

Merkaptobenzimidazol Türevi Bir Maddenin Santral Etki Mekanizmasının Araştırılması

INVESTIGATION OF THE CENTRAL EFFECT MECHANISM OF A SUBSTANCE DERIVED FROM MERCAPTOBENZIMIDASOLE

Hakani SABİROĞLU RAHİMOV*, Mehmet KARA**

* Prof.Dr.,Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD,

** Yrd.Doç.Dr.,Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, VAN

Özet

Bu çalışmada, BALB/C ırkı ve ırkı belirsiz farelerde, merkaptobenzimidazol türevi 5-Etoksi-2-[2-(Morfolino)-Etiltio]-Benzimidazol'un Korazol, Arekolin, Tiyosemikarbazid, Striknin, 5-Oksitriptofan (5-OTF) ve Bikukulin ile etkileşimi incelenmiştir. Araştırılan madde Korazol, Arekolin, Tiyosemikarbazid, Striknin ve 5-OTF'in etkilerini değiştirmemiş, ancak Bikukulinin etkisini istatistiksel açıdan önemli oranda potansiyalize etmiştir. Bu sonuç, araştırılan maddenin etki mekanizmasında GABA reseptörlerinin rolünün olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Merkaptobenzimidazol, Anksiyolitik etki, GABA

T Klin Tıp Bilimleri 1998, 18:109-113

Summary

In this study, the antagonism of 5-Ethoxy-2-[2-(Morpholino)-Ethyltio]-Benzimidazole from mercaptobenzimidazole with Korazol, Arekolin, Tiyosemikarbazid, Striknin, 5-Oksitriptofan (5-OTF) and Bikukulin was investigated. This substance didn't change the effects of Korazol, Arekolin, Tiyosemikarbazid, Striknin and 5-Oksitriptofan, but significantly potentate the effect of Bikukulin. This result shows that there is a role of GABA receptors in mechanism of effect of this derived substance.

Key Words: Mercaptobenzimidazole, Anxiolytic effect, GABA

T Klin J Med Sci 1998, 18:109-113

Günümüz insan hayatında emosyonel-stres reaksiyonları önemli bir yer tutmaktadır. Bunlar çok yaygın olarak kalp-damar, psikiyatrik ve onkolojik hastalıklara zemin hazırlamaktadır (1-3). Emosyonel-stres reaksiyonlarının bazı hayvanlarda kromozom bozukluklarına sebep olduğu deneysel olarak gösterilmiştir (2,4). Psikiyatrik hastalıklarda, heyecan ve nevroz gibi durumlara 1/3 oranında rastlanırken, kalp-damar hastalıklarında ise bu durum diğer hastalıklardan 2-5 kat daha siktir (2-4). Emosyonel-stres reaksiyonları kişinin çalışma kabiliyetini azalttığından, verimini de düşürmektedir. Bu da sosyo-ekonomik ve askeri yönden önemli kayıplara sebep olmaktadır. Dolayısı ile emosyonel-stres reaksiyonlarının tedavisi günümüzde çok önem taşımaktadır.

Geliş Tarihi: 07.03.1997

Yazışma Adresi: Dr.Hakani SABİROĞLU RAHİMOV
Tıp Fakültesi Hastanesi
Maraş Cad., 65300 VAN

T Klin J Med Sci 1998, 18

Psikoemosyonel durumların profilaksi ve tedavisi, trankilizanların bir grubu olan benzodiazepinler ile yapılmaktadır (3,5,6). Ancak bu ilaçlar çok iyi sonuçlar vermelerinin yanında miyorelaksasyon, disartri, amnezi, ataksi ve bağımlılık gibi bir takım yan etkilere de neden olmaktadır(2-6). Bu nedenle, güçlü ve yan etkileri daha az ilaçların geliştirilmesi gerekmektedir.

