● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان ، دورهٔ دهم، شمارهٔ ۱، ص۱۸-۱۱؛ ۱۳۸۱

مقالهٔ پژوهشی

اثرات مشتقات جدید دی هیدروپیریدینی به عنوان مهارکننده های کلسیمی بر ایلئوم موش صحرایی در محیط برون تنی

دکتر مظفر رضوانی پور[۱]، حمید سپهری[۲]، دکتر علیرضا فرومدی[۳]، دکتر غلامرضا سپهری[۱]، دکتر حمید نجفی پور[۴] و فرزانه اسماعیلی[۱]

خلاصه

ترکیبات مختلفی تحت عنوان مسدود کننده های کانال های کلسیمی شناسایی شده اند. قوی ترین گروه این ترکیبات، مشتقات دی هیدروپیریدین می باشند که معروف ترین آنها نیفدیپین است. در این مطالعه توانایی مشتقات جدید دی هیدرو پیریدین در مهار کانال های کلسیمی نوع L از طریق بررسی بر روی ایلئوم موش صحرایی با نیفدیپین مقایسه شد. پس از انتقال قطعات ۲ سانتی متری ایلئوم به داخل لوله مرکزی حمام بافت که حاوی ۱۰ سی سی محلول کربس اکسیژن دار با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد بود، انقباضات ایلئوم توسط ترانسدیوسر ایزوتونیک به وسیله دستگاه فیزیوگراف ثبت گردید. با اضافه نمودن ۱/۱ میلی لیتر محلول کلرور پتاسیم ۸۰۰ میلی مولار به محلول فوق حداکثر انقباض در عضله صاف روده ایجاد شد. سپس آن قدر نیفدیپین و یا ترکیبات مورد بررسی به محیط اضافه گردید تا ۵۰ درصد رفع انقباض (IC50) ایجاد گردد. IC50 به دست آمده برای نیفدیپین $\times 10^{-9}$ (۱/۲۶±۰/۳۷) مولار و برای ترکیبات شماره ۱،۲،۳،۴،۵ و ۶ به ترتیب $\times 10^{-5}$(۲/۵۸±۰/۲۸)، $\times 10^{-5}$(۱/۰۳±۰/۱۲)، $\times 10^{-6}$(۲/۵۵±۰/۵۰)، $\times 10^{-9}$ (۱/۳۲±۰/۱۸)، $\times 10^{-6}$ (۳/۱۶±۰/۸۹) و $\times 10^{-7}$ (۱/۰۴ ±۰/۲۹) مولار بود. نتایج نشان داد که جایگزین کردن گروه نیتروفنیل در موقعیت C4 حلقه پیریدین نیفدیپین با گروه متیل تیوایمیدازول و یا متیل سولفونیل ایمیدازول سب کاهش قدرت اثر ترکیبات مورد آزمایش می گردد. مقایسه فعالیت استرهای قرینه (ترکیبات شماره ۶ و ۳) نشان داد که افزایش طول زنجیره متیلن در موقعیت استری C3 و C4 موجب کاهش قدرت اثر آنها می گردد و مقایسه فعالیت استرهای ناقرینه (ترکیبات شماره ۴ و ۵) نشان داد هنگامی که طول زنجیره استری در C3 کوتاه باشد، افزایش طول زنجیره استری در C5 موجب افزایش قدرت اثر ترکیب می گردد. مقایسه قدرت اثر استرهای قرینه (ترکیبات ۲ و ۳) با استرهای ناقرینه (ترکیبات ۵،۴،۱ و۶) نشان می دهد که استرهای ناقرینه همیشه قوی تر از استرهای قرینه نمی باشند. در بین ترکیبات سنتزی جدید ترکیب شماره ۴ قوی ترین ترکیب بود. در مجموع اثر تمام ترکیبات مورد مطالعه از نیفدیپین ضعیف تر بود.

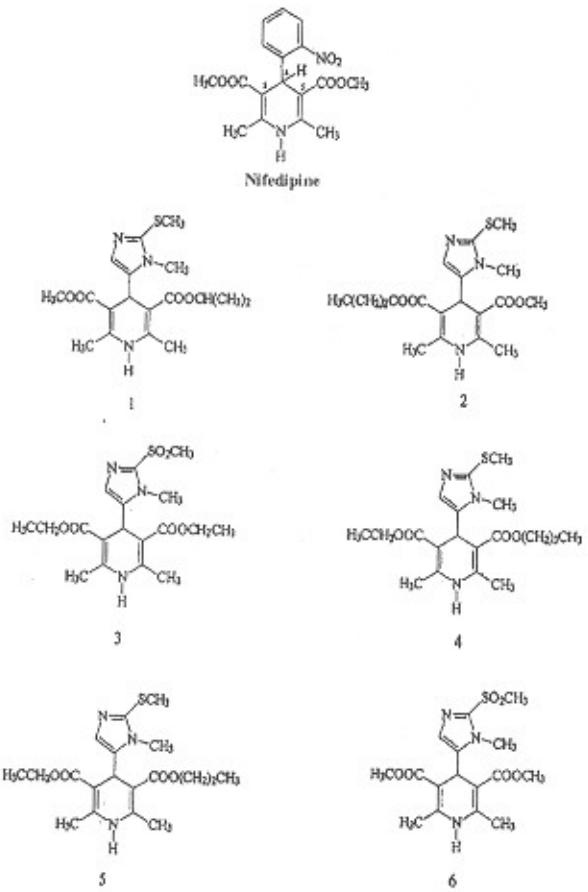
واژه های کلیدی: مشتقات دی هیدروپیریدینی، نیفدیپین، ایلئوم، موش صحرایی

