı gibi) bir yapı ile maddenin etkilemiş olması bir diğer olasılıktır. Bu olasılık ve maddenin organa göre bu şekilde farklılık göstermesinin mekanizması deneylemizde araştırılmamıştır.

2-Metilfenoksiasetik asid, 3-metil'li türevine benzer olarak duodenum ve mesanede kasılmaları artırıcı yönde etkili olmuş, bu etkilere ek olarak izole sıçan mide fundusunda ACh kasılmaları üzerinde inhibisyon yapmıştır (Şekil 3.1, 3.7, 3.15, 3.21, 3.27).

İzole sıçan duodenumu üzerinde 2-metilfenoksiasetik asid 10^{-4} M ve 10^{-5} M dozunda olmak üzere 32 mM KCl ile oluşturulan kasılmaları artırmıştır (Şekil 3.10). Mesane üzerinde test maddesi 10^{-4} M dozunda uygulandığında asetilkolinin 10^{-4} M dozundaki kasılmasını artırmıştır (Şekil 3.21). Bu açıdan 2-metil'li türevin etkileri 3-metil'li türeve benzemekle birlikte, duodenumdaki etkisinin maddenin 10^{-5} M dozunda da görülmüş olması nedeniyle, 3-metil'li türeve göre daha güçlü bir etkiden bahsetmek doğru olacaktır. Duodenum üzerinde atropin varlığında maddenin verdiği cevap 3-metil'li türeve benzer şekilde anlamlı değildir (Şekil 3.13) ve şu anda açıklığa kavuşmamış olan aynı olası mekanizmaların çalıştığı düşünülmelidir.

2-Metilfenoksiasetik asid, 3- ve 4-metilfenoksiasetik asid türevlerinden farklı olarak izole sıçan mide fundus preparatı üzerinde ACh kasılmalarını inhibe etmiştir. Bu inhibisyonun doza bağlı olduğu, 10^{-6} M dozundaki test maddesinin etkisiz, maddenin 10^{-5} M dozunda sadece 10^{-3} M ACh dozunda inhibitör etkili, maddenin 10^{-4} M dozunda ise 10^{-3} M ve 10^{-4} M ACh dozlarında inhibitör etkili olduğu bulunmuştur (Şekil 3.1). Maddenin inhibitör etkisinin non-kompetitif nitelikte olması ve duodenumda atropinden etkilenmemiş olması nedeniyle etki mekanizmasında muskarinik reseptörlerin rol oynamadığı sonucuna varılmıştır.

2-Metilfenoksiasetik asid'in, ACh kasılmalarını fundusta inhibe ederken, duodenum ve ileum üzerinde etkisiz olması, ayrıca bu kasılmaları mesanede artırmış olması organa spesifik etkilerin varlığını göstermiştir.

Vas deferenste gerek fenilefrin gerekse KCl ile oluşturulan kasılmalar üzerinde maddenin etkisiz olması nedeniyle, 2-metilfenoksiasetik asid'in non-kolinerjik non-adrenerjik mekanizmaları kullandığı sonucuna varılmıştır.

Nitrerjik, purinerjik, VIPerjik ve guanil siklaz gibi çeşitli olası mekanizmalara ilişkin deneyler bu çalışmada yapılmamış, bu nedenle çalışmamızda 2-metilfenoksiasetik asid'in bu etkilerine ilişkin mekanizmalar üzerinde yeterli veri bu çalışmada sunulmamış ve bu nedenle maddenin etki mekanizmasına ilişkin bir sonuca varılmamıştır. Öte yandan 2-metilfenoksiasetik asid'in bu etkileri bildiğimiz kadarıyla ilk kez çalışmamızda gösterilmiş bulunmaktadır.

Denelerimizden elde edilen bulgular ışığında, gastrointestinal ve mesane düz kaslarında, fenil halkasındaki metil grubunun *para* pozisyonundan *orto* pozisyonuna kaymasına paralel olarak etkinin ortaya çıktığı görülmektedir. Hiç bir etkinin görülmediği vas deferens için ise bu düşüncenin geçerli olmadığı sonucuna varılmıştır.

Fenilefrin ile prekontrakte izole sıçan aortası üzerinde, maddelerin 10^{-5} M dozlarında olmak üzere, en fazla inhibitör etkinin 4-metilfenoksiasetik asid tarafından, en az etkinin 2-metilfenoksiasetik asid tarafından gösterilmiş olması nedeniyle, bu etki yönünün gastrointestinal dokuya göre ters yönde çalıştığı ileri sürülebilir. Bir diğer deyişle, fenil grubu üzerindeki metil grubunun *orto* pozisyonundan *para* pozisyonuna kaymasına paralel olarak vasküler dokuda etkinin ortaya çıktığını ileri sürmek mümkün olabilir. Öte yandan bu düşüncenin, kimyasal yapısı farklı başka maddeler kullanılarak test edilmesinde ve genel bir özellik olup olmadığı konusunda yeterli veri elde edilmesinde yarar vardır.

Karvakrol asetat'ın test edilen üç ayrı (10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M) dozunda izole sıçan mide fundusu üzerinde ACh ve KCl ile oluşturulan kasılmalara etkisi olmadığı görülmüştür (Şekil 3.34 – 3.35). Karvakrol asetat'ın 10^{-4} M dozu, atropin ile birlikte test edildiğinde 64 mM KCl kasılmasını non-kompetitif olarak inhibe ettiği gözlenmiştir (Şekil 3.36). Böylece atropinsiz ortamda istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir inhibisyon görülmezken, atropin varlığında anlamlı bir

inhibisyon oluşması ile muskarinik mekanizmaların bu inhibisyonda rol oynadığı anlaşılmıştır.

Fundustan farklı olarak, karvakrol asetat'ın 10^{-4} M dozu, izole sıçan ileumu üzerinde 10^{-9} M ACh dozu da dahil olmak üzere, ACh ile oluşturulan kasılmaları non-kompetitif olarak inhibe etmiştir (Şekil 3.37). İleumda maddenin 10^{-4} M dozu verildiğinde, KCl ile oluşturulan kasılmalar üzerinde inhibitör etkili olduğu görülmüştür. İleumda 16, 32 ve 64 mM KCl dozlarına karşı maddenin bu inhibisyonu, atropin varlığında 8 mM KCl dozu da dahil olmak üzere daha artmıştır. Atropin verilen grup değerleri kontrol (DMSO) grubuna göre anlamlı olmakla birlikte, karvakrol asetat'ın 10^{-4} M grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (Şekil 3.39). Karvakrol asetat'ın 10^{-4} M dozu, fundustan farklı olarak, ileumda atropinsiz ortamda da hem ACh hem KCl ile oluşturulan kasımlarda istatistiksel olarak anlamlı inhibisyona neden olmuştur. Ayrıca bu inhibisyonun asetilkolinin tüm dozlarında görülmesi, ileumun karvakrol asetata karşı fundusa göre çok daha duyarlı olduğunu göstermiştir.

