

5-Etoksi-2-[2-(Morfolino)-Etiltio]-Benzimidazol' un Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması

Hakani Sabiroğlu RAHİMOV¹

Mehmet KARA²

Asmagül RAHİMOVA³

Özet

Bu çalışma, yeni keşfedilen ve anksiyolitik etkisi olduğu bilinen merkaptobenzimidazol türevi bir maddenin (5-Etoksi-2-[2-(Morfolino)-Etiltio]-Benzimidazol), anksiyolitik etkide rolü olabilen antioksidan özelliklere sahip olup olmadığını ortaya çıkarmak için yapıldı. Bunun için Hemoluminisans metodu ile hücreli ve hücresiz model sistemleri kullanıldı.

Araştırılan madde 10^{-9} - 10^{-4} mol konsantrasyonlarda önemli derecede antioksidan etki gösterdi. Farklı dozlarda bile, araştırılan maddenin hem hücreli hem de hücresiz modelde yalnızca antioksidan etki gösterdiği, ancak prooksidan etki göstermediği saptandı.

Sonuç olarak, araştırılan maddenin büyük aralıklı konsantrasyonda antioksidan etkisinin olması, fakat prooksidan etkisinin hiç olmaması nedeniyle, ileride güvenli bir ilaç olabileceği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Merkaptobenzimidazol, antioksidan, anksiyolitik

Summary

An Investigation of Antioxydant Properties of 5-Ethoxy-2-[2-(Morpholino)-Ethylthio]-Benzimidazole

This study was planned to investigate if the antioxydant properties were present in anxiolytic effects of a mercaptobenzimidazole derivative agent (5-Ethoxy-2-[2-(Morpholino)-Ethylthio]-Benzimidazole) of which the anxiolytic effects were previously known. Hemoluminisans method with and without cell model-systems were used.

The investigated agent showed important antioxydant effect in 10^{-9} - 10^{-4} mol concentrations. Even in different doses, the investigated material showed only antioxydant effect but not prooxydant effect either in with and without cell models.

In conclusion, this material may be a safe drug in future since it has antioxydant effect in wide range concentrations and has no prooxydant effect.

Key Words : Mercaptobenzimidazole, antioxydant, anxiolytic

Giriş

Emosyonel-stres reaksiyonları, kalp-damar, psikiyatrik ve onkolojik hastalıklara zemin hazırlar (1-3) ve hatta bazı hayvanlarda kromozom aberrasyonlarına neden olurlar (2,4). Bu nedenle emosyonel-stres reaksiyonlarının tedavisi oldukça önemlidir. Bu amaçla, trankilizanların bir grubu olan benzodiazepinler kullanılmaktadır (3,5,6). Ancak, iyi sonuçlar vermelerinin yanında bu ilaçların miyorelaksasyon, dizartri, amnezi, ataksi ve bağımlılık gibi bir takım yan etkileri de vardır (2-6). Dolayısıyla yeni, güçlü ve yan etkileri daha az ilaçların geliştirilmesi gerekir.

Bir kısım doğal maddelerin (ferment, nükleik asit, alkaloid) yapısına giren benzimidazol bileşikleri üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır (2,3,7-10). Bununla

ilgili olarak benzimidazol bileşiklerinin kimyası hızlı bir şekilde gelişme göstermiştir. Yapılan araştırmalar neticesinde bu bileşiklerin psikotrop ve diğer farmakolojik etkileri olduğu bulunmuştur (7-13). Benzimidazol bileşiklerinden 2-imidazolün, 2-imidazolitiol (14) ve Bemetil' in (15,16) antioksidan etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Bemetil'in geniş aralıklı konsantrasyonlarda OH^{\cdot} radikallerine etki gösterdiği ve oksijenin aktif formlarının oluşmasını inhibe ettiği gösterilmiştir (14,16).

Bu çalışmanın amacı, daha önce anksiyolitik etkisi belirlenen (14,17) merkaptobenzimidazol türevi bir maddenin, anksiyolitik etkide rolü olabilen antioksidan özelliklere sahip olup olmadığını ortaya çıkarmaktır.

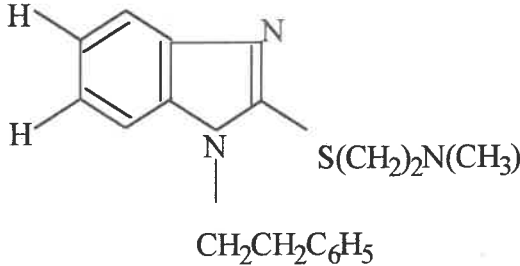
¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, VAN.

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, VAN.

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, VAN.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, araştırılan maddenin (Şekil 1) antioksidan özellikleri hücresiz (2,4) ve hücreli model sistemlerinde (18) araştırıldı. Hücresiz sistemler ve organizmadaki fagosit hücreler, serbest oksijen radikallerinin (H_2O_2 , $O^{\cdot-}$, v.d.) kaynağıdır.



