

175719

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

BENZONATAT'IN BAZI NÖROFARMAKOLOJİK
ETKİLER YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

FARMAKOLOJİ PROGRAMI
DOKTORA TEZİ

DR. NERMİN KAYSERİLİOĞLU

ANKARA - 1980

**T.C.
HACETTEPE UNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ**

**BENZONATAT'IN BAZI NÖROFARMAKOLOJİK
ETKİLER YÖNÜNDEN İNCELENMESİ**

**FARMAKOLOJİ PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

Dr. NERMİN KAYSERİLİOĞLU

**REHBER ÖĞRETİM ÜYESİ – DOÇ. DR. RÜŞTÜ ONUR
ANKARA – 1980**

Ö N S Ö Z

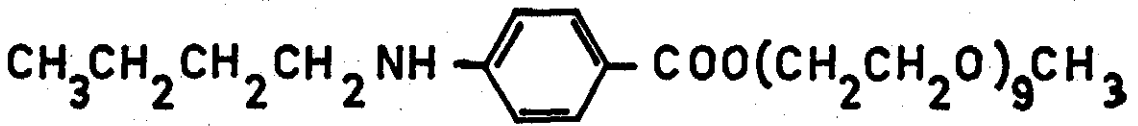
Tüm çalışmalarımnda değerli desteğini gördüğüm, halen görevli olarak A.B.D.'de bulunan Sayın hocam Prof.Dr. S.Oğuz Kayaalp'e, öğrenimim sırasında araştırma koşullarına uyum sağlamam için bana sabırla yol gösteren ve tez çalışmamı yönlendiren Sayın hocam Doç.Dr. Rüştü Onur'a, yetişmemde emeği geçen tüm hocalarıma ve bana her zaman yardımcı olan arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

G İ R İ Ő

Benzonat, paraaminobenzoik asidin polietilen glikol türevi olup, narkotik olmayan antitussif bir ilaçtır.

I.1. Kimyasal yapısı ve özellikleri:

Nonaetilenglikol monometileter p-n-butilaminobenzoat yapısındadır (Şekil, 1).



Şekil.1- Benzonat'ın kimyasal yapısı.

Polietilenglikol zincirinin uzunluğu, n=9 dur. Kimyasal yapısı itibariyle lokal anesteziğe, özellikle, tetrakain'e benzerlik gösterir. Molekül ağırlığı 603.73 tür. Renksiz ve açık sarı renkli bir yağ görünümündedir. Alifatik hidrokarbonlar hariç organik solventlerin çoğunda erir.

Akut toksisite deneyleri ile Benzonat'ın LD₅₀ değerleri değişik hayvan türleri için ve uygulanış yoluna göre aşağıdaki şekilde saptanmıştır (Bucher, 1956).

	<u>veriliş yolu</u>		
	<u>i.v.</u>	<u>s.c.</u>	<u>p.o.</u>
Fare	10	100	400
Tavşan	5	200	2000
Kedi	4	-	-

(Dozlar mg/kg olarak verilmiştir).

Kronik toksisite deneylerinde fare ve tavşanlara 16 gün süre ile LD₅₀'nin 1/10'u dozunda s.c. olarak uygulanan Benzonatat tavşanlarda hafif bir çizgili kas felci ve çizgili kaslarda kramp oluşmasına neden olmuş, diğer sistem ve organlara ait belirgin toksik etkiler ortaya çıkmamıştır. (Bucher, 1956).

Benzonatat'ın, Tessalon, Exangit ve Ventussin adlı değişik ticari preparatları vardır. KM 65 olarak da bilinir (Herzog, 1956).

I.2. Genel farmakolojik etkileri:

Benzonatat'ın etkin bir antitussif ajan olduğu deneysel ve klinik çalışmalarda çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir. Bucher (1956), anesteziye kedilerde trakeaya sabun tozu uygulamak suretiyle iritasyon oluşturarak öksürük meydana getirmiş ve bu preparatta Benzonatat'ın antitussif etkisini göstererek bu etkinin periferik ve santral mekaniz-

malar aracılığıyla oluştuğunu ileri sürmüştür. ~~stefke~~ ve diğ. (1961), anesteziye kedilerde amonyakla, köpeklerde ise elektriksel olarak trakea mukazasını uyarmak suretiyle öksürük oluşturarak çeşitli antitussif ajanların aktivitelerini karşılaştırmış ve Benzonatat'ın etki gücü bakımından dekstrometorfan, kodein ve karbetapentan sitrat ile eşdeğer olduğunu göstermişlerdir. Diğer bir çalışmada, köpeklerde sülfirik asit inhalasyonu ile oluşturulan öksürük refleksi üzerine 1 mg/kg (i.v.) dozunda uygulanan Benzonatat'ın kodein ve dihidrokodeinon'a göre daha az etkili olduğu gösterilmiştir (Chen ve diğ., 1960).

Herzog (1956), bronkojen ve plörojen öksürüğü bulunan hastalarda Benzonatat'ın antitussif etkisini inceleyerek, tedavi dozunun i.v. ve s.c. verildiği zaman 5-10 mg, oral yoldan verilmesi halinde ise 50-100 mg olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, Benzonatat'ın antitussif etkisinin injeksiyondan sonra 2. dakikada başladığı ve ortalama 2 saat devam ettiği, oral yoldan uygulandığı zaman ise etkinin 10. dakikadan itibaren ortaya çıktığı ve 2-10 saat kadar devam ettiği ve özellikle plevral kökenli öksürükte etkili olduğu bildirilmiştir. Diğer bir araştırmada, 100 mg (p.o.) dozunda uygulanan Benzonatat'ın astmatik bronşiti ve pulmoner amfizemi bulunan hastalarda da antitussif etki gösterdiği saptanmıştır. (Simon, 1957). Gregoire ve diğ. (1958), diğer antitussif ajanlara rezistan, kronik öksürüğü bulunan hastalarda 100 mg (p.o.) do-

zunda uygulanan Benzonatat'ın etkili olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada gönüllülerde asetilkolin inhalasyonu ile oluşturulan öksürük üzerinde i.v. yoldan verilen 10 mg Benzonatatın antitussif etkisi incelenmiş ve bu dozdaki Benzonatat'ın öksürük sayısını azalttığı gösterilmiştir. Diğer klinik çalışmalarda 100 mg Benzonatat'ın, 15 mg kodein'in antitussif etkisi ile karşılaştırılabilecek aktiviteye sahip olduğu ileri sürülmüştür (Bickerman ve Etkin, 1960; Shane ve diğ, 1957).

Yapılan klinik deneylerde Benzonatat'ın minimum düzeyde yan etkilere sahip olduğu (vertigo, allerjik döküntüler) (Bickerman, 1962), respiratuvar fonksiyonları etkilemediği (Darke, 1959), nabız hızını etkilemeden bazı hastalarda geçici olarak kan basıncında artmaya neden olduğu gözlenmiştir (Michelson ve Schiller, 1957).

Benzonatat'ın etki mekanizmasını aydınlatmaya yönelik çalışmalarda ilacın kuvvetli bir lokal anesteziği olduğu ve akciğerlerdeki gerilim reseptörleri üzerinde lokal anesteziği etki gösterdiği deneysel olarak gösterilmiştir. Benzonatat'ın lokal anesteziği aktivitesi, tavşan korneası, kobay sırt derisi ve izole kurbağa siyatik sinir preparatlarında, akciğerlerdeki gerilim reseptörleri üzerindeki etkisi de tavşan vagus sinirinden akciğer gerilim reseptörlerine ait deşarjların kaydedilmesi suretiyle incelenmiştir (Bein ve Bucher, 1957).

Bu araştırıcılar ilacı lokal anesteziye sahip diğer ajanlarla karşılaştırmışlar ve Benzonat'ın akciğer gerilim reseptörleri üzerindeki etkisi bakımından prokain'e göre 27 kez, lidokain'e göre ise 10 kez daha potent ve tetrakain ile yaklaşık bir aktiviteye sahip olduğunu saptamışlardır. Benzonat, aynı araştırmada infiltrasyon anesteziyi oluşturması bakımından değerlendirildiğinde, tetrakain, prokain ve lidokain'e göre daha potent bulunmuştur.

Yapılan deneysel alışmalar Benzonat'ın antitussif etkisinin, periferik mekanizmalar aracılığıyla ve öksürük refleksi ni başlatan akciğerlerdeki afferent sinir uçları ile gerilim reseptörleri üzerindeki selektif lokal anesteziye etkisi ile meydana geldiğini vurgulamaktadır (Bucher, 1956; Bein ve Bucher, 1957). Ayrıca, Benzonat'ın polisinyaptik refleks inhibisyonuna neden olarak santral bir etkisinin de bulunduğu gösterilmiştir (Bein ve Bucher, 1957).

I.3. Çalışmanın amacı:

Klinikte etkili bir antitussif ajan olarak kullanılan Benzonat'ın periferik sinirsel dokular ve nöromüsküler aşırım üzerine olan etkileri incelenmemiştir. Kronik toksisite deneylerinde tavşanlarda çizgili kas felci ve kas kramp-ları oluşturması, ilacın motor aktivite ve nöromüsküler aşırım üzerine bir etkisi olabileceğini düşündürmüştür. Diğer taraftan lokal anestezi özellikleri olması da ilacın nöromüsküler aşırımı etkileyebileceği izlenimini vermiştir. Bu bakımdan Benzonat'ın deney hayvanlarında motor aktivite ve nöromüsküler iletim üzerine olan etkilerinin incelenmesi bu çalışmanın amacını oluşturmuştur. Bu nedenle sıçanlara Benzonat verilerek, ilacın lokomotor aktivite ve döner çubuk üzerindeki performansa etkileri incelenmiştir. Nöromüsküler aşırım üzerine olan etkileri ise izole sıçan frenik sinir-diyafagma preparatında ve kedide peroneal sinir-tibiyalis anterior preparatında değerlendirilmiştir. Ayrıca Benzonat'ın lokal anestezi aktivitesinin değerlendirilerek, diğer lokal anestezi-klerle karşılaştırılması ilacın periferik etkilerinin açıklanması bakımından gerekli görülmüştür. Bunun için kobay sırt derisine intradermal olarak uygulanan Benzonat'ın lokal anestezi etkisi, prokain ve prilokain ile karşılaştırılmıştır.

GENEL BİLGİLER

Benzonat kimyasal yapısının ve bazı periferik etkilerinin lokal anesteziğe benzemesi ve polisınaptik reflekslerde inhibisyon yapması nedeniyle lokal anesteziğin periferik ve santral etkileri ile nöromusküler aşırıma olan etkileri ve santral kas gevşeticileri hakkında özlü bilgi verilmesi uygun olacaktır.

II.1 Lokal anesteziğler:

Lokal anesteziğler, bütün eksitabl hücrelerde (sinir lifi, miyokard, çizgili kas, düz kas v.b.) direkt olarak hücre membranını etkileyerek ve reversibl olarak membranın depolarize edilebilme ve aksiyon potansiyeli oluşturabilme özelliklerini inhibe eder ve aksiyon potansiyelinin yayılmasını engellerler. Lokal anesteziğlerin bu etkilerini eksitabl membranın lipoproteinlerine bağlanarak aksiyon potansiyeli oluşumu sırasında geçici olarak artan sodyum kondüktansını bloke etmek suretiyle oluşturdukları kabul edilmektedir.