Benzimidazol bileşikleri çok sayıda doğal maddelerin (enzim, nükleik asit, alkaloid) yapısına girdiği için, bu bileşikler üzerine bütün dünyada çok sayıda araştırma yapılmıştır (7-10). Bununla ilgili olarak benzimidazol türevi bileşiklerin kimyası hızlı bir şekilde gelişme göstermiştir. Yapılan araştırmalar neticesinde bu bileşiklerin, antidepresif, analjezik, antihistaminik, trankilizan, antifungal, psikotrop, nöroleptik, antimikrobiyal, antitanser ve antiaritmik etkileri olduğu gösterilmiştir (7-14). Bazı araştırmacılar benzimidazol bileşiklerinin antihipoksik etkiye sahip olduklarını ve vücudun akut oksijen azlığı durumunda oksijen

oranını yükselttiğini belirlemişlerdir (15,16). Hatta bir merkaptobenzimidazol bileşiği olan bemitil, tıpta bir ilaç olarak kullanılmaktadır (17). Daha önce yaptığımız bir çalışmada bu maddenin selektif anksiyolitik etkisi olduğu "Açık saha", "Haç şekilli labirent", "Konflikt durum" "Spontan hareket aktivitesi" ve diğer farmakogenetik testlerle saptanmıştır (14,18). Bu çalışmanın amacı ise, merkaptobenzimidazol türevi olan 5-Etoksi-2-[2-(Morfolino)-Etiltio]-Benzimidazol'un santral etki mekanizmasını araştırmaktır.

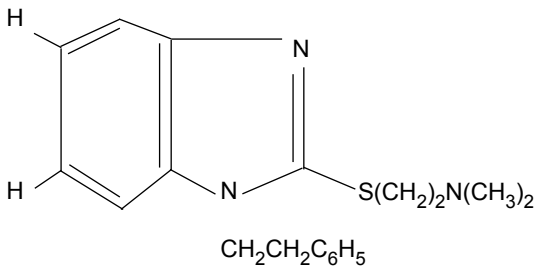
Materyel ve Metod

Bu çalışmada merkaptobenzimidazol türevi 5-Etoksi-2-[2-(Morfolino)-Etiltio]-Benzimidazol'un (Şekil 1) santral etki mekanizmasını araştırmak için, ağırlığı 18-24 gram olan 45 adet BALB/C ırkı ve 338 adet ırkı belirsiz beyaz fare kullanılmıştır.

Merkaptobenzimidazol türevi 5-Etoksi-2-[2-(Morfolino)-Etiltio]-Benzimidazol trankilizanların benzodiazepin grubundan olmadığı için, bu maddenin etki mekanizmasının araştırılmasında farklı nörofarmakolojik testler kullanılmıştır.

Araştırılan madde test edilen bütün kimyasal maddelerden 30 dakika önce periton içine uygulanmıştır.

1.Korazol testi: Bu test araştırılan maddenin antikonvulsan etkisini ortaya koymak için çok yaygın şekilde kullanılmaktadır. Korazol ve buna benzer maddeler (Metrazol v.b.) GABA-benzodiazepin kompleksini bloke ederek stimulan etki oluştururlar (19-21). Korazol 140 mg/kg dozda cilt altına enjekte edildiğinde, kontrol hayvanların % 97-100'ünde tonik ve klonik konvülsiyon oluşur ve 5-10 dakika içinde ölümle sonuçlanır (19). Araştırılan maddenin Korazol'un etkisini azaltıcı



Şekil 1. Merkaptobenzimidazol türevi 5-Etoksi-2-[2-(Morfolino)-Etiltio]-Benzimidazol'un kimyasal formülü

etkisi varsa, letal sonuç vermeyen çok kısa süreli (5 san) ve zayıf klonik kasılmalar görülür.

2.Striknin testi: Striknin nitrat 2.5 mg/kg dozda cilt altına uygulandığında, kontrol hayvanlarında kasılma ve kısa sürede %100 ölüm oluşur. Striknin santral sinir sisteminin (SSS)'nin inhibitör mediyatörü olan glisin ile etkileşir. Araştırılan madde Striknin konvülsiyonlarını inhibe edebiliyorsa, hayvanlar 1 saat kadar yaşayabilirler (19).

