

**PAPAVER SOMNIFERUM YAPRAĞI
EKSTRAKTININ İNCE BARSAK KASILIMLARI
ÜZERİNE ETKİSİNİN *İN VİTRO* BELİRLENMESİ**

**ÖmerYALINKILIÇ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL**

Tez No: 2019-08

2019-AFYONKARAHİSAR

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PAPAVER SOMNİFERUM YAPRAĞI
EKSTRAKTININ İNCE BARSAK KASILIMLARI
ÜZERİNE ETKİSİNİN *İN VİTRO* BELİRLENMESİ**

ÖMER YALINKILIÇ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI ORTAK DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL

ORTAK DANIŞMAN

Özlem YILDIZ GÜLAY

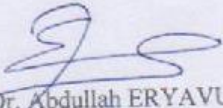
**Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından 15.TEMATİK.02 proje numarası ile desteklenmiştir
Tez No: 2019-08**


KABUL VE ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü ve Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı Ortak Doktora programı Çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

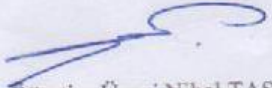
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

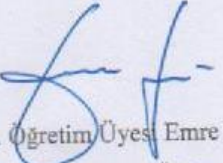
Tez Savunma Tarihi: 11/07/2019


Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Gülcan AYOĞLU
Afyon Kocatepe Üniversitesi


Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL
Afyon Kocatepe Üniversitesi


Dr. Öğretim Üyesi Nihal TAŞKIRAN
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi


Dr. Öğretim Üyesi Emre GÜR
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

Fizyoloji Anabilim Dalı Ortak Doktora Programı Öğrencisi Ömer YALINKILIÇ'ın "Papaver Somniferum Yaprağı Ekstraktının İnce Barsak Kasılmaları Üzerine Etkisinin *In Vitro* Belirlenmesi" başlıklı tezi/...../..... günü saat’de Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Esmâ KOZAN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yaptığım bu çalışmada Afyonkarahisar ilinde yetiştirilen *papaver somniferumun* (Haşhaş) yaprağından elde edilen ekstraktının barsak kasılımları üzerine etkisinin *in vitro* belirlenmesi hedeflenmiştir.

Afyonkarahisar ilimizde halk tarafından yaygın olarak tüketilen *papaversomniferum*'un fizyolojik etkisinin bugüne kadar bilimsel bir çalışma yapılarak incelenmediği tespit edilmiştir. İnsan sağlığına etkilerinin araştırılmasının yanında Afyonkarahisar il ekonomisine katkısının da olacağı düşünüldüğünde yapılan çalışmanın önemi daha da artmaktadır.

Tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin tecrübe ve bilgilerinden yararlandığım, yönlendirmeleri ve bilgilendirmeleriyle yaptığım çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL'e, her sorumda ve sorunumda yanımda olan değerli hocalarım Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ ve Prof Dr. Recep ASLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarım sırasında manevi desteğini esirgemeyen eşim Rabia YALINKILIÇ'a teşekkür eder, kendileriyle olmam gereken vakti aldığım çocuklarım Rümeyza YALINKILIÇ, Yusuf YALINKILIÇ ve Ali Yiğit YALINKILIÇ'a sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
RESİMLER	vii
TABLolar	ix
GRAFİKLER	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Dünyada ve ülkemizde Haşhaş üretimi.....	2
1.2.Haşhaşın kullanım alanları.....	3
1.2.1. Tohumdan faydalanma.....	3
1.2.2. Kapsülden faydalanma.....	4
1.2.3.Afyon alkaloidleri ve özellikleri.....	4
1.2.3.1. Morfin.....	4
1.2.3.2. Kodein.....	5
1.2.3.3. Tebain.....	6
1.2.3.4. Noskapin.....	6
1.2.3.5. Papaverin.....	6
1.3.Haşhaş uçucu yağı.....	7
1.4. Kas doku.....	7
1.4.1. İskelet kası.....	7
1.4.2. Sarkoplazmik retikulum ve enine T tubul sistemi.....	9
1.4.3. Düz kas.....	10

1.4.3.1. Aktin filamenti ile miyozin filamenti arasındaki etkileşme ve kas kasılması.....	12
1.4.3.2. Kas kasılmasının inhibisyonu ve gevşeme.....	15
1.5. İnce Bağırsak Düz Kaslarının Elektrofizyolojisi.....	15
1.6. Bitkisel Ekstraktların Düz Kas Kasılımları Üzerine Etkisi.....	18
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
2.1. Bitki Materyali.....	20
2.1.1. Bitkinin ekstraksiyonu.....	20
2.2. Toplam Fenolik Madde (TFM) Tayini.....	21
2.3. Ekstratların Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi.....	22
2.3.1.Fenolik madde standartları.....	22
2.3.2.HPLC cihaz koşulları.....	22
2.4. Ekstratların İnce Bağırsak Kasılım Üzerine Etkisinin Belirlenmesi.....	23
2.4.1.Dodenum, jejenum ve ileumda izometrik kasılımların belirlenmesi.....	24
2.4.2.Dodenum, jejenum ve ileum üzerine ekstraktın etkisinin tek başına araştırılması.....	24
2.4.3.Dodenum, jejenum ve ileum üzerine Asaetil kolinin etkisinin tek başına araştırılması.....	24
2.4.4.Dodenum, jejenum ve ileum düz kasında atropin (10^{-6} M) ile inkübasyonu takiben Asetilkolinin(10^{-5} M) etkisinin araştırılması.....	25
2.4.5.Dodenum, jejenum ve ileum düz kasında atropin (10^{-6} M) ile inkübasyonu takiben papaver su ekstratının tek doz etkisinin araştırılması.....	25
2.4.6.Dodenum, jejenum ve ileum düz kasında verapamil (10^{-7} M) ile inkübasyonu takiben Asetilkolinin (10^{-6} M) etkisinin araştırılması.....	25
2.4.7.Dodenum, jejenum ve ileum düz kasında verapamil (10^{-7} M) ile inkübasyonu takiben papaver su ekstaratının tek doz etkisinin araştırılması.....	26
2.5.İstatistiksel Analiz.....	26

3. BULGULAR.....	27
3.1.Toplam Fenolik Madde (TFM) Tayini.....	27
3.2. Papaver somniferium ekstraktlarının ince bağırsak kasılım üzerine etkisi.....	29
4. TARTIŞMA.....	34
5. SONUÇ.....	38
ÖZET.....	39
SUMMARY.....	41
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

- µg:** Mikrogram
ACh : Asetilkolin
ADP: Adenin Di Fosfat
ATP: Adenin Tri Fosfat
cm: Santimetre
DAG : Diaçilgliserol
dk: Dakika
EFS: Elekrtiksel Alan Uyarımı
H₃PMo₁₂O₄₀ : Fosfomolibdik Asit
H₃PW₁₂O₄₀ : Fosfotungistik Asit
IP3 : İnositol Trisfosfat
kg: Kilogram
M: Konsantrasyon
mg: Miligram
ml: Mililitre
MLC kinaz: Miyosin Hafif Zincir Kinaz
mV: Milivolt
Na₂CO₃: Sodyum Karbonat
NO: Nitrikoksit
PİP2 : Fosfatidilinozitol 2,4-bifosfat
PKC : Protein Kinaz C
ROS: Reaktif Oksijen Türleri
VIP : Vazoaktif intestinal peptidler

RESİMLER

Resim 1. Antik Yunan'da elinde buğday başakları ve haşhaşlarla betimlenmiş *Demeter* kabartması (1-A) ve Minoan Uygarlığı'na ait Haşhaş Tanrıçası (1B-C).
1

Resim 1.2. Türkiyede haşhaş ekimine izin verilen iller 3

Resim 1.3. Düz kasın fiziksel yapısı 12

Resim.1.4. Düz kaslarda kasılım ve gevşeme mekanizması 14

Resim 2.1. Araştırmada kullanılan *Papaver somniferum* 'un elde edildiği tarla 20

Resim 2.2. Kurutulmuş ve öğütülmüş *Papaver somniferum* bitkisi 21

Resim 3.1. Standartların kromatogram görüntüleri 28

TABLÖLAR

Tablo 2.1. Fenolik bileşiklerin HPLC ile analizde uygulanan akış programı	23
Tablo 2.2. Yöntem içerisinde dokulara uygulanan deney protokolü	25
Tablo 3.1. <i>Papaver somniferiumun</i> etanol, etil asetat, metanol ve su ekstraktlarındaki fenolik maddelerin miktarı (mg/g)	29
Tablo 3.2. <i>Papaver somniferiumun</i> etanol, etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının deodenum kasılımı üzerine etkisi (%)	30
Tablo 3.3. <i>Papaver somniferiumun</i> etanol, etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının jejunum kasılımı üzerine etkisi (%)	30
Tablo 3.4. <i>Papaver somniferiumun</i> etanol, etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının kolon kasılımı üzerine etkisi (%)	30
Tablo 3.5. Dokularda antagonist + asetilkolin ve antagonist + <i>Papaver somniferium</i> su ekstraktı cevapları (%)	31

GRAFİKLER

Grafik 3.1. Gallik asit standart grafiği ($r^2=0.998$)	27
Grafik 3.2. Metodun kalibrasyon eğrisi ($r^2=0.998$)	28
Grafik 3.3. İnce bağırsak bđl¼mlerinde antagonist + asetilkolin ve antagonist + <i>Papaver somniforium</i> su ekstraktı kasılım cevapları (%)	31
Grafik 3.4. İnce bağırsak bđl¼mlerinde verapamil + asetilkolin ve verapamil + <i>Papaver somniforium</i> su ekstraktı kasılım cevapları (%)	32

1. GİRİŞ

Ülkemiz tarımında geleneksel bir ürün olarak yetiştirilen *Papaver somniferum* L. (haşhaş) tek yıllık bir kültür bitkisidir. Latince kelime olarak *Papaver* gelincik, *somniferum* ise uyku verici, rüya görmek anlamlarındadır. Tarımı yapılan haşhaş; doğal olarak doğada kendiliğinden yetişen gelincik ile akrabadır (TMO, 2018). Haşhaşın Anadolu'da ve dünyanın birçok bölgesinde çağlar boyu yetiştirildiği bilinmektedir. Geçmiş yüzyıllarda haşhaşın sadece bir zirai ürün olarak değil aynı zamanda toplum hayatında özellikle dini açıdan da önemli bir yere sahip olduğu görülmüştür.



Resim 1.1.Antik Yunan'da elinde buğday başakları ve haşhaşlarla betimlenmiş Demeterkabartması (1-A) ve Minoan uygarlığı'na ait Haşhaş tanrıçası (1B-C).

Minoan uygarlığında (M.Ö. 2600 – M.Ö. 1100), başında üç adet haşhaş bulunan Haşhaş tanrıçasının (Poppy Goddess) uyku ya da ölüm getirdiğine inanılmaktaydı (Resim 1B-C). Roma mitolojilerinde ise Somnus (Uyku tanrısı) yunan mitolojisindeki karşılığı Hypnos ile bereket ve mevsim tanrıçası Demeter

haşhaş ile betimlenmiştir (Resim 1A; Taşlıgil ve Şahin, 2018). Afyonkarahisar'ın Şuhut ilçesindeki Synnada Antik Kentinde bulunmuş olan sikkelerde de haşhaş motifine rastlanılmıştır (Çolak, 2013).

Haşhaş, *Rhoedales* takımının *Papaveraceae* familyasındandır (Davis ve ark.,1988). Dünya genelinde 28 cins ve 250 türden oluşmuş *Papaveraceae* (Gelincikgiller) familyasının 20'si çok ve 19'u tek yıllık olmak üzere 39'u ülkemizde bulunmaktadır (Seçmen ve ark., 1995; Davis 1988). Bunlardan 10 tür, iki alt tür ve dört varyete ise ülkemiz için endemiktir (Davis 1988, Kapoor 1997).

Papaveraceae familyası genellikle tek veya çok yıllık otsu bitkiler olup, ağaç veya çalı şeklinde bulunabilmektedirler. Üyelerini yaprakları alternan dizilişli (dal, yaprak ya da çiçeklerin teker teker ve karşı yönlerde dizilişi) ve genellikle tüylü, tohumları çok sayıda ve küçük, embriyoları bol etlidir. *Papaveraceae* familyası bitkilerinin yaprakları tüylü, meyveleri çok sayıdadır ve tohumlarına benzer şekilde kapsül içerisinde bulunmaktadır (Facchini ve ark., 2007).

1.1. Dünyada ve ülkemizde Haşhaş üretimi

Milletler Teşkilatı kontrolünde yasal Haşhaş üretici ülkeler olarak Türkiye, Avustralya, Hindistan, İspanya, Macaristan ve Fransada bulunmaktadır. Ayrıca gıda ve süs bitkisi amaçlı haşhaş ekimi Almanya, Avusturya, Hollanda, Polonya, Çekya ve Ukrayna'da yapılmaktadır (TMO 2018).

Türkiye, 2013-2017 yılları arası ana üretici ülkeler arasında yasal ortalama haşhaş ekimi alanı olarak dünyada %48'lik paya sahip olup en fazla ekim alanına sahip ülke konumundadır. Buna karşın morfine eşdeğer hammadde üretimi en fazla Avustralya (%32), Fransa (%20) ve Türkiye'de (%16) olmuştur. Türkiye'nin haşhaş ekim alanı, dünyada en fazla olmasına rağmen morfin üretimi bakımından daha az bir paya sahiptir. Bu durum ülkemizde üretilen haşhaş kapsül veriminin ve morfin oranının diğer ülkelere göre, daha düşük olmasından kaynaklanmaktadır (TMO 2018).

Ülkemizde idari izinle haşhaş ekimine izin verilen yerlerde TMO Genel Müdürlüğüne yapılan planlama çerçevesinde Birleşmiş Milletler Teşkilatı denetiminde ülkemizde 70.000 hektar alanda haşhaş ekimi ve çizilmemiş kapsül

üretimi Afyonkarahisar, Amasya, Burdur, Çorum, Denizli, Isparta, Kütahya, Tokat, Uşak illerinin tamamı ile Balıkesir Eskişehir, Konya ve Manisa ilinin bazı ilçelerinde yaptırılmaktadır (Resim 3; TMO 2018).



Resim1.2. Türkiyede haşhaş ekimine izin verilen iller (TMO 2018).

1.2. Haşhaşın kullanım alanları

1.2.1. Tohumdan Faydalanma

Haşhaş tohumları pembe, mavi, sarı, beyaz, renkte olabilmektedir. Haşhaş kapsülünün içindeki tohumu %20–30 protein ile %45–54 yağ içermektedir. Tohum geleneksel olarak gıda amaçlı ekmeklerde ve ezilerek hamur işlerinde kullanılmaktadır. Tohumundanpreslenerek elde edilen yağ mutfakta gıda ve kozmetik ile boy sanayi kullanılmaktadır (Erdurmuş ve Öneş, 1990, TMO 2018).

Haşhaş kapsülünün içerisinde bulunan tohumlarındaortamla %4,3-5,2 nem, % 5,6-6,0 kül, % 4,8-5,8 selüloz, % 22,3-24,4 protein ve % 40-60 yağ ifade edilmektedir(Küçük, 1996, Önmez, 2007; Arslan ve ark., 2008). Özellikle tohumlarından soluk veya altın sarısı renginde yemeklik bir yağ elde edilmekte olup yapısında yaklaşık % 50-70 linoleik, % 10-15 oleik asit, % 8-10 palmitik asit bulunmaktadır. Yağı aynı zamanda çift bağ içeriği bakımından zengin olmasından dolayı boya sanayisinde koruyucu olarak kullanılma potansiyeli sahiptir (Kusmenoğlu ve ark., 2002; Rahimi ve ark., 2015)

1.2.2. Kapsülden faydalanma

Haşhaş özellikle kapsülünde morfin, kodein, noskapin, tebain ve papaverin gibi tıbbi öneme sahip olan ana alkaloidlerin yanı sıra yaklaşık otuz değişik alkaloid ihtiva ettiği bilinmektedir. Bunlardan ilaç sanayinde kullanılmak üzere tamamı morfin türevleri olan katma değerleri yüksek ve yarı sentetik ham maddeler üretilmektedir. Bu alkaloidlerden morfin, kodein ve tebainin uyuşturucu özelliği belirgin olmasına karşın papaverin ve noskapin uyuşturucu özelliğe sahip değildir. İnsan ve hayvan sağlığında ağrı ve öksürük kesici olarak yararlanılmaktadır (Facchini ve ark., 2007; TMO 2018).