۱- استادیار فیزیولوژی، ۳- دانشیار شیمی دارویی، ۴- دانشیار فارماکولوژی، ۵- دانشیار فیزیولوژی، ۶- مربی فارماکولوژی ، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی کرمان ۲- عضو هیأت علمی گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بابل

مقدمه

هر چند استفاده بالینی از مسدود کننده های کانال های کلسیم در حال حاضر به بیماری های قلبی و عروقی محدود می گرد، ولی عضلات صاف غیر عروقی به عنوان مدلی برای پاسخ دهی عضلات صاف عروقی به ترکیبات مؤثر بر عضلات صاف عروقی استفاده می شوند. بخشی از روده که بیش از همه برای مطالعه مسدود کننده های کانال های کلسیمی به کار می رود، ایلئوم خوکچه هندی یا موش صحرایی می باشد (۳،۷،۱۱). دلیل انتخاب این بافت سهولت کار با آن است.

در دهه اخیر بلوک کننده های کانال کلسیمی در درمان بیماری های قلبی و عروقی، آسم، میگرن و به تعویق انداختن زایمان زودرس مورد استفاده قرار گرفته اند (۵،۶،۸،۱۰). تلاش در این است که این داروها حتی الامکان فاقد عوارض جانبی باشند. وسیع الطیف بودن اثر داروهای بلوک کننده کانال کلسیمی که خود ناشی از پراکندگی وسیع کانال های کلسیمی در بافت ها می باشد (۴)، هر چند موجب کاربرد گسترده این داروها در بسیاری از بیماری ها گردیده است، اما از طرف دیگر این گستردگی گیرنده ها باعث بروز عوارض جانبی نسبی آنها نیز شده است و محققین را همواره بر آن داشته که با بررسی رابطه ساختمان - اثر، داروهایی را طراحی و سنتز نمایند که دارای اثرات اختصاصی بر روی بافت مورد نظر بوده و از قدرت و طول اثر بیشتری برخوردار باشند، تا حتی الامکان عوارض ناخواسته آنها کاهش یابد و از میزان و دفعات مصرف آنها کاسته شود. مشتقات دی هیدروپیریدین از جمله نیفدیپین جزو مهار کننده های کانال کلسیمی هستند که اثر انتخابی آنها عمدتاً روی عروق بوده و اثر تضعیف کنندهٔ اندکی بر روی قدرت انقباضی قلب دارند (۶،۸،۱۳،۱۴). با وجود سنتز تعداد زیادی از مشتقات دی هیدروپیریدین،هنوز پژوهشی های گسترده ای جهت کشف مشتقات جدید باخصوصیات فارماکولوژیک مطلوب صورت می گیرد تا داروهایی سنتز شوند که مدت اثر بیشتر، سرعت جذب مناسب، نوسان غلظت خونی کمتر و اثر انتخابی بیشتر بر عضلات صاف عروق داشته و خاصیت تضعیف کننده کمتری بر روی عضله قلب داشته باشند (۶،۹،۱۱). به منظور دست یابی به هریک از اهداف فوق شش مشتق جدید دی هیدروپیریدینی در گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی کرمان سنتز گردید که فرمول ساختمان شیمیایی آنها در شکل ۱ با نیفدیپین مقایسه شده است. این ترکیبات در استخلاف های ۳،۴،۵ با نیفدیپین تفاوت دارند. در استخلاف شماره ۴ در تمام این ترکیبات به جای گروه ۲- نیتروفنیل، گروه متیل ایمیدازول و یا متیل سولفونیل ایمیدازول قرار گرفته است و در موقعیت های ۳ و ۵ بعضی از این ترکیبات گروه های مختلفی به جای گروه متیل فرمات نشسته است . تغییرات ایجاد شده در ترکیبات مختلف به شرح زیر می باشد:



شکل ۱: ساختمان شیمیایی نیفدیپین و ۶ ترکیب مورد مطالعه

در ترکیب شماره ۱، گروه متیل تیوایمیدازول در موقعیت کربن ۴ قرار گرفته و گروه ایزوپروپیل فرمات در موقعیت ۵ حلقه پیریدین جایگزین متیل فرمات شده است.

در ترکیب شماره ۲، گروه متیل تیوایمیدازول در موقعیت ۴ قرار گرفته و گروه N- پروپیل فرمات در موقعیت ۳ حلقه پیریدین جایگزین متیل فرمات شده است.

