

**KARVAKROL, TiMOL, ORTO- ve META-
KREZOL'ÜN İZOLE SIÇAN MİDE-FUNDUS,
İLEUM VE AORTA ÜZERİNDE CaCl_2
KASILMALARINA ETKİSİ**

Senem ARI

Yüksek Lisans Tezi

**KARVAKROL, TİMOL, ORTO- ve META-KREZOL'ÜN İZOLE
SIÇAN MİDE-FUNDUS, İLEUM VE AORTA ÜZERİNDE CaCl_2
KASILMALARINA ETKİSİ**

Bio. Senem ARI

Yüksek Lisans Tezi

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Süleyman Aydın

Ekim 2005

Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca Senem Arı'nın Yüksek lisans bitirme tezi olarak hazırladığı "KARVAKROL, TİMOL, ORTO- ve META-KREZOL'ÜN İZOLE SIÇAN MİDE-FUNDUS, İLEUM VE AORTA ÜZERİNDE CaCl_2 KASILMALARINA ETKİSİ" başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

26.11.2005

2005

Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı)

Üye

Üye

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
16.12.2005 tarih ve 21. sayılı kararı ile onaylanmıştır.



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KARVAKROL, TIMOL, ORTO- ve META-KREZOL'ÜN İZOLE SIÇAN MİDE-FUNDUS, İLEUM VE AORTA ÜZERİNDE CaCl_2 KASILMALARINA ETKİSİ

Senem ARI

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Süleyman Aydın
2005

Bu çalışmada, karvakrol, timol, o-krezol ve m-krezol'ün K^+ depolarize izole sıçan düz kaslarında CaCl_2 ile oluşturulan kasılmalar üzerindeki farmakolojik etkileri araştırılmıştır. İzole organlar arasında, mide fundus, ileum ve aorta bulunmaktadır. Karvakrol ve timol'ün üç farklı dozu (10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4}M), *orto-*, *meta*-krezol'ün ise sadece 10^{-4}M dozu teste tabi tutulmuştur.

Yapılan çalışmalar sonucunda karvakrol ve timol'ün mide fundus ve ileum üzerinde CaCl_2 kasılmalarını inhibe ettiği görülmüştür. Karvakrol'ün aorta üzerinde etkisiz, ileum üzerinde etkili fundus üzerinde ise en kuvvetli etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Timolun en düşük etkinliği fundus üzerinde aorta ve ileumda ise birbirine yakın güçtedir. o-Krezol ve m-krezol aorta üzerinde birbirlerine benzer şekilde inhibisyon yaptığı bulunmuş, ileum üzerinde o-krezol etkili olurken m-krezolün herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Orto- ve meta-krezollerin aortada kalsiyum yanıtları üzerinde etkili oldukları, karvakrolun ise aortada herhangi bir etkisinin gözlenmemesi nedeniyle L tip kalsiyum kanalları üzerinde karvakrolun herhangi bir etkisinin bulunmadığı anlaşılmıştır. Karvakrol etkisine en fazla duyarlı organın fundus olduğu ve izopropil grubunun moleküldeki varlığı ile etkinin paralellik gösterdiği bulunmuştur. Farmakolojik etkiler üzerinde molekül yapısındaki OH grubunun orto konumda olmasının önemli rolü bulunduğu ve birden fazla etki yöresiyle etkileşmenin sözkonusu olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Düz kas, kalsiyum, karvakrol, timol, krezol, izopropil, hidroksil.

ABSTRACT

Master of Science Thesis

EFFECTS OF CARVACROL THYMOL ORTHO- AND META-CRESOL ON ISOLATED RAT FUNDUS ILEUM AND AORTA ON THE CaCl_2 INDUCED CONTRACTIONS

Senem ARI

Anadolu University
Graduate School of Pharmacy
Pharmacology Program

Supervisor: Prof. Dr. Süleyman Aydın
2005

The aim of this study was to investigate the pharmacological activities of carvacrol, thymol, *orto*- and *meta*-cresol on the CaCl_2 induced contractions of K^+ depolarized isolated rat smooth muscles including fundus, ileum and aorta. Three different doses of (10^{-6} , 10^{-5} and 10^{-4}) carvacrol and thymol were used and only one (10^{-4}) dose of ortho- and meta-cresols were used throughout the investigations.

As a result of our experiments carvacrol and thymol were observed to inhibit CaCl_2 induced contractions of gastric, carvacrol being the most potent of the test substances. Due to lack of any action of carvacrol on the vessels it was suggested that there is no interaction of carvacrol on the L-type calcium channels. Inhibitory action of thymol was lowest on fundus and equipotent on aorta and on ileum. Orto- and meta-cresol inhibited contractions on aorta but only meta-cresol was inactive on ileum. Due to the relationship between pharmacological activities and molecular structural properties of the test substances, presence of a direct relationship between isopropyl group and pharmacological actions on fundus was suggested. In addition to the role of isopropyl group, role of meta positioned OH group is important for the observed pharmacological actions. It was concluded that more than one site of activity was suggested to play roles on the observed activities.

Keywords: Smooth muscle, calcium, carvacrol, thymol, cresol, isopropyl, hydroxyl.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince bilgi birikiminden yararlandığım, desteğini bizden esirgemeyen sayın hocam, Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Yusuf Öztürk'e,

Tez çalışmanın her aşamasında beni destekleyen, deneyimlerinden yararlandığım sayın hocam, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür Yardımcısı Prof. Dr. Süleyman Aydın'a,

Bu çalışmanın tüm aşmalarında benim yanımda olan, destek ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım, dostum, Yüksek Lisans öğrencisi Seval Duman'a,

Araştırmadaki yardımlarından dolayı sevgili arkadaşlarım, Yüksek Lisans öğrencisi Ayça Çakmak'a, Doktora öğrencisi İrem Yetemen'e,

Tüm hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini, hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme,

Teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
SUMMARY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Karvakrol	1
1.2. Timol	3
1.3. Krezoller	5
1.4. Kaslar	7
1.4.1. Düz Kas Tipleri	8
1.4.1.1. Visseral Düz Kaslar	8
1.4.1.2. Çok Birimli Düz Kaslar	9
1.4.2. Düz Kas Kontraktıl Elemanları	9
1.4.2.1. Miyozin Filamenti	10
1.4.2.2. Aktin Filamenti	11
1.4.3. Kas Kasılması	11
1.4.4. Defosforilasyon ve Gevşeme	12
1.5. Kalsiyum	14
1.5.1. Kasılmanın Ca^{2+} iyonları ile düzenlenmesi	14
1.6. Kalsiyum kanalları	16
1. 6. 1. Voltaja Bağlı Kalsiyum Kanalları	17
1. 6. 1. 1. T-tip Kalsiyum Kanalları	18
1. 6. 1. 2. L-tip Kalsiyum Kanalları	18

1. 6. 1. 3.	N-tip Kalsiyum Kanalları	19
1. 6. 1. 4.	P-tip Kalsiyum Kanalları	19
1. 6. 1. 5.	Q, R ve E-tip Kalsiyum kanalları	19
1. 7.	Amaç	20
2.	MATERYAL VE YÖNTEM	22
2.1.	Materyal	22
2.1.1.	Deney Hayvanları	22
2.1.2.	Kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar	22
2.1.2.1.	Kimyasal maddeler	22
2.1.2.2.	Kullanılan cihazlar ve malzemeler	22
2.2.	Yöntem	23
2.2.1.	İzole organ banyosu deneyleri	23
2.2.2.	Karvakrol, timol, o-krezol ve m-krezol ile yapılan deneyler	24
2.2.2.1.	K^+ -depolarize izole mide fundus $CaCl_2$ deneyleri	25
2.2.2.2.	K^+ depolarize izole ileum üzerinde $CaCl_2$ deneyleri	25
2.2.2.3.	K^+ depolarize izole aorta üzerinde $CaCl_2$ deneyleri	25
2.2.3.	İstatistiksel hesaplamalar ve verilerin değerlendirilmesi	26
3.	BULGULAR	27
3.1.	K^+ -depolarize izole mide fundus deneylerinin Sonuçları	27
3.1.1.	Karvakrol, timol, orto-krezol ve meta-krezol'ün izole mide fundus üzerinde $CaCl_2$ kasılmalarına etkisi	27
3.2.	K^+ -depolarize izole ileum deneylerinin sonuçları	27
3.2.1.	Karvakrol, timol, orto-krezol ve meta-krezol'ün izole ileum üzerinde $CaCl_2$ kasılmalarına etkisi	27
3.3.	K^+ -depolarize izole aorta deneylerinin sonuçları	28
3.3.1.	Karvakrol, timol, orto-krezol ve meta-krezol'ün izole aorta üzerinde $CaCl_2$ kasılmalarına etkisi	28
4.	TARTIŞMA	43
5.	KAYNAKLAR	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Karvakrol ve timol'ün molekül şekli	7
Şekil 1.2.	o-Krezol ve m-krezol'ün molekül şekli	7
Şekil 1.3.	Kalsiyum kanal yapısının şekli	17
Şekil 3.1.	Timol'ün K^+ depolarize izole mide fundusta $CaCl_2$ yanıtlarına inhibitör etkisi	31
Şekil 3.2.	Karvakrol'ün K^+ depolarize izole mide fundusta $CaCl_2$ yanıtlarına inhibitör etkisi	32
Şekil 3.3.	o-Krezol'ün K^+ -depolarize izole mide fundusta $CaCl_2$ yanıtlarına inhibitör etkisi	33
Şekil 3.4.	m-Krezol'ün K^+ -depolarize izole mide fundusta $CaCl_2$ yanıtlarına inhibitör etkisi	34
Şekil 3.5.	Timol'ün K^+ -depolarize izole ileumda $CaCl_2$ yanıtlarına inhibitör etkisi	35
Şekil 3.6.	Karvakrol'ün K^+ -depolarize izole ileumda $CaCl_2$ yanıtlarına inhibitör etkisi	36
Şekil 3.7.	o-Krezol'ün K^+ -depolarize izole ileumda $CaCl_2$ yanıtlarına inhibitör etkisi	37
Şekil 3.8.	m-Krezol'ün K^+ -depolarize izole ileumda $CaCl_2$ yanıtlarına inhibitör etkisi	38
Şekil 3.9.	Timol'ün K^+ depolarize izole aortada $CaCl_2$ yanıtlarına inhibitör etkisi	39
Şekil 3.10.	Karvakrol'ün K^+ depolarize izole aortada $CaCl_2$ yanıtlarına inhibitör etkisi	40
Şekil 3.11.	o-Krezol'ün K^+ -depolarize izole aortada $CaCl_2$ yanıtlarına inhibitör etkisi	41
Şekil 3.12.	m-Krezol'ün K^+ -depolarize izole aortada $CaCl_2$ yanıtlarına inhibitör etkisi	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1. Kalsiyum kanallarının fonksiyonları	21
Çizelge 3. 1. Karvakrol'ün organlar üzerindeki etkisinin toplam değerlendirilmesi	29
Çizelge 3. 2. Timol'ün organlar üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi	29
Çizelge 3. 3. o-krezol'ün organlar üzerindeki etkisinin toplam değerlendirilmesi	29
Çizelge 3. 4. m-krezol'ün organlar üzerindeki etkisinin toplam değerlendirilmesi	29
Çizelge 3. 5. K^+ -depolarize fundus üzerinde test edilen tüm maddelerin etkisinin toplam değerlendirilmesi	30
Çizelge 3. 6. K^+ -depolarize ileum üzerinde test edilen tüm maddelerin etkisinin toplam değerlendirilmesi	30
Çizelge 3. 7. K^+ -depolarize aorta üzerinde test edilen tüm maddelerin etkisinin toplam değerlendirilmesi	30

KISALTMALAR DİZİNİ

ACh	Asetilkolin
ADP	Adenozindifosfat
ATP	Adenozintrifosfat
DAG	Diaçilgliserol
DMSO	Dimetilsülfatoksid
DHP	Dihidropirimidin
GDP	Guanozindifosfat
GTP	Guanozintrifosfat
IP ₃	Inozitoltrifosfat
LD	Letal Doz
NiF	Nifedipin
MHZK	Miyozin hafif zincir kinaz
m-Krezol	<i>meta</i> -krezol
o-Krezol	<i>orto</i> -krezol
p-krezol	<i>para</i> -krezol
PKA	Proteinkinaz-A
SR	Sarkoplazmik retikulum
sAMP	Siklik adenozin monofosfat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Timol ve karvakrol, doğada özellikle kekik olarak bilinen, etnomedikal kullanımı (Aydın ve ark., 1993a) olan bitkilerde bulunan ve sentetik olarak da elde edilebilen oksijenli monoterpenlerdir (Merck, 1996).

Kekik, içerdiği timol ve karvakrol nedeniyle benzer tad ve kokuya sahip çeşitli bitkilere halk arasında verilen isimdir. *Origanum onites* L., halk arasında 'kekik' olarak adıyla etnomedikal kullanımı olan (Aydın ve ark., 1993a) Labiatae üyesi bir bitkidir.

Ülkemizde kekik adıyla bilinen bitkilerin genellikle *Thymus* türlerine ait bitkiler olduğu kayda geçmiş olmakla birlikte, halk arasında kekik olarak kullanılan bitkilerin daha çok *Origanum* türlerine ait olduğu bilinmektedir. Bu türlerin yanısıra *Thymbra*, *Satureja* ve *Coridothymus* cinslerine ait türler de halk arasında kekik olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999; Aydın ve ark., 1996a).

Kekik olarak bilinen bitkilerin kurutulmuş toprak üstü kısımlarının su buharı ile damıtılması sonucu elde edilen uçucu yağ, kekiğin kendine has kokusunu taşır ve yakıcı tattadır. Elde edilen bu uçucu yağ, karvakrol ve timol gibi monoterpenlerce zengindir ve ana bileşen genellikle karvakroldur (Aydın ve Beis, 2005). *Origanum onites* L. uçucu yağı üzerinde detaylı olarak yapılan araştırmalar sonucunda uçucu yağ içindeki ana bileşenin karvakrol olduğu (%65) bunun yanısıra farklı oranlarda olmak üzere timol, linalool, p-simen, α -terpineol ve α -terpinen gibi diğer monoterpenlerin olduğu bulunmuştur (Erdemgil, 1992).

Karvakrolun ana bileşik olduğu *Origanum onites* bitkisinin uçucu yağ içindeki bileşikler ile uçucu yağ altı suyunda bulunan bileşiklerin farklılık olduğu gösterilmiştir. Bu farklılıklar arasında *cis-p-menth-4-en-1,2-diol* ve *3,7-dimetil-1-okten-3,7-diol* gibi moleküllerin sulu fraksiyonda bulunması dikkati çekmektedir (Aydın, 1996).

1. 1. Karvakrol

Karvakrol, izotimol, 2-metilfenol, izopropil-o-krezol, 5-izopropil-2-metilfenol ve p-simen-2-ol isimleriyle bilinen, doğada özellikle Labiatae familyasına ait *Thymus*, *Thymbra*, *Coridothymus*, *Origanum* ve *Satureja* gibi

çeşitli bitkilerin uçucu yağlarında bulunan fenolik bir oksijenli monoterpendir (Baytop, 1999; Vincenzi ve ark., 2004).

Karvakrolun bakteri ve funguslar üzerinde toksik etkili olduğu (Sokovic ve ark., 2002; Fan ve Chen, 2001; Chami ve ark., 2004) insektisidal etkili olduğu bilinmektedir (Isman ve ark., 2001). Karvakrolun, timol ile birlikte eşit dozlarda olmak üzere antihelmintik özellik gösterdiği bulunmuştur (Livingston, 1921).

Bu etkiler arasından, özellikle karvakrolun antifungal etkilerinin çok güçlü olduğuna ilişkin veriler dikkati çekmekte ve gerek fungal hastalıklarda terapötik olarak, gerekse besin maddelerinin küflenmeden korunmasında karvakrolun kullanım alanı bulabileceği düşünülmelidir (Tampieri ve ark., 2005).

Bu etkilere ek olarak karvakrol ve timolun antioksidan etkili olduğu rapor edilmiştir (Vardar ve ark., 2003).

Karvakrolun akciğerde antitümöral etkisinin bulunduğu in vivo olarak (Zeytinoglu ve ark., 1998), N-Ras onkogen mutasyonuna bağlı olarak in vitro koşullarda kanserleştirilen hücreler üzerinde inhibitör etkili olduğu bildirilmiştir. Karvakrolun zayıf genotoksik etkisi bulunduğu, DNA sentezini in vitro koşullarda engellediğine ilişkin bilgiler bulunmaktadır (Zeytinoglu ve ark., 2003). Karvakrolun akut, subakut ve kronik toksik etkileri ile teratojenik etkileri ilişkin yeterli veriler bulunmamaktadır (Vincenzi ve ark., 2004). Karvakrolun bu farmakolojik etkilerinin yanı sıra, sitotoksik ve genotoksik etkili olduğu, bu toksik etkinin apoptosis'in özelliklerinden birisi olan nükleer fragmentasyon şeklinde genotoksik etkili olduğu bildirilmiştir (Stammatis ve ark., 1999). Karvakrolun timol'den daha toksik olduğu ileri sürülmüştür (Sollmann, 1919).

Karvakrolun memeli ventriküler kardiomyositlerinde L-tip Ca^{2+} kanallarını inaktive ettiği bildirilmiştir (Magyar ve ark., 2004). Öte yandan karvakrol ve eugenol'ün, doza bağlı olarak Jurkat T hücreleri ve THP-1 hücrelerinde, intraselüler Ca^{+2} mobilizasyonunu ve mitojenle aktive edilen protein kinazları stimüle ettiği belirtilmiştir (Chan ve ark., 2005).

Karvakrolun asetilkolinesteraz inhibisyonu yaparak spazmodik etki gösterdiği (Gracza, 1985), öte yandan izole düz kaslar üzerinde gevşetici etkileri olduğu (van den Broucke ve Lemli, 1980), kobay trakeasında güçlü gevşeme

yaptığı ve bu gevşetici etkinin mekanizması arasında beta-adrenerjik, histaminerjik (H1) ve muskarinik reseptörlerin rolü bulunmadığı bildirilmiştir (Boskabady ve Jandaghi, 2003). Sıçanlarda yapılan izole bağırsak deneylerinde, karvakrol ve timolun antispazmodik aktivite etkileri görüldüğü söylenmiştir (Izumi ve ark., 1962). Başka bir çalışmada ise izole sıçan mide fundusu üzerinde saf karvakrolun herhangi bir etkisinin bulunmadığı gösterilmiştir (Aydın ve Seker, 2005).

Karvakrolun antiinflamatuvar etkileri (Lorante ve ark., 1989), prostaglandin sentez inhibisyonu (Wagner ve ark., 1986) ve mast hücrelerin de histamin salıverilmesi üzerinde inhibitör etkili olduğu (Aydın ve ark., 1997). bildirilmiştir.

Analjezik etkili bitkilerin içinde karvakrolun ana bileşen olarak bulunduğu (Aydın ve ark., 1996c; Amanlou ve ark., 2005), bitkisel materyal içindeki karvakrol yüzdesi yükseldikçe analjezik etkide artış görüldüğü dolayısıyla karvakrolun origanum onites uçucu yağının analjezik etkisinden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Aydın ve Beis, 2005).

Son yapılan araştırmalarda karvakrolce zengin doğal karışımların santral etkileri olduğu (Aydın ve ark., 1996) ve karvakrol miktarı arttığı oranda santral etkide bir artış olduğu bildirilmiştir (Aydın ve Beis, 2005).

Karvakrol lipofilik bir bileşiktir ve bu özelliği nedeniyle karvakrolun stratum korneum üzerine etki ederek derinin geçirgenlik katsayısını yükselttiği gösterilmiştir (Vaddia ve ark., 2002). Üst solunum yolu hastalıklarının tedavisinde kullanılan nasal spreylerde karvakrolun %4, timolun ise %6 oranında yer aldıkları bildirilmiştir (Tibori, 1979).

