

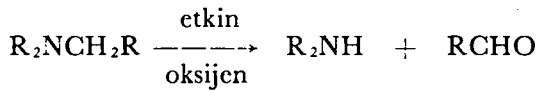
İLAÇLARDA MİKROZOMAL DEALKİLASYON TEPKİSİ

Şükrü Gürtunca*

Alifatik bir hidrokarbonun bir hidrojen atomu yitirmesiyle oluşan radikale "alkil" denir. Alkil öbeğinin yitmesi olayına da "dealkilasyon" adı verilir. 1939'da ilk kez, Butler ve Bush sentetik bir ilaç olan dimetilbarbital'in köpeklerde *in vivo* N-demetilasyona uğradığını saptamışlardır. Daha sonra, dealkilasyon tepkisinin ilaç metabolizmasınının major bir aşaması niteliğinde olduğu anlaşılmıştır. *In vitro* düzeydeki çalışmalarsa 1953'de başlamıştır. Bu alanda Mueller ve Miller karsinojen iradaki p-dimetilaminoazobenzen boyasının karaciğerde demetile edildiğini belirtmişlerdir.

İlaçların büyük bir bölümü, ksenobiyotik özdekler ve steroidal hormonların metabolizması, memeli hayvanlarda karaciğerde mikrozomal fraksiyonda yerleşmiş enzimler tarafından katalize edilmektedir. Sözü edilen enzimler Cytochrome P-450'den yararlanarak, indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ile moleküler oksijen sağlarlar. Ayrıca endoplasmik retikulumun ilaçların safra ile atılmasında özel rolü vardır^{2,8,9,16}.

Dealkilasyondan başka mikrozomal enzimler aromatik hidrosilasyon, yan zincir oksidasyonu, thioeterlerin S-oksidasyonu, tersiyer aminlerin N-oksidasyonu ile fosforothionatların oksidasyonunu da katalize ederler. N-dealkilaz dizgesince metilen dışındaki alkil öbekleri de oksidatif yolla kaldırılmaktadır. Oksidatif N-dealkilasyon tepkisi aşağıdaki eşitliğe uymaktadır.



* A. Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsü Doçenti.

Mikrozomal dealkilaz dizgesinin substratları; tersiyer ve sekonder aminler, N-alkil amidler, N-alkil karbamatlar, N-metil barbitürük asidler, N-metil imidler, N-metil pirofosforamidler, N-metil pürin bazları, N-metil sülfonamidler, steroidal hormonlar, arilalkil eterler ve aril metil thioeterlerdir.

Mikrozomal dizgece dealkile edilen tersiyer aminlerin sayısı bir hayli kabarıktır. Bunların deneysel gözlemlerle bağdaşan bir tek kimyasal ya da fiziksel özellik altında toplamak olanak dışıdır. Bununla beraber tersiyer aminlerin çoğunun substrat niteliği lipidde erimelerinde yatmaktadır. Bu öneri ilginçtir; çünkü, hücrelerin temel lipid- taşıyan strüktürü endoplasmik retikulumdur. Bunun yansıra bu öneri, doğal olarak bulunan metilli amino asidler gibi polar aminlerin niçin ya da neden dealkile edilmediğine de açıklık getirmektedir.

Fenilpropildimetilamin, feniletildimetilamin ve benzildimetilamin gibi birbirine yakınlığı apaçık bileşiklerin hem *in vivo* ve hem de *in vitro* demetilasyon hızının, lipidde erirlik artışı ile koşutluk göstermesi yanında; *in vivo* memeli türüne göre substrat etkinliğinin aşağı yukarı eşit olduğu olayı ile de karşılaşılmaktadır. Lipidde erirlik ile substrat etkinliği arasındaki uyuşma doğa yönünden tüm alifatik olan substratlarda da görülmektedir. Tersiyer aminlerde demetilasyon hızının denetiminde lipidde erirlik major etken niteliğindedir.

