

Franciszek Sączewski, Ewa Kobierska, Tomasz Dębowski,
Henryk Trzeciak¹, Ewa Krzystanek¹, Marek Krzystanek¹,
Maria Gdaniec², Elżbieta Nowak²

PRACA ORYGINALNA

Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Gdańsku
¹Zakład Farmakologii Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach
²Zakład Krystalografii Wydziału Chemicznego Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu

Wpływ niektórych pochodnych 2-imidazoliny na ciśnienie tętnicze krwi i częstość akcji serca szczurów szczepu Wistar

Circulatory Activities of Some 2-Imidazoline Derivatives in Wistar Rats

Summary

Background 2-aryliminoimidazolines constitute a valuable class of centrally acting antihypertensive drugs. The aim of our studies was to evaluate effects of some analogues of clonidine and lofexidine on the arterial blood pressure and heart rate in Wistar rats following i.v. administration.

Material and methods Effects of α -hydroxy (**1a-g**) and 2-amino (**2a-d**) analogues of clonidine and N-benzyl-N-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-methoxylamine (**3**) on the mean arterial blood pressure and heart rate were determined in normotensive, male Wistar rats weighting 220–370 g. The experiments were performed using animals anaesthetized with urethane and tracheotomized.

Results Compounds **1a-g** showed hypotensive activity accompanied by a positive chronotropic effect with **1b** being the most active ($ED_{50} = 0,17$ and $0,145$ mg/kg respectively). Among the 2-amino-phenyliminoimidazolines of type **2**, the more hydrophilic **2a** and **2b** exhibited relatively weak hypotensive effects, while the more hydrophobic analogues **2c** and

2d were shown to possess remarkable hypertensive activities at doses 0,25 mg/kg. X-ray crystal structure analysis of the thiocyanate salt **2e** confirmed geometrical features required for good ligand interaction at the α_2 -adrenergic receptors. On the other hand, N-benzyl-N-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-methoxylamine **3** was not active at doses up to 2 mg/kg.

Conclusions The introduction of the hydroxyl group on the exocyclic nitrogen atom of 2-aryliminoimidazolines afforded compounds retaining much of the hypotensive activity. On the other hand, cardiovascular activity of the analogues containing 2-amino substituent at the phenyl ring depends strongly on their lipophilic character. It can be presumed that penetration of the more lipophilic **2c** and **2d** into the CNS enables these compounds to block α_2 -adrenergic receptors which results in an increased blood pressure.

key words: 2-imidazolines, X-ray structure analysis, arterial blood pressure, heart rate

Arterial Hypertension 2000, vol. 4, no 3, pages 173–180.

Wstęp

Leki imidazolinowe kojarzą się przede wszystkim z leczeniem nadciśnienia tętniczego. Warto jednak

pamiętać, że potencjał terapeutyczny tej klasy związków heterocyklicznych jest znacznie szerszy, bowiem działanie za pośrednictwem receptorów α -adrenergicznych umożliwia wywieranie wpływu na wiele istotnych procesów fizjologicznych zarówno w centralnym układzie nerwowym, jak i w organach peryferyjnych. Antagoniści receptorów α_2 -adrenergicznych mogą być stosowani między innymi w chorobie Alzheimer, chorobie Raynauda, depresji, impotencji, otyłości, cukrzycy, zaparciach oraz przy łagod-

Adres do korespondencji: prof. dr hab. Franciszek Sączewski
Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych
Wydział Farmaceutyczny AM w Gdańsku,
Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk
tel. (058) 349-32-50, e-mail: saczew@farmacja.amg.gda.pl

 Copyright © 2000 Via Medica, ISSN 1428-5851

nym przeroście gruczołu krokowego. Natomiast agoniści, obok wpływu na naciśnienie tętnicze, wykazują korzystne działanie w procesie łagodzenia głodu morfinowego, w zaburzeniach psychicznych polegających na niemożności koncentracji i rozchwianiu selektywnej uwagi, w leczeniu jaskry, biegunek, karłowatości na tle przysadkowym, mogą być również stosowane jako analgetyki [1–4].

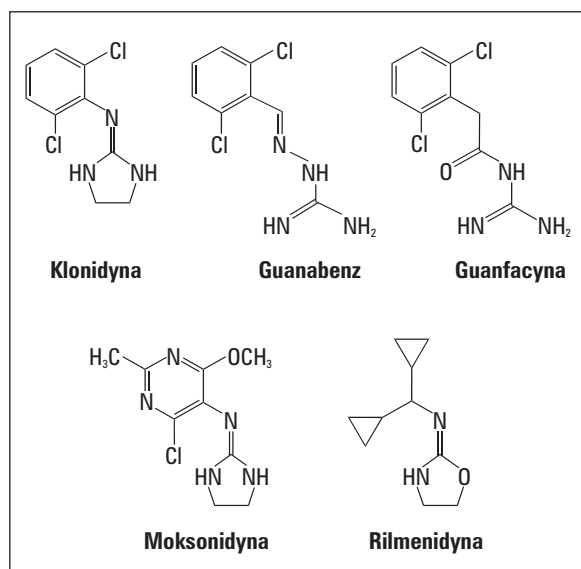
Prototypem hipotensyjnych leków imidazolinowych jest 2,6-dichlorofeniloimino-2-imidazolidyna (klonidyna) (ryc. 1), której mechanizm działania polega na pobudzaniu receptorów α_2 -adrenergicznych (autoreceptorów) zlokalizowanych w jądrze pasma samotnego rdzenia przedłużonego [5]. Lek ten, wprowadzony do leczenia w połowie lat 60., w znacznym stopniu wyparł stosowane wówczas leki nieselektywne: rezerpinę i α -metyldopę. Ponadto, stanowiąc doskonałe narzędzie badawcze w rękach farmakologów i neurobiologów, klonidyna przyczyniła się do poznania procesów ośrodkowej regulacji ciśnienia tętniczego krwi.