1. 2. Timol

Timol de izomeri olan karvakrol gibi sentetik olarak elde edilen ayrıca doğada özellikle halk arasında kekik olarak bilinen bitkilerde bulunan oksijenli monoterpendir (Merck 1996, Aydın ve ark., 1993).

Timol, uçucu yağların bileşiminde bulunan, sentetik olarak da elde edilebilen, günlük yaşamda kullanılan çeşitli evsel ürünlerde koku verici olarak,

gıdalara ve parfümlerin içeriğine katılabilen bir kimyasal maddedir. Karvakrolden sadece hidroksil grubunun pozisyonundaki farklılık ile ayrılır. Kimyasal olarak timole 2-izopropil-5-metilfenol adı da verilmektedir (Merck, 1996).

Timol, bazı ilaçlarda etken maddesi olarak bulunmaktadır. Timolun etken madde olarak içinde bulunduğu ilaçlar arasında Vicks ®, Garol ®, Otacı meyanbalı ®, Otacı okamentol ® ve Otacı diyet okamentol ® bulunmaktadır (Farmalist, 2005).

Timolun köpek ve insan gibi memeli kardiyomiyositlerinde L tipi kalsiyum cevaplarını doza bağlı olarak azalttığı bildirilmiştir. Bu verilerin yanısıra potasyum akımı üzerinde doza bağlı şekilde azaltıcı etkisi olduğu göstermiştir (Magyar ve ark., 2002).

Timolun, karbakole benzer şekilde kalsiyum depoları ve kalsiyum salıverilme mekanizmasını etkilediği bildirilmiştir (Hisayama ve ark., 1986).

Yapılan bir çalışmada sarkoplazmik retikulumdan kalsiyumun salıverilimi ve geri alınmasının timol tarafından deprese edildiği bildirilmiştir (Takishima ve ark., 1980).

Timolün GABA reseptörün allosterik modülatörü olduğu ve sıçan beyin membranlarında GABA_A reseptörleri üzerinde klor geçişini indüklediği bildirilmiştir. Timolün bu etkisinde hidrofobik özelliklerin roü olduğu ileri sürülmüştür (Sanchez ve ark., 2004).

Timolün, GABA_A reseptörlerinin hangi altbirimine bağlanarak potansiyelize ettiğini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, pentobarbital ve propofolden farklı şekilde GABA_A reseptörüne bağlanarak stimüle ettiği bildirilmiştir (Priestley ve ark., 2003).

Timolun karaciğerdeki toksisiteye karşı koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada da canlıda CCl₄'ün sebep olduğu toksisiteye karşı timolun koruyucu bir etkisi olduğu gözlenmiştir (Alam ve ark., 1999).

Thymus türlerine ait bitkilerin ekstrelerinin kobay trakea ve ileum düz kaslarında spazmodik etkili olduğu bildirilmiştir (Van den Broucke, 1980a). Spazmodik etkili ekstrelerde ana bileşen olarak timol ve karvakrolun bulunduğu gösterilmiştir (Van den Broucke, 1980b).

Timolün pankreatik amilaz salıverilmesine üzerinde etkisi vardır (Williams, 1977).

Timolun, embriyonal hücrelerde morfolojik etkilere neden olduğu bildirilmiştir (Fukuda, 1987).

Timol, timol asetat, bütirat ve benzoat esterlerinin farmakolojik etkileri araştırılmış, timol ve timol asetat, kurbağa rektumu ve sıçan duodenum, uterus, atrium ve frenik sinir-diafragma preperatlarında benzer farmakolojik etki göstermiştir. Timolun, bütirat ve benzoat türevlerinin, timol ve timol asetata zıt etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Viana ve ark., 1981).

Timol inhalasyonunun tavşan bronkiyal mukus sekresyonunda etkisi olduğu, bu etkinin solunum yolundaki mukus üreten hücrelerin lokal olarak uyarılmasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Body ve ark., 1969).

1. 3. Krezoller

Krezol molekülleri, benzenin bir adet metil ve bir adet hidroksil grupları taşıyan türevleridir ve bu nedenle hidroksi toluen olarak da isimlendirilir. Krezol'ün *para*-, *meta*- ve *orto*-krezol olmak üzere üç farklı izomeri vardır. (Merck,1996). Krezol molekülleri toksik özellikleri nedeniyle uzun zamandan beri bilinmekte ve bu nedenle toksisiteleri açısından ele alınmış olan moleküllerdir (Deichmann ve Witherup, 1994)

Krezol izomerlerinin tavşanlardaki dermal LD₅₀ değerleri; p-krezol 300; o-krezol 890 ve m-krezol 2830 mg/kg'dır. Toksisite değerlerine bakıldığında zaman krezol izomerleri arasında belirgin farklılıklar olduğu görülmektedir (Vernot ve ark., 1977). Çevre kirliliğindeki rolü, sanayide kullanımının yanısıra krezol izomerleri az da olsa çeşitli bitki (Chi and Kim, 1993) ve hayvanlarda bulunabilmektedir (Blankespoor et.al., 1997).

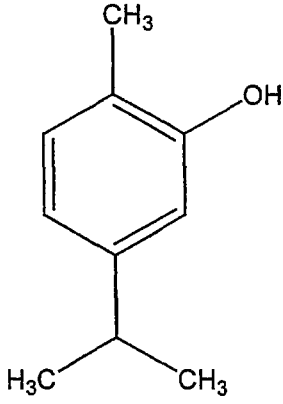
Krezol izomerlerinden, orto-krezol kristal ya da sıvı halde, meta-krezol sarımsı ya da renksiz sıvı, para-krezol ise kristal halde bulunur. orto- ve meta-krezol izomerleri suda çözülebilir ve alkol, kloroform ve eter solüsyonlarında da çözünebilir. para-Krezol ise organik çözücülerde çözünebilir ve uçucudur. Bütün izomerler açıkta bırakılarak ısı veya alev'e maruz kaldığında kolaylıkla yanar. Özellikle m ve p-krezol patlayıcıdır (Merck, 1996).

Krezol izomerleri oral, dermal ve pulmoner yolla vücuda rahatlıkla girebilirler ve sistemik etkide bulunabilirler. Çeşitli sanayi ürünlerin bileşiminde bulunan maddeler olmaları nedeniyle literatürde kaza ve iş kazası ve hatta intihar girişiminde kullanılan maddeler olarak görülmektedir.

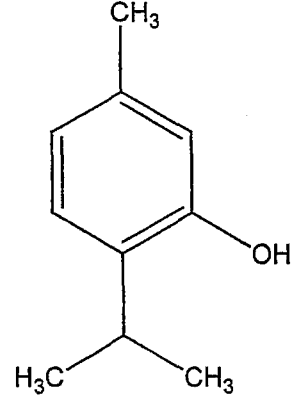
Krezollerin de yer aldığı çeşitli toksik maddelerin farmakolojik etkileri araştırıldığında; solunum depresyonu, kardiyovasküler sistem üzerinde, santral sinir sistemini deprese ettiği ve hipoglisemiye sebep oldukları bildirilmiştir (Oyebola, 1983).

Krezollerin karsinojenik etkileri üzerine bilgiler vardır. Birçok dermal çalışmalarda o-, m- ve p-krezolün tümör promotorlarının aktivitesine neden olabileceği görülmüştür (www.arb.ca.gov/toxics/tac/factshts/cresols.pdf). Krezollerden özellikle p-krezolün hepatotoksisite ve nefrotoksisiteye neden olduğu (Thompson, 1994), ayrıca diğer izomerlerden farklı olarak DNA sentezini inhibe ettiği bildirilmiştir (Gaikwad et. al., 2001).

Yapılan başka bir çalışmada toluen ve tüm krezol grupların lipid peroksidasyonu arttırdığı sonucuna varılmış ve bunun sonucunda membranın akıcılığını değiştirdiğine neden olduğu bildirilmiştir (Calderon ve ark., 2005). Toluenin oksidasyon ürünleri olarak krezollerin oluştuğu bilinmektedir (Pikus ve ark., 1997). Toluenin iyon kanalları üzerinde ve nikotinik kolinerjik reseptörler üzerinde inhibitör etkili olduğu gösterilmiş (Bale ve ark., 2005), p-krezol izomerinin K^+ kanal inaktivasyonuna yol açtığı (Elliott ve Elliott, 1997), fakat orto- ve meta-krezol ile iyon kanalları ile etkileşmesine ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

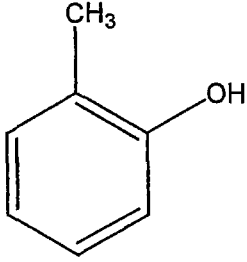


Karvakrol
C₁₀H₁₄O

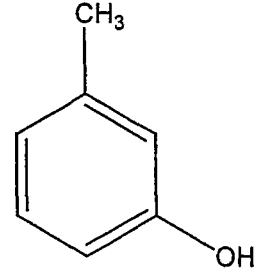


Timol
C₁₀H₁₄O

Şekil 1. 1. Karvakrol ve Timol moleküllerinin şekli



orto-krezol
C₇H₈O



meta-krezol
C₇H₈O

Şekil 1.2. orto-krezol ve meta-krezol moleküllerinin şekli

1. 4. Kaslar

Kas genel olarak iskelet kası, kalp kası ve düz kas olmak üzere 3 tipe ayrılır. İskelet kası vücut kaslarının en büyük kısmını oluşturmaktadır. İskelet kası oldukça iyi gelişmiş çapraz çizgiler içerir. Sinirsel uyarı olmazsa kasılmaz. İskelet kasının lifleri arasında anatomik ve işlevsel bağlantı yoktur ve istemli

kasılırlar. Kalp kası da iskelet kası gibi çapraz çizgiler taşır ancak, kalp kası işlevsel olarak bir sinsisyum oluşturur ve dışarıdan uyarım yok iken, miyokarda bulunan ve kendiliğinden uyarılar oluşturabilen hücreler sayesinde ritmik olarak kasılabilir. Düz kasta çapraz bağlı çizgiler yoktur. Düz kaslar orta derecede gelişmiş sarkoplazmik retikulum içerirler (Guyton, 2001). Çoğu iç organın duvarında bulunan düz kas, işlevsel olarak sinsisyum oluşturur ve düzensiz olarak uyarılar oluşturan hücreler içerir (Ganong, 2001).

1. 4. 1. Düz Kas Tipleri

Vücutta farklı bölgelerde bulunan düz kasın işlev ve yapılarında önemli farklar bulunur. Düz kas, genel olarak viseral düz kas ve çok birimli düz kas olmak üzere 2'ye ayrılır.

1. 4. 1. 1. Viseral Düz Kaslar (Tek Birimli düz kaslar)

Kas lifleri genellikle demetler halindedir ve hücre membranları birçok noktada birbirine bitişiktir. Hücre membranlarını birleştiren bağlantılar, iyonların bir hücreden yanındaki hücreye serbestçe geçmesini sağlar. Dolayısıyla aksiyon potansiyeli veya basit iyon akımı, bir liften diğerine geçip kas liflerinin birlikte kasılmasına neden olur (Guyton, 2001). Viseral düz kas diğer bir özgünlüğü de gerildiğinde, herhangi bir dış innervasyon yok iken, kasılmasıdır. Gerilmeyi zar potansiyelinde bir azalma, diken sıklığında bir artış ve tonusta genel bir artış izler. Viseral düz kaslar, içi boş iç organların duvarlarında bulunur. İnce barsak, safra kanalları, uterus ve üreterler örnek olarak verilebilir (Guyton, 2001).

Viseral düz kasın aksiyon potansiyelleri iki şekilde meydana gelir. Sivri potansiyeller ve platolu aksiyon potansiyelleridir. Sivri potansiyeller; bu tip aksiyon potansiyelinin süresi 10-50 milisaniyedir. Bu tip aksiyon potansiyelleri elektrik uyarısı, hormonların düz kasa etkisi, sinir liflerinin transmitter maddeleri gibi birçok yol ile oluşabilir. Platolu aksiyon potansiyelleri ise, başlangıcı sivri potansiyel gibidir. Ancak kas lifi membranının hızlı repolarizasyonu gözlenmez, repolarizasyon 1 sn kadar gecikir. Plato, üreter, bazen uterus ve bazı damar düz kasları gibi düz kas lifi tiplerinde meydana gelen uzun süreli kasılmadan sorumlu olması açısından önemlidir (Guyton, 2001).

Non-adrenerjik sinirlerin uyarılması inhibitör potansiyellere neden olur. Barsaktaki non-adrenerjik liflerin in vivo koşullarda uyarılması, düz kasta inhibisyona neden olmaktadır (Guyton, 2001).

Asetilkolinin, ince barsak düz kası zar potansiyeli ve kasılma etkinliği üzerine olan etkileri, noradrenalinin etkilerinin tamamen tersidir. İn vitro hazırlanmış düz kas preparatına asetilkolin katılacak olursa, kas tonusitesi ve ritmik kasılmaların sayısında artış belirterek kas daha etkin hale gelir. Bu etkiye, hücre içi Ca^{2+} derişimini arttıran fosfolipaz C ve IP₃ aracılık eder.

Asetilkolin ve noradrenalinin viseral düz kas üzerine olan etkileri, bu kasın iki önemli özelliğini ortaya çıkarmıştır. i) sinirsel uyarı olmadan kasın kendiliğinden etkinliği ii) sinirlerden yerel olarak salınan veya dolaşım yoluyla ulaştırılan kimyasal ajanlara olan duyalılığıdır.

1. 4. 1. 2. Çok Birimli Düz Kaslar

Çok birimli düz kas hücreler arasında birleştirici köprüler içermeyen, bireysel birimlerden oluşmuştur. Her kas lifi diğerinden bağımsız olarak iş görür ve iskelet kası lifindeki gibi, genellikle tek sinir ucu ile innerve edilir (Guyton, 2001). İnce, derecelendirilen kasılmaların görüldüğü, göz irisi gibi yapılarda bulunur. İstemli denetlenmez, ancak iskelet kası ile, bir çok işlevsel benzerliğe sahiptir. Viseral düz kas çok birimli düz kas da dolaşımdaki kimyasal maddelere karşı çok duyarlıdır ve normalde, kendisine ait motor sinir uçlarından salınan kimyasal maddeler ile etkinleştirilir (Ganong, 2001).

Gözün iris kası veya piloerektör kas gibi çok birimli düz kas lifleri, normalde başlıca sinir uyarılarına yanıt olarak kasılır. Sinir uçları bazı çok birimli düz kaslarda asetilkolin, bazılarında norepinefrin salgılar. Her iki durumda da, transmitter maddeler düz kas membranında depolarizasyona neden olur. Yani kavşak potansiyeli denen lokal potansiyel olarak tüm life yayılır ve kasılma meydana getirir. Genellikle aksiyon potansiyeli meydana gelmez. Bunun da nedeni kas liflerinin küçük olmasıdır (Guyton, 2001).

1. 4. 2. Düz Kas Kontraktil Elemanları

Düz kaslardaki kontraktil elemanlar, iskelet kasındaki aktin ve miyozin filamentlerine benzer kimyasal özelliklere sahip olan aktin ve miyozin filamentleridir. Fakat bunlar düzenli sırada olmadıkları için mikroskopta çizgili

bir yapı gözükmez. İskelet kasında aktin filamentini saran ve onun miyozin ile etkileşmesini baskılayan tropomiyozin ve bu molekülün ucuna bağlı olan kalsiyum ile bağlandığı zaman kontraksiyon mekanizmasını tetikleyen troponin kompleksi yoktur (Kayaalp, 1993).

Düz kasta, aktin filamentleri hücre zarındaki ‘dense bodies’ (yoğun cisimcikler) denilen noktalara tutunmuştur. Düz kas hücrelerinde çok sayıda yoğun cisimler bulunur. Bunların bir kısmı hücre membranı, bir kısmıda stoplazma içindedir. Bu yapılar özel yapısal proteinlerden oluşan ‘iskele’ sistemi ile birbirine bağlanarak sabit bulunurlar. Ayrıca birbirine yakın hücrelerin, membranlarındaki bu cisimlerin bazıları hücreler arası protein köprüleri ile kendi aralarında bağlanmışlardır. Bu köprüler düz kas hücrelerinin bireysel kasılma kuvvetlerinin birbirine eklenmesini sağlar (Kayaalp, 1993).

1. 4. 2. 1. Miyozin Filamenti

Miyozin filamenti her birinin ağırlığı 480.000 olan miyozin moleküllerinden oluşmuştur. Miyozin molekülü, her birinin molekül ağırlığı 200.000 kadar olan iki ağır zincir ile molekül ağırlıkları 20.000 olan dört hafif zincir olmak üzere altı polipeptid zincirinden oluşmuştur. İki ağır zincir bir çift sarmal oluşturmak üzere birbiri etrafına spiral olarak sarılır. Bu zincirlerden her birinin bir ucu kıvrılarak miyozin globüler polipeptid yapıyı meydana getirir. Yani, çift sarmal miyozin molekülünün bir ucunda yan yana uzanan iki serbest baş vardır, sarmalın devam eden kısmına kuyruk denir. Miyozin molekülünün kuyrukları demetler halinde toplanarak filamentin gövdesini oluştururlar, birçok başta gövdeden dışarıya doğru sarkar. Baş gövdeden uzatan kollar ve başlar ile birlikte çapraz köprüler oluştururlar (Guyton, 2001).

Çapraz köprüler iki noktada ileri geri bükülebilirler, bu noktalara menteşe denir. Menteşelerden biri kol ile kafa arasında, diğeri kolun diğer ucunda onun filamente girdiği yerdedir. Çapraz köprüler arasında 120 derecelik bir dönme vardır. Böylece köprüler filamentin etrafında her yönde uzanırlar. Miyozin aktive edilince demetten çıkan kollar ve ona bağlı kafalar menteşeler etrafından uygun şekilde açılmak suretiyle aktin filamentini hareket ettirirler (Kayaalp, 1993).

Miyozinin diğ er bir özelliği de, kafa kısımlarının aktine bağımlı ATPaz etkinliği göstermesidir. Böylece aktin ile etkileşme başladığı zaman kafanın etrafında ATP molekülleri ADP'ye hidroliz edilerek açığa çıkan enerji çapraz köprülerin ve aktinin mekanik hareketine ve kas kasılmasına neden olur (Kayaalp, 1993).

1. 4. 2. 2. Aktin Filamenti

Aktin filamenti    protein kompleksinden (aktin, tropomiyozin ve troponin) oluşmuş bir komplekstir. Aktin filamentinin önemli parçasını iki zincirli F-aktin protein molekülü oluşturur. Yapı olarak miyozin molekülündeki gibi sarmal yapıya benzer. Çift F-aktin sarmalındaki ipliklerin her biri, molekül ağırlığı 42.000 kadar olan polimerize G-aktin moleküllerinden oluşmuştur. Her G-protein molekülüne bir ADP molekülü tutunmuştur. Bu ADP molek lleride aktin filamentinin miyozin çapraz köprülerinin kafalarıyla etkileşen aktif noktalar olduğu düşünülmektedir (Kayaalp, 1993).