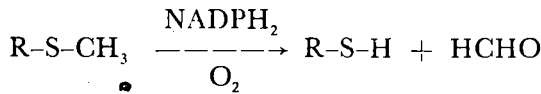
Tersiyer aminler substrat olarak sekonder aminlerle karşılaştırılınca -sözgelimi, dimetilaminler sekonder metilaminlerle karşılaştırıldığında- maksimum demetilasyon hızının tersiyer aminlerde yüksek olduğu sonucu çıkar. Sekonder metilaminler anzime karşı tersiyer dimetilminden daha çok eğim gösterir. Çünkü sekonder aminde bağlanmayı kolaylaştıran nitrojene karşı daha az sterik engel vardır. Bu amin öbekleri arasında demetilasyon hızının değişik olması önemli farmakolojik sonuçlar doğurmaktadır. Örneğin, analjeziklerden asetilmethadol hem *in vivo* ve hem de *in vitro* dizgede, sekonder amin analogu norasetilmethadol'dan çok daha hızlı demetile olmaktadır. Bu ayırım asetilmethadol uygulanmasından sonra dokularda norasetilmethadol birikimine yol açar¹⁷. Antidepresan bir ilaç olan imipramin'in bu özelliği *in vivo* des-N-metilimipramin'in oluşumuna bağlıdır⁵. Nikotinin pirrolidin halkasının *in vivo* açılması da bunun örneğidir.

İntakt ratlarda ve karaciğer homogenatlarında p-nitroanisol ve p-nitrofenetol O-dealkilasyona uğrar. Anisol türevlerinde halka sübstütüsyonu da ilginçtir ve demetilasyon hızını etkiler; p-sübstütütlü

analoglar o- ya da m- türevlerinden daha çabuk demetile edilir. p-Süstitütlü anisollerde metabolizma CN, CHO, NHCOCH₃, COOH, CH₂-NH₂, H sırasını izliyerek yavaşlar. p-Nitrofenilalkoksietler'lerde alkil öbeğinin değişmesi dealkilasyonu etkilediği gibi, alkil öbeğinin zincir uzunluğu artarsa dealkilasyon kısıtlanır. Bununla beraber metilene elektron verici öbekler sokulunca hız yine artar. Allil, cyanometil ve benzil, n-propil ya da kloroetil'den daha etkin substratlardır. Kodein'in O-dealkilasyonu morfin ve formaldehid verir¹. Morfin ve konjenleri methadon ve meperidin nor-türevleriyle formaldehide demetile olurlar. İlaçlarda çok görülen dialkilaminoctoksi öbeklerinde O-dealkilasyon görülmez.

N-alkilamidlerden N-metil barbitüratlar ve bunlara bağlı N-metil heterosiklik bileşikler de intakt hayvanda demetile olur. Hexobarbiton hem demetile olur ve hem de oksidlenir, sonuçta şidikte norhexobarbiton ve keto türevleri görülür.

Mazel *et al.*¹⁵ mikrozomal dealkilaz dizgesinin S-metil eterleri S-demetile ettiğini kanıtlamışlardır. Bu buluş, mikrozomal oksijenaz dizgesinin non-spesifik oluşunu ileri sürenlerin savını güçlendirmiştir. R-S-CH₃ tipte bileşikler burada söz konusudur. Formüldeki R pürin, bir barbitürat, amidin, benzothiazol, hidrojen ya da amino asid olabilir.



N-metil sülfonamidlerle N-alkil sülfonamidler, oktametil pirofosforamid türünden kolinesteraz inhibitörlerinin mikrozomal oksidasyonunu anımsatacak biçimde demetile edilir. S- triazin herbisidleri, chlordiazepoxide, diazepam, levallorphan'dan RNA ve DNA'nın minor konstituentleri olan çeşitli metilli pürin bazlarında yine demetilasyon görülür^{7, 11, 13, 14, 19, 20}.