(Narahashi ve Frazier, 1971). Lokal anesteziğlerin sinirlerde iletimi bloke edici etkilerinin, membran permeabilitesini kontrol eden bölgelerde kalsiyumla etkileşerek meydana geldiği de ileri sürülmüştür (Blaustein ve Goldman, 1966; Strichartz, 1973). Lokal anesteziğ ajanlar periferik sinirlerde iletimi bloke edici etkilerinin yanı sıra impuls oluşumunun ve iletiminin söz konusu olduğu bütün organların fonksiyonlarını etkilerler.

II.1.1. Lokal anesteziklerin santral etkileri:

Lokal anestezikler, periferik etkilerinin yanı sıra sistemik olarak uygulandıklarında, insanda ve deney hayvanlarında santral sinir sistemi aktivitesinde değişikliğe neden olurlar. Santral sinir sisteminde önce stimülasyona bağlı olarak huzursuzluk, tremor ve konvülsiyonlar ve daha sonra da depresyon oluştururlar (Ritchie ve Cohen, 1975). Stimülasyon santral sinir sistemindeki inhibitör nöronların selektif olarak depresyonu ile, depresyon ise lokal anesteziklerin direkt olarak inhibitör etkileri ile açıklanmaya çalışılmıştır. Frank ve Sanders (1963), farelere prokain ve çinkokain uygulayarak, hiperkinezi, solunum stimülasyonu ve konvülsiyonlar oluştuğunu, aynı zamanda pentobarbitalin meydana getirdiği doğrulma refleksi inhibisyonunun potansiyalize edildiğini göstermişlerdir. Aynı çalışmada, lokal anesteziklerin kedi izole beyin korteksi dilimlerinin elektriksel olarak uyarılması ile oluşturulan aktivitede depresyona neden oldukları gösterilmiştir. Taverner (1960), deserebre kedilerde i.v. yoldan uygulanan prokain, lidokain ve ametokain'in polisınaptik reflekslerde inhibisyona neden olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada prokain'in kullanılan dozlarda monosınaptik refleksleri etkilemediği, lidokain'in ise ancak yüksek dozlarda monosınaptik refleks inhibisyonuna neden olduğu ve incelenen lokal anestezik ajanların medulla spinalis üzerindeki etkilerinin, lokal anestezik potenslerine paralel olduğu bildirilmiştir.

II.1.2. Lokal anesteziklerin nöromüsküler aşırım üzerine olan etkileri:

Lokal anestezikler klinikte kullanıldıkları koşullarda tek başlarına nöromüsküler blokaj yapmazlar. Ancak, i.v. olarak uygulanan prokain'in insanda, nöromüsküler bloke edici ilaçların etkisini potansiyalize ettiği bildirilmiştir (Ellis ve diğ., 1953; Salgado, 1961). Straughan (1960), prokain'in izole sıçan frenik sinir-diyafragma preparatında 2×10^{-5} M'den daha yüksek konsantrasyonlarda tetanik stimülasyon sırasında açığa çıkan asetilkolin miktarında azalmaya neden olduğunu ve bu etkinin prokain'in motor sinir uçlarındaki lokal anestezik etkisine bağlı olabileceğini ileri sürmüştür. Buna karşılık Hirst ve Wood (1971) bu sonucun sinirin yüksek frekansla uyarılmasına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar intraselüler kayıt tekniği kullanarak, izole sıçan frenik sinir-diyafragma preparatında düşük frekanslı stimülasyonda prokain'in nöromüsküler aşırımı bloke ettiğini ve bu etkinin prokain'in kavşak sonrası membranın asetilkoline olan hassasiyetini azaltmasına bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Aynı çalışmada stimülasyon frekansının düşük olduğu durumlarda prokain'in mediyatör salıverilmesini bozmadığı bildirilmiştir. Ayrıca Furukawa (1957) ve del Castillo ve Katz (1957), prokain'in kurbağa kasında iyontoforetik olarak uygulanan asetilkolin ile meydana gelen potansiyellerin amplitüdünü azalttığını saptamışlardır. Maeno (1966), elektrofizyolojik yöntem-

ler kullanarak, prokain'in nöromüsküler aşırıma etkisini izole kurbağa sartoryus kasında incelemiş ve prokain'in (10^{-5} - 10^{-4} M) yüksek magnezyumlu ortamda kaydedilen son plak potansiyellerinin kuvantum sayısını etkilemeden, kuvantum büyüklüklerinde azalmaya neden olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada prokain etkisi ile son plak potansiyellerinin yükselme sürelerinin kısaldığı ve geri dönüş sırasında bir plato oluştuğu gözlenmiş ve prokain'in bu etkileri, son plak potansiyellerinin oluşumu sırasında sodyum kondüktansındaki azalma ile açıklanmıştır. Daha sonra benzeri şekilde bir çalışmada Steinbach (1968_a), lidokain ve türevlerinin nöromüsküler aşırıma etkilerini aynı kas preparatında incelemiş ve nöromüsküler bloke edici etkinin bu ilaçların lokal anestezik özelliklerine bağımlı olmadığını bildirmiştir. Son plak potansiyellerinin şeklinde meydana gelen değişiklikler incelenerek lokal anesteziklerin, asetilkolinin reseptörle etkileşmesinden önceki basamaklarda etkisiz oldukları ileri sürülmüştür (Steinbach, 1968_{a,b}).

II.2. Santral kas gevşetici ilaçlar:

Bein ve Bucher (1957), Benzonat'ın tavşanda ve kedide i.v. yoldan uygulandığında polişinaptik refleksleri inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bu etkisi bakımından Benzonat tetrakain'e yaklaşık ve prokain'e göre daha potent bulunmuştur. Bundan dolayı Benzonat, bazı etkileri ile san-

ral kas gevşetici bir ajan olarak düşünülebilir fakat bu yönden değerlendirilerek diğer santral kas gevşeticilerle karşılaştırılmamıştır.

Santral kas gevşetici ilaçların genel farmakolojik etkileri:

Santral kas gevşetici ilaçlar santral sinir sistemi üzerindeki selektif etkileri ile şuur kaybı yapmadan çizgili kaslarda gevşeme ve tonüs kaybına neden olurlar. Mefenezin ve türevleri normal deney hayvanlarına verildiklerinde spontan motor aktiviteyi azaltırlar, yüksek dozlarda geçici olarak çizgili kas felcine neden olurlar (Franz, 1975). Henneman ve diğ. (1949), mefenezin selektif olarak spinal internöronları etkilemek suretiyle, monosinaptik patella refleksini inhibe etmeden, polisaptik refleks cevapları azalttığını göstermişlerdir. Ngaie ve diğ. (1966), midkoliküler kesi yapılarak deserebre edilmiş kedilerde siyatik sinir stimülasyonu ile ipsilateral ve kontralateral ekstensor reflekslerin diazepam, klordiazepoksit, meproamat ve mefenezin tarafından deprese edildiğini göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar spinal kesi yapıldıktan sonra, kas gevşetici ilaçların refleks inhibisyon yapma bakımından daha az etkili olduklarını göstererek, santral kas gevşetici ilaçların özellikle supraspinal yapıları etkilediklerini ileri sürmüşler ve medulla spinalisin bu tip ilaçların inhibe edici etkilerine rezistan olduğunu göster-

mişlerdir. Bu araştırmacılar, santral kas gevşeticilerin esas etki yerinin retiküler aktive edici sistem olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Daha sonra, Tsen ve Wang (1971), midkolliküler kesi yapılmış kedilerde, diazepam'ın akut spinal kesi yapılmış kedilere göre refleks inhibisyon yapıcı etkisinin daha kuvvetli olduğunu ve diazepam'ın retiküler nöronal aktiviteyi, spinal internöronal aktiviteye göre daha düşük düzlarda deprese ettiğini göstererek, santral kas gevşeticilerin esas etki yerinin beyin sapındaki retiküler sistem olduğu hakkındaki görüşü desteklemişlerdir. Hudson ve Wolpert (1970), intakt kedilerle, midkolliküler ve spinal kesi yapılmış kedilerde diazepam'ın etkisini incelemişler ve ilacın intakt kedilerde patellar ve lingomandibular refleksleri inhibe ettiğini, C I seviyesinde spinalize edilmiş kedilerde ise diazepam'ın sadece lingomandibular refleksi inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bu araştırmacılar diazepam'ın beyin sapına etki ettiğini fakat spinal bir etkinin de söz konusu olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Benzonatat, polisinaptik refleks inhibisyonu yapıcı etkisi bakımından değerlendirildiğinde santral kas gevşeticisi bir ilaç olarak düşünülebilir. Fakat santral kas gevşeticisi ilaçların deney hayvanlarında yaptığı spontan motor aktivitede azalma ve döner çubuk üzerinde kalış süresine etkileri

bakımından değerlendirilmemiştir.

Çalışmamızda Benzonat'ın deney hayvanlarında spontan motor aktiviteye ve döner çubuk üzerinde kalış süresine etkisi bakımından değerlendirilmesi yapılmış, ayrıca ilacın lingo-mandibuler refleks üzerine olan etkisi de araştırılmıştır.

