

سنتز و اثرات ضد تشنج ۲-(۲-آلکیل تیو-۱-بنزیل-۵-ایمیدازولیل)-۴،۳،۲

-تری هیدرو-۴،۳،۱- تیادی آزول ها در موش کوچک

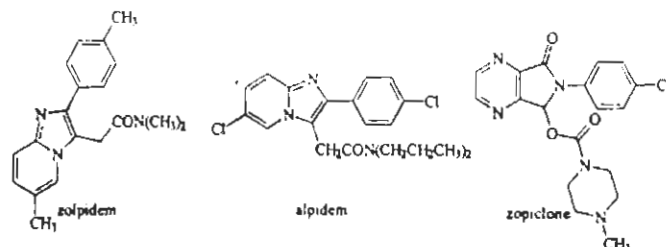
*دکتر فرزین هادی زاده، دکتر حسین حسین زاده، دکتر مینا کلانتری، دکتر رکسانا کیاست، دکتر ماشا الله محرابی
* دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

خلاصه

با شروع از ۱- بنزیل-۲- مرکاپتو-۵- هیدروکسی متیل ایمیدازول که به سهولت سنتز می گردد یکسری مشتقات جدید ۲-(۲-آلکیل تیو-۱-بنزیل-۵-ایمیدازولیل)-۴،۳،۲-تری هیدرو-۵-ایمیدازولیل-۴،۳،۱- تیادی آزول [۴a-c] طی مراحل مختلف سنتز گردید. اثرات ضد تشنج ترکیبات نهایی [۴] در موش کوچک با هدف کشف عوامل ضد تشنج قوی تر مورد مطالعه قرار گرفت. در آزمون الکتروشوک به استثنای ۴a سایر ترکیبات ۴b، c مدت زمان تشنج تونیک را کم کردند. این امر حاکی از آن است که آنها می توانند در درمان صرع بزرگ موثر باشند. لیکن اثر آنها در مقایسه با شاهد دیازپام خیلی کمتر بود. کلمات کلیدی: لیگاند غیر بنزودیازپینی، رسپتور بنزودیازپین، ایمیدازول.

مقدمه

بنزودیازپین ها نظیر دیازپام و کلردیازپوکساید به مدت طولانی به خاطر داشتن اثرات فارماکولوژیکی متنوع نظیر اثرات ضد هیجان (۴)، خواب آوری-سباتیو (۱۰، ۱۴، ۱۹)، شل کننده عضلانی (۹، ۱۲) و ضد تشنج (۵، ۱۵، ۱۶، ۲۳) شناخته شده اند. آرامبخش غیر بنزودیازپینی نظیر زولپیدم (۱۷)، آلپیدم (۲) و زوپیکلون (۲۲) اخیراً توسعه یافته اند و داروهای جدیدی در این گروه تحت تحقیق و بررسی هستند. داروهای غیر بنزودیازپینی در مقایسه با ۱۰۴- بنزودیازپین های کلاسیک اثرات جانبی کمتر دارند.



با در نظر داشتن فعالیت ضد تشنج ارتو-آریل اکسی فنیل تری آزول ها (شکل ۱، ماده ۱) (۲۱) که آنالوگهای غیر بنزودیازپینی استازولام (از تریازولوبنزودیازپینها) هستند یکسری بنزیل ایمیدازولیل تیادیازولیلنها [۴a-c] با جایگزینی

فنیل با ایمیدازولیل، هترواتم اکسیژن با متیلن و تریازولیل با تیادیازولیدینیل (۱۳) سنتز شدند (شکل ۱). چنین فرض شد که ترکیبات سنتز شده واجد حداقل نیازمندیهای لازم برای اتصال به رسپتور بنزودیازپینی (۷) (شکل ۱) هستند. در این مطالعه اثرات ضد تشنج ۴a-c روی موش کوچک در مدل الکتروشوک (۱۱) بررسی شد.

مواد و روش کار

شیمی

تمام مواد و حلال ها از منابع تجاری داخلی و خارجی تهیه شدند و همگی از درجه خلوص سنتزی برخوردار بودند. نقطه ذوب به کمک دستگاه نقطه ذوب کاپیلری الکتروترمال اندازه گیری شد و تصحیح نشده است. طیف های مادون قرمز توسط اسپکترومتر مدل پاراگن ۱۰۰۰ گرفته شد و طیف پروتون توسط دستگاه طیف سنج رزونانس مغناطیسی هسته ای پروکر AC۱۰۰ گرفته شد.