Fascynacja lekiem nie trwała jednak zbyt długo. Wkrótce bowiem okazało się, że obok pożądanego działania hipotensyjnego, klonidyna powoduje wystąpienie wielu uciążliwych działań niepożądanych, takich jak: senność, bradykardia, suchość w jamie ustnej, ortostatyczny spadek ciśnienia, zaburzenia libido i nagły wzrost ciśnienia po odstawieniu leku. Próby wprowadzenia analogów guanidynowych, takich jak guanabenz i guanfacyna (ryc. 1), o mniej zaznaczonym działaniu ubocznym, przyniosły wąt-

pliwy sukces, ponieważ leki te — ze względu na mniejszą lipofilowość — charakteryzowały się znacznie mniejszą aktywnością farmakologiczną. Nic więc dziwnego, że z chwilą wprowadzenia do lecznictwa inhibitorów konwertazy angiotensyny, antagonistów wapnia oraz antagonistów receptorów α_1 -adrenergicznych, zainteresowanie klonidyną i innymi lekami o ośrodkowym mechanizmie działania przeciwnaciśnieniowego znacznie zmalało.

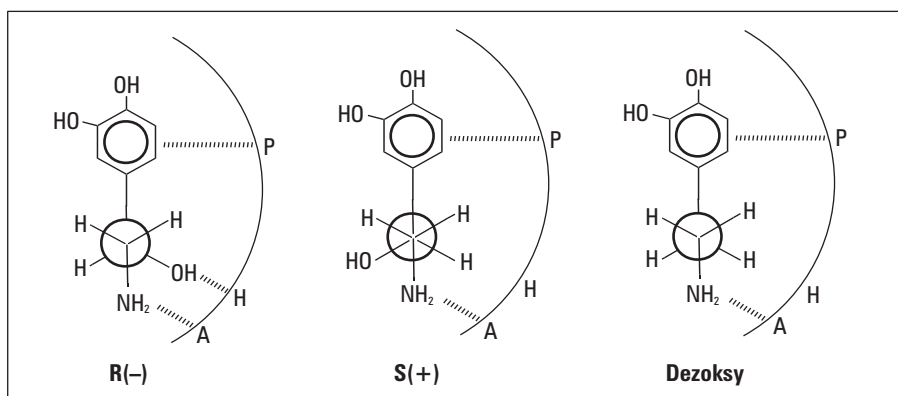
Problemy klinicystów związane ze stosowaniem leków imidazolinowych znajdowały pełne odzwierciedlenie w badaniach podstawowych. Porównanie profilu farmakologicznego znanych agonistów receptorów α -adrenergicznych, tj. pochodnych fenyletyloaminy, których reprezentantami są katecholaminy — noreadrenalina i adrenalina — oraz imidazolin o strukturze tolazoliny czy klonidyny wykazało, iż fenyletyloaminy posiadają większe powinowactwo do receptorów α_1 -adrenergicznych, są pełnymi agonistami oraz posiadają wysoką aktywność wewnętrzną. Związki imidazolinowe wykazują natomiast selektywność działania względem receptorów α_2 , są częściowymi agonistami i charakteryzują się niską aktywnością wewnętrzną. Wiele różnic stwierdzono także, badając zależności pomiędzy strukturą i aktywnością biologiczną (SAR — *structure-activity relationships*) imidazolin i pochodnych fenyletyloaminy. Zakładano, iż struktura chemiczna tej ostatniej klasy związków powinna stanowić rodzaj matrycy, na podstawie której określone zostaną wymagania stereochemiczne receptora α_2 -adrenergicznego, a następnie — na podstawie wypracowanego modelu farmakofora — możliwe będzie zaprojektowanie nowego leku imidazolinowego. Tymczasem badania SAR dowiodły, że dla obu klas ligandów wymagania te są różne. Przede wszystkim, pochodne imidazolinowe nie spełniają założeń teorii Easson-Stedmana, sformułowanej dla katecholamin, które posiadają asymetryczny atom węgla w łańcuchu bocznym [6]. Według tej teorii (ryc. 2) enancjomer R(–) pochodnej fenyletyloaminy odznacza się większą potencją działania biologicznego niż izomer S(+) oraz pochodna pozbawiona grupy hydroksylowej, gdyż tylko ten izomer posiada odpowiednie ułożenie w przestrzeni 3 grup funkcyjnych, odpowiedzialnych za wiązanie ligandu z receptorem, tj. pierścienia aromatycznego (wiązania hydrofobowe), grupy hydroksylowej (wiązanie wodorowe) oraz dodatnio naładowanego atomu azotu (wiązanie jonowe). Po zsyntezowaniu analogów imidazolinowych (tzw. katecholoimidazolin) okazało się, że potencja działania poszczególnych związków, względem receptorów α_1 - i α_2 -adrenergicznych, jest następująca: dezoksy > R(–) > S(+).

