

طراحی، سنتز و شناسایی مشتقات N -(۴-((۲-هیدرازینیل تیازول-۴-ایل) فنوکسی) متیل)-۱،۲،۳-تریازول-۱-ایل) متیل) بنز آمید به عنوان ترکیبات رهبر درمان آلزایمر

پریسا نیکفر^۱، مهدی اسدی^۱، مینا سعیدی^۲، سیده سارا میرفضلی^{۱*}

^۱ گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

^۲ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده



واژه‌های کلیدی:

سنتز، تریازول، تیازول، هیبریداسیون منطقی داربستی، جانمایی هسته‌دوستی، واکنش کلیک، مطالعات داکینگ.

Keywords:

Synthesis, Triazole, Thiazole, Rational scaffold hybridization, Lead compounds, Nucleophilic substitution, click reaction, Docking study.

حلقه‌های هتروسیکل تریازول و تیازول می‌توانند از طریق برقراری برهمکنش‌های شیمیایی با انواع مختلفی از پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و گیرنده‌ها اثرات زیستی متفاوتی را در موجودات زنده ایجاد کنند. ترکیبات شیمیایی حاوی این حلقه‌ها دارای اثرات ضد سرطان، ضد باکتری، ضد قارچ، ضد التهاب، ضد سل، ضد تشنج، ضد مالاریا، ضد آلزایمر و ضد ویروس می‌باشند و این در حالی است که بیش از ۱۸ داروی تایید شده FDA دارای حلقه‌ی تیازول هستند. علاوه بر این، هیدرازین یک گروه عاملی بسیار کاربردی است که می‌تواند به عنوان دهنده و پذیرنده پیوند هیدروژنی عمل کرده و یک فارماکوفور کلیدی در مولکول‌هایی که برای مهار آنزیم‌ها، به ویژه آنزیم‌های وابسته به پیریدوکسال فسفات (مانند داروهای درمان سل) یا متالوآنزیم‌ها، عمل کند. همچنین، گروه بنز آمید یک موتیف رایج در داروها است که به دلیل پروفایل فارماکوکینتیک مطلوب آن شناخته شده است و در ساختار داروهای ضد تهوع و ضدسرطان وجود دارد. بنابراین از یک سو به دلیل اثرات درمانی منحصر به فرد این هسته‌ها در طراحی ساختارهای دارویی مورد توجه محققین می‌باشند. همچنین از سوی دیگر استفاده از روش هیبریداسیون منطقی داربست‌ها به عنوان یک استراتژی قدرتمند در طراحی ترکیبات رهبر و با هدف هم‌افزایی اثرات مفید هر جزء می‌تواند منجر به افزایش قدرت، کارایی و انتخابگری و بهبود ویژگی‌های فارماکوکینتیک و پروفایل ایمنی مطلوب‌تر ترکیبات نهایی شود. در نتیجه در این تحقیق سنتز مشتقات جدید هیدرازینی تیازول-فنوکسی-۱ و ۲ و ۳-تریازول-بنز آمید با استفاده از واکنشگرها و شرایط واکنش مناسب و بهینه طی ۴ مرحله ارائه و ساختار محصولات در هر مرحله با استفاده از روش‌های طیف‌سنجی ^1H-NMR ، FT-IR شناسایی و تایید گردید. مطالعه داکینگ مشتقات بر روی آنزیم استیل کولین استراز بررسی شد و نتایج نشان داد که این ترکیبات دارای توانایی ایجاد برهمکنش‌های کلیدی با سایت فعال آنزیم می‌باشند.

دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۰۹

پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۱

نوع مقاله: علمی - پژوهشی

* عهده‌دار مکاتبات

+E-mail: mirfazli.s@iums.ac.ir, saramirfazli@gmail.com

رجاع: پریسا نیکفر، مهدی اسدی، مینا سعیدی، سیده سارا میرفضلی، طراحی، سنتز و شناسایی مشتقات N -(۴-((۲-هیدرازینیل تیازول-۴-ایل) فنوکسی) متیل)-۱،۲،۳-تریازول-۱-ایل) متیل) بنز آمید به عنوان ترکیبات رهبر درمان آلزایمر، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، (۴۴(۴): ۶۳ تا ۷۲ (۱۴۰۴).

مقدمه

هیبریداسیون منطقی داربست‌ها: یک پارادایم پیشرو در کشف داروهای نوین هیبریداسیون منطقی داربست‌ها^۱ است که مبتنی بر ادغام هدفمند دو یا چند داربست مولکولی یا فارماکوفور ممتاز از ترکیباتی با فعالیت زیستی شناخته شده در یک مولکول واحد است [۲۰۱]. منطق زیربنایی این رویکرد، طراحی مولکول‌هایی است که بتوانند به طور همزمان و در قالب یک ساختار به چندین هدف بیماری^۲ متصل شده و اثربخشی درمانی را افزایش داده، پتانسیل غلبه بر مقاومت دارویی را بهبود بخشیده و پروفایل فارماکوکینتیک را بهینه کنند [۳۰۴]. برای نمونه، هیبریدهای حاصل از ادغام یک داربست با خاصیت نفوذ به سد خونی-مغزی (BBB) با یک داربست دارای فعالیت فارماکودینامیک قوی، می‌توانند راهکارهای مؤثری برای بیماری‌های سیستم عصبی مرکزی فراهم آورند [۵]. این استراتژی به ویژه در مواجهه با بیماری‌های پیچیده و چندعاملی^۳ مانند سرطان، بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر و عفونت‌های باکتریایی مقاوم، که اغلب نیازمند هدف‌گیری همزمان چندین مسیر زیستی هستند، بسیار ارزشمند و اجتناب‌ناپذیر است [۶،۷].

آلزایمر: بیماری آلزایمر به عنوان شایع‌ترین علت زوال عقل، یک چالش جهانی در حوزه سلامت با پیامدهای اجتماعی و اقتصادی عمیق محسوب می‌شود [۹،۸]. در کنار این مکانیسم‌های آسیب‌شناسی، اختلال در سیستم کولینرژیک مغز به عنوان یکی از عوامل کلیدی در بروز نقص‌های شناختی در این بیماری شناخته شده است [۱۰-۱۲]. با توجه به ماهیت چندعاملی این بیماری، رویکردهای درمانی نوین بر توسعه داروهای چندهدف متمرکز شده‌اند که همزمان چندین مکانیسم بیماری‌زایی را مورد هدف قرار می‌دهند. از جمله این اهداف می‌توان به مهار آنزیم بتا-سکرتاز (BACE1) برای کاهش تولید بتا-آمیلوئید [۱۳]، مهار آنزیم‌های کولین استراز برای افزایش سطح استیل‌کولین در سیناپس‌ها [۱۱]، علاوه بر این، با توجه به پیش‌بینی افزایش شیوع این بیماری در دهه‌های آینده، توسعه استراتژی‌های پیشگیری اولیه از دیگر جنبه‌های اساسی در مقابله با این بیماری پیچیده می‌باشد [۱۳-۱۵]. حلقه‌های هتروسیکل تریازول و تریازول به عنوان داربست‌های ممتاز و پرکاربرد در طراحی و سنتز ترکیبات دارویی جدید شناخته می‌شوند که اهمیت خود را در گستره وسیعی از فعالیت‌های زیستی به اثبات رسانده‌اند.