1. 4. 3. Kas Kasılması

Düz kas kasılmasında Ca^{+2} önemli rol oynamaktadır. Kasılmayı başlatan intraselüler Ca^{+2} derişimdeki artış, esas olarak voltaja bağlı kanallar aracılığı ile, hücre dışı ortamdan hücre içine olan Ca^{+2} i  akışına bağlıdır. Düz kas hücreleri, troponin yerine, çok sayıda kalmodulin adı verilen düzenleyici protein içerirler. Ca^{+2} kalmod line bağlanır ve oluşan kompleks, kalmoduline bağımlı *miyozin hafif zincir kinaz* (MHZK)'a bağlanır ve üçlü kompleks oluşur ve enzim fosforilasyon yapar. *Miyozin hafif zincir kinaz* tarafından fosforile olan miyozin hafif zincirinin çapraz köprüleri ile aktin üzerindeki aktif noktaların etkileşmesini başlatır. Bu etkileşme sırasında kafaların ardışık aktif noktalar ile bağlanmaları kafanın ve kolun menteşelerden bir yönde bükülmesi ile aktin moleküllerinin miyozinin merkezi yönünde yürütür. Kafanın kola doğru bükülmesi, bağlandığı aktif noktayı ve onu taşıyan aktini, iki aktif nokta arasındaki mesafe kadar hareket ettirir. Bu olaya g   darbesi 'power stroke' adı verilir. Bu olay peş peşe devam eder, her bir g   darbesi miyozinin iki tarafındaki aktin moleküllerini birbirine doğru kademeli bir şekilde yaklaştırır ve kasılma meydana gelir. Bu hareket için (kontraksiyon) gerekli enerji, Mg-ATPaz hızının düz kasta arttırılarak, ATP'nin hidrolizini sağlamasıyla olur. MHZK, düz kasta miyozin çapraz köprülerinin

hareket etmesini ve dolayısıyla kasılmasını gerçekleştirir (Ganong, 2001, Kayaalp 1993).

Düz kasta miyozin filamentlerinin az olması ve çapraz köprü döngüsünün yavaş olmasına rağmen, düz kasın maksimum kasılma gücü iskelet kasından büyüktür (Guyton, 2001).

Düz kasta defosforilasyon olmasına rağmen kasılmaya devam edebilir. Bunu da içermiş olduğu 'mandal' mekanizması sayesinde yapar. Kasılmayı sürdürmek için tüketilen enerji genellikle çok azdır. Mandal mekanizmasında, defosforile olan çapraz köprülerin aktin molekülüne tutunmuş olarak kalmaları ve oradan ayrılıp tekrar bağlanma hızlarının yavaş olmasının rol oynadığı düşünülmektedir (Kayaalp, 1993).

Mandal mekanizmasının önemi, düz kasta az miktarda enerji kullanarak saatlerce tonik kasılmanın sürdürülebilmesini sağlamasıdır. Bunun için az miktarda sinirsel ya da hormonal uyarıya gereksinim vardır (Guyton, 2001).

Mandal durumu kalsiyuma bağlıdır ve kalsiyum ortamda az ise mandal durumu da ortadan kalkar. Mandal durumu patolojik durumlarda artar. Bronş ve diğer düz kaslı yapılarda gelişen çözülmesi zor spazmları açıklayabilir (Kayaalp, 2003).

1. 4. 4. Defosforilasyon ve Gevşeme

Kalsiyum iyonun sarkoplazmada kritik düzeyi altına düşmesi düz kas hücre sıvısında bulunan miyozin fosfataz aktive olur. Miyozin, hücredeki *miyozin fosfataz* tarafından defosforile olur. Böylece çapraz köprülerin kafasıyla aktin'in aktif noktaları arasındaki etkileşmeyi inhibe eder ve düz kasın gevşemesine neden olur (Kayaalp, 1993). Öte yandan, miyozin hafif zincirlerin defosforile olmasıyla, sadece düz kasın gevşemesine yol açacağı anlamına gelmez. Miyozin çapraz köprülerini, sitoplazmik Ca^{+2} derişimi düştükten sonra, bir süre aktine bağlı halde tutan bir *kilitlenmiş köprü* mekanizması bulunmaktadır. Bu olay özellikle damar düz kası için önem taşıyan, pek az enerji harcanmasıyla uzun süren kasılma eldesini sağlar (Ganong, 2001).

Düz kasta gevşeme oluşmasının diğer bir 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. 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 (Öztürk, 1982).

1. 5. Kalsiyum

Ca^{2+} üreme, kasılma, salgılanma gibi birçok fizyolojik işlevleri düzenlediğinden hücre içi düzenlenmesi önem taşımaktadır. Ca^{2+} membran uyarılmasını kontrol eder ve Ca^{2+} akımı sinir ve kasın uyarılması sırasında gözlenir. Ca^{2+} endokrin hücrelerden hormon salınması ve ekzokrin hücrelerden diğer ürünlerin salınması gibi bütün uyarılma-salgılanma işlemleri için gereklidir. Ayrıca Ca^{2+} , süt üretimi, kemik ve diş oluşumu içinde gereklidir. Kemikteki Ca^{2+} hidroksiapatit kristalleri şeklinde bulunur (Bullock, 1994). Dinlenim durumunda stoplazmadaki serbest Ca^{2+} derişimi, yaklaşık 10^{-7} molardır, ekstraselüler sıvıda yaklaşık olarak 10^{-3} molardır (Ganong, 2001). Ca^{2+} metabolizmasını kontrolünü, hipofiz bezinden salgılanan paratiroid hormon, kalsitonin ve aktive vitamin D_3 tarafından düzenlenir (Bullock, 1994). Ca^{2+} , endositoz ve egzositoz olaylarında işe karışır, kromozom hareketlerinde, nörotransmitter sentez ve salınmasında, sAMP düzeyinin ayarlanmasında, insülin salgılanmasında kalsiyum iyonlarının rolü vardır (Heldin, 1996).

Ca^{2+} , hücre içine membrandaki voltaja-bağlı kalsiyum kanallarının eksitasyon sırasında açılması sonucu, konsantrasyon gradiyetine uyarak pasif bir şekilde hücre içine girer. Ayrıca membrandaki $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ değiş-tokuş mekanizması da hücre içine Ca^{2+} girişine ikincil katkıda bulunur. Hücre içinde aşırı Ca^{2+} birikmesinin önlenmesi, membranal Ca^{2+} pompası yani $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ - ATP_{az} ile endoplazmik Ca^{2+} pompası tarafından sağlanır. Sonuncu pompa, sitoplazmadaki Ca^{2+} u endoplazmik retikulum içine pompalar (Kayaalp, 2002).

Hücre içinde Ca^{2+} endoplazmik retikulum ve mitokondri de depolanır. Stoplazmada artan Ca^{2+} , kalsiyum bağlayıcı proteinlere bağlanır ve bunlarda çok sayıda protein kinazı etkinleştirir. Ca^{2+} , bir Ca^{2+} - H^+ - ATP_{az} aracılığıyla, iki H^+ değiştirilerek hücre dışına pompalandığı gibi, her Ca^{2+} a karşı üç Na^+ değiştiren

bir antiport ile hücre dışına atılır. $\text{Ca}^{2+}\text{-H}^+\text{ATP}_{\text{az}}$ kalmodulin tarafından aktive edilir (Ganong, 2001).

Organizmada hücrelerin fonksiyonlarını yapabilmeleri için birbirleri ile haberleşmeleri gerekir. Hücreler birbiri ile ya doğrudan temas yoluyla, ya da sinirsel, kimyasal ve elektiriksel haberciler aracılığı ile haberleşirler. Hücrede çok çeşitli fonksiyonlara katılan hücre içi habercisi kalsiyum iyonudur (Taylor, 1993). Birçok ikinci haberci sitopolazmik Ca^{2+} derişimini arttırarak etki yapar. Bu artış hücre içi depolardan Ca^{2+} salınması veya hücre içine Ca^{2+} girişinin arttırılması ile sağlanır. Endoplazmik retikulumdan Ca^{2+} salınmasına neden olan ana ikinci haberci İnozitoltrifosfat (IP3)'dır. Kalsiyum bağlayıcı proteinler troponin, kalmodulin ve kalbindin gibi pek çok sayıda ve farklı proteinlerdir. Troponin, iskelet kas kasılmasına katılan Ca^{2+} bağlayıcı bir proteindir (Ganong, 2001). Kalmodulin 148 aminoasidden oluşmuş bir proteindir ve dört yapraklı yoncaı andıran biçimde kıvrımlar yapmıştır. Kalmodulin kalsiyum bağlanmadıkça aktif değildir; kalsiyum bağlanınca aktive olur. Kalsiyum bağlayan bölgelerde bulunan glutamik ve aspartik asitlerin karboksil grupları negatif elektirik yük taşırlar ve pozitif yüklü kalsiyum iyonlarının buraya bağlanmasını sağlarlar (Krauss, 2001).

$\text{Na}^+ \text{-K}^+ \text{ATP}_{\text{az}}$, kalpte Ca^{2+} taşınmasını dolaylı yoldan etkiler. Kalp kası hücrelerinin zarlarındaki bir antiport, normal olarak hücre içi Ca^{2+} ile hücre dışı Na^+ 'u değış tokuşa uğrattır. Bu değışimin hızı, hücre zarı üzerindeki Na^+ un farklanması ile orantılıdır. $\text{Na}^+ \text{-K}^+ \text{ATP}_{\text{az}}$ 'ın çalışması inhibe edilirse, hücre içi Na^+ derişimi artar, hücre zarı üzerindeki Na^+ farklanması ve Ca^{2+} atılımı azalır. Bunun sonucunda, hücre içi Ca^{2+} derişiminde görülen artış, kalp kasının kasılmasını kolaylaştırır (Ganong, 2001).

1. 5. 1. Kasılmanın Ca^{2+} iyonları ile düzenlenmesi

Düz kasta, iskelet kaslarındaki troponin bulunmaz. Düz kas hücreleri troponin yerine, çok miktarda kalmodulin adı verilen düzenleyici bir protein içerirler. Kalmodulin miyozin çapraz köprülerini aktive ederek kasılmayı başlatır (Guyton, 2001).

Düz kas hücre zarında, iskelet kasından çok daha fazla voltaj kapılı kalsiyum kanalına sahiptir. Bu yüzden düz kasta aksiyon potansiyelini oluşmasında sorumlu olan, kalsiyum iyonlarının düz kas lifinin içine akımıdır.

Kalsiyum kanalları çok yavaş açılır ve uzun süre açık kalmaları, düz kas liflerinin yavaş aksiyon potansiyellerinden büyük olasılıkla sorumludurlar. Hücre içine giren kalsiyum direkt olarak kasılmadan sorumludur. Düz kas lifleri çok küçük olduğundan, kalsiyum iyonları düz kasın her tarafına difüze olabilir ve kasılma işlemini meydana getirir. Difüzyonun olabilmesi için geçen süre içindeki dönem, kasılma başlamadan önceki *latent dönem* adı verilir (Guyton, 2001).

Düz kaslarda kasılmanın olabilmesi, yani intrasellüler kalsiyum iyon düzeyinin belirli bir eşik değer üzerinde yükselebilmesi için ‘mutlaka depolarizasyon olması gerekmez’. Bu kaslar hiç depolarizasyon olmaksızın da fizyolojik etkenler (nöromediyatörler, hormonlar ve otakoidler) tarafından kasılabilirler. Fizyolojik etkenler veya bunları taklit eden ilaçlar tarafından depolarizasyon meydana gelmesine ‘farmakomekanik kenetlenme’ denilir (Somlyo ve somlyo, 1968).

Ekstrasellüler sıvının kalsiyum iyon konsantrasyonu iskelet kasının kasılma gücüne etki etmezken, düz kasta ise önemlidir. Çünkü ekstrasellüler kalsiyum iyon konsantrasyonu düşük bir düzeye indiği zaman düz kas kasılması genellikle durur. Yani düz kas kasılmasının gücü büyük oranda ekstrasellüler sıvının kalsiyum iyon konsantrasyonuna bağlıdır. İskelet kaslarında ise depolarizasyon sodyum akımına bağlıdır (Guyton, 2001).

Ekstabl hücrelerin depolarizasyonu sırasında ekstrasellüler kalsiyum iyonları, voltaja bağlı yavaş kalsiyum kanallarının açılması sonucu hücre içine girer ve depolarizasyonun yavaş fazına katkıda bulunur. Kalsiyumun eksitasyon-depolarizasyon kenetine katkısı düz kas hücrelerinde ve kalbin nodal hücrelerinde, diğer ekstabl hücrelerde olduğundan daha fazladır. Ayrıca, kalsiyum iyonları gerek kalp kası gerekse damar düz kas hücrelerinde eksitasyon-kontraksiyon kenetini oluştururlar (Kayaalp, 2002).

Kalsiyum kanal blokörleri, stoplazma membranındaki voltaja bağlı kanal proteini veya heterooligomerik kompleksi üzerindeki özel bağlanma yerleri olan kendilerine özgü reseptörlere yüksek afiniteli bir şekilde bağlanarak Ca^{+2} girişini (konduktansını) azaltırlar. Bu etkiler damar düz kası ve kalp hücreleri düzeyinde oluşur; bunun sonucu olarak damarları gevşetirler. Miyokardı ve diğer kalp hücrelerini deprese edebilirler (Kayaalp, 2002).

Hücre içi kalsiyum düzeyi ile düz kas kasılması arasındaki ilişkiyi ortaya koyan çeşitli deneyler yapılmıştır. Yüksek potasyum düzeyinin uygulanması, membranda depolarizasyon yaparak voltaja bağlı kalsiyum kanallarının açılmasını sağlar ve ortamda yüksek konsantrasyonda K^+ kaldığı sürece kanalların açık olmasına neden olur. Bu şekilde yüksek konsantrasyonda potasyumla önceden depolarize edilmiş düz kasların farmakomekanik kenetlenme yapan asetilkolin gibi fizyolojik etkenlerle kasılabildiği, yıllar önce ve Schild tarafından gösterilmiştir (Evans ve Schild, 1957).

1. 6. Kalsiyum Kanalları

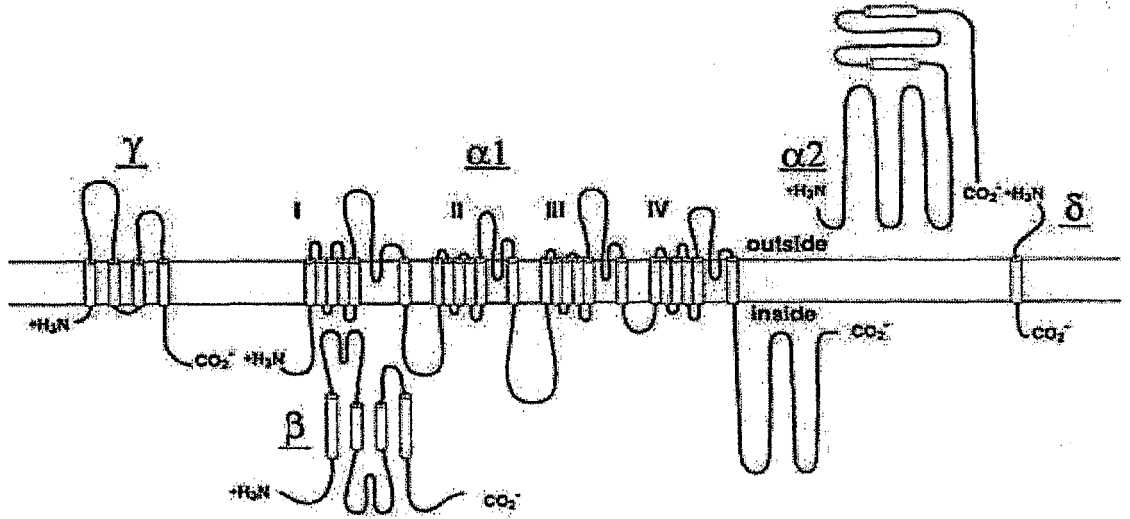
Ca^{2+} hücre içine kalsiyum kanalları aracılığıyla girer. Kalsiyum kanalları, Voltaja Bağlı ve Reseptöre Bağlı olmak üzere iki şekilde tanımlanmıştır (Ganong, 2001).

1. 6. 1. Voltaja Bağlı Kalsiyum Kanalları

Voltaja bağlı kalsiyum kanalları birçok hücrenin hücre membranları ve fonksiyon türlerinde bulunur. Voltaj-bağlı kalsiyum kanalları aracılığıyla kalsiyumun hücre içine girmesi cevap olarak, membran depolarizasyonu ve intrasellüler düzenlemeler örneğin, kontraksiyon, sekresyon ve gen ekspresyonu gibi olayların gerçekleşmesini sağlar. Kalsiyum iyonlarının aktiviteleri hücrelerde fizyolojik olaylarda hücrelerin yüzeyinde elektiriksel sinyalleri birleştirir (Catterall ve ark., 2003).

Kalsiyum kanallarının biyokimyasal olarak karakteristik özelliklerine baktığımızda, dört veya beş farklı altbirimden oluşan kompleks proteinler olduğu görülür. Bu altbirimler α_1 , α_2 , beta, gama ve delta alt-birimleridir. α_1 altbirim 190-250 kDa olup en büyük birimdir. Kanal fonksiyonu yapan ve ilaçları bağlayan altbirim α_1 altbirimidir. İlaçlar, toksinler ve ikinci haberciler tarafından kanal düzenlenmesinin gerçekleştiği voltaj değişimlerini algılayan ve kanalın girişini bulunduran ve membrandaki porla birleştiren kısımdır. Altı transmembran segment (S1-S6) ile dört homolog bölgeyi (I-IV) birleştiren voltaj-bağlı kalsiyum kanal altbirimi α_1 'dir. S4 segmenti voltaj değişimlerini algılayan kısımdır. İyon konduktansını ve selektifliğini, ve yalnızca değişik üç amino asid'leri tanıyan porda bulunan I, II, III ve IV bölgelerindeki S5 ve S6 segmentleri sağlar. β altbirimi intrasellülerde ve membranda bulunur.

Kalsiyum kanallarının birçok tipinde $\alpha_2\delta$ kompleks altünitesi bulunur. Altbirimlerden γ ise beyin ve kalpte, iskelet kaslarındaki kalsiyum kanallarında bulunur. Ancak bu yardımcı altbirimlerin farklı farmakolojik ve elektrofizyolojik özellikleri nedeniyle kanalda yardımcıdırlar. Başlıca kanalda modülasyonu sağlayan kalsiyum kanal altbirimi α_1 'dir (Catterall ve ark., 2003). (Endo ve ark., 2000).



Şekil 1. 3. Kalsiyum kanal yapısının şekli

Alfa1 altbiriminin bulunduğu hücre ve doku tipine göre değişen çeşitli izoformları vardır. Memelilerde α_1 altbirimi fonksiyonuna göre on farklı bölgede kodlanmıştır. Kalsiyum kanallarının isimlendirilmesinde kimyasal sembolü (Ca) ile fizyolojik olarak voltaj-bağlı olduğundan Ca_v sembolü ile gösterilir. α_1 altbiriminin içerdiği altfamilyanın keşfi ile Ca_v1 ile terimlendirme yapılmıştır. Sırasıyla ($Ca_v1.1$, $Ca_v1.2$, $Ca_v1.3$ ve $Ca_v1.4$) ile sembolize edilir. Ve bu kanallar L-tip aracılı Ca^{+2} akımını sağlarlar. Ca_v2 altfamilyası ($Ca_v2.1$ den $Ca_v2.3$) isimlendirilir ve P/Q-, N- ve R- tip aracılı Ca^{2+} akımını sağlar. Ca_v3 altfamilyasını $Ca_v3.1$ den $Ca_v3.3$ içeren kanallar T-tip aracılı Ca^{2+} akımını sağlar (Catterall ve ark., 2003).

1. 6. 1. 1. T-tip Kalsiyum kanalları

T-tip kalsiyum kanallarını, diğer kalsiyum kanallarından ayıran özellikleri vardır. Bunlardan ilki çok düşük voltaj ile aktive olmalarıdır. İkinci olarak, daha hızlı inaktive olurlar. T-tip kanallar sabit dinlenim potansiyeli -60 mV veya daha yüksek olduğu zaman tamamen inaktive olurlar. Bu kanalların vücutta dağılımı sınırlıdır. Kalpte sinuatrial (SA) düğümdeki hücrelerde ve beyin nöronlarında bulunur. Güçlü T-tip voltaj bağlı kalsiyum kanalları için selektif blokörler henüz yoktur. Ancak, Amiloride T-tip voltaj bağlı kalsiyum kanalları blokajı için hafifte olsa selektif özellik gösterir ve kardiyak kaslarda ve nöronlardaki T-tip voltaj bağlı kalsiyum kanallarını inhibe edebilirler. Antikonvülsan olan ethosuximide T-tip kanal blokajı yapar (Soria ve Cena, 1998).

