



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

بررسی اهمیت فارماکوفور ۵،۴،۳-تری متوکسی فنیل در ترکیب

۴- $\{[(2,3\text{-dichlorophenyl)methylidene]amino}\}$ -۵- $[(3,4,5\text{-}$

$\text{trimethoxyphenyl) methyl}]-2\text{H-}1,2,4\text{-triazole-}3\text{-thione}$

بر اثرات سیتوتوکسیک و مهار کنندگی پلیمریزاسیون توبولین

توسط:

مریم اسفندیاری

اساتید راهنما:

دکتر عالیه عامری

دکتر حمید فروتن فر

شماره پایان نامه:

آذرماه ۱۳۹۷

۱۰۳۱



Kerman University of Medical Sciences

Faculty of Pharmacy

Pharm. D Thesis

Title:

**Evaluation of the importance of 3,4,5-trimethoxyphenyl pharmacophore of -
{[(2,3-dichlorophenyl)methylidene]amino} -o-[(3,4,5-
trimethoxyphenyl)methyl]-2H-1,2,4-triazole-3-thione for cytotoxicity effects
and inhibition of tubulin polymerization**

By:

Maryam Esfandiari

Supervisors:

Dr. Alieh Ameri

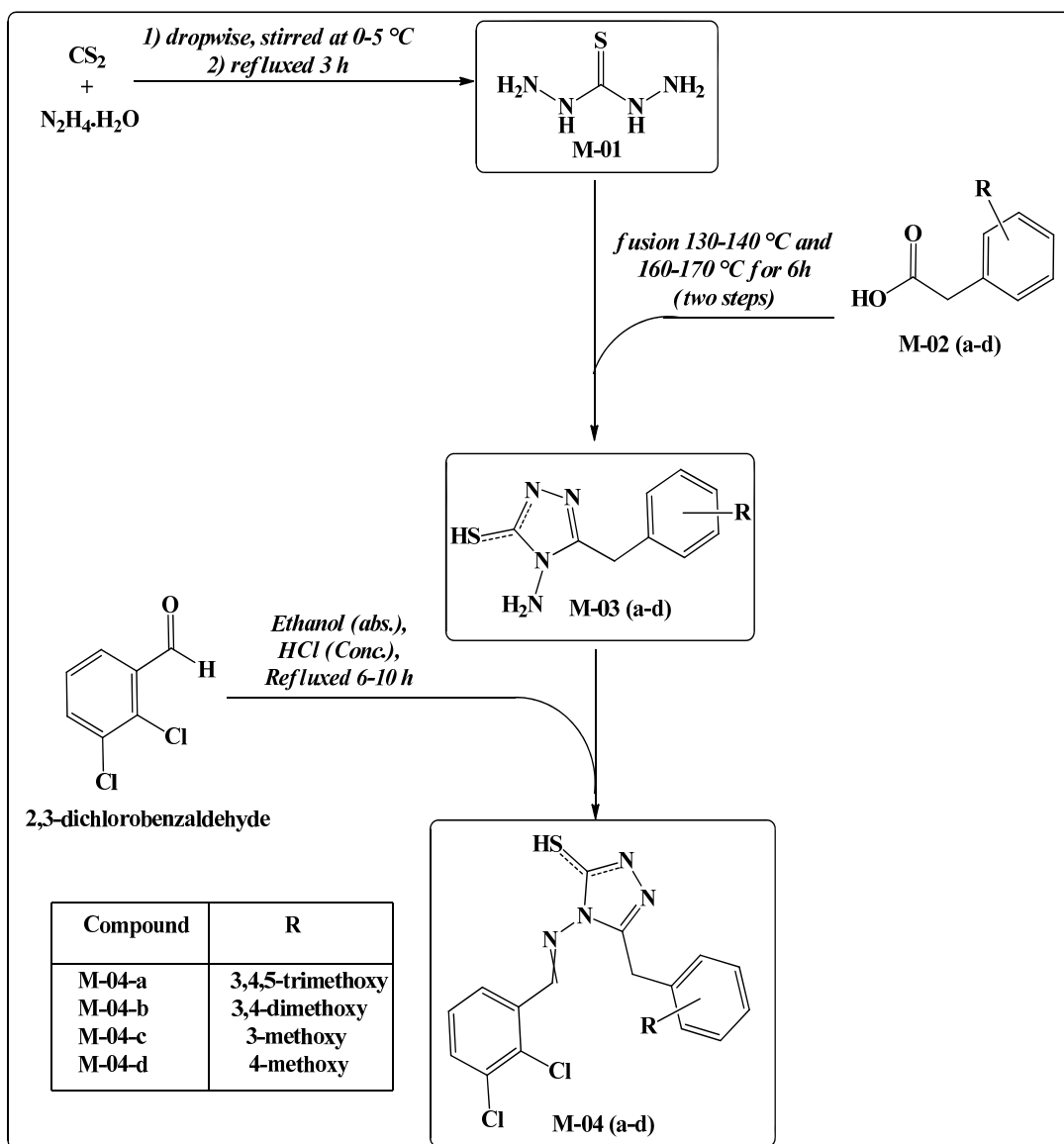
Dr. Hamid Forootanfar

December ۲۰۱۸

خلاصه فارسی:

هدف: طراحی و سنتز ترکیبات با مکانیسمهای جدید مهار رشد سلولهای سرطانی به یکی از زمینه‌های تحقیقاتی مهم تبدیل شده است. در تحقیق حاضر که در ادامه پروژه های قبلی صورت گرفته، اهمیت حضور فارماکوفور ۳،۴،۵-تری متوکسی فنیل (TMP) در ایجاد اثر سمیت سلولی و قدرت مهار کنندگی پلیمریزاسیون توبولین یک سری از شیف بازهای هیبریدی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: شیف بازهای طراحی شده با طرح ارائه شده در شکل زیر سنتز شدند و خصوصیات آنها از جمله نقطه ذوب، طیفهای FTIR، ¹HNMR و ¹³CNMR آنها تهیه گردید. میزان سمیت سلولی ترکیبات سنتز شده علیه ۴ رده سلولی HT1080، HepG2، MCF7 و A549 که به ترتیب متعلق به سرطانهای فیروسارکوما، کبد، پستان و ریه می باشند به کمک روش MTT Assay بررسی و درصد زنده مانی (% Viability) در حضور غلظتهای مختلف این ترکیبات و همچنین مقادیر IC₅₀ مربوطه محاسبه گردید. در مرحله بعد ترکیبات واجد IC₅₀ مناسب انتخاب و توانایی آنها در مهار پلیمریزاسیون توبولین به کمک کیت متعلق به شرکت Cytoskeleton بررسی شد. درصد مهار پلیمریزاسیون و IC₅₀ مربوطه در حضور غلظتهای مختلف ترکیبات منتخب محاسبه گردید. در مرحله بعد و به منظور بررسی مکانیسم احتمالی اتصال و محاسبه انرژیهای پیوند ترکیبات منتخب با توبولین از نرم افزار AutoDock و ساختار کریستالی توبولین با کد 1SA0 استفاده شد.



طرح ۱- سنتز مشتقات Schiff base

یافته‌ها: بررسی طیف سنجی صورت گرفته نشان داد که ترکیبات مورد نظر سنتز شده اند. نتایج ارزیابی سمیت

سلولی ترکیبات دسته M-03 نشان داد که فقط ترکیب M-03-a $IC_{50} = 75/6 \pm 20/5 \mu\text{M}$ ، علیه رده سلولی

HT1080 از این گروه نتیجه مناسب نشان داد و سایر ترکیبات این گروه سمیت سلولی قابل ملاحظه ای بروز

ندادند. از بین ترکیبات دسته M-04 سه ترکیب M-04-a و M-04-b و M-04-d بر روی رده سلولی

HepG2 به ترتیب IC_{50} معادل $15/7 \pm 0/08 \mu M$ ، $32/2 \pm 3/2 \mu M$ و $144/76 \pm 4/10 \mu M$ نشان دادند. این سه ترکیب به همراه کلشی سین به عنوان کنترل مثبت در تست مهارکنندگی پلیمریزاسیون توبولین مورد بررسی قرار گرفتند که میزان IC_{50} آنها به ترتیب $0/17 \pm 0/01 \mu M$ ، $11/18 \pm 0/23 \mu M$ ، $36/72 \pm 1/73 \mu M$ و $0/19 \pm 0/01$ برای ترکیبات **M-04-a** و **M-04-b** و **M-04-d** و کلشی سین محاسبه گردید.