ARAC, GEREÇ VE YÖNTEMLER

III.1. Sıçan frenik sinir-diyafragma preparatının hazırlanması:

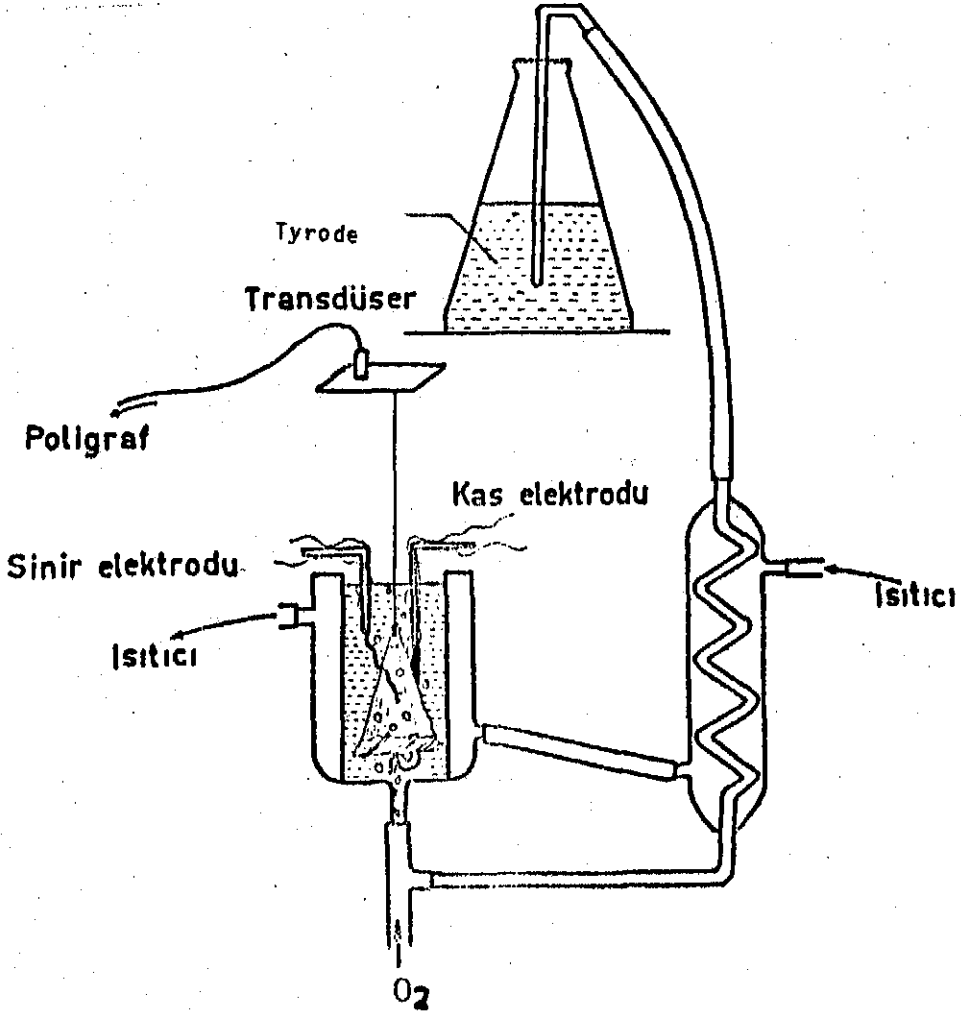
Deneylerde 150-250 g ağırlığında her iki cinsten beyaz sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar eter ile anesteziye edildikten sonra boyun damarları kesilerek kanatıldı ve göğüs boşluğu açılıp sol yarı diyafragma frenik sinir ve alt kosterlarla birlikte çıkartılarak besleyici sıvı içine alındı (Bülbring, 1946). Besleyici sıvı olarak % 100 oksijen ile gazlandırılmış Tyrode çözeltisi kullanıldı (Varagic ve diğ., 1976).

Tyrode çözeltisinin bileşimi:

NaCl	136.7 mM
KCl	2.8 mM
MgCl ₂	0.1 mM
CaCl ₂	1.8 mM
NaH ₂ PO ₄	0.4 mM
NaHCO ₃	11.9 mM
Dekstroz	11.1 mM

Diyafragma, içinde besleyici sıvı bulunan petri kabının parafin kaplı tabanına çelik iğnelerle tutturulduktan sonra preparatlar, frenik siniri ortalayacak şekilde ve kas liflerine paralel olarak kesilmek suretiyle hazırlandı. Sinir-kas preparatı kostodiyafragmatik kenarından bağlanarak cam bir askı üzerine yerleştirildi. Cam askı üzerine yerleştirilmiş bir

çift platin tel direkt olarak kası stimüle etmek için kullanıldı. 30 ml'lik bir izole organ banyosuna yerleştirilen preparat vertikal olarak santral tendonundan geçirilen bir ipek iplik aracılığı ile Harvard Kas Transdüsürü'ne bağlandı. Harvard izotonik transdüsürüne özel bir yay takılarak transdüsür izometrik kayıt yapacak şekilde modifiye edildi. Organ banyosunun dışındaki cam zarftan su dolaştırılmak suretiyle preparatın sıcaklığı istenen düzeyde sabit tutuldu. Deney süresince preparat % 100 oksijen ile gazlandırıldı (Şekil 2).



Şekil.2: İzole sıçan frenik sinir-diyafragma preparatının bulunduğu sistemin şeması.

Frenik sinir iki paralel platin halkadan meydana gelen sinir elektrodu içine alınarak, elektrod organ banyosu içine daldırıldı. Frenik sinir supramaksimal voltaajda (5-15 Volt), ve 0.1 milisaniye devam süreli pulslarla 20 saniyede bir stimüle edildi. Direkt elektriksel stimülasyon için 1-2 milisaniye devam süreli, supramaksimal pulslar (130-150 Volt) her sinir stimülasyonundan 10 saniye sonra gelecek şekilde kasa uygulandı. Stimülasyon için Grass S88 model stimülatör ve Grass SIU5 modeli izolasyon ünitesi kullanıldı. Kas kontraksiyonlarının stabilize olması için ilaç uygulamasından önce 30 dakika beklendi. Daha sonra Benzonatart artan kon-santrasyonlarda organ banyosuna ilave edilerek kas kontrak-siyonlarındaki değişiklikler kaydedildi.

Ayrı bir grup deneyde ilacın direkt olarak frenik sinir üzerine olan etkisini incelemek amacıyla, frenik sinir 2 ml hacminde ayrı bir bölme içine alınarak sinir, stimülasyon elektrodu içine yerleştirildi.

III.2. Kedi peroneal sinir-tibialis anterior preparatının hazırlanması:

Deneylerde 2-3 kg arasında her iki cinsten kediler kullanıldı. Kediler 80 mg/kg α -kloraloz(i.v.) ile anesteziye edildiler. Gerektiğinde suni solunum uygulamak için trakea kanüle edildi. Vena jugularis eksterna kanüle edilerek ilaç enjeksiyonu için kullanıldı. Arteria karotise bir polietilen kanül yerleştirilerek, arteriyel kan basıncı Statham Model P23AC transdusörü aracılığı ile Grass 7PD Model poligrafa

kaydedildi. Sağ arka bacak yatay olarak tesbit edildi ve tibia üst ucuna metal bir çubuk yerleştirilerek bacağın hareketsiz kalması sağlandı. M. tibiialis anterior'un alt tendonu ayak bileğinde izole edilerek kesildi ve 7 no. cerrahi iplikle Grass FT10 transdüsörüne bağlandı. Kas kontraksiyonları aynı poligrafa kaydedildi. Peroneal sinir diseke edilerek üst ucu bağlandı ve sinir elektriksel stimülasyon için bir çift plastik elektrod içine alındı. Elektrod Grass Model S44 stimülatör ve SIU5 Model Stimulus izolasyon ünitesi ile irtibatlandırılarak peroneal sinirin elektriksel stimülasyonu için kullanıldı. Peroneal sinir, 0.1 milisaniye devam süreli ve supramaksimal voltajda (5-15 Volt) rektangüler pulslarla uyarıldı. Tek kas kontraksiyonlarını kaydetmek için peroneal sinir 0.1 pps frekansında ve posttetanik potansiyalizasyonun incelendiği deneylerde de 5'er saniye süre ile 5, 10 ve 20 pps frekansında uygulanan pulslarla uyarıldı. Tetanik uyarı verileceği zaman 0.1 pps'lik stimülasyon kesildi ve tetanik uyarılar arasında 10'er dakika süre ile yeniden 0.1 pps'lik stimülasyon uygulandı. Kas kontraksiyonlarının kaydına başlamadan önce tendona 25-35 g'lık bir bazam gerilim uygulandı. Posttetanik potansiyalizasyon, tetanik uyarıdan sonra 0.1 pps'lik stimülasyon uygulandığı zaman elde edilen kontraksiyonların, tetanik uyarı öncesine oranla artışı olarak değerlendirildi.

III.3. Kedide lingomandibuler refleks aktivitesinin kaydedilmesi:

Bu grup deneylerde kullanılan kediler Bölüm III.2'de anlatıldığı şekilde anesteziye ve kanüle edildiler. Kedilerin başı tesbit edilerek alt çene ucu 7 no. cerrahi iplikle dikilerek, ipin ucu Grass Model FT10 transdusörü'na tesbit edildi ve çene hareketleri Grass Model 7PD Poligrafa kaydedildi. Dili elektriksel olarak uyarmak için iki metal kısaç elektrod dil köküne yerleştirildi. Grass Model S44 Stimülatör 0.1 pps frekansında, 10-30 milisaniye devam süreli ve supramaksimal voltajda (40-50 volt) pulslar verecek şekilde ayarlandı. Kedilere ilaç verilmeden önce 20-30 dakika kadar beklendi. Çene hareketlerindeki değişiklikler, ilaç verilmesinden önceki kontraksiyon amplitüdünün yüzdesi olarak değerlendirildi.

III.4. Sıçanlarda lokomotor aktivite ile ilgili deneyler:

III.4.1. Aktivite kafesinde spontan motor aktivitenin değerlendirilmesi:

Aktivite kafesi deneylerinde 130-190 g ağırlığında erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar deneye alınmadan önce 4-6 lık gruplar halinde kafeslere yerleştirildiler ve istedikleri kadar yem ve su almalarına izin verildi. Deney süresince laboratuvar ısısının 21-24°C arasında tutulmasına dikkat edildi.

Ugo Basile Aktivite Kafesi, Model 7401 kullanılarak spontan motor aktivite kaydedildi. Kafes, 35 x 23 x 20 cm. boyutlarında ve tabanı paslanmaz çelik çubuklarla döşeli olup hayvanın hareket etmesi ile devre kapanmakta ve hareket numaratoréne sayı olarak yazdırılmaktadır. Numarator 6 dakikalık aralarla, yazdırılan aktivite skorunu toplayarak özel kağıdına kaydetmektedir.

Tüm deneylerde ilaçlar 1 ml/kg hacminde ve i.p. olarak uygulandı. Sıçanlar ilaç verilmişinden hemen sonra aktivite kafesine tek tek yerleştirildi ve spontan motor aktiviteleri 72 dakikak süre ile kaydedildi. Bu sürenin ilk 12 dakikası, hayvanların ortama alışmaları için gerekli olup değerlendirme dışı bırakıldı. Motor aktivite skorları 0-60 dakika arasında toplanarak total motor aktivite olarak değerlendirildi. Ayrıca 0-30 dakika ve 30-60 dakika arasındaki toplam aktivite skorları da değerlendirildi.

III.4.2. Döner çubuk üzerinde kalış süresinin değerlendirilmesi:

Bu grup deneylerde Bölüm III.4.1. de anlatılan laboratuvar şartlarında hazırlanan sıçanlar kullanıldı.

Döner çubuk aygıtı, çapı 4.8 cm olan tahta bir çubuğun üzerinde 8'er cm'lik 5 ayrı bölmeden oluşmaktadır. Bölmeler mukavvadan olup döner çubuk üzerinde 9 cm'lik bir yüksekliğe ulaşmaktadır. Döner çubuğun zeminden yüksekliği 38.5 cm ve dönüş hızı da dakikada 12 devir olarak ayarlanmıştır (Dunham

ve Miya, 1957; Gerald ve Gupta, 1977).

Sıçanlar döner çubuğa yerleştirildikten sonra bir dakika içinde 3 defadan fazla yere düşmeleri nörotoksisite belirtisi olarak kabul edildi. (Gerald ve Gupta, 1977). İlaç verilmesinden önce bir dakika süre ile bütün sıçanların döner çubuk üzerinde dengelerini koruyup koruyamadıklarına baktı ve dengelerini koruyamayan sıçanlar deney dışı bırakıldı. Sıçanlar i.p. olarak 1 ml/kg hacminde ilaç verilmesinden sonra 15'er dakikalık aralarla 90 dakika süresince değerlendirildi.