Gerek izole ileumdaki inhibitör etkisi, gerekse mide fundustaki inhibisyonun ancak atropin varlığında istatistiksel olarak anlamlı hale gelmesi nedeniyle karvakrol asetat'ın inhibitör etkisinde muskarinik reseptörlerin ve/veya mekanizmaların rolü olduğunu göstermektedir. Muskarinik reseptörlerin atropin ile kapatılmasının maddenin inhibitör etkisinin arttırmış olması dikkat çekicidir. Atropinin inhibitör etkiyi neden daha fazla arttırdığına ilişkin daha fazla veri elde edilmesine yönelik deney yapılamamış, dolayısıyla bu konudaki mekanizmalar üzerinde elimizdeki çalışmalar ve veriler çerçevesinde yorumda bulunmak mümkün olmamıştır.

Öte yandan ileumda KCl kasılmalarının inhibe olması, muskarinik reseptörlere ek olarak, 2-metilfenoksiasetik asid'in yaptığına benzer şekilde, voltaja bağlı iyon kanallarıyla bir etkileşmenin varlığını göstermektedir. Dolayısıyla bu veriler ışığında kalsiyum kanalları ile olası bir etkileşmenin varlığından bahsetmek, bu kanallar üzerinde inhibitör nitelikte bir etki bulunduğunu söylemek mümkündür.

Voltaja bağlı iyon kanallarının ileumda daha fazla etkilenmiş fakat fundusda atropinsiz ortamda etkilenmemiş olması, iki organ arasında bu mekanizma açısından yapısal ve/veya işlevsel bir farklılığın bulunduğuna işaret etmektedir. Bu konunun biyokimyasal, fizyolojik ve farmakolojik daha detaylı çalışmalarla açıklığa kavuşturulmasına ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Breslin, W.J., Phillips, J.E., Lomax, L.G., Bartels, M.J., Dittenber, D.A., Calhoun, L.L., Miller, R.R., Hemolytic activity of ethylene glycol phenyl ether (EGPE) in rabbits. *Fundam. Appl. Toxicol.* **17**: 466-81 (1991).
2. Neidlcin, R., Volland, C., Kramer, W., Spectroscopic properties of the partial beta-agonist doxaminol (BM 10.188) and its methabolites. *Arch. Pharm.* **323**: 259-65 (1990).
3. Tetsuo, M., Kuhara, T., Yoshino, M., Kunitomo, J., Juichi, M., Matsumoto, I., The methabolism of sceletal muscle relaxant, 3-0-tolyloxy-1,2-propanediol (mephenisin) in rats. *Adv. Mass Spectrom. Biochem. Med.* **1**: 129-138 (1976) *Chem. Abstr.* **85**: 72005h (1976).
4. Roper, C.S., Howes, D., Blain, P.G., Williams, F.M., Percutaneous penetration of 2-phenoxyethanol through rat and human skin. *Food Chem. Toxicol.* **35**: 1009-16 (1997).
5. Sudhakaran, V.K., Shewale, J.G., Purification and characterization of extracellular penicillin V acylase from *Fusarium* sp. SKF 235. *Hindustan Antibiot. Bull.* **37**: 9-15 (1995).
6. Kerr, D.E., A colorimetric assay for penicillin-V amidase. *Anal. Biochem.* **209**: 332-334 (1993).
7. Olsson, A., Hagstrom, T., Nilsson, B., Uhlen, M., Gatenbeck, S., Molecular cloning of *Bacillus sphaericus* penicillin V amidase gene and its expression in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **49**: 1084-9 (1985).
8. Chang, L.T., Mcgrory, E.L., Elander, R.P., Hook, D.J., Decreased production of parahydroxy penicillin V in penicillin V fermentations. *J. Ind. Microbiol.* **7**: 175-179 (1991)
9. Torres, R., Ramon, F., De La Mata, I., Acebal, C., Castillon, M.P., Enhanced production of penicillin V acylase from *Streptomyces lavendulae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **53**: 81-4 (1999).
10. Christensen, B., Nielsen, J., Reciprocal (13)c-labeling a method for investigating the catabolism of cosubstrates. *Biotechnol. Prog.* **18**: 163-6 (2002).
11. Emri, T., Leiter, E., Farkas, E., Pocsi, I., Penicillin productivity and glutathione-dependent detoxification of phenylacetic and phenoxyacetic acids in *Penicillium chrysogenum*. *J. Basic Microbiol.* **41**: 67-73 (2001).
12. Fernandez-Canon, J.M., Luengo, J.M., The phenylacetic acid uptake system of *Aspergillus nidulans* is under a creA-independent model of catabolic repression which seems to be mediated by acetyl CoA. *J. Antibiot.* **50**: 45-52 (1997).
13. Boosalis, M.S., Ikuta, T., Pace, B.S., Da-Fonseca, S., White, G.L., Faller, D.V., Perrine, S.P., Abrogation of IL-3 requirements and stimulation of hematopoietic cell proliferation *in vitro* and *in vivo* by carboxylic acids. *Blood. Cells Mol. Dis.* **23**: 434-42 (1997).
14. Sato, S., Komoto, T., Kanamaru, Y., Kawamoto, N., Okada, T., Kaiho, T., Mogi, K., Morimoto, S., Umehara, N., Koda, T., Miyashita, A., Sakamoto, T., Niino, Y., Oka, T., New mu opioid receptor agonists with phenoxyacetic acid moiety. *Chem. Pharm. Bull.* **50**: 292-297 (2002).
15. Shirai, A., Takahashi, Y., Thermal printing material with heat sensitive layer containing phenoxyacetic acid compound. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2000 203,162 Chem. Abstr.* **133**: 127613x (2000).