1. 6. 1. 2. L-tip Kalsiyum kanalları

L-tip kalsiyum kanalları çok geniş alana yayılmış olan ve en iyi anlaşılmış olan sınıftır. Aktivasyonları için güçlü depolarizasyon gerekmektedir, aktive olunca uzun süre açık kalırlar ve geç kapanırlar. Bu kanallar, kalsiyumun en yaygın bulunduğu iskelet, kardiyak ve düz kas hücrelerinde ve en çok nöroendokrin hücreler yaygın olarak bulunur. L-tipi kalsiyum kanalının alfa1 altbirimi üzerinde, kanalın allosterik bir şekilde etkileyen en az dört stereoselektif bağlanma yeri vardır. Bunlar Dihidropiridinler, Fenilalkilaminler, Benzodiazepinler ve tetrolol (mibefradil) bağlanma yerleri veya reseptörlerdir (Kayaalp, 2002). Dihidropiridinler, Fenilalkilaminler ve Benzodiazepinler tarafından bloke olurlar (Catterall ve ark., 2003). Bu kanalların öne çıkan özelliklerinden biri dihidropiridinlere duyarlı olmalarıdır. Kalsiyum kanal blokörü olan dihidropiridinler (DHP) klinikte hipertansiyon ve anjino pektorisite kullanılır. DHP türevleri vazoselektifdirler. Damarları gevşeten doz ve konsantrasyonlarda kalp kası ve diğer kalp hücreleri üzerinde genellikle belirgin bir depresan etki yapmazlar. En fazla vazoselektif özellik gösteren, yeni ilaçlar olan amlodipin, felodipin, lasidipin ve lerkanidipin'dir (Kayaalp, 2002). DHP blokörlerinden ilk kullanıma giren nifedipin'dir. Nimodipin ve Nitrendipin de DHP türevi kalsiyum kanal blokörleridir. Düz kaslarda, nimodipinin 1µM konsantrasyonunda L-tip kalsiyum kanalları tamamen inhibe olur. Ancak rat serebral Purkinje nöronlarında veya P tip kalsiyum kanalları üzerinde hemen

hemen inhibitör bir etkisi yoktur. Fenilalkilaminler; verapamil ve Benzodiazepinler; diltiazem de L-tip kalsiyum kanallarına yüksek afinite ile bağlanarak inhibe ederler. Tabi bu blokörlerin bağlandığı bölgeler dihidropridinlerin bağlandıkları bölgelerden farklıdır (Soria ve Cena, 1998).

1. 6. 1. 3. N-tip Kalsiyum kanalları

N-tip kalsiyum kanalları L-tip kalsiyum kanalları ile kıyaslandığında, N-tip kalsiyum kanallarının nöronlarda ve nöroendokrin hücrelerde Örneğin; pituitary hücreler ve adrenal kromofin hücreler gibi sınırlı olduğu görülür. N-tip kanallarında güçlü depolarizasyon ile aktive olurlar. Daha çok nöronlarda, özellikle dentrid hücrelerinin, sinapslarından nörotransmitter transferinde rol oynarlar. Salyangoz ve örümcek venomlarından izole edilen polipeptid toksinler aracılığıyla bloke olurlar (Catterall ve ark., 2003). Peptid toksin olarak adlandırılan w-konotoksin GVIA (w-CgTx GVIA) N-tip kalsiyum kanallarının şimdiye kadar bilinen en büyük blokördür. Bu toksin deniz salyangozu (*Conus geographus*)'nun venomlarından izole edilmiştir. Bazı nöronlarda bulunan L-tip kalsiyum kanalları üzerine bir etkisi yoktur. Ancak bu toksinin zayıf bloke etkisi, insan beyninden klonlanan L-tip kalsiyum kanalında bulunmuştur (Soria ve Cena, 1998).

1. 6. 1. 4. P-tip Kalsiyum kanalları

P-tip kalsiyum kanalları serebral purkinje nöronlarında bulunurlar. P-tip kanallarda güçlü depolarizasyon ile aktive olurlar. Rat serebral purkinje nöronlarının küçük bir bölümündeki P-tip kanalları, Dihidropridinler ve w-CgTx GVIA bloke eder. 48 aminoasitlik peptid olan w- Aga-IVA toksini, serebral purkinje nöronlarındaki P-tip kalsiyum kanallarını bloke eder. Ayrıca nitrendipin ve w-konotoksin'nin de bu kanalları yavaş bir şekilde bloke ettiği bulunmuştur (Soria ve Cena, 1998).

1. 6. 1. 5. Q-, R ve E-tip kalsiyum kanalları

Q-tip kalsiyum kanallarının varlığı da ileri sürülmüştür. Memeli beyninde sinaptik iletme katkıda bulunan bu kanallar w-CgTx MVIIC ve w-Aga-IVA vasıtasıyla bloke olurlar. Nimodipin ve w-CgTx GVIA'ne karşı ise dirençlidirler. Ayrıca R-tip ve E-tip kalsiyum kanalları da klonlanmıştır (Soria ve Cena, 1998). R-tip kalsiyum kanalları da nöronlarda bulunur ve aktive

olabilmeleri için güçlü bir şekilde depolarize olmaları gerekmektedir (Catterall ve ark., 2003).

Fluspirilin, serebral purkinje nöronlarındaki P-tip kalsiyum kanallarını ve sempatik nöronlardaki N-tip kanalları bloke eder. Fluspirilin P-tip ve N-tip kanallarına selektif değildir. Çünkü, L-tip ve T-tip kanallarına da inhibisyonu vardır (Soria ve Cena, 1998).

1.7. AMAÇ

Günümüzde canlılarda yeni moleküller, ve bilinen makromoleküller ve hücreler arasında yeni işlevlerin yanısıra ilaç ve kimya sanayisinde yeni gelişmeler devam etmektedir. Hastalıkların etki mekanizmalarının araştırılması ve daha bu hastalıklar üzerine spesifik etkili yan etkileri daha az ilaç geliştirme çalışmaları sözkonusudur. İlaç geliştirme çalışmaları, yeni ilaç sentezi ile olduğu gibi doğal maddelerin ve doğal bileşiklerin araştırılması şeklinde birkaç koldan paralel bir şekilde devam etmektedir (Hostettmann ve ark., 2001). Bunların yanısıra bilinen eski ilaçların daha önce bilinmeyen yeni etkileri olduğu çalışılmakta ve etkili olduğu bildirilmektedir (Karpe ve Frayn, 2004).

Bilgisayar ve yeni teknolojik araçların gelişmesi, özellikle sanal tarama (virtual screening) olarak da bilinen *in silico* yöntemler (Yamashita ve Hashida, 2004) ilaç geliştirmede ve yapı-etki ilişkilerinde yeni yaklaşımlar sağlamaktadır (Zernov ve ark., 2003; Lancot ve ark. 2003). Bu yaklaşıma örnek olarak, bir ilaç adayı molekülün bir adet aromatik yapıya sahip olmasının, bir adet hidrojen bağ donorüne sahip olmasının, hidroksil grup sayısının bir olmasının ve CH₃ grup sayısının 0 ile 3 arasında olmasının en çok istenilen özellikler arasında olduğu bulunmuştur (Xu ve Stevenson, 2000).

Bu çalışmada kekik olarak bilinen bitkilerde bulunan dolayısıya doğal bileşikler olan timol ve karvakrol ile bu moleküllerin izopropil grubu taşımayan orto-krezol ve meta-krezol un, son derecede basit yapıya sahip olmaları ve yukarıda istenilen özelliklere yakın yapıda olmaları nedeniyle, kalsiyum cevapları üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Moleküllerin yapısal benzerliği ve basitliği nedeniyle deneylerimiz sonucunda elde edilecek bilgilerin ayrıca biyoinformatik ve keminformatik alanına da uygulanabilecek yeni veriler sunması beklenmektedir.

ÇİZELGE 1.1 Kalsiyum kanallarının fizyolojik ve farmakolojik fonksiyonları (Catterall ve ark., 2003).

Kanal	Akım	Bulunduğu yer	Spesifik antagonistler	Hücresel fonksiyon
Ca_v1.1	L	İskelet kası transvers tübüller	Dihidropiridinler, Benzodiazepinler, Fenilalkilaminler	Eksitasyon - kontraksiyon
Ca_v1.2	L	Kardiyak myositler, endokrin ve nöronal hücreler	Dihidropiridinler, Benzodiazepinler, Fenilalkilaminler	Eksitasyon-kontraksiyon, hormon salınımı, sinaptik iletişim
Ca_v1.3	L	Endokrin ve nöronal hücreler	Dihidropiridinler, Benzodiazepinler, Fenilalkilaminler	Hormon salınımı, transkripsiyon, sinaptik iletişim
Ca_v1.4	L	Retina	-	Bipolar hücrelerden nörotransmitter salınımı
Ca_v2.1	P/Q	Sinir terminali ve dendritler	w-agatoxin IVA	nörotransmitter salınımı dendritik Ca ⁺² taşınması
Ca_v2.2	N	Sinir terminali ve dendritler	w-CT _x -GIVA	nörotransmitter salınımı dendritik Ca ⁺² taşınması
Ca_v2.3	R	Nöronal hücre soması ve dendritler	SNX-482	-
Ca_v3.1	T	Nöronal hücre soması ve dendritler, kardiyak myositler	-	pacemaker
Ca_v3.2	T	Nöronal hücre soması ve dendritler, kardiyak myositler	-	pacemaker
Ca_v3.3	T	Nöronal hücre soması ve dendritler	-	pacemaker

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Deney Hayvanları

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

2.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar

2.1.2.1. Kimyasal maddeler

CaCl ₂	(Merck)
Glukoz	(Merck)
KCl	(Merck)
MgCl ₂	(Merck)
NaCl	(Merck)
NaHCO ₃	(Merck)
NaH ₂ PO ₄	(Merck)
Asetilkolin. Cl	(Merck)
Nifedipin	(Merck)
Fenilefrin	(Merck)
DMSO	(Merck)
Karvakrol	(Merck)
Timol	(Merck)
o-Krezol	(Merck)
m-Krezol	(Merck)

2.1.2.2. Kullanılan cihazlar 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 transdusır	(Ugo-Basile, Italy, cat. 7070)
Enjektörler	(1, 5, 10 ml, Hayat A.Ş., Türkiye)
Mikropipet	(Eppendorf, Alm.)
Cerrahi alet ve malzemeler	

2.2 Yöntem

2.2.1 İzole Organ Banyosu Deneyleri

Deneylerde kullanılan sıçanlar servikal dislokasyon ile öldürüldükten sonra göğüs ve karın bölgesi açılarak aorta, mide ve ileum çıkartılmıştır. Fizyolojik solüsyon olarak kullanılan Tyrode solusyonu (NaCl 8; KCl 0.2; NaHCO₃ 1; CaCl₂ 0.24; MgCl₂ 0.01; NaH₂PO₄ 0.05; Glikoz 1 (g/lt) içine alınmıştır (Bowman ve Rand, 1980).

Midenin fundus kısmından alınan stripleri klasik yöntemlere uygun olarak kullanılmıştır (McLeod L. ve Staff of Edinburgh., 1972). İleum 'ileoçekal valvülden 10-20 cm uzaklıktaki segmentlerden 2 cm kesip kullanılmıştır. Aorta thoracica, diafragmatik uçtan başlanarak arcus aortaya doğru dikkatle kesilip çıkarılmıştır. 3-5 mm uzunluğunda alınan preparat hassas bir şekilde sürterek endotelinden temizlenmiştir.

Tez çalışması boyunca yapılan tüm deneylerin Helsinki deklarasyonuna uygun şekilde yapılmasına özen gösterilmiştir (<http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>).

İzole organlar çevre dokulardan temizlendikten sonra, izole organ banyosuna aktarılmıştır. İzole organ sıcaklığı 36,5°C de sabitlenmiş ve izole organ banyosundan %95 O₂, %5 CO₂ gazları geçirilerek dokuların oksijenlenmesi sağlanmıştır. Aorta ve ileuma 1g, mide fundusa 1.5g gerim uygulanmıştır. Aorta cevapları izometrik transdusır, ileum ve mide- fundus cevapları ise izotonik

transdusörler aracılığı ile rekorder' da kaydedilmiştir. Organlar 15 dakikada bir fizyolojik solüsyon ile yıkanarak 1 saat süreyle inkübe edildikten sonra doz çalışmasına başlanmıştır. Çalışma süresince, her doz-cevap alımından sonra, organ fizyolojik solüsyon ile yıkanarak en az 15 dakika inkübe edilmiştir.

Test maddeleri olan karvakrol ve timolün 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} konsantrasyonları, o-krezol ve m-krezol'ün 10^{-4} konsantrasyonu izole organ banyosunda organlar üzerine etkisi denenmiştir. Test maddelerinin K^{+} ile depolarize edilen izole organ preparatları kullanılarak $CaCl_2$ varlığındaki cevaplara bakılmıştır (Kenny ve ark., 1990; Spedding, 1982). Nifedipin (10^{-6}) varlığında test maddelerinin $CaCl_2$ cevabı üzerindeki etkileri incelenmiştir.

2.2.2 Karvakrol, Timol, o-krezol ve m-krezol ile yapılan deneyler

2.2.2.1 K^{+} -depolarize İzole Mide Fundus $CaCl_2$ Deneyleri

İzole mide fundus çalışmaları için klasik yöntemlerle hazırlanan preparatlar kullanılmıştır. Organ, 1.5 g gerim uygulanarak asılmış ve cevaplar izotonik transdüsör aracılığı ile rekorder tarafından kaydedilmiştir. İzole mide fundus üzerinde karvakrol, timol, o-krezol ve m-krezol'ün Ca^{2+} antagonist etkisi olup olmadığını test etmek için K^{+} -depolarize edilen izole fundus preparatları kullanılarak $CaCl_2$ varlığındaki cevaplara bakılmıştır. Karvakrol ve timolün 10^{-6} , 10^{-5} , $10^{-4}M$ ve o-krezol ile m-krezol'ün $10^{-4}M$ dozları varlığında $CaCl_2$ 'e karşı doz-cevaplar alınmıştır. Organlar 15 dakikada bir Tyrode solüsyonu ile 15 dakikada bir yıkanmak üzere 45 dakika inkübe edilmiştir. Organın sağlamlığından emin olabilmek için asetilkolin doz-cevabı alınmıştır. Organ Tyrode solüsyonu ile yıkanıp 15 dakika inkübasyondan sonra kalsiyumsuz fizyolojik çözelti ile (NaCl 97; KCl 40; $NaHCO_3$ 11.9, NaH_2PO_4 0.4; Glikoz 5.5 (mmol/L) ile 6 defa düzenli olarak yıkanarak ortamdan Ca^{2+} kalıntılarının temizlenmesi sağlanmış ve 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10 mmol $CaCl_2$ çözeltisi ile doz-cevabı kaydedilmiştir.

Organ tekrar normal Tyrode solüsyonu ile yıkanarak 15 dakika inkübe edildikten sonra 6 defa kalsiyumsuz fizyolojik solüsyonu ile yıkanmış ve organ bu çözeltideyken çözücünün etkisini kontrol etmek için 0,2 ml DMSO ile 5 dakika maruz bırakıldıktan sonra $CaCl_2$ ile doz-cevabı alınmıştır.

Organ Tyrode solüsyonu ile dinlendirilip, 6 defa kalsiyumsuz fizyolojik solüsyon ile yıkandı ve organ bu çözeltideyken karvakrol ve timolün 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M dozları ile o-krezol ve m-krezol'ün 10^{-4} M dozları 5 dakika ayrı ayrı maruz bırakılmış ve CaCl_2 doz-cevabı alınarak kasılmalar kaydedilmiştir.

2.2.2.2 K^+ depolarize İzole ileum CaCl_2 deneyleri

İzole ileum üzerinde karvakrol, timol, o-krezol ve m-krezol'ün Ca^{2+} kanal antagonist etkisi olup olmadığını test etmek için K^+ ile depolarize edilen izole fundus preparatları kullanılarak CaCl_2 varlığındaki cevaplara bakılmıştır. Daha önce belirtildiği gibi organ preparatı 15 dakikada bir Tyrode solüsyonu ile yıkanmak üzere 45 dakika inkübe edildikten sonra organın sağlamlığından emin olabilmek için asetilkolin doz-cevabı alınmıştır. Organ Tyrode solüsyonu ile yıkanıp 15 dakika inkübasyondan sonra kalsiyumsuz fizyolojik çözelti ile 6 defa düzenli olarak yıkanarak ortamdan Ca^{+2} kalıntılarının temizlenmesi sağlanmış ve 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, mmol CaCl_2 çözeltisi ile doz-cevabı kaydedilmiştir. Test maddelerinden karvakrol ve timolün çözücüsü olan DMSO (0.2 ml) varlığında da CaCl_2 doz-cevabı alınmıştır. Daha sonra karvakrol'ün 10^{-8} , 10^{-6} , 10^{-4} M dozları, timolün 10^{-8} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M dozları ile o-krezol ve m-krezol'ün ise 10^{-4} M dozu varlığında, CaCl_2 doz-cevabı alınarak, kasılmalar izotonik transdüsör aracılığı ile rekorder tarafından kaydedilmiştir.

2.2.2.3 K^+ depolarize İzole aorta CaCl_2 deneyleri

Aorta preparatları, deney hayvanları öldürüldükten hemen sonra göğüs kafesi açılarak aorta thoracica, diafragmatik uçtan başlanarak arcus aortaya doğru dikkatle kesilip çıkartılmıştır. 3-5mm uzunluğunda alınan preparat hassas bir şekilde sürterek endotelinden temizlenmiştir. 20ml'lik banyoya 1g gerim uygulanarak asılmıştır. 60 dakika Tyrode solüsyonunda inkübe edildikten sonra 10^{-5} M fenilefrin ile prekontrakte edilmiştir. Tekrar 20 dk. İnkübasyondan sonra 6 defa kalsiyumsuz fizyolojik çözelti ile yıkanarak, ortam kalsiyumdan temizlenince, CaCl_2 doz-cevabı alınmıştır. Test maddelerinden karvakrol ve timolün çözücüsü olan DMSO (0.2 ml) varlığında da CaCl_2 doz-cevabı alınmıştır. Daha sonra karvakrol, timol, o-krezol ve m-krezol'ün 10^{-4} M dozları varlığında,

CaCl₂ doz-cevabı alınarak, kasılmalar izometrik transdüsör aracılığı ile recorder tarafından kaydedilmiştir.

Tüm K⁺ depolarize İzole organ deneylerinde kontrol gurubu olarak Ca²⁺ kanal blokörü olan nifedipin'nin 10⁻⁶M dozu varlığında da CaCl₂ doz-cevabı alınmıştır.