Kontrol ve dört ayrı dozda (5, 10, 20 ve 50 mg/kg) Benzonatat uygulanan sıçanlar 10'luk gruplar halinde döner çubuk üzerindeki performanslar bakımından değerlendirildiler.

III.5. Benzonatat'ın lokal anestezi aktivitesinin değerlendirilmesi.

III.5.1. Kobay sırt derisinde infiltrasyon anestezisi:

Lokal anestezi aktivite Bülbring ve Wajda'nın 1945'te tarif ettiği metoda göre, kobay sırt derisinde intradermal enjeksiyon yapmak suretiyle değerlendirilmiştir. Bu amaçla 300-350 g ağırlığında her iki cinsten kobaylar kullanıldı. Deneyden bir gün önce sırt derileri traş edilerek kılları temizlendi. Kobayların sırtı 4 bölgeye ayrıldı. Bölgelerden birine kontrol solüsyonu (Benzonatat solventi), diğerlerine %2'lik Benzonatat, prokain ve prilokain solüsyonları 0.1 ml hacminde zerk edildi. Enjeksiyondan sonra 30 dakika süre ve 5'er dakikalık aralarla her bölge lokal anestezi etki bakımından in-

celendi. Lokal anestezi etki, toplu iğne ile zerk edilen bölgeye dokunarak derideki refleks seyriminin kaybolması ile değerlendirildi.

III.5.2. Frenik sinir üzerine direkt olarak uygulamak suretiyle lokal anestezi aktivitenin incelenmesi:

Bölüm III.1'de anlatıldığı şekilde izole sıçan frenik sinir-diyafagma preparatı hazırlandıktan sonra frenik sinir 2 ml hacminde ayrı bir banyo içine alınarak sinir, stimülasyon için platin elektrotlar içine yerleştirildi. Diyafragma, kas kontraksiyonlarının kaydı için transdüsiye bağlandı. Lokal anestezi aktivitesi tayin edilecek ilaç solüsyonu, içinde sinir bulunan banyoya uygulandıktan sonra indirekt elektriksel stimülasyon ile oluşturulan kas kontraksiyonlarındaki azalma, ilacın frenik sinir üzerindeki lokal anestezi etkisinin bir göstergesi olarak kabul edildi.

III.6. Deneylerde kullanılan ilaçlar:

Bu çalışmada kullanılan Benzonat (Ciba), Neostigmin metilsülfat (Roche), d-tubokürarin (Embil), Prokain hidroklorür (Merck) ve Prilokain (Astra) firmasından temin edilmişlerdir. Benzonat'ın stok solüsyonu, 500 mg Benzonat'ın 0.2 ml Tween 20 ve 0.5 ml etil alkol içinde eritilerek, distile su ile 5.0 ml'ya tamamlanması suretiyle hazırlanmış ve çalışma süresince +4°C'de saklanarak deneylerden önce uygun dilüsyonlarda hazırlanmıştır. In vitro deneylerde, Benzonat'ın

stok solüsyonu Tyrode çözeltisi içinde, in vivo deneylerde ise fizyolojik tuzlu su içinde dilüe edilmiştir.

III.7. Verilerin değerlendirilmesinde yararlanılan istatistiksel yöntemler:

Deneylerde elde edilen sayısal değerler ortalama \pm standart hata (S.H.) olarak belirlenmiş, ortalamaların ve standart hataların bulunmasında bilinen istatistiksel yöntemler uygulanmıştır (Goldstein, 1971).

Ortalamalar arası farkın önem kontrolü Student's "t testi"ne göre yapılmıştır.

İki değişik gruptan elde edilen sayısal verilerin ortalamaları arasındaki anlamlı fark olup olmadığını saptamakta yararlanılan "t değeri" aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$t = (\bar{x}_a - \bar{x}_b) \sqrt{\frac{(n_a + n_b - 2) \dots (n_a \dots n_b) \dots}{\left[\left(\sum x_a^2 - \frac{(\sum x_a)^2}{n_a} \right) + \left(\sum x_b^2 - \frac{(\sum x_b)^2}{n_b} \right) \right] (n_a + n_b)}}$$

x_a = a grubundaki verilerin bireysel değerleri

x_b = b grubundaki verilerin bireysel değerleri

\bar{x}_a = a grubunun ortalaması

\bar{x}_b = b grubunun ortalaması

$\sum x_a$ = a grubundaki verilerin bireysel değerleri toplamı

$\sum x_b$ = b grubundaki verilerin bireysel değerleri toplamı

Σx_a^2 = a grubundaki verilerin bireysel değerlerinin kareleri toplamı

Σx_b^2 = b grubundaki verilerin bireysel değerlerinin kareleri toplamı

n_a = a grubundaki deney sayısı

n_b = b grubundaki deney sayısı

$(n_a + n_b - 2)$ = Serbestlik derecesi.

Eşler arasındaki farkın önem kontrolü ise aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$t = (\bar{x}_a - \bar{x}_b) \sqrt{\frac{n(n-1)}{\Sigma d^2 - \frac{(\Sigma d)^2}{n}}}$$

Σd = Bireyler arasındaki farkların toplamı

Σd^2 = Bireyler arasındaki farkların karelerinin toplamı

n = Deney sayısı

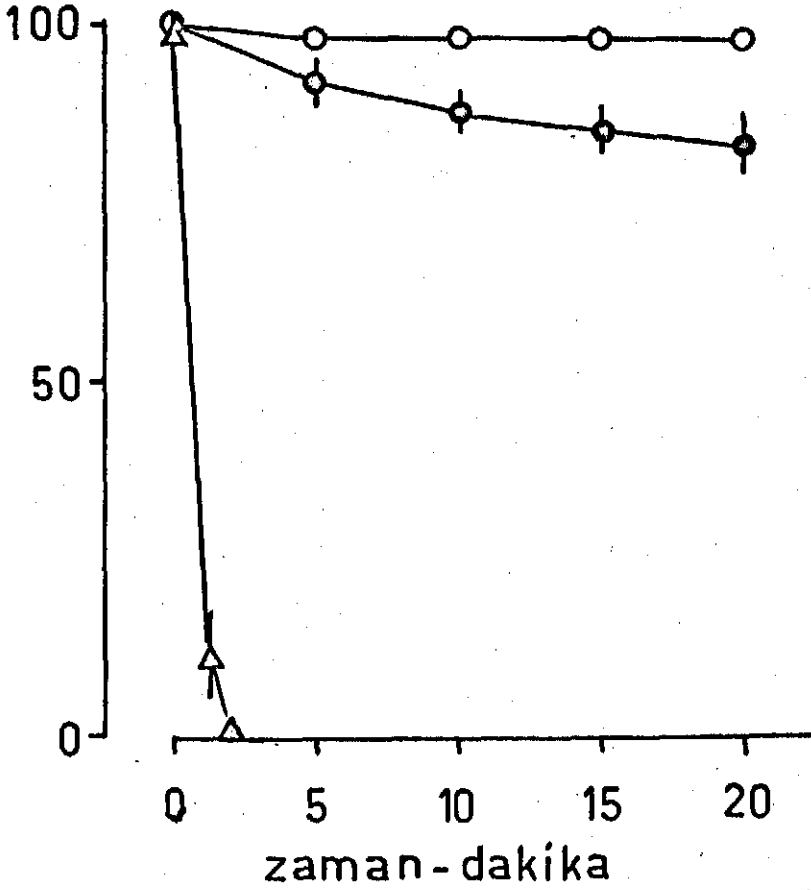
$n-1$ = Serbestlik derecesi

"t" değerinin karşılığı olan 'p' değeri ait olduğu serbestlik derecesine göre özel tablodan okunarak 'p' nin 0.05 ten daha küçük olduğu değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu kabul edilmiştir.

BULGULAR

IV.1.1. Benzonatat'ın izole sıçan frenik sinir-diyafragma preparatına etkisi:

Benzonat, 37°C de, artan konsantrasyonlarda izole sıçan frenik sinir-diyafragma preparatına uygulandığında, 10 µg/ml den başlayarak sinir stimülasyonu ile oluşturulan indirekt kas kontraksiyonlarını azaltmaktadır (Şekil 3).



Şekil 3: Benzonatat'ın 37°C de sıçan frenik sinir-diyafragma preparatında indirekt elektriksel stimülasyonla oluşturulan kas kontraksiyonları üzerine etkisi. Dikey eksen yüzde kasılma amplitüdünü, yatay eksen dakika olarak zamanı, (-O-O-) 3 µg/ml, (-□-□-) 10 µg/ml, (-Δ-Δ-) ise 30 µg/ml Benzonatat'ın etkisini göstermektedir. Dikey çubuklar standart hatayı belirtmektedir. n = 5.

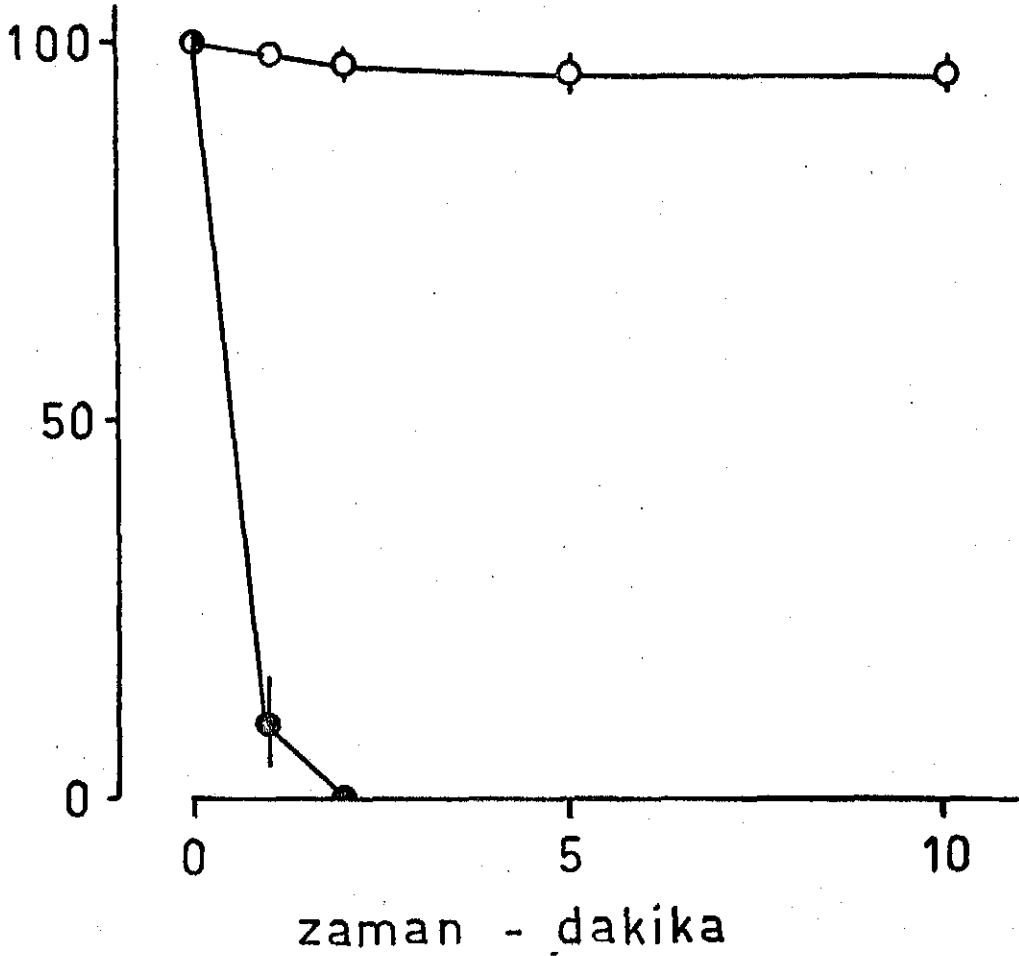
Yapılan bütün deneylerde Benzonat 1 ve 3 µg/ml konsantrasyonlarda etkisiz bulunmuştur. 10 µg/ml Benzonat, toplam 20 dakikalık kayıt süresince indirekt kas kontraksiyonlarında % 16 oranında bir azalma oluşturmuştur. Kullanılan en yüksek konsantrasyonda (30 µg/ml) ise, ilacın etkisi süratle gelişmiş ve ortalama 2 dakikada tam bir nöromusküler blok oluşmuştur. Benzonat, direkt elektriksel stimülasyonla oluşturulan kas kontraksiyonlarını da azaltmış, fakat bu etki indirekt kas kontraksiyonları üzerine olan etkiye göre daha düşük oranda meydana gelmiştir. 30 µg/ml'lik Benzonat uygulaması, direkt kas kontraksiyonlarını % 21 oranında azaltmış ve bu etki deney süresince devam etmiştir.