Opiyum ya da haşhaş, bitkisinin kapsüllerinden elde edilen etken maddedir. Üretildiği coğrafi bölgeye ve tohumuna bağlı olarak opium miktarı % 0,2 ile % 0,8 oranında bulunmaktadır. Fakat yapılan çalışmalarla kapsüldeki alkaloid düzeyi % 1'e ulaşmış durumdadır (Hosztafi, 1998; Arslan ve ark., 2008).

1.2.3. Afyon alkaloidleri ve özellikleri

Papaver türlerinde bulunan alkaloidler özellikle morfine, kodein ve tebain türevleridir (Lal ve Sharma, 1991). Afyon diğer adı ile opium olgunlaşmamış kapsüllerden elde edilirken yaklaşık olarak %25 alkaloid içermektedir. (Shukla ve Singh 2001, Tanker ve ark., 2007). Haşhaş afyonunda yaklaşık olarak % 7-10 morfin, % 1- 5 kodein, % 5-7 narkotin bulunmaktadır. Aynı zamanda laktik asit (organik asit), reçine, kauçuk, yağ, mum, şeker, protein, sülfat ve amonyum tuzları bulunmaktadır (Dunncliff 1937, Önmez 2007). Alkaloidlerden ağrı kesici morfin, spazm çözücü papaverin, öksürük kesici olarak ise kodein ve noskapin kullanılmaktadır (Tanker ve ark., 2007, Alaca 2015).

1.2.3.1. Morfin

Genel olarak haşhaş bitkisinin gelişimi tohum, filiz, rozet, dal oluşumu, çiçeklenme, tohum gelişimi ve kapsül oluşumu (çizim dönemi), tohum ve kapsül olgunluğu (olgunlaşma) olmak üzere altı döneme ayrılmaktadır (Sarkany ve Danos, 1957). Primer köklerin oluşması ile birlikte morfin de teşhis edilmiş ve yaklaşık % 0,016-

0,018 oranında bulunduğu belirtilmiştir. Aynı şekilde morfin miktarı filiz yapraklarında %0,087, en yüksek morfin miktarı rozet devresinde köklerde bulunmuş (%0,14-0,172) ve dal oluşum (sapa kalkma) devresinde morfinin bütün bitkiye dağılmış olduğu, tomurcuk döneminde ise kökte ve dalda azalma olduğu ve tomurcukta birikme olduğu bildirilmiştir. Çiçeklenmede tüm organlarda morfin artışı belirlenmiş ve tüm bitkide en yüksek morfin oranı yarı olgunluk (çizim) döneminde olduğu belirtilmiştir. Organlarda ise rozet döneminde kök, çiçeklenme döneminde yaprak, çizim döneminde sap ve kapsülde en yüksek morfin oranının tespit edildiği belirtilmiştir. Kapsülün alt kısmının her dönemde en yüksek morfin, boğumun ise yüzde morfin olarak en yüksek morfin oranına sahip olduğu ifade edilmektedir (Arslan, 2008).

Morfinin fenolik ve alkol grubu olmak üzere iki tane hidroksil grubu vardır. Bu özelliği morfini diğer alkaloidlerden ayırır. Fenolik grup metillenerek kodein elde edilir. Morfin kristalleri renksiz ve kokusuzdur. Morfinden eroin, pentazoin ve oksikodon gibi birçok yarı sentetik madde elde edilebilir. Morfinin türevleri, apomorfin, dihidromorfin, normorfindir. Bunlardan apomorfin zehirlenmelerde kusturucu olarak verilir (Küçük 1996, Önmez 2007). Morfin kuvvetli bir analjezik ve narkotiktir (Tankerve ark., 2007).

Morfin alkaloidi uyuşturucu etkiye sahip olup; beyin korteksindeki ağrı merkezini uyuşturarak ağrı dindirici olarak kullanılmaktadır. Keyif verici ve alışkanlık yapma özelliğine sahiptir. Bu özelliğinden dolayı doktor kontrolü olmadan kullanılması kanunlarla yasaklanmıştır. Günümüzde içeriğinde morfin bulunan cerrahi operasyonlar ve ameliyat sonrası tedavi amacıyla kullanılmakta olan uzun bir ilaç listesi vardır (Önmez, 2007, Tanker ve ark., 2007).

1.2.3.2 Kodein

Kodein morfinin monometil eteridir ve çoğunlukla morfinden sentetik olarak elde edilmektedir. Analjezik etkisi az ve iyi bir öksürük kesicidir. Kodeinin analjezik etkisi fazla olmamasına rağmen başka analjeziklerle kullanıldığında tesirini arttırdığından aspirin ve fenasetin ile beraber kullanılır (Tanker ve ark., 2007). Bağımlılık yapma özelliği morfine göre azdır (Küçük, 1996).

1.2.3.3. Tebain

Diğer kısa ismi paramorfindir. Kodeinon türevidir. Kodein sentezinde kullanılır. İlaç olarak kullanılmaz. Merkezi sinir sistemini uyarıcı etkisi vardır (Küçük,1996).

1.2.3.4. Noskapin

Noskapinin kapsülden elde edilen toplam alkaloidin içindeki oranı %2 – 10 oranındadır. Benzilizokinolinlerin üyesidir. Afyon içerisinde morfinden sonra en fazla bulunan alkaloid narkotindir. Önceleri morfin gibi narkotik ve hipnotik tesiri olduğundan ismi narkotin olarak adlandırılmıştır. Öksürük kesici özelliği belirlenince ismi naskopin olarak belirlenmiştir (Küçük, 1996, Önmez, 2007).

Öksürük kesici özellikleri kodeine benzerdir. Ağrı kesici ve uyuşturucu özelliği olmayan naskopin bağımlılık yapmaz. Kan basıncına etkisi yoktur. Aynı zamanda toksikitesi oldukça düşüktür. Bronşit ve astım gibi alerjik hastalıklarda kullanılması histamin salınmasına neden olabileceğinden dolayı önerilmemektedir (Küçük, 1996, Önmez, 2007).

1.2.3.5 Papaverin

Kapsülden elde edilen toplam alkaloidin içindeki papaverin oranı oldukça düşük olmasına karşın kapsülünün tüm kısımlarında bulunur. Ağrı kesici ve uyuşturucu özelliği oldukça azdır. Spazmlara bağlı ağrılarda kullanılabilir. Morfin ve kodein'in papaverinin etkinliği merkezi sinir sistemine üzerinden değildir. Periferal düz kaslar üzerinden etki eder. Daha çok tedavide önemlidir. Papaverin düz kasları gevşetici özelliği ile kas spazmlarını çözer. Bu özelliği ile safra kesesi tıkanıklıklarında ince ve kalın bağırsak spazmlarında ilaçların yapısına katılır (Küçük 1996, Önmez 2007, Tanker ve ark., 2007).

Papaverin sinir sistemi hastalıklarının tedavisinde, peptik ülser, adet ağrılarında, sindirim sistemindeki komplikasyonlar ve spazmlar gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Brisman ve ark.,2006; Facchini ve ark., 2007, Pathak ve ark., 2013).

1.3. Haşhaş Uçucu yağı

Son zamanlarda haşhaşın çiçeklerinde uçucu yağların içeriği ve bunların değerlendirilmesi hususunda çalışılmaya başlanmıştır. Haşhaş çiçeği uçucu yağının bileşiminde 12'si tanımlanmış dört tanesi tanımlanmamış toplam 16 bileşen belirlenmiştir. Elde edilen bileşenler incelendiğinde tek karbon sayılı bileşiklerin (C9-C29) sayısının, çift karbon sayılı bileşiklerin (C16, C22) sayısından fazla olduğu görülmüştür. Ana bileşenlerinin palmitik asit (% 7,26), 1-nonadekanol (% 16,31), n-heneikosan (% 10,83), nonadekan (% 8,96), n-pentakosan (% 7,91), n-heptakosan (% 5,19) ve 1-heptakosanol (% 4,09) olduğu belirlenmiştir (Gültepe, 2013).

1.3. Kas doku

Kas dokusu; farklılaşmış, kasılabilir proteinler hücrelerden oluşan, belirli organlarda ve bütün vücutta uyumlu bir şekilde lokomasyonu sağlayacak hücresel kontraksiyonlar için gerekli olan yapıları oluşturur. Çoğunlukla kas dokuyu oluşturan hücreler mezodermden köken alır (Carlos ve Carneiro, 2006; Abraham ve Kierszenbaum 2006)

Memelilerde fonksiyonel ve morfolojik karakterlerine göre üç farklı tipte kas dokusu tanımlanır. Her bir kas doku onun fonksiyonel işlevine uygun bir hücresel karaktere sahiptir. Çok çekirdekli, enine çizgilenme gösteren iskelet kası, silindirik, çok uzun demetlerden oluşur. Moleküler yapıların birbirleri üzerine kaymalarına olanak veren, kalın miyozin filamanları ile ince aktin filamanların karşılıklı hareketi istemli bir şekilde oluşam kasılmaların kuvvetli ve hızlıdır neden olur. Kalp kası iskelet kasına benzer şekilde enine çizgilenme gösterir ve birbirine paralel uzanan dallanmış hücrelerden meydana gelir. Güçlü, ritmik ve istemsiz kasılır. Işık mikroskopunda enine çizgilenme göstermeyen istem dışı çalışan düz kasın kasılmaları yavaş olan iğ biçimli hücre gruplarından meydana gelir (Carlos ve Carneiro, 2006; Abraham ve Kierszenbaum, 2006).

1.3.1. İskelet kası

Demetler halinde uzanan iskelet kası, uzun silindirik (30 cm'nin üzerinde), çok çekirdekli hücrelerin oluşturduğu, 10-100 Mm çapında kas liflerinden oluşur. Periferde hücre zarının hemen altında oval şekilde çekirdekleri yerleşir. Çekirdeğin bu şekilde yerleşimi ile çekirdekleri merkezde yer alan kalp ve düz kaslardan ayrılır (Abraham ve Kierszenbaum 2006).

Genellikle kaslar kemiklerin iki ucunda, iki eklemi arasında veya tendon adı verilen başka bir kasa bağ dokusundan oluşan yapılar aracılığı ile tutunmuştur. Kas doku fasikül denilen kas demetlerinin, fasiküller ise kas liflerinin birleşmesiyle oluşmuşlardır (Noyan, 2004; Abraham ve Kierszenbaum, 2006).

Kas lifleri (telleri) ışık mikroskobunda incelendiğinde transversal çizgiler gösterirler. Bu çizgiler kas teli içindeki farklı refraktif indekse sahip bölgelerin bulunmasından ileri gelir. Işık mikroskobunda bakıldığında koyu alanlar A bantı (Anizotrop), açık alanlar bantları (izotrop; polarize ışık altında değişmeyen) olarak isimlendirilirler. Elektron mikroskobunda Z çizgisi denilen enine koyu bir çizgiyle her bir I bandının ikiye ayrıldığı gözlenir. İki Z çizgisi arasında kasılabilir yapının yenilenen en küçük parçası olan Sarkomer bulunur. Sarkomer kalın ve ince tip filamanın, kas lifçiklerinin uzun eksenine koşut olarak simetrik dizilimiyle meydana geldiği gösterilmiştir. Kalın filamanların boyu 1,6 μm eni 15 nm dir. Sarkomerin orta bölümünde A bandını oluştururlar. İnce filamanların, kalın filamlar arasında bir uçları Z çizgisine tutunmuş şekilde uzanırlar. İnce filamanların boyu 1 μm , eni 8 nmdir. İnce filamanların kalın filamanların üzerine gelmeyen kısımlarından I bandları oluşur. A bandı ise kalın ve ince filamanlarla kalın filamanların üst üste gelen kısımlarından meydana gelir. Miyosin molekülünün çubuk benzeri kısımlarından oluşmuş H bandı olarak isimlendirilen ve A bandının ortasında daha açık bir alan vardır. Komşu kalın filamanlar arasında yan bağlantıların bulunduğu bölgeler M çizgisiyle H bandı ikiye ayrılır. Kreatin kinaz M çizgisinin ana proteindir. Kreatin kinaz birfosfat grubunun fosfokreatinden ADP'ye aktarımında kolaylaştırıcı işlev görerek kasın kasılması için gerekli ATP'nin oluşmasını sağlamaktadır (Noyan, 2004; Carlos ve Carneiro, 2006; Abraham ve Kierszenbaum, 2006).

Her bir kas lifi ise birkaç yüz ile birkaç bin arasında miyofibrilden oluşur. Her bir miyofibrilde yan yana uzana yaklaşık 1500 miyozin filamenti ve 3000 aktin filamenti vardır (Guyton ve Hall, 1996; Carlos ve Carneiro, 2006; Abraham ve Kierszenbaum, 2006). Aktin, çift sarmal şeklinde birbirini çevrelemiş 5,6 nm çapında G-aktin denilen iki sıra globüler monomerden oluşmuş uzun filaman (F aktin) oluşturan polimerlerden ibarettir. Miyozin için her bir G aktin monomeri bağlanma bölgesi içermektedir. Dik açıyla Z çizgisi üzerinde tutunan aktin filamanları çizginin her iki tarafında karşıt kutupsallık gösterir (Carlos ve Carneiro, 2006; Abraham ve Kierszenbaum, 2006).

Tropomiyozin 2 polipeptit zinciri içeren 40 nm uzunluğunda ince bir moleküldür. Troponin; TnT, TnC ve TnI olarak adlandırılan üç alt birimden oluşur. TnT tropomiyozine güçlü bir şekilde tutunur, TnC kalsiyum iyonlarını bağlar ve TnI aktinin miyozin ilişkisini sağlar. İplik tarzında olan tropomiyozin 7 G-aktin molekülü boyunca uzanırken bunun yüzeyine bir troponin kompleksi tutunur (Guyton ve Hall, 1996; Carlos ve Carneiro, 2006)

Miyozin molekülü bir ucunda iki küçük globüler baş taşıyan ince çubuğa benzer. Miyozin başları bir araya gelmiş bir sürü miyozin molekülünden kurulu miyozin filamentinin yüzeyinde çıkıntıları şekillendirir. Bu çıkıntılar miyozin ve aktin filamentleri arasında köprüler kurarlar. Miyozin ağır ve hafif meromiyozin zincir olmak üzere iki kısma ayrılmaktadır. Ağır meromiyozin, miyozin molekülünün globüler baş kısmını ve boyun kısmının şekillendirir. Miyozin başı birbirine benzer iki üniteden kurulmuş ve ATP-az etkinliği taşır. Hafif meromiyozin iki peptit zincirinin helezon biçimi birbirine sarılması ile meydana gelmiştir (Noyan, 2004; Carlos ve Carneiro, 2006; Abraham ve Kierszenbaum 2006).

İnce ve kalın filamentlerin kasılma esnasında sürgü gibi birbiri üzerinden kaymalarını, miyozin başlarının aktinle yaptığı köprüler sağlamaktadır. Miyozin başları filamentin yarısını sağa tarafa doğru öbür yarısını ise sol tarafa doğru dönük bulunur. Bu nedenle bir sarkomerde ince filamentlerin bir yarısı sağa doğru diğer yarısı sola doğru kayarak Z hatlarını birbirine yaklaştırır ve sarkomer boyunu kısaltırlar. Filamentlerin boylarında bir değişiklik olmaz (Guyton ve Hall, 1996;Noyan, 2004)

1.4.2. Sarkoplazmik retikulum ve enine T tubul sistemi

Kas hücrelerinin yüzeyindeki özelleşmiş kas sinir bağlantısında sarkoplazmik retikulumun zarının depolarizasyonu kalsiyum iyonlarının salıverilmesi neden olur. Depolarizasyon sinyallerinin tüm hücreler boyunca dalgalar halinde yayılması sarkoplazmik retikulum sarnıçlarından kalsiyumun salıverilmesinin ana nedenidir. Periferik kas lifcikleri merkeze yerleşenlerden önce kasılabilir niteliklidir. Düzenli ve sağlıklı bir kasılmanın sağlanması için iskelet kası enine T tubüllere sahiptir. Sarkoplazmik retikulumun T tubülüne komşu karşılıklı iki kenarı genişleyerek terminal sarnıçları yaparlar. T tubül ve iki kenarındaki sarkoplazmik retikulum bölümünden oluşan bu özelleşmiş yapıya triad adı verilmektedir. Triad sarkolemanın oluşturduğu T tübüllerin uyarımını(depolarizasyonu), sarkoplazmik retikulumun membranına aktarır. Sarkoplazmik retikulumu zarının sinirler aracılığıyla depolarizasyonunun ardından sarkoplazmik retikulum içinde yoğunlaşmış kalsiyum iyonları kalın ve ince filamanların üst üste bulunduğu bölüme pasif olarak bırakılır ve burada troponine bağlanıp aktin ve miyozin arasında köprüleşmeye neden olur. Hücre zarı depolarizasyonun sona erdiğinde sarkoplazmik retikulumu kalsiyum deposu olarak davranarak kalsiyum aktif tranportla sarnıçlara geri göndererek kasılma işleminin sona ermesiyle sonuçlanır (Noyan, 2004; Carlos ve Carneiro, 2006; Abraham ve Kierszenbaum 2006).