در ترکیب شماره ۳ در موقعیت ۴ حلقه پیریدین گروه متیل سولفونیل ایمیدازول قرار گرفته و در موقعیت ۳ و ۵ حلقه پیریدین، دو گروه اتیل فرمات جایگزین متیل فرمات شده اند.

در ترکیب شماره ۴ در موقعیت ۴ حلقه پیریدین گروه متیل تیوایمیدازول قرار دارد ودر موقعیت ۳ و ۵ حلقه پیریدین به ترتیب گروه بوتیل فرمات و اتیل فرمات جایگزین متیل فرمات شده اند.

در ترکیب شماره ۵ گروه متیل تیوایمیدازول در موقعیت ۴ حلقه پیریدین و گروه N- پروپیل فرمات در موقعیت ۵ و گروه اتیل فرمات در موقعیت ۳ حلقه پیریدین جایگزین متیل فرمات شده اند.

در ترکیب شماره ۶ در موقعیت ۴ حلقه پیریدین،گروه متیل سولفونیل ایمیدازول به جای گروه ۲ نیتروفنیل قرار گرفته است.

از آنجا که بافت هدف عمده این ترکیبات عضله صاف می باشد، در مطالعه حاضر به منظور تعیین اثر بخشی این مواد، اثرات آنها بر ایلئوم موش صحرایی در محیط برون تنی (in vitro) با نیفدیپین مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

وسایل و دستگاه ها: شامل دستگاه فیزیوگراف (RG۱۱ بکمن - آمریکا) حمام بافت (هاروارد – انگلستان)، نمونه گیر، وسایل جراحی و ترازوی دقیق سارتوریوس

داروها و مواد شیمیایی استفاده شده: شامل مواد شیمیایی برای ساخت محلول کربس (مرک آلمان)، نیفدیپین (دارو پخش ایران) ، شش مشتق جدید نیفدیپین (سنتز شده توسط گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی کرمان) استن، اسید استیک گلاسیال (مرک آلمان)و آب مقطر. محلول کربس که به نسبت های معینی از ترکیبات مختلف شامل : کلرور سدیم، کلرور پتاسیم، سولفات منیزیم،فسفات دی هیدروژن سدیم، بی کلربنات سدیم و گلوکز بود (۵) در حمام بافت در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد استفاده شد.

وجود گلوکز در محلول کربس باعث رشد میکروارگانیسم ها در آن می شود و به این دلیل نمی توان آن را برای روز بعد نگه داشت و مورد استفاده قرار داد، بنابر این یا باید محلول کربس روزانه تهیه شود یا محلول کربس غلیظ یعنی با غلظت ۱۰ یا ۲۰ برابر که فاقد بی کربنات و گلوکز است، تهیه و در روز آزمایش مقدار مورد احتیاج را رقیق کرده و به آن بی کربنات و گلوکز افزود. در این تحقیق به روش دوم یعنی تهیه محلول کربس غلیظ عمل شد.

تهیه محلول نیفدیپین و مشتقات جدید مورد مطالعه : استن و اسید استیک گلاسیال به عنوان حلال نیفدیپین مورد استفاده قرار گرفتند.

برای تهیه محلول نیفدیپین با وزن مولکولی ۳۴۶ گرم، ۳/۴۶ میلی گرم از پودر نیفدیپین وزن شده و ابتدا در ۰/۱ سی سی استن حل می شود. سپس توسط آب مقطر حجم آن را به ۱۰۰ سانتی متر مکعب رسانده می شود تا ذخیره شماره یک یا غلظت 10^{-4} مولار به دست آید. برای تهیه ذخیره شماره ۲، یک سی سی از ذخیره شماره یک به حجم یکصد سانتی متر مکعب رسانده می شود تا غلظت 10^{-6} مولار به دست آید. از ذخیره شماره ۱ و با اضافه کردن سرم فیزیولوژی غلظت های مختلف را می توان به دست آورد.

برای تهیه محلول ترکیب شماره ۱ با وزن مولکولی ۳۷۹، ترکیب شماره ۲ با وزن مولکولی ۳۷۹، ترکیب شماره ۳ با وزن مولکولی ۴۱۱، ترکیب شماره ۵ با وزن مولکولی ۳۹۳ و ترکیب شماره ۶ با وزن مولکولی ۳۸۳ ازحلال استن استفاده شد. از آن جا که ترکیب شماره ۴ با وزن ۴۰۷ در استن حل نمی شود، آن را در یک دهم سی سی اسید استیک گلاسیال حل نموده و همانند روش بالا از آن ذخایر مختلفی تهیه شد.

از آنجا که نیفدیپین و مشتقات آن نسبت به نور حساس می باشند، ظروف حاوی داروها و حمام بافت توسط ورقه آلومینیمی پوشانده شدند تا از تابیدن نور به آنها جلوگیری شود. برای ایجاد دپولاریزاسیون سلول و ایجاد حداکثر انقباض عضلانی از محلول کلرور پتاسیم ۸۰۰ میلی مولار استفاده شد (۱).