16. Epstein, D.L., Roberts, B.C., Skinner, L.L., Nonsulphydryl-reactive phenoxyacetic acids increase aqueous humor outflow facility. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **38**: 1526-34 (1997)
17. Puschett, J.B., Pharmacological classification and renal actions of diuretics. *Cardiology* **84**: Suppl 24-13 (1994).
18. James, S.I., Ahokas, J.T., Modulation of sulphobromophthalein excretion by ethacrynic acid. *Xenobiotica* **22**: 1433-1439 (1992).
19. McNabb, W. R., Noormohamed, F.H., Brooks, B.A., Lant, A.F., Renal actions of piretanide and three other "loop" diuretics. *Clin. Pharmacol. Ther.* **35**: 328-37 (1984).
20. Brooks, B.A., Lant, A.F., McNabb, W.R., Noormohamed, F.H., Stereo-specificity of diuretic receptors in the nephron: a study of the enantiomers of indacrinone (MK-196) in man. *Ren. Physiol.* **7**: 304-10 (1984).
21. Fehring, S.I., Ahokas, J.T., Effect of the glutathione S-transferase inhibitor, tienilic acid, on biliary excretion of sulphobromophthalein. *Chem. Biol. Interact.* **69**: 23-32 (1989).
22. Lemieux, G., Beauchemin, M., Gougoux, A., Vinay, P., Treatment of arterial hypertension with tienilic acid, a new diuretic with uricosuric properties. *Can. Med. Assoc. J.* **118**: 1074-8 (1978).
23. Wong, C.M., Tse, T.F., Comparison of the metabolic and antihypertensive properties of tienilic acid and hydrochlorothiazide. *Med. J. Aust.* **1**: 243-5 (1981).
24. Motais, R., Cousin, J.L., A structure-activity study of some drugs acting as reversible inhibitors of chloride permeability in red cell membranes: Influence of ring substituent. *Cell Membr. Recept. Drugs Horm.; Multidiscip. Approach* 219-225 (1978) *Chem Abstr.* **90**: 16069y (1979).
25. Motais, R., Cousin, J.L., Inhibitory effect of ethacrynic acid on chloride permeability. *Am. J. Physiol.* **231**: 1485-1489 (1976) *Chem Abstr.* **85**: 186538q (1976).
26. Brooks, B.A., Blair, E.M., Finch, R., Lant, A.F., Studies on the mechanism and characteristics of action of a uricosuric diuretic, indacrinone (MK-196). *Br. J. Clin. Pharmacol.* **10**: 249-258 (1980).
27. Bicking, J.B., Holtz, W.J., Watson, L.S., Cragoe, E.J., (Vinylaryloxy)acetic acids. A new class of diuretic agents. 1. (Diacylvinylaryloxy)acetic acids. *J. Med. Chem.* **19**: 530-535 (1976).
28. Schultz, E.M., Bicking, J.B., Deana, A.A., Gould, N.P., Strobaug, T.P., WATSON, L.S., Cragoe, E.J., (Vinylaryloxy)acetic acids. A new class of diuretic agents. 3. ((2-Nitro-1-alkenyl)aryloxy)acetic acids. *J. Med. Chem.* **19**: 783-787 (1976).
29. Metz, G., Specker, M., Zur Chemie der Phenoxyessigsäureester von Oxyalkyltheophyllinen und 1-(Theophyllin-7-yl)-äthyl-2-[2-(p-chlorphenoxy)-2-methylpropionat] (Etofillinclofibrat), einem neuen Antilipamikum. *Arzneimittelforschung.* **30**: 2014-2019 (1980).
30. Gombar, V., Kapoor, V.K., Singh, H., Quantitative structure-activity studies. 2nd Communication: De novo calculations on antilipemic activity of 4-(4-chlorobenzyl)phenoxyacetic acid esters. *Arzneimittelforschung* **32**(1): 7-9 (1982).
31. Labarrios, F., Garduno, L., Vidal, M.R., Garcia, R., Salazar, M., Martinez, E., Diaz, F., Chamorro, G., Tamariz, J., Synthesis and hypolipidaemic evaluation of a series of alpha-asarone analogues related to clofibrate in mice *J. Pharm. Pharmacol.* **51**: 1-7 (1999).

32. Verheggen, R., Schror, K., The modification of platelet-induced coronary vasoconstriction by thromboxane receptor antagonist. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **34**: 2157-2161 (1985).
33. Dahl, S., Hallbrucker, C., Lang, F., Haussinger, D., Role of eicosanoids, inositol phosphates and extracellular Ca²⁺ in cell volume regulation of rat liver. *Eur. J. Biochem.*, **198**: 73-83 (1991).
34. Dyson, M.C., Bellan, J.A., Minkes, R.K., Beckerman, R.C., Wegmann, M.J., Braquet, P., Mcnamara, D.B., Kadowitz, P.J., Influence of SK&F 95587 and BN 50730 on bronchoconstrictor responses in the cat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **255**: 1320-1327 (1990).
35. Patscheke, H., Stegmeier, K., Investigation on a selective non-prostanoid thromboxane antagonist, BM 13.177, in human platelets. *Thromb. Res.* **33**: 277-288 (1984).
36. Stegmeier, K., Pill, J., Muller-Beckmann, B., Schmidt, F.H., Witte, E.C., Wolff, H.P., Patscheke, H., The pharmacological profile of the thromboxane A2 antagonist BM 13.177. A new anti-platelet and anti-thrombotic drug. *Thromb. Res.* **35**: 379-395 (1984).
37. Alig, L., Edenhofer, A., Hadvary, P., Hurzeler, M., Knopp, D., Muller, M., Steiner, B., Trzeciak, A., Weller, T., Low molecular weight, non-peptide fibrinogen receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **35**: 4393-4407 (1992).
38. Kawashima, Y., Sato, M., Yamamoto, S., Shimazaki, Y., Chiba, Y., Satake, M., Iwata, C., Hatayama, K., Structure activity relationship study of TXA (2) receptor antagonist 4-(2-(4-substituted phenyl sulphonyl amino)ethylthio) phenoxy acetic acids and related compounds. *Chem. Pharmacol. Bull.* **43**: 1132-1136 (1995).
39. Seiler, S.M., Brassard, C.L., Federici, M.E., Buchanan, J.O., Zavoico, G.B., Fleming, J.S., Meanwell, N.A., 2-[3-[2-(4,5-Diphenyl-2-oxazolyl) ethyl] phenoxy] acetic acid (BMY 42393): a new, structurally-novel prostacyclin partial agonist: 1) Inhibition of platelet aggregation and mechanism of action *Thromb. Res.* **74**: 115-123 (1994).
40. Meanwell, N.A., Romine, J.L., Rosenfeld, M.J., Martin, S.W., Trehan, A. K., Wright, J.J., Malley, M.F., Gougoutas, J.Z., Brassard, C.L., Buchanan, J.O., Nonprostanoid prostacyclin mimetics. 5. Structure-activity relationships associated with [3-[4-(4,5-diphenyl-2-oxazolyl)-5-oxazolyl]phenoxy]acetic acid *J. Med. Chem.* **36**: 3884-3903 (1993).
41. Bardou, M., Dousset, B., Deneuxtharoux, C., Smadja, C., Naline, E., Chaput, J.C., Naveau, S., Manara, L., Croci, T., Advenier, C., *In vitro* inhibition of human colonic motility with Sr 59119A and Sr 59104A- Evidence of a Beta (3) adrenoceptor mediated effect. *Eur. J. Pharmacol.* **353**: 281-287 (1998).
42. Mizuno, K., Kanda, Y., Kuroki, Y., Tomiyama, K., Watanabe, Y., Phosphorylation of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 in 3T3-L1 adipocytes by stimulation of beta (3)-adrenoceptor. *Eur. J. Pharmacol.* **385**: 63-69 (1999).
43. Koike, K., Takayanagi, I., Ichino, T., Koshikawa, H., Nagatomo, T., Beta3-adrenoceptors mediate relaxation of guinea pig taenia caecum by BRL37344A and BRL35135A. *Eur. J. Pharmacol.* **334**: 217-221 (1997).
44. Murphy, G.J., Kirkham, D.M., Cawthorne, M.A., Young, P., Correlation of beta 3-adrenoceptor-induced activation of cyclic AMP-dependent protein kinase with activation of lipolysis in rat white adipocytes. *Biochem. Pharmacol.* **46**: 575-581 (1993).
45. Lezama, E.J., Konkar, A.A., Salazar-Bookaman, M.M., Miller, D.D., Feller, D.R., Pharmacological study of atypical beta-adrenoceptors in rat esophageal smooth muscle. *Biol. Pharm. Bull.* **16**: 39-42 (1993).

