

## اثرات مشتقات جدید دی هیدروپیریدینی به عنوان مهارکننده های کلسیم ایلئوم موش صحرائی در محیط برون تنی

دکتر مظفر رضوانی پور<sup>۱</sup>، حمید سپهری<sup>۲</sup>، دکتر علیرضا فرومدی<sup>۳</sup>، دکتر غلامرضا سپهری<sup>۴</sup>،  
دکتر حمید نجفی پور<sup>۵</sup> و فرزانه اسماعیلی<sup>۶</sup>

۱- استادیار فیزیولوژی، ۲- دانشیار شیمی دارویی، ۳- دانشیار فارماکولوژی، ۴- دانشیار فیزیولوژی، 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

### 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 نیفدپین است. در این مطالعه توانایی مشتقات جدید دی هیدرو پیریدین در مهار کانال های کلسیمی نوع L از طریق بررسی بر روی ایلئوم موش صحرائی با نیفدپین مقایسه شد. پس از انتقال قطعات ۲ سانتی متری ایلئوم به داخل لوله مرکزی حمام بافت که حاوی ۱۰ سی سی محلول کریس 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 نیفدپین و یا ترکیبات مورد بررسی به محیط اضافه گردید تا ۵۰ درصد رفع انقباض (IC50) ایجاد گردد. IC50 به دست آمده برای نیفدپین  $1.0 \times 10^{-9}$  (۱/۲۶±۰/۳۷) مولار و برای ترکیبات شماره ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ به ترتیب  $1.0 \times 10^{-9}$  (۲/۵۸±۰/۲۸)،  $1.0 \times 10^{-6}$  (۲/۵۵±۰/۵۰)،  $1.0 \times 10^{-6}$  (۱/۰۳±۰/۱۲)،  $1.0 \times 10^{-6}$  (۱/۳۲±۰/۱۸)،  $1.0 \times 10^{-6}$  (۳/۱۶±۰/۸۹) و  $1.0 \times 10^{-7}$  (۱/۰۴±۰/۲۹) مولار بود. نتایج نشان داد که جایگزین کردن گروه نیترو فیل در موقعیت C4 حلقه پیریدین نیفدپین 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 ۱، ۴، ۵ و ۶) 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

#### مقدمه

هر چند استفاده بالینی از مسدود کننده های کانال های کلسیم در حال حاضر به بیماری های قلبی و عروقی محدود می گردد، 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 خوکیچه 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 کننده 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 با خصوصیات 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:

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.

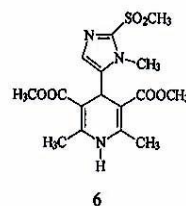
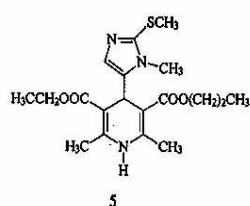
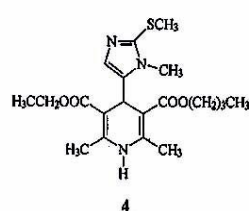
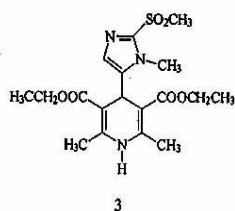
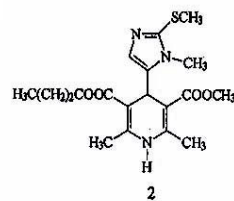
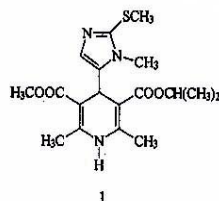
در ترکیب شماره ۲، گروه متیل تیوایمیدازول در موقعیت ۴ قرار گرفته و گروه -N- پروپیل فرمات در موقعیت ۳ حلقه پیریدین جایگزین متیل فرمات شده است.

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 و در 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.



شکل ۱: ساختمان شیمیایی نیفدیپین و ۶ ترکیب مورد مطالعه

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 نیفدپین مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش ها

**وسایل و دستگاه ها:** شامل دستگاه فیزیوگراف (RG11 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)، نیفدپین (دارو پخش ایران)، شش مشتق جدید نیفدپین (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 کلرینات 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 نیفدپین و مشتقات جدید مورد مطالعه:** استن و اسید استیک گلاسیال به عنوان حلال نیفدپین مورد استفاده قرار گرفتند.

برای تهیه محلول نیفدپین با وزن مولکولی ۳۴۶ گرم، ۳/۴۶ میلی گرم از پودر نیفدپین 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 ۴ با وزن مولکولی ۳۹۳ و ترکیب شماره ۶ با وزن مولکولی ۳۸۳ از حلال 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 نیفدپین و مشتقات آن نسبت به نور حساس می باشند، ظروف حاوی داروها و حمام بافت توسط ورقه آلومینومی پوشانده شدند تا از تابیدن نور به آنها جلوگیری شود. برای ایجاد دیپولاریزاسیون سلول و ایجاد حداکثر انقباض عضلانی از محلول کلرور پتاسیم ۸۰۰ میلی مولار استفاده شد (۱).