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

Araştırılan maddeye serbest oksijen radikallerinin oluşmasını sağlayan luminol ilave edilerek Hemoluminisans metodu ile incelendi (18,19). Kontrol grubunda, araştırılan madde yerine serum fizyolojik kullanıldı.

10^{-12} ile 10^{-1} mol arasında 12 farklı konsantrasyonda hazırlanan araştırılan madde, pH'sı 7.4 olan ve 110 mM NaCl, 10 mM Tris, 5 mM Glukoz ve 0.65 mM Luminol içeren karışıma ilave edilerek, her bir dozdaki hemoluminisans, 37 °C' de luminometrede ölçüldü. Luminometrede 1 cc'lik standart tüpler kullanıldı. Araştırılan maddenin her bir dozu için hücreli sistemde beş, hücresiz sistemde altı deneme yapıldı. Her bir denemenin sonucu, üç tekrarın ortalaması olarak kaydedildi. Böylece araştırılan maddenin tek bir dozu için kontrol dışında hücreli sistemde 15, hücresiz sistemde 18 olmak üzere toplam 33 tüp kullanıldı. Her bir tüp içinde üç farklı madde bulunmaktaydı:

1. Serum fizyolojik veya araştırılan madde.
2. pH'sı 7.4 olan karışım.
3. Hücreli veya hücresiz model sistemi.

Hücresiz model sistemi olarak " H_2O_2 + Peroksidaz", peroksidaz kaynağı olarak da Peroksidaza hrena (yaban turpu) bitkisi kullanıldı (2,4).

Hücreli model sistemi olarak ırkı belirsiz beyaz sıçanların periton eksudatında olan fagosit hücreler kullanıldı. Periton eksudatı, 199 standart'a ilave edilerek 1 ml'de 10 hücre bulunan hücre süspansiyonu hazırlandı (18,19). Bu süspansiyondaki hücrelerin % 20'si lenfosit, % 20-30'u makrofaj ve % 40-60'ı polimorf hücreli lökosit idi.

Sonuçlar Student-t testi ile değerlendirildi (20).

Bulgular

Merkaptobenzimidazol türevi olan bu madde büyük aralıklı konsantrasyonda, hücresiz sistemde serbest radikallerin oluşmasını inhibe etti. En güçlü etki, 10^{-7} -

10^{-4} mol aralığında görüldü (Tablo 1). Kontrolde farksız sonuçların alındığı dozlar tablolarda gösterilmedi.

Tablo 1. Hücresiz sistemde, araştırılan maddenin antioksidan etkisi (Ort. \pm SD).

Konsantrasyon (mol)	Deneme sayısı*	Hemoluminisans derecesi (U)	p (kontrolden farkı)
Kontrol	6	1382.9 \pm 42.5	---
10^{-4}	6	343.0 \pm 28.5***	p < 0.001
10^{-5}	6	421.7 \pm 24.2***	p < 0.001
10^{-6}	6	927.3 \pm 61.9***	p < 0.001
10^{-7}	6	1010.5 \pm 44.6***	p < 0.001
10^{-8}	6	1070.3 \pm 89.1*	p < 0.05
10^{-9}	6	1089.3 \pm 95.2*	p < 0.05

* her deneme, üç tekrarın ortalamasıdır

Araştırılan madde, hücreli sistemde de yine aynı doz aralığında antioksidan etki gösterdi (Tablo 2).

Tablo 2. Hücreli sistemde, araştırılan maddenin antioksidan etkisi (Ort. \pm SD).

Konsantrasyon (mol)	Deneme sayısı*	Hemoluminisans derecesi (U)	p (kontrolden farkı)
Kontrol	5	3.6 \pm 0.1	---
10^{-4}	5	2.1 \pm 0.4**	p < 0.01
10^{-5}	5	2.4 \pm 0.3**	p < 0.01
10^{-6}	5	1.8 \pm 0.1***	p < 0.001
10^{-7}	5	2.0 \pm 0.4***	p < 0.001
10^{-8}	5	2.2 \pm 0.1***	p < 0.001
10^{-9}	5	2.3 \pm 0.2***	p < 0.001

* her deneme, üç tekrarın ortalamasıdır

Tartışma

Stresli durumlarda, membranlarda serbest radikallerin aktivitesi ile seyreden değişiklikler olur ve sonuçta santral sinir sistemindeki reseptörlerin ligandlara affinitesi azalır (21). Ancak, antioksidan etkisi olan maddeler ligandların nöroreseptörlere affinitesini artırır (22).