Istotne różnice pomiędzy obiema grupami obserwowano także, badając wpływ rodzaju i położenia



Rycina 1. I i II generacja leków imidazolinowych i guanidynowych o ośrodkowym działaniu hipotensyjnym

Figure 1. I and II generation of imidazoline and guanidine antihypertensive agents with central mechanism of action



Rycina 2. Schematyczna ilustracja hipotezy Eassona-Stedmana. **P**, **H** i **A** przedstawiają trzy hipotetyczne miejsca wiążące receptora adrenergicznego, z którym łączą się grupy: fenylowa, aminowa i/lub hydroksylowa izomerów *R*(-) i *S*(+) noradrenaliny oraz dopaminy

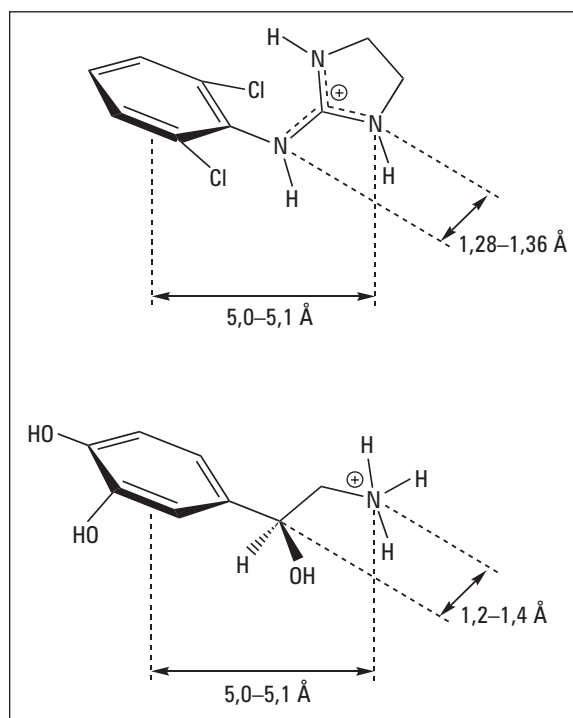
Figure 2. Schematic illustration of the Easson-Stedman hypothesis. **P**, **H** and **A** represent three hypothetical binding sites of adrenergic receptor to which attach phenyl, amino and/or hydroxyl functional groups of *R*(-) and *S*(+) isomers of noradrenaline and the corresponding *desoxy* derivative, dopamine

podstawników wprowadzanych do pierścienia aromatycznego na aktywność biologiczną. W rezultacie wszechstronnych badań SAR [7, 8], wspartych dodatkowo analizą rentgenograficzną i komputerowym modelowaniem molekularnym [9], których zadaniem było określenie tzw. konformacji bioaktywnej ligandów, dla pochodnych fenyletyloaminy zaproponowano model „trójpunktowego” wiązania z receptorem, zaś dla aryloiminoimidazolidyn typu klonidyny — model „dwupunktowy” (ryc. 3) [10]. Oznaczało to uznanie faktu, że na poziomie molekularnym mechanizm procesu rozpoznania cząsteczkowego agonisty przez receptor dla każdej z grup jest odmienny i prawdopodobnie odbywa się z udziałem innych aminokwasów.

Od połowy lat 80, w wyniku postępów biologii molekularnej oraz inżynierii genetycznej, możliwe było określenie sekwencji aminokwasów, a następnie zaproponowanie modeli struktury III-rzędowej receptorów błonowych, w tym także α_{2A} -adrenergicznych [11–13]. Odkrycia w tej dziedzinie przybliżyły moment rozwiązania problemu wymagań stereochemicznych stawianych ligandom, a w konsekwencji przywróciły nadzieję na możliwość racjonalnego projektowania nowych imidazolinowych leków hipotensyjnych.

W tym samym czasie neurobiolodzy w celu uporządkowania wiedzy na temat mechanizmu działania biologicznego pochodnych imidazolin prowadzili intensywne badania różnych obszarów autonomicznego systemu nerwowego, poszukując struktur odpowiedzialnych za regulację ciśnienia tętniczego krwi. W 1984 roku zespół kierowany przez Pascala Bousquet z Uniwersytetu w Strasburgu dowiódł, że w dogłowo brzuszno-bocznej części rdzenia przedłużonego (RVLM — *rostral ventro-lateral me-*

dulla) istnieją struktury wrażliwe na działanie klonidyny oraz innych leków imidazolinowych, które zarazem nie reagują na leki hipotensyjne z grupy fenyletyloamin [14]. Wkrótce wyizolowano białka o różnej masie, dla których przyjęto nazwę receptorów imidazolinowych I₁ (I₁R). Na tej podstawie sformułowano nową teorię, w myśl której działanie hi-



Rycina 3. Konfiguracja bioaktywna leków imidazolinowych i pochodnych α -fenyletanoaminy

Figure 3. Bioactive configuration of imidazolines and α -phenylethanolamine derivatives

potensyjne klonidyny miałyby być wynikiem stymulacji receptorów imidazolinowych I₁, natomiast za wiele działań niepożądanych odpowiada wpływ tego leku na receptory α₂-adrenergiczne [15–17].

