مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۹، اردیبهشت ۱۳۹۹، ۱۵۴-۱۳۷

طراحی و سنتز مشتقات جدید N_1-(فنوکسی اتیل) تئوبرومین و ارزیابی سمیت سلولی آنها به روش برون‌تنی همراه با مطالعه داکینگ مولکولی: یک مطالعه آزمایشگاهی

احسان فقیه میرزایی[۱]، عالیه عامری[۲]، حمید فروتن‌فر[۳]، حسنیه‌السادات روح‌الامینی[۴]، محدثه شمس‌الدینی‌پور[۵]، ماندانا جعفری[۶]

دریافت مقاله: ۹۸/۶/۱۷ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۸/۸/۴ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۸/۱۱/۲۶ پذیرش مقاله: ۹۸/۱۱/۲۹

چکیده

زمینه و هدف: سرطان به‌عنوان یکی از معضلات عمده سلامت، یکی از علت‌های اصلی مرگ و میر در سطح جهان می‌باشد. مشتقات گزانتین از جمله تئوبرومین، یک دسته از ترکیبات مؤثر در کنترل سرطان می‌باشند. در این مطالعه یک‌سری مشتقات جدید فنوکسی اتیل تئوبرمین با استخلاف در موقعیت N1 طراحی و فعالیت سمیت سلولی آن‌ها ارزیابی شد. هم‌چنین، مطالعات داکینگ مولکولی جهت پیش‌بینی مکانیسم احتمالی آن‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی، ابتدا، ترکیبات ۲، ۳ و 5a-l سنتز شدند. سمیت سلولی تمام ترکیبات جدید سنتز شده با روش رنگ سنجی بر پایه MTT (Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide)، علیه ۴ رده سلولی سرطانی انسان مورد مطالعه قرار گرفتند. نرم افزار Autodock برای تعیین انرژی‌های اتصال این ساختارها بر روی آنزیم‌های تتراهیدروفولات ردوکتاز انسانی، اکتو-'۵-نوکلئوتیداز انسانی (e5NT) و فسفودی استراز انسانی استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از مطالعات داکینگ، انرژی اتصال پذیری قابل قبولی (۸/۴۲ kcal/mol-) را در برابر e5NT نشان داد. نتایج حاصل از بررسی سمیت سلولی نشان داد که بیش‌ترین اثر سمیت سلولی علیه سلول A549 و MCF-7 رخ داده است (ترکیب 5e به ترتیب با IC_{50} برابر با ۸۶/۶۵ و ۱۶۱/۰۹ میکرومولار).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعات داکینگ مولکولی، انرژی اتصال قابل قبولی در برابر آنزیم اکتو-'۵-نوکلئوتیداز نشان داد. در میان مشتقات سنتز شده، ترکیب **5a** با پایین‌ترین سطح ΔG (۸/۴۲ kcal/mol-) به عنوان بهترین مهارکننده این آنزیم انتخاب شد. اثرات مناسب سمیت سلولی در غلظت‌های مختلف ترکیبات سنتز شده بر روی رده‌های سلولی MCF7 و A549 مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: سمیت سلولی، مدل سازی مولکولی، مشتقات تئوبرومین، سنتز

۱- استادیار گروه آموزشی شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۲- (نویسنده مسئول) استادیار گروه آموزشی شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
تلفن: ۰۳۴-۳۱۳۲۵۱۷۲، دورنگار: ۰۳۴-۳۱۳۲۵۰۰۳، پست الکترونیکی: ameri60@gmail.com , al_ameri@kmu.ac.ir
۳- دانشیار، مرکز تحقیقات علوم دارویی و فرآورده‌های آرایشی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۴- دکتری داروسازی، مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۵- کارشناس ارشد شیمی آلی، مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۶- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و طب سنتی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

مقدمه

سرطان یک بیماری است که با تغییر مکانیسم‌های کنترل حاکم بر بقاء سلول، تکثیر و تمایز مشخص می‌شود. دلایل سرطان بسیار و متنوع است (به عنوان مثال، عوامل شیمیایی، محیطی، ویروسی و جهش‌زا)، اما همه این عوامل در نهایت منجر به ایجاد بی‌نظمی در بیان پروتئین انکوژن‌ها که عوامل کنترل زندگی طبیعی سلول می‌باشند، می‌شوند. درمان سرطان می‌تواند شامل جراحی، پرتودرمانی، شیمی درمانی آنتی نئوپلاستیک و غیره باشد [۱].

در حال حاضر عوامل شیمی درمانی به طور کلی در درمان سرطان استفاده می‌شود. با این حال، با بیش‌تر این عوامل، مشکلات جدی به لحاظ سمیت جانبی و ظهور سلول‌های مقاوم وجود دارد [۲]. بسیاری از سرطان‌ها هنوز به شیمی درمانی پاسخ نمی‌دهند و دیگر سرطان‌هایی که در ابتدا پاسخ می‌دهند، ممکن است بعداً مقاوم شوند. بنابراین شیمی درمانی هنوز ناکافی می‌باشد و تمایل فراوانی برای کشف ترکیبات جدید با فعالیت‌های ضد سرطان قوی تر وجود دارد [۴-۳].

گزانتین‌ها و مشتقات آن‌ها یک گروه از آلکالوئیدها هستند که در گیاهان یافت می‌شوند. گزانتین‌ها اسکلتی مشابه با پورین‌ها دارند [۵]. این ساختارهای پورین مانند به عنوان عامل درمانی در بیماری آلزایمر، آسم، سرطان، دیابت، درمان درد، پارکینسون، عوارض کلیوی، دیورتیک، بیماری‌های تنفسی [۵]، التهاب، بهبود هوشیاری و شناخت، افسردگی [۶]، بیماری عروقی محیطی و بیماری مغز و اعصاب استفاده شده‌اند [۷]. کافئین، تئوبرمین و تئوفیلین از معروف‌ترین مشتقات گزانتین‌ها هستند [۵]. تئوبرومین یک آلکالوئید تلخ است که عمدتاً در گیاه کاکائو یافت می‌شود. این ترکیب در شکلات، برگ گیاه چای و دانه‌های گیاه کولا وجود دارد. علاوه بر این، این ترکیب در بعضی از داروها نیز موجود است [۸].

گزارش‌های متعدد نشان داده است که استفاده هم‌زمان از کافئین با عوامل شیمی درمانی باعث افزایش اثرات ضد سرطان برای استخوان و سارکوم بافت‌های نرم می‌شود [۹]. مشتقات گزانتین‌ها از جمله تئوبرومین می‌تواند در چرخه سلولی G2 checkpoint را که برای ترمیم دزوکسی ریبونوکلئیک اسید (DNA) آسیب دیده ضروری است، مهار کنند [۱۰]. استفاده از مشتقات گزانتین ممکن است حساسیت سلول‌های تومور به ترکیباتی که ترمیم کننده تخریب‌های DNA هستند را افزایش دهد [۵]. مکانیسم دیگری که تئوبرومین می‌تواند با سرطان مبارزه کند مهار ارتباط درون سلولی بین شکاف (gap junctional intercellular communication) است که به شدت با سرطان زایی به خصوص در روند پیشرفت تومور در انواع مختلف سرطان‌ها از جمله سرطان کبد، معده و سرطان روده بزرگ ارتباط دارد [۸].

مشتقات گزانتین می‌تواند انتقال داروهای ضد تومور را از طریق غشای سلولی افزایش دهند [۲]. مطالعه دیگری نشان داد که متیل گزانتین‌ها اثرات ضد توموری مربوط به آلکیله کننده‌ها، که می‌تواند به جلوگیری از ترمیم DNA نسبت داده شود، را تشدید کنند. از این‌رو این عوامل میزان مرگ و میر عوامل آلکیله کننده در برابر سلول‌های تومور را افزایش می

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

دهند [۱۱]. بررسی‌های انجام شده نشان داده است که برخی از مشتقات تئوبرومین دارای فعالیت آنتی پرولیفراتیو می-باشند. علاوه براین، افزایش نفوذ دوکسوروبیسین و فعالیت ضد تومور هم در حضور این مشتقات به دست آمده است [۱۲، ۲].