روش کلی برای تهیه ۲-آلکیل تیو-۱-بنزیل-۵-ایمیدازولیل (۴،۳،۱-تری هیدرو-۵-ایمیدازولیل)-۴،۳،۲-تری هیدرو-۵-ایمیدازولیلها [۴a-c] به مخلوط در حال به هم خوردن ترکیب ۲ (۱۲/۹ میلی مول)،

روشن تهیه ۲- (۲- بنزیل تیو-۱- بنزیل -۵- ایمیدازولیل) -
 ۴,۳,۲- تری هیدرو - ۵- ایمینو-۴,۳,۱- تیادی آزول [۴c]:
 مطابق روش کلی شرح داده شده سنتز گردید.

بازده: ۹۲/۵۵ درصد

نقطه ذوب: ۲۴۷-۲۴۰ °C

طیف مادون قرمز:

IR (KBr): ν ۳۳۹۶, ۳۲۶۰ cm^{-1} (NH)

طیف پروتون:

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform): δ ۱۱/۱۶ (s, 1H, NH, D_2O exchange), ۷/۹۵ (bs, 2H, H-C_2 thiadiazole, NH), ۷/۵۵ (s, 1H, H-C_4 imidazole), ۷/۲۵ (m, 8H, arom, NH), ۶/۹۲ (m, 3H, arom), ۵/۴ (s, 2H, CH_2N), ۴/۳۷ ppm (s, 2H, CH_2S).

فارماکولوژی

حیوانات: موش، های نر و ماده با محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم که در اتاق حیوانات انیستیتو رازی مشهد پرورش یافته بودند، استفاده شدند. این حیوانات در سیکل روشنایی / تاریکی (۱۲/۱۲ ساعت) در دمای 21 ± 2 درجه سانتی گراد با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

تهیه نمونه ها: تمام نمونه ها از جمله دیازپام در DMSO حل شدند. آزمون الکتروشوک: تحریکی با جریان متناوب ۵۰ هرتز و ۱۵۰ میلی آمپر به مدت ۰/۲ ثانیه از طریق الکترود هایی که به گوش حیوان وصل شده بود، ایجاد شد. قبل از اتصال الکترودها گوش های حیوان با محلول نمکی ۰/۹ درصد خیس شد. مدت زمان کشش اندامهای عقبی بدن حیوان و درصد حفاظت از مرگ و میر گزارش شد.

آنالیز آماری: داده ها به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار و آنالیز واریانس و سپس آزمون Tukey-Kramer گزارش شد. نتایجی که دارای $P \leq 0/05$ بود، به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

شیمی

با شروع از ۲- آلکیل تیو -۱- بنزیل -۵- هیدروکسی متیل ایمیدازول (۲۱) ۲- آلکیل تیو -۱- بنزیل -۵- فرمیل

تیوسی کاربازید (۱۲/۹ میلی مول) در اتانول (۱۵۰ میلی لیتر) و HCl (۳۷٪، ۰/۱۳ میلی لیتر) اضافه گردید. محلول در حرارت ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه حرارت داده شد. رسوبی تشکیل گردید که پس از صاف شدن و خشک شدن ترکیب ۴ حاصل شد.

روشن تهیه ۵- (۱- بنزیل -۲- متیل تیو-۵- ایمیدازولیل) -
 ۴,۳,۲- تری هیدرو - ۵- ایمینو-۴,۳,۱- تیادی آزول [۴a]:
 مطابق روش کلی شرح داده شده سنتز گردید.

بازده: ۸۹/۳۱ درصد

نقطه ذوب: ۲۲۹-۲۲۷ °C

طیف مادون قرمز:

IR (KBr): ν ۳۴۰۰, ۳۲۴۰ cm^{-1} (NH)

طیف پروتون:

$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform): δ ۱۱/۲۵ (s, 1H, NH, D_2O exchange), ۸/۰۸ (s, 1H, NH, D_2O exchange), ۷/۹۹ (s, 1H, H-C_2 thiadiazole), ۷/۵ (s, 1H, H-C_4 imidazole), ۷/۲۷ (m, 3H, arom, NH), ۷/۰۰ (m, 3H, arom), ۵/۴۵ (s, 2H, CH_2N), ۲/۵۷ ppm (s, 3H, CH_3).