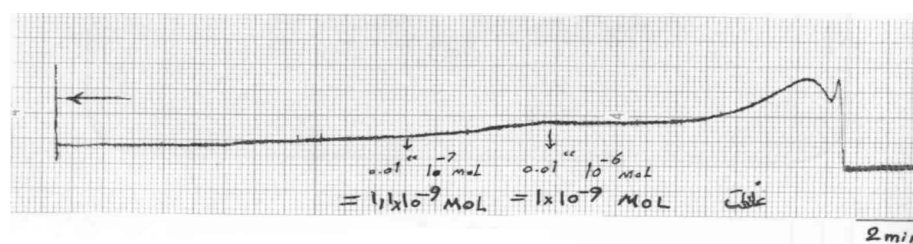
**تهیه قطعات ایلئوم موش صحرایی:** در این پژوهش از ۲۵ موش صحرایی جنس نر نژاد ویستار با وزن بین ۱۸۰-۲۵۰ گرم تهیه شده از مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمان استفاده شد. موش های صحرایی پس از انتقال از محل نگهداری اصلی به حیوان خانه محل مطالعه، به مدت ۴۸ ساعت به منظور عادت کردن با محیط و طبیعی شدن رفلکس های دستگاه گوارش، نگهداری شدند. محل نگهداری اخیر دارای دمای  $22 \pm 3$  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 از نظر 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 میله 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 تعویضی 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 شده 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 دیپلاریزاسیون 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 و یکنواختی 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

$10^{-9}$  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  $Mean \pm SE$  محاسبه شد. برای مقایسه آماری بین میانگین ترکیبات مختلف با نیفدیپین از روش آماری Paired-t-test استفاده شد و اختلاف با مقادیر  $P < 0/05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

### نتایج

#### اثر نیفدیپین بر انقباض عضله صاف ایلئوم موش صحرائی:

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.

غلظت دو محلول کنترل مورد استفاده (نیفدیپین با  $50 \pm SHC$ ) جدول ۱: مقایسه مقادیر ایلئوم جدا شده موش صحرائی (انقباض توسط حلال استن و حلال اسید استیک گلاسیال) بر کلرور پتاسیم ۸۰ میلی مولار ایجاد شده است.

IC50 (مول در لیتر)	تعداد	شاخص
		گروه
$0/37 \times 10^{-9} \pm (1/25)$	۷	با حلال استن نیفدیپین
$0/31 \times 10^{-10} \pm (7/60)$	۷	نیفدیپین با حلال اسید استیک

آزمایشات برای نمونه نیفدیپین با حلال استن و حلال اسید استیک گلاسیال هر کدام ۷ بار تکرار شده است که نتایج حاصله در جدول ۱ آمده است. میانگین به دست آمده برای این دو گروه به ترتیب  $0/37 \pm 1/25 \times 10^{-9}$  و  $0/31 \pm 7/60 \times 10^{-10}$  مول در لیتر می باشد. چون آزمون t دو دامنه اختلاف معنی داری را بین دو گروه نیفدیپین نشان نداد ( $P > 0/05$ )، 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 و ۶ برای ۵۰ درصد رفع انقباض (IC50) انجام شده توسط کلرور پتاسیم ۸۰ میلی مولار به ترتیب  $2/58 \pm 0/28 \times 10^{-5}$ ،  $1/03 \pm 0/12 \times 10^{-6}$ ،  $2/55 \pm 0/50 \times 10^{-6}$ ،  $0/32 \pm 0/18 \times 10^{-9}$ ،  $3/16 \pm 0/89 \times 10^{-7}$  و  $1/04 \pm 0/29 \times 10^{-7}$  مول در لیتر می باشد.

جدول ۲: مقایسه مقادیر  $IC_{50}$  ( $mean \pm SHC$ ) غلظت نیفدیپین با حلال استن با شش ترکیب جدید از مشتقات سنتز شده

شاخص	تعداد	گروه
(مول در لیتر) $IC_{50}$		
$367 \times 10^{-9} \pm (1/250)$	۷	نیفدیپین با حلال استن
$258 \times 10^{-9} \pm (2/58) ***$	۷	ترکیب شماره ۱
$103 \times 10^{-9} \pm (1/03) ***$	۷	ترکیب شماره ۲
$255 \times 10^{-6} \pm (2/55) **$	۸	ترکیب شماره ۳
$32 \times 10^{-9} \pm (1/32) *$	۸	ترکیب شماره ۴
$16 \times 10^{-6} \pm (3/16) **$	۸	ترکیب شماره ۵
$4 \times 10^{-7} \pm (1/04) *$	۷	ترکیب شماره ۶

$$P < = *** , P < = ** , P < = * , P < = 0.05$$

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 ( $P < 0.05$ ) و بعد از این ترکیب ترکیبات شماره ۲، ۳، ۴ و ۱ به ترتیب اثر ضد انقباضی شانضعیف تر می گردد.