3.Bikukulin testi: Bikukulin GABA reseptörlerinin blokörü olup, cilt altına 4 mg/kg dozda uygulandığında, kontrol hayvanlarda tonik-klonik kasılmalar olur ve ölümle sonuçlanır. Araştırılan maddenin Bikukulin ile etkileşimi varsa, bu parametreler değişir (19).

4.Arekolin testi: Arekolin (cilt altına 25 mg/kg) kolinomimetik etkiye sahip olup, kontrol hayvanlarda hiperkinezi ve tremor görülür. Araştırılan madde Arekolin'in etkisini azaltıyor ise, hiperkinezi ve tremorun şiddet ve süresi azalır (19).

5.Başın 5-OTF ile oynaması (head twitches) testi: Bu test araştırılan maddenin merkezi serotoninerjik sisteme etkisini incelemek için yapılır. 300 mg/kg dozda 5-OTF uygulama sonrası 10, 20, 40 ve 60'ncü dakikalarda hayvanın başını oynatması (her seferinde bir dakika olmak üzere toplam dört dakika) sayılır. Araştırılan maddenin baş oynatmasına etkisi istatistik olarak değerlendirilir (22).

6.Tiyosemikarbazid testi: Tiyosemikarbazid (TSK) GABA sentezinde rol oynayan glutamat-dekarboksilaz'ı inhibe eder ve sonuçta GABA düzeyi azalır. Bu ise tonik- klonik kasılmalara neden olur. TSK cilt altına 18 mg/kg dozda uygulandığında kasılmalar olur ve ölümle sonuçlanır. Daha sonra araştırılan maddenin TSK'nın oluşturduğu bu duruma etkisi incelenir (19).

Fareler üzerinde bu testlerin her biri yapılmış ve alınan sonuçlar Student-t testi ile değerlendirilmiştir (23).

Bulgular

Korazol ile etkileşimi araştırılan bu maddenin konvülsif nöbetlerin başlaması için geçen süreyi ve ölüm oranını değiştirmediği ortaya çıktı. Bu sonuç her iki tip farelerde de benzer idi (Tablo 1, 2).

Tablo 1. BALB/C ırkı farelerde, araştırılan maddenin Korazol ile oluşturulan konvülsif nöbetler üzerine olan etkisi (Ort. \pm SD).

Doz (mg/kg)	Hayvan sayısı (n)	Latent devre (dakika)	Yaşam süresi (dakika)	Ölüm oranı
Kontrol	9	1.5 \pm 0.1	7.3 \pm 1.2	9/9
0.5	9	1.5 \pm 0.4	6.8 \pm 0.9	9/9
1.0	9	1.7 \pm 0.5	9.3 \pm 1.2	9/9
5.0	9	1.9 \pm 0.8	5.6 \pm 1.3	9/9
10.0	9	1.7 \pm 0.3	8.3 \pm 1.7	9/9

Tablo 2. Irkı belirsiz farelerde, araştırılan maddenin Korazol ile oluşturulan konvülsif nöbetler üzerine olan etkisi (Ort. \pm SD).

Doz (mg/kg)	Hayvan sayısı (n)	Latent devre (dakika)	Yaşam süresi (dakika)	Ölüm oranı
Kontrol	9	1.9 \pm 0.1	5.5 \pm 0.5	9/9
1.0	9	1.9 \pm 0.2	6.1 \pm 0.6	9/9
5.0	9	2.1 \pm 0.3	5.7 \pm 0.9	9/9
10.0	9	2.1 \pm 0.1	4.7 \pm 0.7	9/9

Tiyosemikarbazid ile etkileşimi araştırılan maddenin 0.1-10.0 mg/kg dozlarda etkisiz olduğu gözlemlendi (Tablo 3).

GABA reseptörlerinin blokörü Bikukulin ile yapılan testte, araştırılan madde 0.01, 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/kg dozlarda latent süreyi ve hayvanların yaşam süresini kısaltmıştır. Ancak 5.0 ve 10.0 mg/kg dozlarda bu etki gözlenmemiştir (Tablo 4). Araştırılan maddenin Bikukulinin etkisini potan-

siye etmesi nedeni ile, bu maddenin etki mekanizmasında GABA reseptörlerinin rolü olduğu söylenebilir.

