Archive of SID



*J TOLOO E BEHDASHT, School of Public Health, Yazd Shahid Sadoughi Univ Med Sci*

*ORIGINAL ARTICLE*

*Received: 2017/08/07* *Accepted: 2017/11/08*

# Urease Enzyme Inhibitory of Heavy Metals and Organic Solvents in Ammonia Making for Synthesis of Nifedipine Antihypertensive Drug

**Fatemah Tamaddon (Ph.D.)[1], Mohammad Reza Noorbala (Ph.D.)[2], Davood Arab (Ph.D. student)[3], Somayeh Ghazi (Ph.D.)[4]**

1.Corresponding Author: Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran.
Email:ftamaddon@yazd.ac.ir Tel: 03531232666
2. Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran.
3. Ph.D Student of Chemistry, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran.
4. Ph.D graduated of Chemistry, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran.

## Abstract

**Introduction:** Simultaneous development of technology is composed with environmental hazardous with heavy-metals and organic solvents and thus toxic catalysts/organic solvents must be replaced with biocatalysts and water. Urease is a hydrolase enzyme and urease-urea can be considered a safe source of toxic ammonia in synthesis of nifedipine. Nifedipine is an antihypertensive drug synthesized by four–component reaction of 2 mmol methyl acetoacetate, 2–nitro-benzaldehyde, and ammonia using catalysts and organic solvents. The object of this research is replacement of toxic ammonia with urease-urea and organic solvents with water and study of heavy-metals and organic-solvent inhibition of urease on the synthesis of nifedipine.

**Methods**: In this experimental work, by controlling of yield and time of nifedipine synthesis via reaction of methyl acetoacetate, 2–nitro-benzaldehyde, and urease/urea in water, optimum urease/urea concentration, temperature, and pH for maximum yield were determined. Then, the effect of heavy-metal/organic solvent inhibitors on the production of ammonia and urease-catalyzed synthesis of nifedipine have been investigated.

**Results**: Based on the yield of nifedipine, the activity of urease for ammonia production depends on parameters such as urease/urea amount, temperature, pH, and kind or concentration of inhibitors. The results accorded urease specificity for maximum dissociation of urea in experiment with 10 mg/mL urease, pH=7, and 70 C° in water, while heavy-metal ion/organic solvent inhibitory of urease showed trends of $Hg^{2+}>Ag^{+}>Cu^{2+}>Pb^{2+}>Cd^{2+}$ and acetonitrile>chloroform>dichloromethane to reduce in ammonia concentration and nifedipine.

**Conclusion:** Urease-urea makes a biocompatible source of ammonia for synthesis of anti–hypertension drug of nifedipine, while inhibitors such as heavy metal cations especially $Hg^{2+}$, organic solvents, and sulfuric acid decrease the reaction rate. Biocompatibility, use of water and no organic solvent/catalyst, high yield and selectivity are advantages of this green method in comparison to previous reported methods.

**Keywords**: Urease-Urea, Enzyme inhibition, Heavy metal ions, Organic solvents, Nifedipine.
**Conflict of interest:** The authors declared that there is no Conflict interest

**This Paper Should be Cited as:**
Fatemah Tamaddon , Mohammad Reza Noorbala, Davood Arab ,Somayeh Ghazi . Urease Enzyme Inhibitory of Heavy Metals and Organic Solvents……. Tolooebehdasht Journal.2018;17(1):96-104.[Persian]

www.SID.ir

Archive of SID



# بازدارندگی فلزات سنگین و حلال‌ها بر آنزیم اوره‌آز برای تولید آمونیاک در سنتز داروی ضدفشار خون نیفیدیپین

**طلوع بهداشت**

**دو ماهنامه علمی پژوهشی دانشکده بهداشت یزد**
**سال هفدهم**
**شماره:اول**
**فروردین واردیبهشت ۱۳۹۷**
**شماره مسلسل: ۶۷**

تاریخ وصول: ۱۳۹۶/۵/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۸/۱۷

**نویسندگان: فاطمه تمدن[۱]، محمدرضا نوربالا[۲]، داود عرب[۳]، سمیه قاضی[۴]**

۱. نویسنده مسئول: دانشیار گروه شیمی ، دانشکده شیمی، پردیس علوم، دانشگاه یزد ،یزد،ایران.