Jakby na potwierdzenie tej atrakcyjnej hipotezy, już wkrótce na rynku medycznym pojawiła się tzw. druga generacja przeciwnaciśnieniowych leków imidazolinowych (rilmenidyna i moksonidyna), które odznaczają się znacznie korzystniejszym niż klonidyna działaniem farmakologicznym i określane są mianem selektywnych agonistów receptorów I₁R (ryc. 1).

Istnienie receptorów I₁R, selektywnie wiążących związki imidazolinoliny, nie budzi dziś najmniejszych wątpliwości. Mimo to wciąż istnieją rozbieżne opinie na temat funkcji, jaką spełniają one w regulacji ciśnienia tętniczego krwi. Czy w ogóle w procesie tym uczestniczą?

Doświadczenia przeprowadzone na myszach transgenicznych z zablokowanymi genami kodującymi receptory α₂-adrenergiczne (*knockout mice*) wykazały, iż wyłączenie receptorów α_{2A}-adrenergicznych sprawia, że zwierzęta te nie reagują na działaniem imidazolinowych leków hipotensyjnych [18, 19].

Wyjaśnienie tego faktu jest możliwe jedynie wówczas, kiedy przyjmujemy, iż oba typy receptorów (imidazolinowe i adrenergiczne) leżą na wspólnych szlakach układu sympatycznego, a wyłączenie któregoś z nich może spowodować blokadę przekazywania bodźców i w rezultacie — brak spodziewanej odpowiedzi na podany lek ze strony układu sercowo-naczyniowego [20]. Ponadto, zakłada się możliwość współdziałania obu typów receptorów w tym procesie, ponieważ ostatnie badania potwierdziły, że dla wystąpienia efektu hipotensyjnego, obok pobudzenia receptorów imidazolinowych I₁, niezbędny jest również pewien stopień aktywacji receptorów α_{2A}-adrenergicznych. Chociaż powinowactwo leku do receptorów adrenergicznych odgrywa rolę synergistyczną, to jednak powinno ono mieć charakter zaledwie „szczątkowy”, niewystarczający dla wywołania działań niepożądanych, zwłaszcza sedacji [21].

Na zakończenie powyższych rozważań na temat obecnego stanu wiedzy o mechanizmach działania biologicznego pochodnych imidazolinoliny, należy stwierdzić, że wciąż istnieje konieczność poszukiwania nowych związków, które w rękach farmakologów stanowiąc będą narzędzie badawcze, a w przyszłości mogłyby poszerzyć pulę dostępnych leków działających na układ krążenia.

Celem niniejszej pracy było zatem przeprowadzenie syntezy pochodnych imidazolinoliny przedstawionych na rycinie 4, określenie ich struktury chemicznej i przestrzennej metodą spektroskopii IR oraz ba-

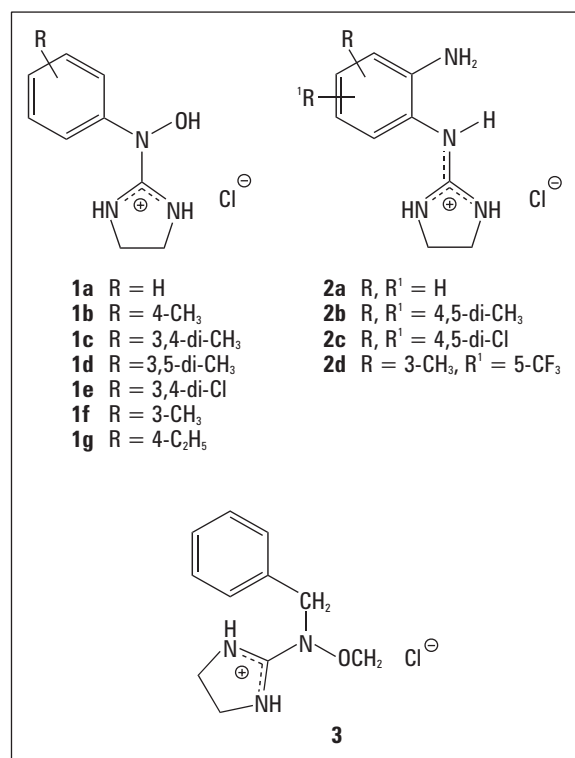
daniami rentgenograficznymi, a następnie oznaczenie ich wpływu na ciśnienie tętnicze krwi i częstość akcji serca zwierząt doświadczalnych.

Badane związki 1a-g i 2a-d stanowią analogi aryloiminoimidazolin typu klonidyny, natomiast pochodna N-benzylhydroksyloaminy 3, ze względu na dwuatomowy mostek łączący pierścień aromatyczny z pierścieniem imidazolinoliny, może być uważana za analog lofeksydyny lub cirazolinoliny.