2.2.3. İstatistiksel hesaplamalar ve verilerin değerlendirilmesi

İstatistiksel hesaplamalar için değerlendirilmeye alınan deneysel verilerin manipulasyon hatalarından arındırılmış olmasına dikkat edilmiş ve veriler en az beş denekten alınmıştır. Deneysel veriler çalışan Minitab® ver.11.12 paket programı kullanılarak Student *t* testi ve/veya tek yönlü varyans analizi kullanılarak hesaplanmıştır. Varyans analizini takiben Tukey HSD çoklu karşılaştırma yöntemi uygulanmış ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İstatistik hesaplamalar sonucunda elde edilen değerlerin analizi ve şekilsel gösteriminde Sigmaplot ® ve Labplot (GPL) kullanılmıştır. Şekillerde yer alan her bir değer, ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası (mean. $\pm$ s.e. mean) olarak gösterilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. K⁺ -depolarize izole mide fundus deney sonuçları

3.1.1. Karvakrol, Timol, orto-krezol ve meta-krezol'ün izole mide fundus üzerinde CaCl₂ kasılmalarına etkisi

Timol üç farklı dozda (10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M) test edildiğinde, sadece 10^{-4} M dozunda 3 ve 10 mM CaCl₂ kasılmalarına karşı istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyon yaptığı, inhibisyonların non-kompetitif nitelikte olduğu gözlenmiştir. Timol 10^{-6} ve 10^{-5} M dozlarında herhangi bir etki göstermemiştir (Şekil 3.1) (Çizelge 3.2). Kontrol olarak kullanılan Nifedipin (10^{-6} M) mide fundus CaCl₂ kasılmaları üzerinde beklenildiği gibi inhibe edici etkili olduğu gözlenmiştir.

K⁺-depolarize izole sıçan mide fundus preparatı ile yapılan çalışmalarda CaCl₂ kasılmalarına karşı karvakrol'ün sadece 10^{-4} M dozunda CaCl₂ 0.03 mM dışındaki tüm CaCl₂ dozlarında inhibitör etkili olduğu görülmüştür (Şekil 3.2) (Çizelge 3.1).

o-Krezol'ün test edilen 10^{-4} M dozunda K⁺ -depolarize izole mide fundus üzerinde CaCl₂ kasılmalarının 1, 3, 10 mM dozlarında inhibisyon yaptığı görülmüştür (Şekil 3.3) (Çizelge 3.3).

m-Krezol'ün test edilen 10^{-4} M dozunda K⁺ -depolarize izole mide fundus üzerinde CaCl₂ 'un sadece 10 mM dozunda non-kompetitif inhibisyon yaptığı görülmüştür (Şekil 3.4) (Çizelge 3.4).

3.2. K⁺ -depolarize izole ileum deney sonuçları

3.2.1. Karvakrol, Timol, orto-krezol ve meta-krezol'ün izole ileum üzerinde CaCl₂ kasılmalarına etkisi

K⁺ -depolarize izole sıçan ileum preparatlarında timolün test edilen (10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M) dozlarından sadece 10^{-4} M dozunda anlamlı bir inhibisyon gözlenmiştir. CaCl₂'ün 1, 3, 10 mM konsantrasyonlarında kasılmalara karşı anlamlı bir non-kompetitif inhibisyon yaptığı gözlenmiştir. (Şekil 3.5)(Çizelge 3.2).

Karvakrol'ün test edilen (10^{-8} , 10^{-6} ve 10^{-4} M) dozlarından 10^{-4} M dozunda olmak üzere CaCl_2 'in 1, 3 ve 10 mM dozlarında non-kompetitif inhibisyon yaptığı gözlenmiştir. Karvakrolun etkisine en fazla duyarlı organ olarak fundus olduğu görülmektedir (Şekil 3.6) (Çizelge 3.1).

o-Krezol'ün test edilen 10^{-4} M dozunda K^+ -depolarize izole ileumdaki 0.3, 1, 3, 10 mM CaCl_2 ile oluşturulan kasılmalar üzerinde inhibisyon yaptığı (Şekil 3.7)(Çizelge 3.3), fakat m-krezol'ün izole ileum üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.8) (Çizelge 3.4).

3.3. K^+ -depolarize izole aorta deney sonuçları

3.3.1. Karvakrol, Timol, orto-krezol ve meta-krezol'ün izole aorta üzerinde CaCl_2 kasılmalarına etkisi

10^{-5} M fenilefrin ile prekontrakte edilen K^+ -depolarize izole sıçan aortası üzerinde timolün sadece test edilen 10^{-4} M dozunda 1, 3, 10mM konsantrasyonlarında CaCl_2 kasılmalarına karşı inhibitör etkili olduğu görülmüştür (Şekil 3.9) (Çizelge 3.2).

Bu deney sisteminde karvakrol'ün herhangi bir etkisi olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.10) (Çizelge 3.1).

o-Krezol'ün 10^{-4} M dozunda, izole sıçan aorta üzerinde CaCl_2 un tüm dozlarında istatistiksel olarak non-kompetitif bir inhibisyona yol açtığı görülmüştür (Şekil 3.11). orto-krezole benzer şekilde m-krezol'ün de 10^{-4} M dozunda anlamlı inhibitör etkisi gözlenmiştir (Şekil 3.12) (Çizelge 3.4).

orto- ve meta-krezollerin CaCl_2 'ün uygulanan (0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10 mM) tüm dozlarında görülmüştür (Şekil 3.11, 3.12) (Çizelge 3.3).

Kontrol amaçlı olarak kullanılan voltaja-bağı kalsiyum kanal blokörü olan Nifedipin'nin 10^{-6} M dozunun fenilefrin ile prekontrakte edilen K^+ depolarize izole aorta CaCl_2 kasılmaları üzerinde beklenildiği gibi inhibe edici etkileri gözlenmiştir.

Çizelge 3. 1. Karvakrol'un organlar üzerindeki etkisinin toplam değerlendirilmesi

[dozlar:	0.03	0.1	0.3	1	3	10 mM CaCl ₂]
funduskarvakrol [-4M]	-	+	+	+	+	+
ileumkarvakrol [-4M]	-	-	-	+	+	+
aortakarvakrol [-4M]	-	-	-	-	-	-

Çizelge 3. 2. Timol'un organlar üzerindeki etkisinin toplam değerlendirilmesi

[dozlar:	0.03	0.1	0.3	1	3	10 mM CaCl ₂]
fundustimol [-4M]	-	-	-	-	+	+
ileumtimol [-4M]	-	-	-	+	+	+
aortatimol [-4M]	-	-	-	+	+	+

Çizelge 3. 3. o-Krezol'un organlar üzerindeki etkisinin toplam değerlendirilmesi

[dozlar:	0.03	0.1	0.3	1	3	10 mM CaCl ₂]
fundusokrezol [-4M]	-	-	-	+	+	+
ileumokrezol [-4M]	-	-	+	+	+	+
aortaokrezol [-4M]	+	+	+	+	+	+

Çizelge 3. 4. m-Krezol'un organlar üzerindeki etkisinin toplam değerlendirilmesi

[dozlar:	0.03	0.1	0.3	1	3	10 mM CaCl ₂]
fundusmkrezol [-4M]	-	-	-	-	-	+
ileummkrezol [-4M]	-	-	-	-	-	-
aortamkrezol [-4M]	+	+	+	+	+	+

Çizelge 3. 5. K^+ -depolarize fundus üzerinde uygulanan tüm maddelerin etkisinin toplam değerlendirilmesi

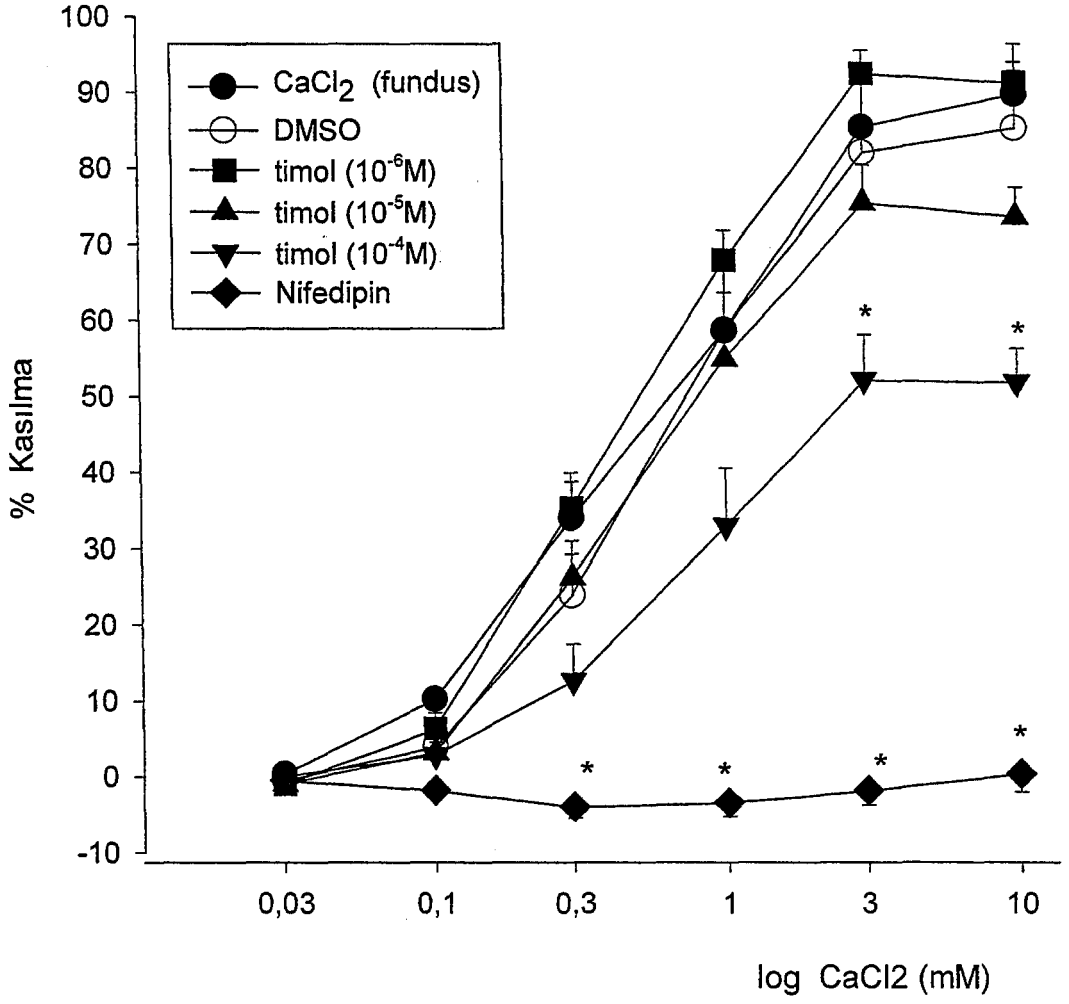
[dozlar:	0.03	0.1	0.3	1	3	10mM $CaCl_2$]
funduskarvakrol [-4M];	-	+	+	+	+	+
fundusokrezol [-4M];	-	-	-	+	+	+
fundustimol; [-4M];	-	-	-	-	+	+
fundusmkrezol [-4M];	-	-	-	-	-	+

Çizelge 3. 6. K^+ -depolarize ileum üzerinde uygulanan tüm maddelerin etkisinin toplam değerlendirilmesi

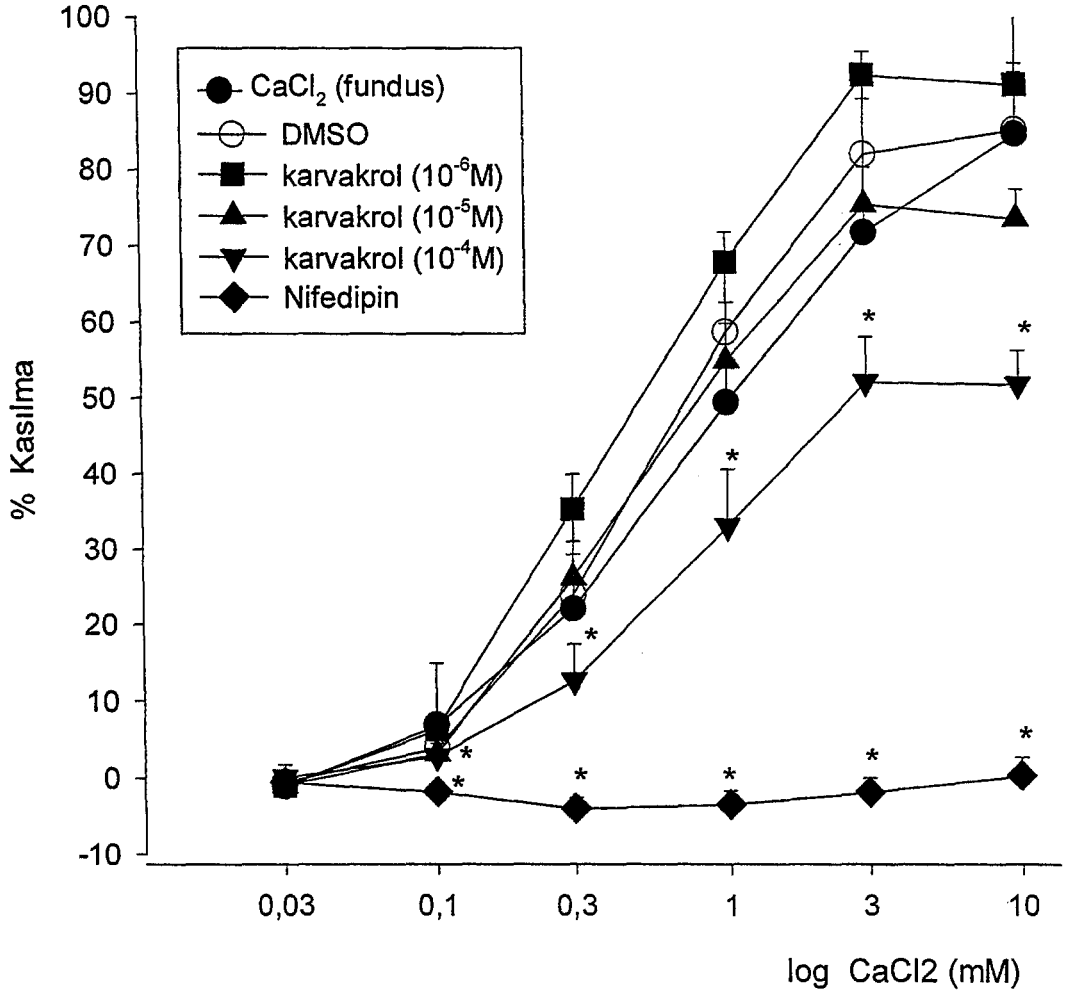
[dozlar:	0.03	0.1	0.3	1	3	10mM $CaCl_2$]
ileumokrezol [-4M]	-	-	+	+	+	+
ileumtimol [-4M]	-	-	-	+	+	+
ileumkarvakrol [-4M]	-	-	-	+	+	+
ileummkrezol [-4M]	-	-	-	-	-	-

Çizelge 3. 7. K^+ -depolarize aorta üzerinde uygulanan tüm maddelerin etkisinin toplam değerlendirilmesi

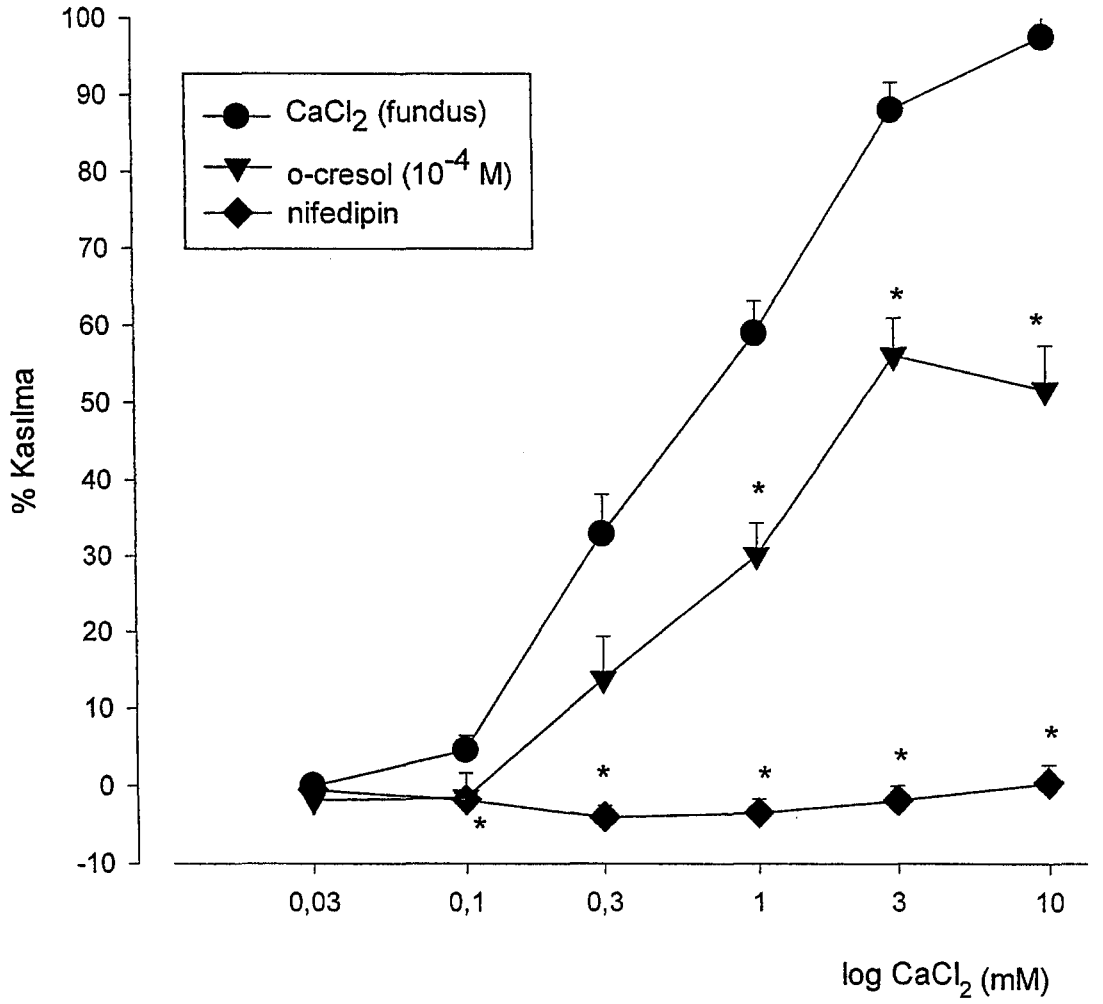
[dozlar:	0.03	0.1	0.3	1	3	10mM $CaCl_2$]
aortaokrezol [-4M];	+	+	+	+	+	+
aortamkrezol [-4M];	+	+	+	+	+	+
aortatimol; [-4M];	-	-	-	+	+	+
aortakarvakrol [-4M];	-	-	-	-	-	-



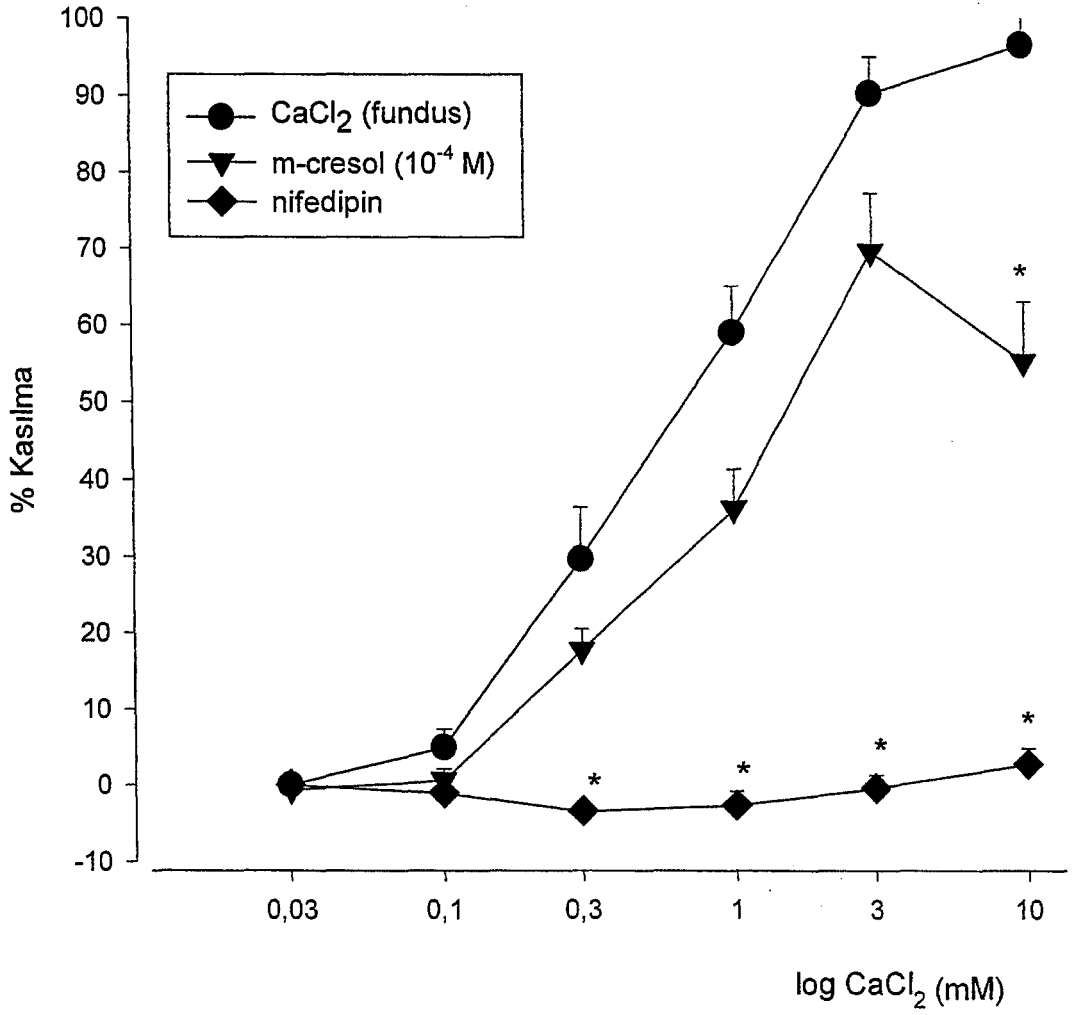
Şekil 3.1 Timol ve nifedipin'in izole mide fundusunda CaCl₂ yanıtları üzerine etkisi. (*) $p < 0.05$ (n=7).