نتیجه گیری: بررسی های صورت گرفته در این مطالعه نشان داد که بین میزان سمیت سلولی و اثر مهار کنندگی پلیمریزاسیون توبولین ترکیبات سنتز شده و همچنین نتایج حاصل از داکینگ ترکیبات از لحاظ میزان انرژی و توانایی اتصال به اسید آمینه سیستئین ۲۴۱ در جایگاه اتصال توبولین رابطه مناسبی وجود داشت و حضور فارماکوفور TMP جهت بروز اثرات سمیت سلولی و مهار کنندگی پلیمریزاسیون توبولین مهم و ضروری می باشد.

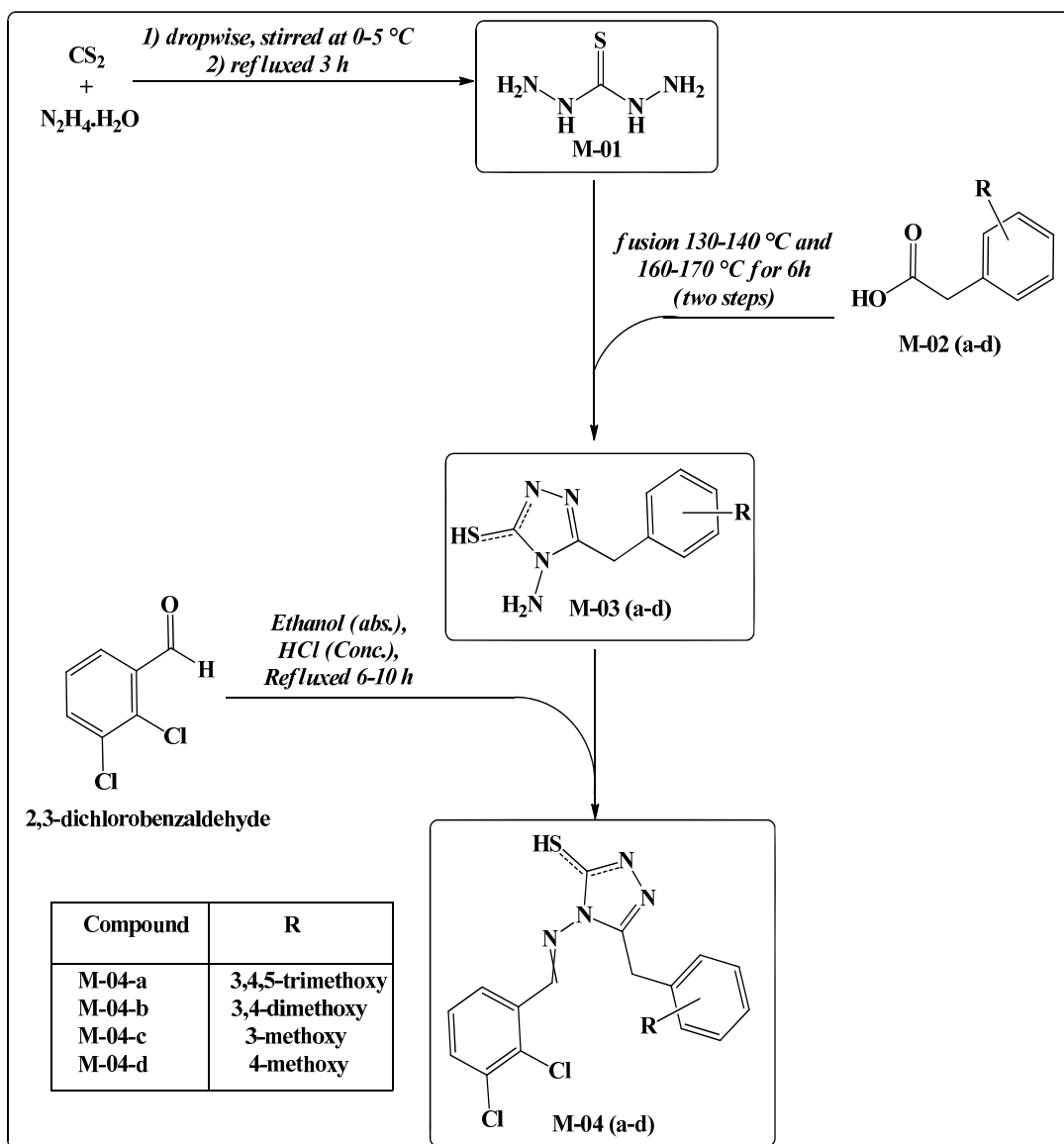
کلمات کلیدی: ۳،۴،۵-تری متوکسی فنیل، شیف بیس، سمیت سلولی، مهار کنندگی پلیمریزاسیون توبولین

Abstract:

Purpose: The design and synthesis of compounds with the novel mechanisms of inhibiting cancer cell growth has become an important field of research. In the present study, which was the following of the previous studies, the importance of the presence of pharmacophore ۳،۴،۵-trimethoxyphenyl (TMP) on the cytotoxic activity and inhibitory activity of tubulin polymerization was evaluated in a series of hybrid structures.