İlâcın etki süresi ve yoğunluğu metabolizmasına bağlıdır. Mikrozomal anzimlerin indüksiyonu da çok önemlidir farmakolojik açıdan. *In vivo* ilâçların biyotransformasyon hızı bununla çabuklaşır. Sözelimi, bu anzimlerin indüksiyonu pentobarbital, meprobamate, striknin, probenecid, bishydroxycoumarin, warfarin, 3,4-benzopyrene, lidocaine, mepivacaine, phenylbutazone, zoxazolamine v.b.'in akut toksisitesini düşürür^{4, 12}.

Karaciğer mikrozomal dizgesinden başka doğada N-metil öbeğini oksidleyen başka anzim dizgeleri de vardır. Berberin'de olduğu üzere bazan alkaloid biyogenezisinde N-metil öbeğinin oksidasyonu

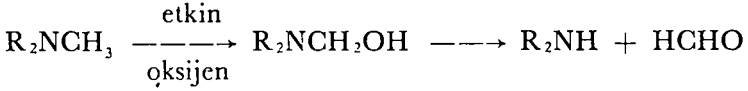
görülür. *Vinca rosea*'nın alkaloidleri leucrocristine ile vincalucoblastine özdeştir, salt birincide N-metil öbeğinin yerini N-CHO öbeği doldurmuş durumdadır. Bu dönüşüm iki aşamada, hidroksimetil intermediatı aracılığı ile olmaktadır; tıpkı karaciğerde nikotinin cotinin'e, ya da tremorin'in oksitremorin'e dönüşmesi gibi. Aynı biçimde *Nicotiana glutinosa*'da da nikotin nornikotin'e çevrilmektedir. Thebain, morfin'in prekürsoru olduğuna göre ikinci alkaloid iki O-demetilasyon sonunda oluşmaktadır²².

Oksidatif N-dealkilasyonu katalize eden enzimlerin bir bölümü de karaciğer mitokondria'sında bulunmaktadır. Bunlar, N,N-dimetilglisin gibi N-metil amino asitlerin N-demetilasyonundan sorumludurlar. Ayrıca dimetil triptamin gibi bazı polar a-minlerin de oksidasyonunu sağlarlar.

Aşağıdaki tablo intakt hayvana verildiği zaman dealkile edilen çeşitli bileşikler göstermektedir. Çizelge geniş tutulmamıştır; yalnız çeşitli kimyasal ve fizyolojik tipteki bileşikler bir arada gösterecek biçimde düzenlenmesi amaç alınmıştır.

Bileşik	Klasifikasyon	Dealkilasyon tepkisi
Aminopyrine	Antipüretik	N-Demetilasyon
Caffeine	Stimülan	"
Chlorcyclizine	Antihistamin	"
Chlorpromazine	Trankilizan	"
Dimetilaminoazobenzen	Karsinojen	"
Diphenamid	Herbisid	"
Ephedrine	Sempatomimetik	"
Erythromycin	Antibiyotik	"
Hexobarbital	Sedatif	"
Imipramine	Antisedatif	"
Methadone	Analjezik	"
Mepivacaine	Yerel anestezi	"
Trimethadione	Antikonvülzan	"
Biochanin A	Estrojen	O-Demetilasyon
Brucine	Konvülzan	"
Butamoxane	Adrenerjik bloke edici	N-Debütilyasyon
Chloroquine	Antimalarial	N-Deetilasyon
Codeine	Analjezik	O-Demetilasyon
Mescaline	Hallüsinojen	"
Methylthiopurine	Antimetabolit	S-Demetilasyon
Nalorphine	Morfin antagonisti	N-Deallilasyon
Phenacetin	Antipüretik	O-Deetilasyon

Konu, buraya kadar yapısal-görevsel bir yaklaşımla ele alınmıştır. Şimdi de mekanizma açısından panoramik de olsa bir özetlemeyle konuyu bütünleyeceğiz. Dimetilaminoazobenzen'in *in vitro* demetilasyonu N-hidroksimetil intermediatı yoluyla gerçekleşmektedir. Bu durumda tepki aşağıdaki eşitlikle belirtilir.