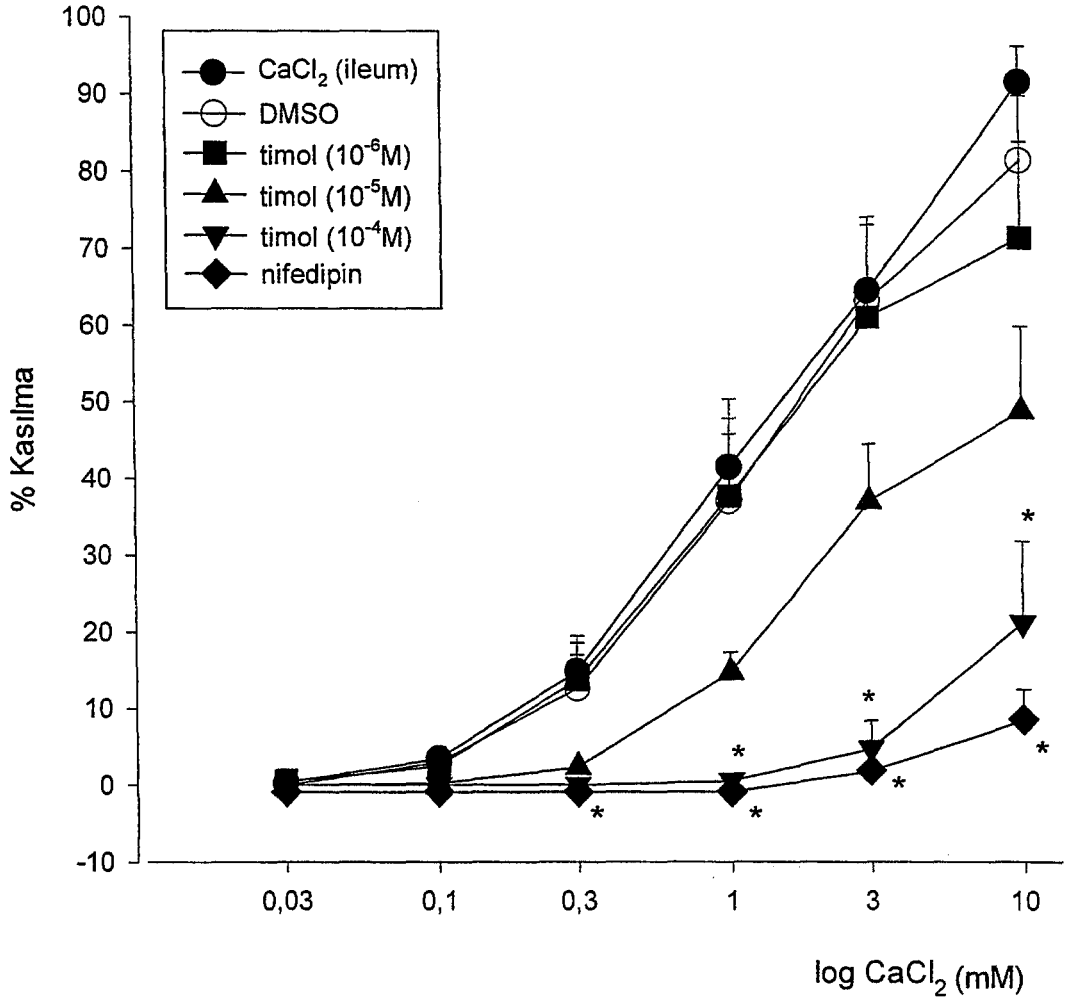
Şekil 3.2 Karvakrol ve nifedipin'in izole mide fundusunda CaCl_2 yanıtları üzerine etkisi. (*) $p < 0.05$ (n=7).



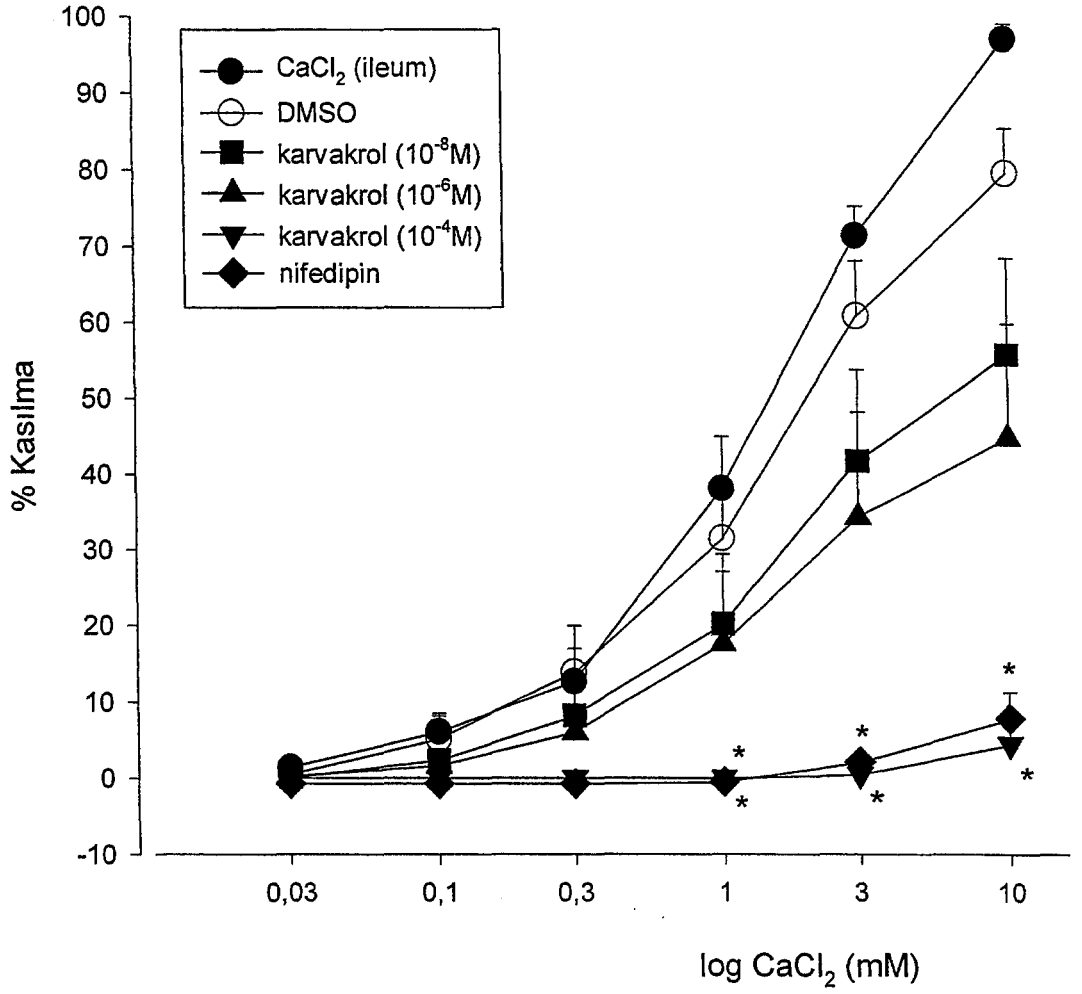
Şekil 3.3 orto-krezol ve nifedipin'in izole mide fundusunda CaCl_2 yanıtları üzerine etkisi. (*) $p < 0.05$ (n=7).



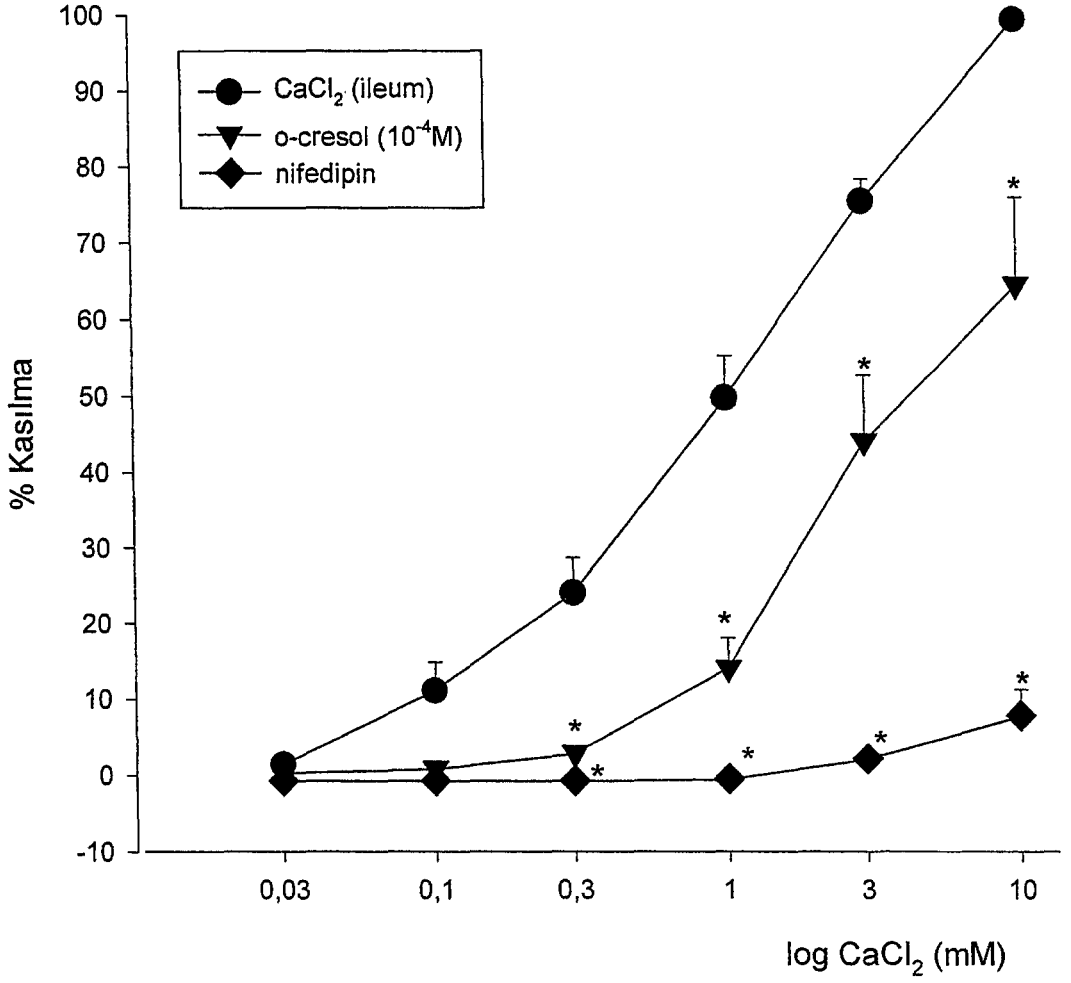
Şekil 3.4 meta-krezol ve nifedipin'in izole mide fundusunda CaCl_2 yanıtları üzerine etkisi. (*) $p < 0.05$ (n=7).



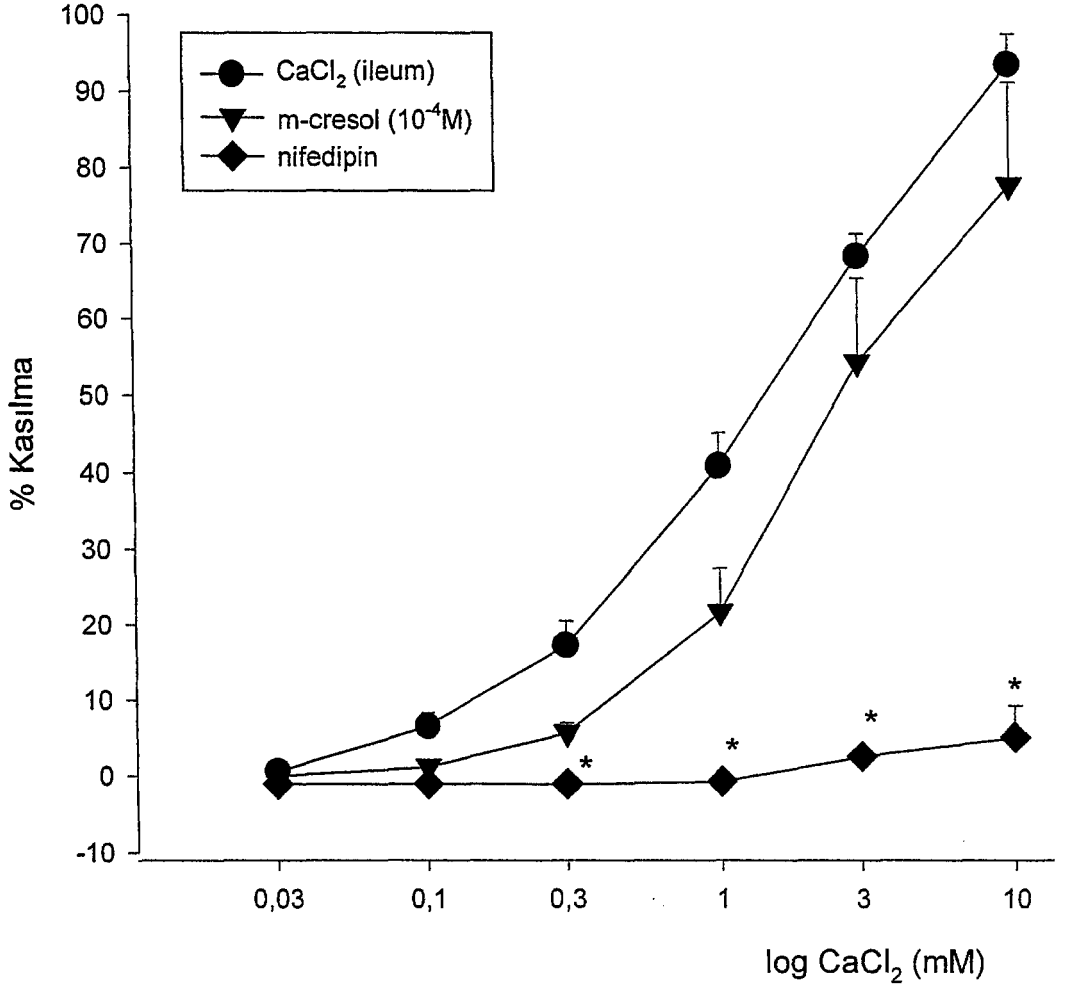
Şekil 3.5 Timol ve nifedipin'in izole ileumda CaCl₂ yanıtları üzerine etkisi. (*) p<0.05 (n=7).



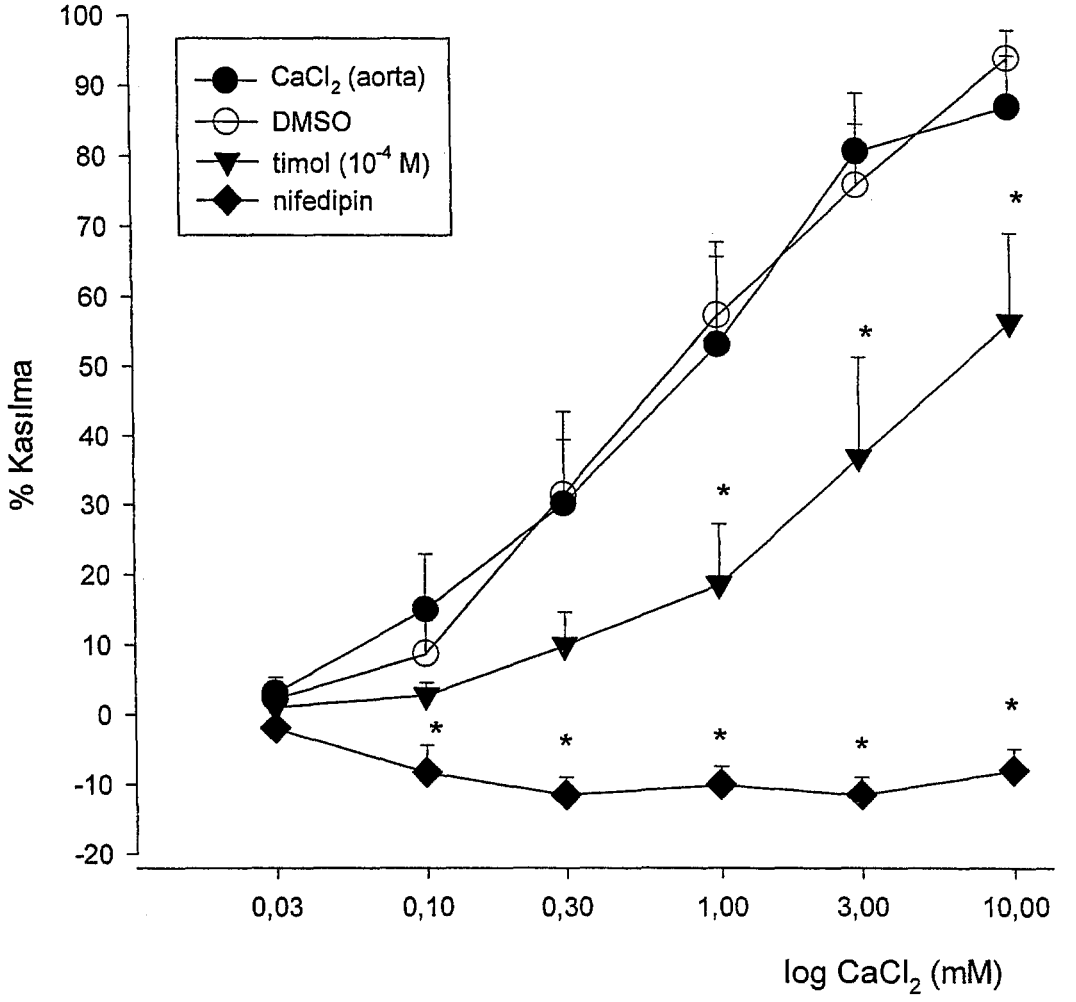
Şekil 3.6 Karvakrol ve nifedipin'in izole ileumda CaCl₂ yanıtları üzerine etkisi. (*) p<0.05 (n=7).