با توجه به اثرات گزارش شده از مشتقات تئوبرومین در درمان و کنترل سرطان، در مطالعه حاضر،۱۲ ترکیب از مشتقات فنوکسی اتیل تئوبرومین با استخلاف موقعیت N_1 ساخته شد (شکل ۱) و فعالیت‌های سمیت سلولی آنها با استفاده از روش رنگ‌سنجی بر پایه MTT (Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide) مورد بررسی قرار گرفت. سپس، مطالعات داکینگ مولکولی برای پیش‌بینی و پیشنهاد مکانیزم احتمالی فعالیت انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه آزمایشگاهی در دانشکده داروسازی کرمان (سال ۱۳۹۶) صورت گرفت. هم‌چنین این مطالعه دارای کد اخلاق از دانشگاه علوم پزشکی کرمان به شماره ثبتی IR.KMU.REC.1396.2104 می‌باشد. مواد اولیه تئوبرمین و ۲-کلرو اتانول از شرکت Acros Organics (Geel, Belgium) خریداری شدند. سایر مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده از شرکت مواد شیمیایی Merck Chemicals (Darmstadt, Germany) تهیه شد. تمام حلال‌ها دارای درجه خلوص بالایی بودند. پیشرفت واکنش با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC, Thin Layer Chromatography) بر روی صفحات سیلیکاژلی GF_{254} بررسی و با استفاده از نور UV (۲۵۴ نانومتر) مشاهده شد. نقطه ذوب توسط دستگاه تعیین نقطه ذوب مدل IA9200 ساخت الکتروترمال انگلستان تعیین شده‌است. دستگاه طیف سنجی FT-IR مدل ALPHA شرکت Bruker انگلستان برای طیف‌های مادون قرمز (IR) مورد استفاده قرار گرفت (قرص‌های KBr). طیف Hydrogen-1 nuclear magnetic resonance (^{1}H-NMR) با استفاده از دستگاه اسپکترومتر 300 مدل DPX 300 شرکت Bruker انگلستان در حلال DMSO-d_6 ثبت و تمام مقادیر جابجایی شیمیایی با واحد (ppm) δ اندازه‌گیری شد. الگوهای شکاف‌ها به این صورت می‌باشد: s یکتایی؛ d دوتایی؛ m چندتایی؛ br پهن و dd دوتایی در دوتایی [۱۳].

روش سنتز ۳و۷-دی هیدرو-دی متیل-۱-(۲-هیدروکسی اتیل)-۱-پورین-۲و۶-دی اون(۲):

ترکیب (۲) از تئوبرومین (۱) با استفاده از روش زیر سنتز شد [۱۴].

مقدار ۰/۱۸ گرم (۱میلی مول) از تئوبرومین و ۰/۲۸ گرم (۲ میلی مول) پتاسیم کربنات به یک بالن ۵۰ میلی‌لیتری ته گرد منتقل شد و حجم ۵ میلی‌لیتر از حلال دی متیل فرم آمید به آن اضافه شد، مخلوط واکنش را تحت رفلاکس قرار داده و سپس ۰/۱ میلی لیتر (۱ میلی‌مول) از ۲-کلرواتانول به آن افزوده شد. بعد از گذشت یک ساعت در حالی که مخلوط واکنش توسط چرخاننده مغناطیسی (مدل MR 3002 شرکت Heidolph ساخت آلمان) هم زده می‌شد، مجدداً ۰/۱ میلی لیتر (۱ میلی‌مول) از ۲-کلرواتانول به آن افزوده گردید. ظرف واکنش به مدت یک روز در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد هم

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

زده شد. رسوب سفید تشکیل شده پس از جدا سازی به آون منتقل شد تا کاملا خشک شود.

برای خالص‌سازی محصول، به رسوب باقی مانده ۱۰ میلی لیتر اتیل استات داغ اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه توسط چرخاننده مغناطیسی هم زده شد. محصول در اتیل استات حل می‌شود و ماده اولیه در رسوب باقی می‌ماند. در پایان، مخلوط حاصل را صاف کرده تا نمک و ماده اولیه جدا شوند. اتیل استات حاوی محصول را کنار گذاشته تا کریستال تشکیل شود و جهت استفاده در مراحل بعد در ظرف سربسته نگهداری شد [۱۴].

روش سنتز ۳و۷-دی هیدرو-۳و۷ دی متیل-۱-(۴-متیل بنزین سولفونات اتیل)-۱-پورین-۲و۶-دی اون (۳):

ترکیب (۳) با توجه به مراحل واکنش تعریف شده در ذیل از ترکیب ۳و۷-دی هیدرو-۳و۷ دی متیل-۱-(۲-هیدروکسی اتیل)-۱-پورین-۲و۶-دی اون (۲) سنتز شد [۱۵].

ابتدا ۰/۲۲۴ گرم (۱ میلی‌مول) از محصول مرحله قبل ترکیب ۳و۷-دی هیدرو-۳و۷ دی متیل-۱-(۲-هیدروکسی اتیل)-۱-پیورین-۲و۶-دی اون (۲) را توزین کرده به همراه ۷ میلی‌لیتر حلال دی کلرومتان، ۰/۱۹ گرم (۱ میلی‌مول) پاراتولوئن سولفونیل کلرید و ۱/۴ میلی‌لیتر (۰/۲ میلی‌مول) تری اتیل آمین به یک بالن ته گرد ۵۰ میلی‌لیتری منتقل شد. مخلوط واکنش در حالی که توسط چرخاننده مغناطیسی هم زده می‌شد، به مدت ۲۴ ساعت تحت رفلاکس قرار گرفت. پس از انجام کامل واکنش به آن آب اضافه کرده و به کمک قیف دکانتور استخراج انجام شد، فاز آلی را جدا کرده و به آن نمک Na_2SO_4 اضافه شد تا آب را به خود جذب کند. پس از صاف کردن، فاز آلی کنار گذاشته شد تا تشکیل کریستال دهد و در نهایت کریستال‌های تشکیل شده در اتانول داغ حل شد و به آن زغال فعال اضافه گردید. پس از صاف‌کردن محلول زیر صافی کنار گذاشته شد تا تبلور مجدد صورت گیرد [۱۵].

سنتز مشتقات N_1-(فنوکسی اتیل) تئوبرومین (۵a-l)

با تبدیل شدن گروه هیدروکسیل در مولکول تئوبرمین به یک گروه ترک‌کننده خوب در مرحله قبل، در این مرحله تئوبرومین توسیلات محصول شماره (۳) با نوکلئوفیل‌های مختلف برای تولید محصولات مورد نظر ترکیب می‌شود.

ابتدا ۱/۵ میلی‌مول از ترکیبات (۴a-l) توزین و به یک بالن ته گرد ۵۰ میلی‌لیتری منتقل شد. سپس مقدار ۱/۵ میلی‌مول تئوبرومین توسیلات توزین و به بالن افزوده شد. در ادامه ۸ میلی‌لیتر دی‌متیل‌فرمامید (DMF, Dimethylformamide) به عنوان حلال به ظرف واکنش اضافه شد. سپس ۰/۲ گرم (۱/۵ میلی‌مول) پتاسیم کربنات به ظرف واکنش افزوده شد. مخلوط واکنش درحالی که توسط چرخاننده مغناطیسی هم زده می‌شد، برای ترکیب (۵a) به مدت ۲۴ ساعت تحت رفلاکس قرار گرفت. مدت زمان هم‌زدن برای ترکیبات (۵b و ۵k) ۴۸ ساعت و برای بقیه ترکیبات (۵c، ۵d، ۵e، ۵f، ۵g، ۵h، ۵i، ۵j و ۵l) ۷۲ ساعت بود. محلول واکنش به بشر حاوی آب و یخ همراه با هم زدن افزوده شد و رسوب حاصل شد. رسوب حاصل با روش تبلور مجدد در محلول یک به یک دی کلرومتان و آب خالص سازی شد و ترکیبات (۵a-l) به صورت کریستال‌های سفید رنگ خالص تشکیل شدند. تمام ترکیبات

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

با بازده خوب به دست آمدند. داده‌های فیزیکی و طیفی ترکیبات (۵a-l) در جدول ۱ و جدول ۲ ذکر شده است [۱۶].