Materiał i metody

Synteza chemiczna

Temperaturę topnienia oznaczono na aparacie Boetius i nie korygowano. Widmo IR wykonano na spektrofotometrze Perkin Elmer 1600 FTIR. Badania rentgenograficzne prowadzono przy użyciu dyfraktometru Kuma KM-4 z monochromatorem grafitowym. Analogi aryloiminoimidazolin 1a-g zawierające grupę hydroksyloową przy egzocyklicznym atomie azotu otrzymano według zaleceń z piśmiennictwa [22]; analogi 2a-d, zawierające funkcję aminową w położeniu 2 pierścienia aromatycznego, oraz



Rycina 4. Analogi α-hydroksylowe (1a-g) i 2-aminowe (2a-d) 2-aryloiminoimidazolin oraz N-benzyl-N-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-metoksyloamina (3)

Figure 4. α-hydroxy- (1a-g) and 2-amino- (2a-d) analogues of 2-aryliminoimidazolidines and N-benzyl-N-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-methoxylamine (3)

analog lofeksydyny **3** otrzymano według procedury opracowanej wcześniej [23].

Związek **2e** nadający się do badań rentgenograficznych otrzymano, działając rodnikiem amonu na chlorowoderek **2b** w roztworze wodnym.

Temperatura topnienia = 157–161 °C; IR (KBr): $\lambda = 3327, 3176$ (NH), 3020, 2932, 2778, 2684 (N–H⁺), 2067 (SCN⁻), 1669 (C=N), 1594, 1510, 1495, 1457, 1292 cm⁻¹.

Rezultat badań rentgenograficznych tiocyanianu **2e** przedstawiono na rycinie 5. Rysunek wykonano przy użyciu programu komputerowego ORTEP (*Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot*).

Oznaczanie ciśnienia tętniczego krwi oraz pomiar częstości akcji serca u szczurów

Doświadczenia przeprowadzono na szczurach, samcach szczepu Wistar o masie ciała 220–370 g. Zwierzęta, które pochodziły z Centralnej Zwierzętarni Doświadczalnej Śląskiej Akademii Medycznej, karmiono dietą standardową Murigan. Szczury miały wolny dostęp do pokarmu i wody pitnej. Podczas eksperymentu zwierzęta przebywały w plastikowych klatkach (regularnie czyszczonych) o wymiarach 585 × 385 × 200 mm, po 8 sztuk w każdej. Hodowla zwierząt była prowadzona w pomieszczeniu o stałej temperaturze 20 ± 2°C i 12-godzinnym naprzemiennym oświetleniu.

Pomiary ciśnienia skurczowego krwi dokonywano metodą krwawą. W tym celu szczury usypiano, podając uretan w dawce 1,75 g/kg i.p. w objętości 10 ml/kg. Zwierzęta układano na stoliku operacyjnym w pozycji grzbietowej i wypreparowywano tętnicę szyjną lewą. Do tętnicy wprowadzano kaniulę

polietylenową o średnicy 1 mm. Drugi koniec kaniuli łączono z przetwornikiem ciśnieniowym (typ PL 330, Gould-Statham), który wcześniej wypełniono roztworem heparyny (1000 UI). Ciśnienie krwi mierzono za pomocą zestawu pomiarowego składającego się z miernika ciśnienia krwi (MCX-301) i rejestratora modelu TZ 4620.

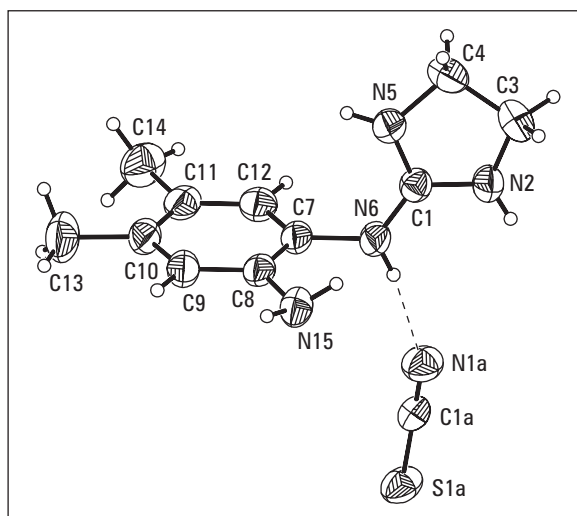
Następnie przystępowano do kaniulacji żyły szyjnej prawej. W tym celu wycinano na prawej, bocznej powierzchni szyi płat skóry (ok. 1 cm²), „na tępo” oddzielano podskórną tkankę tłuszczową i wypreparowywano żyłę, oczyszczając ją z otaczającej tkanki łącznej. Żyłę delikatnie nacinano nożyczkami okulistycznymi poprzecznie do osi długiej. Potem wypreparowywano żyłę szyjną prawą, do której wprowadzano kaniulę polietylenową o średnicy 0,6 mm, wypełnioną roztworem heparyny (500 UI).

Roztwory badanych związków podawano dożylnie we wzrastających dawkach w objętości 0,3 ml 0,9% roztworu NaCl, po pomiarze wstępnego ciśnienia krwi. Preparat wstępnego ciśnienia krwi oznaczano po podaniu 0,3 ml roztworu soli fizjologicznej.

Rejestrowano odpowiedź presyjną na każdorazową podaną dawkę związku imidazoliny. Kolejnych pomiarów dokonywano po uprzednim uzyskaniu wyjściowej wartości ciśnienia tętniczego.

Pomiar częstości akcji serca u szczurów uzyskiwano, zliczając wychylenia słupa krwi tętniczej w jednostce czasu. Wychylenia rejestrowano poprzez dotętnniczą kaniulę polietylenową (liczba wychyleń/min).