5-OTF ile etkileşimi araştırılan maddenin, başın oynatılması davranışında 5-OTF'nın etkisini güçlendirmedığı anlaşıldı (Tablo 5).

Arekolin ile oluşturulan tremorlar üzerine bu maddenin 1.0, 5.0 ve 10.0 mg/kg dozlarda etkisi olmadığı gözlemlendi (Tablo 6)

Tablo 3. Irkı belirsiz farelerde, araştırılan maddenin Tiyosemikarbazid ile antagonistliği (Ort. \pm SD).

Doz (mg/kg)	Hayvan sayısı (n)	Latent devre (dakika)	Yaşam süresi (dakika)	Ölüm oranı
Kontrol	17	599 \pm 33	698 \pm 46	17/17
0.1	8	519 \pm 26	645 \pm 69	8/8
1.0	8	530 \pm 26	674 \pm 67	8/8
5.0	15	682 \pm 76	763 \pm 70	15/15
10.0	9	706 \pm 24	754 \pm 36	9/9

Tablo 4. Irkı belirsiz farelerde, araştırılan maddenin Bikukulin konvülsiyonlarına karşı prokonvülsan etkisi (Ort. \pm SD).

Doz (mg/kg)	Hayvan sayısı (n)	Latent devre (dakika)	Yaşam süresi (dakika)	Ölüm oranı
Kontrol	33	3.5 \pm 0.4	5.7 \pm 0.7	33/33
0.01	11	2.4 \pm 0.3*	3.6 \pm 0.3**	11/11
0.1	8	2.2 \pm 0.3*	3.7 \pm 0.7*	8/8
0.5	8	2.1 \pm 0.2**	3.2 \pm 0.3**	8/8
1.0	20	2.3 \pm 0.3*	3.2 \pm 0.3**	20/20
5.0	9	3.6 \pm 0.5	5.1 \pm 0.6	9/9
10.0	9	3.7 \pm 0.5	5.5 \pm 0.9	9/9

* : p<0.05 ** : p<0.01

Tablo 5. Irkı belirsiz farelerde, araştırılan maddenin 5-OTF ile oluşturulan davranışsal parametre üzerine olan etkisi (Ort. \pm SD).

Doz (mg/kg)	Hayvan sayısı (n)	Kafa oynatılması (sayı / 4 dakika)
Kontrol	9	31.4 \pm 13.3
1.0	8	37.3 \pm 13.5
5.0	8	35.4 \pm 10.8
10.0	8	25.2 \pm 7.8

Tablo 6. Irkı belirsiz farelerde, araştırılan maddenin Arekolin ile oluşturulan davranışsal değişiklikler üzerine olan etkisi (Ort. \pm SD).

Doz (mg/kg)	Hayvan sayısı (n)	Latent devre (dakika)	Tremor süresi (dakika)
Kontrol	8	1.3 \pm 0.2	20.3 \pm 1.9
1.0	8	0.9 \pm 0.1	18.6 \pm 0.7
5.0	8	1.4 \pm 0.2	19.8 \pm 0.9
10.0	8	1.5 \pm 0.1	21.5 \pm 1.3

Tablo 7. Irkı belirsiz farelerde, araştırılan maddenin Striknin konvülsiyonları üzerine olan etkisi (Ort. \pm SD).

Doz (mg/kg)	Hayvan sayısı (n)	Yaşam süresi (dakika)	Ölüm oranı
Kontrol	22	4.7 \pm 0.2	22/22
0.01	8	4.3 \pm 0.5	8/8
0.1	22	4.1 \pm 0.2	22/22
1.0	17	4.2 \pm 0.4	17/17
5.0	9	4.5 \pm 0.3	9/9
10.0	9	5.1 \pm 0.5	9/9

Striknin ile etkileşimi araştırılan bu maddenin 1.0, 5.0 ve 10.0 mg/kg dozlarında, Strikninin oluşturduğu kasılmaları ve ölümü engelleyemediği görüldü (Tablo 7).