1.4.3.Düz kas

Düz kaslarda, iskelet ve kalp kasında olduğu gibi aktin ve miyozin filamentlerden oluşmaktadır. Hücrelerin yapılanması ve düzeni diğer kas liflerinden farklılaşmıştır.Aynı zamanda düz kasda sarkomer bulunmamaktadır (Kayaalp, 2002). Aktin ve miyozin ipliklerinin düzenli bir şekilde bir araya gelmedikleri için çizgi göstermeyen kaslara düz kas denmektedir. Düz kas dokusunun hücreleri iğ şeklinde her birinde merkezde olmak üzere tek çekirdekli, hücrelerin boyları buldukları yere göre değişmekte, genellikle 2-5 µm çapında, kan damarlarında 20, gebe uterusda ise 500 µm boyuna ulaşabilmektedir. Hücre organellerinden mitokondrilerinin sayısı diğer kaslara göre azdır. Mitokondri, poliribozomlar,

endoplazmik retikulumu sisternaları ve golgi kompleksi çekirdek kutuplarında yoğunlaşmışlardır. Düz kas sarkoplazmik retikulumu iyi gelişmemiş olmakla beraber çizgili kaslardakine benzer kapalı bir zar sistemi oluşturmaktadır. Düz kas hücrelerinde iskelet kasından farklı olarak T tübul bulunmamaktadır (Guyton ve Hall, 1996;Noyan, 2004;Hatemi ve Dobrucalı, 2005).

Düz Kas hücreleri aktin, miyozin ve tropomiyozin taşırlar buna karşın troponin taşımazlar. Bundan dolayı düz kaslarda kalsiyum troponine değil kalmoduline bağlanır. Düz kaslar az miktarda mitokondri taşıdığı için enerji ihtiyacı daha çok glikoliz yoluyla sağlanır (Carlos ve Carneiro, 2006; Abraham ve Kierszenbaum, 2006).

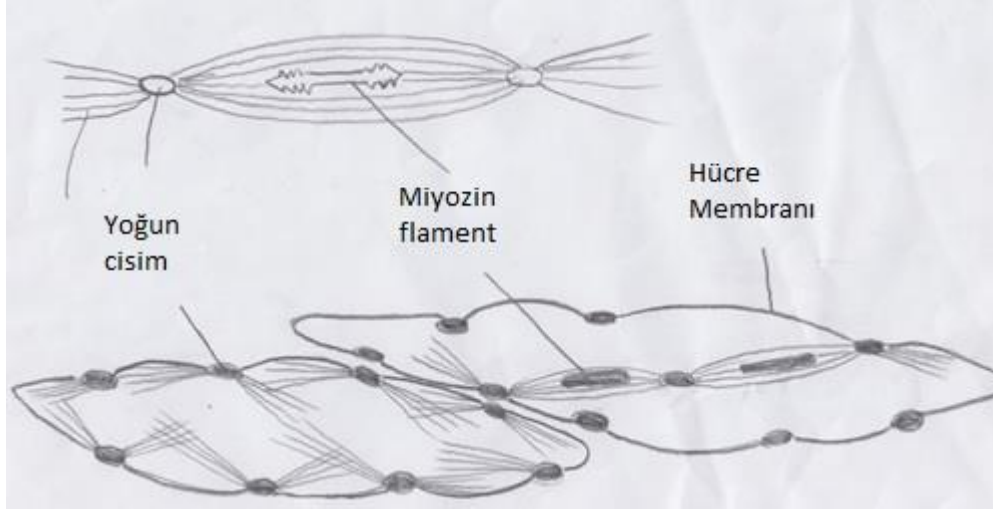
Düz kasları aktiviteleri yönünden visseral ve çok üniteli düz kaslar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Visseral düz kasların hücreleri arasında alçak dirençli bölgeler vardır. Hücrelerden birinde meydana gelen elektriksel değişiklik hücreden hücreye yayılarak birçok hücrenin kasılmasına neden olur. Visseral düz kaslar genellikle içi boş organlarda bulunur. Visseral düz kaslar devamlı olmayan intizamsız kasılmalar gösteriler. Bu kasılmalar sinir etkinliğinden bağımsız yani sinirleri yok edilse de bu kaslar kas bu kasılmalar devam eder. Bu kısmi veya devamlı kasılmaya tonus adı verilir(Kayaalp, 2002; Carlos ve Carneiro, 2006; Abraham ve Kierszenbaum, 2006).

Çok üniteli düz kasların hücreleri arasında alçak dirençli bölgeler bulunmadığından tek düz kas hücresi ya da ünitesi kendi başına ve ancak siniri yoluyla uyarıldığı zaman kasılır. Halbuki visseral düz kaslar sinirleri olmasa da kendiliğinden kasılabilirler. Gözün iris kasları, kan damarları kasları bazı hayvanlarda bulunan üçüncü göz kapağı kasları çok üniteli düz kaslardır. Kasılmaları iskelet kasları gibi sinirlerde nüfus almaları ile olur ancak kasılmaları yavaştır (Guyton ve Hall, 1996; Carlos ve Carneiro, 2006; Abraham ve Kierszenbaum, 2006).

Kas lifinde, çok sayıda dağılmış aktin filamentleri arasında daha az sayıda miyozin filament bulunmaktadır. Buna karşın miyozin filamentlerinin çapı aktinin yaklaşık iki katından fazladır. Genellikle miyozin filamentlerinin 15 katına kadar aktin filamentleri görürlür. Bu farklılık kısmen düz kasta aktin filamentlerinin

uzunluğunun miyozine filamentlerinininkine oranının iskelet kasındakinden çok fazla olmasından kaynaklanır (Carlos ve Carneiro, 2006; Abraham ve Kierszenbaum 2006). Şekil 1’de düz kasın fiziksel yapısı gösterilmektedir.

Düz kaslar zarlarında ve stoplazmalarında çok miktarda yoğun cisim içerdiğinden koordinasyon iskelet ve kalp kasından farklıdır. Çok sayıda aktin filamentleri iki yoğun cisimde uzanmıştır. Aynı zamanda bu filamentler yoğun cisimlerin arasında, orta noktada yerleşmiş olan tek bir miyozin filamenti ile bağlantı kurar (Şeker, 1999).



Resim 1.3. Düz kasın fiziksel yapısı (Guyton ve Hall, 1996)

Düz kasta kendisine, kalsiyum bağlandığı zaman kasılma mekanizmasını başlatan troponin ile aktin filamentleri kapatan ve miyozin ile etkileşimini engelleyen tropomyozin bulunmamaktadır. Buna karşılık düz kasta bulunan miyozin hafif zincir kinazı (myosin light chain kinase), kalsiyumun kalmodiline bağlanmasıyla tetiklenerek düz kaslarda kasılma oluşturur (Noyan, 2004; Kayaalp, 2002).

1.4.3.1. Aktin filamentleri ile miyozin filamentleri arasındaki etkileşim ve kas kasılması

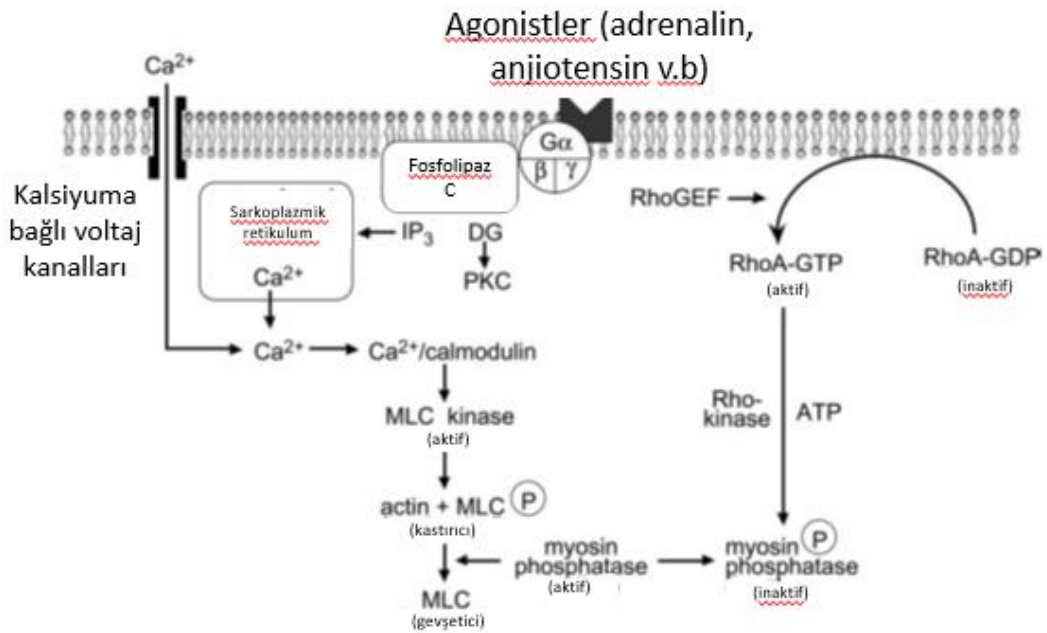
Düz kaslarda kasılma işlevi, miyozin ve aktin proteinlerinin reseptörleri ve mekanik uyarılması ile düzenlenir. Aksiyon potansiyellerinin tetiklenmesi veya plazma

zarındaki gerilmeye bağılı iyon kanallarının uyarılması ile meydana gelen membran potansiyelindeki değişiklik kasılmayı tetikleyebilir. Kasılmanın gerçekleşmesi için, miyosin hafif zincir kinaz (MLC kinaz), miyosinin aktin ile moleküler etkileşimini mümkün kılan 20-kDa'luk hafif miyozinin zincirini fosforile etmelidir. Adenin tri fosfattanmyosin ATP'azetkinliği tarafından açığa çıkan enerji, myosin çapraz köprülerinin kasılma için aktin ile çevrilmesiyle sonuçlanır. Bu nedenle, düz kastaki kasılma etkinliği esas olarak, yüksek oranda düzenlenmiş bir işlem olan miyozinin hafif zincirinin fosforilasyon durumuyla belirlenir. Bazı düz kas hücrelerinde reseptör ya da mekanik etkinlik yokluğunda, miyozinin hafif zincirinin fosforilasyonu düşük bir seviyede tutulur. Bu aktivite düz kas tonusu olarak ifade edilen olaya neden olur (Clinton, 2003; Reece, 2008)

Çizgili kaslarda kasılım kalsiyum troponin birlikteliği ince filamentlerdeki değişikliklerle kasılmaya aracılık ederken düz kasın kasılması kalın filamentlerdeki kalsiyum ile olmaktadır. Düz kastaki spesifik uyarılara cevap olarak, hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar ve bu aktivatör kalsiyum asidik protein kalmodülün ile birleşir. Bukompleks, miyozinin hafif zincirini fosforile etmek için MLC kinazını aktive eder (Şekil 1.4).Sitosolik kalsiyum, hücre içi depolardan (sarkoplazmik retikulum) kalsiyum salınımının yanı sıra, hücre dışı alandan kalsiyum kanallarından (reseptörle çalışan kalsiyum kanalları) girerek artmaktadır (Abraham ve Kierszenbaum 2006; Darakcı, 2016).

Heterotrimerik bir G proteinine bağlanmış serpantin reseptörlerine bağlanan agonistler (norepinefrin, anjiyotensin II, endotelin vb.) Fosfolipaz C aktivitesini uyarır.Bu enzim ise hücre içi ikinci habercilerden inositol trisfosfat (IP3) ve diasilgliserol uyarır. İnositol trisfosfat sarkoplazmik retikulum üzerindeki reseptörlere bağlanması, kalsiyumun sitozole salınması ile sonuçlanır. Diasilgliserol, kalsiyum ile birlikte spesifik hedef proteinleri fosforile eden protein kinaz C'yi (PKC) etkinleştirir. Protein kinaz C, L tipi kalsiyum kanallarının fosforilasyonu veya köprüler arası dolaşımı düzenleyen diğer proteinler gibi kasılmayı teşvik edici etkilere sahiptir (Carlos ve Carneiro, 2006; Abraham ve Kierszenbaum, 2006; Darakcı, 2016).

Her iki yolda da hücre içindeki artan Ca^{2+} , kalmodulin proteinine bağlanarak bir kalmodulin molekülüne dört Ca^{2+} 'un bağlanmasıyla kalsiyum-kalmodulin kompleksini oluşturarak miyozin hafif zincir kinazı etkinleştirir. Etkinleşmiş miyozin hafif zincir kinazı, miyozinin düzenleyici hafif zinciri olan 20 kDa'lık miyozin hafif zinciri (MLC20) fosforilleyerek etkinleştirir. Miyozin hafif zincir kinazı enzimi miyozin hafif zinciri, 19. pozisyonundaki serin aminoasiti üzerinden fosforilasyonunu katalizleyerek miyozin başının ATP'az etkinliğini artırır. Aynı zamanda aktinin aktif bölgelerini tutan kaldesmon proteinini de uzaklaştırır. Sonuç olarak miyozin başı aktinin aktif bölgesi ile bağlanır. Miyozinin aktin filamanına tutunmasını takiben oluşan çapraz köprü, ince filamanı kalın filamanın merkezine doğru iterek dişli çark etkisi oluşturur ve kasılma kuvveti meydana gelir (Guyton ve Hall, 1996; Darakçı, 2016).



Resim.1.4. Düz kaslarda kasılma ve gevşeme mekanizması

Düz kas kasılmasına aracılık eden nörotransmitter asetilkolindir (ACh). Asetilkolinin spesifik reseptörüne (M1, M2, M3, M4, M5) bağlanması Gq aracılı Fosfolipaz C etkinliğinde artışa neden olur. Fosfolipaz C ise fosfatidilinositol 4-5-bifosfatı (PIP₂) hidrolize ederek diasilgliserol (DAG) ve 1,4,5 ve IP₃ oluşumu ile ikinci haber yolunu etkinleştirir. Devamında ise yukarıda bahsedilen kasılma mekanizması devreye girer (Guyton ve Hall, 1996; Darakçı 2016).

Buna ilave olarak çeşitli uyarıcı nörotransmitter reseptörleri ile etkileşimine ya da pacemaker etkinliğine bağlı olarak hücre membranında oluşan aksiyon potansiyeli düz kas kasılmasını başlatabilir. Bu sayede hücre membranında yayılan aksiyon potansiyeli voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarının açılmasına neden olarak hücre içine Ca^{+2} girişine neden olur. Kalsiyum kaveolalar aracılığıyla yayılarak sarkoplazmik retikulumdaki ryanodin kanallarını etkinleştirerek sitozole kalsiyum iyon girişine neden olarak hücre içi kalsiyum seviyesi daha da artarak kasılmımın şiddeti artar (Takeuchi ve ark., 2007).

1.4.3.2. Kas kasılmasının inhibisyonu ve gevşeme

Düz kas gevşemesi, kasılmayı uyaran etkenin (hormon vs) uzaklaştırılması veya kasılma mekanizmasının inhibe edilmesini uyaran bir maddenin doğrudan etkisiyle (örneğin, atriyal natriüretik faktör bir vazodilatördür) meydana gelir. Ne olursa olsun, gevşeme süreci, hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun düşmesini ve miyozinin hafif zincirini fosfataz etkinliğinin artmasını gerektirir. Miyozinin hafif zincirini fosfor gruplarının koparılmasına hücre içinde kalsiyum düzeyinin düşmesiyle etkinleşen miyozin fosfataz neden olur. Böylece çapraz köprüler ile aktinin etkin noktalarının kafası birbirinden ayrılırak gevşeme meydana gelir (Darakcı 2016; Murthy, 2006 Takeuchi ve ark., 2007).