تلفن تماس: ۰۳۵۳۱۲۳۲۶۶۶ Email:ftamaddon@yazd.ac.ir

۲. دانشیار گروه شیمی ، دانشکده شیمی، پردیس علوم، دانشگاه یزد،یزد،ایران.

۳.دانشجوی دکتری شیمی، دانشکده شیمی، پردیس علوم، دانشگاه یزد ،یزد،ایران.

۴. دکتری شیمی، دانشکده شیمی ،پردیس علوم، دانشگاه یزد ،یزد،ایران.

## چکیده

**مقدمه:** رشد تکنولوژی با مخاطرات زیست‌محیطی بوسیله حلال‌های آلی و کاتالیست‌های سنتی همراه شده و لذا این مواد باید جای خود را به آب و بیوکاتالیست‌های زیست‌سازگار بدهند. اوره‌آز، یک آنزیم هیدرولاز است که اوره را به آمونیاک تبدیل می‌کند، پس مخلوط اوره‌آز-اوره در آب یک جایگزین مناسب برای ماده سمی آمونیاک در سنتز نیفیدیپین است که در حضور کاتالیست‌ها و حلال‌های آلی زیادی سنتز شده است. هدف این تحقیق، جایگزینی اوره‌آز-اوره و آب به جای آمونیاک و مطالعه بازدارندگی مهارکننده‌های فلزات سنگین و حلال‌ها روی آنزیم اوره‌آز برای تولید آمونیاک در سنتز داروی ضدفشار خون نیفیدیپین است.

**روش بررسی**: در این روش کاملاً تجربی، با کنترل بازده جداسازی/زمان واکنش سنتز نیفیدیپین از تراکم چهار جزئی متیل‌استواستات، ۲-نیتروبنزالدهید و اوره‌آز-اوره در آب، شرایط بهینه مشخص و سپس با تغییر در فاکتورهای غلظت آنزیم، اوره، دما، pH و بازدارنده‌های فلزات سنگین/حلال‌های آلی، اثرات آنها روی سنتز نیفیدیپین کاتالیست شده با اوره‌آز بررسی شد.

**یافته‌ها:** بر اساس بازده نیفیدیپین، فعالیت آنزیم اوره‌آز برای تولید آمونیاک به عواملی چون مقدار اوره-اوره‌آز، دما، pH، نوع و غلظت بازدارنده بستگی دارد. اوره‌آز به‌طور ویژه سوبسترای اوره را با ماکزیمم فعالیت در شرایط ۱۰ mg/mL اوره‌آز، pH=۷ و دمای ۷۰ $C^{\circ}$ به آمونیاک تبدیل‌می‌کند و یون‌های فلزات سنگین و حلال‌های آلی با روند بازدارندگی $Hg^{2+}>Ag^{+}>Cu^{2+}>Pb^{2+}>Cd^{2+}$ و استونیتریل>کلروفرم>دی‌کلرومتان باعث کاهش فعالیت اوره‌آز و بازده نیفیدیپین می‌شوند.

**نتیجه‌گیری:** اگر چه اوره‌آز-اوره یک منبع زیست‌سازگار آمونیاک در سنتز داروی ضدفشار خون نیفیدیپین در آب است، عوامل بازدارنده آنزیم اوره‌آز مانند یون‌های فلزات سنگین به ویژه جیوه و حلال‌های آلی باعث توقف این واکنش می‌شوند. زیست‌سازگاری کامل روش و کاتالیست، استفاده از حلال آب، انتخاب‌گری و بازده بالا، از مزایای این روش در مقایسه با روش‌های قبلی است.