تریازول: ایزومرهای ۱،۲،۳- و ۱،۲،۴-تریازول به دلیل پایداری متابولیک بالا، قابلیت تشکیل پیوندهای هیدروژنی قوی با اهداف زیستی مختلف، و حلالیت نسبتاً مناسب، به عنوان عوامل ضد میکروبی قوی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [۱۶،۱۷]. همچنین این چارچوب مولکولی در توسعه عوامل ضد آلزایمر نقشی محوری ایفا کرده است

به عنوان مثال، هیبریدهای کومارین-تریازول [۱۸]، کوئرستین-تریازول [۱۹]، و تاکرین-تریازول [۲۰] با مهار آنزیم‌های کلیدی مانند استیل‌کولین استراز، بوتیریل کولین استراز، تیروزیناز و ۵-لیپوکسیژناز، اثرات درمانی قابل توجهی را در مدل‌های *in vitro* و *in vivo* اثبات کرده‌اند. مطالعات بیشتر بر روی مشتقات تیوسمی‌کاربازون-تریازول [۲۱]، متیل‌ایندولینون-تریازول [۲۲] و آنالوگ‌های تریازول-ژنپین [۲۳] به طور کلی بر این موضوع تأکید دارند که وجود حلقه تریازول در ساختار مولکولی نه تنها می‌تواند قدرت مهارکنندگی را افزایش دهد، بلکه اغلب منجر به بهبود مشخصات فارماکوکینتیکی و کاهش سمیت می‌شود.

تیازول: حلقه تیازول به علت حضور اتم گوگرد و نیتروژن به عنوان یک داربست ممتاز و پراهمیت در شیمی دارویی شناخته می‌شود [۲۴،۲۵]. به طور خاص، مشتقات هیبرید پیرازولیل-تیازول به عنوان مهارکننده‌های قوی آنزیم کربنیک آنهیدراز و استیل کولین استراز شناسایی شده‌اند که نقش کلیدی در درمان بیماری‌هایی مانند گلوکوم و آلزایمر ایفا می‌کنند [۲۶].

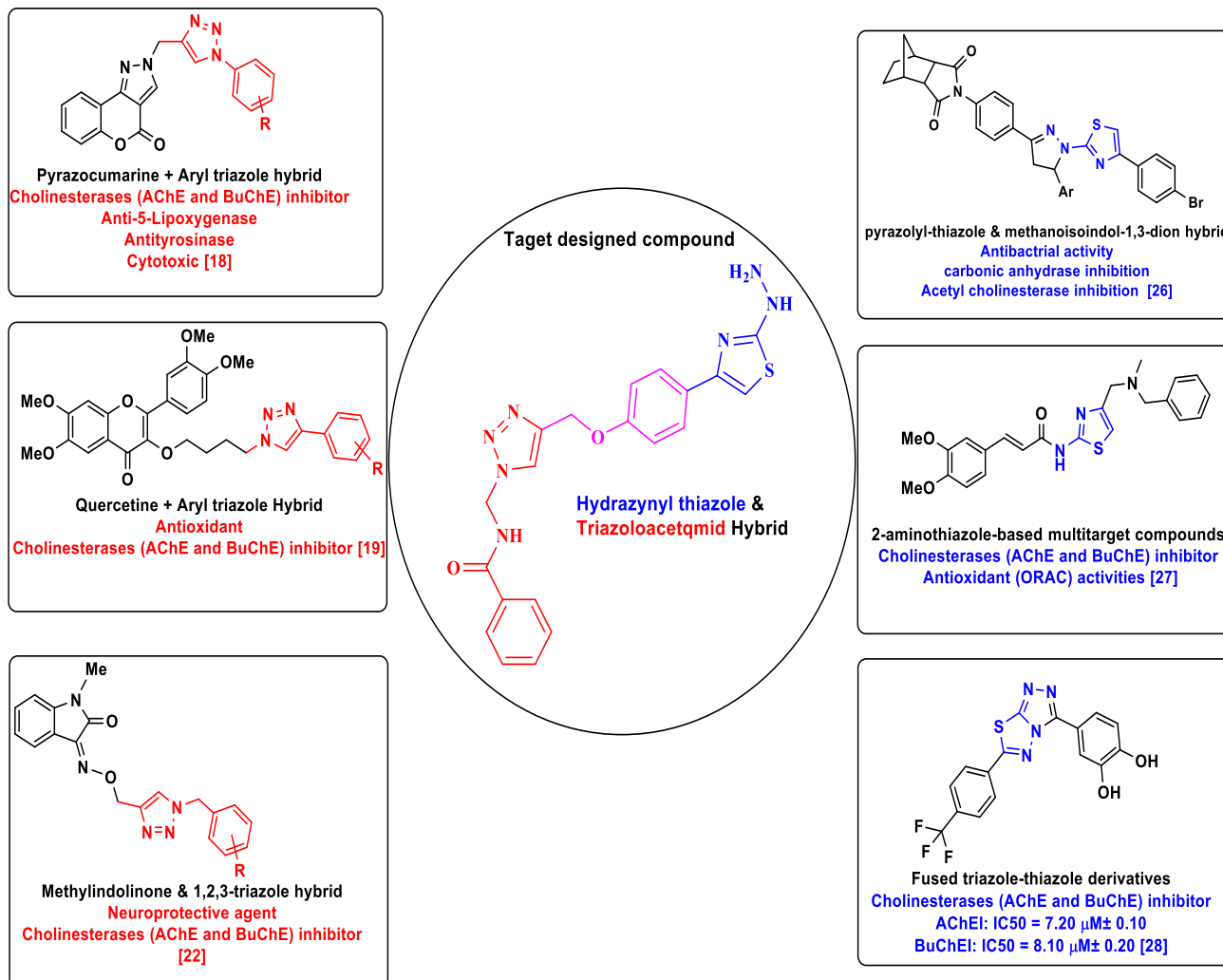
این ویژگی‌های منحصر به فرد همان‌طور که در شکل ۱ نمایش داده شده است، حلقه‌های تریازول و تیازول را به عنوان مؤلفه‌های ساختاری ضروری در طراحی هسته درمانی جدید و چندعملکردی برای مقابله با بیماری‌های پیچیده‌ای مانند اختلالات عصبی به ویژه آلزایمر مطرح می‌کند و بر اساس این فرضیه مشتقات هیدرازینیل تیازول متصل به تریازول استامید به عنوان مهارکننده‌های جدید آنزیم‌های کولین استراز معرفی می‌شوند.