روشن تهیه ۲- (۲- اتیل تیو-۱- بنزیل -۵- ایمیدازولیل) -
 ۴,۳,۲- تری هیدرو - ۵- ایمینو-۴,۳,۱- تیادی آزول
 [۴b]: مطابق روش کلی شرح داده شده سنتز گردید.

بازده: ۸۹/۱۶ درصد

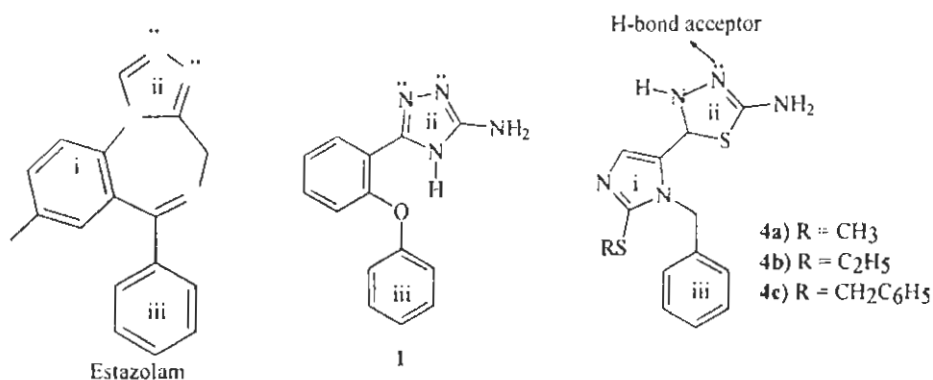
نقطه ذوب: ۲۳۰ °C

طیف مادون قرمز:

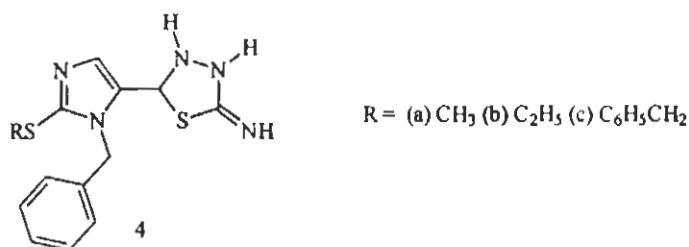
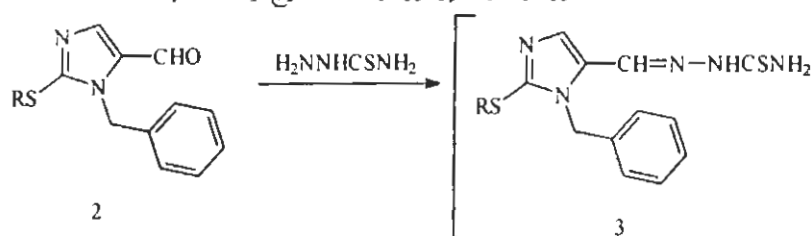
IR (KBr): ν ۳۴۰۰, ۳۲۴۰ cm^{-1} (NH)

طیف پروتون:

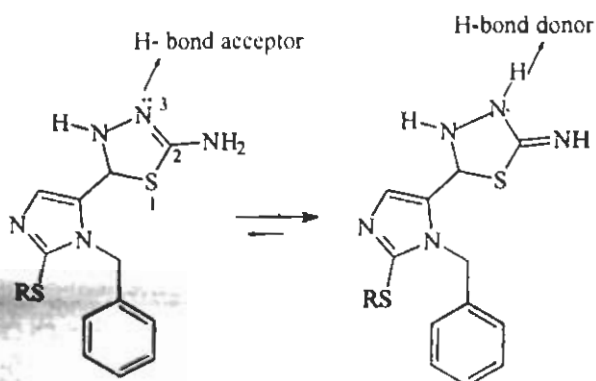
$^1\text{H-NMR}$ (deuteriochloroform): δ ۱۱/۲۲ (s, 1H, NH, D_2O exchange), ۸/۰۲ (s, 1H, NH, D_2O exchange), ۷/۹۴ (s, 1H, H-C_2 thiadiazole), ۷/۴۷ (s, 1H, H-C_4 imidazole), ۷/۲۴ (m, 3H, arom, NH), ۶/۹۵ (m, 3H, arom), ۵/۴۶ (s, 2H, CH_2N), ۳/۰۲ (q, 2H, CH_2S), ۱/۲۱ ppm (t, 3H, CH_3).