**واژه‌های کلیدی**: اوره‌آز- اوره، بازدارندگی آنزیم، یون‌های فلزات سنگین، حلال‌های آلی، نیفیدیپین.



www.SID.ir

Archive of SID



**مقدمه**

آثار دو سویه گسترش تکنولوژی برای رفاه انسان و آسیب‌های جدی به محیط زیست برای وارد شدن مواد آلی و یونهای فلزات سنگین، دانشمندان را به سمت فرآیندهای زیست‌سازگار و بیوتکنولوژیک برای تولید مواد شیمیایی سوق داده است(۱) .آنزیم‌ها، بیوکاتالیست‌هایی با کارآیی بالا برای تسریع واکنش‌های بیوشیمیایی در سلول زنده هستند که استفاده از آن‌ها در واکنش‌های بیرون از سلول علاوه بر گسترش بیوتکنولوژی به رمزگشایی واکنش‌های درون‌سلولی نیز منجر می‌شود. از میان شش دسته اصلی آنزیم‌ها، هیدرولازها بیشترین کاربرد را در این گسترش داشته‌اند و آنزیم اوره‌آز که اوره را در آب به آمونیاک تجزیه می‌کند از این خانواده است. آمونیاک یک ماده پرمصرف گازی، سمی و پرخطر در صنایع شیمیایی است که می‌تواند به روش بیوتکنولوژی از تجزیه اوره در حضور منابع گیاهی اوره‌آز در حلال زیست‌سازگار آب (۲) تولید و در سنتز ترکیبات پیچیده‌تر استفاده شود. فعالیت اوره‌آز برای تجزیه اوره تحت تاثیر مهارکننده‌های مختلفی مانند pH، یون‌های فلزات سنگین و بعضی مواد آلی کاهش می‌یابد که در صورت استفاده از اوره‌آز- اوره به‌جای آمونیاک بر بازده محصولات اثرگذار است. داروی ضدفشار خون نیفدیپین یکی از موادی است که از طریق واکنش چهار جزئی تراکمی متیل‌استواستات، ۲-نیتروبنزالدهید و یک منبع آمونیاکی مانند گاز آمونیاک، محلول آبی آمونیاک و یا نمک‌های آمونیوم (۱۰-۳) در حضور کاتالیست‌ها و حلال‌های مختلف سنتز می‌شود (۱۶-۱۱) که به هر حال مقداری مواد مضر به محیط زیست اضافه می‌کند (۱۹-۱۷). به دلیل مناسب بودن منبع بیولوژیک اوره‌آز-اوره برای تولید آمونیاک، در این تحقیق از آن برای سنتز داروی مهم نیفدیپین در آب با بازده و خلوص بسیار بالا در شرایط کاملاً زیست‌سازگار استفاده شده است.

**روش بررسی**

بیشتر مواد شیمیایی لازم برای انجام این تحقیق تجربی از شرکت مرک آلمان خریداری شده، ولی اوره‌آز طبق روش قبلی (۲) از قارچ آسپرژیلوس نیجر جداسازی و خالص‌سازی شده و به همراه اوره در سنتز نیفدیپین از طریق واکنش با متیل‌استواستات و ۲-نیتروبنزالدهید مورد استفاده قرار گرفت. بازده محصول و زمان واکنش از مهم‌ترین فاکتورهای یک فرآیند شیمیایی هستند که تابع فاکتورهای مختلف هستند. ازآن‌جایی که واکنش آنزیمی و فعالیت آنزیم اوره‌آز به عوامل زیادی مانند دما، غلظت آنزیم، غلظت سوبسترا، pH، زمان و عوامل بازدارنده بستگی دارد، لذا اثر این عوامل بر اساس تغییر درصد بازده نیفدیپین در واکنش مدل بررسی شده است تا علاوه بر بهینه‌سازی شرایط، اثرات این فاکتورها مشخص شود.

برای یافتن بیشترین بازده در کم‌ترین زمان ، واکنش یک میلی‌مول ۲-نیتروبنزالدهید، ۲ میلی‌مول متیل‌استواستات و مقدار اضافی آنزیم با مقادیر مختلف ۵-۱ میلی‌مول اوره در دمای C° ۷۰ به مدت ۴ ساعت انجام شد. سپس برای یافتن مناسب‌ترین غلظت آنزیم، واکنش با مقدار بهینه شده ۳ میلی‌مول اوره در حضور مقادیر mg ۲۵-۵ از آنزیم اوره‌آز بررسی شد. در گام بعدی، اثر دما با انجام واکنش درمقادیر بهینه شده ۳ میلی مول اوره و mg ۱۰ از آنزیم اوره‌آز، در دماهای C° ۹۰-۶۰ مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بهینه‌سازی pH، سنتز نیفدیپین در غیاب و حضور اسیدها و بازهای مختلف در مقادیر بهینه شده ۳



www.SID.ir

Archive of SID



میلی مول اوره و ۱۰ mg از آنزیم اوره‌آز و دمای ۷۰ C° بررسی شد.