Mierzono ilość uderzeń serca na minutę po podaniu 0,3 ml soli fizjologicznej oraz podczas maksymalnego efektu presyjnego badanych związków.



Rycina 5. Rysunek ORTEP związku **2e**
Figure 5. ORTEP drawing of the compound **2e**

Wyniki i dyskusja

Wyniki oznaczeń wpływu pochodnych 2-imidazoliny na ciśnienie tętnicze krwi i częstość akcji serca zwierząt, na których przeprowadzono doświadczenia, przedstawiono w tabeli I.

Pochodne hydroksyloaminy typu **1** podane w dawkach 0,1–0,5 mg/kg wykazują działanie hipotensyjne z równoczesnym działaniem chronotropowym dodatnim. Największą potencją działania w tej grupie odznacza się pochodna **1b** zawierająca grupę metylową w pozycji 4 pierścienia fenyloвого, dla której odpowiednie wartości ED₅₀ wynoszą 0,17 i 0,145 mg/kg. Ponieważ wprowadzenie grupy hydroksylowej do cząsteczki powoduje znaczne obniżenie lipofilowości, należy przypuszczać, że związki te nie przenikają bariery krew-mózg i wykazują działanie wyłącznie obwodowe. Potwierdzenie tej hipotezy stanowi fakt, iż znacznie bardziej lipofilowe związki **1c-e** odznaczają

Tabela I Wpływ związków imidazolin 1a-g, 2a-d i 3 na ciśnienie tętnicze krwi i częstość akcji serca szczurów szczepu Wistar
Table I Effect of imidazolines 1a-g, 2a-d and 3 on blood pressure and heart rate in Wistar rats

Numer związku	Dawka [mg/kg]	Średnie ciśnienie tętnicze ^{a)}	Częstość akcji serca ^{b)}	ED50 [mg/kg] i.v., ^{c)} działanie hipotensyjne	ED50 [mg/kg] i.v., ^{c)} działanie chronotropowe dodatnie
1a	0,5	80,9 ± 11,9	109,6 ± 3,3	1,82	1,09
1b	0,1	62,6 ± 6,4	109,4 ± 3,7	0,17	0,145
1c	0,1	70,9 ± 7,4	104,9 ± 4,4	0,31	0,18
1d	0,1	79,3 ± 2,5	112,0 ± 3,9	0,46	0,14
1e	0,5	60,3 ± 3,3	119,0 ± 5,3	0,82	0,58
1f	0,5	72,9 ± 10,3	111,8 ± 6,6	1,55	0,72
1g	0,5	76,1 ± 1,0	109,2 ± 2,8	1,64	0,96
2a	1,0	75,0 ± 8,5	121,0 ± 3,8		
2b	0,5	74,2 ± 10,8	109,0 ± 3,3		
2c	0,25	145,0 ± 26,0	93,8 ± 3,8		
2d	0,25	145,8 ± 23,3	91,0 ± 6,2		
3	2,0	97,7 ± 3,3	74,3 ± 8,1		

a) Wyniki wyrażono w postaci średnich arytmetycznych wartości procentowych ± odchylenie standardowe, przyjmując 100% jako wartość początkową tętniczego ciśnienia krwi dla każdego szczura przed podaniem badanego związku

b) Wyniki wyrażono w postaci średnich arytmetycznych procentowych ± standardowe odchylenie

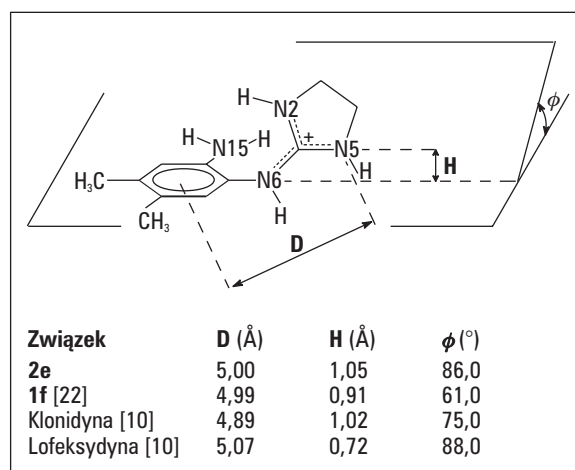
c) Wartości ED50 obliczono według metody Lichtwelda-Wilcoxon'a w modyfikacji Rotha

się niższą aktywnością. Obniżenie aktywności obserwuje się także po zamianie grupy metylowej na etylową w związku 1g ($R = 4-C_2H_5$; ED 50 = 1,64 i 0,96 mg/kg odpowiednio dla działania hipotensyjnego i chronotropowego dodatniego).