Uyarıcı kalsiyumun hücre içi yoğunluğundaki azalma, düz kas hücresinde gevşemeye neden olur. Sitosolik kalsiyumun uzaklaştırılmasında çeşitli mekanizmalar vardır. Sarkoplazmik retikulum içine kalsiyum alımı ATP hidrolizine bağlıdır (Carlos ve Carneiro, 2006; Abraham ve Kierszenbaum 2006; Darakcı 2016).

1.5. İnce Bağırsak Düz Kaslarının Elektrofizyolojisi

Bağırsağın motor fonksiyonu düz kas lifleriyle yürütülmektedir. Mide bağırsak sistemi düz kas lifleri, her biri 2 - 10 mikron çapında ve 200 - 500 mikron boyunda yüzlerce paralel lif demetlerden oluşmuştur. Kas lifi demetleri arasında iyonların bir hücreden diğerine geçişinde düşük direnç bölgelerini oluşturanelektriksel bağlantı yerleri bulunmaktadır. Bu şekilde elektriksel sinyalleri lifler arasında kolaylıkla iletilmektedir (Guyton, 1996; Carlos ve Carneiro, 2006; Sevimli 2010).

Her bir düz kas lifi bağ doku ayrılmaktadır. Buna karşın demetler birçok noktada birbiriyle kaynaştığından, her kas tabakası düz kas liflerinden bir ağ yapısı oluşturur. Bundan dolayı her kas tabakası bir sinsityum gibi hareket eder. Kas demeti herhangi bir noktadan elektriksel uyarı aldığı zaman kas kitlesi içinde yayılmaktadır. Ayrıca longitudinal kaslar ile sirküler kaslar arasında bağlantı noktaları bulunduğundan dolayı bir tabakada oluşan uyarı dalgası diğer tabakada da uyarı meydana getirebilmektedir. Sindirim sistemi düz kas hücreleri membranlarında, temel elektriksel ritim (yavaş dalga depolarizasyonları) ve dikensi potansiyeller olmak üzere iki temel elektriksel etkinlik meydana gelmektedir (Guyton, 1987; Marieb, 2004; Sevimli, 2010).

Sindirim sistemi kanalında kasılımların çoğu ritmik olarak oluşmaktadır. Düzenli olarak oluşan bu olay, düz kas membran potansiyelinde gelişen yavaş dalgaların sıklığı ile belirlenir. Düz kas membran dinlenme potansiyellerinin dalga akımları ile yavaş dalgalar oluşur. Bu hücreler elektriksel olarak bağlandıklarından bu dalgalanan elektriksel potansiyeller bitişik kas bölümlerine yayılır ve yavaş dalgaları oluşturur. Bu tam olmayan düz kasların depolarizasyonları sindirim sistemi kanalında yayılım göstermektedir (Hatemi 2005; Reece, 2008; Sevimli 2010).

Sindirim kanalının anatomik bölümüne göre yavaş dalgaların frekansı değişiklik oluşturmaktadır. İnce bağırsakta frekans dakikada 10-20 ve mide ile kalın bağırsakta 3-8 aralığındadır. Perifereral otonom sinirlere bağlı olmaksızın intrinsik sinirler aracılığıyla yavaş dalga depolarizasyonları kendiliğinden meydana gelmektedir (Guyton, 1996). Yavaş dalgalar aksiyon potansiyeli olmayıp, kendi başlarına kasılma oluşturmazlar. Bunun yerine dikensi potansiyellerin oluşumunu eşzamanlı ve eşgüdümlü olarak düzenlerler (Guyton, 1987; Reece, 2008; Sevimli 2010)

Kasılma meydana getiren aksiyon potansiyelleri Dikensi potansiyelleridir. Sindirim sistemi kanalı düz kasların membran dinlenme potansiyelleri – 50 ile - 60 milivolt (mV) arasındadır. Membran dinlenme potansiyeli -40 Mv'a yükseldiği zaman kendiliğinden dikensi potansiyeller oluşmaya başlar (Guyton, 1987; Sevimli, 2010).

İnce barsağa mide içeriği geçiş yaptığında kimus bağırsakları genişleterek bağırsak duvarlarını mekanik olarak gerer. Bu mekanik uyarım bağırsakta bulunan algaçlarla sinirlere impuls göndererek kimyasal aracı salınımı sonucu genişlemeye neden olur. Genişleyen bu kısım bu bölgeyi daha depolarize hale gelir. Bu şekilde Yavaş dalgalar bu uyarılmış düz kas bölgesinden geçerken dikensi potansiyel oluşumuna sonucunda kasılma neden olur (Sevimli, 2010). Bununla beraberdikensi potansiyeller sindirim kanalı düz kaslarında birkaç mm uzağa gidemezler. Bunun yerine elektriksel olarak kas hücreleri gap junction (sinsityum) denilen aralıklı birleşme yerleri ile bağlantılı olduğundan yavaş dalga potansiyelleri sindirim kanalı boyunca yayılacaktır. Sindirim sistemi boyunca dikensi potansiyeller, yavaş dalgaların tepesinde oluşur. Bundan dolayı sindirim kanalında temel elektriksel ritmi, dikensi potansiyeller ile değil yavaş dalgalarla belirlenmektedir (Hatemi, 2005; Marieb, 2004; Noyan, 2004).

Aksiyon potansiyellerisinir dokuda oluşturan temel mekanizma sodyum iyon nallarını kullan sodyumun süratli bir şekilde sinir liflerin içerisine girmesi meydana gelmektedir.Sindirim sistemi kanalı düz kaslarında ise aksiyon potansiyelini oluşturan iyon kanalları daha farklıdır. Fazla miktarda kalsiyum iyonunun daha az miktarda sodyum iyonu ile birlikte girişini sağladıklarından bu kanallara kalsiyum-sodyum kanalları ismi verilmektedir. Kalsiyum-sodyum iyon kanalları sodyumiyon kanallarına göre oldukça yavaş açılmakta ve daha yavaş kapanmaktadır. Bu durumda sindirim sistemi kanalıkaslarında oluşan aksiyon potansiyellerinin daha uzun sürmesine neden olmaktadır. Sinir liflerinde 10 ile 20 milisaniye kadar süren aksiyon potansiyellerisindirim sistemi kanalıkaslarında görülendikensi potansiyellerde10-40 katı sürmektedir (Guyton,1996; Reece, 2008; Sevimli, 2010).

Sindirm kanalı kas hücrelerinde de kas hücrelerine giren kalsiyum iyonları kasların kontraksiyonuna neden olmaktadır. Kalsiyum iyonları düz kas liflerinde bulunan miyozin iplikçiklerini etkinleştirerek kendisiyle aktin iplikçikleri arasındaki çekme gücünü tetikleyerek kas kontraksiyonunu meydana getirir. Yavaş dalgalar kalsiyum iyonlarının kas lifine girmesini neden olmazken sodyum iyonlarının içeri girmesine izin verir. Bu yüzden yavaş dalgalar tek başına kasta kasılım yapamazken yavaş dalgaların tepesinde, sivri potansiyellerin oluşumu esnasında fazla miktarda kalsiyum iyonu kas lifi içerisine geçerek kasılmaya neden olur (Guyton, 1987;

Sevimli,2010). Sindirim sisteminde hücre membranını depolarize ederek daha kolay uyarılabilir yapan bazı faktörler bulunur. Bunlar kas bölgesinin gerilmesi, asetilkolin salınımı, parasempatik sinirlerle uyarılma ve mide bağırsak sisteminin yerel hormonlarıyla uyarılma olarak sıralanabilir. Çeşitli yerel uyarılar neticesinde kimyasal araçlar salgılanırlar ve kasların duyarlılığını artırarak dinlenme membran potansiyelini daha pozitif hale getirirler (Marieb, 2004; Reece, 2008). Düz kas membranlarında epinefrin ve norepinefrin etkisi ile sempatik sinirlerin uyarılması ise kas liflerinin daha uyarılabilir hale getirilmesini engellemektedir (Guyton, 1987; Sevimli,2010).

1.4. Bitkisel Ekstraktların Düz Kas Kasılımları Üzerine Etkisi

Diyete ilave edilen bitkisel ekstraktların, sindirimin uyarıldığı, sindirimde sistemi enzimleri ya da enzim uyarıcılarının etkinliğini arttırabileceği ifade edilmektedir (Pradeep ve ark., 1991; Pradeep ve Geervani, 1994). Kanatlılarda yapılan araştırmada oregano, tarçın ve biber ekstraktlarının besin maddelerinin sindirilebilirliğini arttırdığı tespit etmişlerdir (Hernandez ve ark., 2004). Benzer şekilde fenolik bileşiklerden olan flavonoidlerin bağırsak kasılımlarına etkileri gösterilmiştir (Di Carlo ve ark., 1993). Yukarıda ki bildirimlerin tersşnesirası ile 1000 mg/kg ve 850 mg/kg düzeylerinde sıçan diyetlerine ilave edilen cinnemaldehyde ve eugenol'ün alanin amino asidinin jejunumdan emiliminin azalttığı rapor edilmiştir (Kreydiyyeh ve ark., 2000).

Genistein ve quercetin'in tavşan duodenum düz kasında spontan kasılımların şiddetini azalttığı, ancak frekansında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı belirlenmiştir. Özellikle genisteinin etkisini iyon (kalsiyum ve potasyum) kanalları, quercetin'in ise etkisini cAMP ve proteinkinaz A'nın aracılığıyla gösterdiği ifade edilmiştir (Santos-Fagundes ve ark., 2015).

Kanatlılarda *Rosmarinus officinalis L.* (biberiye), *Thymus vulgaris L.* (kekik), *Myrtus communis L.* (mersin) esansiyel yağları (Bülbül ve ark., 2018), kemirgenlerde *Teucrium polium* (Mayasıl otu; Sadraei ve ark., 2003), *Pterodon polygalaeflorus* (Leonhardt ve ark., 2010) ve koyunlarda *Mentha longifolia* (Uzun yapraklı nane; Ghader ve ark., 2012) esansiyel yağlarının mide-bağırsak düz kaslarında kasılımları

engellediği gösterilmiştir. Çörek otu esansiyel yağının ise alveoller (Agarwal ve ark., 1979) ve kan damarları (Suddek, 2010) düz kaslarında gevşeme oluşturduğu belirtilmiştir. Aynı şekilde bu esansiyel yağın sıçan ve kobay uterin düz kasında oksitosinin neden olduğu kasılımları engellediği saptanmıştır (Aqel ve ark., 1996). Bu bağlamda çörek otu esansiyel yağının mide-bağırsak sistemi üzerine diğer bir etkisinin de sindirim sistemi düz kaslarındaki kasılımları düzenleyerek gösterebileceği bildirilmektedir (Bhat ve ark., 1984; Bhat ve Chandrasekhara, 1987; Sambaiah ve Srinivasan, 1991). Nitekim rek otu uçucu yağın rat ileal myenterik pleksus boyunca fazik kasılmalarını (Reiter ve Brandt, 1985) ve tavşan jejunumunun kendiliğinden hareketlerini (Aqel, 1993) engelleyerek spazm çözücü olduğu ifade edilmektedir. Buna ilave olarak Yalçın ve Bülbül, (2019), rek otu esansiyel yağının *in vitro* spontan duodenum ve kolon kasılımları üzerine 1-300 $\mu\text{g/ml}$ düzeylerinin etki etmediği, 1000 $\mu\text{g/ml}$ düzeyinin ise kasılımları kısmen engellediği belirlenmiştir. Aynı çalışmada; çörek otu esansiyel yağının *in vivo* duodenum ve kolon kasılımlarını açlık durumunda arttırarak mide-bağırsak kanalında besinlerin geçiş süresini azalttığı göstermişlerdir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM(ETİK)

2.1.Bitki materyali

Araştırmada Afyonkarahisar merkeze bağlı Değirmendere köyünde, sonbaharda ekimi yapılmış taze filiz halinde bulunanyaklaşık 10 cm boyuna ulaşmış ve insan tüketimi için kökleri ile sökülmüş *Papaver somniferum*(haşhaş) bitkisi kullanıldı (Resim 3.1). Örneklerin yenilebilen kısımları kök ve saplarından ayıklandıktan sonra distile su ile yıkandı, oda koşullarında ve gölgede kurutuldu.



Resim 2.1. Araştırmada kullanılan *Papaver somniferum* 'un elde edildiği tarla

2.1.1.Bitkinin ekstraksiyonu

Kurutulan haşhaş yaprakları ev tipi rondo da öğütüldü (Resim 3.2). Toz haline getirilmiş örneklerden 20 g alınarak 400 ml çözücü ile soksalet cihazında kaynama sıcaklığında (Etanol 78,4 °C, metanol 64,7 °C etil asetat 77,1 °C ve su 100 °C) ortalama 2 saat ekstrakte edildi (Mata ve ark., 2007). Takibinde ekstraktlar süzgeç kâğıdından süzildükten sonra çözücülerin büyük bir kısmı evaporatörde kaynama sıcaklığında uçuruldu (Tawaha ve ark., 2007). Kalan ekstraktlar Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji AD' ında liyofilize edildi. Bitkilerden elde edilen liyofilize örnekler fenolik madde miktarı ve identifikasyonu ile kasılım denemeleri yapılınca kadar -18 °C'de muhafaza edildi.



Resim 3.2. Kurutulmuş ve öğütülmüş *Papaver somniferum* bitkisi

2.2. Toplam Fenolik Madde (TFM) Tayini

Papaver somniferum yapraklarının su, etanol, metanol ve etil asetat ekstraktlarında toplam fenolik maddeler Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile tayin edildi (Singleton ve Rassi, 1965).

Toplam fenolik madde miktarı ile fenolik madde içeriğinin belirlenmesi için liyoflize örnekler 1000 µg/mL olacak şekilde çözüldü.

Folin-Ciocalteu reaktifi, fosfotungistik ($H_3PW_{12}O_{40}$) ve fosfomolibdik ($H_3PMo_{12}O_{40}$) asitlerin karışımıdır. Bu karışım fenol oksidasyonu esnasında mavi

renkli bileşikler oluşturur. Polifenolik bileşiklerin miktarı renk değişikliği ile doğru orantılıdır. Araştırmada, ekstraktlardaki polifenolik miktarı gallik asit eş değeri olarak değerlendirildi.

Kullanılan metot özetle, ekstraktlardan 10'ar µl alınarak 10 ml distile su ile seyreltildi. Takibinde 500 µl FCR reaktifi (Sigma, F9252) bu karışıma ilave edilerek vorteks ile karıştırılarak 5 dk dinlendirildi. Karışıma 1.5 ml % 2'lik Na₂CO₃ çözeltisi eklenerek 1 saat boyunca oda ısısında tutularak 760 nm'de absorbanslar okundu. Blank olarak distile su kullanıldı. Gallik asit için çizilen absorbans-konsantrasyon standart grafiğinin denkleminde, örneklerin toplam fenolik madde miktarları µg gallik asit (µg GAE/g ekstrakt) eşdeğeri şeklinde hesaplandı.

2.3. Ekstraktların fenolik madde içeriğinin belirlenmesi

Örneklerdeki fenolik maddelerin tayini High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ile gerekli modifikasyonlar yapılarak Selçuk Üniversitesi, İleri Teknoloji Araştırma Uygulama Merkezinde belirlendi.

Liyofilize örneklerden 1g tartılarak üzerine 20mL ekstraksiyon çözeltisi eklenmiştir. Ultra Torax aletinde yüksek devirde 3 dk boyunca tutularak ince partiküllü ve homojen bir karışım haline getirilmiştir. Daha sonra 10 ml'lik tüpe alınarak vortekslenildikten sonra (5dk yüksek devir) karışım 10000 rpm, +4°C, 20dk santrifuj edilmiştir. Berrak kısım gözenek çapı 0,45 µm olan membran filtresinden geçirilerek 20 µl örnek otoenjektörden 24 saati geçmeden HPLC'ye enjekte edilmiştir.