در ادامه این تحقیق، اثر بازدارندگی غیررقابتی محلول یون‌های $10^{-6}$ مولار یون‌های فلزات سنگین شامل $Pb^{2+}$، $Hg^{2+}$، $Ag^{+}$، $Cu^{2+}$ و $Cd^{2+}$ و حلال‌های آلی استونیتریل، کلروفرم و دی‌کلرومتان و اسیدها و بازهای قوی و ضعیف شامل سولفوریک اسید، هیدروکلریک اسید، سدیم هیدروکسید و سدیم بیکربنات بر فعالیت اوره‌آز استخراج شده از آسپرژیلوس‌نیجر و بازده محصول نیفدیپین در شرایط بهینه‌شده شامل ۳ میلی مول اوره، ۱۰ mg آنزیم اوره‌آز، دمای ۷۰ C° و ۸ – pH = ۷ بررسی شد. اثرات بازدارندگی مواد آلی نیز با انجام واکنش مدل برای سنتز نیفدیپین در شرایط بهینه شده در آب با اضافه کردن ۲ میلی‌لیتر از حلال‌های آلی کلروفرم، استونیتریل و دی‌کلرومتان مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱: اثر بازدارندگی حلال‌های آلی بر واکنش مدل برای سنتز نیفدیپین در شرایط بهینه شده در آب

| ردیف | حلال آلی | زمان واکنش (ساعت) | بازده محصول نیفدیپین (درصد، ٪) |
|---|---|---|---|
| ۱ | – | ۴ | ۹۵ |
| ۲ | کلروفرم | ۵ | ۲۸ |
| ۳ | دی‌کلرومتان | ۵ | ۳۵ |
| ۴ | استونیتریل | ۴ | ۱۲ |

**یافته‌ها**

برای یافتن بیشترین بازده در کم‌ترین زمان، با انجام واکنش یک میلی‌مول ۲-نیتروبنزالدهید، ۲ میلی‌مول متیل‌استواستات و مقدار اضافی آنزیم با مقادیر مختلف ۱-۵ میلی‌مول اوره در دمای ۷۰ C° به مدت ۴ ساعت، بیشترین درصد بازده نیفدیپین (۹۱٪) با استفاده از ۳ میلی‌مول اوره به دست آمد که این مقدار به عنوان بهینه اوره انتخاب شد.

بر اساس آزمایشات انجام شده روی واکنش بهینه شده با ۳ میلی‌مول اوره برای یافتن مقدار بهینه آنزیم اوره‌آز، بیشترین درصد بازده نیفدیپین (۹۵٪) در حضور مقدار بهینه ۱۰ mg اوره‌آز بدست آمد.

نتایج بررسی اثر دما نشان داد دمای ۷۰ C° دمای بهینه واکنش است. کاهش بازده در دمای بالاتر از ۷۰ C° می‌تواند مربوط به دناتوره شدن ساختار آنزیم در اثر حرارت باشد (شکل ۱).

مطالعه اثر pH بر واکنش آنزیمی کاتالیست شده با اوره‌آز نشان داد که در pH = ۷- ۸ بیشترین بازده محصول نیفدیپین حاصل می‌شود. بر اساس نتایج، قدرت بازدارندگی سولفوریک اسید برای آنزیم اوره‌آز از استیک اسید بیشتر و قدرت بازدارندگی سود نیز از سدیم بیکربنات بیشتر بود، اگر چه سولفوریک اسید بیشترین مقدار بازدارندگی را از خود نشان داد. بازده کم‌تر در pHهای بالاتر و کم‌تر از ۸ – ۷ را می‌توان به از دست رفتن ساختارهای مختلف پروتئین در حضور عوامل اسیدی و بازی مربوط دانست.

نتایج اثرات بازدارندگی غیررقابتی محلول یون‌های $10^{-6}$ مولار فلزات سنگین روی بازده محصول نیفدیپین در شرایط بهینه‌شده ۳ میلی‌مول اوره، ۱۰ mg آنزیم اوره‌آز، دمای ۷۰ C° و pH = ۷- ۸ با مقایسه بازده جداسازی محصول نیفدیپین دنبال شد (شکل ۲).