Araştırılan maddenin, geniş aralıklı konsantrasyonda antioksidan etkiye sahip olduğu ve bu etkinin her iki sistemde de 10^{-9} - 10^{-4} mol aralığında olduğu gözlenmiştir. Benzimidazol bileşiklerinden 2-imidazolone, 2-imidazolol (14) ve Bemetil' in (15,16) de antioksidan etkilerinin olduğu bildirilmektedir.

Antioksidan etkiye sahip bir kısım maddeler, bazı konsantrasyonlarda prooksidan etki de gösterebilmektedirler (23). Bu tip maddelerin ilaç olarak kullanılması mümkün olmamaktadır. Bu çalışmada, araştırılan maddenin yalnızca antioksidan etkisi olduğu ve en önemlisi bu etkinin iki farklı sistemde de aynı olduğu saptanmıştır. Bu sonuca göre, anksiyolitik etkisi bilinen araştırılan maddenin membran-reseptör seviyesinde etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Bir maddenin ilaç olarak üretilebilmesi için, büyük aralıklı konsantrasyonda antioksidan etkisinin olması ve bu maddenin prooksidan etkisinin olmaması gerekir (2,4).

Sonuç olarak, araştırılan madde bu iki şarta da sahip olduğundan ileride güvenli bir ilaç olabileceği söylenebilir.

Kaynaklar

1. Andronati SA: *Gidazepam*, p:196, İzdat Naukovo Dumka, Kiev (1992).
2. Seredenin SB: *Otçyot po planovoy NİR. Nİİ farmakologii*, p:345, Moskova (1991).
3. Haefely W: Biological basis of the therapeutic effects of benzodiazepines. In: *Benzodiazepines today and tomorrow*. Ed. R.G. p:19-46, Priest Lancaster (1980).
4. Seredenin SB, Durnev AD: *Farmakologičeskaya zaşıta genoma*, p:155, Moskova (1992).
5. Seredenin SB, Blednov YA: *Vliyanie fenazepam na soderjanie AKTG v plazme krovi inbrednih mişey pri stressovih vozdeystviyah*, *Byull Eksp Biol Med* 12:724-726 (1986).
6. Voronina TA: Recent developments in the search for novel nonbenzodiazepine anxiolytics, *Can J Phys Pharmacol* 13.21.1 (1994).
7. Doble A, Martin JL: Multiple benzodiazepine receptors: no reason for anxiety, *Trends Pharmacol Sci* 13(12):76-81 (1992).
8. Pojarski AF, Gamoski AD, Simonov AM: *Uspehi himii imidazola*, *Uspehi himii* 2:261-302 (1966).
9. Nakajima S, Tanaka I, Seki T: Antifungal substances. I. Synthesis and antifungal effects 2-mercaptobenzimidazole derivatives, *Jap. Pat. C.A.* 1959. 8124e.
10. Nacajima S, Tanaka I, Aka T: I- and s-benzimidazole 2-thioether derivatives, *Jap. Pat. C.A.* 1963. 58. 13964f.
11. Benzimidazole derivatives having antiinflammatory, antipyretic and central nervous system depressive activities, *Fr. Pat. C.A.* 1971. 74. 130379u.
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, Seredinin SB, Blednov YA: *Proizvodnie 2-merkaptobenzimidazola, obladayuşie selektivnoy anksiolitičeskoy aktivnostyu*, *Ros. Pat.* 94022663, 10.06.94.
15. Smirnov AV: *Bemitil: mekhanizm deystviya i svyazannie s nim effekti*, *Fizyologičeskie aktivnie veşestva* 25:5-9 (1993).
16. Plotnikov MB: *Antigipoksičeskie i antiokislitelnie svoystva bemitila*, *Byull Eksp Biol Med* 5:583-585 (1989).
17. Rahimov HS: *Farmacologically active 2-mercaptobenzimidazole derivatives*, *RU* 95106120, 18.04.95.
18. Vladimirov YA: *Svobodnoradikalnoe okislenie lipidov i fizičeskie svoystva lipidnogo sloya biologičeskih membran*, *Biofizika* 32(5):830-844 (1987).
19. Baraboy VA: *Perikisnoe okislenie i stress*, p:186, Sant-Peterburg (1992).
20. Belenkiy ML: *Elementi količestvennoy otsenki farmakologičeskogo efekta*, p:180, Riga (1963).
21. Vladimirov YA, Arçakov AU: *Perkisnoe okislenie lipidov v biologičeskih membranah*, p:210, Nauka (1972).
22. Burlakova EB: *Modifikasiya lipidov membran mitohondrii peçeni mişey i kinetičeskie parametri membranoviyazannoy monoaminooksidazi in vitro i in vivo*, *Voprosi med him* 1:66-72 (1984).
23. Kahl R: *Syntetic antioxidants: biochemical actions and interference with radiation, toxic compounds, chemical mutagens and chemical carcinogens*, *Toxicology* 33:185-228 (1984).