Materials and methods: The designed Schiff bases were synthesized according to the scheme presented below and their characteristics including melting point, FTIR, 1H NMR, and ^{13}C NMR

spectra were determined. The cytotoxicity of the synthesized compounds against the four cell lines of HT1080, HepG2, MCF7, and A549 belonging to fibrosarcoma, liver, breast, and lung cancers, were investigated using the MTT assay method, and the percentage of viability in the presence of different concentrations of these compounds as well as the corresponding IC₅₀ values were calculated. In the next step, the compounds with appropriate IC₅₀ were selected and their ability to inhibit tubulin polymerization by means of the kit belonging to the Cytoskeleton Company was investigated. The percentage of inhibition of polymerization and corresponding IC₅₀ in the presence of different concentrations of the selected compounds were calculated. In the next step, the AutoDock software and crystalline structure of tubulin with the PDB code 1SA0 was used to examine the mechanism of probable binding and calculation of binding energy of the selected compounds to tubulin.



Scheme 1- Synthesis of Schiff base derivatives

Results: The obtained spectra of attained compounds showed that the desired compounds were synthesized. The results of cytotoxicity effect of **M-13** compounds revealed that only **M-13-a**

($\text{IC}_{50} = 70,7 \pm 2,5 \mu\text{M}$ against the HT1080 cell line)

exhibited suitable inhibitory effect and the other compounds of this group did not show appropriate cytotoxic effect. Among compounds of the **M-14** group, the three compounds of **M-**

1-**ξ-a**, **M-1**-**ξ-b**, and **M-1**-**ξ-d** inhibited the HepG2 cell line by IC₅₀ of 15,70.8 μM, 32,203.2 μM, and 144,760.1 μM, respectively. Thereafter, the tubulin polymerization inhibitory activity of these three compounds in combination with colchicine, as positive control of tubulin inhibitor was investigated. The related IC₅₀ values were found to be 1,170.1 μM, 11,180.23 μM, 36,720.1, 73 μM, and 1.9 ± 0.1 μM for **M-1**-**ξ-a**, **M-1**-**ξ-b**, **M-1**-**ξ-d** and colchicine, respectively.

Conclusion: To sum up, the obtained results of the present study showed suitable correlation between cytotoxicity effect and tubulin polymerization inhibitory activity as well as the results of docking studies (in terms of binding energy and the ability to interact with Cys241 of tubulin binding site of tubulin).

Keywords: 3,4,5-trimethoxyphenyl, Schiff base, cytotoxicity, tubulin polymerization inhibitory activity



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی

پایان نامه خانم مریم اسفندیاری دانشجوی داروسازی ورودی ۹۱ به شماره: ۱۰۳۱

نحت عنوان:

"بررسی اثبات با آنتی‌بیوتیک و مهارکننده‌های پمپ پروسومین توپولین"

4-(2,3-dichlorophenyl)methylideneamino)-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)methyl-2,4-triazole-3-thione

بررسی اثرات با آنتی‌بیوتیک و مهارکننده‌های پمپ پروسومین توپولین

اساتید راهنما:

۱- دکتر عالیہ عامری
۲- دکتر حمید فروتن فر

هیئت محترم داوران به ترتیب حروف الفبا:

۱- دکتر میترا اجعفریان رشایی

۲- دکتر بهزاد بهنام

۳- دکتر عبدالرضا حسن کراده

۴- دکتر مجتبی شیبایی

۵- دکتر احسان فقیه میرزایی

در تاریخ ۹۷/۰۹/۱۳ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) ۱۹،۱۰
(با حروف) (م.م.م) به تصویب رسید.

دکتر معنوب یوزشخانی
رئیس اداره بنام نامه

دکتر محمودرضا حدادی
رئیس دانشکده