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda araştırılan maddenin yalnızca Bikukulin ile antagönistliği testinde anlamlı bir sonuç bulundu.

Tartışma

Selektif anksiyolitiklerin bulunmasının en uygun yöntemlerinden biri, bilinen nöroreseptörler üzerinde çalışılması ve heyecan-korku reaksiyonlarını ortaya çıkaran yeni reseptör komplekslerinin bulunmasıdır. Günümüzde yeni maddelerin direkt olarak nöroreseptörlerle ilişkilerini öğrenmek çok güç olduğu için, biz bu çalışmada araştırılan maddenin santral etki mekanizmasını ortaya koymaya çalıştık.

Trankilizanların benzodiazepin grubundan olan Gidazepam, Korazolun ve Tiyosemikarbazidin oluşturduğu kas kasılmalarını ve ölümü ortadan kaldırmış, 5-OTF'in etkisini ise güçlendirmiştir (1). Atipik trankilizanların etki mekanizmalarının incelenmesi onların anksiyolitik etkilerinin, benzodiazepin reseptörleri olmadan bile oluştuğunu göstermiştir. Buspiron serotonin sistemi yolu ile, Fenibut, Mebikar (24,25), Zuriklon, MK-801 ve triazolopiridazinler ise GABA sistemi ile etki göstermektedirler (18). Atipik trankilizanlardan olan Kartazolot (SQ 65396) Strikninin etkisini ortadan kaldırmıştır (26).

2-Merkaptobenzimidazol türevi bileşiklerin kimyasal yapılarının, bilinen trankilizanların kimyasal yapıları ile uygun olmadığını (atipik olduğunu) göz önüne alarak, bu çalışmada araştırılan maddenin korku-heyecan oluşturan nöroreseptörlerin aktivitesini değiştiren etkisi ince-

lenmiş ve bu maddelere ait reseptörlerin bulunmasına çalışılmıştır.

GABA-benzodiazepin kompleksini bloke ederek stimulan etki gösteren Korazol'a araştırmada kullanılan merkaptobenzimidazol türevi maddenin herhangi bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır.

5-OTF, Striknin ve Arekolin ile antagonistlik testlerinde, araştırılan maddenin etki mekanizmasında merkezi serotoninerjik, kolinerjik ve glisin reseptörlerinin rolü olmadığı anlaşılmaktadır.