Benzonat'ın direkt kas kontraksiyonlarını azaltıcı etkisinin, ilacın nöromusküler bloke edici etkisine bağlı olup olmadığı da incelenmiştir. Yapılan 4 deneyde Benzonat uygulanmadan önce preparatlara 2 µg/ml dozunda d-tubokürarin verilerek tam bir nöromusküler blokaj elde edildikten sonra, direkt stimülasyonla oluşturulan cevapların Benzonat tarafından (30 µg/ml) istatistiksel olarak anlamlı ölçüde etkilenmediği gözlenmiştir.

Benzonat etkisi ile kısmi nöromusküler blokaj olduğu sırada organ banyosuna ilave edilen Neostigmin (0.5-1.0 µg/ml) Benzonat'ın etkisini ortadan kaldırmamıştır. Ayrıca, ortamın potasyum konsantrasyonunun yükseltilmesi de (5-20 mM) Benzonat'ın oluşturduğu nöromusküler blokajı or-

tadan kaldırmamıştır. Benzonatat'ın nöromüsküler blokaj yapıcı etkisi, preparatın ilaçsız solüsyonla yıkanmasından sonra ortadan kalkmaktadır. 5 dakikalık aralarla preparatların besleyici çözelti ile yıkanması indirekt kas kontraksiyonlarının % 90 oranında geri dönmesine neden olmaktadır. Bu çalışmada Benzonatat'a ait birikici bir etkinin bulunmadığı gözlenmiştir. Benzonatat'ın içinde eritildiği solvent ile yapılan deneylerde, 30 µg/ml Benzonatat konsantrasyonuna uygun olarak hazırlanan dilüsyonların direkt ve indirekt kas kontraksiyonlarını etkilemediği gözlenmiştir.

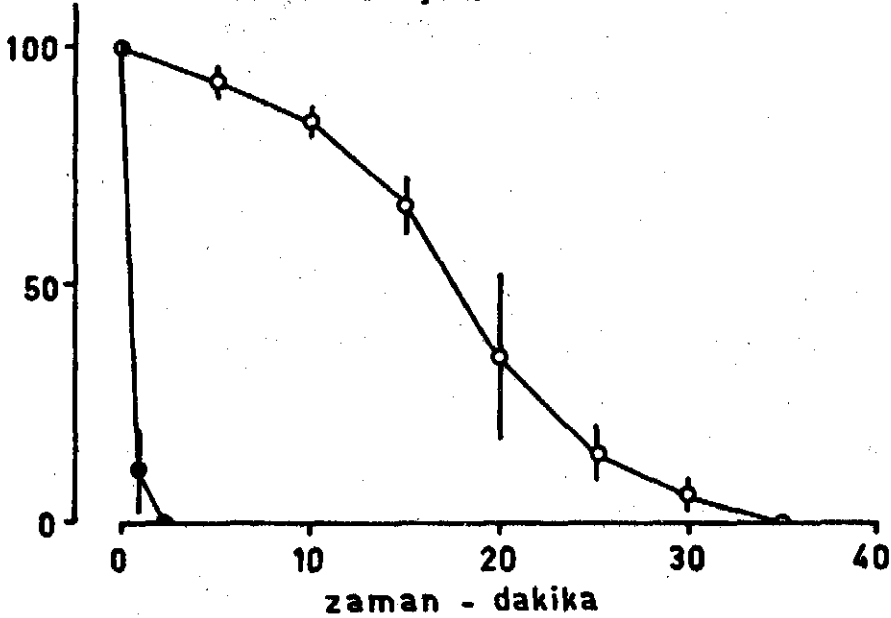
Benzonatat'ın nöromüsküler blokaj yapısı etkisinin ilacın, frenik sinir üzerindeki lokal anesteziye etkisine bağımlı olup olmadığı diğer bir grup deneyde incelenmiştir. Bu amaçla frenik sinir ayrı bir bölme içine alınarak, ilaç kullanılan en yüksek konsantrasyonda (30 µg/ml) direkt olarak frenik sinir üzerine uygulanmıştır. Bu deneylerin sonuçları Şekil 4 de görülmektedir. Benzonatat, lokal olarak frenik sinire uygulandığı zaman indirekt kas kontraksiyonlarında % 4 oranında bir azalmaya neden olmuştur. Aynı konsantrasyondaki Benzonatat, sinir-kas preparatının bulunduğu büyük organ banyosuna uygulandığında ilaca ait etkinin süratle oluştuğu ve etkinin direkt olarak frenik sinir üzerindeki lokal anesteziye etkiye bağılı olmadığı görülmektedir (Şekil 4).



Şekil 4: 30 µg/ml Benzonatate'ın sıçan frenik sinir-diyafragma preparatında nöromüsküler blokaj yapıcı etkisinin, lokal anestezik etkisi ile ilişkisi. Dikey eksen yüzde olarak indirekt kasılma amplitüdünü, yatay eksen dakika olarak zamanı, (-o-o-) 30 µg/ml Benzonatate'ın ayrı bölme içine alınan frenik sinir üzerindeki direkt etkisini, (-●-●-) ise 30 µg/ml Benzonatate'ın sinir-kas preparatının bulunduğu büyük banyo içine uygulanışı ile oluşan etkiyi göstermektedir. Dikey çubuklar standart hatayı belirtmektedir. n = 5.

IV.1.2. Benzonatat'ın nöromüsküler blokaj yapısı etkisinin ortam ısısı ile değişimi:

Benzonatat'ın nöromüsküler blokaj yapısı etkisinin ortam ısısı ile ilişkisini incelemek için 5 deneyde organ banyosunun ısısı 19°C ye düşürüldü ve Benzonatat'ın etkisi 37°C deki deneylerle karşılaştırıldı (Şekil 5). Düşük temperatürde $30\ \mu\text{g/ml}$ Benzonatat etkisi ile % 50 oranında nöromüsküler blokaj ortalama 17. dakikada, tam blokaj ise ortalama 35. dakikada oluşmaktadır. 37°C de ise aynı konsantrasyonda ilaç 2 dakika içinde tam nöromüsküler blokaj meydana getirmiştir. 19°C de 3 ve $10\ \mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarındaki Benzonatat direkt ve indirekt elektriksel stimülasyonla oluşturulan kas kontraksiyonlarını etkilememiştir.



Şekil 5: $30\ \mu\text{g/ml}$ Benzonatat'ın sıçan frenik sinir-diyafagma preparatında indirekt elektriksel stimülasyonla oluşturulan kas kontraksiyonları üzerindeki etkisinin temperatur ile değişmesi:

Dikey eksen yüzde kasılma amplitüdünü, yatay eksen dakika olarak zamanı, (-o-o-) 37°C de, (-o-o-) ise 19°C de $30\ \mu\text{g/ml}$ Benzonatat'ın etkisini gösterir. $n=5$.

IV.2. Kedi peroneal sinir-tibiyalis anterior preparatı üzerine Benzonatat'ın etkisi:

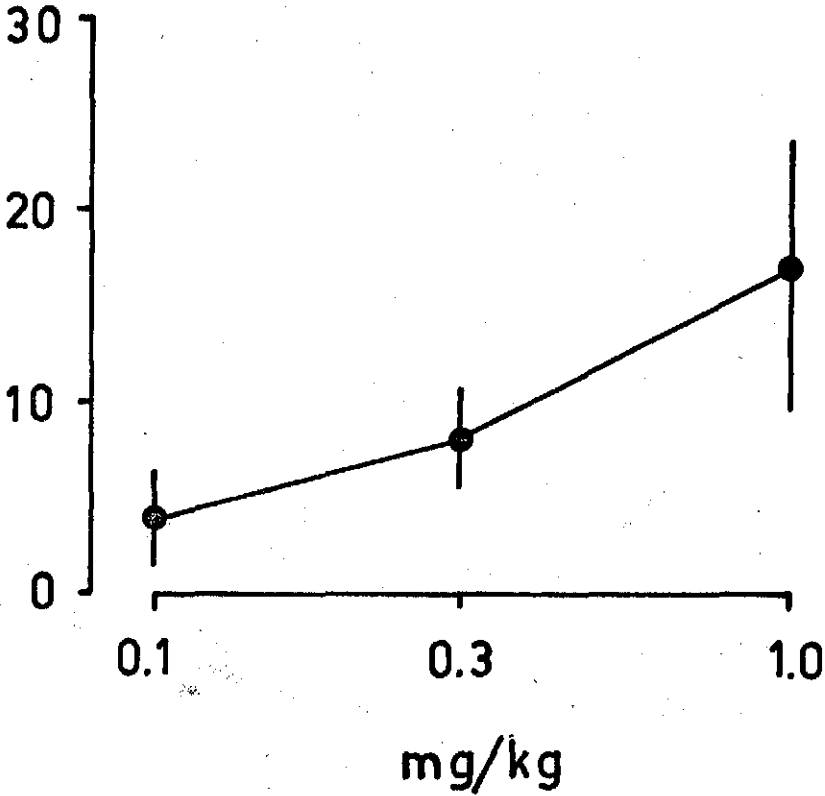
In vivo olarak yapılan deneylerde, kedi peroneal sinir-tibiyalis anterior preparatına i.v. yoldan 0.1, 0.3 ve 1.0 mg/kg dozlarında uygulanan Benzonatat, indirekt stimülasyonla elde edilen kas kontraksiyonlarını istatistiksel olarak anlamlı ölçüde etkilememiştir.