در این پژوهش، سنتز مشتقات نهایی (۲-هیدرازینیل تیازول-۴-ایل) (فنوکسی-متیل)-متیل بنزآمید در چهار مرحله متوالی با بازده مطلوب به انجام رسید. مسیر سنتزی طراحی شده به این شرح بود: در مرحله اول، واکنش جانشینی نوکلئوفیلی بین پارا-هیدروکسی استوفنون و پروپارژیل برمید در حضور باز مناسب منجر به تشکیل حدواسط اتری گردید. در مرحله دوم، این حدواسط تحت واکنش بردار کردن رادیکالی با استفاده از N -برموسوکسینیمید (NBS) قرار گرفت که طی آن گروه استیل به آلفا-برمو استیل تبدیل شد. در مرحله سوم، این ترکیب در یک واکنش حلقه‌زایی با تیوسمی‌کربازید وارد شد که منجر به تشکیل حلقه هیدرازینیل تیازول گردید. در نهایت، در مرحله چهارم گروه استیلنی ساختار حدواسط، در یک واکنش چندجزئی مشتمل بر N -فنیل آلفا-کلرواستامید و سدیم آزید، تحت شرایط واکنش کلیک (CuAAC) قرار گرفت که منجر به تشکیل حلقه تریازول و اتصال گروه بنزآمید به عنوان بخش پایانی مولکول شد. ساختار تمامی محصولات حدواسط و نهایی در هر مرحله به طور کامل توسط طیف‌سنجی FT-IR (برای شناسایی گروه‌های عاملی)

(۱) Rational Scaffold Hybridisation

(۳) Multifactorial

(۲) Multi-Target Directed Ligands



شکل ۱ - طراحی مشتقات هیدرازینیل تiazول متصل به تری آزولو استامید به عنوان مهار کننده های جدید آنزیم های کولین استراز با استفاده از روش هیبریداسیون منطقی داربست ها

با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و حلال های اتیل استات، آن-هگزان و پترولیوم اتر مورد بررسی قرار گرفت. طیف های FT-IR با استفاده از دستگاه پرتوسنج فرو سرخ نیکولت Thermo Scientific به روش ATR انجام گرفت. طیف های $^1\text{H-NMR}$ به وسیله دستگاه Bruker با قدرت ۴۰۰ مگاهرتز بدست آمده و جا به جایی شیمیایی آن ها به صورت ppm گزارش شده اند، از تترا متیل سیلان (TMS) به عنوان استاندارد داخلی استفاده شده است. نقطه ذوب فرآورده ها با استفاده از دستگاه الکتروترمال ۹۱۰۰ اندازه گیری شد.

سنتز

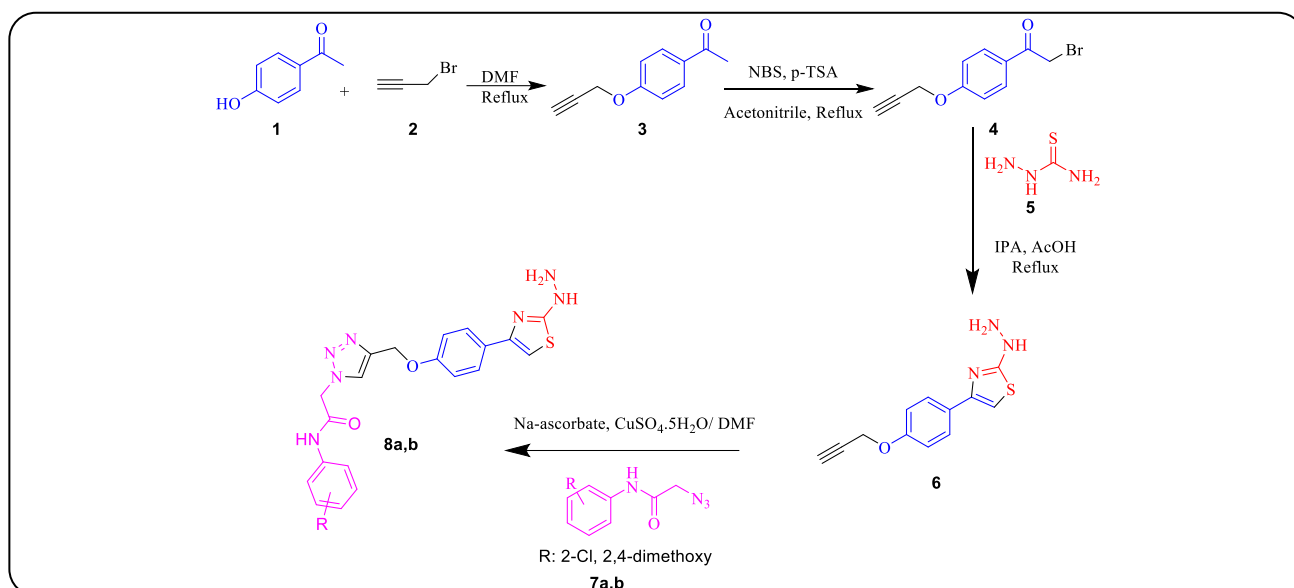
شمای مراحل سنتز مشتقات هیدرازینی تiazول-فنوکسی- (۱و۲و۳-تریازول-بنزآمید در شکل ۲ و جدول مشخصات ترکیبات سنتز شده در این مطالعه در جدول ۱ آورده شده اند:

و طیف سنجی رزونانس مغناطیس هسته ای ($^1\text{H NMR}$) برای تعیین محیط شیمیایی پروتون ها و تأیید یکپارچگی ساختاری) شناسایی و تأیید گردید. با توجه به حضور همزمان فارماکوفورهای فعال زیستی هیدرازینیل تiazول، ۱و۲و۳-تریازول و بنزآمید در یک مولکول، این ترکیبات نه تنها به عنوان حدواسط، بلکه به خودی خود به عنوان ترکیبات امیدوارکننده محسوب می شوند که پتانسیل بالایی برای مهار آنزیم کولین استراز دارا می باشند و می توانند زمینه ساز مطالعات گسترده فارماکولوژیک و توسعه داروهای نوین باشند.

بخش تجربی

مواد شیمیایی و دستگاه ها

مواد شیمیایی و حلال های مورد استفاده در این پژوهش از شرکت های مرک و قطران شیمی خریداری شده و بدون خالص سازی دوباره، مورد استفاده قرار گرفتند. در مراحل سنتز ترکیبات پیشرفت واکنش



شکل ۲ - مراحل سنتز مشتقات جدید هیدرازینی تiazول-فنوکسی-۱ و ۲-تریازول-بنزآمید

جدول ۱ - مشخصات ترکیبات سنتز شده در این مطالعه

شماره ترکیب	ساختار شیمیایی ترکیب	نقطه ذوب به درجه سلسیوس	بازده به درصد
۳		۷۴-۷۷	۸۴
۴		۱۷۸-۱۸۱	۸۱
۶		۱۹۴-۱۹۶	۷۴
۸a		۱۷۸-۱۸۲	۷۲
۸b		۱۸۳-۱۸۶	۷۰

جدول ۲ - بهینه سازی شرایط واکنش تهیه ۲-برومو-۱-(۴-پروپ-۲-این اکسی-فنیل)-اتانول (۴)

الف: تعیین زمان بهینه مرحله برماسیون			
بازده واکنش به درصد	زمان واکنش به دقیقه	دمای واکنش	شماره واکنش
۴۰	۳۰	ریفلاکس	۱
۷۰	۵۰	ریفلاکس	۲
۸۱	۷۰	ریفلاکس	۳
۷۵	۹۰	ریفلاکس	۴
ب: تعیین دمای بهینه مرحله برماسیون			
بازده واکنش به درصد	زمان واکنش به دقیقه	دمای واکنش به سلسیوس	شماره واکنش
۱۰	۷۰	صفر درجه	۱
۱۰	۷۰	دمای اتاق	۲
۲۵	۷۰	۵۰	۳
۸۱	۷۰	ریفلاکس	۴
ج: تعیین حلال بهینه مرحله برماسیون			
بازده واکنش به درصد	زمان واکنش به دقیقه	حلال واکنش	شماره واکنش
۵۰	۷۰	دی متیل فرمامید	۱
۵۵	۷۰	دی کلرومتان	۲
۲۵	۷۰	اتانل	۳
---	۷۰	آب	۴
۷۰	۷۰	تتراهیدروفوران	۵
۸۱	۷۰	استونیتریل	۶