GABA düzeyini azaltan Tiyosemikarbazidin'e, araştırılan maddenin etki göstermediği saptanmıştır. Diğer taraftan, merkaptobenzimidazol türevi bu maddenin bir GABA blokörü olan Bikukulin'in etkisini istatistiksel olarak artırması, bu maddenin etki mekanizmasında GABA reseptörlerinin rolünün olduğunu göstermektedir. Bu sonuç, GABA reseptörlerinin antagonisti olan Bikukulin'in, benzodiazepinlerin etkisini inhibe etmesi ile uyumludur (27-29). Sonuç olarak, atipik tranquilizantlardan merkaptobenzimidazol türevi olan bu maddenin GABA-benzodiazepin sistemi ile ilişkisini araştırmanın faydalı olacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Andronati SA. Gidazepam. Kiev, 1992:196.
2. Seredenin SB. Otçyt po planovoy NİR, Nİİ farmakologii. Moskova, 1991:345.
3. Haefely W. Biological basis of the therapeutic effects of benzodiazepines. In: Priest RG, ed. Benzodiazepines today and tomorrow. Landcaster, Raven Press, 1980:19-46.
4. Seredenin SB, Durnev AD. Farmakologičeskaya zaşıta genoma. Moskova, 1992:155.
5. Voronina TA. Recent developments in the search for novel nonbenzodiazepine anxiolytics. Can J Phys Pharmacol 1994, Monreal, Canada. 13.21.1.
6. Doble A, Martin JL. Multiple benzodiazepine receptors: no reason for anxiety. Trends Pharmacol Sci 1992; 13:76-81.
7. Pojarski AF, Garnoski AD, Simonov AM. Uspehi himii imidazola. Uspehi himii 1966, 2:261-302.
8. Nakajima S, Tanaca I, Seki T. Antifungal substances. I.Synthesis and antifungal effects of 2-mercaptobenzimidazoles derivatives. Jap.Pat. C.A.1959.8124e.
9. Nacajima S, Tanaca I, Aka T, et all. I- and s-benzimidazole 2-thioether derivatives. Jap. Pat. C.A. 1963. 58.13964f.
10. Benzimidazole derivatives having antiinflammatory, antipyretic and central nervous system depressive activities. Fr. Pat. C.A. 1971, 74, 130379u.
11. Antipyretic 2-mercaptobenzimidazoles. Brit. Pat. C.A.1970, 72, 12729u.
12. Ueno K, Sato M. Derivatives of disubstituted benzimidazoles. Fr.Pat. C.A. 1978. 50181p.
13. Ueno K, Sato M, Arimoto M. Derivatives of disubstituted benzimidazoles. Belg.Pat. C.A..1976. 85. 160031p.
14. Rahimov HS. Pharmacologically active 2-merkaptobenzimidazole derivatives. Eur Patent 18.04.95. RU95106120.
15. Stıtnık SI, Pastušenkov VA. Ispolzovanie bemitila v tselyak optimizatsii rabotosposobnosti čeloveka operatora v ekstremalnik usloviyak deyatelnosti. Fiziologičeskie aktivnie veşestva 1993; 25: 9-12.
16. Korablyov MV, Lukienko PI. Protivogipoksičeskie sredstva. Minsk: Belarus, 1976:127.
17. Smirnov AV. Bemetil: mekhanizm deystviya svyazannie s nim effekti. Fiziologičeskie aktivnie veşestva 1993; 25:5-9.
18. Rahimov HS. Psikofarmakologičeskaya razrabotka trankvilizatora novogo pokoleniya-selektivnogo anksiyolitika. Moskova, 1985:347.
19. Germane SK, Eberlins OE, Kojuhov AN. Metodi otbora novih psikotropnih preparatov, V kn: Naučno-metodologičeskie aspekti biologičeskih issledovaniy novih lekarstvennih preparatov. Riga 1985:86-99.
20. Voronina TA. Spekr farmakologičeskoy aktivnosti gidazepam i ego mesto sredi izvestnih trahkvilizatorov, V kn: Gidazepam. Kiev 1992:63-75.
21. Swinyard E, Castellion A. Anticonvulsant properties of some benzodiazepines. J Pharmacol Exp Ther 1966; 151:369-75.
22. Corne SJ, Pickering RW, Warner BT. A metod for assessing the effects of 5-hydroxytryptamine. Brit J Pharmacol 1963, 20:106-20.
23. Belenkiy ML. Elementi količestvennoy otsenki farmakologičeskogo effekta. Riga:1963.
24. Gee KW, Brinton RE, Jamamura HI. CL 218 872 antagonist of diazepam induced loss of righting reflex: evidence for partial agonistic activity at the benzodiazepine receptor. Life Sci 1983, 32:1037-40.
25. Boireau A, Stutzmann GM, Gattet C. Suriklone a new anxiolytic of the cyclopyrrolone family: evidence for possible interference with GABA-ergic system. Eur J Pharmacol 1984; 104:139-44.
26. Ticki MK. Interaction of stereoisomers of barbiturates with (H3)-alpha-dihydropicrotoxin binding sites. Brain Res 1981; 211:127-33.
27. Allan AM, Baier LD, Zhang X. Effects of lorazepam tolerance and withdrawal on GABAA reseptor operated chloride channels. J Pharmacol Exp Ther 1992, 261:395-402.
28. Bonano G, Raiteri M. Multiple GABAB receptors. Tips 1993; 14:259-61.
29. Facklan M, Schoch P, Bonetti ER. Relationship between benzodiazepine receptor occupancy and functional effects "in vivo" of four ligands of differing intrinsic efficacies. J Pharmacol Exper Ther 1992; 261:1113-21.