Interesujące wyniki uzyskano, badając analogi typu 2, zawierające w położeniu 2 pierścienia fenylowego grupę aminową, której obecność powoduje wzrost charakteru hydrofilowego tych związków. Pochodne 2a i 2b, dla których obliczone wartości $\log P$ wynoszą odpowiednio $-0,57 (\pm 0,57)$ i $0,35 (\pm 0,57)$ [24], wykazują działanie hipotensyjne w dawkach 0,5–1 mg/kg. Natomiast bardziej lipofilowa pochodna 2c (obliczona wartość $\log P = 1,83 \pm 0,57$) działa presyjnie, co wyraża się wzrostem ciśnienia tętniczego do 145% wartości początkowej po podaniu dożylnym w dawce 0,25 mg/kg. Podobną aktywność posiada związek 2d, który zawiera podstawniki metylowy i trifluorometylowy, odpowiednio w pozycjach 3 i 5 pierścienia aromatycznego. Ponieważ wcześniejsze badania analogów typu 2 wykazały, iż pochodna dichlorowa 2c wykazuje największe w tej grupie związków powinowactwo do receptorów α_2 -adrenergicznych, można przypuszczać, że działanie hipertensyjne jest wynikiem blokowania tych receptorów w ośrodkowym układzie nerwowym [23]. Pochodna 2-imidazolin 3, zawierająca dwuatomowy mostek, który oddziela układ heterocykliczny od pierścienia aromatycznego, podana w dawkach sięgających 2 mg/kg, nie wykazuje wpływu

na ciśnienie tętnicze krwi, natomiast obniża częstość akcji serca do 74% wartości początkowej.

Reasumując, wykazano iż analogi aryloiminoimidazolin typu 1 oraz typu 2, zawierające w swojej strukturze ugrupowania hydrofilowe OH lub NH_2 , wywierają zróżnicowany wpływ na układ sercowo-naczyniowy zwierząt, na których przeprowadzono doświadczenia. Chociaż analiza rentgenograficzna obu grup związków wykazała ich znaczne podobieństwo



Rycina 6. Porównanie odległości D i H oraz kąta ϕ szeregu pochodnych 2-imidazolin na podstawie analizy rentgenograficznej
Figure 6. Comparison of D and H distances and ϕ angle emerging from X-ray analysis

strukturalne do prototypowej klonidyny i lofeksydyny (ryc. 6), to jednak określenie mechanizmów tego działania będzie wymagało przeprowadzenia dalszych badań farmakologicznych, między innymi na izolowanej aorticie królików i tętnicy ogonowej szczurów.

Streszczenie

Wstęp Pochodne 2-imidazolin stanowią ważną grupę leków przeciwnadciśnieniowych o ośrodkowym mechanizmie działania. Celem pracy było otrzymanie wielu analogów znanych imidazolin typu klonidyny i lofeksydyny, zbadanie ich struktury oraz określenie wpływu na ciśnienie tętnicze krwi i częstość akcji serca szczurów szczepu Wistar.

Materiał i metody Oznaczenie wpływu analogów α -hydroksylowych (**1a-g**) i 2-aminowych (**2a-d**) 2-aryloiminoimidazolin oraz N-benzyl-N-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-metoksyloaminy (**3**) na średnie ciśnienie tętnicze krwi i częstość akcji serca prowadzono na szczurach normotensywnych, samcach rasy Wistar o masie 220–370 g. Pomiarów ciśnienia skurczowego krwi dokonywano metodą krwawą. Rejestrowano odpowiedź presyjną na każdorazową podaną dawkę związku imidazolin. Pomiar częstości akcji serca u szczurów wykonywano, zliczając wychylenia słupa krwi tętniczej w jednostce czasu. Wychylenia rejestrowano poprzez dotętniczną kaniulę polietylenową (liczba wychyleń/min).

Wyniki Wykazano zróżnicowany i zależny od struktury wpływ badanych pochodnych 2-imidazolin na ciśnienie tętnicze krwi i częstość akcji serca po podaniu dożylnym. W grupie połączeń hydroksyloaminy największą aktywność wykazał związek **1b**, zawierający grupę metylową w pozycji 4 pierścienia fenylowego (ED₅₀ = 0,17 mg/kg). Pochodne *o*-fenylenodiaminy typu **2**, w zależności od charakteru lipofilowego, działały hipo- (**2a** i **2b**) lub hipertensyjnie (**2c** i **2d**). Na podstawie badania rentgenograficznego tiocyanianu **2e** wykazano, iż związki te posiadają cechy strukturalne odpowiadające ligandom receptorów α_2 -adrenergicznych. Natomiast analog lofeksydyny (**3**), zawierający ugrupowanie N-metoksyłowe w łańcuchu bocznym, okazał się nieaktywny w dawkach sięgających 2 mg/kg.

Wnioski Przyłączenie grupy hydroksylowej do egzocyklicznego atomu 2-aryloiminoimidazolin nie pozbawia tych związków działania hipotensyjnego. Działanie analogów zawierających grupę aminową w położeniu 2 pierścienia aromatycznego zależy od ich charakteru lipofilowego. Można przypuszczać, iż większa lipofilowość pochodnych **2c** i **2d** w po-

równaniu z **2a** i **2b** umożliwia tym związkom przenikanie bariery krew-mózg i blokowanie ośrodkowych receptorów α_2 -adrenergicznych, co objawia się działaniem hipertensyjnym.

słowa kluczowe: 2-imidazolin, analiza rentgenograficzna struktury, ciśnienie tętnicze krwi, częstość akcji serca

Nadciśnienie Tętnicze 2000, tom 4, nr 3, strony 173–180.