به منظور بررسی اثرات سمیت سلولی ترکیبات سنتز شده آزمون رنگ سنجی مبتنی بر MTT اعمال شد. چهار رده سلولی سرطان‌های ریه (A549)، پستان (MCF-7)، کبد (HepG2)و شبه نورون (PC12) توسط مرکز ذخایر زیستی ایران (IBRC) تهران، ایران تامین و در محیط کشت Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) توسط سرم جنین گاوی (FBS) (۱۰٪) در یک انکوباتور CO_2 (۵٪) (Galaxy 170S، شرکت New Brunswick، کانادا) و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کشت شدند. سپس سلول‌ها در فاز رشد برداشت شدند و به طور جداگانه و در میکروپلیت ۹۶ خانه کشت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند که کاملا به ته ظرف بچسبند. سپس، غلظت مورد نظر (۱۰۰۰-۰/۱ میکرومولار) از هر یک از ترکیبات سنتز شده و دوکسوروبیسین (۸-۰/۲۵ میکرومولار) به عنوان کنترل مثبت به چاهک‌های مربوطه اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. پس از آن، محیط کشت هر چاهک با محلول MTT(۲۰ میکرو لیتر، ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) جایگزین و به مدت۴ ساعت انکوبه شد تا کریستال‌های فورمازان تشکیل شوند. سپس با افزودن دی متیل سولفوکساید (DMSO) (۱۰۰ میکرولیتر) کریستال‌های فورمازان حل و جذب مربوط به هر چاهک در ۵۷۰ نانومتر به وسیله دستگاه میکروپلیت ریدر ثبت گردید. هر آزمایش سه بار تکرار شد و درصد زنده مانی (در مقایسه با گروه کنترل) برای محاسبه مقدار IC_{50} با استفاده از نرم افزار SPSS مورد استفاده قرار گرفت.

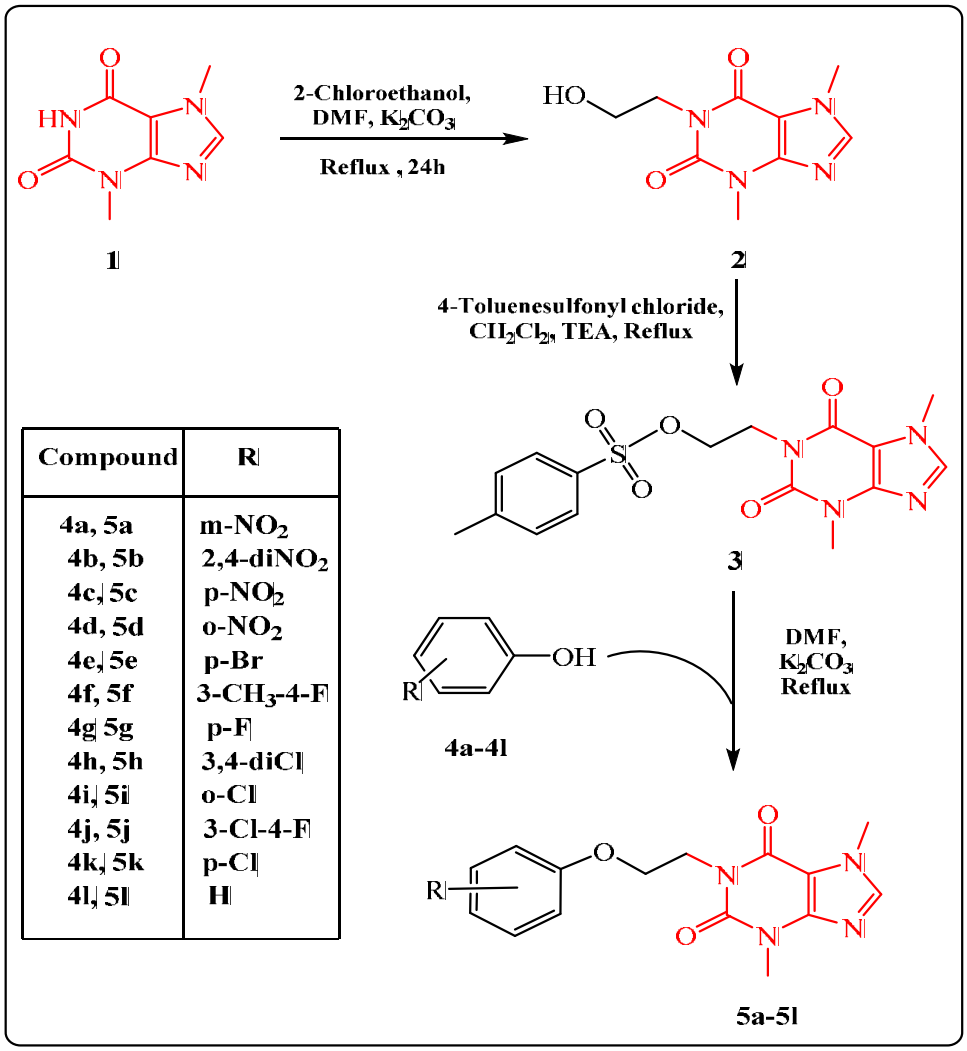
مطالعات داکینگ مولکولی به منظور بررسی برهم‌کنش پروتئین-لیگاند با استفاده از نرم افزار AutoDock 4.2 (ADT) انجام شد [۱۸-۱۷]. گرید باکس بر اساس لیگاند وابسته با فاصله Å ۰/۳۷۵و در ابعاد ۶۰ × ۶۰ × ۶۰ ساخته شد. هیدروژن قطبی به ساختار لیگاند اضافه شد. بارهای کلمن برای پروتئین و بارهای Gasteigere Huckel برای لیگاند محاسبه شد. پارامترهای ژنتیک الگوریتم برای ۱۰۰ اجرا، ۲۵۰۰۰۰۰ ارزیابی انرژی و ۱۵۰ میزان جمعیت تنظیم شد. ارزیابی نتایج با دسته بندی مجموعه‌های مختلف و با توجه به انرژی اتصال پیش‌بینی شده انجام شد. تجزیه و تحلیل خوشه‌ها در قسمت نتایج داکینگ با استفاده از root-mean-square deviation (RMSD) با قدرت Å ۲ انجام گرفت. تجزیه و تحلیل مدل‌های کمپلکس گیرنده/لیگاند پس از پیوند موفق 5a و 5'-nucleotidase، برپایه پارامترهایی مانند فاصله پیوند هیدروژنی، برهمکنش‌های آمینو اسید، انرژی اتصال و جهت‌گیری ترکیب داک شده در سایت فعال انجام شد [۱۹].

نتایج

ترکیبات هدف (5a-l) طی سه مرحله واکنش از تئوبرومین (۱) ساخته (شکل ۱) و با روش‌های طیف سنجی FTIR وHNMR به طور کامل شناسایی شدند. ترکیبات ۲ و ۳ به ترتیب با بازده ۲۴ درصد و ۸۴ درصد سنتز شد و نقاط ذوب آن‌ها به ترتیب برابر با °C ۱۹۰ و°C ۱۴۸ محاسبه شد. این

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

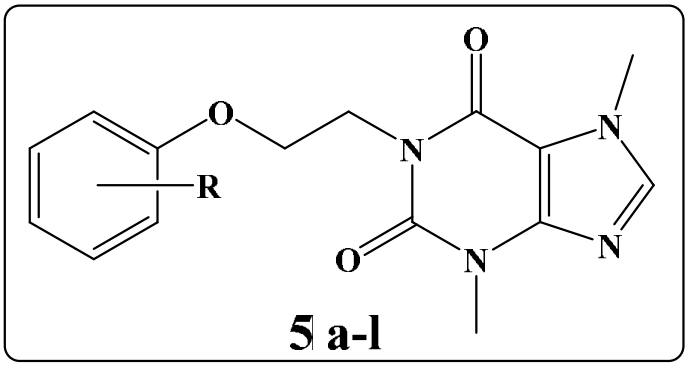
ترکیبات به صورت یک تک لکه بر روی کاغذ TLC با R_fهای به ترتیب برابر با ۰/۲۱ و ۰/۴۴ دیده شدند (سیستم حلال: اتانول و n -هگزان (۱ : ۱)). داده‌های مربوط به خصوصیات فیزیک‌وشیمیایی و روش‌های طیف سنجی ترکیبات هدف (l-5a) در جدول ۱ و جدول ۲ ذکر شده است.



شکل ۱- شمای سنتز واکنش عمومی برای سنتز ترکیبات هدف (۱-۵a).