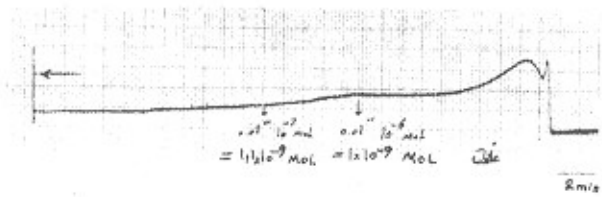
تهیه قطعات ایلئوم موش صحرایی : در این پژوهش از ۲۵ موش صحرایی جنس نر نژاد ویستار با وزن بین ۲۵۰-۱۸۰

گرم تهیه شده از مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمان استفاده شد. موش های صحرایی پس از انتقال از محل نگهداری اصلی به حیوان خانه محل مطالعه، به مدت ۴۸ ساعت به منظور عادت کردن با محیط و طبیبی شدن رفلکس های دستگاه گوارش، نگهداری شدند. محل نگهداری اخیر دارای دمای ۳±۲۲ درجه سانتی گراد بود و غذا و آب کافی در اختیار حیوانات قرار داشت. قبل از هر آزمایش حیوان به مدت ۱۲ ساعت گرسنه نگه داشته می شد تا روده از محتویات گوارشی خالی شده و فاقد تحریکات خودبخودی باشد ولی در طول این مدت ازنظر نوشیدن آب محدودیتی برای حیوان وجود نداشت.

در روز آزمایش ابتدا حیوان را با زدن ضربه ای به پشت سر بیهوش کرده پس از بریدن گردن، شکم حیوان را در امتداد خط سفید(Linea alba) برش داده پس از پیدا شدن محل اتصال ایلئوم به سکوم، ۱۵ الی ۲۰ سانتی متر آخر ایلئوم با فاصله ۵ سانتی متر از سکوم بریده می شد (۷،۱۱،۱۲). سپس به قطعات ۱/۵ الی ۲ سانتی متری بریده شده و در قالب های شیشه ای حاوی محلول کربس اکسیژن دار شده با درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده می شد و هر قطعه برای یک دارو استفاده می شد.

اتصال قطعه ایلئوم به ترانسدیوسر: ابتدا دو انتهای ایلئوم به وسیله سوزن و نخ گره زده شده و سپس گره یک انتها به قلاب میلهٔ شیشه ای که خود وسیله ای برای اکسیژن رسانی بود متصل می شد و سپس به داخل لوله مرکزی حمام بافت که حاوی ۱۰ سی سی محلول کربس بود منتقل می گردید. گره انتهای دیگر که خود به قطعه ای نخ متصل بود به قلاب ترانسدیوسر ایزوتونیک وصل می شد. وزنه ای به وزن ۵۰۰ میلی گرم در طرف مقابل اهرم آویزان می شد تا کشش بافتی مناسبی ایجاد شود. در مدت یک ساعتی که بافت در محلول کربس قرار داشت هر ۱۵ دقیقه یکبار محلول کربس درون حمام بافت تعویض می شد تا هم از تجمع متابولیت های سمی جلوگیری شود و هم مواد غذایی تازه به میزان لازم به بافت برسد.

روش بررسی اثر نیفدیپین و مشتقات سنتز شدهٔ جدید: در پایان یک ساعت پس از تطابق بافت با محیط، ۱/۱ میلی لیتر کلرور پتاسیم ۸۰۰ میلی مولار به حمام بافت که حاوی ۱۰ سی سی از محلول کربس بود اضافه می شد تا غلظت ۸۰ میلی مولار کلرور پتاسیم در محیط بافت پدید آید. با افزایش غلظت پتاسیم خارج سلولی و دپلاریزاسیون ناشی از آن، تارهای عضلانی ایلئوم روده منقبض می شدند. بعد از انقباض آن قدر تأمل می شد تا این که نمودار انقباض ثبت شده توسط دستگاه فیزیوگراف به حالت پایدار ویکنواختی برسد که این مرحله معمولاً ۲۰ الی ۴۰ دقیقه طول می کشید. برای تعیین میزان انقباض،پس از کالیبره کردن دستگاه فیزیوگراف، میزان انقباض نهایتاً بر حسب شمارش تعداد مربع های میلی متری کاغذ فیزیوگراف که نسبت به سطح پایه افزایش می یابد (بالا می رود) محاسبه می گردد (شکل ۲).