2.3.1 Fenolik madde standartları

Standart çözeltilerin hazırlanmasında Gallik asit, Protokateşuikasit, Kateşin, 4-Hidroksibenzoik asit, Kafeik asit, Siringik asit, Rutin Trihidrate, Trans-P-kumarik asit, Trans-Ferulik asit, Mirisetin, Trans-Resveratrol, Kuersetin, Trans-Sinnamik asit, Naringenin, Kaempferol kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan tüm standartlar metanol içinde çözdürülmüştür.

2.3.2 HPLC cihaz koşulları

Analiz için HPLC (Shimadzu LC-20AD) cihazı kullanılmıştır. Dedektörde (UV/VIS; SPD-20A); 280-330 nm dalga boyları arasındaki spektrumlarda ölçüm yapılmıştır. Kolon olarak 5 µm; 4.6 x 250 mm(INERTSIL ODS-3V) ebatlarında kolonu kullanılmış ve kolon fırın (CTO-10A) sıcaklığı 30°C'ye ayarlanırken; autosamplerin (SIL-20A) sıcaklığı ise 4°C'ye ayarlanmıştır. Fenolik maddelerin analizi için solventlerin akış zamanlaması değişken olacak şekilde ayarlanmıştır (gradient). Solventler cihazla entegre edilmeden önce 20 dk bounca sonikasyon cihazında hava kabarcıklarının giderilmesi sağlanmıştır. Ayrıca cihazla entegre bir şekilde degasser (DGU-14A) donanımı da mevcuttur. Kullanılan mobil fazlar, solvent A için su: formik asit (5:95; v/v) olarak; solvent B için aseto nitril olarak belirlenmiştir. Akış hızı 1 ml/dk olarak ayarlanmıştır. Mobil faz için gradient bir akış söz konusu olup aşağıda verilen akış programı uygulanmıştır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Fenolik bileşiklerin HPLC ile analizde uygulanan gradient akışprogramı

0.10	Controller	Start	
0.10	Pumps	B.Conc	8
2.00	Pumps	B.Conc	10
27.00	Pumps	B.Conc	30
37.00	Pumps	B.Conc	56
37.10	Pumps	B.Conc	8
45.00	Pumps	B.Conc	8
45.10	Controller	Stop	

2.4. Ekstraktların İnce Bağırsak Kasılım Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

Bu çalışmada hayvan denemeleri Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AKUHADYЕК)'in, AKUHADYЕК-473-15 referans numaralı ve 24.06.2015 tarihli izni ile yapılmıştır.

Kasılım denemelerinde Afyon Kocatepe Üniversitesi, Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden elde edilen 4-6 aylık ve ortalama 270 ± 20 gr ağırlığında, 10 Sprague Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar genel anestezi (21,1 mg/kg ketamin ve 4,2 mg/kg ksilazin) altında servikal dislokasyonlaötenazi yapılmıştır.

Takibinde her bir bağırsak bölümü krebs çözeltisi içerisinde etrafındaki mezenter ve yağ dokudan dikkatli bir şekilde temizlenerek 0,1 -- 0,3 cm x 0,6 cm boyutlarında şerit şeklinde doku parçası elde edilmiştir. Hazırlanan bu preparatlar, 37 °C sıcaklıkta ve %95 O₂ - %5 CO₂ gaz karışımı ile sürekli havalandırılan 20 ml krebs (NaCl, 118 mmol/l; KCl, 4.7 mmol/l; CaCl₂ 2.5 mmol/l; MgSO₄ 1mmol/l; KH₂PO₄ 1 mmol/l; glucose 11, mmol/l; NaHCO₃ 25 mmol/l) çözeltisi içerisinde olacak şekilde izole organ banyosunun I, II, III ve IV numaralı olmak üzere her dört kadehindeki platin halka elektrotun alt ucuna bağlanarak dokunun halka elektrotlar arasında kalması sağlanmıştır. Dokunun diğer ucu üst uçlarından force transducer'a bağlanıp tespit edilerek ve izometrik düz kas hareketleri "force transducer" (Force Displacement Transducer 10-A) ve "acquisition system" yardımı ile bilgisayarda görüntülenerek (Biopac Student Lab PRO Software and MP30 Hardware) kaydedilmiştir.

2.4.1. Deodenum, jejenum ve ileumda izometrik kasılımların belirlenmesi

Başlangıçta izole organ banyosunun I,II, III ve IV nolu kadehlerine tespit edilen dört ayrı doku parçalarına 2 gramlık bir gerim uygulandı. Ortama alışmaları için en az 1 saat süreyle ve her 15 dakikada bir değiştirmek koşulu ile krebs çözeltisi içerisinde bekletildi. Öncelikle normal spontan kasılımların belirlenmesi için 1 saatlik kasılım periyodu kaydedildi.

2.4.2. Duodenum, jejunum ve ileum üzerine ekstraktın etkisinin tek başına araştırılması

Dokular organ banyosunda dengelendikten sonra ekstraktlar 0,0001 – 3 mg/ml derişim aralığında ve her bir doz aralığı 3 dakika olacak şekilde kümülatif olarak duodenum, jejenum ve ileum dokusuna ayrı ayrı uygulandı. *Papaver somniferium* 'un su ekstraktının her üç dokuda dakonsantrasyona bağımlı olacak şekilde kasılımlara neden olduğu, buna karşın etanol ve metanol ekstraktlarının üç dokuda da herhangi bir etki oluşturmadığı, etil asetat ekstraktının ise zayıf bir kasılımaneden olmakla beraber bu etkinin istatistiksel öneminin olmadığı belirlenmiştir. Bundan dolayı devam eden kasılım denemelerinde sadece *Papaver somniferium* bitkisinin su ekstraktı kullanıldı. Araştırma yöntemi içerisinde dokulara uygulanan deney protokolü Tablo 2. 2'de özetlenmiştir.

2.4.3. Duodenum, jejunum ve ileum üzerine Asetil kolinin etkisinin tek başına araştırılması

Dokular organ banyosunda dengelendikten sonra Asetil kolinin (ACh) her seferinde logaritmik artışla 10^{-9} – 10^{-4} M derişim aralığında ve her bir doz aralığı 3 dakika olacak şekilde kümülatif olarak duodenum, jejenum ve ileum dokusuna ayrı ayrı uygulandı. Asetil kolinin 10^{-5} M uygulanarak oluşan kasılma cevabı, her bir doku için maksimum kasılma kabul edildi. Daha önce uygulanan ekstraktların kasılım oluşturma etkisi ile ACh uygulamasından sonra uygulanan tüm maddelerin etkileri ACh kasılmasının % 'si olarak hesaplandı.

Tablo 2.2. Yöntem içerisinde dokulara uygulanan deney protokolü

Uygulama	Uygulama Protokolü
İnkübasyon	1 saat inkübasyona bırakıldı
Uygulama II	0,0001 mg ekstrakt
Uygulama III	0,0003 mg ekstrakt
Uygulama IV	0,001 mg ekstrakt
Uygulama V	0,003 mg ekstrakt
Uygulama VI	0,01 mg ekstrakt
Uygulama VII	0,03 mg ekstrakt
Uygulama VIII	0,1 µg ekstrakt
Uygulama IX	0,3 µg ekstrakt
Uygulama X	1 mg ekstrakt
Uygulama XI	3mg ekstrakt
Uygulama I	Ach (10^{-5} M)
Uygulama X	Ach + Atropin
Uygulama XI	Ach + Verapamil
Uygulama XII	Atropin + 1 mg ekstrakt
Uygulama XIII	Verapamil + 1 mg ekstrakt

2.4.4. Duodenum, jejunum ve ileum düz kasında atropin (10^{-6} M) ile inkübasyonu takiben asetilkolinin (10^{-5} M) etkisinin araştırılması

İzole ince bağırsak segmentleri 10^{-6} M atropinile 10 dk inkübe edildikten sonra asetil kolin (10^{-5} M) tek doz uygulanarak etkisi belirlendi.

2.4.5.Duodenum, jejunumu ve ileum düz kasında atropin (10^{-6} M) ile inkübasyonu takiben *Papaver somniforiums*u ekstraktının tek doz etkisinin araştırılması

İzole ince bağırsak segmentleri 10^{-6} M atropin ile 10 dk inkübe edildikten sonra dokularda maksimal etki gösterdiği belirlenen 1 mg /ml dozunda *Papaver somniforiums*u ekstraktı tek doz uygulandı.

2.4.6.Duodenum, jejunum ve ileum düz kasında verapamil (10^{-7} M) ile inkübasyonu takiben asetilkolinin (10^{-6} M) etkisinin araştırılması

İzole ince bağırsak segmentleri 10^{-5} M verapamil ile 10 dk inkübe edildikten sonra asetilkolin (10^{-6} M) tek doz uygulanarak etkisi belirlendi.

2.4.7.Duodenum, jejunumu ve ileum düz kasının verapamil (10^{-7} M) ile inkübasyonu takiben papaver su ekstraktının tek doz etkisinin araştırılması

İzole ince bağırsak segmentleri 10^{-7} M verapamil ile 10 dk inkübe edildikten sonra dokularda maksimal etki gösterdiği belirlenen 1 mg/ml dozunda papaver su ekstraktı tek doz uygulandı.

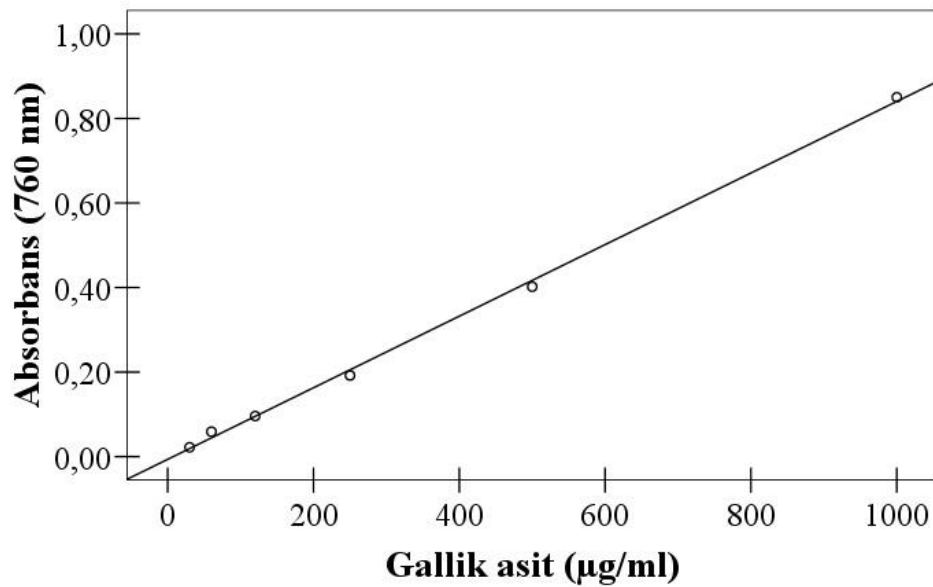
2.5.İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada istatistiksel analizler için 'SPSS 13.0 istatistik paket programı' kullanıldı. Veriler ortalama \pm standart sapma (mean \pm standart deviation-SD) şeklinde ifade edildi. İstatistiksel yöntem olarak, her bir doku için ayrı olacak şekilde elde edilen amplitüt değerler arasında yapılan karşılaştırmalarda “Varyans analiz” ve “Tukey” testi uygulandı ve $p < 0,05$ fark düzeyi çalışmada önemli kabul edildi.

3.BULGULAR

3.1.Toplam Fenolik Madde (TFM) Tayini

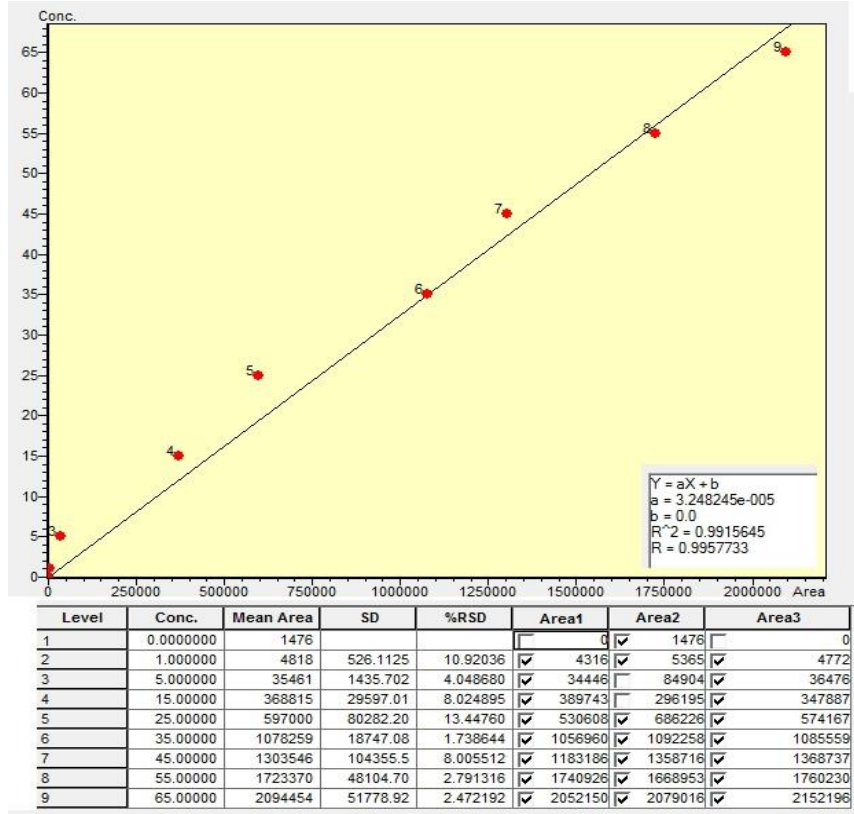
Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart grafik Grafik 3.1’de gösterilmiştir. *Papaver somniferium* metanol, metanol, etil asetat ve su ekstraktlarındaki fenolik madde düzeyi sırasıyla 182,13; 164,14, 113,44 ve 94,56 mg/g olarak belirlendi. Buna göre, *Papaver somniferium* metanol ekstraktında en fazla fenolik madde bulunurken su ekstraktında bu düzeyin en az olduğu görüldü.



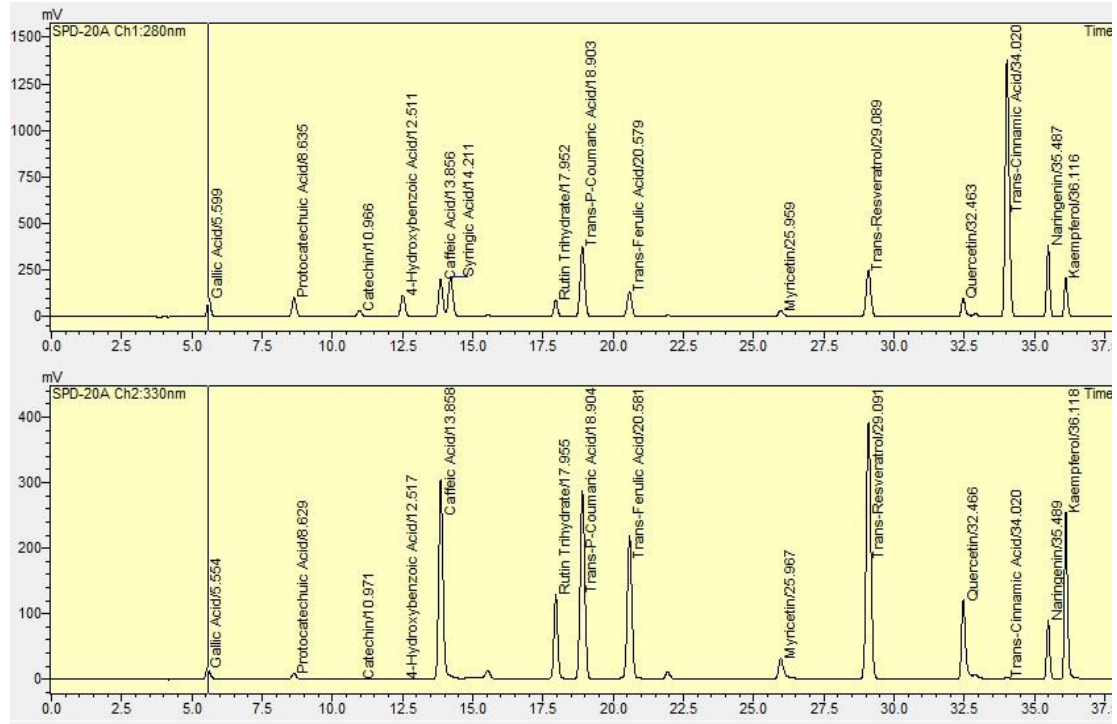
Grafik 3.1. Gallik asit standart grafiği ($r^2=0.998$)

Fenolik madde tayininde kullanılan fenolik madde standart kalibrasyon eğrisi Grafik 3.2'de standartların kromatogram görüntüleri ise şekil 3.3.'de gösterilmiştir. *Papaver somniferium*'un farklı ekstraksiyon metotlarıyla elde edilen ekstraktlarındaki fenolik madde içeriği ise Tablo 3.1 gösterilmiştir.