نتایج خلاصه شده در شکل ۲ نشان می‌دهد که یون‌های فلزات سنگین با روند بازدارندگی $Hg^{2+}>Ag^{+}>Cu^{2+}>Pb^{2+}>Cd^{2+}$،



www.SID.ir

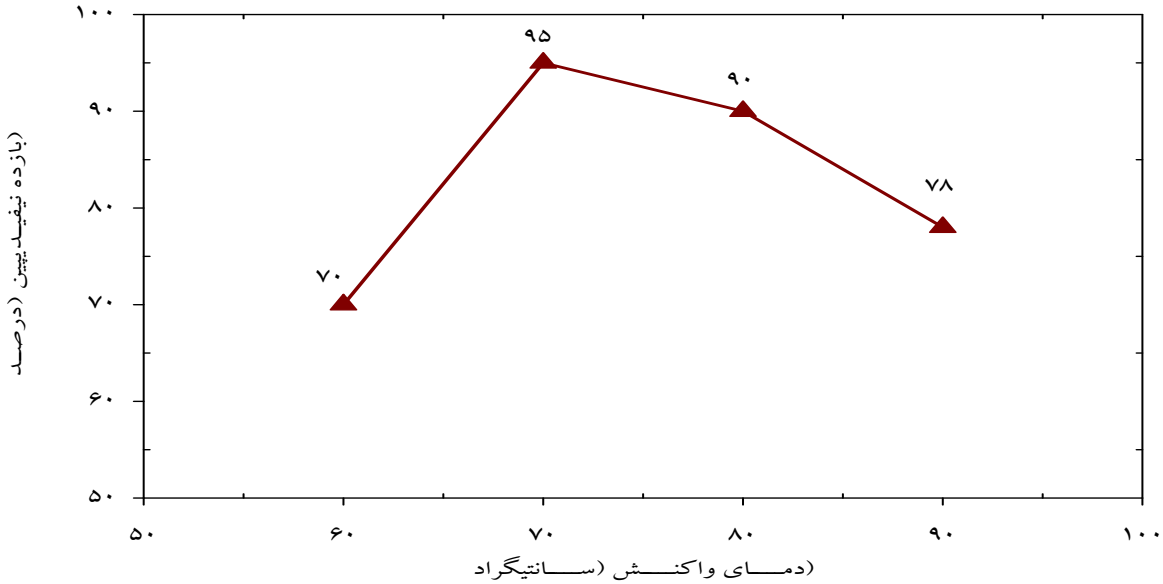
Archive of SID



باعث کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز برای تولید آمونیاک از اوره در آب و کاهش بازده محصول نیفدیپین شده‌اند. $Hg^{2+}$ بیشترین اثر بازدارندگی برای آنزیم اوره‌آز و تولید آمونیاک را دارد به‌طوری‌که بیشترین کاهش مقدار آمونیاک و در نتیجه کاهش بازده محصول نیفدیپین مربوط به انجام آزمایش در حضور این یون فلزی است. یون‌های فلزات سنگینی مانند $Hg^{2+}$ هم می‌توانند با ایجادکمپلکس قوی با بخش پروتئینی آنزیم آن را دناتوره کرده و جلو فعالیت آنزیم اوره‌آز را بگیرند و هم می‌توانند با برهم‌کنش با جایگاه فعال آنزیم آن را از کار بیندازند. با توجه به سریع رسوب کردن آنزیم اوره‌آز در حضور $Hg^{2+}$ می‌توان نتیجه گرفت که این یون فلزی سنگین باعث دناتوره شدن آنزیم اوره‌آز شده به طوری که دیگر قادر به برهم‌کنش با سوبسترای اوره نیست.

به‌منظور بررسی اثر بازدارندگی مواد آلی، واکنش مدل برای سنتز نیفدیپین در شرایط بهینه شده در آب با اضافه کردن ۲ میلی‌لیتر از حلال‌های آلی کلروفرم، استونیتریل و دی‌کلرومتان مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۱).