شکل ۱: مقایسه ساختمان های استازولام، آریل اکسی فیل تریازول ها (۱) و بنزیل ایمیدازولیل تیادیازولیدین ها (۲). حداقل نیازمندیهای ساختمانی لازم برای اتصال به رستور بنزودیازپینی عبارتند از: (i) حلقه آروماتیک با هترو آروماتیک در صفحه xy (ii) اتم یا گروه پذیرنده پروتون π_r (iii) حلقه آروماتیک یا هترو آروماتیک π_r خارج از صفحه xy



شکل ۲: نمایش شمایک نحوه سنتز ترکیبات نهایی [۴] از ۲-آلکیل تیر-۱-بنزیل-۵-فرمیل ایمیدازول [۲]



شکل ۳: نمایش توتومرهای در حال تعادل ترکیب ۴. توتومر غالب (سمت چپ) شکل ایمیتر می باشد.

جدول ۱: اثر دپازپام و لیگندهای غیر بنزودیازپینی BZR c-a روی تشنج تونیک و مهار مرگ ناشی از الکتروشوک.

درمان	دوز	زمان تشنج تونیک (ثانیه)	درصد محافظت در برابر مرگ و میر
محلول نمکی	۰/۲ml	۱۷/۳±۲/۰	۰
دی متیل سولفوکسید	۰/۱ml	۲۱/۳±۱/۳	۰
دپازپام	۱۴mg/kg	۲/۲±۰/۹***	۹۰
	۲۱mg/kg	۰	۱۰۰
	۲۸mg/kg	۰	۱۰۰
a	۱۴mg/kg	۱۷/۱±۱/۶	۰
b	۱۴mg/kg	۱۳/۷±۱/۵***	۱۰
	۲۱mg/kg	۱۴/۷±۲/۰**	۰
	۲۸mg/kg	۱۵/۳±۱/۰**	۰
	۱۴۰mg/kg	۱۸/۶±۱/۰**	۰
c	۱۴mg/kg	۱۵/۲±۰/۹*	۰
	۲۱mg/kg	۱۴/۹±۰/۸**	۰
	۲۸mg/kg	۱۶/۰±۱/۶*	۰

($P < 0.05$ *، $P < 0.01$ **، $P < 0.001$ *** در مقایسه با دی متیل سولفوکسید (آزمون آماری Tukey-Kramer))

تشنج تونیک را کم کردند. این حاکی از آن است که آنها می توانند در درمان صرع بزرگ موثر باشند (۲۳) (جدول ۱).

بحث

مکانیزم ضد تشنج این ترکیبات ثابت نشده است. مطالعات بیشتر برای درک مکانیسم دقیق آنها لازم است. تصور می شود که این ترکیبات با رسپتورهای بنزودیازپینی (BZR) به عنوان آگونیست وارد واکنش می شوند. آنها واجد حداقل خصوصیات ساختمانی لازم برای اتصال به رسپتور بنزودیازپینی هستند (۷). این خصوصیات برای آگونیست های BZR عبارتند از: (الف) یک حلقه آروماتیک یا هترو آروماتیک در صفحه XY، (ب) یک اتم یا گروه پذیرنده الکترون π در فاصله ۵/۵-۴ آنگستروم از مرکز حلقه آروماتیک یا هترو آروماتیک و (ج) یک گروه آروماتیک یا هترو آروماتیک π خارج از صفحه XY (شکل ۱). مطالعات طیفی حاکی از آن بود که c-a به

ایمیدازول [c-a] مطابق آنچه قبلاً گزارش شده بود، سنتز شد (۹). تراکم c-a با تیوسی کاربازید (۳) از طریق حرارت دادن در اتانول اسیدی سبب ایجاد ترکیب نهایی ۲- (۲-آلکیل تیو-۱-بزیل-۵-ایمیدازولیل)-۴،۳،۲-تری هیدرو-۵-ایمینو-۳،۴،۱-تیادی آزول [c-a] با بازده بالا (۹۰ درصد) شد (شکل ۲). حد واسط تیوسی کاربازون (۴) جدا نشد. در طیف پروتون سه پروتون جداگانه NH مشاهده شد. این توتومر ایمینو را برای ترکیب ۴ تایید می کرد (شکل ۳). توتومر مشابهی قبلاً برای ۴(H)-۵-ایمینو-۲- (۱-متیل-۴-نیترو-۲-پیرولیل)-۱،۳،۴-اکسادی آزول گزارش شده است (۶).