تهیه ۱-(۴-پروپ-۲-این اکسی-فنیل)-اتانول (۳)

مقدار ۲۰ میلی مول (معادل ۲,۷ گرم) ۴-هیدروکسی استوفنون با ۲۴ میلی مول (معادل ۲ میلی لیتر) پروپارژیل بروماید و ۳۰ میلی مول (معادل ۴,۱۴ گرم) پتاسیم کربنات بدون آب به مدت ۴ ساعت در ۱۵ میلی لیتر DMF در دمای ۸۰ درجه سلسیوس هم زده شد. پس از تایید اتمام واکنش با TLC، ابتدا دمای محیط واکنش به دمای محیط رسید و با اضافه کردن آب سرد، رسوبات نمایان شدند سپس رسوبات حاصل صاف شدند و با آب شستشو داده شدند. پس از خشک شدن رسوبات سفید ماده ۳ با نقطه ذوب ۷۷-۷۴ سلسیوس و بازده ۸۴ درصد به دست آمد و بدون خالص سازی برای مرحله بعد استفاده شد. در مقاله‌ای که در سال ۲۰۱۵ توسط *Lihui Zhao* و همکاران در ژورنال *Bioorg. Med. Chem. Lett* به چاپ رسید همین ترکیب حدواسط با راندمان ۹۲ درصد سنتز شد [۲۸] و تنها تفاوت روش سنتز مربوط به استفاده از اتمسفر نیتروژن در حین واکنش بود که دلیل تفاوت راندمان‌های واکنش را به همین مورد می‌توان نسبت داد.

FT-IR (ATR) cm^{-1} : 3254 ($\equiv\text{CH}$), 3075, 2947, 2160 ($\text{C}\equiv\text{C}$), 1683 ($\text{C}=\text{O}$); ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) 7.88 (d, $J = 11.8$ Hz, 2H, H_3, H_5), 6.94 (d, $J = 11.8$ Hz, 2H, H_2, H_6), 4.69 (d, $J = 3.1$ Hz, 2H, CH_2), 2.44 (s, 1H, CH), 2.06 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) 196.9, 161.3, 131.1, 131.6, 114.6, 76.7, 76.3, 55.9, 26.52. Anal. Calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_2$: C, 75.84; H, 5.79. Found: C, 75.97; H, 5.98.

تهیه ۲-برومو-۱-(۴-پروپ-۲-این اکسی-فنیل)-اتانول (۴)

۱۷ میلی مول (معادل ۲,۹ گرم) از ترکیب ۳ با ۲۰,۴ میلی مول (معادل ۲,۲۲ گرم) NBS و ۳,۸۲ میلی مول (۰,۶۵۹ گرم) پاراتولون سولفونیک اسید، در حلال استونیتریل به مدت ۷۰ دقیقه ریفلاکس گردید. در جدول ۲ بهینه سازی شرایط واکنش تهیه ۲-برومو-۱-(۴-پروپ-۲-این اکسی-فنیل)-اتانول (۴) آورده شده است. پس از تایید اتمام واکنش با TLC، ابتدا دمای محیط واکنش به دمای محیط رسید و سپس حلال واکنش پرانده شد و ماده‌ی جامد باقی مانده در اتیل استات حل شد و با حلال آن‌هگزان کریستال گیری شد و رسوبات حاصل فیلتر شدند. پس از خشک شدن رسوبات سفید شیری رنگ ماده ۴ با نقطه ذوب ۱۸۱-۱۷۸ درجه سلسیوس و بازده ۸۱ درصد به دست آمد و بدون خالص سازی بیشتر برای مرحله بعد استفاده شد. لازم به ذکر است که دو روش کلاسیک برای برومیناسیون وجود دارد، بطوریکه در سنتز آلفا-برمو استوفنون‌ها، روش سنتی مبتنی بر استفاده از برم (Br_2) در محیط اسید استیک گلاسیال است که از طریق مکانیسم الکتروفیلی و در زمان کوتاه (چند دقیقه تا یک ساعت) در دمای اتاق انجام می‌شود. اگرچه این روش راندمان قابل قبولی دارد، اما به دلیل سمیت و فراریت بالای برم، نیاز به شرایط ایمنی سخت‌گیرانه دارد و ممکن است منجر به برم‌دار شدن ناخواسته حلقه آروماتیک یا تشکیل محصول دی برمه شود. در مقابل، روش مدرن استفاده از NBS در حلال‌هایی مانند THF یا کلروفرم، با وجود زمان واکنش طولانی‌تر (۱ تا ۱۲ ساعت)،

همزده شد تا زمانی که TLC پایان واکنش را نشان داد. مخلوط واکنش به آب و یخ اضافه شده و رسوبات حاصل فیلتر شد و پس از شستشو در دمای محیط خشک گردید. کریستال گیری در اتیل استات داغ انجام شد و ترکیب ۸a گرم به رنگ قهوه‌ای تیره با نقطه ذوب ۱۷۸-۱۸۲ درجه سلسیوس با بازده ۷۲ درصد به دست آمد.

FT-IR (ATR) cm^{-1} : 3312 (NH), 2921, 2155, 1685 (C=O), 755.8; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 10.12 (s, 1H, NH), 8.30 (s, 1H, triazole), 7.87 (d, $J=8.9$ Hz, 1H, H_6), 7.74 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, H_3 , H_5), 7.53 (d, $J=8.9$ Hz, 1H, H_3), 7.35 (t, $J=8.9$ Hz, 1H, H_5), 7.23 (t, $J=8.7$ Hz, 1H, H_4), 7.09 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, H_2 , H_6), 6.76 (s, 1H, NH), 6.58 (s, 2H, NH_2), 6.37 (s, 1H, triazole), 5.48 (s, 2H, CH_2), 5.27 (s, 2H, CH_2). Anal. Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClN}_7\text{O}_2\text{S}$: C, 52.69; H, 3.98; N, 21.51. Found: C, 52.80; H, 4.09; N, 21.16.

تهیه N -(۲-کلرو-۲-متوکسی فنیل)-۲-۴-۳-هیدرازینو-تiazول-۴-یل (۸b)
۳ میلی مول ماده ۲-کلرو-۲-متوکسی فنیل-۴-۳-هیدرازینو-تiazول-۴-یل (۸a) [۳ و ۲] تiazول-۱-یل-۱-استامید (۸a)

۳ میلی مول ماده ۲-کلرو-۲-متوکسی فنیل-۴-۳-هیدرازینو-تiazول-۴-یل (۸a) به همراه ۶ میلی مول سدیم آزید و ۲۰ قطره تری اتیل آمین در حلال DMF در دمای محیط به مدت ۲۴ ساعت همزده شد. سپس ۲ میلی مول ماده‌ی حد واسط ۶ با ۰٫۹ میلی مول سولفات مس، ۱٫۳۵ میلی مول سدیم آسکوربات به محیط واکنش اضافه شد و در دمای محیط همزده شد تا زمانی که TLC پایان واکنش را نشان داد. مخلوط واکنش به آب و یخ اضافه شده و رسوبات حاصل فیلتر شد و پس از شستشو در دمای محیط خشک گردید. کریستال گیری در اتیل استات داغ انجام شد و ترکیب ۸b گرم به رنگ قهوه‌ای تیره با نقطه ذوب ۱۸۲-۱۸۶ درجه سلسیوس با بازده ۷۰ درصد به دست آمد.