بر اساس نتایج جدول ۱، بازده محصول نیفدیپین در واکنش‌هایی که حلال آلی وجود داشته به شدت کاهش یافته که بیشترین کاهش مربوط به حلال آپروتیک استونیتریل است (ردیف ۴ جدول). حلال‌های آلی و به طور ویژه استونیتریل می‌توانند با برهم‌کنش با بخش پروتئینی و یا فلز نیکل در جایگاه فعال آنزیم، کل ساختار آنزیم یا قسمتی از آن را تخریب کنند که نتیجه آن دناتوره شدن اوره‌آز است. هر چه میزان برهم‌کنش حلال آلی بیشتر باشد، درصد بیشتری از اوره‌آز دناتوره شده و فعالیت آن برای تولید آمونیاک بیشترکاهش می‌یابد که در نتیجه باعث کاهش شدید بازده محصول نیفدیپین در حضور این مواد آلی می‌شود. کمترین بازده محصول نیفدیپین در حضور استونیتریل را می‌توان به برهم‌کنش بیشتر جفت ناپیوندی آن با بخش پروتئینی و یا فلزنیکل اوره‌آز مربوط دانست.



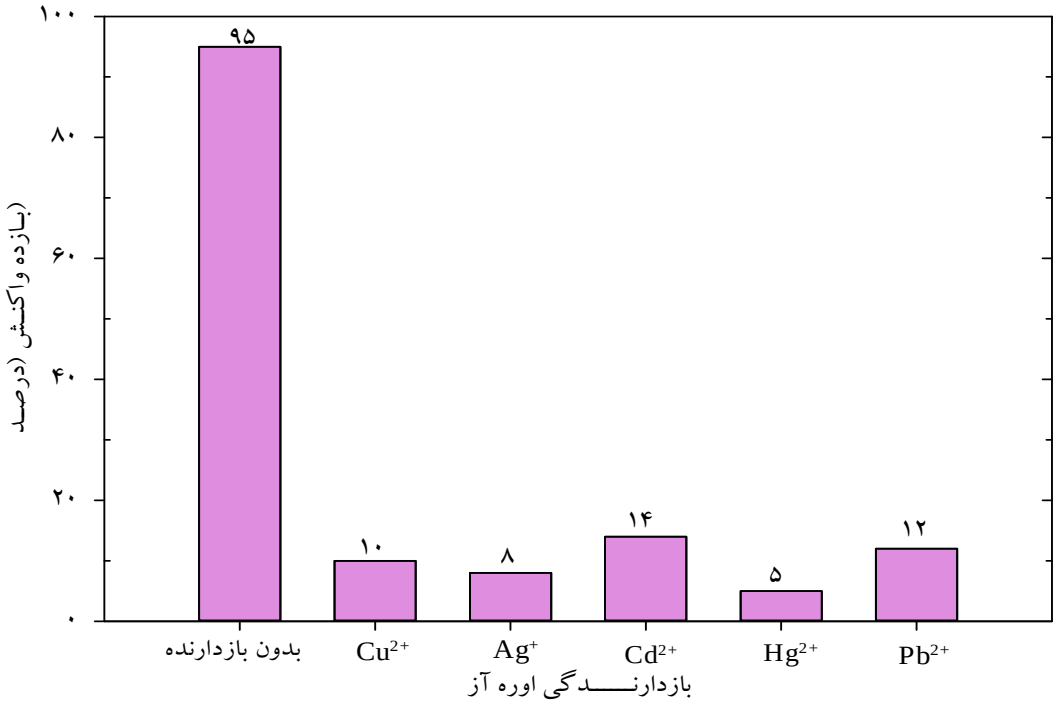

شکل ۱: اثر دمای واکنش بر درصد بازده نیفدیپین تولید شده از اوره‌آز-اوره



www.SID.ir

Archive of SID






شکل۲: اثر بازدارندگی فلزات سنگین روی بازده واکنش سنتز نیفیدیپین

## بحث و نتیجه‌گیری

به دلیل وارد شدن مواد آلی و یون‌های فلزات سنگین در اثرگسترش تکنولوژی برای رفاه انسان و لزوم حفاظت از محیط زیست، فرآیندهای زیست‌سازگار برای تولید مواد شیمیایی اهمیت خاصی دارد (۱).