İntermediat bazı olaylarda durağan ırada olduğundan yalıtımı yapılabilmektedir. Örneğin, oktametil pirofosforamid'in intermediatı N-hidroksimetilheptametil pirofosforamid bu özelliğindedir²¹. Diphenamid ve N-metil-alfa-fenil-alfa-etil glutarimid'de ise hidroksimetil intermediatı glukuronid gibi durağan türevlere dönüşür. Dorough ve Casida⁶ alfa-naftil N-metilkarbammat ve o-izopropok-sifenil N-metilkarbammat'ın konjuge olmayan N-hidroksimetil türevlerinin de stabil metabolitler olduğunu göstermişlerdir. O ve S-dealkilasyonda da analog metabolitler söz konusudur. Methionin'in de sülfoksid intermediatı aracılığıyla demetile edildiği ileri sürülmüştür. Yalnız methionin, metil oksidasyondan çok metil transferiyle metabolize olur. Bu nedenle yukarıdaki mekanizmanın geçerliği methionin demetilasyonunda söz konusu olamaz kanısındayız. Mikrozo-mal dealkilasyon tepkisinde hidroksimetil intermediatı nasıl oluşmaktadır? Alkaloid biyosentezi ve mitokondrial amino asid demetilazları üzerindeki incelemeler, hidroksimetil intermediatının tersiyer aminlerin N-oksit intermediatından doğduğu sonucunu vermektedir.

Askorbik asid ve demir şelatından oluşmuş kimyasal bir dizgede dimetilaminoazobenzen'in N-oksit intermediatı yoluyla demetile edildiği aydınlatılmıştır³. Dimetilanilin N-oksit, karaciğer mikrozo-mları karşısında metilanilin ile formaldehide çevrilir. Bununla beraber dimetilanilin N-oksit zayıf bir substrattır.

Bugün, gerek N-oksitasyon ve gerekse N-dealkilasyon tersiyer aminlerin metabolizmasında seçeneysel basamaklar sayılmaktadır. Mikrozo-mların kolatla muamelesinde N-oksitasyon yeteneği zarar görmemektedir; oysa dealkilaz ve hidroksilaz etkinliği yitmektedir. Mikrozo-mların N-oksitasyon yeteneği ayrı bir dizge sayılmak gerekir.

Mikrozo-mal dealkilasyon tepkisi hidroksilasyon tepkisi biçiminde belirtildikte daha kolay anlaşılacaktır.

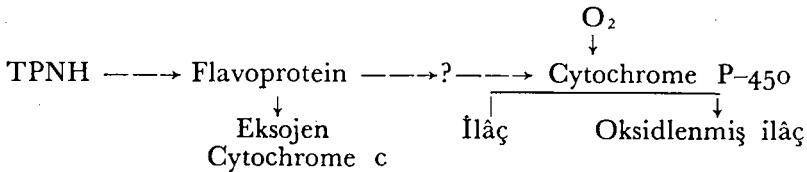


Bu tipteki bir mekanizma; dealkilasyon ile mikrozo-mal hidroksilasyon ilişkisini aydınlatması, R ile X'in doğasına bakılmaksızın geçerli olması ve doymuş karbon atomuna oksidatif akımı göstermesi yönlerinden anlamlıdır. Eskiden mikrozo-mal hidroksilasyon hete-

rosiklik mekanizma biçiminde nitelenmiştir. Şimdi serbest radikal intermediatlar daha çok ilgi toplamaktadır. Breslow ve Lukens³ non-enzimatik hidroksilasyon dizgilerinin verilerine göre hidroksil radikalleri etkin hidroksilasyon ajanı saymak eğilimindedirler. Gerek enzimatik ve gerekse non-enzimatik hidroksilasyon incelemelerine dayanılarak etkin intermediatın OH ya da OOH radikali olabileceği de savunulmaktadır. İlaçların mikrozomal oksidasyon literatürü gözden geçirilince bilinen olaylarla serbest radikal mekanizmasının daha çok uyum içinde olduğu saptanır.