Buna göre kullanılan solventin çeşidine bağlı olarak fenolik madde içeriğinin değiştiği belirlenmiştir. *Papaver somniferium*'un etanol ekstraktında fenolik maddenin % 49,14 Trans-P-kumarik asit ile %16,71'ni Kuarsetin oluşturduğu görüldü. Etil asetat ekstraktında ise Mirisetin (%39,26), Gallik asit (25,44) ve Kuarsetin (%12,66) olduğu belirlendi. Buna karşın metanol ekstraktında kafeik asit (%14,77) ve Kateşin (%13,84) su ekstraktında ise Kuarsetin (%12,42) ve Kaempferol (% 7,48) belirlenmiştir.



Grafik 3.2. Metodun kalibrasyon eğrisi ($r^2=0.998$)



Resim 3.1. Standartların Kromatogram Görüntüleri

Tablo 3.1. *Papaver somniferumun* etanol, etil asetat, metanol ve su ekstraktlarındaki fenolik maddelerin miktarı (mg/g)

	Etanol	Etil asetat	Metanol	Su
Gallik Asit	0,48	25,44	0,04	0,23
Protokateşuik asit	2,79	1,44	0,79	0,92
Kateşin	2,89	1,63	13,84	0,55
4-Hidroksibenzoik Asit	7,28	1,52	2,89	1,53
Kafeik Asit	2,84	1,31	14,77	1,36
Siringik asit	0,90	1,79	0,71	1,14
Rutin Trihidrate	1,13	4,43	1,47	0,32
Trans-P-kumarik asit	49,14	0,79	1,33	0,19
Trans-Ferulik Asit	1,50	5,05	0,18	0,38
Mirisetin	10,73	39,26	8,20	1,13
Trans-Resveratrol	8,24	9,18	0,91	5,45
Kuersetin	16,71	12,66	1,51	12,42
Trans-Sinnamik asit	0,57	0,76	1,17	0,20
Naringenin I	3,79	1,93	1,13	0,94

Kaempferol	3,50	5,50	2,83	7,48
------------	------	------	------	------

3.2.Papaver Somniferium Ekstraklarının İnce Bağırsak Kasılım Üzerine Etkisi

Ekstraklar artan dozlarda her 3 dakikada bir dozun 20 ml'lik hacimde izole ince bağırsak segmentlerinin bulunduğu organ banyolarına eklenmesiyle kümülatif olarak uygulandı.

Deodenum, jejenum ve ileum üzerine ekstraktların oluşturduğu kasılım şiddeti Tablo 3.2, 3.3 ve 3.4'de gösterilmiştir. *Papaver somniferium*'un su ekstraktı her üç dokuda dakonsantrasyona bağımlı olacak şekilde kasılımlara neden oldu. Artışın 1 mg/ml dozuna kadar doza bağımlı olarak artarken 3 mg/ml dozunda bir önceki doza benzer etki veya etkinin azaldığı görüldü. Tablo 3.2, 3.3 ve 3.4 incelendiğinde üç doku içinde maksimal kasılım için *Papaver somniferium*'un sulu ekstraktının 1 mg/ml doz olduğu,buna göre 1 mg/ml su ekstraktının ACh kasılmasında deodenumda % 82,00 jejenumda % 96,10 ileumda % 58,40'i kadar kasılmaya neden olduğu belirlendi. Buna karşın *Papaver somniferium*'un etanol ve metanol ekstraktlarının üç dokuda da kasılım oluşturmadığı etil asetat ekstraktının ise zayıf bir kasılma görülmekle beraber istatistiki önem belirlenememiştir.

Tablo 3.2.*Papaver somniferiumun* etanol, etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının deodenum kasılımı üzerine etkisi (%)

Solvent	Uygulanan düzey (mg/ml)					
	0,01	0,03	0,1	0,3	1	3
Su	-	2,40±1,7	16,20±9,87	43,50±15,21	82,00±14,67	86,50±23,77
Etanol	-	-	-	-	-	-
Metanol	-	-	-	-	-	-
Etilasetat	-	-	-	1,40±2,11	2,70±3,65	2,70±4,80

Tablo 3.3.*Papaver somniferiumun* etanol, etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının jejenum kasılımı üzerine etkisi (%)

Solvent	Uygulanan düzey					
	0,01	0,03	0,1	0,3	1	3
Su	-	6,40±4,06	21,60±11,15	70,80±17,75	96,10±11,47	92,30±7,27
Etanol	-	-	-	-	-	-

Metanol	-	-	-	-	-	-
Etilasetat	-	-	-	1,00±1,49	4,10±2,88	4,20±1,81

Tablo 3.4. *Papaver somniferumun* etanol, etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının ileum kasılımı üzerine etkisi (%)

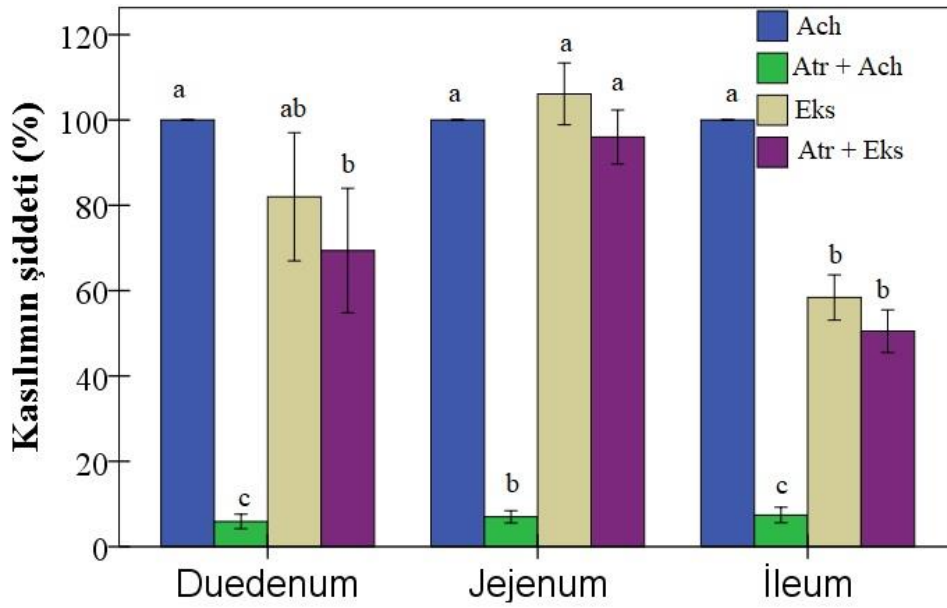
Solvent	Uygulanan düzey					
	0,01	0,03	0,1	0,3	1	3
Su	-	6,90±3,92	15,60±3,56	33,40±5,71	58,40±8,36	66,00±6,18
Etanol	-	-	-	-	-	-
Metanol	-	-	-	-	-	-
Etilasetat	-	-	-	1,30±1,63	2,70±2,86	4,00±3,49

Asetilkolin (10^{-5} M) ve *Papaver somniferum* yaprağı su ekstraktının (1 mg/ml) duodenum, jejunum ve ileum düz kasında 10 dk atropin inkubasyonu sonucunda oluşturduğu kasılımın şiddeti (%) Tablo 3.5 ve Grafik 3.3’de gösterilmiştir. Buna göre Atropin inkubasyonu sonucunda asetilkolinin her üç dokudada oluşturduğu kasılım şiddetinin azaldığı görüldü ($P < 0.001$). Buna karşın duodenum, jejunum ve ileum dokularında *Papaver somniferum* su ekstraktının (1mg/ml) oluşturduğu kasılım şiddetinin atropin inkubasyonundan etkilenmediği belirlendi (Grafik 3.3; $P > 0.05$).

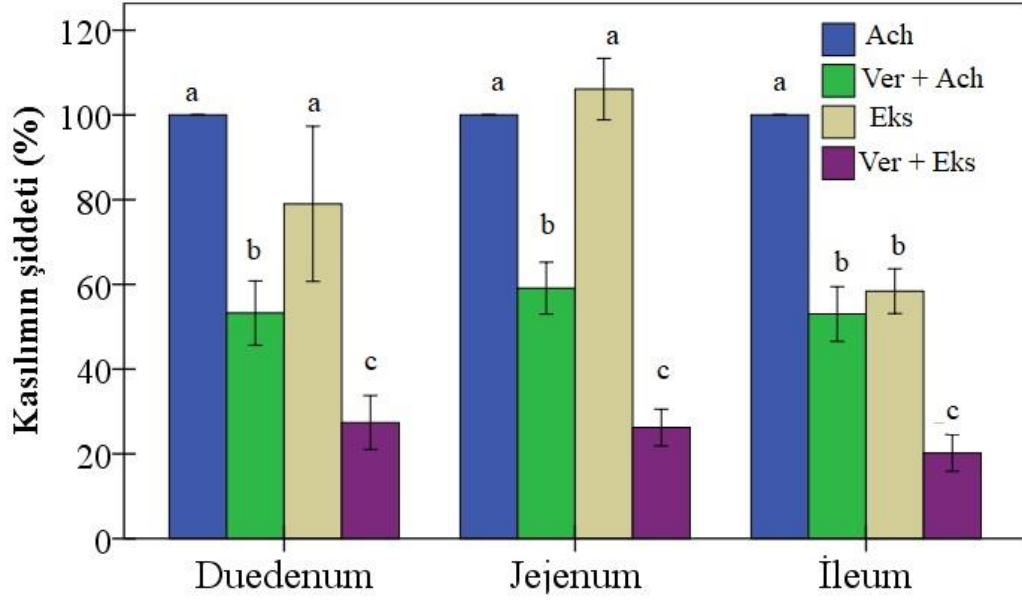
Tablo 3.5. Dokularda antagonist + asetilkolin ve antagonist + *Papaver somniferum* su ekstraktı cevapları (%)

	Deudenum	Jejunum	İleum
Asetilkolin (10^{-5} M)	100	100	100
Atropin (10^{-6} M) + Asetilkolin (10^{-5} M)	5,90±2,68	7,00±2,26	7,40±2,87
<i>Papaver somniferum</i> su ekstraktı (1mg/ml)	82,00±23,77	96,10±11,47	58,40±8,36
Atropin (10^{-6} M) + <i>Papaver somniferum</i>	69,40±23,05	96,00±10,01	70,50±7,93

su ekstraktı (1 µg /ml)			
Verapamil (10 ⁻⁷ M) + Asetilkolin (10 ⁻⁵ M)	52,60±9,85	59,10±9,66	53,00±10,21
Verapamil (10 ⁻⁷ M) + <i>Papaver somniferum</i> su ekstraktı(1µg /ml)	27,37±9,00	26,20±6,86	20,20±6,84



Grafik 3.3. İnce bağırsak bölümlerinde antagonist + asetilkolin ve antagonist + *Papaver somniferum* su ekstraktı kasılım cevapları (%). Aynı anatomik bağırsak kısımlarındaki sütunlarda farklı harfler arasında istatistiksel yönden fark belirlenmiştir ($p < 0.001$).



Grafik 3.4. İnce bağırsak bölümlerinde verapamil + asetilkolin ve verapamil + *Papaver somniforium* su ekstraktı kasılım cevapları (%). Aynı anatomik bağırsak kısımlarındaki sütunlarda farklı harfler arasında istatistiksel yönden fark belirlenmiştir ($p < 0.001$).

Verapamil uygulaması sonrasında Asetilkolin (10^{-5} M) ve *Papaver somniforium* yaprağı su ekstraktının (1 mg /ml) duodenum, jejunum ve ileumda oluşturduğu kasılımın şiddeti (%) Tablo 3.5 ve Grafik 3.4’de gösterilmiştir. Buna göre asetilkolin ve *Papaver somniforium* su ekstraktının (1mg/ml) her üç dokuda verapamil uygulaması sonrasında oluşturdukları kasılımın şiddetinde azalma olduğu görüldü ($P < 0.001$; Grafik 3.4).

4.TARTIŞMA

Papaver somniferum, çoğunlukla kapsülündeki alkaloidler ile tohumundaki yağı için üretilen bir sanayi tarım ürünü olmasınedeniyle, özellikle kapsülündeki alkoloidler en önemli çalışma alanını oluşturmuştur (Harvest ve ark., 2009; Kumar ve Patra, 2010). Daha önce yapılan araştırmalarda; bu bitkinin tohumu, tohum kapsülü (Furuya ve ark., 1972; Azcan ve ark., 2004; Gümüşçü ve ark., 2008) ile çiçeklerinin kimyasal içeriğine odaklanılmıştır (Gültepe, 2013). Bununla birlikte, *Papaver somniferum*'un taze filizleri aynı zamanda tarımının yapıldığı bölgelerde özellikle salatalara ilave edilerek aroma ve tat amaçlı olarak bölge insanları tarafından yenilmektedir. Tüketilen gıdaların, sindirim kanalından temel yapılarına kadar sindirilmeleri ve barsaktan emilimlerinde barsak motilitesinin önemli etkisi bulunması nedeniyle, ince barsak kasılımlarını artıran ya da azaltan faktörlerin, gerekli besin maddelerinin aşırı ya da yetersiz emilmesine neden olarak beslenme sorunlarına yol açabilmektedir (Bölükbaşı, 1989). Tarımının yapıldığı bölgelerde insan tüketiminde yaygın kullanılan *Papaver somniferum* bitkisinin filizinin mide barsak sisteminde düz kas

kasılımları üzerine etkilerinin ortaya konulduğu bir araştırma günümüze kadar yapılmamıştır. Bu nedenle, araştırmada; filiz halindeki(Rozet I ve II döneminde) *Papaver somniferum*'un farklı çözücüler kullanılarak (etanol, metanol, etil asetat ve su) elde edilen ekstraktlarının içerdiği toplam fenolik madde miktarı ve fenolik maddelerin identifikasyonu ileince bağırsak kasılımları üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu araştırmada, Afyonkarahisar'da normal tarımı yapılan ve rozet döneminde bulunan tüketime uygun *Papaver somniferum* yaprakları dört farklı çözücü kullanılarak (etanol, metanol, etil asetat ve su) ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Çalışmada;*Papaver somniferum* yapraklarında bulunanfenolik maddelerin etkinliğini belirleyebilmek için ekstraksiyonda polar çözücüler kullanılmıştır. Bu amaçla etanol, metanol, etil asetat ve su çözücülerinde ekstraksiyon yapılmıştır. Böylelikle fenoliklerle birlikte ekstrakta elde edilen polar aktif maddelerin etkinliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Bu çalışmada;*Papaver somniferum* filizlerinin etanol, metanol, etil asetat ve su ekstraktlarında fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile tayin edilerek miktarları genel standart olarak kabul edilen gallik asit cinsinden hesaplandı (Singleton ve Rassi, 1965). Toplam fenolik madde miktarının gallik asit eşdeğeri olarak 181,13 – 94,56 aralığında en yüksek etanol de, en düşük ise su ekstraktında bulunduğu belirlendi. Bu bağlamda *Papaver somniferum* filiz ekstraktının fenolik madde içeriği için etanolun daha iyi bir çözücü olduğu tespit edildi. Bu bulgunun, salatalarda kullanılan roka, dereotu, tere gibi yeşilliklerin ekstraksiyonunda solvent olarak suyun kullanılmasının aseton ve etanola göre daha fazla fenolik madde elde edilmesine neden olduğu yönündeki bildirimle (İşbilir ve ark.,2012) ters olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte, çalışmamızda elde edilen bulgunun; *Papaveraceae* ailesinden olan *Papaver rhoeas* L. bitkisinin yapraklarındaki fenolik madde içeriğinin etanol ekstraktında en fazla bulunduğu yönündeki bildirimle (İşbilir ve ark. 2008) uyumlu olduğu gözlemlendi.