فارماکولوژی

در تشنج ناشی از الکتروشوک، دپازپام مدت زمان تشنج تونیک را در تمامی دوزها (۱۴-۲۸ mg/kg، ip) کم کرد. در دوزهای بالاتر، دارو به طور کامل موش را در برابر حملات محافظت کرد. به استثنای a سایر ترکیبات b,c مدت زمان

2. Berson A., Descatoire V., Sutton A., et al. 2001, Toxicity of alpidem, a peripheral benzodiazepine receptor ligand, but not zolpidem, in rat hepatocytes: role of mitochondrial permeability transition and metabolic activation, J. Pharmacol Exp Ther. 299(2): 793-800
3. Boschelli D. H., Connor D. T., Bornemeier D. A., Dyer R. D., Kennedy J. A., Okankuwo G. C., Schrier D. J., Wright C. D., 1993, 1,3,4-oxadiazole, 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole analogs of the fenamates: in-vitro inhibition of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase activities, J. Med. Chem., 36, 1802-1810.
4. Campbell J. L., Sherman A. D., Petty F., 1980, Diazepam anxiolytic activity in hippocampus, Commun. Psychopharmacol. 4:387-92.
5. Chemburkar J. A., Ravindranath S., Desai A. D., 1973, Diazepam as an anticonvulsant, Neurol. India, 21:124-7.
6. Firoozi F., Javidnia K., Kamali M., Fooladi A., Foroumadi A., Shafiee A., 1995, Synthesis of substituted 1-methyl-2-(1,3,4-oxadiazol-2-yl)-4-nitropyroles [1], J. Heterocyclic Chem., 32, 123-127.
7. Fryer R., 1990, Ligand interactions at benzodiazepine receptor. In: Hansch C., Sammes P. G., Talor J. B., eds., Comprehensive medicinal chemistry, 1st ed., 3rd Volume, Oxford: Pergamon Press, 539-566.
8. Hadizadeh F., Tafti F. I., 2002, Syntheses of substituted 2-(2-alkylthio-1-benzyl)-1,3,4-oxadiazoles, J. Heterocyclic Chem., 39, 1-4.
9. Hamilton J. T., 1967, Muscle relaxant activity of chlordiazepoxide and diazepam, Can. J. Physiol. Pharmacol., 45:191-9.
10. Holbrook A., Crowther R., Lotter A., Endeshaw Y., 2001, The role of benzodiazepines in the treatment of insomnia: meta-analysis of benzodiazepine use in the treatment of insomnia, J. Am. Geriatr. Soc., 49:824-6.
11. Hosseinzadeh H., Khosravan V., 2002, Anticonvulsant effect of *Crocus sativus* L. stigmas aqueous and ethanolic extracts in mice., Arch. Iran. Med., 5: 44-47.
12. Hudson R. D., Wolpert M. K., 1970, Central muscle relaxant effects of diazepam, Neuropharmacology, 9:481-8.
13. Kiasat R., Hadizadeh F., Shafiee A., Synthesis of benzylimidazolylthiadazole derivatives as benzodiazepine receptor ligand. 7th Iranian Seminar of Pharmaceutical Sciences (ISPS), Mashhad, 26-28 August 2000.
14. Linnoila M., Viukari M., Lamminsivu U., Auvinen J., 1980, Efficacy and side effects of lorazepam, oxazepam, and temazepam as sleeping aids in psychogeriatric inpatients, Int. Pharmacopsychiatry, 15:129-35.

شکل توترمر غالب ایمن وجود دارد که در آن ازت ناحیه ۳ دهنده پروتون می باشد (شکل ۳) و قادر نیست به عنوان پذیرنده پروتون در واکنش با رستور بنزودیازپینی مانند آگونست های حقیقی عمل کند. تصور می شود که دلیل فعالیت بسیار کمتر ترکیبات سنتز شده در مقایسه با دیازپام همین مسئله باشد. در جدول ۱ ملاحظه می شود بر خلاف انتظار با افزایش دوز در ماده ۴b به جای آنکه زمان انقباضات تونیک کاهش پیدا کند، افزایش می یابد. در توضیح این مسئله سه فرضیه را می توان مطرح کرد: (الف) دوز بالای این ماده احتمالا با بروز سمیت موجب افزایش زمان تشنج نسبت به دوزهای پایین تر شده است به صورتی که محافظت در برابر مرگ و میر نیز از بین رفته است، (ب) در دوزهای بالاتر این ماده به عنوان آگونست وارونه عمل می کند. آگونست های وارونه به گیرنده بنزودیازپینی اتصال یافته و تمایل گابا را به جایگاه خود کم می کنند و سبب کاهش ورود یون کلرید به سلول شده و در نتیجه منجر به دیلاریزاسیون می گردند. این ترکیبات بر عکس آگونست ها باعث ایجاد تشنج می شوند (۲۳، ۷) (ج) احتمالا دوز ۱۴ mg/kg حد آستانه اثر بوده و افزایش دوز تاثیر چندانی در کارایی دارو ندارد. این گونه اثر با ترکیبات دیگری نیز گاهی مشاهده شده است. در مطالعات قبلی که روی اثرات ضد تشنج عصاره الکلی برگ گیاه نارنج روی موش کوچک انجام گرفته است، نتایج مشابه ماده ۴ به دست آمده است (۱).