46. Preusch, P.C., Suttie, J.W., Mechanism of ticrynafen potentiation of coumarin anticoagulant action. *Biochem. Pharmacol.* **32**: 2393-8 (1983).
47. Chaudhuri, J., Majumdar, K., Amal, K., Chattopadhyay, T.K., Some new fungicidal organotin phenoxyacetates for controlling human dermatomycoses. *Med. Sci. Res.* **15**:1267-1268 (1987).
48. Wille, J.J., Kydonieus, A., Kalish, R.S., Inhibition of irritation and contact hypersensitivity by phenoxyacetic acid methyl ester in mice. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* **13**: 65-74 (2000).
49. Zeljezic, D., Garajrhovac, V., Sister chromatid exchange and proliferative rate index in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides. *Chemosphere* **46**: 295-303 (2002).
50. Kitagawa, W., Takami, S., Miyaguchi, K., Masai, E., Kamagata, Y., Tiedje, J.M., Fukuda, M., Novel 2,4-dichloro phenoxyacetic acid degradation genes from oligotrophic Bradyrhizobium Sp strain Hw13 isolated from a pristine environment. *J. Bacteriol.* **184**: 509-518 (2002).
51. Psomas, G., Dendrinousamara, C., Philippakopoulos, P., Tangoulis, V., Raptopoulou, Cp., Samaras, E., Kessissoglou, Dp., Cu-II-herbicide complexes. Structure and Bioactivity. *Inorg.Chim. Acta* **272**: 24-32 (1998).
52. Lakshmana M.K., Raju, T.R., 2,4-dichlorophenoxyacetic acid alters monoamine levels, acetylcholinesterase activity and operant learning in rats. *Indian J. Med. Res.* **104**: 234-239 (1996).
53. Christiansenweniger, C., Vanderleyden, J., Ammonium excreting Azospirillum Sp become intracellularly established in Maize (*Zea-Mays*) para-nodules. *Biol. Fertil. Soils* **17**: 1-8 (1994).
54. Christiansenweniger, C., N-2 fixation by ammonium excreting Azospirillum Brasilense in auxine-induced root tumors of wheat (*Triticum aestivum* L) *Biol. Fertil. Soils* **13**: 165-172 (1992).
55. Evangelista-De-Duffard, A.M., Brusco, A., Duffard, R., Garcia, G., Pecci-Saavedra, J., Changes in serotonin immunoreactivity in the dorsal and median raphe nuclei of rats exposed to 2,4-dichloro phenoxyacetic acid through lactation. *Mol. Chem. Neuropathol.* **26**: 187-193 (1995).
56. Zahm, S.H., Blair, A., Pesticides and non-Hodkin's lymphoma. *Cancer Res.* **52**(19 suppl): 5485-5488 (1992).
57. Santagostino, A., Leone, M.P., Maci, R., Casale, A., Marabini, L., Effects of phenoxyacetic acid herbicides on chicken embryo liver drug metabolizing enzymes. *Pharmacol. Toxicol.* **68**: 110-114 (1991).
58. Kim, C.S., Keizer, R.F., Pritchard, J.B., 2,4-dichloro phenoxyacetic acid intoxication increases its accumulation within the brain. *Brain Res.* **440**: 216-226 (1988).
59. Mustonen, R., Kangas, J., Vuojolahti, P., Linnainmaa, K., Effects of phenoxyacetic acids on the induction of chromosome aberrations *in vitro* and *in vivo*. *Mutagenesis* **1**: 241-245 (1986).
60. Gershbein, L.L., Effects of phenoxyacetic acids on rat liver regeneration. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* **43**: 325-334 (1984).
61. Vainio, H., Linnainmaa, K., Kahonen, M., Nickels, J., Hietanen, E., Marniemi, J., Peltonen, P., Hypolipidemia and peroxisome proliferation induced by phenoxyacetic acid herbicides in rats. *Biochem. Pharmacol.* **32**: 2775-2779 (1983).

62. Pritchard, J.B., Krall, A.R., Silverthorn, S.U., Effects of anionic xenobiotics on rat kidney. I-Tissue and mitochondrial respiration. *Biochem. Pharmacol.* 31: 149-155 (1982).
63. Palmeira, C.M., Moreno, A.J., Madeira, V.M., Effects of paraquat, dinoseb and 2,4-D on intracellular calcium and on vasopressin-induced calcium mobilization in isolated rat hepatocytes. *Arch. of Toxicol.* 69: 460-466 (1995).
64. Schulze, G.E., Formulation and food deprivation affects 2,4-D neurobehavioral toxicity in rats. *Neurotoxicol. Teratol.* 9: 363-367 (1987).
65. Courtney, K.D., Prenatal effect of herbicides: evaluation by the prenatal development index *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 6: 33-46 (1977).
66. Venkov, P., Topashka-Ancheva, M., Georgieva, M., Alexieva, V., Karanov E., Genotoxic effect of substituted phenoxyacetic acid. *Arch. Toxicol.* 74: 560-566 (2000).
67. Radnoti De Liphay, J., Barkay, T., Vekova, J., Sorensen, S.J., Utilization of phenoxyacetic acid by strains using either the orto or meta cleavage of catechol during phenol degradation, after conjugal transfer of tfdA gene encoding a 2,4-dichlorophenoxyacetic acid /2-oxoglutarate dioxygenase. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51: 207-214 (1999).
68. Kelly, S.J., Guidotti T.L., Phenoxyacetic acid herbicides and chlorophenols and the etiology of lymphoma and soft tissue neoplasms. *Public Health Rev.* 17: 1-37 (1989-1990).
69. Zona, R., Solar, S., Gehringer, P., Degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by ionizing radiation: influence of oxygen concentration. *Water Res.* 36: 1369-1374 (2002).
70. Hood, R.D., Patterson, B.L., Thacker, G.T., Sloan, G.L., Szczech, G.M., Prenatal effects of 2,4,5-T , 2,4,5-trichlorophenol, and phenoxyacetic acid in mice. *J. Environ. Sci. Health.C* 13: 189-204 (1979).
71. Hardell, L., Eriksson, M., A case control study of non-Hodgkin lymphoma and exposure to pesticides. *Cancer* 85: 1353-1360 (1999).
72. O'reilly, J.F., Prolonged coma and delayed peripheral neuropathy after ingestion of phenoxyacetic acid weedkillers. *Postgard. Med. J.* 60: 76-77 (1984).
73. Schmoldt, A., Iwersen, S., Schluter, W., Massive ingestion of the herbicide 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA). *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 35: 405-408 (1997).
74. Froehner, M., Wirth M.P., Etiologic factors in soft tissue sarcomas. *Onkologie* 24: 139-142 (2001).
75. Barthel, E., Gehauftes vorkommen von bronchialkrebs bei beruflicher pestizidexposition in der landwirtschaft. *Z. Erkr. Atmungsorgane* 146: 266-274 (1976).
76. Masala, G., Dilollo, S., Picoco, C., Crosignani, P., Demicheli, V., Fontana, A., Funto, I., Miligi, L., Nanni, O., Papucci, A., Ramazzotti, V., Rodella, S., Stagnaro, E., Tumino, R., Viganò, C., Vindigni, C., Costantini, As., Vineis, P., Incidence rates of leukemias, lymphomas and myelomas in Italy geographic distribution and NHL histotypes. *Int. J. Cancer* 68: 156-159 (1996).
77. Vineis, P., D'amore, F., The role of occupational exposure and immunodeficiency in B cell malignancies. Working group on the epidemiology of hematolymphopoietic malignancies in Italy. *Epidemiology* 3: 266-270 (1992).
78. Arbuckle, T.E., Lin-Zo, Mery.L.S., An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population. *Environ.Health Pers.* 109: 851-857 (2001).