Bitkilerde bulunan fenolik maddeler bitkilerin doğal bileşenleridir. Bu maddelerin serbest radikallerini yok ederek ve lipid peroksidasyon oluşturma yeteneğine sahip olan metal iyonlarla şelasyon yaparak antioksidan etki göstermektedir (Moure ve ark., 2001; Lima ve ark., 2006). Buna ilave olarak çeşitli epidemiyolojik çalışmalar sebze ve meyveden zengin ve diğer bitkisel kaynaklı (çay,

salata, meyve şeklinde tüketim) diyetle beslenmenin kanser ve birçok kronik hastalığa karşı koruyuculuk sağladığı, bitkilerin içeriğindeki fenolik bileşiklerin bu etkileri sağlayan ana bileşikler olduğu ifade edilmektedir (Hollman ve ark., 2001; Balasundram ve ark., 2006). Bu nedenlerden dolayı fenolik madde yönünden zengin bitki ve meyveler aroma ve tat yanı sıra tedavi amaçlıda kullanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan *Papaver somniferum* filizinde orta düzeyde fenolik madde içerdiği tespit edildi.

Çalışmada; *Papaver somniferum* filizlerinin organik çözücülerden etanol, metanol ve etilasetat ekstraktlarına karşı, sulu ekstraktının her üç dokuda dakonsantrasyonundaki artışa bağlı olarak kasılımların şiddetini artırdığı, en fazla artışın ise 1 mg/ml dozunda olduğu tespit edildi (Tablo 3.2, 3.3 ve 3.4). Bu bulgunun; *Papaver somniferum* bitkisinin kapsülünden elde edilen alkaloidlerin kas gevşetici etkinliğe sahip olduğu ve özellikle ilaç sanayinde bağırsak spazm çözücü olarak kullanıldığı yönündeki bildirimlere (Brisman ve ark., 2006; Pathak ve ark., 2013) ters olduğu bulundu. Buna karşın, sulu ekstraktının ise kasılımları artırdığı gözlemlendi. Bu bulgunun; çalışmada kullanılan *Papaver somniferum*'un filiz formunda (Rozet) özellikle papaverin alkaloidinin henüz yeterince oluşmaması ya da yeterince solventlere geçmemesinden kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim yapılan çalışmalarda; *Papaver somniferum* bitkisinin henüz köklerinin oluşma döneminde % 0,016-0,018, rozet devresinde ki köklerde %0,14-0,172 ve filiz yapraklarında ise %0,087 düzeyde morfin bulunduğu bildirilmektedir (Sarkany ve Danos, 1957). Bu çalışmada kullanılan bitki filizlerinde alkaloid düzeyleri belirlenmemiş olmasına karşın, sulu ekstraktının barsak düz kaslarında oluşturduğu kasılımlardaki artışın, tüketilen besinlerin ince barsaklardan sindirim ve emilimini etkileyebileceğine işaret etmektedir.

Bu çalışmada; etanol, metanol ve etilasetat ekstraktlarının kasılım üzerine herhangi bir etki oluşturmaması sadece sulu ekstrakta kasılımın meydana gelmesinden dolayı sadece sulu ekstraktın olası kasılım oluşturma mekanizması değerlendirildi. *Papaver somniferum* bitkisinin sulu ekstraktının ince barsak düz kasında meydana getirdiği kasılmanın kolinerjik ya da kalsiyum kanallarına etkisine bağlı olarak şekillenip şekillenmediğini ortaya çıkartmak için, asetil kolin, kolinerjik reseptör blokörü atropin (Bolden ve ark., 1992; Moriya ve ark., 1999) ve kalsiyum

kanal blokörü verapamil kullanıldı(Elferink ve ark., 1984; Baxter ve ark., 1993). Asetilkolinin mide bağırsak sisteminde parasempatik innervasyonun önemli bir nörotransmiteri olup muskarinik reseptörleri uyarak düz kas kasılımına neden olduğu ve sıçanlarda 10^{-5} M dozunun maksimal kasılıma yol açtığı ifade edilmesinden (Moreno ve ark., 2006; Qipshidze ve ark., 2011) dolayı,bu çalışmada, 10^{-5} M asetilkolin kullanılmış ve ortaya çıkan kasılımın düzeyi %100 kasılım olarak kabul edilmiştir.Çalışmada kasılımın şiddetinin 10 dk atropin (10^{-6} M) inkubasyonu sonrası uygulanan *Papaver somniferum*(1 µg/ml) ile ince bağırsağın anatomik kısımlarında değişmekle beraber kasılımın %70 – 97 devam ettiği görülmüştür (Tablo 3.5). Bu bağlamda araştırma bulgu *Papaver somniferum*'un su ekstraktının kastırıcı etkisini muskarinik reseptörler üzerinden göstermediğini düşündürmektedir. Atropinin 10^{-6} M düzeyinin asetilkolinin *in vitro* etkilerini ortadan kaldırdığı bildirilmektedir (Edholm ve ark., 2004;Şlupecka ve ark., 2014). Nitekim bu çalışmada de yaklaşık %90-95 oranında atropin uygulaması sonrasında asetilkolinin etkinliğinin azaldığı görüldü (Grafik 3.3 ve 3.4).

Çalışmada; *Papaver somniferum* bitkisinin filizlerinden elde edilen sulu ekstraktı uygulamasının her üç düz kas kasılımlarındaki en fazla azalmanın verapamil ile uygulananlarda gözlenmesi(Tablo 3.5), söz konusu ekstraktın ince barsak düz kas kasılımı üzerineetkniliğini büyük ölçüde kalsiyum kanalları aracılığı ile gerçekleştirdiğini işaret etmektedir.

5.SONUÇ

Araştırma sonucunda bu çalışmada kullanılan ve halk tarafından tüketilen *Papaver somniferum* filizlerinin fenolik madde miktarının etanol ekstraktında en fazla bulunduğu, bunu sırasıyla metanol ve etil asetat takip ederken en az su ekstraktında olduğu belirlenmiştir. Etanol, metanol, etil asetat ve su ekstraktlarında sırasıyla, en fazla Trans-P-kumarik asit (% 49,14), kafeik asit (% 14,77), Mirisetin (% 39,26) ve kuarsetin (% 12,42) olduğu tespit edilmiştir.

Papaver somniferum filizlerinin etanol ve metanol ekstraktlarının aksine sulu ekstraktının ince barsağın her üç kısmında doza bağımlı olarak kasılımlara yol açtığı maksimal kasılımın ise 1 mg/ml dozunda görüldüğü belirlendi. Bu kastırıcı etkisini muskarinik reseptörler üzerinden göstermediği, verapamil inkubasyonu sonucu kastırıcı etkisi önemli düzeyde azalmasından dolayı, etkisini kalsiyum kanalları üzerinden göstermiş olabileceği kanaatine varılmıştır.

ÖZET

***Papaver somniferum* yaprağı ekstraktının ince barsak kasılımları üzerine etkisinin *in vitro* belirlenmesi**

Bu araştırmada *papaver somniferum*'un (Haşhaş)taze yapraklarının farklı çözücülerdeki ekstraktlarının fenolik madde içeriği ile ince bağırsak (deudenum, jejenum ve ileum) kasılımları üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla Afyonkarahisarda yetiştirilmiş insan tüketimi için kökleri ile sökülmüş haşhaş bitkisinin yenilebilen kısımları kurutularak dört farklı (etanol, metanol, etil asetat ve su) çözücüde ekstrakte edildi. Takibinde liyofilize edilerek fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile fenolik maddelerin tayini ise LC-MS yapıldı.

Kasılım denemeleri için 10 adet Sprague Dawley sıçanın ince bağırsağı kullanıldı. Duedenum, jejunum ve ileum dokusunun orta bölgesinden alınan doku parçaları etrafındaki mezenter ve yağdan dikkatli bir şekilde temizlenerek 0,1--0,3 cm x 0,6 cm boyutlarında şerit şeklinde doku parçaları elde edilmiştir. Hazırlanan bu preparatlar, 37 °C sıcaklıkta ve %95 O₂ - %5 CO₂ gaz karışımı ile sürekli havalandırılan 20 ml krebs çözültisi içerisinde olacak şekilde izole organ banyosunda değerlendirildi. Dokular organ banyosunda dengelendikten sonra ekstraktların 0,001 – 3mg/ml derişimlerdeki etkileri değerlendirildi.

Araştırma sonucunda, çözücünütürüne bağlı olarak *Papaver somniforium* 'unfenolik madde miktarının ve içeriğinin değiştiği, etanol ekstratında en fazla fenolik madde bulunurken su ekstraktında bu düzeyin en az olduğu görüldü. Ayrıca etanol, metanol, etil asetat ve su ekstraktlarında sırasıyla en fazla Trans-P-kumarik asit (% 49,14), Kafeik asit (%14,77), Mirisetin (%39,26) ve Kuarsetin (%12,42) olduğu belirlendi. .

Papaver somniforium 'un etanol, metanol ve etil asetat ekstraktlarının ince bağırsak kasılımları üzerine etkisi bulunmazken su ekstraktının deodenum, jejenum ve ileum dokularında doza bağımlı olarak kastırıcı etki oluşturduğu görülmüştür. *Papaver somniforium* ekstraktının 1 mg/ml düzeyinde en yüksek kasılıma neden olduğu atropine inkubasyonunun oluşan maksimal kasılım üzerine etkisi bulunmazken, verapamil önemli oranda azaltmıştır.

Sonuç olarak, ülkemizde taze olarak tüketilen *papaver somniforium* 'un su ekstraktının dozuna bağımlı olarak ince bağırsak üzerinde kastırıcı etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu etkisini muskaranik reseptörler aracılığıyla göstermeyip olası kalsiyum kanalları üzerinden oluşturduğu kanaatine varılmıştır.

SUMMARY

***In vitro* determination of the effect of extract of *Papaver somniferum* on intestinal contractility**

In this study, it was aimed to determine the effect of different solvent extracts of *papaver somniferum* (poppy) fresh leaves on the content of phenolic substances and small intestine (duodenum, jejunum and ileum) contractions.

For this purpose, poppy seeds grown for human consumption were taken out of soil with their roots and their eatable parts were dried and extracted in four different solvents (ethanol, methanol, ethyl acetate and water). They were then lyophilized and Folin-Ciocalteu reactivity (FCR) was used for amount of phenolic substance whereas LC-MS was used for the assessment of phenolic substances.

Small intestines of 10 Sprague Dawley rats were used for contraction experiments. The tissue parts obtained from the mid region of the duodenum, jejunum and ileum were carefully cleaned from the surrounding mesentery and fat to obtain a strip-like tissue piece of 0.1--0.3 cm x 0.6 cm size. The preparations were assessed in isolated organ bath in a 20 ml Krebs solution that was constantly aerated with 95% O₂ - 5% CO₂ gas mixture at 37 oC temperature. Once the tissues were stabilized in the organ bath, the effects of extracts at 0.001 - 3 mg/mL concentrations were assessed.

As a result of research, it was observed that the amount and content of phenolic substance in *Papaver somniferum* changed depending on the type of the solvent and that, while the maximum amount of phenolic substance was available in ethanol extract the minimum amount was available in the water extract. In addition, ethanol, methanol, ethyl acetate and water extracts were found to include Trans-P-coumaric acid, caffeic acid, myricetin and quercetin the most, respectively.

While ethanol, methanol and ethyl acetate extracts of *Papaver somniferum* were found to have no effect on small intestine contractions, water extract was observed to have a contracting effect on the duodenum, jejunum and ilium tissues depending on dosage. *Papaver somniferum* extract had the highest effect on maximal contraction at a level of 1 mg/ml. While atropine incubation did not prevent the contraction, verapamil significantly reduced it.

As a result, it has been found that, *papaver somniferum*, freshly consumed in our country, has a dose-dependent contracting effect on the small intestines. It was concluded that, it did not show this effect through muscarinic receptors but through the potential calcium channels.

Kaynaklar

1. ABRAHAM, L., KIERSZENBAUM, A. (2006). Histoloji ve hücre biyolojisi, patolojiye giriş. Çev. Ed: DEMİR, R., Palme Dizgi Grafik ve Tasarım Birimi, Ankara.
2. AGARWAL, R., KHARYA, M.D., SHRIVASTAVA, R. (1979). Pharmacological studies of essential oil and un saponifiable matter of seeds of *Nigella sativa*. Indian J Pharm Sci, 41:248. Abst. C1.
3. ALACA, F. (2015). Farklı haşhaş tiplerinde alkaloidler yönünden morfolojik ve ontogenetik varyabilite. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
4. ALESSI, D., MACDOUGALL, L.K., SOLA, M.M., IKEBE, M., COHEN, P. (1992). The control of protein phosphatase-1 by targeting subunits: the major myosin phosphatase in avian smooth muscle is a novel form of protein phosphatase-1. Eur J Biochem., 210: 1023-1035.

5. AQEL, M.B. (1993). Effect of *Nigella sativa* seeds on intestinal smooth muscles. *Int J Pharmacog*, 31: 55-60.
6. ARSLAN, Y., KATAR, D., KAYAÇETİN, F., SUBAŞI, I. (2008). Afyon (*Opium*) alkaloidleri ve önemi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 17 (1-2).
7. AZCAN, N., KALENDER, B.O., KARA, M. (2004). Investigation of *Turkish poppy* seeds and seed oils. *Chem Nat Compd*. 40: 282-288.
8. BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., SAMMAN, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99 (1): 191-203.
9. BAXTER, G.M., JACKMAN, B.R., EADES, S.C., TYLER, D.E. (1993). "Failure of Calcium Channel Blockade to Prevent Intra-abdominal Adhesions in Ponies". *Veterinary Surgery*. 22 (6): 496-500.
10. BERNE, R.M., LEVY, M.N., KOEPPEN, B.M., STANTON, B.A. (2008). *Physiology*. Türk Fizyoloji Bilimler D. Fizyoloji. 5. Baskı, Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara. 537-595.
11. BHAT, B.G., CHANDRASEKHARA, N. (1987). Effect of *Black pepper* and piperine on bile secretion and composition in rats. *Nahrung*, 31: 913-916.
12. BHAT, B.G., SRINIVASAN, M.R., CHANDRASEKHARA, N. (1984). Influence of curcumin and capsaicin on the composition and secretion of bile in rats. *J Food Sci Tech.*, 21: 225-227.
13. BİTAR, K.N., GİLMONT, R.R., RAGHAVAN, S., SOMARA, S. (2012). Cellular Physiology of Gastrointestinal Smooth Muscle. In: JOHNSON, L.R. Editors. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. 5rd Ed. New York. Elsevier. 489-509.
14. BOEING, J. S., BARIZAO, E. O., E SILVA, B. C., MONTANHER, P. F., DE CINQUE ALMEIDA, V., VISENTAINER, J. V. (2014). Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis. *Chemistry Central Journal*, 8:48. <http://doi.org/10.1186/s13065-014-0048-1>
15. BOLDEN, C., CUSACK, B., RICHESON, E. (1992). "Antagonism by antimuscarinic and neuroleptic compounds at

- thefiveclonedhumanmuscariniccholinergicreceptorsexpressed in Chinesehamsterovarycells". J. Pharmacol. Exp. Ther. 260 (2): 576–80.
16. BÖLÜKBAŞI, M.F. (1989). Fizyoloji ders kitabı (Vücut ısısı ve sindirim) Ankara Üniversitesi Basımevi.
17. BRISMAN, J.L., ESKRIDGE, J.M., NEWELL, D.W. (2006). Neurointerventionaltreatment of vasospasm. *NeuroRes* 28: 769-776.
18. BÜLBÜL, T., ÖZDEMİR, V., ULUTAŞ, E., BÜLBÜL, A. (2018). Broyler Tavuklarda Mersin, Biberiye ve Kekik Esansiyel Yağlarının Bağırsak Motilitesi Üzerine Etkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 11: 394-401
19. CARLOS, L.C., CARNEIRO, J. (2006). Temel Histoloji. Çev. Ed: AYTEKİN, Y., SOLAKOĞLU, S. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.
20. CHARLES, F., CAMİLLERİ, M., PHİLLİPS, S.F., THOMFORDE, G.M., FORSTROM, L.A. (1995). Scintigraphy of the whole gut: clinical evaluation of transit disorders. *Mayo Clin Proc.* 70(2): 113-8.
21. CLINTON, R.W. (2003). Smooth muscle contraction and relaxation. *Advan in Physiol Edu*: 201-206.
22. ÇOLAK, F. (2013). Anadolu'da Afyon Ziraatı ve Ticaretine Dair İzlenimler. *Journal of Academic Social Science Studies*, 6(1): 513 – 529.
23. DARAKCI, Ö. (2016). Speksinin Sıçan İnce Bağırsak Motilitesi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
24. DAVIS, P.H., MILL, R.R., TAN, K. (1988). *Papaver L.* Flora of Turkey and East Aegean Islands Univ. Pres. Edinburg.
25. DEGEN, L. P., PHİLLİPS, S. F. (1996). Variability of gastrointestinal transit in healthy women and men. *Gut* 39: 299.
26. DI CARLO, G.I., AUTORE, G., IZZO, A.A., MAİOLİNO, P., MASCOLO, N., VIOLA, P., DİURNO, M.V., CAPASSO, F. (1993). Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationships. *J Pharm Pharmacol*, 45: 1054-1059.
27. DUNNICLIFF, H.B. (1937). Chemistry of *Indian opium*. *Nature*, 140, Pages 92–93