شکل ۲: ثبت نشان دهنده اثر کلرور پتاسیم ۸۰ میلی مولار بر ایجاد انقباض عضله صاف روده موش صحرایی و اثر غلظت $1/1\times10^{-4}$ مول در لیتر نیفدیپین با حلال استن، در ایجاد ۵۰٪ رفع انقباض می باشد

بعد از این مرحله، محلول نیفدیپین یا یکی از ترکیبات مورد مطالعه به وسیله نمونه گیر به محیط اضافه می شد و این عمل تا زمانی ادامه می یافت تا ۵۰٪ رفع انقباض ایجاد گردد که با پایین آمدن قلم فیزیوگراف از اوج انقباض به اندازه نیمی از تعداد مربع های میلی متری محاسبه و سپس غلظت نیفدیپین یا ترکیب مصرفی برای این میزان رفع انقباض محاسبه شد (شکل ۲). چون ترکیب های مورد مطالعه در حلال های مختلف یعنی استن و اسید استیک گلاسیال حل شده بودند، دو نمونه محلول نیفدیپین به عنوان گروه های کنترل انتخاب شدند . نمونه ای که حلالش استن بود به عنوان گروه کنترل ترکیباتی که حلالشان استن بود انتخاب گردید و نتایج به دست آمده با آن مقایسه گردید. و ترکیبی که حلالش اسید استیک گلاسیال بود با نیفدیپین حل شده در اسید استیک گلاسیال مورد مقایسه قرار گرفت.

روش های آماری: هر ترکیب بر روی حداقل ۷ قطعه ایلئوم جدا شده از هفت حیوان آزمایش گردید. پس از جمع آوری داده ها، میانگین غلظت ترکیبات مورد نظر برای ایجاد ۵۰ درصد رفع انقباض به صورت Mean±SE محاسبه شد. برای مقایسه آماری بین میانگین ترکیبات مختلف با نیفدیپین از روش آماری Paired-t-test استفاده شد و اختلاف با مقادیر P<۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

اثر نیفدیپین بر انقباض عضله صاف ایلئوم موش صحرایی:

در مرحله اول آزمایشات، به بررسی غلظت های نیفدیپین برای ایجاد ۵۰ درصد رفع انقباض ایجاد شده توسط کلرور پتاسیم ۸۰ میلی مولار پرداخته شد.

جدول ۱: *مقایسه مقادیر IC50(mean±SE) غلظت دو محلول کنترل مورد استفاده (نیفدیپین با حلال استن و حلال اسید استیک گلاسیال) بر ایلئوم جدا شده موش صحرایی (انقباض توسط کلرور پتاسیم ۸۰ میلی مولار ایجاد شده است).*

شاخص / گروه	تعداد	IC50 (مول در لیتر)
نیفدیپین با حلال استن	۷	$(۱/۲۵ \pm ۰/۳۷) \times ۱۰^{-۹}$
نیفدیپین با حلال اسید استیک	۷	$(۷/۶۰ \pm ۰/۳۱) \times ۱۰^{-۱۰}$

آزمایشات برای نمونه نیفدیپین با حلال استن و حلال اسید استیک گلاسیال هر کدام ۷ بار تکرار شده است که نتایج حاصله درجدول ۱ آمده است. میانگین به دست آمده برای این دو گروه به ترتیب $(۱/۲۵ \pm ۰/۳۷) \times ۱۰^{-۹}$ و $(۷/۶۰ \pm ۰/۳) \times ۱۰^{-۱۰}$ مول در لیتر می باشد.

چون آزمون t دو دامنه اختلاف معنی داری را بین دو گروه نیفدیپین نشان نداد (P>۰/۰۵)، اثرات رفع انقباض داروهای مورد مطالعه فقط با یکی از دو گروه کنترل نیفدیپین (نیفدیپین با حلال استن) طبق جدول ۲ مقایسه می گردد.

با توجه به جدول ۲، میانگین غلظت مورد نیاز ترکیبات شماره ۱،۲،۳،۴،۵ و۶ برای ۵۰ درصد رفع انقباض (IC50) انجام شده توسط کلرور پتاسیم ۸۰ میلی مولار به ترتیب $(۲/۵۸ \pm ۰/۲۸) \times ۱۰^{-۵}$ ، $(۱/۰۳ \pm ۰/۱۲) \times ۱۰^{-۵}$ ، $(۲/۵۵ \pm ۰/۵۰) \times ۱۰^{-۶}$ ، $(۰/۳۲ \pm ۰/۱۸) \times ۱۰^{-۹}$، $(۳/۱۶ \pm ۰/۸۹) \times ۱۰^{-۶}$ و $(۱/۰۴ \pm ۰/۲۹) \times ۱۰^{-۷}$ مول در لیتر می باشد.

جدول ۲: *مقایسه مقادیر IC50(mean±SE) غلظت نیفدیپین با حلال استن با شش ترکیب جدید از مشتقات سنتز شده*

شاخص / گروه	تعداد	IC50 (مول در لیتر)
نیفدیپین با حلال استن	۷	$(۱/۲۵۰ \pm ۳۶۷) \times ۱۰^{-۹}$
ترکیب شماره ۱	۷	$(۲/۵۸ \pm ۰/۲۸) \times ۱۰^{-۵}$ ***
ترکیب شماره ۲	۷	$(۱/۰۳ \pm ۰/۱۲) \times ۱۰^{-۵}$ ***
ترکیب شماره ۳	۸	$(۲/۵۵ \pm ۰/۵۰) \times ۱۰^{-۶}$ **
ترکیب شماره ۴	۸	$(۱/۳۲ \pm ۰/۱۸) \times ۱۰^{-۹}$ *
ترکیب شماره ۵	۸	$(۳/۱۶ \pm ۰/۸۹) \times ۱۰^{-۶}$ **
ترکیب شماره ۶	۷	$(۱/۰۴ \pm ۰/۲۹) \times ۱۰^{-۷}$ *