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

جدول ۱- نتایج حاصل از بررسی خصوصیات فیزیکی ترکیبات سنتز شده 5a-l

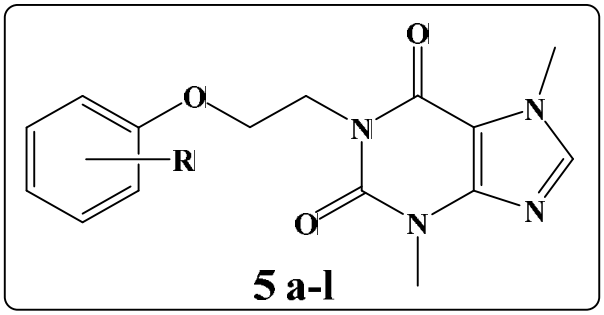


ترکیب	استخلاف (R)	رنگ رسوب	بازده (%)	نقطه ذوب (°C)	فاکتور ماندن (Rf)	ضریب توزیع اکتانول/آب محاسباتی (clog pa)
a	3-NO_2(۳-نیترو)	سفید	۵۴	۱۸۷-۱۸۹	۰/۲۳	۲/۲۰
b	2,4-diNO_2(۲و۴-دی نیترو)	زرد	۵۳	۲۲۷-۲۳۱	۰/۳۰	۱/۷۷
c	4-NO_2(۴-نیترو)	سفید	۶۵	۱۹۶-۱۹۹	۰/۳۹	۲/۲۰
d	2-NO_2(۲-نیترو)	زرد	۵۱	۱۷۱-۱۷۵	۰/۱۶	۱/۹۲
e	4-Br(۴-برمو)	سفید	۶۸	۱۶۲-۱۶۵	۰/۲۶	۳/۱۶
f	4-F-3-CH_3(۴-فلورو-۳-متیل)	قهوه ای	۶۶	۱۴۸-۱۵۲	۰/۴۸	۲/۹۴
g	4-F(۴-فلورو)	زرد	۶۳	۱۵۰-۱۵۳	۰/۴۵	۲/۴۴
h	3,4-diCl(۳و۴-دی کلرو)	قهوه ای	۵۶	۱۵۸-۱۶۳	۰/۳۹	۳/۶۵
i	2-Cl(۲-کلرو)	سفید	۵۷	۱۷۱-۱۷۴	۰/۳۸	۲/۷۸
j	4-F-3-Cl(۴-فلورو-۳-کلرو)	سفید	۵۲	۱۴۸-۱۵۲	۰/۲۳	۳/۲۰
k	4-Cl(۴-کلرو)	سفید	۷۲	۱۶۹-۱۷۲	۰/۴۲	۳/۰۱
l	H(هیدرو)	سفید	۶۴	۱۳۲-۱۳۶	۰/۴۲	۲/۱۵

a) لگاریتم محاسبه شده مربوط به ضریب توزیع بین n -اکتانول و آب است

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

جدول۲- نتایج حاصل از آنالیز طیف سنجی مادون قرمز (FTIR) و رزونانس مغناطیس هسته‌ای (NMR) ترکیبات سنتز شده 5a-l



ترکیب	استخلاف (R)	FT-IR (KBr) υ_{max} (cm^{-1})	^{1}H NMR (300 MHz, DMSO–d_6) δ (ppm)
a	3-NO_2 (۳-نیترو)	1705/43 (C=O), 1653/64 (C=N), 1528/05, 1348/66 (NO_2)	8/03 (1H, *s*, –N=C<u>H</u>–),7/77–7/80 (1H, *m*, Ar–H), 7/70 (1H, *t*, *J*=2/1*Hz*, Ar–CH), 7/56 (1H, *t*, *J*=8.4*Hz*, Ar–CH), 7/39–7.43 (1H, *m*, Ar–CH), 4/29 (4H, *t*, *J*=3.6*Hz*, –CH_2–), 3/88 (3H,*s*, –N–CH_3), 3/40 (3H,*s*, –N–CH_3)
b	2,4-diNO_2 (۲و۴-دی نیترو)	1706/12 (C=O), 1649/68 (C=N), 1532/17, 1339/74 (NO_2)	8/70 (1H, *d*, *J*=2.7*Hz*, Ar–H), 8/46–8/50 (1H,*m*, Ar–H), 8/03 (1H, *s*, –N=C<u>H</u>–),7/65 (1H, *d*, *J*=9.3*Hz*, Ar–H), 4/56 (2H, *t*, *J*=5.4*Hz*, –CH_2–),4/28 (2H, *t*, *J*=5.4*Hz*, –CH_2–), 3/87 (3H, *s*, –N–CH_3), 3/40 (3H, *s*, –N–CH_3)
c	4-NO_2 (۴-نیترو)	1704/00 (C=O), 1647/82 (C=N), 1547/55, 1338/89 (NO_2)	8/18 (2H, *d*, *J*=8/7*Hz*, Ar–H), 8/03 (1H, *s*, –N=C<u>H</u>–), 7/14 (2H, *d*, *J*=8/7*Hz*, Ar–H), 4/30 (4H, *d*, *J*=3.6*Hz*, –CH_2–), 3/88 (3H, *s*, –N–CH_3), 3/41 (3H, *s*, –N–CH_3).
d	2-NO_2 (۲-نیترو)	1702/22 (C=O), 1645/75 (C=N), 1521/69, 1346/04 (NO_2)	8/03 (1H, *s*, –N=C<u>H</u>–), 7/82 (1H, *d*, *J*=7.2*Hz*, Ar–H), 7/62 (1H, *t*, *J*=6.9*Hz*, Ar–H), 7/41 (1H, *t*, *J*=7.8*Hz*, Ar–H), 7/10 (1H, *t*, *J*=6/9*Hz*, Ar–H), 4/37 (2H, *s*, –CH_2–), 4/26 (2H, *s*, –CH_2–), 3/88 (3H, *s*, –N–CH_3), 3/41 (3H, *s*, –N–CH_3).
e	4-Br (۴-برمو)	1706/28 (C=O), 1655/53 (C=N)	8/03 (1H, *s*, –N=C<u>H</u>–), 7/41–7/44 (2H, *m*, Ar–H), 6/90–6/93 (2H, *m*, Ar–H), 4/22–4/26 (2H, *t*, *J*=5.4*Hz*, –CH_2–), 4/12–4/17 (2H, *t*, *J*=6.3*Hz*, –CH_2–), 3/89 (3H, *s*, –N–CH_3), 3/42 (3H, *s*, –N–CH_3).

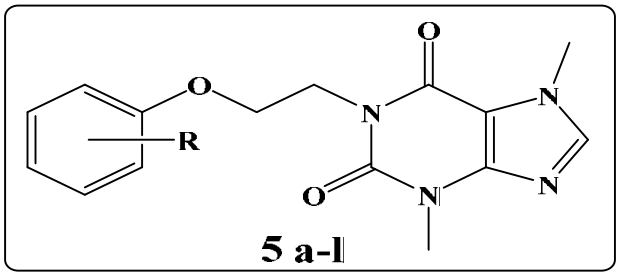
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