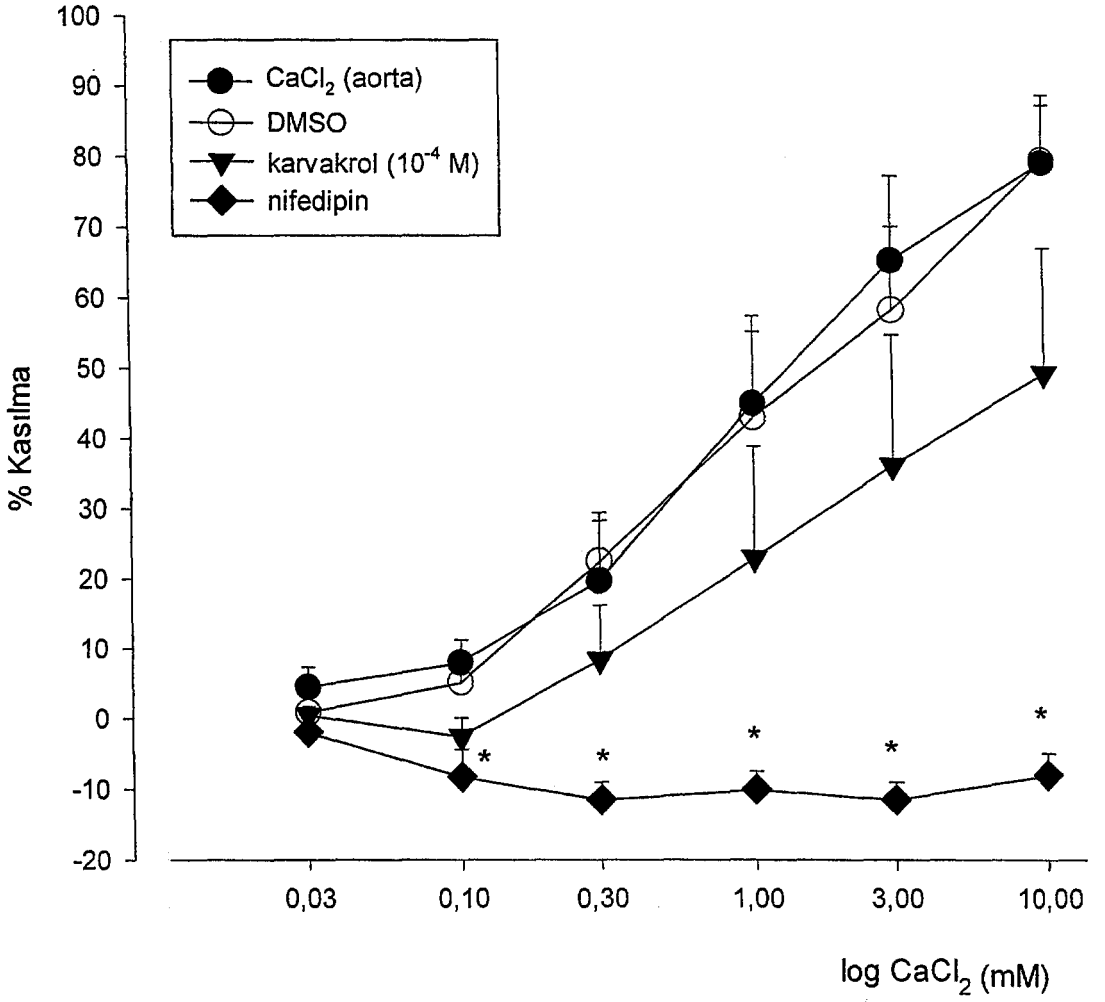
Şekil 3.7 orto-krezol ve nifedipin'in izole ileumda CaCl_2 yanıtları üzerine etkisi. (*) $p < 0.05$ ($n=7$).



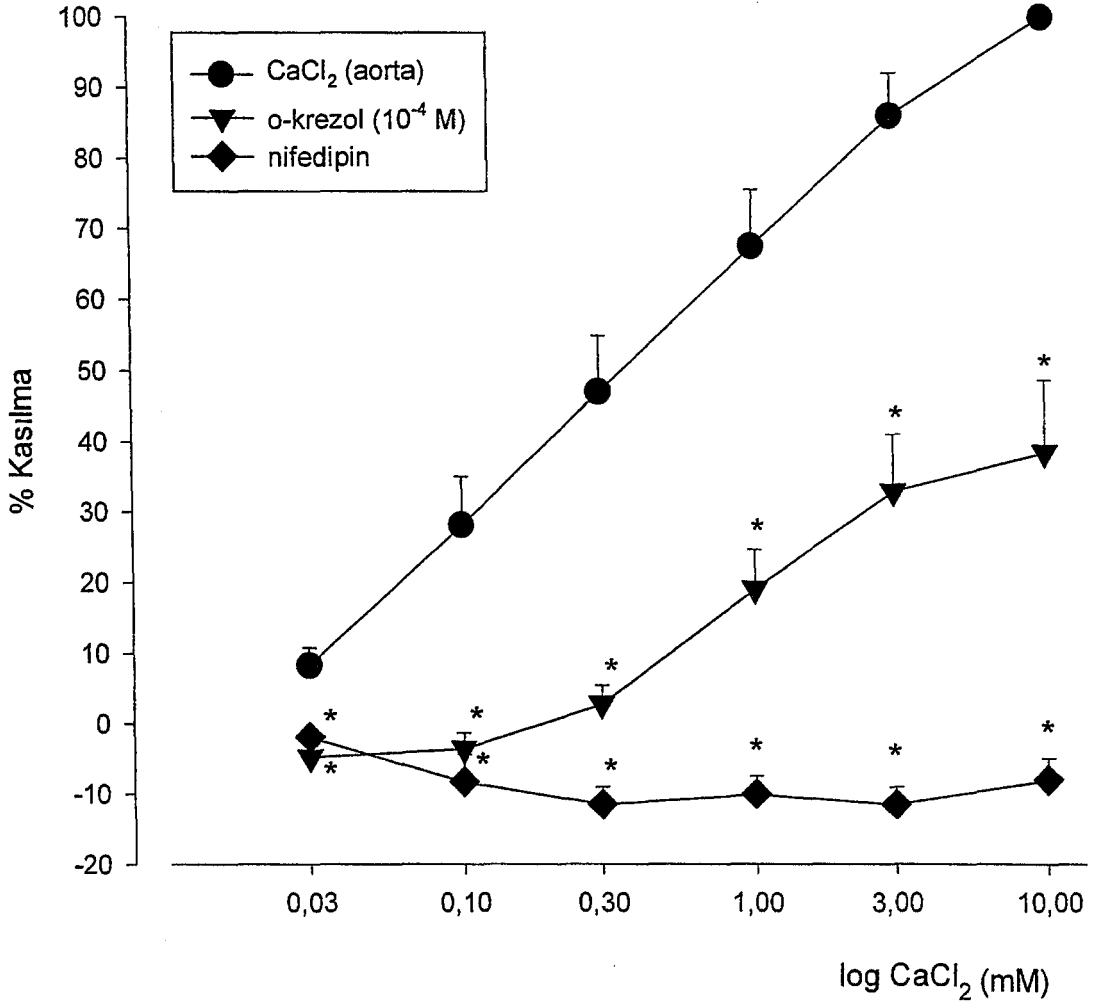
Şekil 3.8 meta-krezol ve nifedipin'in izole ileumda CaCl₂ yanıtları üzerine etkisi. (*) $p < 0.05$ (n=7).



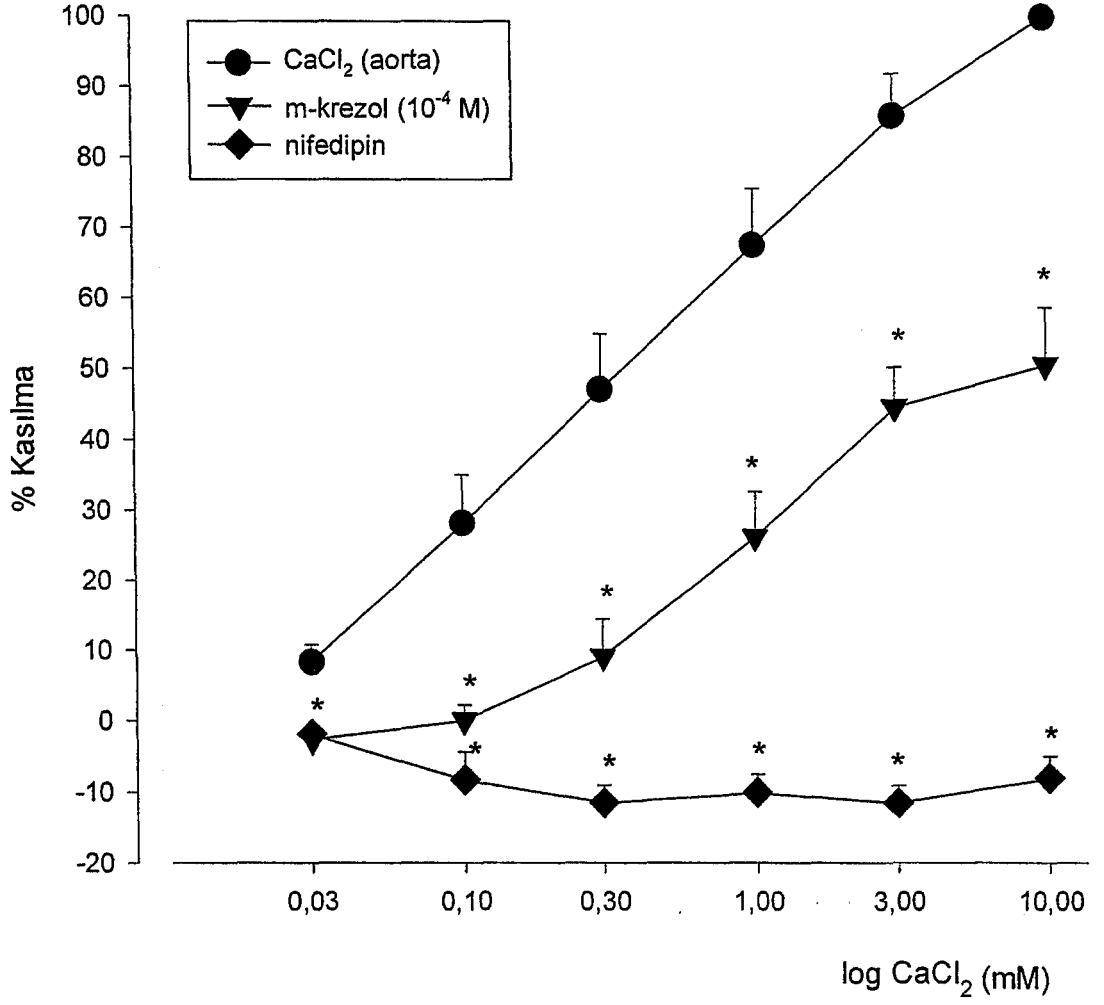
Şekil 3.9 Timol ve nifedipin'in izole aortada CaCl_2 yanıtları üzerine etkisi. (*) $p < 0.05$ (n=5)



Şekil 3.10 Karvakarol ve nifedipin'in izole aortada CaCl₂ yanıtları üzerine etkisi. (*) p<0.05 (n=5)



Şekil 3.11 orto-krezol ve nifedipin'in izole aortada CaCl_2 yanıtları üzerine etkisi. (*) $p < 0.05$ (n=5)



Şekil 3.12 meta-krezol ve nifedipin'in izole aortada CaCl_2 yanıtları üzerine etkisi. (*) $p < 0.05$ (n=5)

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada doğada bol miktarda bulunan karvakrol ve timol ile doğada yaygın olarak bulunmamakla birlikte endüstriyel gelişme sonucunda günlük yaşamda karşılaşılan moleküler yapılarındaki aynı substituentin *orto*- ve *meta*-krezol un izole sıçan düz kaslarında K^+ -depolarize izole organ üzerinde $CaCl_2$ cevapları üzerine etkileri araştırılmıştır.

Timol ve karvakrolun *orto*- ve *meta*-krezol moleküllerinin izopropillenmiş türevleri oldukları bilinmektedir. Timol ile karvakrol arasında ve bunlara benzer olarak *meta*-krezol ile *orto*-krezol arasında bulunan tek farklılık, molekül üzerinde bulunan bir adet hidroksil molekülünün pozisyonudur. Doğada yaygın olarak bulunan ve etnomedikal olarak kullanılan çeşitli doğal bileşimlerde bulunan timol ve karvakrol ile literatürde genellikle toksisitesi nedeniyle araştırma konusu olan *orto*- ve *meta*-krezoller arasında ise sadece izopropil grubu açısından farklılık vardır. Aromatik yapıdaki metil grubu ise deneylerimizde kullanılan tüm test maddelerinde bulunan ortak bir yapıdır (Şekil 1.1 ve 1.2).

Deneysel verilerimiz, K^+ -depolarize İzole sıçan mide fundus üzerinde m-krezolun en az etkili, karvakrolun ise en fazla etkili bileşik olduğunu göstermiştir. Etki açıdan bileşikler sıralandığında, en etkili bileşikten başlamak üzere sırasıyla: karvakrol, o-krezol, timol ve m-krezol gözlenmektedir (Şekil 3.1-3.4)(çizelge 3.5). Karvakrol ve o-krezoldeki ortak noktanın *orto* konumlu OH molekülü olduğu gözönüne alınacak olursa, deneysel verilerimiz sonucunda izole mide fundus üzerinde izopropil değil, molekül üzerindeki OH grubunun pozisyonunun gözlenen kalsiyum antagonistik etkinin oluşmasında önemli rol oynadığı söylenebilmektedir.

İleumda ise fundusta olduğu gibi moleküler yapı ile farmakolojik etki arasında doğrudan bir ilişki kurmak mümkün olmamıştır. İleumda en güçlü inhibisyon *beklentilerimizin aksine* o-krezol ile gözlenmiş fakat karvakrolun 10^{-5} M dozunda denenmemiş olması karvakrolun bu dozdaki olası etkisinin gözden uzak kalmasına neden olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle karvakrolun 10^{-5} M dozu da dahil olmak üzere yeni deneylerin yapılmasına gerek vardır. İleum üzerinde yapılan deneylerden gelen sonuçlara göre molekül üzerindeki *meta*

grubu ile izopropil grubunun yakın pozisyonda olmasının farmakolojik etki üzerinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Nitekim klinikte kullanılmakta olan propofol molekülünde OH ve izopropil gruplarının birbirlerine komşu olarak yerleşimli olması dikkate çekmektedir.

Bu veriler ışığında gastrointestinal sisteme ait organlar olmakla birlikte fundus ve ileum arasında farklılıklar olduğu bir kez daha deneylerimizde gösterilmiş olmaktadır.

Öte yandan orto-krezolun ileum üzerinde karvakrolden daha etkili olması fakat meta-krezolun etkisiz olması orto konumlu OH grubunun gözlenen farmakolojik etki üzerindeki rolü olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, fenil halkasındaki orto konumlu OH grubunun farmakolojik etki üzerinde oynadığı rolü üzerindeki yapılan daha önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir (Aydın ve ark., 2003).

Aorta üzerinde orto- ve meta-krezollerin inhibitör etkili olması (Şekil 3.11 ve 3.12) fakat karvakrolun etkisiz olması (Şekil 3.10) izopropil grubunun varlığı ile aortadaki kalsiyum cevapları arasında ters orantılı bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. İzopropil taşıyan karvakrolun etkisiz olması fakat timolun 1, 3 ve 10 mM CaCl_2 dozlarında inhibitör etkili olması, timolun izopropil grubuna ek olarak spesifik etkili başka mekanizmalar üzerinde de etkili olduğunu düşündürmektedir. Nitekim timolun kalsiyum (Takishima ve ark., 1979) ve ayrıca potasyum kanallarıyla etkileşmesine (Szentandrassy ve ark., 2003) ek olarak GABA gibi spesifik reseptörler ile etkileştiğine dair raporlar bu düşüncemizi desteklemektedir (Priestley ve ark., 2003). Ayrıca timole benzer yapıda fakat iki adet izopropil grubu taşıyan propofol molekülünün hem L tip kalsiyum kanal blokajı (Martella ve ark., 2005) hem de T tip kalsiyum kanal blokajı yaptığı (Joksovic ve ark., 2005), ayrıca alfa1 adrenerejik reseptörlerle etkileştiği (Gable ve ark., 2005) aynı zamanda potasyum kanallarıyla etkileştiği gösterilmiştir (Ying ve ark., 2005). Dolayısıyla timolun de birden fazla etki yöresine bağlanarak aorta üzerinde karvakrolden farklı etkilere yol açtığı düşünülmelidir.

Orto- ve meta-krezol ile kalsiyum etkileşmesini gösteren daha önce yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır ve bu konudaki bulgularımız yapılan bilgi taramaları ışığında ve bildiğimiz kadarıyla ilk kez çalışmalarımızda gösterilmiş bulunmaktadır.

Karvakrolun aorta üzerindeki deneysel verilerine dayanarak, bilinen L-tip kalsiyum kanalları ile karvakrol arasında herhangi bir etkileşmenin bulunmadığı sonucuna varmak olasıdır. Öte yandan, bugüne kadar kardiyovasküler sistem içerisinde olmak üzere, sadece kardiyak ventriküler hücrelerde karvakrolun kalsiyum kanalları üzerinde etkileri araştırılmış ve L tip kalsiyum kanallarının inhibe olduğu bildirilmiştir (Magyar ve ark., 2004). Voltaja bağlı L tip kalsiyum kanallarının bugün bilinen en az 4 farklı alttipi bulunduğu gözönüne alınacak olursa (Catterall ve ark., 2003), çalışmamızda karvakrolun spesifik olarak L tip kalsiyum kanallarının alttipleri üzerinde etkili olması sözkonusu olabilir ya da kardiyak etkilerinin bu açıdan tekrar çalışılmasına gereksinim olduğu sonucuna varılabilir.

Öte yandan, ileum ve fundus üzerindeki kalsiyum yanıtlarının karvakrol tarafından inhibe edilmiş olması, karvakrolun birden fazla etki yörenesi ile etkileşmekte olduğunu düşündürmektedir. Örneğin, mide fundus gevşemeleri üzerinde nitreerjik, purinerjik ve VIPerjik mekanizmaların önemli rol oynadığı bilinmektedir (Mule ve Serio, 2003).

Karvakrolun spesifik etkisine ilişkin olarak, çalışılan organlara göre duyarlılıkta bir değişme olduğu dikkatimizi çekmiştir. Karvakrol aortada hiç bir etki göstermezken, ileumda etkili olmuş, ancak en fazla etkinin fundusda olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.2, 3.6, 3.10)(Çizelge 3.1).

Karvakrolun izopropilsiz benzeri olan orto-krezol ise tam olarak ters yönde bir organ duyarlılığı ve etki profili göstermiştir. Buna göre o-krezol etkisi, en düşük fundusda, ileumda orta düzeyde ve en yüksek etkiyi aortada göstermiştir (Şekil 3.3, 3.7, 3.11)(Çizelge 3.3).

Bu verilere dayanarak, o-krezol ve karvakrolun etkilerinin organlara göre etki sıralamasının çok benzer olduğu, fakat o-krezol ile karvakrolun etki güçleri açısından zıt yönde bir etki profiline sahip oldukları dikkatimizi çekmiştir.