Dimetilamidler persülfat iyonu tutan sulu çözeltilerde serbest radikal mekanizmasıyla hemen demetile edilirler. N-dealkilasyonun N-demetilasyondan daha hızlı gerçekleşmesi serbest radikal mekanizmasıyla açıklanmaktadır. Çünkü allil radikali $-N'-CH-CH=CH_2$ daha çabuk oluşur. Aynı nedenle O-allil, O-benzil ve O-cyanometil aril eterlerin O-dealkilasyonu serbest radikal mekanizması uyarınca gerçekleşir. S-demetilasyona gelince, oluşan radikal kükürt olduğundan elektron paylaşma rezonansla durağanlık kazanır. Çünkü kükürt açık üçüncü orbitalden yararlanarak valans çemberini 9 elektrona kadar yayabilir. Serbest radikal mekanizmasını açıklığa kavuşturan mikrozomlarca oluşturulan yan zincir oksidasyonu incelemeleridir. (epsilon-1)-hidroksilasyon (epsilon)-hidroksilasyondan daha yaygındır. Bu $-CHCH_2$ radikalinin $-CH_2CH_2$ radikali ile karşılaştırıldığında daha durağan oluşuyla ilgilidir. Buna değgin örnekler çoktur; sözgelimi, aromatik halka yerine hidroksilasyonun benzil karbonunda gerçekleşmesi gibi. Bu gözlemler, ancak benzil radikallerinin durağanlığı ile açıklanabilir. Yan zincir hidroksilasyonu üzerindeki araştırmalar, major üründen başka küçük oranda izomerik alkollerin oluştuğunu da göstermektedir. Bu türden olan non-spesifik durumlar serbest radikal tepkilerinde oldukça görülmektedir.

Bu konuda, Hayaishi¹⁰ oksijenazların etkimesiyle ilgili genel bir varsayım önermektedir. Bu varsayım; oksijen, 2 değerli demir ve substrattan kurulu terner bir komplekse dayanmakta olup, elektron transferi düzeniyle tepkiyerek oksijenlenmiş substrat verir. Mikrozomların oksijeni etkinleştirme dizgesi konusunda bir hayli ilerleme olmuşsa da, ilaçların oksidasyonu ve etkin oksijenin doğası tümcek aydınlatılmış sayılmaz. Elektron transportu dizgesi aşağıdaki şemada belirtilmiştir.



Cytochrome P-450 karaciğer mikrozoamlarında bulunmaktadır. İndirgenmiş Cytochrome P-450 oksijenle tepkir ve etkin oksijen oluşur^{4,18}. Bu etkin oksijen de ilaç ya da steroid substrata geçer.

Sonuç, mikrozomal dealkilasyon biyolojik degradasyonun önemli bir şeklidir ve serbest radikal hidroksilasyon tepkisi olarak yorumlanması gerekir.