FT-IR (ATR) cm^{-1} : 3202, 3141 (NH), 2923, 2157, 1663.6 (C=O), 1248, 1180; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 9.65 (s, 1H, NH), 8.27 (s, 1H, triazole), 7.87 (d, $J=8.9$ Hz, 1H, H_6), 7.71 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, H_3 , H_5), 7.18 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, H_2 , H_6), 7.07 (s, 1H, NH), 6.64 (s, 2H, NH_2), 6.49 (dd, $J=8.9$, 2.1 Hz, 1H, H_5), 6.37 (s, 1H, triazole), 6.24 (s, 1H, H_5), 5.40 (s, 2H, CH_2), 5.22 (s, 2H, CH_2), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 3.75 (s, 3H, OCH_3). Anal. Calcd. for $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{N}_7\text{O}_4\text{S}$: C, 54.88; H, 4.81; N, 20.36. Found: C, 54.91; H, 4.62; N, 20.45.

مطالعات داکینگ مولکولی

به منظور بررسی برهمکنش گروه‌های عاملی مشتقات طراحی شده با سایت فعال آنزیم استیل کولین استراز، مطالعه داکینگ مولکولی بر روی این ترکیبات در مقایسه با دونپزیل انجام شد. برای بهینه‌سازی پارامترهای آزمایش داکینگ، ابتدا ساختار دونپزیل موجود در IEVE حذف شد و سپس یک فایل ساختاری جدید برای دونپزیل تهیه و انرژی آن بهینه شد و متعاقباً برای محاسبه داکینگ با استفاده از برنامه اتوداک ۴ استفاده شد. باقیمانده‌های موجود در فاصله ۶ آنگستروم از دونپزیل متبلور شده به عنوان باقیمانده‌های فعال در محل اتصال تعریف شدند. علاوه بر این، سه مولکول آب موجود در حفره اتصال

به دلیل ایمنی بالاتر، انتخاب‌پذیری عالی برای موقعیت آلفا و سهولت کنترل واکنش، گزینه ارجح در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی به شمار می‌رود [۲۹، ۳۰].

FT-IR (ATR) cm^{-1} : 3255 ($\equiv\text{CH}$), 3074 (CH-Ar), 2999, 2159 (C=C), 1683.4 (C=O); ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 8.00 (d, $J=11.8$ Hz, 2H, H_3 , H_5), 7.06 (d, $J=11.8$ Hz, 2H, H_2 , H_6), 4.79 (s, 2H, CH_2), 4.42 (s, 2H, CH_2), 2.59 (s, 1H, CH); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 189.9, 161.9, 131.3, 127.6, 114.9, 77.5, 76.6, 55.9, 30.7. Anal. Calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{BrO}_2$: C, 52.20; H, 3.58. Found: C, 52.66; H, 3.83.

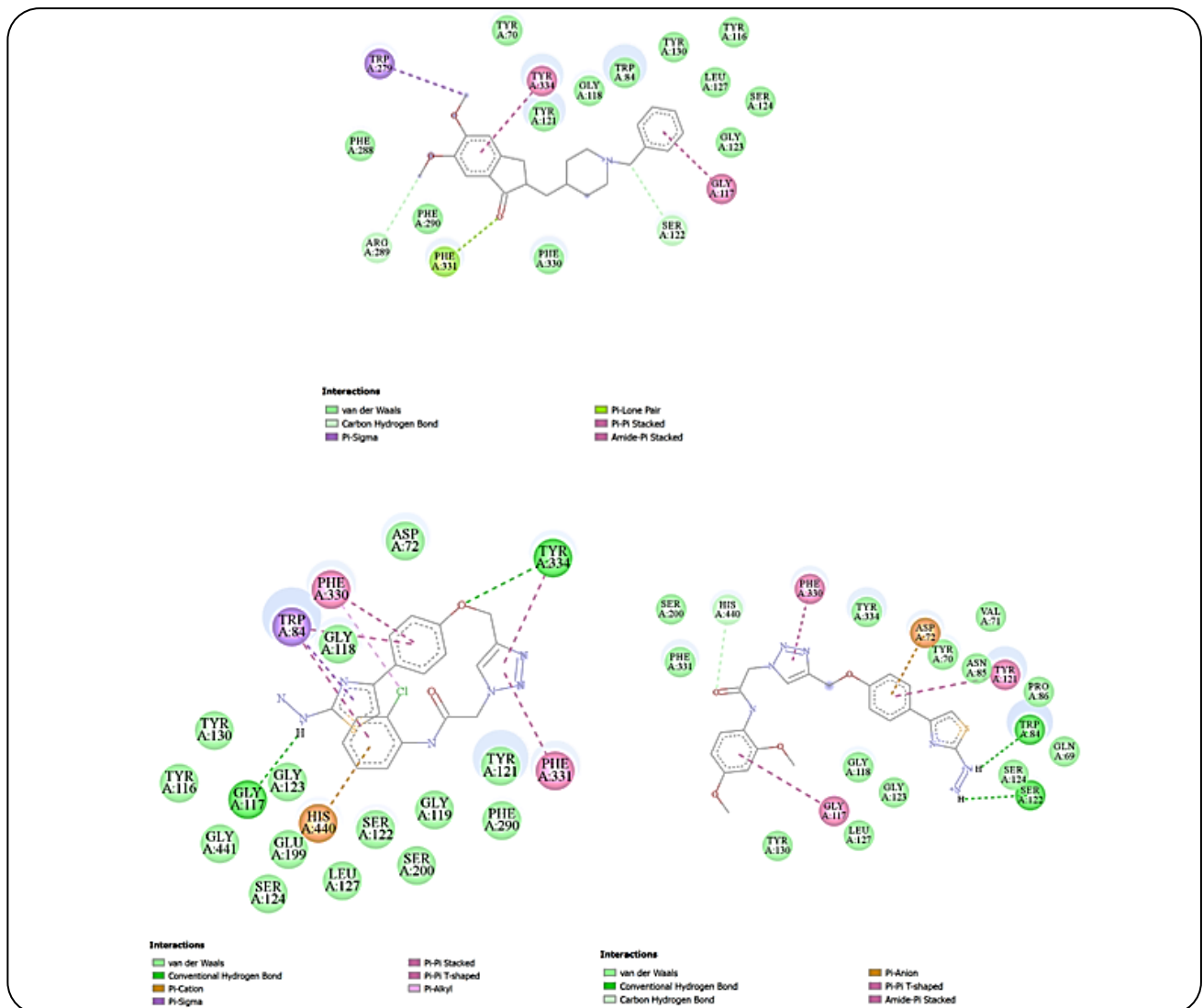
تهیه ۴-۴-پروپ-۲-یل اکسی-فنیل-تiazول-۲-یل-۱-هیدرازین (۶)