تقدیر و تشکر

این مقاله به پشتوانه مالی شورای محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام گرفت. به این وسیله از معاونت محترم پژوهشی و اعضای محترم شورای پژوهشی دانشگاه صمیمانه تشکر می شود. همچنین از ریاست محترم دانشکده علوم که کلیه طیف های پروتون در دپارتمان شیمی آن دانشکده گرفته شدند، قدردانی می گردد.

منابع

۱. صیادی کاخکی، سید محسن، بررسی اثر ضد تشنج گیاه نارنج بر روی موش کوچک، پایان نامه دکترای داروسازی، شماره ۹۰۴، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ۱۳۸۰.

Gender differences in hyperalgesia process due to partial nerve ligation (PSNL) in mice

*M. Shamsi Pharm.D., **G. R. Sepehri Ph.D.

*Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences and Health Services

**Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences

Abstract

Neuropathic pain is a chronic pain which is produced as a result of peripheral nerve damage and causes hyperalgesia (increased sensitivity to noxious stimuli). Gender differences to neuropathic pain have been reported in animal models but the results are controversial.

So in this study the gender differences to noxious stimuli and hyperalgesia process are studied in mice using Partial Sciatic Nerve ligation (PSNL) model during 20 days. The response to painful stimulus is tested by Hot plate method in 3 groups of intact, sham- operated and PSNL male and female mice and the reaction time was recorded in intact group. In sham- operated and PSNL groups the reaction time to thermal stimulus was also recorded every other day from 6 to 20 days after operation.

The results of this study showed that the mean reaction time to thermal stimuli was not significantly different between intact and sham- operated mice. But in PSNL mice the mean reaction time decreased significantly in comparison with intact and sham- operated groups. The mean reaction time to thermal stimuli in PSNL female mice was significantly different from sham- operated groups in 10th and 14th days after operation, while in male PSNL mice the reaction time was significantly different in 10th day after operation. Hyperalgesia in female mice was continued from 10 to 14 days after operation but in male PSNL mice the hyperalgesia was only observed on 10th day after operation.

In summary the results of this study showed that the partial sciatic nerve ligation caused hyperalgesia in both sexes but the female mice are better models for studying hyperalgesia process. The reason for gender difference to neuropathic pain following partial sciatic nerve ligation is not determined yet. Keywords: Neuropathic pain, Hyperalgesia, Reaction time, Partial sciatic nerve ligation.

Synthesis and anticonvulsant effects of 2-(2-alkylthio-1-benzyl-5-imidazolyl)-2,3,4-trihydro-1,3,4-thiadiazoles in mice

*F. Hadizadeh Pharm. D., Ph.D., H. Hosseinzadeh Pharm. D., Ph.D., M. Kalanturi Pharm. D., R. Kiasat Pharm. D., M. Mehrabi, Pharm. D.

*Pharmacy Faculty and Bu- Ali Pharmaceutical Research Center, Mashhad University of Medical Sciences.

Abstract

Starting from 1-benzyl-2-mercapto-5-hydroymethylimidazole which is prepared readily, a series of novel 2-(2-alkylthio-1-benzyl-5-imidazolyl)-2,3,4-trihydro-5-imino-1,3,4-thiadiazoles [4a-c] were synthesized through multiple steps. The anticonvulsant activities of the title compounds [4a-c] were studied in mice in order to identify more potent anticonvulsant agents. In maximum electroshock test except 4a other compounds [4b,c] decreased the duration of tonic seizures. These results indicate that they may have beneficial effects in grand mal seizures, but their potency, compared with diazepam was very lower.

Keywords: Non-benzodiazepine Ligands, Benzodiazepine Receptors, Imidazole.