در این راستا، سنتز داروی ضدفشار خون نیفیدیپین (۱۷-۱۹) با استفاده از منبع آمونیاکی کاملاً زیست‌سازگار اوره-اوره‌آز در شرایط ملایم با کارایی بیشتری نسبت به روش‌های قبلی در نظر گرفته شد.

لازم به ذکر است که این دارو قبلاً از طریق واکنش تراکمی چهار جزئی متیل‌استواستات، ۲-نیتروبنزالدهید و یک منبع نسبتاً سمی آمونیاکی (۱۰-۳) در حضور کاتالیست‌ها و حلال‌های مختلف (۱۳-۱۰) که مقداری مواد مضر به محیط زیست اضافه می‌کنند (۱۹-۱۷) سنتز شده است . بنابراین، بازده سنتز نیفیدیپین در حضور اوره‌آز-اوره به‌عنوان معیاری برای فعالیت آنزیم و تولید آمونیاک در نظر گرفته شد تا شرایط بهینه بر اساس مقدار اوره، اوره‌آز، pH و دمای واکنش مشخص شود.

با مطالعه و بررسی واکنش سنتز نیفیدیپین در حضور مقادیر مختلف ۱-۵ میلی‌مول اوره، مقادیر مختلف mg ۲۵-۵ از آنزیم اوره‌آز، دماهای C° ۹۰-۶۰ و pHهای ۹-۰ مشخص شد که شرایط بهینه برای بیشترین بازده در کمترین زمان واکنش، به ترتیب مربوط به به ۳ میلی‌مول اوره، mg/mL ۱۰ اوره‌آز، pH=۷ و دمای C° ۷۰ است.

بررسی سرعت این واکنش آنزیمی برای سنتز نیفیدیپین در حضور مهارکننده‌های مختلف فلزات سنگین، اسیدها و بازها و حلال‌های آلی بر اساس بازده محصول نشان داد که فلزات



www.SID.ir

Archive of SID



سنگین و سولفوریک اسید بیشترین اثر بازدارندگی آنزیم اوره‌آز را برای تولید آمونیاک دارند. بازدارندگی فلزات سنگین روند $Hg^{2+}>Ag^{+}>Cu^{2+}>Pb^{2+}>Cd^{2+}$ و از میان فلزات سنگین بیشترین اثر بازدارندگی برای آنزیم اوره‌آز، کاهش میزان تولید آمونیاک و کاهش بازده سنتز نیفیدیپین برای یون $Hg^{2+}$ مشاهده شد که با دناتوره کردن آنزیم اوره‌آز مانع برهم‌کنش آن با سوبسترای اوره و تجزیه آن شده است.

بازدارندگی فعالیت آنزیم اوره‌آز در حلال‌های آلی کلروفرم، استونیتریل و دی‌کلرومتان برای سنتز نیفیدیپین در شرایط بهینه شده در آب نیز روند بازدارندگی استونیتریل > کلروفرم> دی‌کلرومتان را نشان داد.

بر این اساس، بیشترین کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز برای تولید آمونیاک و سنتز نیفیدیپین مربوط به حلال آپروتیک استونیتریل است که به طور ویژه می‌تواند از طریق برهم‌کنش بیشتر جفت ناپیوندی‌اش با بخش پروتئینی و یا فلز نیکل در جایگاه فعال اوره‌آز ساختار آنزیم را تخریب، اوره‌آز را دناتوره و تولید آمونیاک و بازده محصول نیفیدیپین را کاهش دهد.

مزیت عمده این فرآیند سازگاری کامل آن با محیط‌زیست است که آمونیاک را به‌عنوان ماده اولیه برای داروی ضدفشار خون نیفیدیپین در آب و شرایط ملایم تولید کرده است. از آن‌جایی که جفت اوره‌آز–اوره می‌تواند یک منبع بیولوژیک برای تولید آمونیاک باشد، سنتز دیگر ترکیبات دارویی از اوره در حضور اوره‌آز در آب و در شرایط کاملاً سازگار با محیط‌زیست با بازده و خلوص بالا قابل انجام است.

## تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی وجود ندارد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی دانشگاه یزد صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

## References

1-Rodrigues RC, Berenguer-Murcia A, Fernandez-Lafuente R. Coupling chemical modification and immobilization to improve the catalytic performance of enzymes. Advanced Synthesis & Catalysis. 2011; 353(13): 2216-38.