*** = P<۰/۰۰۱ ، ** = P<۰/۰۱ ، * = P< ۰/۰۵

همانطور که در جدول ۲ ملاحظه می شود حتی مؤثرترین این ترکیبات (ترکیب شماره ۴) به طور معنی داری اثرات ضد انقباضی ضعیف تری نسبت به نیفدیپین دارد (P<۰/۰۵) و بعد از این ترکیب ترکیبات شماره ۲،۵،۳،۴ و ۱ به ترتیب اثر ضد انقباضی شان ضعیف تر می گردد.

بحث و نتیجه گیری

IC50 به دست آمده برای ترکیب شماره ۱، $(۲/۵۸ \pm ۰/۲۸) \times ۱۰^{-۵}$ مول در لیتر می باشد که حدود ۱۶۵۰۰ مرتبه ضعیف تر از نیفدیپین است. این ترکیب ضعیف ترین ترکیب سنتز شده در این گروه دارویی بوده و فرم اکسید شده آن که توسط شفیعی و همکاران بر روی ایلئوم موش مورد بررسی قرار گرفته است (۱۱،۱۲)، تقریباً ۱۸۰۰ مرتبه ضعیف تر از نیفدیپین بوده است که می توان نتیجه گرفت که فرم اکسید شده این ترکیب قوی تر از فرم غیر اکسید آن می باشد. با توجه به این که در این ترکیب در موقعیت های ۳ و ۵ استرهای ناقرینه قرار دارد و این ترکیب ضعیف ترین ماده مورد بررسی در این

تحقیق بوده است، بنابر این می توان گفت که احتمالاً وجود استرهای ناقرینه همیشه سبب افزایش قدرت اثر این ترکیبات نمی شود.

IC50 به دست آمده برای ترکیب شماره ۲، $\times 10^{-5}$ (۱/۰۳±۰/۱۲) مول در لیتر می باشد که حدود ۸۲۰۰ مرتبه ضعیف تر از نیفدیپین است.

IC50 به دست آمده برای ترکیب شماره ۳، $\times 10^{-6}$ (۲/۵۵ ±۰/۵۰) مول در لیتر می باشد که در مقایسه با نیفدیپین قدرت اثر آن حدود ۲۰۳۰ مرتبه ضعیف تر می باشد.

IC50 به دست آمده برای ترکیب شماره ۴ در حدود $\times 10^{-6}$ (۱/۳۲±۰/۱۸) مول در لیتر می باشد که قدرت آن از نیفدیپین حدود ۱/۷ برابر ضعیف تر است. این ترکیب در میان تمام ترکیبات آزمایش شده در این تحقیق دارای قدرت اثر بیشتری بوده است. فرم اکسید شده این ترکیب که توسط شفیعی و همکاران در سال ۱۹۹۶ مورد بررسی قرار گرفته است (۱۱،۱۲) تقریباً ۴۰۰ مرتبه ضعیف تر از نیفدیپین بوده است، پس می توان نتیجه گرفت که در این ترکیب فرم اکسید شده آن احتمالاً ضعیف تر از فرم غیر اکسید شده آن می باشد.

IC50 به دست آمده برای ترکیب شماره ۵ در حدود $\times 10^{-6}$ (۳/۱۶ ±۰/۸۹) مول در لیتر می باشد که نسبت به نیفدیپین ۲۵۱۶ مرتبه ضعیف تر است و از طرفی نسبت به ترکیب قبلی یعنی ترکیب شماره ۴ نیز حدود ۲۰۰۰ مرتبه ضعیف تر می باشد. در این ترکیب همانند ترکیب شماره ۴ در موقعیت های ۳ و ۵ استخلاف های ناقرینه وجود دارد که در هر دو در موقعیت ۳ حلقه پیریدین، اتیل فرمات ولی در موقعیت ۵ حلقه پیریدین در ترکیب شماره ۴ بوتیل فرمات و در ترکیب شماره ۵، N–پروپیل فرمات قرار گرفته است. با توجه به اینکه استخلاف بوتیل فرمات طویل تر از N- پروپیل فرمات می باشد، می توان نتیجه گرفت که احتمالاً در استرهای ناقرینه اگر در یک طرف گروه استری کوچک قرار داشته باشد با افزایش طول زنجیر استری طرف مقابل، قدرت اثر ترکیب افزایش پیدا می کند که این نتیجه با آنچه شفیعی و همکاران گزارش داده اند (۱۱) مطابقت دارد.

فرم اکسید شده ترکیب شماره ۵ که توسط شفیعی و همکاران سنتز گردیده است حدود ۶۵۴ مرتبه ضعیف تر از نیفدیپین بوده است (۱۱). پس می توان نتیجه گرفت که فرم اکسید شده این ترکیب قوی تر از فرم غیر اکسید شده آن می باشد.