Üç ayrı deneyde peroneal sinir deney boyunca 0.1 pps frekansında stimüle edilerek kontrol kas kontraksiyonları kaydedilmiş ve 10 ar dakikalık aralarla 0.1 pps'lik stimülasyon kesilerek 5'er saniye süre ile 5, 10 ve 20 pps'lik stimülasyonlar uygulanmıştır. Bu suretle sinir tetanik olarak uyarıldıktan sonra tekrar 0.1 pps'lik stimülasyon frekansına döndürülmüş ve posttetanik potansiyalizasyon gözlenmiştir. Stimülasyon frekansındaki artışa bağımlı olarak kas kontraksiyon amplitüdülerinde tetanik uyarı öncesi değerlerine göre sırasıyla % ortalama 19.6, 35.7 ve 57 oranında bir potansiyalizasyon gözlenmiştir. Kontrol cevaplar elde edildikten sonra aynı preparatlara 0.1, 0.3 ve 1.0 mg/kg dozlarında Benzonatat verilmesini takiben posttetanik potansiyalizasyonun ilaç tarafından anlamlı ölçüde etkilenmediği gözlenmiştir.

IV.3. Benzonatat'ın kedide lingomandibüler refleks üzerine etkisi:

Benzonat, 0.1, 0.3 ve 1.0 mg/kg dozlarında, kedide lingomandibüler refleks aktivitede doza bağımlı olarak bir

azalma meydana getirmiştir (Şekil 6). Benzonat'ın bu etkisi bütün dozlarda ortalama 2 dakikada maksimuma ulaşmış ve 0.1 mg/kg için % 4, 0.3 mg/kg için % 7.7 ve 1.0 mg/kg için % 16.7 oranında oluşmuştur. Kedi peroneal sinir-tibiyalis anterior preparatında, Benzonat 1.0 mg/kg dozunda uygulandığında nöromusküler iletimi ve posttetanik potansiyalizasyonu etkilemediğine göre, ilacın bu etkisinin lingomandibüler refleks inhibisyonuna bağlı olarak meydana geldiği düşünülmüştür.



Şekil.6: Benzonat'ın kedide lingomandibüler refleks aktivitesi üzerine etkisi:

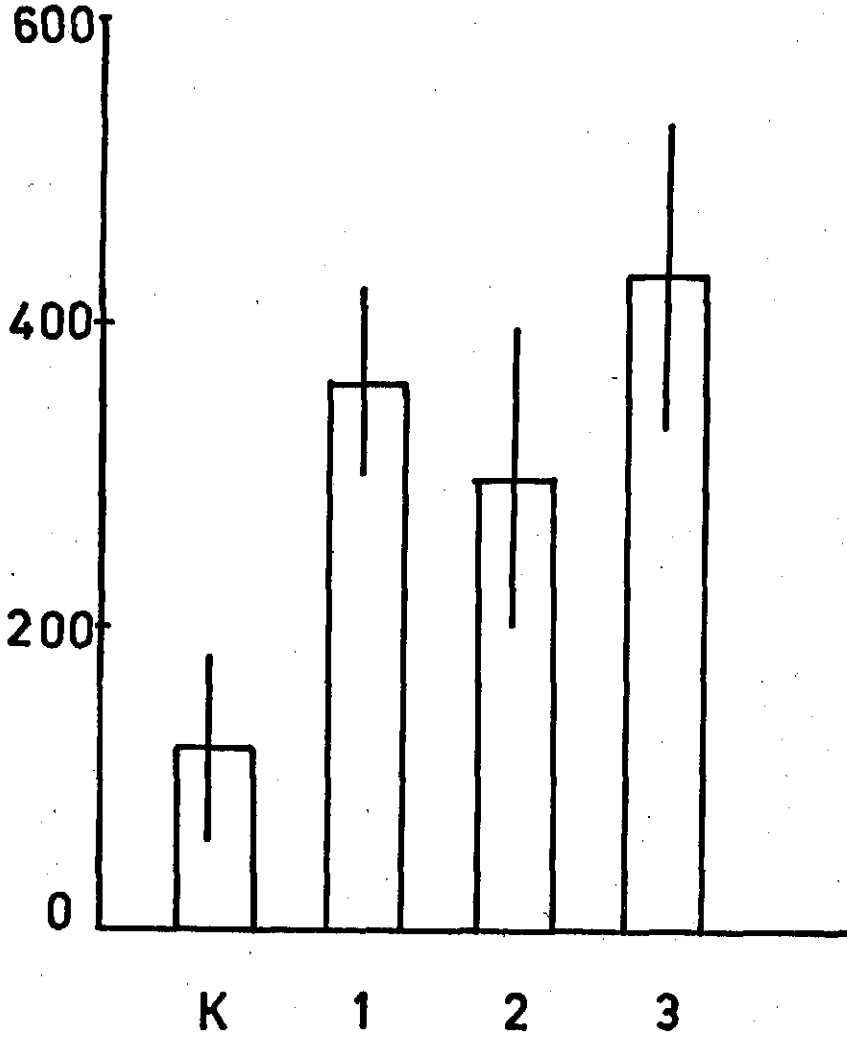
Dikey eksen lingomandibüler refleks aktivitesindeki yüzde inhibisyonu, yatay eksen Benzonat'ın mg/kg olarak dozlarını göstermektedir. Dikey çubuklar standart hatayı belirtmektedir. n = 4

IV.4.1. Benzonatat'ın sıçanlarda lokomotor aktivite üzerindeki etkileri

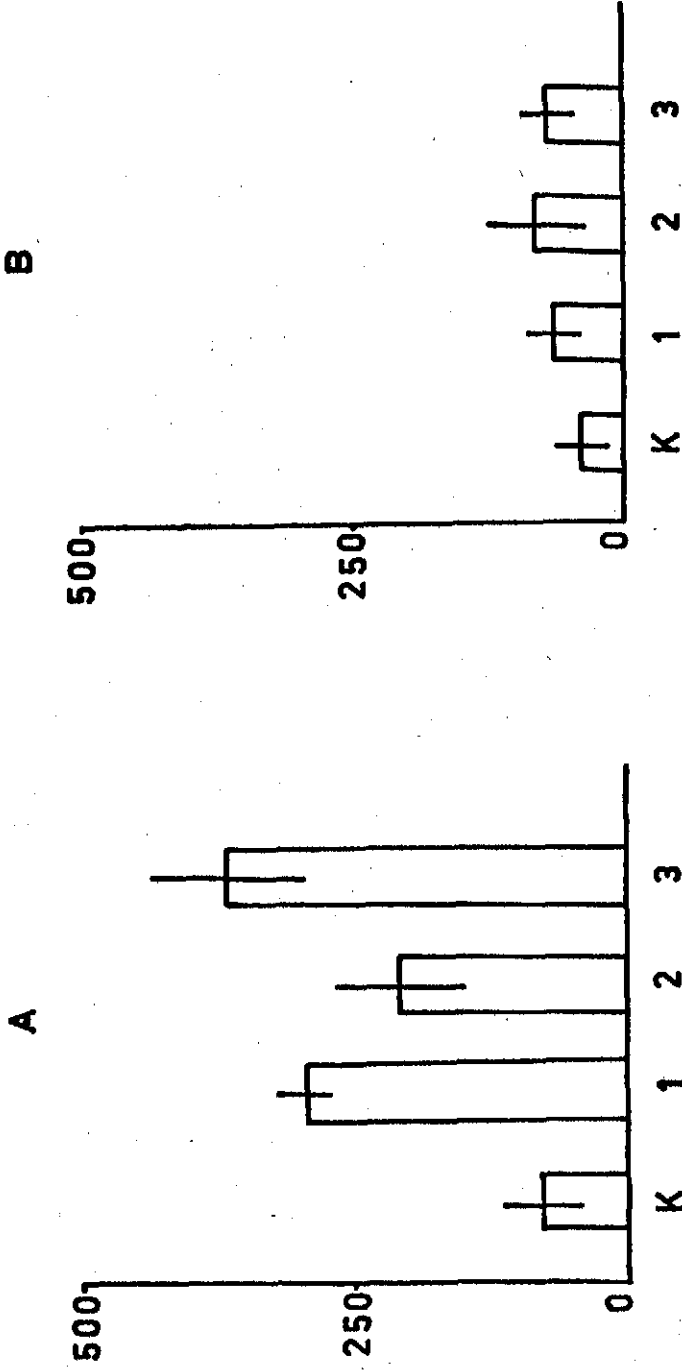
IV.4.1. Aktivite kafesi deneyleri:

Sıçanlar aktivite kafesine yerleştirildikten ve standart alıştırma periyodu olarak 12 dakika beklendikten sonra 60 dakika süre ile gözlemlenirken ortalama 119 ± 60 sayımlık bir aktivite göstermişlerdir. Bu aktivitenin % 65'i ilk 30 dakika içinde ve geri kalanı da 30 ve 60. dakikalar arasında kaydedilmiştir. Sıçanlara i.p. yoldan Benzonatat uygulandıktan sonra hayvanlar lokomotor aktivite yönünden değerlendirildiklerinde belirgin bir aktivite artışı saptanmıştır (Şekil.7). Bu artış, 5 mg/kg Benzonatat verilen sıçanlarda % 202 oranında, 20 mg/kg verilenlerde ise % 268 oranında olup her iki değer de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla, $p < 0.025$ ve $p < 0.02$). 10 mg/kg dozunda uygulanan Benzonatat'ın neden olduğu lokomotor aktivite artışı ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

İlacın lokomotor aktivite artırıcı etkisinin 60 dakikalık gözlem süresinin hangi döneminde oluştuğunu saptamak amacıyla ilk 30 dakikalık ve 30-60 dakikalık gözlem sürelerindeki kayıtlar ayrı ayrı değerlendirilmiştir (Şekil.8).



Şekil.7: Benzonatate'in sıçanlarda 0-60 dakikalık spontan motor aktivite üzerine etkisi. Dikey eksen 0-60 dakikalık motor aktiviteyi göstermektedir. K kolonu kontrol (n = 6), 1. kolon 5 mg/kg (n = 8), 2. kolon 10 mg/kg (n = 5), 3. kolon ise 20 mg/kg (n = 7) Benzonatate'in etkisini belirtmektedir. Dikey çubuklar standart hatayı göstermektedir. K kolonu ile 1. ve 3. kolonlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (sırasıyla, $p < 0.025$ ve $p < 0.02$).



-33-

Şekil 8

A. Benzonatat'ın sıçanlarğa 0-30 dakikalık spontan motor aktivite üzerine etkisi. Dikey eksen 0-60 dakikalık motor aktiviteyi göstermektedir. K kolonu kontrol (n=6), 1.kolon 5 mg/kg(n=8), 2.kolon 10 mg/kg(n=5), 3.kolon ise 20 mg/kg (n=7) Benzonatat'ın etkisini göstermektedir. K kolonu ile 1.ve 3.kolonlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (sırasıyla $p < 0.001$ ve $p < 0.01$).