مقدار ۱۴ میلی مول (معادل ۳٫۵ گرم) از ماده ۴ همراه با ۱۴ میلی مول (معادل ۱٫۲۷ گرم) ماده تیوسمی کاربازید در حلال ایزوپروپانول ریفلاکس شد پس از ۴۰ دقیقه رسوبات در محیط مشاهده گردید، پس از تایید اتمام واکنش با TLC، دمای محیط واکنش به دمای محیط رسید و رسوبات حاصل فیلتر و به منظور خالص‌سازی در اتیل استات داغ کریستال گیری شدند. ماده خالص ۶ با راندمان ۷۴ درصد و نقطه ذوب ۱۸۴-۱۸۱ درجه سلسیوس به دست آمد. این مشتق کاملاً جدید می‌باشد ولی از ترکیبات مشابه می‌توان به مطالعه‌ی Carradori و همکاران که در سال ۲۰۱۴ در ژورنال European Journal of Medicinal Chemistry منتشر شد اشاره کرد که طی آن، سنتز مشتقات (هیدرازون-۲-یل) تiazول از طریق یک روش کارآمد و تحت تابش مایکروویو انجام شده است. به طوری که تیوسمی کاربازید طی یک واکنش هانتزش با α -برمو استوفنون‌های متنوع در متانول تحت تابش مایکروویو (۹۰ درجه سلسیوس، ۱۰ دقیقه) قرار گرفتند تا مشتقات نهایی (هیدرازون-۲-یل) تiazول با بازده بالا و خلوص مناسب به دست آیند. این روش امکان دسترسی به کتابخانه بزرگی از ترکیبات با استخلاف‌های مختلف در تiazول و بخش هیدرازونی را فراهم آورد [۳۱].

FT-IR (ATR) cm^{-1} : 3214 ($\equiv\text{CH}$), 3045 (NH), 2919, 2029, 1672, 117; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 10.00 (s, 1H, NH), 9.22 (s, 1H, NH), 7.88 (d, $J=9.0$ Hz, 2H, H_3 , H_5), 7.14 (d, $J=9.0$ Hz, 2H, H_2 , H_6), 4.91 (d, $J=2.4$ Hz, H_2 , CH_2), 4.29 (s, 2H, CH_2), 3.65 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, CH); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 164.4, 160.2, 151.4, 129.2, 126.2, 115.8, 79.3, 79.2, 56.2, 22.5. Anal. Calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{OS}$: C, 58.76; H, 4.52; N, 17.13. Found: C, 59.07; H, 4.89; N, 17.26.

تهیه N -(۲-کلرو-۲-فنیل-۲-متوکسی فنیل)-۲-۴-۳-هیدرازینو-تiazول-۴-یل-۱-فنوکسی متیل (۸a)
۳ میلی مول ماده ۲-کلرو-۲-متوکسی فنیل-۴-۳-هیدرازینو-تiazول-۴-یل (۸a) [۳ و ۲] تiazول-۱-یل-۱-استامید (۸a)

۳ میلی مول ماده ۲-کلرو-۲-متوکسی فنیل-۴-۳-هیدرازینو-تiazول-۴-یل (۸a) به همراه ۶ میلی مول سدیم آزید و ۲۰ قطره تری اتیل آمین در حلال DMF در دمای محیط به مدت ۲۴ ساعت همزده شد. سپس ۳ میلی مول ماده‌ی حد واسط ۶ با ۰٫۹ میلی مول سولفات مس، ۱٫۳۵ میلی مول سدیم آسکوربات به محیط واکنش اضافه شد و در دمای محیط



شکل ۳ - تصاویر دو بعدی از اتصال ترکیب *8a* و *8b* با AChE انسانی در مقایسه با داروی استاندارد دونپزیل

فنیل)-۲-((۴-((۲-هیدرازینو-تiazول-۴-یل)-فنوکسی متیل)-۱-اثر) (۳و۲) [ترiazول-۱-اثر] {استامید طی ۴ مرحله با بهینه کردن روش سنتز با خلوص و راندمان بالای ۷۰٪ به دست آمدند. ساختار ترکیبات در هر مرحله با استفاده از روش‌های طیف‌سنجی FT-IR، $^1\text{H NMR}$ مورد تأیید قرار گرفتند. در طیف IR ترکیب ۳ پیک ۳۲۵۴ مربوط به باند سه گانه و در طیف $^1\text{H NMR}$ پیک ۲,۴۴ مربوط به هیدروژن باند سه گانه و ۲,۴۸ مربوط به متیل متصل به کربونیل و هیدروژن‌های آلیفاتیک در ۴,۶۵ به صورت دوشاخه ظاهر گردیدند. در طیف کربن ترکیب مورد نظر پیک‌های ۷۹,۳ و ۷۹,۲ مربوط به کربن‌های پروپارژیل و ۵۶,۲ مربوط به کربن مجاور باند سه گانه می‌باشد. در ترکیب ۴ در طیف $^1\text{H NMR}$ ظهور پیک ۴,۴۲ و ۴,۷۹ مربوط به CH_2 ها می‌باشد که با حذف پیک هیدروژن‌های متیل همراه می‌باشد و انجام واکنش بروماسیون را تأیید می‌کند. در مورد ترکیب ۶ (۲-هیدرازینیل-۴-((۴-پروپ-۲-این-۱-یلوکسی) فنیل) تiazول)

ساختار آزمایشی و شناخته شده برای مشارکت در پیوندهای هیدروژنی با دونپزیل و آنزیم، حفظ شدند. توابع امتیازدهی مختلف موجود در برنامه اتوداک استفاده شدند و سپس مقدار RMSD بین دونپزیل آزمایشی و متصل شده محاسبه شد. حداقل (0.55 Å) RMSD با استفاده از تابع امتیازدهی بدست آمد. با استفاده از همان مجموعه پارامترهای مشخص شده برای اتصال بهینه دونپزیل، ترکیبات *8a* و *8b* در جایگاه اتصال ساختار آزمایشی AChEs انسانی 1EVE متصل شدند. حالت‌های برهمکنش برای این ترکیبات در زیر با استفاده از محاسبات داکینگ انجام شده و مورد بحث قرار گرفته است.

نتیجه‌ها و بحث

همان‌گونه که در شکل ۲ نمایش داده شده است، ترکیبات *N*-(۲-کلرو-فنیل)-۲-((۴-((۲-هیدرازینو-تiazول-۴-یل)-فنوکسی متیل)-۱-اثر) [۳و۲] ترiazول-۱-اثر] {استامید و *N*-(۲-و۲-دی متوکسی

افزایش دهد، اما ناتوانی در ایجاد اتصال قوی و خاص با ناحیه حفره استیل، احتمالاً باعث می‌شود که این مشتق از نظر میل اتصال و اثر بازدارندگی از دونپزیل ضعیف‌تر عمل کند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که اگرچه مشتق سنتز شده قادر به اتصال به سایت فعال است، اما فاقد الگوی بهینه و کامل برهمکنش‌های دونپزیل است که برای مهار قوی آنزیم ضروری می‌باشد. در مقابل، مشتق ۲-کلرو با طیف وسیعی از اسیدهای آمینه (مانند Asp72, Phe330, Tyr121, Tyr141) برهمکنش دارد و حتی برهمکنش‌های متنوعی از جمله پیوند هیدروژنی متعارف (با Ser200 و Ser220)، Pi-Cation و Pi-Pi T-shaped را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