79. Oakes, D.J., Webster, W.S., Brown-Woodman, P.P.C., Ritchie, H.E., Testicular change induced by chronic exposure to the herbicide formulation, Tordon 75D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid and picloram) in rats. *Reprod. Toxicol.* **5436**: 1-9 (2002).
80. Pritchard, J.B., Toxic substances and cell membrane function. *Fed. Proc.* **38**: 2220-2225 (1979).
81. Christiansenweniger, C., Ammonium excreting *Azospirillum Brasilense* C3-Gusa inhabiting induced tumors along stem and roots of rice. *Soil. Bio. Biochem.* **29**: 943-950 (1997).
82. Short, K.A., King, R.J., Seidler, R.J., Olsen, R.H., Biodegradation of phenoxy acetic acid in soil by *Pseudomonas putida* PP0301 (pR0103), a constitutive degrader of 2, 4-dichloro phenoxy acetic acetate. *Mol. Ecol.* **1**: 89-94 (1992).
83. Tuleja, J., Hronec, M., Cvangrosova, Z., Ilavsky, J., Truchkik, S., Tulejova, A., Preparation of phenoxyalkane carboxylic acid by oxidatiton of phenoxyalkanols over metal activated palladium. Czech. CS 267,073 *Chem. Abstr.* **115**: 279597m (1990).
84. Poor, R., Stolc, P., Smida, T., Koleda, L., Bucko, J., 2-Methyl phenoxy acetic acid. Czech. CS 221,186 *Chem. Abstr.* **104**: 186142s (1986).
85. Moszczynski, W., Synthesis of 2-methyl phenoxyacetic acid by the Williamson reaction. Optimizatoin of reaction parameters by application of a regression function. *Przem. Chem.* **78**: 398-400 (1999) *Chem. Abstr.* **131**: 322397r (1999).
86. Li, Y., Fu, X., Xu, Y., Yang, K., Synthesis of aryloxy (arithio) carboxylic acids in solid-liquid phase under supersonic radiation. *Yingyong Huaxue* **10**: 97-98 (1993) *Chem. Abstr.* **120**: 191249s (1993).
87. Karunakaran, K., Elango, Kp., Kinetics of oxidation of phenoxyacetic acids by pyridinium hydrobromide perbormide. *J. Physical Org. Chem.* **9**: 105-110 (1996).
88. Elango, K.P., Karunakaran, K., Kinetics and mechanism of oxidation of phenoxyacetic acid by periodat complex of Cu (III). *Oxid. Commun.* **19**: 44-49 (1996) *Chem. Abstr.* **124**: 342426h (1996).
89. Karunakaran, K., Kinetics of oxidation of phenoxyacetic acid by quinolinium fluorochromate. *Pol. J. Chem.* **72**: 916-924 (1998) *Chem. Abstr.* **129**: 40833n (1998).
90. Ramart, L., Hoch, J., Absorption of ultra-violet and chemical reactivity of certain classes of organic compounds. *Compt. Rend.* **194**: 96-99 (1932) *Chem. Abstr.*, **26**: 1516 (1932)
91. Zhang, L., Chen, Y., Study on fragmentation of some phenoxyacetic acids by mass spectrometry. *Fenxi Ceshi Xuebao* **20**: 35-38 (2001) *Chem. Abstr.* **135**: 86252z (2001).
92. Thierfelder, H., Schempp, E., Behavior of benzoylpropionic acid, phenylethyl alcohol and phenoxyacetic acid in the body of men and dogs. *Arch. Ges. Physiol.* **167**: 280-288 (1917) *Chem. Abstr.* **12**: 494-495 (1918)
93. Fisher, F., Gluud, W., Hydrolysis of phenoxyacetic acid with alkali and preparation of pure phenols. *Ges. Abhandl. Kenntn. Kohle.* **3**: 75-81 (1918) *Chem. Abstr.* **14**: 2070 (1970)
94. Marni, E., Gambetta, E., Rimini, G., Iodination of phenoxyacetic acids. *Gazz. Chim. Ital.* **50**: 166-186 (1920) *Chem. Abstr.* **14**: 3066-3067 (1920)
95. Lottman, J., Hammer, E., Schauer, F., Methyl ketone formation during degradation of phenoxybutiric acid by *penicillium canascens*. *Arch. Microbiol.* **172**: 417-420 (1999).
96. Kuehne, R., Franke, R., Sprinz, H., Huebner, G., Hydrophobic binding of phenoxyacetic acid and phenylacetic acids to horsedish peroxidase and human serum albumine:

- structure-activity relationships. *Acta Biol. Med. Ger.* **38**: 1441-1446 (1979) *Chem. Abstr.* **93**: 2501h (1979).
97. Cserhati T, Forgacs E, Deyl Z, Miksik I., Effect of molecular parameters on the binding of phenoxyacetic acid derivatives to albumins. *J. Chromatogr. B* **753**: 87-92 (2001)
 98. Fang, S.C., Lindstrom, F.T., *In vitro* binding of ¹⁴C-labeled acidic compounds to serum albumin and their tissue distribution in the rat. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* **8**: 583-597 (1980).
 99. Ramalingam, T., Sattur, P.B., Synthesis and biological activity of [(3-pentadecylaryl)oxy] acetic acids, their hydrazides and cyclic derivatives: ozadiazols and pyrroles. *Indian J. Chem. Sect. B* **26B**: 1204-1207 (1987). *Chem. Abstr.* **110**: 7989c (1987).
 100. Bhalova, M., Sokolik, J., Tumova, I., Svec, P., Antiinflammatory activity of aqua (cresoxyacetato)-copper(II) complexes. *Pharmazie* **54**: 156 (1999).
 101. Bhalova, M., Sokolik, J., Tumova, I., Svec, P., Antiinflammatory activity of aqua (cresoxyacetato)-zinc (II) complexes. *Pharmazie* **55**: 150-151 (2000).
 102. Bhalova, M., Sokolik, J., Tumova, I., Misticova, E., Svec, P., Antiinflammatory activity of aqua(cresoxyacetato)-copper (II) and zinc (II) complexes. *Monogr. Ser. Int. Conf. Coord. Chem.* **4**: 353-358 (1999) *Chem. Abstr.* **132**: 55875z (2000).
 103. Gamburg, K.Z., Osharova, L.M., Methyl substituted phenoxyacetic acids as active growth stimulants for soybean cell and tissue cultures. *Dokl. Akad. Nauk SSR* **267**: 1513-1516 (1982) *Chem. Abstr.* **98**: 104431f (1983).
 104. Koichiro, H., Inducer and growth promoter of alkaloid plant calluses. Japan. Kokai 76 12,989 *Chem. Abstr.* **85**: 29573e (1976).
 105. Zenk, M.H., Schulte, U., El-Shagi., Regulation of antraquinone formation by phenoxyacetic acids in *Morinda* cell cultures. *Naturwissenschaften* **71**: 266 (1984).
 106. Oonishi, T., Koiso, H., Tamyra, T., Ishii, T., Fukumato, T., Phenoxyalcalanoic acids for controlling fragrance or flavor release. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 07 82,588 [95 82,588] *Chem. Abstr.* **123**: 17518f (1995).
 107. Matura, J., Makushiro, O., Anzai, M., Watanbe, K., Triboalactic charge-providing members for positively-charging toners. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 07 84,415 [95 84,415] *Chem. Abstr.* **123**: 156348p (1995).
 108. Bhalova, M., Plesch, G., Fribel, C., Kratsmar-Smogrovic, J., Binuclear aryloxyacetatocopper(II) complexes with phenazone. *Proc. Conf. Coord. Chem.* **11**: 25-30 (1987) *Chem. Abstr.* **108**: 142112k (1988).
 109. Plesch, G., Bhalova, M., Kratsmar-Smogrovic, J., Fribel, C., EPR, ligand field spectra and antimicrobial activity of dimeric aryloxyacetatocopper (II) complexes with antipyrine. *Inorg. Chim. Acta* **136**: 117-125 (1987).
 110. Holla, B.S., Mucralidharan, A., Kalluraya, B., Synthesis of biologically active 2,5-disubstituted 1,2,4-triazolo[3,4-b]1,3,4-thiadiazoles. *Rev. Roum. Chim.* **39**: 87-90 (1994) *Chem. Abstr.* **122**: 31416g (1995).
 111. Purohit, D.M., Shah, V.H., Synthesis of 1,1,1-trichloro-2,2-bis (carboxy-methoxyaryl) ethanes as potential antimicrobial and insecticidal agents. *Indian J. Chem., Sect. B: Org. Chem. Incl. Med. Chem.* **38B**: 618-622 (1999) *Chem. Abstr.* **131**: 286234z (1999).
 112. Moszczynski, W., Budziar, M., Jach, J., Chlorine derivatives of 2-methylphenoxy acetic acid. *Pol.* **100**,642 *Chem. Abstr.* **92**: 58450n (1980).
 113. Kirimer, N., Baser, K.H.C., Tumen, G., Carvacrol rich plants in Turkey. *Chem. Nat. Comp.* **31**: 37-41 (1995).

114. Buckingham, J., Macdonald, F.M., Bradly, H.M., *Dict. Nat. Prod.* 1.st edition. v.3 p.3396 (1994)
115. Haller, A., Gould, H., Progress in the perfume and essential oil industries. *Bull. Soc. Encouragement* 109: 669-720 (1907) *Chem. Abstr.* 1: 2812-2814 (1907).
116. Tumen, G., Baser, K.H.C., Kirimer, N., Türkiye'de yetişen *Origanum* türlerinin uçucu yağları. 13th International congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils, Istanbul, Turkey (1995)
117. Tumen, G., Kirimer, N., Baser, K.H.C., Composition of essential oils of *Thymus* species growing in Turkey. *Chem. Nat. Comp.* 31: 42-47 (1995).
118. Bischoff, C.A., Interaction of carvacryl and thymyl esters of α -bromaliphatic acids with sodium carvacrolate and thymolate. *Ber* 39: 3840-3846 *Chem. Abstr.* 1: 412-413 (1907).
119. Anon, The present scarcity of the antiseptic thymol. *Bull. Imp. Inst.* 12: 599-605 (1914) *Chem. Abstr.* 9: 1223 (1915).
120. Sollmann, T., Carvacrol. *J. Pharmacol.* 14: 251-258 (1919). *Chem. Abstr.* 14: 251-1162 (1920).
121. Myers, H.B., Comparative fungicidal action of certain volatile oils. *J. Pharmacol.* 27: 248 (1926) *Chem. Abstr.* 20: 3021 (1926).
122. Philipp, C., Kuhn, P.H., Production of new disinfection preparations of thymol and carvacrol I. Production of thymol and carvacrol. *Pharm. Presse, Wiss-prakt. Heft* 19-A (1931) *Chem. Abstr.* 25: 19 (1931).
123. Sarer, E., Pancali, S., Yildiz, S., Chemical composition and antimicrobial properties of essential oil of *Origanum minutifolium*. *Ankara Univ. Eczacilik. Fak. Derg.* 25:29-38 (1996).
124. Bishop, C.D., Evaluation of antifungal activity of the essential oils of *Monarda citriodora* var. *Citriodora* and *Meleleuca alternifolia* on post-harvest pathogens. *J. Essent. Oil Res.* 9:77-82 (1997) *Chem. Abstr.* 126: 140905u (1997).
125. Kim, J.M., Marshall, M.R., Cornell, J.A., Preston, J.F., Wei, C.F., Antibacterial activity of carvacrol, citral and geraniol against *Salmonella typhimurrium* in culture medium and on fish cubes. *J. Food. Sci.* 60:1364-1368(1995). *Chem. Abstr.* 124: 54059y (1996).
126. Yanishlieva, N.V., Marinova, E.M., Gordon, M.H., Raneva, V.G., Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chem.* 64: 59-66 (1999).
127. Rochat, J., Essential Oils. Antispazmodic activity and active constituents. *Bull. Tech., Gattefosse SFPA* 65: 62-67 (1970) *Chem. Abstr.* 74: 6375a (1970).
128. Lee, S.G., Kim, S.I., Ahn, Y.J., Kim, J.B., Lee, B.Y., Effectiveness of carvacrol derived from *Thujopsis dolabrata* var. *Hondai* sawdust against *Thecodiplosis japonensis* (Diptera: cecidomyiidae) *Chem. Abstr.* 126: 140968s (1997).
129. Kayahara, H., Nakagawa, K., Tadasa, K., Hayashi, T., Yoneda, K., Mutou, N., Nakagawa, Effect of herb oils on platelet aggregation. H., *Shinshu Daigaku Nogakubu Kiyō* 33:1-8 (1996) *Chem. Abstr.* 126: 312024z (1997).
130. Gracza, L., Biochemical pharmacological study of medicinal plant substances. II. Inhibition of acetylcholinesterase by monoterpen derivatives *in vitro*. *Z. Naturforsch., C: Biosci* 40:131-153 (1985) *Chem. Abstr.* 103: 16682e (1985).