Dolayısıyla molekül üzerindeki hidroksil grubunun orto- konumda olması, gözlenen etki açısından önemli, fakat izopropil grubunun varlığı aorta üzerindeki kalsiyum yanıtları üzerindeki etkinin ortadan kalmasına neden olduğu anlaşılmıştır. İzopropil grubu ile vasküler etkiler arasında, çalışmalarımızda ortaya çıkarılmış bulunan bu etkileşmenin, kardiyak açıdan ne gibi bir önem taşıdığı henüz bilinmemektedir.

İyon kanalları ile yapılan çalışmalarda kardiyak kalsiyum kanallarının karvakrol ile inhibe olduğu gösterilmiş ancak bu bulgu herhangi bir başka fonksiyonel çalışma ile henüz desteklenmiş değildir ve yeni çalışmalara gereksinim bulunmaktadır. Karvakrolun spesifik etkili yeni bir kalsiyum kanal blokör adayı olarak karşımıza çıkmakta olduğu, santral ve periferik etkilerinin bu bilgileri ışığında yeniden değerlendirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Alam, K., Nagi, M. N., Badary, O. A., Al-Shabanah, O. A., Al-Rikabi, A. C., Al-Bekairi, A. M.: The protective action of thymol against tetrachloride hepatotoxicity in mice. *Pharmacol. Res.* **40**: 159-163, 1999.
- Amanlou, M., Dadkhah, F., Salehnia, A., Farsam, H., Dehpour, A. R.: An anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of hydroalcoholic extract of *Satureja khuzistanica* Jamzad extract. *J Pharm. Sci.* **20**:102-106, 2005.
- Aydın, S.: Kekik (*Origanum onites* L.) yağ-altı suyunun farmakolojisi. Doktora tezi, Anadolu Üniversitesi 1996.
- Aydın, S., Aral, E., Aydın, Y., Öztürk, Y., Başer, K. H. C.: Kekik (*Origanum onites* L.) uçucu yağının mast hücresi degranülasyonunu inhibe edici etkisi. XIV. Ulusal Farmakoloji Kongresinde poster bildirisi, 2-7 Kasım 1997 Tekirova-Antalya. Bildiri Özetleri Kitabı, s.81. 1997.
- Aydın, S., Arslan, L., Öztürk, Y., Başer K. H. C.: *Origanum onites* L. (İzmir kekiği) nin uçucu yağının analjezik etkisi (X. Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı ,20-22 Mayıs 1993, İzmir), X. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Özetleri, s.43.1993c.
- Aydın, S., Başer K.H.C., Öztürk, Y.: The chemistry and pharmacology of *origanum* (kekik) Water. Proceedings Of the 27th International Symposium on Essential oils. *Allured Publ.* P.52-60. 1996a.
- Aydın, S., Beis, R.: Karvakrol yüzdesi farklı *Origanum Onites* L. uçucu yağının analjezik etkisi 18. *Ulusal Farmakoloji Kongresi*, 28 Eylül - 1 Ekim 2005, İzmir.
- Aydın, S., Beis, R., Can, O. D.: Analgesic and antispasmodic activities of 2-(2-nitro-phenyl)-1H-benzimidazole 5-carboxylic acid: Evidence for the of importance of the 2-(o-substituted phenyl) group. *Pharmazie*, **58**: 405-408, 2003.
- Aydın, S., Öztürk, Y., Başer K. H. C.: Ege yöresinde yetişen *Origanum onites* L. (İzmir kekiği) nin üzerinde etnofarmakolojik araştırmalar (X. Bitkisel ilaç

- hammaddeleri toplantısı, 20-22 Mayıs 1993, İzmir), X. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Özetleri, s.45, 1993a.
- Aydın, S., Öztürk, Y., Başer K. H. C.: *Origanum onites* L. (İzmir kekiği) nin uçucu ve uçucu olmayan fraksiyonlarının barbitürat uyku zamanı üzerine etkisi ve akut letal toksisitesi (X. Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı, 20-22 Mayıs 1993, İzmir), X. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Özetleri, s.44 1993b.
- Aydın, S., Öztürk, Y., Başer K. H. C.: *Origanum onites* L. (İzmir kekiği) nin uçucu yağının kardiyovasküler sistem üzerinde etkisi (X. Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı, 20-22 Mayıs 1993, İzmir), X. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Özetleri, s.37. 1996b.
- Aydın, S., Öztürk, Y., Beis, R. and Baser, K. H. C.: Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* essential oils for analgesic activity. *Phytother. Res.*, **10**: 342-344, 1996c.
- Aydın, S., Seker, E.: Effect of aqueous distillate of *Origanum onites* L. on isolated rat fundus, duodenum and ileum: Evidence for the role of oxygenated monoterpenes. *Pharmazie*, **60**: 147-150, 2005.
- Bale, A. S., Meacham, C. A., Benignus, V. A., Bushnell, P. J., Shafer, T. J.: Volatile organic compounds inhibit human and rat neuronal nicotinic acetylcholine receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **205**:77-88, 2005.
- Baytop, T.: Türkiye'de bitkiler ile tedavi. 2. Baskı, Nobel tıp kit. İstanbul 1999.
- Blankespoor, C. L., Pappas, P. W., Eisner, T.: Impairment of the chemical defence of the beetle, *Tenebrio molitor*, by metacystodes (cysticercoids) of the tapeworm, *Hymenolepis diminuta*. *Parasitology* **115**: 105-110, 1997.
- Body, E. M., Seppard, E. P.: Bronchomucotropic action in rabbits from inhaled menthol and thymol. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **182**: 206-214, 1969. *Chem. Abstr.* **72**:77179j.

- Boskabady, M. H., Jandaghi, P.: Relaxant effects of carvacrol on guinea pig tracheal chains and its possible mechanisms. *Pharmazie* **58**: 661-663, 2003.
- Bowman, W. C., Rand, M.J.: Textbook of pharmacology. 2ⁿ Ed., Blackwell, Oxford 1980.
- Bullock, J.: *Fizyoloji*. Türkçe Çeviri Editörü; Nuran, Hariri. 2. Baskı. Saray Kitapevleri. s. 401-405. 1994.
- Calderon, G. D., Hernandez, I. E. V. I., Barragan M. G., Hernandez, G. E., Del Angel, D. S., Juarez O. H.: Effect of toluene and cresols on Na⁺, K⁺-ATPase, and serotonin in rat brain. *Regul Toxicol Pharmacol.* **41**: 1-5, 2005.
- Catterall, W. A., Streissnig, J., Snutch, T. P., Perez-Reyez, E.: International Union of Pharmacology. XL. Compendium of voltaj-gated ion channels calcium channels. *Pharmacol. Rev.* **55**: 579-581, 2003.
- Chami, N., Chami, F., Bennis, S., Trouillas, J., Remmal, A.: Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *J. Infect Dis.* **8**: 217-226, 2004.
- Chan A. S., Pang, H., Yip, E. C., Tam, Y.K., Wong, Y. H.: Carvacrol and eugenol differentially stimulate intracellular Ca⁺² mobilization and mitogen-activated protein kinases in Jurkat T-cells and monocytic THP-1 cells. *Planta Med.* **71**: 634-639, 2005.
- Chi, H. J., Kim, H. S.: Studies on essential oils of plants of Angelica genus in Korea. IV. Essential oils of Angelicae koreanae radix. *Korean J. Pharmacog.* **24**: 111-115, 1993.
- Deichmann, W. B., Witherup, S.: Phenolic studies VI. The acute and comparative toxicity of phenol and p-, m- ve o-cresols for experimental animals. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **80**: 233-240, 1944.
- Elliott, A. A., Elliott, J. R.: Voltage-dependent inhibition of RCK1 K⁺ channels by phenol, p-cresol, and benzyl alcohol. *Mol. Pharmacol.*, **51**:475-483, 1997.

- Endo, M., Kurachi, Y., Mishina, M.: *Pharmacology of Ionic Channel Function*. Springer. s.55-65, 2000.
- Erdemgil, Z.: O. onites L. uçucu yağının bileşimi. Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir 1992.
- Evans, D. H. L. and Schild, H. D.: Mechanism of contraction of smooth muscle by drugs. *Nature* 180: 341, 1957.
- Fan, M., Chen, J.: Studies on antimicrobial activity of extracts from thyme. *Wei Sheng Wu Xue Bao*. 41: 499-504, 2001.
- Farmalist, Vademecum, 2005.
- Fukuda, S.: Assessment of the carcinogenic hazard of 6 substances used in dental practices. *Shigaku* 74: 1365-1384, 1987. *Chem. Abstr.* 107:823y.
- Gable, B. D., Shiga, T., Murray, P. A., Damron, D. S.: Propofol increases contractility during alpha1-adrenoreceptor activation in adult rat cardiomyocytes. *Anesthesiology* 103: 335-343, 2005.
- Gaikwaid, N. W., Bodell, W. J.: Formation of DNA adducts by microsomal and peroxidase activation of p-cresol: role of quinone methide in DNA adduct formation. *Chem. Biol. Interact.* 138: 217-229, 2001.
- Ganong, W. F.: *Tıbbi Fizyoloji*. Çeviri, Türk Fizyolojik Bilimleri Derneği Ankara 21. Baskı. Nobel Tıp Kitapevleri. s. 79-94, 34-38. 2001.
- Gracza, L.: Biochemical pharmacological studt of medicinal plant substnces. Inhibition of acetylcholinesterase by monoterpene derivatives in vitro. *Z. Naturforsch.* 40: 151-153, 1985.
- Guyton & Hall: *Tıbbi Fizyoloji*. Türkçe Çeviri Editörü; Hayrünnisa, Çavuşoğlu. 10. Baskı. Nobel Tıp Kitapevleri. s. 70-94, 2001.
- Heldin, C. H.: Purton, M., *Signal Transduction*. Torino. 1996.
- Hisayama, T., Takayanagi, I.: Same properties and mechanisms of thymol-induced release of calcium from the calcium- store in quinea pig taenia cecum. *J. Pharmacol.* 40: 69-82, 1986 *Chem. Abstr.* 104: 62047v.
- <http://www.arb.ca.gov/toxics/tac/factshts/cresols.pdf> erişim tarihi: 17-04-2005.

- Hostettmann, K., Wolfender, J.-L., Terreaux, C.: Modern screening techniques for plant extracts. *Pharmaceut. Biol.*, **39**:18-32, 2001.
- Isman, M. B., Wan, A. J., Passreiter, C. M.: Insecticidal activity of essential oils to the tobacco cutworm, *Fitoterapia* **72**: 65-68, 2001.
- Izumi, I. and Yoshiko K.: Effect of essential oils and their components on the isolated intestine of mice. *Yakugaku Zasshi* **82**: 1326-1328, 1962. *Chem. Abst.* **58**: 7279, 1962.
- Joksovic, P. M., Brimelow B. C., Murbartian, J., Perez-Reyes, E., Todorovic S. M.: Contrasting anesthetic sensitivities of T-type Ca^{+2} channels of reticular thalamic neurons and recombinant $\text{Ca(v)}3.3$ channels. *Br J Pharmacol.*, **144**: 59-70, 2005.
- Karpe, F., Frayn, K. N.: The nicotinic acid receptor – a new mechanism for and old drug. *Lancet*, **363**:1892-1894, 2004.
- 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.
- Kayaalp, S.O.: *Tıbbi Farmakoloji*, 10. Baskı. Hacettepe-Taş. s: 442-446, 487-494. 2002.
- Kenny, B. A., Fraser, S., Klpatrik, A. T., Spedding, M.: Quantification of the affinity of drugs acting at the calcium channel, *Br J Pharmacol.* **100**: 211-216, 1990.
- Krauss, G.: *Biochemistry of Signal Transduction And Regulation*. 2nd Edition. 2001.
- Lancot, J. K., Putta, S., Lemmen, C., Greene, J.: Using ensembles to classify compounds for drug discovery. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **43**: 2163-2169, 2003.
- Livingston, A. E.: U.S. Public Health Reports 36, 1317-31 (1921). *J. Pharmacol.* **17**: 261-275, 1921. *Chem. Abst.* **15**: 1921, 1921.

- Lorante, L., Ocete, M. A., Zarzuelo, A., Cabo, M. M., Jimenez, J.: Bioactivity of the essential oil of *Bupleurum fruticosum*. *J. Nat. Prod.* **52**: 267-272 1989.
- Magyar, J., Szentandrassy, N., Banyasz, T., Fulop, L., Varro, A., Nanasi, Peter P.: Effects of terpenoid phenol derivatives on calcium current in canine and human ventricular cardiomyocytes. *Eur J Pharmacol.* **487**: 29-36, 2004.
- Magyar, J., Szentandrassy, N., Banyasz, T., Fulop, L., Varro, A., Nanasi, P. P.: Effects of thymol on calcium and potassium currents in canine and human ventricular cardiomyocytes. *Br. J. Pharmacol.* **136**: 330-338, 2002.
- Martella, G., De Persis, C., Bonsi, P., Natoli, S., Cuomo, D., Bernardi, G., Calabresi, P., Pisani, A.: Inhibition of persistent sodium current fraction and voltage-gated L-type calcium current by propofol in cortical neurons: implications for its antiepileptic activity. *Epilepsia* **46**: 624-35, 2005.
- Mcleod, L. and Staff of Edinburgh.: Pharmacological experiments in isolated tissues. Edinburgh 1972.
- Merck Index, 12th Ed., p.436, Merck & Co. Inc., NJ 1996.
- Mule, F., Serio, R.: NANC inhibitory neurotransmission in mouse isolated stomach: involvement of nitric oxide, ATP and vasoactive intestinal polypeptide. *Br. J. Pharmacol.* **140**: 431-437, 2003.
- Oyebola, D. D.: Cow's urine concoction: its chemical composition, pharmacological actions and mode of lethality. *Afr J Med Med Sci.* **12**: 57-63, 1983.
- Öztürk, Y.: Düz kasların siklik nükleotidler ile ilişkisi. *Biyokimya Dergisi* **7**: 62-75, 1982.
- Pikus, J. D., Studts, J. M., McClay, K., Steffan, R. J., Fox, B. G.: Changes in the regiospecificity of aromatic hydroxylation produced by active site engineering in the diiron enzyme toluene 4-monooxygenase. *Biochemistry*, **36**: 9283-9289, 1997.
- Priestley, C. M., Williamson, E. M., Wafford, K. A., Satelle, D. B.: Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of

- human GABA-Areceptors and a homo- oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *Br. J. Pharmacol.* **140**: 1363-1372, 2003.
- Sanchez, M. E., Turina, A.V., Garcia, D. A., Nolan, M. V., Perillo, M. A.: Surface activity of thymol: implications for an eventual pharmacological activity. *Colloids and Surfaces, B: Biointerfaces* **34**: 77-86, 2004. *Chem. Abstr.* **140**: 314925g.
- Sokovic, M., Tzakou, O., Pitarokili, D., Couladis, M.: Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece. *Nahrung.* **46**: 317-320, 2002.
- Sollmann, T.: Carvacrol. *J. Pharmacol.* **14**: 251-258, 1919. *Chem. Abst.* **14**: 1162 1917-1926.
- Somlyo, A. V., Somlyo, A. P.: Electromechanical and pharmaco-mechanical coupling a vascular smooth muscle. *J. Pharmacol.Exp. Ther.* **159**: 129, 1968.
- Soria, B., Cena, V.: *Ion Channel Pharmacology*. Oxford University. s. 130-145. 1998.
- Spedding, M.: Assessment of 'Ca⁺²-antagonist effects' of drugs in K⁺ depolarized smooth muscle. *Naunys-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **318**: 234-240 1982.
- Stammatia, P., Bonsia, F., Zuccob, R., Moezelaarc, H.: Toxicity of Selected Plant Volatiles in Microbial and Mammalian Short-term Assays. *Food Chem. Toxicol.* **37**: 813-823, 1999.
- Takishima, K., Setaka, M., Shimizu, H.: On the overshoot of calcium accumulation in fragmented sarcoplasmic reticulum induced by thymol. *J. Biochem. (Tokyo)*, **86**: 347-353, 1979.
- Takishima, K., Shimizu, H., Setaka, M., Kwan, T.: A spin-label study of the effects of drugs on calcium release from isolated sarcoplasmic reticulum vesicles. *J Biochem. (Tokyo)*, **87**:305-312, 1980.

- Tampieri, M. P., Galuppi, R., Macchioni, F., Carelle, M. S., Falcioni, L., Cioni, P. L., Morelli, I.: The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. *Mycopathologia* **159**: 339-345, 2005.
- Taylor, C. W.: *Intracellular Messengers Oxford*. 1993.
- Thompson, D. C., Perera, K., Fisher, R., Brendel, K.: Cresol isomers comparison of toxic potency in rat liver slices. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **125**: 51-58, 1994.
- Tibori, A. G.: Nasal spray. (Întreprinderea de Medicamente, Bucuresti) 01 Oct 1979, *Appl.* **84**, 267, 20 Dec 1975: 3pp. *Chem. Abst.* **96**: 11702p 1982.
- Vaddia, H. K., Hoa, P.C., Chanb, Y. W., Chan, S. Y.: Terpenes in ethanol: haloperidol permeation and partition through human skin and stratum corneum changes. *J. Controlled Release* **81**: 121-133, 2002.
- Van den Broucke, C. O., Lemli, J. A.: Antispasmodic activity of *Origanum compactum*. *Planta Med.* **38**: 317-331, 1980a.
- Van den Broucke, C. O., Lemli, J. A.: Chemical investigation of the essential oil of *Origanum compactum*. *Planta Med.* **38**: 264-266, 1980b.
- Vardar, Ü. G., Candan, F., Somken, A., Daferere, D., Polissiou, M., Somken, M., Donmez, E., Tepe, B.: Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *J. Agric. Food Chem.* **51**: 63-67, 2003.
- Viana, G. S. B., Matos, F. F., Matos, F. J. A., Silveira, E. R., Craveiro, A. A., Alencar, J. W.: Pharmacological effects of thymol and its acetate, butyrate, and benzoate esters. *Cienc. Cult.* 1981, *Chem. Abstr.* **98**: 100771u.
- Vincenzi, M. De., Stamatii, A., Vincenzi, A. De., Silano, M.: Constituents of aromatic plants: carvacrol. *Fitoterapia*, **75**: 801-804, 2004.
- Wagner, H., Wierer, M., Bauer, R.: In vitro inhibition of prostaglandin biosynthesis by essential oils and phenolic compounds. *Planta Med.* 184-187, 1986.

- Williams, J. A.: Poulsen, Joergen Hedemark; Lee, Mark. M., Effects of membrane stabilizers on pancreatic amylase release. *J. Membr. Biol.* **33**: 85-95, 1977. Chem. Abstr. **87**: 95546r.
- Xu, J., Stevenson, J.: Drug-like index: A new approach to measure drug-like compounds and their diversity. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **40**: 1177-1187, 2000.
- Yamashita, F., Hashida, M.: In silico approaches for predicting ADME properties of drugs. *Drug. Metab. Pharmacokinet.*, **19**:327-338, 2004.
- Ying, S. W., Goldstein, P. A.: Propofol-block of SK channels in reticular thalamic neurons enhances GABAergic inhibition in relay neurons. *J. Neurophysiol.* **93**: 1935-1948, 2005.
- Zernov, V. V., Balakin, K. V., Ivaschenko, A. A., Savchuk, N. P., Pletnev, I. V.: Drug discovery using support machines. The case studies of drug likeness, agrochemical-likeness and enzyme inhibition predictions. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **43**: 2148-2156, 2003.
- Zeytinoğlu, H., Incesu, Z., Baser, K. H. C.: Inhibition of DNA synthesis by carvacrol in mouse myoblast cells bearing a human N-RAS oncogene. *Phytomedicine* **10**: 292-299, 2003.
- Zeytinoğlu, M., Aydın, S., Ozturk, Y., Baser, K. H. C.: Inhibitory effects of carvacrol on DMBA induced pulmonary tumorigenesis in rat. *Acta PharmaceuticaTurcica* **40**: 93-98, 1998.