f	**4-F-3-CH₃ (۴-فلورو-۳-متیل)**	1699/93 (C=O), 1660/63 (C=N), 1201/21 (C–F)	8/03 (1H, *s*, –N=C<u>H</u>–), 7/01 (1H, *t*, *J*=9.3*Hz*, Ar–H), 6/83–6/85 (1H, *m*, Ar–H), 6/73–6/78 (1H,*m*, Ar–H), 4/22 (2H, *t*, *J*=6.3*Hz*, –CH_2–), 4/10 (2H, *t*, *J*=6.3*Hz*, –CH_2–), 3/89 (3H, *s*, Ar–C<u>H</u>$_3$), 3/42 (3H, *s*, –N–CH_3), 2/18 (3H, *s*, –N–CH_3).
g	**4-F (۴- فلورو)**	1700/03 (C=O), 1661/21 (C=N), 1204/32 (C–F)	8/03 (1H, *s*, –N=C<u>H</u>–), 7/10 (2H, *t*, *J*=8.3*Hz* Ar–H), 6/94–6/98 (2H, *m*, Ar–H), 4/23 (2H, *t*, *J*=5.4*Hz*, –CH_2–), 4/13 (2H, *t*, *J*=5.7*Hz*, –CH_2–), 3/89 (3H, *s*, –N–CH_3), 3/42 (3H, *s*, –N–CH_3).
h	**3,4-diCl (۳و۴-دی کلرو)**	1707/17 (C=O), 1650/16 (C=N), 745/29 (C–Cl)	8/04 (1H, *s*, –N=C<u>H</u>–), 7/50 (1H, *d*, *J*=9*Hz*, Ar–H), 7/24 (1H, *d*, *J*=2.7*Hz*, Ar–H), δ =6/94–6/97(1H, *m*, Ar–H), 4/23 (4H, *t*, *J*=3/9*Hz*, –CH_2–), δ =3/89 (3H, *s*, –N–CH_3), 3/2 (3H, *s*, –N–CH_3).
i	**2-Cl (۲-کلرو)**	1700/95 (C=O), 1652/85 (C=N), 749/25 (C–Cl)	8/03 (1H, *s*, –N=C<u>H</u>–), 7/37–7/44 (1H, *m*, Ar–H), 7/26–7/32 (1H, *m*, Ar–H), 7/19–7/21 (1H, *m*, Ar–H), 6/92–7/01 (1H, *m*, Ar–H), 4/28 (4H, *t*, *J*=4.5*Hz*, –CH_2–), 3/89 (3H, *s*, –N–CH_3), 3/42 (3H, *s*, –N–CH_3).
j	**4-F-3-Cl (۴-فلورو-۳- کلرو)**	1705/13 (C=O), 1662/48 (C=N), 1214/59 (C-F), 749/25 (C-Cl)	8/04 (1H, *s*, –N=C<u>H</u>–), 7/31 (1H, *t*, *J*=9*Hz*, Ar–H), 7/15–7/19 (1H, *m*, Ar–H), 6/92–6/97(1H, *m*, Ar–H),), 4/22 (2H, *t*, *J*=5.1*Hz*, –CH_2–), 4/18 (2H, *t*, *J*=4.8*Hz*, –CH_2–), 3/9 (3H, *s*, –N–CH_3), 3/42 (3H, *s*, –N–CH_3).
k	**4-Cl (۴-کلرو)**	1709/98 (C=O), 1653/35 (C=N), 744/20 (C–Cl)	8/01 (1H, *s*, –N=C<u>H</u>–), 7/29 (2H, *d*, *J*=9*Hz*,Ar–H), 6/96 (2H, *d*, *J*=8.7*Hz*,Ar–H), 4/22 (2H, *t*, *J*=6*Hz*, –CH_2–), 4/14 (2H, *t*, *J*=5.7*Hz*, –CH_2–), 3/88 (3H, *s*, –N–CH_3), 3/40 (3H, *s*, –N–CH_3).
l	**H (هیدرو)**	1700/28 (C=O), 1658/00 (C=N)	8/03 (1H, *s*, –N=C<u>H</u>–), 7/25–7/33(2H, *m*, Ar–H), 6/90–7/00 (3H, *m*, Ar–H), 4/25(2H, *t*, *J*=7.2*Hz*, –CH_2–), 4/14 (2H, *t*, *J*=6*Hz*, –CH_2–), 3/89 (3H, *s*, –N–CH_3), 3/42 (3H, *s*, –N–CH_3).

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

ترکیبات سنتز شده برای بررسی اثرات سمیت سلولی آن‌ها روی چهار رده سلولی سرطانی (A549، MCF-7، HepG2 و PC12) با استفاده از تست رنگ سنجی مبتنی بر MTT، در مقایسه با دوکسوروبیسین به عنوان داروی مرجع مورد آزمایش قرار گرفتند. مقادیر IC_{50} محاسبه شده در جدول ۳ گزارش شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که مقادیر IC_{50} همه ترکیبات در مقایسه با دوکسوروبیسین به صورت معنی داری کم‌تر بودند.

جدول ۳- فعالیت‌های سمیت سلولی (IC_{50}) (میکرومولار) ترکیبات سنتز شده و کنترل استاندارد



ترکیب	استخلاف (R)	رده سلولی				میانگین**
		A549	MCF7	HEPG2	PC12	
a*	3-NO_2 (۳-نیترو)	۴۱۸/۶۳	۵۱۰/۶۸	۳۸۱/۸۲	۴۵۵/۰۸	۴۴۱/۵۵
b*	2,4-diNO_2 (۲و۴-دی نیترو)	۲۴۳/۰۹	۴۳۵/۰۴	۳۰۳/۸۳	۴۵۶/۷۹	۳۵۹/۶۹
c*	4-NO_2 (۴-نیترو)	۳۷۳/۴۵	۱۶۷/۶۷	۵۹۵/۸۸	۴۶۱/۶۰	۳۹۹/۶۵
d*	2-NO_2 (۲-نیترو)	۳۵۳/۱۸	۱۸۱/۱۴	۴۸۸/۱۰	۳۹۴/۶۸	۳۵۴/۲۸
e*	4-Br (۴-برمو)	۸۶/۶۵	۱۶۱/۰۹	۵۵۲/۴۱	۲۸۷/۵۷	۲۷۱/۹۳
f*	4-F-3-CH_3 (۴-فلورو-۳-متیل)	۴۳۳/۲۹	۵۱۶/۴۰	۳۶۹/۵۰	۴۵۲/۳۴	۴۴۲/۸۸
g*	4-F (۴-فلورو)	۴۶۲/۸۸	۳۲۲/۱۴	۵۴۷/۳۶	۴۷۳/۴۴	۴۵۱/۴۶
h*	3,4-diCl (۳و۴-دی کلرو)	۲۴۴/۳۴	۴۵۱/۰۸	۳۵۰/۲۴	۴۵۴/۵۰	۳۷۵/۰۴
i*	2-Cl (۲-کلرو)	۲۹۱/۵۵	۵۳۵/۶۱	۳۹۶/۹۷	۵۳۳/۱۳	۴۳۹/۳۲
j*	4-F-3-Cl (۴-فلورو-۳-کلرو)	۴۲۶/۰۸	۵۶۷/۶۷	۳۷۶/۵۸	۴۷۴/۰۲	۴۶۱/۰۹
k*	4-Cl (۴-کلرو)	۴۵۲/۸۰	۳۱۳/۰۹	۵۲۷/۷۲	۴۵۲/۲۶	۴۳۶/۴۷
l*	H (هیدرو)	۳۲۹/۹۱	۵۱۴/۷۲	۲۶۳/۶۵	۳۵۲/۸۹	۳۶۵/۲۹
Doxorubicin	-	۳/۰۴	۲/۵۶	۲/۶۰	۲/۶۰	۲/۷۰

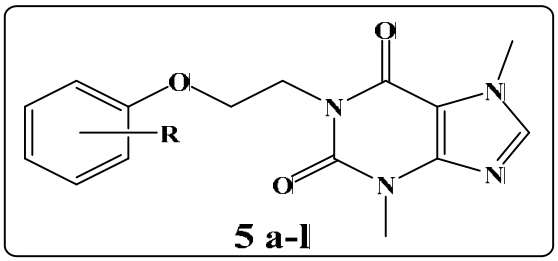
**** برای تمام ترکیبات مورد آزمایش میزان IC50 گزارش‌شده در مقایسه با دوکسوروبیسین به صورت معنی‌دار متفاوت بود ($p < ۰/۰۵$).***

***** میانگین مقادیر IC50 محاسبه شده برای ترکیبات سنتز شده***

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

در این مطالعه، ۱۲ ترکیب از مشتقات فنوکسی اتیل تئوبرومین با استخلاف در موقعیت N_1 طراحی شده است. بر اساس مقالاتی که در مورد فعالیت ضد سرطان برخی از مشتقات تئوبرومین که قبلا ساخته و گزارش شده اند [۲۰ ,۸]، در این مطالعه داکینگ مولکولی صورت گرفت تا پروتئین هدف ضد سرطانی که توانایی اتصال با ترکیبات سنتز شده را دارد، شناسایی شود. در ابتدا، با استفاده از روش داکینگ مولکولی امکان اتصال ترکیبات سنتز شده با آنزیم‌های Phosphodiesterase (1XON)، ecto-5'-nucleotidase (4H2I) و Adenosine deaminase (1A4I) مورد بررسی قرار گرفت. انرژی‌های پیوندی این ترکیبات و پروتئین‌های هدف در جدول ۴ گزارش شده است.