Piśmiennictwo

- Ruffolo R.R., Nichols A.J., Stadel J.M.: Pharmacologic and therapeutic applications of α_2 -adrenoreceptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1993, 32, 243–279.
- Hielbe J.P. Bondinell W.E., Ruffolo R.R.: α - and β -Adrenoreceptors: from the gene to the clinic. 1. Molecular biology and adrenoreceptor subclassification. *J. Med. Chem.* 1995, 38, 3415–3444.
- Ruffolo R.R., Bondinell W.E., Hielbe J.P.: α - and β -Adrenoreceptors: from the gene to the clinic. 2. Structure-activity relationships and therapeutic applications. *J. Med. Chem.* 1995, 38, 3682–3716.
- Sugrue M.F.: New approaches to antiglaucoma therapy. *J. Med. Chem.* 1997, 40, 2793–2809.
- Drzewoski J., Luciak M.: Farmakologia kliniczna leków hipotensyjnych działających na receptor imidazolinowy. W: *Zarys patofizjologii i diagnostyki nadciśnienia tętniczego oraz farmakologii klinicznej leków hipotensyjnych.* Medical Press 1999, 112–120.
- Ruffolo R.R.: Stereoselectivity in adrenergic agonists and adrenergic blocking agents. W: Ariens E.J., Soudijn W., Timmermans P.B.M.W.M. red. *Stereochemistry and Biological Activity of Drugs.* Blackwell Scientific Publications, Oxford 1982, 103–125.
- Hoefke W., Kobinger W., Walland A.: Relationship between activity and structure in derivatives of clonidine. *Arzneim.-Forsch. Drug Res.* 1975, 25, 786–793.
- Timmermans P.B.M.W.M., van Zweiten P.A.: Quantitative structure-activity relationships in centrally acting imidazolines structurally related to clonidine. *J. Med. Chem.* 1977, 20, 1636–1644.
- Avbejl F., Hadzi D.: Potential energy functions and the role of the conformational entropy of clonidine-like imidazolines in determining their affinity for α -adrenergic receptors. *Mol. Pharmacol.* 1984, 27, 466–470.
- Carpy A., Leger J.M., Decker N. i wsp.: Comparison of crystallographic and quantum mechanical analysis with biological data on clonidine and some related analogues. *Mol. Pharmacol.* 1982, 21, 400–408.
- Wang C.-D., Buck M.A., Fraser C.M.: Site-directed mutagenesis of α_{2A} -adrenergic receptors; identification of amino acids involved in ligand binding and receptor activation by agonists. *Mol. Pharmacol.* 1991, 40, 168–179.
- Mizobe T., Maze M., Lam V. i wsp.: Arrangement of transmembrane domains in adrenergic receptors. *J. Biol. Chem.* 1996, 271, 2387–2389.
- Hibert M.F., Trumpp-Kallmeyer S., Bruinvels A., Hoflack J.: Three-dimensional models of neurotransmitter G-binding protein-coupled receptors. *Mol. Pharmacol.* 1991, 40, 8–15.
- Bousquet P., Feldman J., Schwartz J.J.: Central cardiovascular effects of alpha adrenergic drugs: differences between catecholamines and imidazolines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1984, 230, 232–236.

15. Ernsberger P, Friedman J.E., Koletsky R.J.: The I₁-imidazoline receptor: from binding to therapeutic target in cardiovascular disease. *J. Hypertension* 1997, 15 (supl. 1), S9-S23.
16. Molderings G.J.: Imidazoline receptors: basic knowledge, recent advances and future prospects for therapy and diagnosis. *Drugs of the Future* 1997, 22, 757-772.
17. Farsang C., Kapocsi J.: Imidazoline receptors: from discovery to antihypertensive therapy (facts and doubts). *Brain Res. Bull.* 1999, 49, 317-331.
18. Hein L., Limbird L.E., Eglén R.M., Kobilka B.K.: Gene substitution/knockout to delineate the role of α_2 -adrenoreceptor subtypes in mediating central effects of catecholamines and imidazolines. W: Gothert M., Molderings G.J., Reis D.J. red. *Imidazoline receptors and their endogenous ligands. Current concepts and therapeutic potential.* *Ann. NY Acad. Sci.* 1999, 881, 265-271.
19. MacMillan L.B., Hein L., Smith M.S., Piascik M.T., Limbird L.E.: Central hypotensive effects of the α_{2A} -adrenergic receptor subtype. *Science* 1996, 273, 801-803.
20. Feldman J., Greney H., Monassier L. i wsp.: Does a second generation of centrally acting antihypertensive drugs really exist? *J. Auton. Nerv. System* 1998, 72, 94-97.
21. Bousquet P., Feldman J. Monassier L.: Imidazoline receptor ligands: cardiovascular applications. *Emerging Drugs* 1998, 3, 113-120.
22. Sączewski F., Dębowski T., Gdaniec M. i wsp.: Synthesis, structure and antiaggregatory effects of some α -hydroxy analogues of 2-aryliminoimidazolines in human platelets. *Eur. J. Pharm. Sci.* 1996, 4, 85-93.
23. Sączewski F., Kobierska E., Dębowski T., Charakchewa-Minol S., Mokrosz M., Gdaniec M., Nowak E.: Synthesis, structure and binding of some 2-imidazolines to rat brain α_1 - and α_2 -adrenergic receptors. *Arch. Pharm. -Pharm. Med. Chem.* (praca przygotowywana do druku).
24. Obliczenia wartości log *P* przeprowadzono przy użyciu programu ACD/Labs (moduł log*P*) firmy Advanced Chemistry Development Inc., Toronto, Kanada.