131. Wagner, H., Wierer, M., Bauer, R., Antiinflammatory drugs. Part 3. *In vitro* inhibition of prostaglandin biosynthesis by essential oils and phenolic compounds. *Planta Med.* **3**: 184-187 (1986).
132. Stamatii, A., Bonsi, P., Zucco, F., Moezelaar, R., Alakomi, H.L., Wright, A.V., Toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short-term assays. *Food and Chem. Toxicol.* **37**: 813-823 (1999).
133. He. L. Mo, Hb., Hadisusilo S., Qureshi, A.A., Elson, C.E., Isoprenoids suppress the growth of murine B16 melanomas *in-vitro* and *in vivo* *J. Nutr.* **127**:668-674 (1997)
134. Zeytinoglu, M., Aydın, S., Öztürk, Y., Başer, K.H.C.: Inhibitory effects of carvacrol on DMBA induced pulmonary tumorigenesis in rats. *Acta Pharmaceutica Turcica*, **40**:93-98, (1998).
135. Vaddi, H.K., Ho, P.C., Chan, Y.W., Chan, S.Y., Terpens in ethanol: haloperidol permeation and partition through human skin and stratum corneum changes. *J. Controlled Rel.* **81**: 121-133 (2002).
136. Pol, I.E., Krommer, J., Smid, E.J., Bioenergetic consequences of nisin combined with carvacrol towards *Bacillus cereus*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* **3**: 55-61 (2002).
137. Morin, P., Caude, M., Richard, H., Rosset, R., Semipreparative separation of terpenoids from essential oils by high-performance liquid chromatography and their subsequent identification by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatog.* **363**: 57-69 (1986)
138. Huzita, Y., *J. Chem. Soc.* **61**:137-140 (1940) Essential oils of *Orthodon* (Labiatae) indigenous to east Asia. VIII. Essential oil of *Orthodon hirtum* Harms in Formosa. *J. Chem. Soc.* **61**:137-140 (1940) *Chem. Abstr.* **36**: 6753 (1942).
139. Rice, P.J., Coats, J.R., Structural requirements for monoterpene activity against insects. *Symp. Ser.* **557**: 92-108 (1994) *Chem. Abstr.* **121**: 151234x (1994).
140. Rice, P.J., Coats, J.R., Insecticidal properties of monoterpene derivatives to the house fly (Diptera: Muscidae) and red flour beetle. *Pestic Sci.* **41**: 195-202 (1994) *Chem. Abstr.* **121**: 151240w (1994).
141. Enomoto, S., Asano, R., Iwahori, Y., Narui, T., Okada, Y., Singab, A.N.B., Okuyama, T., Hematological studies on black cumin oil from seeds of *Nigella sativa* L. *Biol. pharm. Bull.* **24**: 307-310 (2001).
142. Pelissier, Y., Marion, C., Rapior, S., Volatile components of *Stachys corsica* Pers. (Lamiaceae) *J. Essent. Oil Res.* **11**: 63-64 (1999).
143. Muschietti, L., Baren, C.V., Coussio, J., Chemical composition of the leaf oil of *Satureja odora* and *Satureja parvifolia*. *J. Essent. Oil Res.* **8**: 681-684 (1996).
144. Viturro, C.I., Molina, A., Guy, I., Charles, B., Guinaudeau, H., Fournet, A., Essential oils of *Satureja boliviana* and *S. parvifolia* growing in the region of Jujuy, Argentina. *Flavour Fragr. J.* **15**: 377-382 (2000).
145. Salgueiro, L.R., Vila, R., Felix, T., Figueiredo, A.C., Barraoso, G., Canigual, S., Casanova, J., Cunha, A.P., Adzet, T., Variability of essential oils of *Thymus caespitosus* from Portugal. *Phytochemistry* **45**: 307-311 (1997).
146. Kasumov, F.Y., Essential oils of *Thymus transcaucasicus* Ronn and *Thymus eriphorus* Ronn. *Maslo- Zhir. Prom-st.* **1**: 29 (1983) *Chem. Abstr.* **98**: 140535b (1983).
147. Mohagheghzadeh, A., Ardakani, S.A., Ghannadi, A., Volatile constituents of callus and flower-bearing tops of *Zataria multiflora* Boiss (Lamiaceae). *Flavour Fragr. J.* **15**: 373-376 (2000).

148. Zygadlo, J.A., Maestri, D.M., Guzman, C.A., Comparative study of the essential oils from three species of *Eupatorium*. *Flavour Fragr. J.* 11: 153-155 (1996).
149. Zygadlo, J.A., Lamarque, A.L., Analysis of the essential oil of the leaves of *Eupatorium arnotianum*. *J. Essent. Oil Res.* 7: 677-678 (1995).
150. Svendsen, A.B., Scheffer, J.J.C., Looman, A., Composition of the volatile oil of *Minthostachys glabrescens* Epl. *Flavour Fragr. J.* 2: 45-46 (1987).
151. Tucker, A.O., Maciarello, M.J., The essential oil of *Lippia micromeria* Schauer in D.C. (Verbenaceae). *J. Essent. Oil Res.* 5: 683-685 (1993).
152. Lamaty, G., Menut, C., Aromatic plants of tropical central Africa. IV. Essential oils of *Eupatorium odoratum* L. From Cameroun and Congo. *J. Essent. Oil Res.* 4: 101-105 (1992).
153. Dzumayev, K.K., Tkachenko, K.G., Zenkevich I.G., Tsibulskaya, I.A., Essential oils of *Origanum tythanthum* Gontsch. Produced from plants grown in southern Uzbekistan. *J. Essent. Oil Res.* 11: 593-598 (1999).
154. Juliano, C., Mattana, A., Usai, M., Composition and *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus herba-barona* Loisel growing wild in Sardinia. *J. Essent. Oil Res.* 12: 516-522 (2000).
155. Pino, J.A., Rosado, A., Bello, A., Urguiola, A., Garcia, S., Agüero, J., Essential oil of *Phania cajalbanica* Borhidi et Muniz from Cuba. *J. Essent. Oil Res.* 12: 499-500 (2000).
156. Tumen, G., Kirimer, N., Baser, K.H.C., The essential oils of two new *Satureja* species from Turkey: *Satureja pilosa* and *Satureja icarica*. *J. Essent. Oil Res.* 10: 524-526 (1998).
157. Baser, K.H.C., Kurkcuoglu, M., Tumen, G., Composition of the essential oil of *Origanum haussknechtii* Bois. *J. Essent. Oil Res.* 10: 227-228 (1998).
158. Baser, K.H.C., Duman, H., Composition of the essential oils of *Origanum boissieri* letswart and *O. Bargyli mouterde*. *J. Essent. Oil Res.* 10: 71-72 (1998).
159. Kaya, A., Baser, K.H.C., Demirci, B., Koca, F., The essential oil of *Acinos alpinus* (L.) Moench growing in Turkey. *Flavour Fragr. J.* 14: 55-59 (1999).
160. Tumen, G., Sezik, E., Baser, K.H.C., The essential oil of *Satureja parnassica* Heldr. & Sart. *Ex Boiss subsp. sipylea* P. H. Davis. *Flavour Fragr. J.* 7: 43-46 (1992).
161. Onyenekwe, P.C., Ogbadu, G.H., Volatile constituents of the essential oil of *Monodora myristica* (Gaertn) Dunal. *J. Sci. Food Agric.* 61: 379-381 (1993).
162. Ruberto, G., Biondi, D., Meli, R., Piattelli, M., Volatile flavour components of Sicilian *Origanum onites* L. *Flavour Fragr. J.* 8: 197-200 (1993).
163. Biondi, D., Cianci, P., Geraci, C., Ruberto, G., Piattelli, M., Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour Fragr. J.* 8: 331-337 (1993).
164. Aboutabl, E.A., Soliman, F.M., El-Zalabani, S.M., Brunke, E.J., El-Kersh, T.A., Essential oil of *Thymus bovei* Benth. *Sci. Pharm.* 54: 43-48 (1986).
165. Katsiotis, S.T., Chatzopoulou, P., Baerheim Svendsen, A., The essential oil of *Thymus sibthorpii* Benth. growing wild in Greece. *Sci. Pharm.* 58: 303-306 (1990).
166. Menut, C., Lamaty, G., Sohounhloue, D., Dangou, J., Bessiere, J., Aromatic plants of tropical west Africa III. Chemical composition of leaf essential oil of *Lippia multiflora* Moldenke from Benin. *J. Essent. Oil Res.* 7: 331-333 (1995).