28. EDHOLM, T., LEVİN, F., HELLSTROM, P.M., SCHMİDT, P.T. (2004). Ghrelin stimulates motility in the small intestine of rats through intrinsic cholinergic neurons. *Regul Pept.* 121:25-30.
29. EHLERT, F.J., SAWYER, G.W., ESQUEDA, E.E. (1999). Contractile role of M2 and M3 muscarinic receptors in gastrointestinal muscle. *Life Sci.* 64 (6-7): 387-394.
30. ELFERİNKJAN, G. R., DEİERKAUF, M. (1984). "The effect of verapamil and other calcium antagonists on chemotaxis of polymorphonuclear leukocytes". *Biochemical Pharmacology.* 33(1): 35–39.
31. ERDURMUŞ, A., ÖNEŞ, Y. (1990). Haşhaş TMO. Alkasan Yayınları, Ankara, 1-24
32. FACCHINI, P.J., HAGEL, M., LISCOMBE, K., LOUKANINA, N., MACLEOD, P., SAMANANI, N., ZULAK, K.G. (2007). *Opium poppy: Blueprint for an alkaloid factory.* *Phyto Chem Rev.* 6:97-124.
33. FURUYA, T., IKUTA, A., SYONO, K. (1972). Alkaloids from callus tissue of *Papaver somniferum*. *Phytochemistry*, 11:3041-3044
34. GANONG, W.F. (1996). *Ganong Tıbbi Fizyoloji* (17th ed). Barış Kitabevi, İstanbul.
35. GHADER, J.A., MASSOUD, M., BAHRAM, D.N., FARSHAD, K. (2012). Effects of mentha longifolia essential oil on ruminal and abomasal longitudinal smooth muscle in sheep. *J Essent Oil Res.* 24: 61-69
36. GIRALDO, E., MONFERINI, E., LADINSKY, M., HAMMER, R. (1987). Muscarinic receptor heterogeneity in kobay intestinal smooth muscle: binding studies with AFDX 116. *Eur. J. Pharmacol.*, 141: 475-477.
37. GIRALDO, E., VIGANO, M.A., HAMMER, R., LADINSKY, H. (1988). Characterization of muscarinic receptors in kobay ileum longitudinal smooth muscle. *Mol. Pharmacol.* 33: 617-625.
38. GUYTON, A.C., HALL, J.E. (1996). *Textbook of medical physiology* (9th ed) Philadelphia, PA; WB. Saunders Company.

39. GÜLTEPE, A. (2013). *Papaver somniferum L.* çiçeklerinin esansiyel yağ içeriği, antimikrobiyal ve antifungal özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
40. GÜMÜŞÇÜ, A., ARSLAN, N., SARIHAN, E.O. (2008). Evaluation of selected poppy (*Papaver somniferum L.*) lines by their morphine and other alkaloid content. *Eur Food Res Technol*, 226: 1213-1220.
41. HARVEST, T., BROWN, P.H., FIST, A., GRACIE, A., GREGORY, D., OUTOULIS, A. (2009). The latex capacity of opium poppy capsules is fixed early in capsule development and is not a major determinant in morphine yield. *Ann. Appl. Biol.* 154:251- 258.
42. HATEMİ, A.İ., DOBRUCALI, A. (2005). İnce bağırsak fizyolojisi ve motilite bozuklukları. *Türkiye Klinikleri. J Surg Med Sci*, 1: 3-11.
43. HEIMLER, D., ISOLANI, L., VIGNOLINI, P., TOMBELLI, S., ROMANI, A. (2007). Polyphenol content and antioxidant activity in some species of freshly consumed salads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 1724-1729.
44. HERNANDEZ, F., MADRID, J., GARCIA, V., ORENCO, J., MEGIAS, M.D. (2004). Influence of two plant extracts on broiler performance, digestibility and digestive organ size. *Poult Sci.*, 83:169-74.
45. HOLLMAN, P.C.H. (2001). Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 81 (9): 842-852.
46. HOSZTAFI, S. (1998). Chemical structures of alkaloids. *Chemistry-biochemistry of poppy*. Chapter: 3. Amsterdam, Netherlands. 93-158.
47. İŞBİLİR, S.S. (2008). Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
48. İŞBİLİR, S.S., SAĞIROĞLU, A. (2012). An Assessment of in vitro Antioxidant Activities of Different Extracts from *Papaver rhoeas L.* Leaves. *International Journal of Food Properties*. 15(6): 1300-1308.
49. KAPOOR, L. D. (1997). *Opium Poppy: Botany, Chemistry and Pharmacology*. Food Products Press. New York. 19.

50. KAPUTLU, İ. (1996). Gastrointestinal sistemde non-adrenerjiknon-kolinerjiknörotransmisyonunda nitrik oksitinmediatör rolü. Türkiye Klinikleri J MedSci. 16: 338-42.
51. KARADAĞ, F. (2013). Farklı dozlarda selenyum uygulamalarının haşhaş (*Papaversomniferum L.*) yapraklarında antioksidan enzimler üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
52. KARAKİ, H., SATO, K., OZAKİ, H. (1991). Differenteffects of verapamil on cytosolic Ca^{2+} andcontraction in norepinephrine-stimulatedvascularsmoothmuscle. Jpn J Pharmacol. 55: 35–42.
53. KAYA, S., PİRİNÇCİ, C. (1997). Veteriner uygulamalı farmakoloji. Medisan Yayınları, Ankara.
54. KAYAALP, S.O. (2002). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. (10ed) Hacettepe-Taş, Ankara.
55. KİECHLE, F.L., MALINSKI, T. (1993). Nitricoxidebiochemistry, pathophysiologyanddetection. Clin.Chem. 100: 567-75.
56. KREYDIYYEH, S.I., USTA J., COPTI, R. (2000). Effect of cinnamon, cloveandsome of theirconstituents on the Na^{+} - K^{+} -ATPaseactivityandalanineabsorption in theratjejunum. FoodChem. Toxicol.38: 755-762.
57. KUMAR, B., PATRA, N.K. (2010). Genetic Analysis of CapsuleandItsAssociatedEconomicTraits in OpiumPoppy (*Papaver somniferum L.*). Journal of Heredity, 101: 657-660.
58. KUSMENOĞLU, S.,AKAY, Z., SENER, B. (2002). Fattyacidcomposition in theseedoils of *Papaver somniferum*fromdifferentprovinces. FABAD J of Pharm Sci. 27, 13-18.
59. KÜÇÜK, Y.N. (1996). Türkiye'nin çeşitli yörelerinde yetiştirilen haşhaş bitkilerinde alkaloidlerinesktraksiyonu ve ekstraksiyonların susuz fen ortamlarda özelliklerinin incelenmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
60. LAL, R.K., SHARMA, J.T.(1991). Genetics of Alkaloids in *Papaver somniferum*. Planta Med; 57(3): 271-274DOI: 10.1055/s-2006-960088

61. LEONHARDT, V., LEAL-CARDOSO, J.H., LAHLOU, S., ALBUQUERQUE, A.A., PORTO, R.S., CELEDÔNIO, N.R., OLIVEIRA, A.C., PEREIRA, R.F., SILVA, L.P., GARCIA-TEÓFILO, T.M., SILVA, A.P., MAGALHÃES, J., DUARTE, G.P., COELHO-DE-SOUZA, A.N. (2010). Antispasmodic effects of essential oil of *Pterodon polygalaeiflorus* and its main constituent β -caryophyllene on rat isolated ileum. *Fundam Clin Pharmacol.*, 24: 749-58
62. LIMA, C.F., FERNANDES-FERREIRA, M., PEREIRA-WILSON, C. (2006). Phenolic compounds protect HepG2 cells from oxidative damage: relevance of glutathione levels. *Life Sciences*, 79 (21): 2056-2068.
63. MARIEB, E. N., HOEHN, K. (2004) *Human anatomy and physiology* . (7th ed) Pearson Education Inc. San Francisco. USA.
64. MATA, A.T., PROENÇA, C., FERREIRA, A.R., SERRALHEIRO, M.L.M., OGUEIRA, J.M.F., ARAUJO, M.E.M., (2007). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chemistry*, 103: 778-786.
65. MORENO, L., PEREZ-VIZCAÍNO, F., MACKENZIE, L., FARO, R., STURTON, G., BARNES, P., MITCHELL, J. (2006). Pharmacology of airways and vessels in lung slices in situ: Role of endogenous dilator hormones. *Respiratory Research*. 7. 111. 10.1186/1465-9921-7-111.
66. MORIYA, H., TAKAGI, Y., NAKANISHI, T., HAYASHI, M., TANI, T., HIROTSU, I. (1999). "Affinity profiles of various muscarinic antagonists for cloned human muscarinic acetylcholine receptor (mAChR) subtypes and mAChRs in rat heart and submandibular gland". *Life Sci*. 64 (25): 2351-8.
67. MOURE, A., CRUZ, J.M., FRANCO, D., DOMÍN GUEZ, J.M., SINEIRO, J., DOMÍN GUEZ, H., NÚÑEZ, M.J., PARAJÓ, J.C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72 (2): 145-171.
68. MURTHY, K.S. (2006). Signaling for contraction and relaxation in smooth muscle of the gut. *Annu Rev Physiol*. 68:345-74.
69. NOYAN, A., (2004) *Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji* (15th ed) Metaksan Yayıncılık, Ankara.

70. ÖNMEZ, H. (2007). *Papaver somniferum* bitkisinden elde edilen alkaloidlerin ekstraksiyonunda kullanılan çözücü ve metodların karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Kimya Anabilim Dalı.
71. PATHAK, S., LAKHWANI, D., GUPTA, P., MISHRA, B. (2013). Comparative transcriptome Analysis Using High Papaverine Mutant of *Papaver somniferum* Reveals Pathway and uncharacterized steps of Papaverine Biosynthesis. PLOS ONE 8(5):e65622.
72. PRADEEP, K.U., GEERVANI, P. (1994). Influence of spices on protein utilization of wingedbean (*Psophocarpustetragonolobus*) and horse gram (*Dolichosbiflorus*). Plant Food Hum Nutr.,46: 187-193.
73. PRADEEP, K.U., GEERVANI, P., EGGUM, B.O. (1991). Influence of spices on utilization of sorghum and chickpea protein. Plant Food Hum. Nutr.,41: 269-276.
74. QÏPŞİDZE, N., METREVELİ, N., LOMİNADZE, D., TYAGİ, S.C. (2011). Folic acid improves acetylcholine-induced vasoconstriction of coronary vessels isolated from hyperhomocysteinemic mice: an implication to coronary vasospasm. J. Cell Physiol. Oct;226(10):2712-20.
75. RAHIMI, A., ARSLAN, N., REZAEİEH, K.A.P., GURBUZ, B. (2015). Variation in Fatty Acid Composition of Four Turkish Registered Poppy (*Papaver somniferum L.*) Seeds in two Locations (Ankara and Boldavin) of Turkey. European Online Journal of Natural and Social Sciences. Vol.4, No.1 pp. 183-190
76. REECE, W.O. (2008). Dukes Veteriner Fizyoloji (12nd ed). Medipres Yayıncılık. Malatya.
77. REITER, M., BRANDT, W. (1985). Relaxant effects on tracheal and ileal smooth muscles of the guinea-pig. Arzneimittelforschung, 35: 408-414.
78. SADRAEI, H., GHANNADI, A., MALEKSHAHI, K. (2003). Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions. Fitoterapia, 74: 445- 452
79. SAMBAIAH, K., SRINIVASAN, K. (1991). Secretion and composition of bile in rats fed diets containing spices. J Food Sci Tech. 28: 35-38.

80. SANTOS-FAGUNDES, D., GRASA, L., GONZALO, S., VALERO, M.S., CASTRO, M., ARRUEBO, M.P., PLAZA, M.A., DIVINA-MURILLO, M. (2015). Different mechanisms of actions of genistein, quercetin on spontaneous contractions of rabbit duodenum. *RevEspEnferm Dig.* 107: 413-416.
81. SARKANY, S., DANOS, B. (1957). *Acta bot. AcadSciHung.*, 3: 293
82. SEÇMEN, Ö., GEMİCİ, Y., GÖRK, G., BEKAT, L., LEBLEBİCİ, E. (1995). *Tohumlu Bitkiler Sistematigi*. 4. baskı. Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi Ders Kitapları Serisi, No: 116.
83. SEVİMLİ, S. (2010). 17 β Östradiol Uygulanmış Overiektomize Sıçanlarda İnce Bağırsak Kasılımları Üzerine Nitrik Oksit Etkisinin Belirlenmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi.
84. SHUKLA, S., SINGH, S.P. (2001). Alkaloid Profile in Relation to Different Developmental Stages of *Papaver somniferum L.* *Phyton (Horn, Austria)* 41, 87-91
85. SINGLETON, V.L., ROSSI, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Oenology and Viticulture*, 16: 144-158.
86. SŁUPECKA, M., PIĘRZYŃSKI, S.G., KUWAHARA, A., KATO, I., WOLIŃSKI, J. (2014). Age-dependent effect of obestatin on intestinal contractility in Wistar rats. *Gen Comp Endocrinol.* 208:109-15.
87. SUDDEK, G.M. (2010). Thymoquinone-induced relaxation of isolated rat pulmonary artery. *J Ethnopharmacol.* 127:210-214.
88. TAKEUCHI, T., TANAKA, K., NAKAJIMA, H., MATSUI, M., AZUMA, Y.T. (2007). M2 and M3 muscarinic receptors are involved in enteric nerve-mediated contraction of the mouse ileum: Findings obtained with muscarinic receptor knockout mouse. *Am J Physiol – Gastrointest Liver Physiol.* 292: G154–G164.
89. TANKER, N., KOYUNCU, M., COŞKUN, M. (2007). *Farmasötik Botanik II (III. Baskı)*. Ankara Üniv. Ecz. Fak. Yay. No:93, 397s.
90. TAŞLIGİL, N., ŞAHİN, G. (2018). Tarihsel süreçte haşhaş (*Papaver somniferum L.*) ve Afyon Journal of History School (JOHS). 11, 163-196.

91. TAWAHA, K., ALALI, FQ., GHARAIBEH, M., MOHAMMAD, M., EL-ELIMAT T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic of selected Jordanian plant species. Food Chemistry, 104: 1372-1378.
92. TOPRAK MAHSULLERİ OFİSİ (2018). Toprak Mahsulleri Ofisi Genel Müdürlüğü 2017 Yılı Haşhaş Sektör Raporu www.tmo.gov.tr/Upload/Document/hashassektorraporu2017.pdf
93. YALÇIN, N., BÜLBÜL, A. (2019). Çörek Otu (*Nigella sativa L.*) Esansiyel Yağının Ratlarda Bağırsak Kasılımları Üzerine Etkisi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı : Ömer YALINKILIÇ
Doğum Tarihi ve Yeri : 20/10/1977 - Malatya
Medeni Hali : Evli
E-Posta Adresi : omer77@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

1991-1994 : Malatya Lisesi

1995-199 : Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü

2005-2007 : Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
. Yüksek Lisans

İŐ DENEYİMİ

2000-..... : Milli Eğitim Bakanlığı/Kimya Öğretmeni