جدول۴- انرژی‌های اتصال (kcal/mol) بین پروتئین هدف و ترکیبات طراحی شده.



5 a-l

ترکیب	استخلاف (R)	کد PDB مربوط به پروتئین هدف		
		1A4I[a]	4H2I[b]	1XON[c]
a	3-NO_2(۳-نیترو)	-۶/۴۶	-۸/۴۲	-۶/۴۴
b	2,4-diNO_2(۲و۴-دی نیترو)	-۵/۷۶	-۸/۳۶	-۵/۸۳
c	4-NO_2(۴- نیترو)	-۵/۶۰	-۷/۸۵	-۷/۲۱
d	2-NO_2(۲- نیترو)	-۶/۶۶	-۷/۷۴	-۶/۵۳
e	4-Br(۴- برمو)	-۷/۳۴	-۷/۴۷	-۸/۰۱
f	4-F-3-CH_3(۴-فلورو-۳-متیل)	-۶/۷۴	-۷/۱۶	-۷/۳۵
g	4-F(۴-فلورو)	-۶/۸۴	-۷/۰۹	-۷/۲۵
h	3,4-diCl(۳و۴-دی کلرو)	-۷/۵۶	-۷/۷۰	-۸/۱۰
i	2-Cl(۲-کلرو)	-۷/۲۶	-۷/۵۰	-۷/۴۰
j	4-F-3-Cl(۴-فلورو-۳-کلرو)	-۶/۷۸	-۷/۲۲	-۷/۱۰
k	4-Cl(۴-کلرو)	-۷/۳۷	-۷/۳۹	-۷/۳۳
l	H(هیدرو)	-۶/۹۰	-۶/۹۰	-۷/۱۹

a) آنزیم Tetrahydrofolate dehydrogenase/cyclohydrolase؛ b) آنزیم Ecto-5'-nucleotidase (e5NT)؛ c) آنزیم Phosphodiesterase

بحث

در این مطالعه دوازده ترکیب از مشتقات فنوکسی اتیل تئوبرومین با استخلاف در موقعیت N_1 طراحی و ساخته شد. برای درک کامل اثر استخلاف بر فعالیت سمیت سلولی، فنول‌های استخلاف شده متفاوت بر اساس خواص الکترونیکی و حجم استخلاف (۴a-1) انتخاب شدند. بر اساس این فاکتورها، دوازده ساختار جدید از مشتقات تئوبرومین سنتز شد. سپس، ترکیبات (۵a-1) با استفاده از روش‌های طیف

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

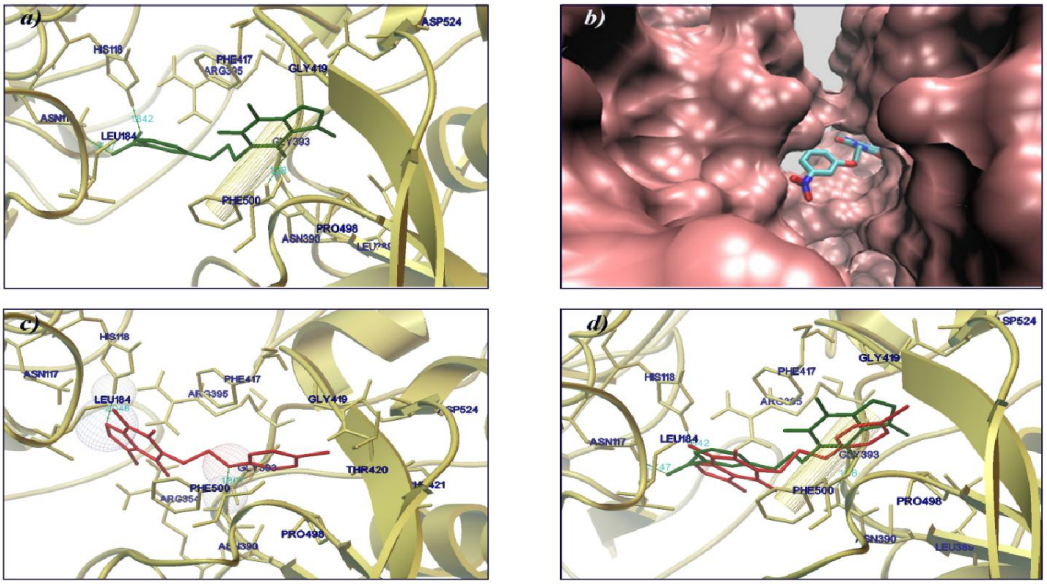
سنجی FTIR وHNMR به طور کامل شناسایی شدند. در مطالعه‌ای مشابه که در سال ۲۰۱۹ توسط Hisham و همکاران صورت گرفت یک سری از ترکیبات و مشتقات حلقه گزانتین طراحی و ساخته شدند و ساختار آنها به کمک روش‌های طیف سنجی از جمله FTIR و HNMR شناسایی شدند [۲۱]. Ma و همکاران در سال ۲۰۱۹ و به دنبال طراحی جهت ساخت ترکیبات مهارکننده هیستون لیزین دمتیلاز اختصاصی (Histone lysine specific demethylase 1, LSD1) دسته‌ای از مشتقات گزانتین را سنتز نمودند که از بین آنها ترکیب شماره ۴ توانست با قدرت مناسبی آنزیم هدف را مهار کرده و سمیت سلولی بالایی روی رده سلولی مورد مطالعه نشان داد [۲۲]. Basu و همکاران در سال ۲۰۱۷ دسته ای از مشتقات گزانتین به عنوان عوامل مهارکننده گیرنده آدنوزین با پتانسیل درمان بیماری آسم را طراحی و با موفقیت سنتز نمودند. مطالعه آنها نشان داد که جایگزین کردن گروه‌های لیپوفیل خصوصا حلقه فنیل واجد گروه‌های عاملی در موقعیت متا در موقعیت N-1 و N-3 حلقه گزانتین می‌تواند به اتصال بهتر ترکیب به گیرنده آدنوزین کمک نماید [۲۳].

بررسی سمیت سلولی این دسته از ترکیبات بر روی ۴ رده سلول سرطانی نشان داد که ترکیبات دارای اثرات سمیت خوبی بودند و بیش‌ترین فعالیت سمیت سلولی روی رده‌های سلولی A549 و MCF-7 نشان داده شد. آن‌ها هم‌چنین فعالیت سمیت سلولی خوبی در برابر رده‌های سلولی HepG2 و PC12 نشان دادند (جدول ۳). در ترکیباتی که در موقعیت پارا آنها استخلاف هالوژن قرار دارد، خاصیت چربی دوستی و بزرگ بودن هالوژن با فعالیت سمیت سلولی ترکیب مرتبط است. متقابلاً، هر چه خاصیت الکترون کشندگی هالوژن بیش تر باشد قدرت سمیت سلولی کم‌تر خواهد بود. بنابراین، ترتیب فعالیت استخلاف‌ها به صورت Br>Cl>F مشخص شد. در ترکیباتی که دارای استخلاف نیترو هستند، به نظر می‌رسد که ترکیبات با استخلاف در موقعیت اورتو و پارا دارای اثر سمیت سلولی بهتری نسبت به ساختارهای متا و نیترو هستند. از این رو، ترتیب فعالیت به صورت $o\text{-}NO_2 > o,p\text{-}diNO_2 > p\text{-}NO_2 > m\text{-}NO_2$ پیشنهاد شده بود. هم‌چنین به نظر می‌رسد که وجود یک گروه آلکیل روی حلقه فنیل، فعالیت سمیت سلولی را افزایش می‌دهد، همان‌طور که در ترتیب فعالیت یافت شده مربوط به استخلاف‌ها 4-F-3-methyl>4-F>3-Cl-4-F دیده می‌شود. به طور کلی، به نظر می‌رسد که قرار دادن گروه هالوژن لیپوفیل بر روی حلقه نسبت به گروه‌های قطبی هیدروفیلی مانند نیترو برتری دارد. با مقایسه اثرات سمیت سلولی ترکیبات سنتز شده در این مطالعه (محدوده IC_{50} برابر با ۸۶/۶۵ تا ۵۹۵/۸۸ میکرومولار) با یک سری از مشتقات تئوفیلین-۷-استیک اسید (محدوده IC_{50} برابر با ۳۳۰/۴ تا ۱۰۵۱/۹ میکرومولار) می‌توان به این نکته اشاره کرد که ترکیبات مورد مطالعه دارای اثرات ضد پرولیفراتیو بهتری می-باشند [۲۴]. این در حالی است که یک سری از مشتقات مرکاپتو گزانتین اثرات سمیت سلولی بسیار خوبی بر روی رده سلولی MCF-7 و K562 از خود نشان داده‌اند [۲۵]. هم چنین بررسی اثرات سمیت سلولی مشتقات گزانتین سنتز شده در مطالعه Hisham و همکاران نشان داد که ترکیبات واجد گروه های چربی دوست در موقعیت N-1 قادر بودند با قدرت بالایی

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

رشد رده‌های سلولی سرطان پستان (MCF7)، کولون (HT29) و ریه (A549) را مهار نماید [۲۱].