ساختارهای دو مشتق 8a و 8b بدست آمده در این تحقیق به عنوان پیش ساز و هسته مناسب برای سنتز ترکیبات هیدرازینی متعدد می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. شرایط انجام واکنش بروماسیون، حلقه‌زایی تiazول و همچنین (۳و۲-تریازول (واکنش کلیک) و فرآورده‌های مربوطه با راندمان‌های بسیار خوب تا عالی قابل دستیابی هستند. با توجه به اهمیت این دسته ترکیبات در تحقیقات شیمی دارویی و اثرات فارماکولوژیک ثبت شده آنها در زمینه‌های آنتی باکتریال، ضد سرطان، ضد دیابت و اختلالات عصبی، در این مقاله طراحی و تهیه ساختارهای هیبریدی از ترکیبات هیدرازینیل تiazول متصل به هسته تری آزولو استامید با هدف معرفی ترکیبات جدید ضد آنزیم از اهداف آینده تحقیقات این گروه می‌باشد. مطالعات داکینگ مولکولی مشتقات در مقایسه با دونپزیل نشان داد که مشتق 8b نسبت به 8a برهمکنش مناسب تری در سایت فعال آنزیم استیل کولین استراز دارد و این مشتق علی‌رغم عدم برهمکنش‌های قابل توجه با اسیدهای آمینه کلیدی Phe288 و Phe290 در حفره استیل، از نظر قدرت و میل اتصال و همچنین اختصاصیت با دونپزیل قابل مقایسه است. همچنین حضور اتم کلر می‌تواند پتانسیل ایجاد برهمکنش هالوژن بانینگ را داشته باشد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که این مشتق اگرچه یک کاندیدی قابل توجه است، اما برای رسیدن به اثربخشی قابل مقایسه با دونپزیل نیاز به بهینه‌سازی بیشتر برای درگیر کردن نواحی کلیدی سایت فعال دارد.

و در طیف IR ترکیب ظهور پیک NH در ۳۰۴۵ انجام واکنش را تایید نمودند. در طیف ¹H NMR پیک‌های تک شاخه در نواحی ۱۰ و ۹،۲۲ مربوط به هیدروژن NH و پیک‌های در نواحی ۷،۸۸ تا ۷،۱۴ مربوط به هیدروژن‌های آروماتیک مشاهده شدند. در بررسی طیف ¹³C NMR حذف پیک کربن کربونیل ۱۸۴ و ظهور پیک ۱۶۴،۴ مربوط به کربن متصل به نیتروژن حلقه تiazول نشان‌دهنده انجام واکنش و حذف برم از ساختار می‌باشد. در مرحله آخر که انجام واکنش کلیک جهت تشکیل حلقه ۱،۲،۳-تریازول بود در طیف IR دو مشتق 8a و 8b ظهور پیک ۱۶۸۴ مربوط به آمید و همچنین حذف ۳۲۵۴ مربوط به باند سه گانه تایید کننده تشکیل حلقه ۱،۲،۳-تریازول و انجام واکنش می‌باشد. در ¹H NMR پیک هیدروژن محدود ۷،۹۰ تا ۷،۱۵ هیدروژن‌های حلقه‌های فیل و هیدروژن حلقه تiazول در محدوده ۶،۳۰ تا ۷،۱۰ قابل مشاهده بود.

نتایج داکینگ مولکولی مشتق 8a که در ساختار خود دارای استخلاف‌های متوکسی در موقعیت‌های اورتو و پارا است، نشان می‌دهد این مشتق و دونپزیل هر دو توانسته‌اند در سایت فعال آنزیم استیل کولین استراز قرار گیرند اما الگوهای برهمکنشی آنها تفاوت‌های قابل توجهی نشان می‌دهد (شکل ۳). دونپزیل به عنوان داروی رفرنس، پروفایل اتصال بهینه و جامعی را نشان می‌دهد که شامل برهمکنش‌های کلیدی و متنوعی از جمله پیوندهای واندروالسی، پیوند هیدروژنی، برهمکنش‌های پی-سیگما، پی-الکترون جفت‌نشده و به ویژه برهمکنش‌های مهم Pi-Pi stacking و Amid-Pi stacking با اسیدهای آمینه حیاتی مانند Phe288, Phe290, Phe331 و Arg289 در ناحیه حفره استیل و درگاه سایت فعال است. این طیف گسترده از برهمکنش‌ها، به ویژه برهمکنش با Arg289 که بار مثبت دارد، دلیل اصلی قدرت و ویژگی بالای اتصال دونپزیل است. در مقابل، مشتق ۲-۴-دی متوکسی اگرچه با اسیدهای آمینه متعددی (از جمله Ser200, Phe331 و Tyr70) برهمکنش نشان می‌دهد، اما لیست ارائه‌شده عمدتاً شامل برهمکنش‌های از نوع واندروالسی است و فاقد برهمکنش‌های ساختاریافته و قوی‌ای مانند Pi-Pi stacking با اسیدهای آمینه کلیدی حفره استیل (Phe288 و Phe290) و همچنین برهمکنش با Arg289 می‌باشد. حضور گروه‌های متوکسی ممکن است پتانسیل ایجاد پیوند هیدروژنی با Ser200 را

مراجع

- [1] Kumari S., Carmona A.V., Tiwari A.K., Trippier P.C., [Amide Bond Bioisosteres: Strategies, Synthesis, and Successes](#), *J Med Chem*, **63(22)**: 13633-60 (2020).
- [2] Vardhan D.M.S., Mittal S., [Scaffold Hybridization in Drug Discovery: A Review](#), *Future Med Chem*, **14(16)**: 1187-204 (2022).