IC50 به دست آمده برای ترکیب شماره ۶ در حدود $\times 10^{-7}$ (۱/۰۴ ± ۰/۲۹) مول در لیتر می باشد. در مقایسه با نیفدیپین قدرت اثر آن حدود ۸۳ مرتبه کمتر است. از آنجا که نیفدیپین از نظر ساختمانی مشابه این دو ترکیب بوده و فقط در موقعیت ۴ حلقه پیریدین این ترکیب به جای گروه ۲ نیتروفنیل، گروه متیل سولفونیل ایمیدازول قرار دارد و از طرفی هنگامی که به جای گروه متیل سولفونیل ایمیدازول فرم غیر اکسید شده آن یعنی متیل تیوایمیدازول در موقعیت ۴ حلقه پیریدین قرار می گیرد، قدرت اثر آن حدود ۸۳۰۰ بار کمتر از نیفدیپین می گردد. پس می توان نتیجه گرفت که معمولاً وجود حلقه نیتروفنیل در موقعیت ۴ حلقه پیریدین موجب افزایش قدرت دی هیدروپیریدین ها در مقایسه با هنگامی که حلقه متیل تیوایمیدازول و یا متیل سولوفنیل ایمیدازول قرار دارد، می گردد. فرم اکسید شده این ترکیب قویتر از فرم غیر اکسید شده آن می باشد.

با توجه به این که در ترکیبات ۳ و ۶ در موقعیت های ۳ و ۵ حلقه پیریدین استرهای قرینه وجود دارد و پاسخ ترکیب شماره ۳ که اتیل فرمات در موقعیت ۳ و ۵ حلقه پیریدین قرار گرفته است و حدود ۲۵ مرتبه ضعیف تر از ترکیب شماره ۶ می باشد که دارای گروه متیل فرمات در موقعیت ۳ و ۵ حلقه پیریدین می باشد، می توان نتیجه گرفت که احتمالاً در استرهای قرینه هر چه طول زنجیر بلندتر شود، قدرت اثر آنها کاهش پیدا می کند که این نتیجه گیری با آنچه شفیعی و همکاران گزارش داده بودند (۱۲) مطابقت دارد.

به طور خلاصه می توان این گونه نتیجه گرفت که نیفدیپین از تمام داروهای سنتز شده جدید قوی تر می باشد اما این تفاوت نسبت به ترکیب شماره ۴ کمتر از بقیه ترکیبات و در حدود ۱/۷ برابر و نسبت به ترکیب شماره ۱ بیش از بقیه و در حدود ۱۶۵۰۰ برابر می باشد.

با عنایت به اینکه در این پژوهش مشابه سایر محققین (۳،۷،۱۱) عضلات صاف ایلئوم به عنوان مدلی برای مطالعه

اثر مسدود کننده های کانال های کلسیمی بر روی عضلات صاف جدار عروق مورد استفاده قرار گرفت، انتظار می رود که این ترکیبات اثراتی مشابه بر روی عضلات صاف عروق داشته باشند و به همین دلیل کارآیی یا عدم کارآیی آنها منوط به انجام آزمایشات درون تنی (in vivo) می باشد. در مطالعه دیگری اثرات برخی از همین داروها را به صورت درون تنی بر روی فشارخون، نیروی انقباضی و ضربان قلب در خرگوش انجام و به نتایج مشابهی دست یافتیم (۲).

با توجه به این که در این مطالعه برخی از این ترکیبات از جمله ترکیب شماره ۴ اثرات قابل توجهی نسبت به نیفدیپین نشان دادند، علیرغم اثر ضعیف تر آنها نسبت به نیفدیپین ممکن است دارای اثرات جانبی کمتری در مقایسه با نیفدیپین بوده و بنابر این ارزش کاربردی احتمالی آنها را افزایش دهد که تمام این فرضیات نیاز به پژوهش های دقیق در این زمینه دارد.

تشکر و سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان که هزینه طرح تحقیقاتی فوق را تأمین نموده است تشکر و سپاسگزاری می گردد.

Summary

Effect of New Derivatives of Dihydropyridine on Rat Ileal Smooth Muscle *in Vitro*

Rezvanipour M, PhD[1]., Sepehri H, MSc[2]., Foroomadi AR, PhD[3]., Sepehri GH, PhD[4]., Najafipour H, PhD[5]. and Esmaeili F, MSc[6].