آنزیم ecto-5'-nucleotidase (e5NT)، که هم‌چنین به عنوان CD73 هم شناخته شده است، بر روی سطح سلول متصل شده و هیدرولیز AMP به آدنوزین را کاتالیز می‌کند و به عنوان تنظیم‌کننده مسیر سیگنالینگ آدنوزین شناخته شده‌است. مهارکننده‌های e5NT به عنوان کاهش دهنده رشد تومور و متاستاز گزارش شده‌اند [۲۶]. ترکیب ۵a بهترین انرژی اتصال را نسبت به e5NT(4H2I) (۸/۴۲- کیلوکالری بر مول) نشان داد. برهمکنش‌های این ترکیب در سایت فعال تقریبا مشابه لیگاند اصلی α,β-methyleneadenosine-5'-diphosphate (AMPCP; بود که شامل پیوند هیدروژن بین اتم اکسیژن گروه نیترو و اتم N اسیدهای آمینه His118A (۱/۸۴۲ Å) و Asn117A (۱/۷۴۷Å) و هم‌چنین بین اتم اکسیژن گروه کربونیل و اسید آمینه Asn390A (۱/۹۸ Å) بود. علاوه براین، پیوند π-π بین حلقه تئوبرومین و حلقه فنیل مربوط به Phe500A نشان داده شده است (شکل ۲A). با این حال، انرژی اتصال مربوط به ترکیب ۵e (مشتق p-Br)، بهترین ترکیب با توجه به نتایج حاصل از تست MTT، در برهمکنش با اسیدهای آمینه Asn390A (۱/۸۰۷ Å) و His118A (۲/۰۴۸ Å) مقدار ۷/۴۷ kcal/mol- به دست آمد (شکل ۲C) که تقریبا مشابه با ترکیب ۵a بود، با این تفاوت که در جایگاه فعال نسبت به یک‌دیگر به صورت سر و ته برهم کنش نشان داده‌اند (شکل ۲D).



شکل ۲- برهم‌کنش بین ترکیب ۵a و ۵e با آنزیم Human ecto-5'-nucleotidase (e5NT) (4H2I). ساختار ۳ بعدی، زنجیره α به رنگ زرد نشان داده شده است. قسمت‌های باقی‌مانده از زنجیره α با رنگ آبی تیره نشان داده شده‌است. برهم‌کنش‌های پیوند هیدروژنی توسط خط سیاه نشان داده‌شد. (a) ساختار سبز، اولین کانفورمر خوشه‌ای اول ترکیب ۵a؛ (b) حالت اتصال ترکیب ۵a با آنزیم ecto-5'-nucleotidase (e5NT) (4H2I) آنزیم به صورت مسطح نشان داده شده‌است؛ (c) ساختار قرمز، اولین کانفورمر خوشه‌ی اول ۵e؛ (d) ساختار سبز و قرمز، به ترتیب، اولین کانفورمر رده خوشه‌ی ۵a و ۵e.

در مطالعات مشابه، اتصال ترکیبات سنتز شده بر روی سایر پروتئین‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته اند. مثلا در مطالعه Hisham و همکاران مشخص گردید که بهترین اتصال مشتقات گزانتین سنتز شده با گیرنده فاکتور رشد اپیتلیالی

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

در بخش واجد خاصیت تیروزین کینازی این گیرنده صورت گرفته است [۲۱]. در مطالعه Ma و همکاران که سنتز و بررسی اثر مشتقات گزانتین با خاصیت مهار آنزیم LSD1 را انجام دادند مشخص گردید که این ترکیبات قادرند با اسیدهای آمینه Val333A، Val811A و Met332A ارتباط برقرار کرده و با انرژی پیوندی بسیار مناسبی این آنزیم را مهار نمایند [۲۲]. در مطالعه Basu و همکاران اثر مهاری مشتقات گزانتین سنتز شده روی گیرنده آدنوزین مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که مؤثرترین ترکیب قادر بود با اسید آمینه Asn254 در ساختار این گیرنده پیوند هیدروژنی برقرار نماید و با انرژی اتصال مناسب در کنار پیوند π-π با اسید آمینه Phe173 این گیرنده را مهار نماید [۲۳].

ازجمله محدودیت‌های موجود در این طرح می‌توان به عدم تأمین به موقع منابع مالی و در دسترس نبودن تجهیزات دستگاهی مانند طیف سنجی جرمی اشاره نمود. از طرفی عدم امکان تأمین هزینه جهت آماده سازی روش‌های آنزیماتیک جهت یافتن مکانیسم مولکولی بررسی اثرات سمیت سلولی این دسته از ترکیبات نیز حائز اهمیت می‌باشد. هم‌چنین پیشنهاد می‌گردد اثرات سمیت سلولی بر روی سایر رده‌های سلولی سرطانی، بررسی مکانیسم‌های مولکولی ایجاد سمیت، انجام مطالعات در مدل حیوانی نیز صورت گیرد.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، ۱۲ ترکیب از مشتقات فنوکسی اتیل تئوبرومین با استخلاف در موقعیت N1 طراحی و ساخته شد. بررسی سمیت سلولی نشان داد که ترکیبات دارای اثرات سمیت خوبی بودند و بیش‌ترین فعالیت سمیت سلولی روی رده‌های سلولی A549 و MCF-7 نشان داده شد. با توجه به نتایج حاصل از مطالعات داکینگ مولکولی بهترین ترکیبات برروی آنزیم ecto-5'-nucleotidase (e5NT) (4H2I) ترکیب ۵a بود که برهمکنش‌های مشابهی با لیگاند اصلی در جایگاه فعال نشان داد. ترکیب ۵e با استخلاف p-Br با توجه به نتایج سمیت سلولی به عنوان بهترین ترکیب در برابر رده‌های سلولی سرطانی A549 با میزان IC_{50} برابر با ۸۶/۶۵ میکرو مولار معرفی شد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق به واسطه گرنت پژوهشی ارائه شده توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان پشتیبانی شد و نویسندگان از مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، موسسه نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان (کرمان، ایران) به دلیل تامین هزینه مورد نیاز این طرح پژوهشی سپاس‌گزاری می‌نمایند.

References

[1] Lemke TL, Williams DA. Foye's Principles of Medicinal Chemistry: 7th ed., Baltimore, Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2013. pp. 283-309.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

[2] Kakuyama (nee Iwazaki) A, Sadzuka Y. Effect of methylxanthine derivatives on doxorubicin transport and antitumor activity. *Curr Drug Metab* 2001; 2(4): 379–95.

[3] Neidle S. Cancer Drug Design and Discovery: 2nd ed., London, Elsevier Science; 2014. pp. 3-52.

[4] Almeida CA, Barry SA. Cancer: Basic Science and Clinical Aspects: First ed., Oxford, Wiley; 2010. Pp. 3-64.

[5] Kavi Kishor PB, Bandopadhyay R, Suravajhala P. Agricultural Bioinformatics. illustrated First ed., New Delhi, Springer; 2014. pp. 283-291.

[6] Krasnov A. Solubility and physical stability improvement of natiral xanthine derivatives. 2nd ed., Finland: University of Helsinki; 2011. Pp. 35-74.

[7] Skwierawska A, Pazik A. Inhibition of impurities formation in the synthesis of N-alkyltheobromines stimulated by microwave irradiation. Cationic and anionic response of membrane electrodes. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* 2012; 74(1-4): 145–55.