### بحث و نتیجه گیری

$IC_{50}$  به دست آمده برای ترکیب شماره ۱،  $258 \pm 0.28 \times 10^{-9}$  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 ایلثوم موش مورد بررسی قرار گرفته است (۱۱، ۱۲)، تقریباً ۱۸۰۰ مرتبه ضعیف تر از نیفدیپین بوده است کهمی 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 ناقربنه قرار دارد و این ترکیب ضعیف ترین ماده مورد بررسی در این تحقیق بوده است، بنابر این می توان گفت که احتمالاً وجود استرهای ناقربنه همیشه سبب افزایش قدرت اثر این ترکیبات نمی شود.

$IC_{50}$  به دست آمده برای ترکیب شماره ۲،  $103 \pm 0.12 \times 10^{-9}$  مول در لیتر می باشد که حدود ۸۲۰۰ مرتبه ضعیف تر از نیفدیپین است.

$IC_{50}$  به دست آمده برای ترکیب شماره ۳،  $255 \pm 0.50 \times 10^{-6}$  مول در لیتر می باشد که در مقایسه با نیفدیپین قدرت اثر آن حدود ۲۰۳۰ مرتبه ضعیف ترمی باشد.

$IC_{50}$  به دست آمده برای ترکیب شماره ۴ در حدود  $32 \pm 0.18 \times 10^{-6}$  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  $10^{-6} \times (0.89 \pm 0.16/3)$  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 ناقص 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 ناقص 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 شفیع و همکاران گزارش داده اند (۱۱) مطابقت دارد.

فرم اکسید شده ترکیب شماره ۵ که توسط شفیع 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  $10^{-7} \times (0.29 \pm 0.10/4)$  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 نیترو فیل، 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. پسمی توان نتیجه گرفت که معمولاً وجود حلقه نیترو فیلدر موقعیت ۴ حلقه پیریدین موجب افزایش قدرتی هیدروپیریدین ها در مقایسه با هنگامی که حلقه متیل تیوایمیدازول و یا متیل سولفونیل 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 شفیع 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 کارایی یا عدم کارایی 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<sup>1</sup>., Sepehri H, MSc<sup>2</sup>., Foroomadi AR, PhD<sup>3</sup>., Sepehri GH, PhD<sup>4</sup>., Najafipour H, PhD<sup>5</sup>. and Esmaili F, MSc<sup>6</sup>.**

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-methylsulfonyl or methylthio 5- imidazolyl. Wistar rats (180-250g) were killed by a blow to the head. The intestine was removed above the ileocecal junction and longitudinal smooth muscle segments of 2 cm length were maintained at 37°C in a 10ml jacket organ bath containing oxygenated intestinal krebs solution. The contractions were recorded with a force displacement transducer connected to a physiograph. The contraction was elicited with 80mmol KCL. Test compounds were cumulatively added to produce 50% relaxation of contracted ileal smooth muscle (IC<sub>50</sub>) that was determined from the concentration response trace recorded by physiograph. The IC<sub>50</sub> of nifedipine was  $(1.26 \pm 0.37) \times 10^{-9}$  and of compounds 1,2,3,4,5 and 6 was  $(2.57 \pm 0.28) \times 10^{-5}$ ,  $(1.03 \pm 0.12) \times 10^{-5}$ ,  $(2.55 \pm 0.50) \times 10^{-6}$ ,  $(1.32 \pm 0.18) \times 10^{-9}$ ,  $(3.16 \pm 0.89) \times 10^{-6}$  and  $(1.04 \pm 0.29) \times 10^{-7}$  mole respectively. The results indicate that replacement of 2- nitrophenyl at C4 position of nifedipine with methylthio or methyl sulfonyl imidazolyl reduces the activity. The comparison of the activities of symmetrical esters (compounds No 3 & 6) indicates that increasing the length of methylene chain in C3 and C5 esters substituent decreases the activity. Comparison*

of the activities of asymmetrical 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 asymmetrical esters (compounds 1,4,5and 6) indicates that asymmetrical 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 صنایعی جدید مهارکننده کانال های کلسیمی بر فشار خون، نیروی انقباضی و ضربان قلب در خرگوش. مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی، ۱۳۷۹، جلد ۴، شماره ۲، ص ۱۹۷-۲۱۱.
3. Bolger GT, Genego P, Klockowski R, *et al.* Characterization of binding of the Ca<sup>++</sup> 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*. 1<sup>st</sup> ed . Philadelphia, WB Sunders, 190pp : 1053-1058
5. Hurwitz L, Partridge LD and Leach J. k(eds.). *Calcium channels: Their properties, function, regulation and clinical relevance*. 1<sup>st</sup> ed, CRC press, 1991pp : 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 Triggler 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; 56(4 ): 509-517.
9. Mager PP, Coburn RA, Solo AJ, Triggler 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. Nifedipine 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 analogues with methylsulfonylimidazolyl substituent *Pharm Acta Helv* 1998; 73(2): 7579 .
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): 1474-73.