B. Benzonatat'ın sıçanlarda 30-60 dakikalık spontan motor aktivite üzerine etkisi. Dikey eksen 30-60 dakikalık motor aktiviteyi göstermektedir. K kolonu kontrol (n=6), 1.kolon 5 mg/kg (n=8), 2.kolon 10 mg/kg(n=5) 3.kolon ise 20 mg/kg (n=7) Benzonatat'ın etkisini göstermektedir.

İlk 30 dakikalık gözlem döneminde Benzonat 5 ve 20 mg/kg dozlarında uygulandığında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde motor aktivite artışından dolayı olmuş (Şekil 8-A), (sırasıyla, $p < 0.001$ ve $p < 0.01$), ikinci gözlem döneminde ise (Şekil 8-B) ilaç alan ve almayan sıçanların motor aktiviteleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Benzonat'ın içinde eritildiği solvent ile yapılan deneylerde, 20 mg/kg'lık ilaç konsantrasyonuna uyacak şekilde hazırlanan dilüsyonların kullanıldığı koşullarda sıçanların lokomotor aktivitelerinde belirgin ölçüde değişiklik saptanmamıştır.

IV.4.2. Döner çubuk deneyleri:

Benzonat, bu grup deneylerde 5, 10, 20 ve 50 mg/kg dozlarında sıçanlara i.p. olarak uygulanmıştır. Kullanılan bütün dozlarda ve ilacın içinde eritildiği solvent ile yapılan kontrol deneylerde Benzonat ve solvent, sıçanların döner çubuk üzerinde kalış sürelerini etkilememiştir. Bu sonuçlar, Benzonat'ın kullanılan dozlarda ve akut olarak uygulandığında, sıçanlarda nörotoksik bir etkisi olmadığını ortaya koymaktadır.

IV.5. Benzonat'ın lokal anestezi aktivitesinin değerlendirilmesi

IV.5.1. Benzonat'ın kobay sırt derisinde infiltrasyon anestezisi yapıcı etkisi ve bu etkinin prokain ve prilokain ile karşılaştırılması:

2'lik Benzonat solüsyonu, kobay sırt derisine int-

radermal olarak uygulandığında lokal anesteziik aktivite gs-
termiştir. Benzonatat'ın bu etkisi ortalama 5. dakikadan iti-
baren başlamış ve 30 dakika devam etmiştir. Tablo I'de Benzo-
natat, prokain ve prilokain'in kobay sırt derisi üzerindeki
lokal anesteziik aktivitelerinin karşılaştırılması görülmek-
tedir. Her uę ilaç % 2'lik konsantrasyonlarda lokal aneste-
zik etkilerinin başlaması ve etkilerinin devam süreleri ba-
kımından istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemişlerdir.

TABLO I

% 2'lik Prokain, Prilokain ve Benzonatat'ın kobay sırt
derisindeki lokal anesteziik aktivitelerinin karşılaş-
tırılması:

<u>İlaçlar</u>	<u>Etkinin başlama süresi</u> <u>(dakika)</u>	<u>Etkinin devam</u> <u>süresi (dakika)</u>	<u>n</u>
Prokain	6.2 ± 1.2	25 ± 5	4
Prilokain	11.6 ± 4.4	25.6 ± 4.2	6
Benzonatat	5.0	30.8 ± 3.7	5

İlaçlar % 2'lik konsantrasyonda, kobay sırt derisi
içine 0.1 ml hacminde zerkedilerek lokal anesteziik etkinin
başlama ve devam süreleri değerlendirilmiştir. Her uę madde-
nin lokal anesteziik etkilerinin başlama ve devam süreleri
arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış-
tir.

IV.5.2. Benzonatat'ın lokal anesteziik aktivitesinin izole sıçan frenik sinir-diyafragma preparatında frenik sinire direkt olarak uygulamak suretiyle değeriendirilmesi:

$2.1 \times 10^{-3}M$, Benzonatat direkt olarak frenik sinire uygulandığı zaman, frenik sinirin elektriksel olarak uyarılması ile oluşan indirekt diyafragma kontraksiyonlarını ortalama 35 dakikada tam olarak bloke etmiştir. Aynı molar konsantrasyonda prokain'in etkisi, Benzonatat'a göre daha çabuk ortaya çıkmış ve prokain ortalama 10 dakikada indirekt diyafragma kontraksiyonlarını tam olarak bloke etmiştir (Tablo II).

TABLO II

İzole sıçan frenik sinir diyafragma üzerinde Prokain ve Benzonatat'ın lokal anesteziik etkilerinin karşılaştırılması:

<u>İlaç</u>	<u>Konsantrasyon</u>	<u>% 100 blokajın oluşma süresi</u>	<u>n</u>
Prokain	$2.1 \times 10^{-3}M$	9.8 ± 3.7	5
Benzonatat	$2.1 \times 10^{-3}M$	35.33 ± 18.6	3

İlaçlar, 2 ml'lik ayrı bölme içine alınan frenik sinire uygulanarak, indirekt stimülasyonla oluşturulan diyafragma kontraksiyonlarının tam olarak inhibe olması için geçen süre (dakika) değeriendirilmiştir.

Frenik sinire direkt olarak uygulandıklarında, her iki ilacın lokal anesteziik etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, Benzonatat'ın izole sıçan frenik sinir-diyafragma preparatında 37 °C de, indirekt kas kontraksiyonlarını bloke ettiği saptanmıştır. İlacın bu etkisi doza ve ortam sıcaklığına bağımlı olarak meydana gelmektedir. Benzonatat'ın bu etkisi 10 µg/ml'lik konsantrasyonlardan başlayarak ortaya çıkmakta ve ortam ısısının 37 °C den 19 °C ye düşürülmesi ile azalmaktadır. Benzonatat indirekt kas kontraksiyonlarını tam olarak bloke ettiği konsantrasyonlarda (30 µg/ml), direkt kas kontraksiyonlarını ancak % 16 oranında azaltmıştır. Bu bulgular, indirekt stimülasyonla oluşturulan kas kontraksiyonlarındaki inhibisyonun ilacın nöromüsküler bloke edici etkisine bağlı olduğunu göstermektedir. Ayrıca ortama d-tubokürarin konarak yapılan deneylerde, tam nöromüsküler blokaj oluşturulduktan sonra uygulanan Benzonatat'ın direkt kas kontraksiyonlarını etkilememesi, ilacın çizgili kas eksitabilitesini ve kontraktıl mekanizmaları etkilemediği şeklinde yorumlanmıştır.

Benzonatat esas itibariyle lokal anesteziğe ve özellikle tetrakaine benzer bir yapısı olması nedeniyle nöromüsküler aşarımı etkileyebileceği düşünülür. Ancak, frenik sinir-diyafragma preparatında, kullandığımız konsantrasyonlarda oluşan etkinin, ilacın direkt olarak frenik sinir üzerindeki lokal anesteziğe etkisi ile oluşup oluşma-

diğını incelediğimiz deneylerde, Benzonatat'ın nöromüsküler blokaj yapıcı etkisinin frenik sinirdeki iletemin blokajına bağlı olmadığı sonucuna varılmıştır. Benzonatat daha yüksek konsantrasyonlarda (2.1×10^{-3} M) kullanıldığı koşullarda, frenik sinir gövdesi üzerinde lokal anestezi etki oluşturarak aksonal iletimi bloke etmiştir. Ayrıca, kobay sırt derisinde, infiltrasyon anestezisi oluşturması bakımından incelendiğinde Benzonatat, etkin bir lokal anestezi olarak prokain ve prilokain ile yaklaşık aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır.

Benzonatat'ın lokal anestezi etkisi olduğu daha önceki çalışmalarda da gösterilmiştir (Bucher, 1956; Bein ve Bucher, 1957). Bu araştırmacılar, infiltrasyon anestezisi yapıcı etkisi bakımından Benzonatat'ın prokain ve lidokain'e göre daha aktif olduğunu ileri sürmüşlerdir. Nöromüsküler kavşaktaki motor sinir uçları myelin tabakasından yoksun olmaları nedeniyle sinir gövdesine oranla lokal anestezi etkiye daha duyarlıdır. Bu nedenle, frenik sinirdeki iletimin etkilenmediği konsantrasyonlarda da Benzonatat, çıplak sinir uçlarını anesteziye ederek presinaptik mekanizmalar aracılığıyla nöromüsküler blokaja neden olabilir. Bu görüşü destekler nitelikte olan deneysel bulgularımız şunlardır. Benzonatat'ın etkisi, kompetisyon veya depolarizasyon suretiyle nöromüsküler blokaj yapan ajanlarınkinden farklıdır. Şöyle ki,

ilaç etkisi ile kısmi nöromüsküler blokaj olduğu sırada neostigmin uygulayarak kolinesteraz inhibisyonu yapılması ilaç etkisinin zaman içindeki seyrini ve ortamın potasyum konsantrasyonunun artırılması da blokajın oluşumunu değiştirmemiştir. Kolinesteraz inhibisyonunun ve ortamdaki potasyum konsantrasyonunun yükseltilmesinin kompetisyon suretiyle nöromüsküler blokaj yapan ilaçların etkilerini antagone ettikleri bilindiğine göre (Blaber ve Christ, 1967; Maclagan, 1976; Koelle, 1975), Benzonatat'ın nöromüsküler blokaj yapıcı etkisinin kompetisyon suretiyle oluşmadığı ileri sürülebilir. Yapılan deneylerde ortam ısısının 37 °C den 19 °C'ye düşürülmesinin Benzonatat etkisinde gecikmeye neden oluşu ilacın kompetisyon suretiyle etki ettiği şeklinde değerlendirilebilir (Bigland, ve diğ. 1958) ancak, lokal anestezi ilaçlarının da düşük sıcaklıkta daha az etkili oldukları bilinmektedir (Guttman, 1968).

DeneySEL bulgularımızın değerlendirilmesi ile Benzonatat'ın depolarizasyon yapmak suretiyle nöromüsküler blokaja neden olmadığı söylenebilir. Kolinesteraz inhibisyonu Benzonatat etkisini potansiyalize etmemektedir. Benzonatat kedi peroneal sinir-tibiyalis anterior preparatında, kullanılan konsantrasyonlarda nöromüsküler blokaja neden olmamış ve posttetanik potansiyalizasyonu etkilememiştir. Depolarizasyon suretiyle etki eden ilaçların kedide sıçana göre daha

fazla etkili oldukları bilindiğine göre (Zaimis ve Head, 1975) Benzonatat'ın etkisinin depolarizasyon yapmak suretiyle oluşmadığı kabul edilebilir.