[8] Georgieva M, Kondeva-Burdina M, Mitkov J, Tzankova V, Momekov G, Zlatkov A. Determination of the Antiproliferative Activity of New Theobromine Derivatives and Evaluation of Their In Vitro Hepatotoxic Effects. *Anticancer Agents Med Chem* 2016; 16(7): 925–32.

[9] Motegi T, Katayama M, Uzuka Y, Okamura Y. Evaluation of anticancer effects and enhanced doxorubicin cytotoxicity of xanthine derivatives using canine hemangiosarcoma cell lines. *Res Vet Sci* 2013; 95(2): 600–5.

[10] Suravajhala R, Poddar R, Nallapeta S, Ullah S. Xanthine Derivatives: A Molecular Modeling Perspective. Agricultural Bioinformatics: First ed., New Delhi, Springer; 2014. pp. 283-91.

[11] Fingert HJ, Pu AT, Chen Z, Googe PB, Alley MC, Pardee AB. In vivo and in vitro enhanced antitumor effects by pentoxifylline in human cancer cells treated with thiotepa. *Cancer Res* 1988; 48(15): 4375–81.

[12] Sadzuka Y, Iwazaki A, Miyagishima A, Nozawa Y, Hirota S. Effects of methylxanthine derivatives on adriamycin concentration and antitumor activity. *Cancer Sci* 1995; 86(6): 594–9.

[13] Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS, Vyvyan JA. Introduction to Spectroscopy: 4th ed., Belmont, Cengage Learning; 2008. Pp. 233-328.

[14] Panzner MJ, Hindi KM, Wright BD, Taylor JB, Han DS, Youngs WJ*, et al.* A theobromine derived silver N-heterocyclic carbene: synthesis, characterization,

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

and antimicrobial efficacy studies on cystic fibrosis relevant pathogens. *Dalton transactions (Cambridge, England : 2003)* 2009; (35): 7308-13.

[15] Hesek D, Svêtlík J. The Convergent Synthesis of [1, 3]-Thiazino [2, 3-f]-Theophylline and [1, 3]-Thiazino [3, 2-e] Theophxlline Ring Systems. *Synthetic Communications* 1988; 18(11): 1299-310.

[16] Jawale DV, Pratap UR, Mane RA. Synthetic Route for New (Z)-5-[4-(2-Chloroquinolin-3-yl)Methoxy]benzylidinethiazolidine-2,4-diones. *Bull Korean Chem Soc* 2011; 32(7): 2171-7.

[17] Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, *et al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem* 2009; 30(16): 2785–91.

[18] Sanner MF. Python: a programming language for software Integration and development. *J Mol Graph Model* 1999; 17: 57–61.

[19] Ameri A, Khodarahmi G, Forootanfar H, Hassanzadeh F, Hakimelahi GH. Hybrid Pharmacophore Design, Molecular Docking, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Aldimine-Type Schiff Base Derivatives as Tubulin Polymerization Inhibitor. *Chem Biodivers* 2018; 15(3): e1700518.

[20] Lee HJ, Lee KW, Kang KS, Kim DY, Park HH, Lee MJ, *et al.*, inventors; Lotte Confectionery Co Ltd, assignee. Theobromine with an anti-carcinogenic activity. Seoul, KR patent US6693104B2. 2004.

[21] Hisham M, Youssif BGM, Osman EEA, Hayallah AM, Abdel-Aziz M. Synthesis and biological evaluation of novel xanthine derivatives as potential apoptotic antitumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2019; 176: 117-28.

[22] Ma Q-S, Yao Y, Zheng Y-C, Feng S, Chang J, Yu B, *et al.* Ligand-based design, synthesis and biological evaluation of xanthine derivatives as LSD1/KDM1A inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2019; 162: 555-67.

[23] Basu S, Barawkar DA, Ramdas V, Patel M, Waman Y, Panmand A, *et al.* Design and synthesis of novel xanthine derivatives as potent and selective A2B adenosine receptor antagonists for the treatment of chronic inflammatory airway diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2017; 134: 218-29.

[24] Voynikov Y, Momekov G, Peikov P, Stavrakov G. Cytotoxicity assay on several theophylline-7-acetic acid amides with amino acids. *Pharmacia* 2014; 61: 12-6.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

[25] Sultani HN, Ghazal RA, Hayallah AM, Abdulrahman LK, Abu-Hammour K, AbuHammad S, *et al*. Inhibitory Effects of New Mercapto Xanthine Derivatives in Human mcf7 and k562 Cancer Cell Lines. *Journal of Heterocyclic Chemistry* 2017; 54(1): 450-6.

[26] Al-Rashida M, Qazi SU, Batool N, Hameed A, Iqbal J. Ectonucleotidase inhibitors: a patent review (2011-2016). *Expert Opin Ther Pat* 2017; 27(12): 1291–304.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]

[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]

Design and Synthesis of Novel N1-(Phenoxyethyl) Theobromine Derivatives and Evaluation of Their Cytotoxicity by *in-vitro* Method with Molecular Docking Study: A Laboratory Study

E. Faghih-Mirzaei[1], A. Ameri[2], H. Forootanfar[3], H. S. Rouholamini[4], M. Shamsadini-pour[5], M. Jafari[6]

Received: 08/09/2019 Sent for Revision: 26/10/2019 Received Revised Manuscript: 15/02/2020 Accepted: 18/02/2020

Background and Objectives: Cancer, one of the global health problems, has been introduced as one of the main death causes worldwide. Xanthine derivatives have been identified as effective compounds for prevention and treatment of cancer. In this study, a series of novel phenoxy ethyl theobromine derivatives were designed with N1 positioning and their cytotoxic activity was evaluated. Also, molecular docking studies were performed to predict the possible action mechanism of these compounds.

Materials and Methods: In the present laboratory investigation, compounds 2, 3, and 5a-l were initially synthesized. The cytotoxicity of all new synthesized compounds was studied by MTT (methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide) -based colorimetric assay against 4 human cancer cell lines. Autodock software was used to determine the binding energies of these structures on human tetrahydrofolate reductase, human octo-5'-nucleotidase (e5NT) and human phosphodiesterase enzymes. The obtained data were analyzed using one-way analysis of variance.

Results: The results of docking studies showed acceptable binding energy (-8.42 kcal/mol) against e5NT. The results of cytotoxicity analysis showed that the greatest effect of cytotoxicity was against A549 and MCF-7 cells (compound 5e with IC_{50} values of 86.65 µM and 161.09 µM, respectively).

Conclusion: The results of molecular docking studies showed acceptable binding energy against the octo-5'-nucleotidase enzyme. Among the synthesized derivatives, compound 5a with the lowest ΔG level (-8.42 kcal/mol) was selected as the best inhibitor of this enzyme. Appropriate effects of cytotoxicity were observed at different concentrations of the synthesized compounds on MCF7 and A549 cell lines.

Key words: Cytotoxicity, Molecular modeling, Theobromine derivatives, Synthesis

Funding: This study was funded by Kerman University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Kerman University of Medical Sciences approved the study (IR.KMU.REC.1396.2104).

How to cite this article: Faghih-Mirzaei E, Ameri A, Forootanfar H, Rouholamini H S, Shamsadini-pour M, Jafari M. Design and Synthesis of Novel N1-(Phenoxyethyl) Theobromine Derivatives and Evaluation of Their Cytotoxicity by *in-vitro* Method with Molecular Docking Study: A Laboratory Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2020; 19 (2): 137-54. [Farsi]

1- Assistant Prof., Dept. of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
ORCID: 0000-0001-5109-2644
2- Assistant Prof., Dept. of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
ORCID: 0000-0002-0910-1516
(Corresponding Author) Tel: (034) 31325172, Fax: (034) 31325003, E-mail: al_ameri@kmu.ac.ir; ameri60@gmail.com
3- Associate Prof., Pharmaceutical Sciences and Cosmetic Products Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran, ORCID: 0000-0003-2072-421X
4- Pharm. D., Dept. of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
ORCID: 0000-0003-1540-2507
5- MSc in Organic Chemistry, Pharmaceutics Research Center, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran, ORCID:0000-0002-9239-9631
6- MSc in Microbiology, Herbal and Traditional Medicine Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
ORCID: 0000-0003-4907-269X

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.2.3.8]
[DOI: 10.29252/jrums.19.2.137]