Literatür

1. **Axelrod, J.** (1955): *The enzymatic conversion of codeine to morphine.* J. Pharmacol. Exptl. Therap., 115, 259.
2. **Axelrod, J.** (1956): *The enzymatic N Demethylation of narcotic drugs.* J. Pharmacol. Exptl. Therap., 117, 322.
3. **Breslow, R. and Lukens, L. N.** (1960): *On the mechanism of action of an ascorbic acid-dependent non enzymatic hydroxylating system.* J. Biol. Chem., 235, 292.
4. **Conney, A. H.** (1967): *Pharmacological implication of microsomal enzyme induction.* Pharmacol. Rev., 19, 317.
5. **Dingell, J. V. Sulser, F. and Gillette, J. R.** (1964): *Species differences in the metabolism of imipramine and desmethylimipramine.* J. Pharmacol. Exptl. Therap., 143, 14.
6. **Dorough, H. W. and Casida, J.** (1964): *Nature of certain carbamate metabolites of the insecticide Sevin.* J. Agr. Food Chem., 12, 294.
7. **Dudley, K. H., Bius, D. L. and Butler, T. C.** (1970): *Metabolic fates of 3-ethyl-5-phenylhydantoin, 3-methyl-5-phenylhydantoin and 5-phenylhydantoin.* J. Pharmacol, Exptl. Therap., 175, 27.
8. **Gillette, J. R.** (1966): *Biochemistry of drug oxidation and reduction by enzymes in hepatic endoplasmic reticulum.* Adv. Pharmacol. 4, 219.
9. **Gram, T. E., Guarino, A. M., Schroeder, D. H., Davis, D. C., Reagan, R. L. and Gillette, J. R.** (1970): *The effect of starvation on the kinetics of drug oxidation by hepatic microsomal enzymes from male and female rats.* J. Pharmacol. Exptl. Therap., 175, 12.
10. **Hayaishi, O.** (1964): *Proceedings of the plenary sessions.* 6 th. International Congress of Biochemistry. New York.
11. **Henderson, J. F. and Mazel, P.** (1964): *Demethylation of purine analogs by microsomal enzymes from mouse liver.* Biochem. Pharmacol., 13, 207.

12. **Levine, W. G.** (1970): *The role of microsomal drug-metabolizing enzymes in the biliary excretion of 3,4-Benzpyrene in the rat.* J. Pharmacol. Exptl. Therap., 175, 301.
13. **Mannering, G. J. and Schanker, L. S.** (1958): *Metabolic fate of Levo-3-hydroxy-N-allymorphinan.* J. Pharmacol. Exptl. Therap., 124, 296.
14. **Maynert, E. W.** (1965): *On the Specificity of penultimate oxidation.* J. Pharmacol. Exptl. Therap., 150, 476.
15. **Mazel, P., Henderson, J. F. and Axelrod, J.** (1964): *S-Demethylation by microsomal enzymes.* J. Pharmacol. Exptl. Therap., 143, 1.
16. **Mazel, P., Kerza-Kwiatecki, A. and Simanis, J.** (1966): *Studies on the demethylation of puromycin and related compounds by liver microsomal enzymes.* Biochim. Biophys. Acta, 114, 72.
17. **McMahon, R. E., Culp, H. W. and Marshall, F. J.** (1965) *The metabolism of alfa-dl-acetylmethadol in the rat. The identification of the probable active metabolite.* J. Pharmacol. Exptl. Therap., 149, 436.
18. **Omura, T., Sato, R., Cooper, D. Y., Rosenthal O. and Estabrook, RW.** (1965): *Function of Cytochrome P-450 of microsomes.* Federation Proc., 24, 1181.
19. **Plummer, J. R., Kearney, P. C. and Klingebiel, U. İ.** (1971): *S-Triazine herbicide deaklylation by free-radical generating systems.* J. Agr. Food Chem., 5, 123.
- 20- **Schwartz, M. A., Koechlin, B. A., Postma, E., Palmer, S. and Krol, G.** (1965): *Metabolism of diazepam in rat, dog and man.* J. Pharmacol. Exptl. Therap., 149, 423.
21. **Spencer, E.Y., O'Brien, R.D. and White, R. W.** (1957): *Permanganate oxidation products of Schradan.* J. Agr. Food Chem., 5, 123.
22. **Stermitz, F. R. and Rapoport, H.** (1961): *O-Demethylation as a biosynthetic pattern in the formation of opium alkaloids.* Nature, 189, 310.

Yazı "Dergi Yazı Kuruluna" 17.4.1973 günü gelmiştir.