Benzonat'ın sıçanlarda lökomotor aktivite üzerine olan etkilerini incelemeye yönelik çalışmalar iki hususu ortaya koymuştur. Benzonatat, sıçanlarda spontan motor aktiviteyi anlamlı ölçüde artırmış ancak sıçanların döner çubuk üzerinde kalış sürelerini etkilememiştir. İlacın spontan motor aktiviteyi artırıcı tesiri lokal anestezi aktivitesi ile açıklanabilir. Lokal anestezi ajanlar, özellikle yüksek dozlarda kullanıldıklarında deney hayvanlarında ve insanda santral sinir sistemi stimülasyonuna neden olmaktadır (Taverner, 1960; Ritchie ve Cohen, 1975). Benzonatat'ın sıçanların döner çubuk üzerinde kalış sürelerini etkilememesi ise ilacın kullanılan dozlarda nörotoksik etkisinin olmadığı şeklinde yorumlanmıştır.

Benzonat'ın kedilerde polisınaptik reflekslerde inhibisyon yapıcı etkisi daha önce Bein ve Bucher tarafından 1957 de kedilerde gösterilmiştir. Bu çalışmada da Benzonatat'ın kedilerde 0.1-1.0 mg/kg dozlarında uygulandığında lingo-mandibuler refleks aktivitesinde inhibisyon yaptığı gözlenmiştir.

Kobay sırt derisinde infiltrasyon anestezisi yapıcı etkisi bakımından ve ayrıca frenik sinir üzerinde kondüksiyon a-

nestizisi yapıcı etkisi bakımından incelediğimiz çalışmamızda Benzonatat prokain ve prilokain ile karşılaştırılabilir düzeyde bir lokal anestezi aktiviteye sahip olarak bulunmuştur.

Ö Z E T

Kimyasal yapısı ve periferik etkileri bakımından lokal anesteziyelere benzeyen bir antitussif ajan olan Benzonat'ın periferik sinirsel mekanizmalar üzerine etkileri ile bazı santral etkilerinin incelendiği bu çalışmada Benzonat'ın memeli nöromusküler kavşağı üzerinde lokal anesteziyelere etkisine bağı olarak nöromusküler iletimi bloke edici etkisi olduğu saptanmıştır. Benzonat sıçan frenik sinir-diyafagma preparatında etkili bulunmasına karşın kedide bir nöromusküler blokaj oluşturmamış ancak, lingomandibüler refleks aktivitesinde inhibisyona neden olmuştur.

Benzonat sıçanlarda lökomotor aktivitede anlamlı ölçüde bir artışa neden olmuş ve bu etkisinin lokal anesteziyelere tesiri ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. Diğer taraftan akut olarak uygulandığında Benzonat sıçanlarda döner çubuk üzerinde kalış süresini etkilememiş ve dolayısıyla nörotoksisiteye neden olmamıştır.

Benzonat lokal anesteziyelere olarak değerlendirildiğinde, kobay sırt derisinde infiltrasyon anesteziyelere yapıcı etkisi ve frenik sinirde kondüksiyon anesteziyelere yapıcı etkisi bakımından prokain ve prilokain'e yaklaşık bir aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Bein, H.J. ve K. Bucher : Anaesthetische Wirkung an Lungendehnungsrezeptoren und anderen nervösen Substraten (Zur Pharmakologie des Tesselon).
Helv. Physiol. Acta, 15, 55-62, 1957.
2. Bickerman, H.A. : Clinical Pharmacology of Antitussive Agents.
Clin Pharmacol Ther., 3, 353-368, 1962.
3. Bickerman, H.A. ve S.E. Itkin : Further Studies on the Evaluation of Antitussive agents employing experimentally induced cough in human subjects.
Clin.Pharmacol. Ther., 1, 180-191, 1960.
4. Bigland, B., B.Goetzee, J.Maclagan ve E.Zaimis :
The effect of lowered muscle temperature on the action of neuromuscular blocking drugs. J.Physiol. (Lond.), 141, 425-434, 1958.
5. Blaber, L.C. ve D.D.Christ : The action of facilitatory drugs on the isolated tenuissimus muscle of the cat.
Int. J.Neuropharmacol., 6, 473-484, 1967.
6. Blaustein, M.P. ve D.E. Goldman : Competitive Action of calcium and procaine on lobster axon. J.Gen.Physiol., 49, 1043-1063, 1966.

7. Bucher, K. : Tessalon, ein hustenstillendes Mittel von neuartigem Wirkungsmechanismus. Schweiz. med. Wschr., 86, 94-96, 1956.
8. Bulbring, E. : Observations on the isolated phrenic nerve diaphragm preparation of the rat. Brit. J. Pharmacol., 1, 38-61, 1946.
9. Bulbring, E. ve I. Wajda : Biological Comparison of Local anaesthetics. J.Pharmacol., 85, 78-84, 1945.
10. Del Castillo, J. ve B. Katz : Interaction at end-plate receptors between different choline derivatives. Proc. R.Soc. B., 146, 369-381, 1957.
11. Chen, J. Y. P., H. F. Biller ve E. G. Montgomery, Jr. : Pharmacological studies of a new antitussive, alpha (Dimethylaminoethyl)-orto-chlorobenzhydrol hydrochloride (SL-501, Bayer B-186). J. Pharmacol. Exp. Ther., 128, 384-391, 1960.
12. Darke, C. S., D. Verel, J. J. Daly ve W. R. Layland: Action of "Tessalon" on the dyspnoea of patients with chronic lung disease. Brit. Med. J., 1, 622-624, 1959.
13. Dunham, N.W. ve T.S.Miya : A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. J.Amer. Pharma. Assoc., 46, 208-209, 1957.

14. Ellis, C.H., A.L. Wnuck, E.J. Beer ve F.F. Foldes:
Modifying actions of procaine on the myoneural
blocking actions of succinylcholine, decamethonium
and d-tubocurarine in dogs and cats.
Amer. J. Physiol., 174, 277-282, 1953.
15. Frank, G.B. ve H.D. Sanders : A Proposed common mechanism
of action for general and local anaesthetics in the
central nervous system. Brit. J. Pharmacol. Chemother.,
21, 1-9, 1963.
16. Franz, D.N. : Drugs for Parkinson's Disease; Centrally
Acting Muscle Relaxants. The Pharmacological Basis
of Therapeutics de (Goodman, L.S. ve A. Gilman, Eds.)
Mac Millan Publishing Co., Inc., New York, 1975.
17. Furukawa, T. : Properties of the procaine end-plate
potential. Jap. J. Physiol., 7, 199-212, 1957.
18. Gerald, M.C. ve T.K. Gupta : The effects of amphetamine
isomers on rotarod performance. Psychopharmacol.,
55, 83-86, 1977.
19. Godstein, A. : Biostatistics and introductory text. The
Mc Millan Co., New York, 1971.
20. Gregoire, F., Y. Thibaudeau ve M. Comeau : The treatment
of cough by a non-narcotic antitussive.
Canad. M.A.J., 79, 180-184, 1958.

21. Guttman, R. : Effect of low sodium, tetrodotoxin and temperature variation upon excitation.
J.Gen.Physiol., 51, 621-634, 1968 b.
22. Henneman, E., A.Kaplan ve K.Unna : A neuropharmacological study on the effect of myanesin (Tolserol) on motor systems. J.Pharmacol. Exp. Ther., 97, 331-341, 1949.
23. Herzog, H. : Polyäthylenglykolderivate mit hustenstillender Wirkung, insbesondere Tessalon. Schweiz.med. Wschr., 86, 96-99, 1956.
24. Hirst, G.D.S. ve D.R.Wood : On the neuromuscular paralysis produced by procaine. Br.J.Pharmacol., 41, 94-104, 1971.
25. Hudson, R.D. ve M.K.Wolpert : Central muscle relaxant effects of diazepam. Neuropharmacol., 9, 481-488, 1970.
26. Koelle, G.B. : Neuromuscular Blocking Agents.
The Pharmacological Basis of Therapeutics.de
(Goodman, L.S. ve A. Gilman, eds.) Macmillan Co.,
Inc., New York, 1975.
27. MacLagan, J. : Competitive neuromuscular blocking drugs.
Neuromuscular Junction'da. (Ed. Zaimis, E.) Springer-
Verlag, Berlin. Heidelberg, New York, 1976.

28. Maeno, T. : Analysis of sodium and potassium conductances in the procaine end-plate potential. *J. Physiol.*, 183, 592-606, 1966.
29. Michelson, A.L. ve I.W.Schiller : The effect of ω -methoxy-poly (ethyleneoxy) ethyl p-butylaminobenzoate (Tessalon) on ventilation and lung volumes. *J.Allergy*, 28, 514-518, 1957.
30. Narahashi, T. ve D.T.Frazier : Site of action and active form of local anaesthetics. *Neurosci. Res.*, 4, 65-99, 1971.
31. Ngai, S.H., D.T.C.Tseng ve S.C.Wang : Effects of diazepam and other central nervous system depressants on spinal reflexes in cats. *J.Pharmacol. Exp.Therap.*, 153, 344-351, 1966.
32. Ritchie, J.M, ve P.J.Cohen : Local Anaesthetics. The Pharmacological Basis of Therapeutics.de (Goodman, L.S. ve A.Gilman, eds.) Mac Millan Co., Inc., New York, 1975.
33. Salgado, A.S. : Potentiation of succinylcholine by procain. *Anesthesiology*, 22, 897-899, 1961.
34. Shane, S.J., T.K.Krzyski ve S.E.Copp : Clinical evaluation of a new antitussive agent. *Canad.M.A.J.*, 77, 600-602, 1957.

35. Simon, S.W. : A new non-narcotic, antitussive drug.
Annals of Allergy, 15, 521-525, 1957.
36. Stefko, P.L., J.Denzel ve I.Hickey: Experimental
investigation of nine antitussive drugs.
J.Pharmacol.Sci. 50, 216-221, 1961.
37. Steinbach, A.B. : Alteration by Xylocaine (Lidocaine)
and its derivates of the time course of the end-
plate potential. J.Gen.Physiol., 52, 144-161, 1968 a.
38. Steinbach, A.B. : A kinetic model for the action of
Xylocaine on receptors for acetylcholine.
J.Gen.Physiol., 52, 162-180, 1968 b.
39. Straughan, D.W. : The action of procaine at the
neuromuscular junction. J.Pharm. Pharmacol.,
13, 49-52, 1961.
40. Strichartz, G.R. : The inhibition of sodium currents
myelinated nerve by quaternary derivatives of
Lidocaine. J.Gen.Physiol., 62, 35-57, 1973.
41. Taverner, D. : The action of local anaesthetics on
the spinal cord of the cat.
Br.J.Pharmacol., 15, 201-206, 1960.
42. Tseng, T.C. ve S.C.Wang: Locus of action of centrally
acting muscle relexants, diazepam and tybamate.
J.Pharmacol.Exp.Therap., 178, 350-360, 1971.

43. Varagic, V.M., D.Kentera ve D.Vranes : The effect of imidazole on the isometric contractility of the isolated hemidiaphragm of the rat.
Europ.J.Pharmacol. 35, 325-332, 1976.
44. Zaimis, E. ve S.Head : Deploring neuromuscular blocking drugs. Neuromuscular Junction'da.
(Zaimis, E., ed.) Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1976.