1. Assistant Professor of Physiology, 3. Associate Professor of Pharmaceutics, 4. Associate Professor of Pharmacology, 5. Associate Professor of Physiology, 6. Instructor of Physiology, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran, 2. Faculty member, Babol University of Medical Sciences and Health Services, Babol, Iran

In this research we evaluated the calcium channel antagonist activity of various diester analogues of nifedipine on rat ileal smooth muscle. In these analogues, the orthophenyl group at position 4 was replaced by 1 methyl 2-meythylsulfonyl or methylthio 5- imidazolyl. Wistar rats (180-250g) were killed by a blow to the head. The intestine was removed above the ileucecal junction and longitudinal smooth muscle segments of 2 cm length were maintained at 37°C in a 10 ml jacket organ bath containing oxygenated intestinal krebs soluion. The contractions was recorded with a force displacement transducer connected to a physiograp. The contraction was elicited with 80 mmol KCL. Test compounds were cumulatively added to produce 50% relaxation of contracted ileal smooth muscle (IC50) that was determined from the concentration response trace recorded by physiograph. The IC50 of nifedipine was $(1.26\pm0.37) \times 10^{-9}$ and of compounds 1,2,3,4,5 and 6 was $(2.57\pm0.28) \times 10^{-5}$, $(1.03\pm0.12) \times 10^{-5}$, $(2.55\pm0.50) \times 10^{-6}$ $(1.32\pm0.18) \times 10^{-9}$, $(3.16\pm0.89) \times 10^{-6}$ and $(1.04\pm0.29) \times 10^{-7}$ mole respectively. The results indicate that replacement of 2- nitrophenyl at C4 position of nifedipine with methylthio or methyl solfunyl imidazolyl reduces the activity. The comparison of the activities of symetrical esters (compounds No 3 & 6) indicates that increasing the length of methylen chain in C3 and C5 esters substituent decreases the activity. Comparison of the activities of asymetrical esters (compounds No 4 & 5) indicates that, when at C3 there is a small substituent, increasing the length of methylen chain increases activity. Comparison of the activites of symetrical esters (compounds 2 and 3) with asymetrical esters (compounds 1,4,5 and 6) indicates that asymetrical esters are not always more potent than symmetrical esters. Compound 4 was the most potent new compound in this study. Finally we can conclude that nifedipine was significantly more potent than all of these compounds.

Key Words: *Dihydropyridine, Nifedipine, Smooth muscle, Ileum, rat, Calcium antagonists*

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2003; 10(1): 11-18

منابع

۱. ادیب، عباس و قفقازی تقی: فارماکولوژی پزشکی،چاپ اول ،انتشارات مانی ،اصفهان ،۱۳۷۵،صفحه ۱۷۱

۲. نجفی پور، حمید؛ پناهپور، حمدا...؛ اسماعیلی، فرزانه؛ فرومدی، علیرضا؛ رضوانی پور، مظفر و مؤذن زاده، منصور. بررسی اثر سه داروی صناعی جدید مهارکننده کانال های کلسیمی بر فشار خون، نیروی انقباضی و ضربان قلب در خرگوش. مجله فیزیو لوژی و فارماکولوژی، ۱۳۷۹، جلد ۴، شماره ۲، ص ۲۱۱-۱۹۷.

3. Bolger GT, Genego P, Klockowski R, *et al.* Characterization of binding of the Ca^{++} channel antagonist, [3H]nitrendipine to guinea - pig ileal smooth muscle. *J Pharm Exp Ther* 1983; 225 (2): 291-309.
4. Hansche C. Comprehensive medicinal chemistry. 1st ed . Philadelphia, WB Sunders, 1990; pp: 1053-1058.
5. Hurwitz L, Partridge LD and Leach J. k(eds.). Calcium channels: Their properties, function,regulation and clinical relevance.1st ed, CRC press, 1991; pp: 70-90.
6. Kalsner S. Vasodilator action of calcium antagonists in coronary arteries in vitrro .*J Pharmacol Exp Ther* 1997; 281(2): 634-42.
7. Langs DA, Strong PD and Triggle DJ. Receptor model for the molecular basis of tissue selectivity of 1,4-dihydropyridine calcium channel drugs. J Comput Aided Mol Des 1990; 4(3): 215-230.
8. Luscher TF and Cosentino F. The classification of calcium antagonists and their selection in the treatment of hypertension. *Drugs* 1998; 55(4): 509-517.
9. Mager PP, Coburn RA, Solo AJ, Triggle DJ and Rothe H. QSAR, Diagnostic statistics and molecular modelling of 1,4-dihydropyridine calcium antagonists: a difficult road ahead. *Drug Des Discov* 1992; 8(4): 273-289.
10. Ram CV. Nicardipine for systemic hypertension: Effect on blood pressure and target organ function. *Am J Cardiol* 1987; 59(17): 25j-30j Rev.
11. Shafiee A, Dehpour AR, Hadizadeh F and Azimi M. syntheses and calcium channel antagonist activity of nifedipine analogeus whit methylsulfonylimidazolyl substituent *Pharm Acta Helv* 1998; 73(2): 75-79.
12. Shafiee A, Miri R, Dehpour AR and Soleymani F. Synthesis and calcium channel antagonist activity of nifedipine analogues containing nitroimidazolyl substituent. *Pharma Sc* 1996; 2(3): 541-543.
13. Spedding M and Paoletti R. Classification of calcium channels and the sites of action of drugs modifying channel function *Pharm Rev* 1992; 44(3): 363-376.
14. Stanton AV. Calcium channel blockers. *Br Med J* 1998; 316(7143): 1471-73.