- [3] Morphy R., Rankovic Z., [Designed Multiple Ligands. An Emerging Drug Discovery Paradigm](#), *J Med Chem*, **48(21)**: 6523-43 (2005).
- [4] Cheke R.S., Shinde S.D., Ambhore J.P., Patil V.M., [Molecular Hybridization: A Powerful Tool for Multi-Target Drug Discovery](#), *Curr Top Med Chem*, **22(11)**: 897-919 (2022).
- [5] Saeedi M., Mohtadi-Haghighi D., Mirfazli S.S., Mahdavi M., Hariri R., Lotfian H., Edraki N., Iraj A., Firuzi O., Akbarzadeh T., [Design and Synthesis of Selective Acetylcholinesterase Inhibitors: Arylisoxazole-Phenylpiperazine Derivatives](#). *Chem Biodivers.* **16(2)**: e1800433, (2019).
- [6] Guimiao T., Qiuyi S., Ziwei L., Ju G., Shuang C., Sihui L., [Recent Advances in 1,2,3- and 1,2,4-Triazole Hybrids as Antimicrobials and Their SAR: A Critical Review](#). *Eur J Med Chem*, **259**: 115603 (2023).
- [7] Petrou A., Fesatidou M., Geronikaki A., [Thiazole Ring—A Biologically Active Scaffold](#). *Molecules*, **26(11)**: 3166 (2021).
- [8] Maileen Gloriane, U., Simrit Kaur S., Samantha M., [Alzheimer Disease](#), *The Journal for Nurse Practitioners*, **14(3)**: 129-135 (2018).
- [9] McGeer P.L., McGeer E.G., [The Amyloid Cascade-Inflammatory Hypothesis of Alzheimer Disease: Implications for Therapy](#), *Acta neuropathologica*, **126**: 479-497 (2013).
- [10] Vitali F., Branigan G.L., Brinton R.D., [Preventing Alzheimer's disease within reach by 2025: Targeted-Risk-AD-Prevention \(TRAP\) Strategy](#), *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, **7(1)**: e12190 (2021).
- [11] Iqbal K., Flory M., Soinenen H., [Clinical Symptoms and Symptom Signatures of Alzheimer's Disease Subgroups](#), *Journal of Alzheimer's Disease*, **37(3)**: 475-481 (2013).
- [12] Hampel H., Vassar R., De Strooper B., Hardy J., Willem M., Singh N., Zhou J., Yan R., Vanmechelen E., De Vos A., Nisticò R., Corbo M., Imbimbo B.P., Streffer J., Voytyuk I., Timmers M., Tahami Monfared A.A., Irizarry M., Albala B., Koyama A., Watanabe N., Kimura T., Yarenis L., Lista S., Kramer L., Vergallo A., [The \$\beta\$ -Secretase BACE1 in Alzheimer's Disease](#), *Biological Psychiatry*, **89(8)**: 745-756 (2021).
- [13] Bartus R.T., [On Neurodegenerative Diseases, Models, and Treatment Strategies: Lessons Learned, and Lessons Forgotten a Generation Following the Cholinergic Hypothesis](#), *Experimental neurology*, **163(2)**: 495-529 (2000).
- [14] Hampel H., Mesulam M.M., Cuello A.C., Farlow M.R., Giacobini E., Grossberg G.T., Khachaturian A.S., Vergallo A., Cavedo E., Snyder P.J., Khachaturian Z.S., [The Cholinergic System in the Pathophysiology and Treatment of Alzheimer's Disease](#), *Brain*, **141(7)**: 1917-1933 (2018).
- [15] Joe E., Ringman J.M., [Cognitive Symptoms of Alzheimer's Disease: Clinical Management and Prevention](#), *BMJ*, 367 (2019).
- [16] Guimiao T., Qiuyi S., Ziwei L., Jie G., Shuang C., Sihui L., [Recent Advances in 1,2,3- and 1,2,4-Triazole Hybrids as Antimicrobials and Their SAR: A Critical Review](#), *E. J. Med. Chem*, **259**: 115603 (2023).
- [17] Zhang J., Wang S., Ba Y., Xu Z., [1,2,4-Triazole-Quinoline/Quinolone Hybrids as Potential Anti-Bacterial Agents](#), *E. J. Med. Chem*, **174**: 1-8 (2019).
- [18] Chekir S., Debbabi M., Regazzetti A., Dargère D., Laprèvote O., Ben Jannet H., Gharbi R., [Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel 1,2,3-Triazole Linked Coumarinopyrazole Conjugates as Potent Anticholinesterase, Anti-5-Lipoxygenase, Anti-Tyrosinase and Anti-Cancer Agents](#), *Bioorg. Chem*, **80**: 189-194 (2018).

- [19] Carreiro E.P., Costa A.R., Antunes C.M., Ernesto S., Pinto F., Rodrigues B., Burke A.J., [Quercetin-1, 2, 3-Triazole Hybrids as Multifunctional Anti-Alzheimer's Agents](#), *Molecules*, **28(22)**: 7495 (2023).
- [20] Najafi Z., Mahdavi M., Saeedi M., Karimpour-Razkenari E., Edraki N., Sharifzadeh M., Khanavi M., Akbarzadeh T., [Novel Tacrine-Coumarin Hybrids Linked to 1, 2, 3-Triazole as Anti-Alzheimer's Compounds: In Vitro and in Vivo Biological Evaluation and Docking Study](#), *Bioorg. Chem*, **83**: 303-316 (2019).
- [21] Rahim F., Ullah H., Taha M., Hussain R., Sarfraz M., Iqbal R., Iqbal N., Khan S., Ali Shah S.A., Albalawi M.A., Abdelaziz M.A., Alatawi F.S., Alasmari A., Sakran M.I., Zidan N., Jafri I., Khan K.M., [Synthesis of New Triazole-Based Thiosemicarbazone Derivatives as Anti-Alzheimer's Disease Candidates: Evidence-Based in Vitro Study](#), *Molecules*, **28(1)**: 21 (2022).
- [22] Saeedi M., Maleki A., Iraj A., Hariri R., Akbarzadeh T., Edraki N., Firuzi O., Mirfazli S. S., [Synthesis and Bio-Evaluation of New Multifunctional Methylindolinone-1,2,3-Triazole Hybrids as Anti-Alzheimer's Agents](#), *J Mol Struct*, **1229**:129828 (2021).
- [23] Silalai P., Jaipaea S., Tocharus J., Athipornchai A., Suksamrarn A., Saeeng R., [New 1, 2, 3-Triazole-Genipin Analogues and Their Anti-Alzheimer's Activity](#), *ACS omega*, **7(28)**: 24302-24316 (2022).
- [24] Petrou A., Fesatidou M., Geronikaki A., [Thiazole Ring—A Biologically Active Scaffold](#), *Molecules*, **26(11)**: 3166 (2021).
- [25] Gümüş M., Yakan M., Koca İ., [Recent Advances of Thiazole Hybrids in Biological Applications](#), *Future Med. Chem*, **11(16)**: 1979-1998 (2019).
- [26] Budak Y., Kocyigit U.M., Burcu Gürdere M., Özcan K., Taslimi P., Gülçin İ., Ceylan M., [Synthesis and Investigation of Antibacterial Activities and Carbonic Anhydrase and Acetyl Cholinesterase Inhibition Profiles of Novel 4, 5-Dihydropyrazol and Pyrazolyl-Thiazole Derivatives Containing Methanoisoindol-1, 3-Dion Unit](#), *Synth. Comm*, **47(24)**: 2313-2323 (2017).
- [27] Bardakkaya M., Kilic B., Sagkan R.I., Aksakal F., Shakila S., Dogruer D.S., [Synthesis and Evaluation of Multitarget New 2-Aminothiazole Derivatives as Potential Anti-Alzheimer's Agents](#), *Archiv der Pharmazie*, e2300054 (2023).
- [28] Zhao L., Mao L., Hong G., Yang X., Liu T., [Design, Synthesis and Anticancer Activity of Matrine–1H-1, 2, 3-Triazole–Chalcone Conjugates](#), *Bioorg. Med. Chem. Lett*, **25(12)**: 2540-4 (2015).
- [29] Laufer S.A., Hauser D.R., Liedtke A.J., [Regiospecific and Highly Flexible Synthesis of 1, 4, 5-Trisubstituted 2-Sulfanylimidazoles from Structurally Diverse Ethanone Precursors](#), *Synthesis*, **(02)**: 253-66 (2008).
- [30] Mohan R.B., Reddy N.G., [Regioselective \$\alpha\$ -Bromination of Aralkyl Ketones Using *N*-Bromosuccinimide in the Presence of Montmorillonite K-10 Clay: A Simple and Efficient Method](#), *Synth. Comm*, **43(19)**: 2603-14 (2013).
- [31] Carradori S., Rotili D., De Monte C., Lenoci A., D'Ascenzio M., Rodriguez V., Filetici P., Miceli M., Nebbioso A., Altucci L., Secci D., [Evaluation of a Large Library of \(Thiazol-2-yl\) Hydrazones and Analogues as Histone Acetyltransferase Inhibitors: Enzyme and Cellular Studies](#), *E.J. Med. Chem*, **80**: 569-78 (2014).