167. Baratta, M.T., Damien Dorman, H.J., Deans, S.D., Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of Laurel, Sage, Rosemary, Oregano and Coriander essential oils. *J. Essent. Oil Res.* **10**: 618-627 (1998).
168. Chalchat, J., Garry R., Sidibe, L., Harama, M., Aromatic plants of Mali (V): Chemical composition of essential oils of four *Eucalyptus* species implanted in Mali: *Eucalyptus camaldulensis*, *E. Citriodora*, *E. Torelliana*, *E. Tereticornis*. *J. Essent. Oil Res.* **12**: 695-701 (2000).
169. Menut, C., Lamaty, G., Zollo, P., Kuate, J., Bessiere, J., Aromatic plants of tropical central Africa. Part: X. Chemical composition of the essential oils of *Ageratum houstonianum* Mill. and *Ageratum conyzoides* L. from Cameroon. *Flavour Fragr. J.* **8**: 1-4 (1993).
170. Baser, K.H.C., Kurkcuoglu, M., Tumen, G., Essential oils of *Thymus striatus* Vahl var. *Interruptus* Jalas from Turkey. *J. Essent. Oil Res.* **11**: 253-256 (1999).
171. Baser, K.H.C., Ozek, T., Kurkcuoglu, M., Tumen, G., Yildiz, B., Composition of the essential oils of *Thymus leucostomus* Hausskn. et velen var. *Gypsaceus* jalas and *Thymus pubescens* Boiss. et Kotschy ex Celak var. *cratericola* jalas. *J. Essent. Oil Res.* **11**: 776-778 (1999).
172. Baser, K.H.C., Ozek, T., Kurkcuoglu, M., Tumen, G., The essential oil of *Origanum vulgare* subs. *Hirtum* of Turkish origin. *J. Essent. Oil Res.* **6**: 31-36 (1994).
173. Moldao-Martins, M., Bernardo-Gil, M. G., Beirao Da Costa, M.L., Rouzet, M., Seasonal variation in yield and composition of *Thymus zygis* L. subsp. *sylvestris* essential oil. *Flavour Fragr. J.* **14**: 177-182 (1999).
174. Baser, K.H.C., Kirimer, N., Ozek, T., Kurkcuoglu, M., The essential oil of *Thymus leucostomus* var. *argillaceus*. *J. Essent. Oil Res.* **4**: 421-422 (1992).
175. Baser, K.H.C., Ozek, T., Tumen, G., Essential oils of *Thymus cariensis* and *Thymus haussknechtii* two endemic species in Turkey. *J. Essent. Oil Res.* **4**: 659-661 (1992).
176. Skoula, M., Gotsiou, P., Naxakis, G., Johnson, C.B., A chemosystematic investigation on the mono- and sesquiterpenoids in the genus *Origanum* (Labiata). *Phytochemistry* **52**: 649-657 (1999).
177. Baser, K.H.C., Ozek, T., Ermin, N., Tumen, G., Duman, H., Essential oil of *Thymbra sintenisii* Bornm. et Aznav. subsp. *sintenisii*. *J. Essent. Oil Res.* **9**: 355-356 (1997).
178. Greche, H., Ismaili-Alaoui, M., Zrira, S., Benjilali, B., Belanger, A., Hajjaji, N., Composition of *Tanacetum annuum* L. oil from Morocco. *J. Essent. Oil Res.* **11**: 343-348 (1999).
179. Crespo, M.E., Cabo, J., Jimenez J., Navarro, C., Zarzuelo, A., Composition essential oil in *Thymus oropedanus*. *J. Nat. Prod.* **49**: 558-560 (1986).
180. Ganong, W.F., Tibbi Fizyoloji. Çeviri TÜRK Fizyolojik Bilimleri Derneği Ankara 17. Baskı. Barış Kitapevi. s.12,42-46, 84, 67-87 (1995).
181. Laszlo, S., Papp, J.G., Pharmacology of smooth muscle. Springer-Verlag. s. 1, 2, 16, 17, 73, 97, 98. (1994).
182. Öztürk, Y., Düz kasların siklik nükleotidler ile ilişkisi. *Biyokimya dergisi* **7**: 62-75 (1982).
183. Guyton & Hall Textbook of medical physiology. W. B. Saunders company. Tenth edition. 67-78, 87-93. (2000).
184. Kayaalp, S.O., Hacettepe 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)

185. Noyan, A., Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 10. Baskı. Meteksan A.Ş. s.102-122, 125-138, 386, 417, 418. (1998).
186. Bullock, B., Boyle, J., Wang, M.B., Fizyoloji. Çeviri: Prof. Dr. Nuran Hariri. 2. Baskı. Saray Tıp Kitapevleri. s.28, 29,30, 35. (1994).
187. Arda-Bökesoy, T., Çakıcı, T., Melli, M., Türk Farmakoloji Derneği Farmakoloji Ders Kitabı. 1.Baskı. Gazi Kitabevi. s.80, 81, 82 109-121. (2000).
188. Krebs, H.A., Henseleit, K., Untersuchungen über die Harnstoffbindung im Tierkörper. *Z.Physiol. Chem.* **210**: 33-66 (1932).
189. Mcleod L. J. And Staff Of Edinburgh., Pharmacological experiments in isolated tissues. Edinburg (1972).
190. Longhurst, Penelope. A., Uvelius, Bengt., Pharmacological techniques for the *in vitro* study of urinary bladder. *J. Pharmacol. Toxicol. Meth.* **45**: 91-108 (2001).
191. Onwukaeme, N.D., Lot, T.Y., Udoh, F.V., Effects of *Daniellia oliveri* Bark on isolated rat bladder. *Phytother. Res.* **13**: 416-418 (1999)
192. Uçucu, Ü., Gündoğdu-Karaburun, N., Işıkdag, İ., Synthesis and analgesic activity of some 1-benzyl-2-substituted-4,5-diphenyl-1H-imidazole derivatives. *Farmaco*, **56**:285-290 (2001).
193. Oprea, T. I., Davis, A. M., Teague, S. J., Leeson, P. D., Is there a difference between leads and drugs? A historical perspective. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **41**: 1308-1315, (2001).
194. Spedding, M., Clcium antagonist subgroups. *Trends Pharmacol. Sci.*, **6** : 109-114 (1985)
195. Triggle, D.J., Calcium, the control of smooth muscle and bronchial hyperactivity *Allergy* **38**:1-9 (1983).
196. Watson, N., Muscarinic receptor subtypes and smooth muscle function *Pharmacol. Rev.* **48**: 531-565 (1996).