2-Smith PT, King Jr AD, Goodman N. Isolation and characterization of urease from Aspergillus niger. Microbiology.1993; 139(5): 957-62.

3-Singh H, Singh K. Carbon transfer reactions with heterocycles-V. A facile synthesis of nifedipine and analogues. Tetrahedron .1989; 45(12): 3967-74.

4-Shafiee A, Miri R, Dehpour A. Synthesis and Calcium-channel Antagonist Activity of Nifedipine Analogues Containing Nitroimidazolyl Substituent in Guinea-pig Ileal Smooth Muscle. Pharmacy and Pharmacology Communications .1996; 2(11): 541-43.



www.SID.ir

Archive of SID



5-Yadav JS, Subba Reddy BV, Reddy PT. Unprecedented synthesis of hantzsch 1, 4-dihydropyridines under biginelli reaction conditions. Synthetic Communications.2001; 31(3): 425-30.

6-Miri R, Javidnia K, Sarkarzadeh H. Synthesis, study of 3D structures, and pharmacological activities of lipophilic nitroimidazolyl-1, 4-dihydropyridines as calcium channel antagonist. Bioorganic & medicinal chemistry.2006; 14(14): 4842-49.

7-Tamaddon F, Razmi Z, Jafari AA. Synthesis of 3, 4-dihydropyrimidin-2 (1H)-ones and 1, 4-dihydropyridines using ammonium carbonate in water. Tetrahedron Letters 2010; 51(8): 1187-89.

8-Salim SD, Akamanchi KG. Sulfated tungstate: An alternative, eco-friendly catalyst for Biginelli reaction. Catalysis Communications.2011; 12(12): 1153-56.

9-Tamaddon F, Razmi Z. Oxidation of 1, 4-Dihydropyridines and 3, 4-Dihydropyrimidin-2 (1 H)-ones to Substituted Pyridines and Pyrimidinones Using Ca (OCl) 2 in Aqueous Media. Synthetic Communications.2011; 41(4): 485-92.

10-Elumalai K, Ali MA, Elumalai M. Synthesis, Charecterisation and biological Evaluation of Novel Hantzsch 1,4-dihydropyridines. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.2012; 4(6): 3139-43.

11-Pramanik A, Saha M, Bhar S. “On-Water” Catalyst-Free Ecofriendly Synthesis of the Hantzsch Dihydropyridines. ISRN organic chemistry.2012; 2012: 1-7.

12-Tamaddon F, Moradi S. NanoZnO as an efficient & reusable catalyst for the preparation of 1, 4-DHPs via Hantzsch reaction. Iranian Journal of Catalysis.2012; 2(3): 101-06.

13- Rajack A, Yuvaraju K, Praveen C. A facile synthesis of 3, 4-dihydropyrimidinones/thiones and novel N-dihydro pyrimidinone-decahydroacridine-1, 8-diones catalyzed by cellulose sulfuric acid. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical.2013; 370: 197-204.

14-Tamaddon F, Moradi S. Controllable selectivity in Biginelli and Hantzsch reactions using nanoZnO as a structure base catalyst. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical.2013; 370: 117-22.

15-Xie ZB, Wang N, Wu W-X. Trypsin-catalyzed tandem reaction: One-pot synthesis of 3, 4-dihydropyrimidin-2 (1H)-ones by in situ formed acetaldehyde. Journal of biotechnology.2014; 170: 1-5.



www.SID.ir

Archive of SID



16-D alessandro O, Sathicq AG,Sambeth JE. A study of the temperature effect on Hantzsch reaction selectivity using Mn and Ce oxides under solvent-free conditions. Catalysis Communications.2015; 60: 65-69.

17-Wan JP, Liu Y. Recent advances in new multicomponent synthesis of structurally diversified 1, 4-dihydropyridines. RSC Advances.2012; 2: 9763-77.

18-Sharma VK, Singh SK.Synthesis, utility and medicinal importance of 1, 2-& 1, 4-dihydropyridines. RSC Advances.2017; 7: 2682-732.

19-Corey E, Li JJ, Drug Discovery: Practices, Processes, and Perspectives. John Wiley & Sons: 2013:172-4.



www.SID.ir