

بِسْمِ اللّٰهِ  
الرَّحْمٰنِ  
الرَّحِیْمِ



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل  
دانشکده داروسازی

پایان نامه جهت دریافت درجه ی دکتری حرفه ای داروسازی

عنوان :

سنتز و ارزیابی بیولوژیک مشتقات جدید تری آزولی به عنوان مهارکننده های آنزیم اوره آز

اساتید راهنما:

دکتر ساقی سپهری

دکتر حمید باخرد

نگارنده :

صدف رضوان پور

مرداد ۱۴۰۰

تقدیم به

همراهان همیشگی و پشتوانه های زندگی، پدر، مادر و خواهر عزیزم

با سپاس فراوان از سرکارخانم دکتر ساقی سپهری که وجودشان همواره قوت قلبی برای تمامی مراحل کارهایم بوده و بدون شک انجام این پایان نامه بدون کمک و راهنمایی ارزنده ایشان امکان پذیر نبود. توفیقات روز افزون ایشان توأم با صحت و سعادت را از خداوند منان خواستارم.

از استاد بزرگوار جناب آقای دکتر حمید باخرد، به پاس زحمات بی شائبه شان در طی انجام این تحقیق سپاس گزاری می نمایم.

از اساتید گرامیم جناب آقای دکتر نیما رزاقی اصل و جناب آقای دکتر حسینعلی ابراهیمی، به دلیل یاری و همیاری بی دریغ شان در روز های سخت و مضطربم که شرایط را برایم آسان نمودند، سپاس گزارم. در انتها از تمامی عزیزانی که در تمامی مراحل سخت همراهم بودند، کمال تشکر را دارم.

## چکیده فارسی

### مقدمه

بیماری های عفونی، اختلالاتی هستند که به علت عوامل بیماری زا از قبیل باکتری ها، ویروس ها، قارچ ها یا انگل ها ایجاد می شوند. در سال های اخیر عفونت با یکسری از باکتری ها، به عنوان ریسک فاکتورهای سرطان شناخته شده اند. باکتری هلیکوباکترپیلوری یکی از باکتری هایی است که می تواند باعث بیماری های گوارشی شود. همچنین می تواند باعث سرطان معده و مالت لنفوما و یا افزایش خطر بروز این سرطان ها شود. داروهایی که برای درمان هلیکوباکترپیلوری استفاده می شوند دارای محدودیت هایی از قبیل طولانی بودن دوره درمان و مقاومت دارویی می باشند. بنابراین توسعه دارویی امری ضروری است. در این مطالعه با هدف قرار دادن آنزیم اوره آز هلیکوباکترپیلوری، مشتقات هیبریدی ۳،۲،۱-تری آزولی و ۴،۳،۲،۱-تتراهیدروپیریمیدینی طراحی و سنتز شدند. سپس اثر مهارکنندگی آنزیم اوره آز این ترکیبات هیبریدی مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش ها

در این مطالعه بعد از طراحی هفت مشتق هیبرید شده ی تری آزول و تتراهیدروپیریمیدین، مشتقات به وسیله واکنش کلیک و بیجینلی طی سه مرحله سنتز و خالص سازی شدند. سپس، شناسایی و تایید ساختاری آن ها با روش های طیف سنجی  $^1\text{H-NMR}$ ،  $\text{FT-IR}$ ،  $\text{Mass}$  انجام گردید. اثرات ضد آنزیم اوره آز این ترکیبات بوسیله روش برتلوت (فنول-هایپوکلریت) ارزیابی شد.

### نتایج

به طور کلی بیشترین اثر بخشی در بین مشتقات هیبریدی تری آزول و تتراهیدروپیریمیدین سنتز شده، به ترتیب در ترکیب بنزیل-۴-(۱-۲-کلروبنزیل)-۱- $\text{H}$ -۳،۲،۱-تری آزول-۴-ایل (متوکسی) فنیل-۶-متیل-۲-تیواکسی-۴،۳،۲،۱-بنزیل-۴-(۱-۲-کلروبنزیل)-۱- $\text{H}$ -۳،۲،۱-تری آزول-۴-ایل (متوکسی) فنیل-۶-متیل-۲-تیواکسی-۴،۳،۲،۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۸) ( $\text{IC}_{50} = 25/02 \pm 2/8069 \mu\text{M}$ ) و متیل-۴-(۱-۲-کلروبنزیل)-۱- $\text{H}$ -۳،۲،۱-تری آزول-۴-ایل (متوکسی) فنیل-۶-متیل-۲-تیواکسی-۴،۳،۲،۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۶) ( $\text{IC}_{50} = 28/09 \pm 4/5891 \mu\text{M}$ ) و کمترین اثر بخشی در ترکیب متیل-۴-(۱-۲-کلروبنزیل)-۱- $\text{H}$ -۳،۲،۱-تری آزول-۴-ایل (متوکسی) فنیل-۶-متیل-۲-اکسو-۴،۳،۲،۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۳) ( $\text{IC}_{50} = 129/64 \pm 4/6596 \mu\text{M}$ ) دیده شد.

## بحث و نتیجه گیری

بررسی رابطه ساختار-فعالیت نشان می دهد که حضور گروه تیواکسو در موقعیت C2 تتراهیدروپیریمیدین، به دلیل افزایش لیپوفیلیسیته و امکان تشکیل پیوند دی سولفیدی باعث افزایش اثر مهارکنندگی می شود. همچنین وجود استخلاف آروماتیک متصل به گروه استر در موقعیت C5 لیپوفیلیسیته را افزایش می دهد و باعث ایجاد برهمکنش انتقال بار با اسیدهای آمینه جایگاه فعال می گردد. وجود استخلاف الکترون کشنده ای چون متوکسی در موقعیت متای حلقه فنیل موقعیت C4 حلقه ی تتراهیدروپیریمیدین نیز باعث افزایش اثردهی می شود. همچنین با مقایسه ترکیبات هیبریدی سنتز شده در این پروژه و ترکیبات تری آزول و تتراهیدروپیریمیدین معرفی شده در مقالات، می توان نتیجه گرفت هیبرید شدن دو بخش تتراهیدروپیریمیدین و تری آزول بر روی فعالیت مهارتی اثر مثبت دارد.

**کلید واژه :** هلیکوباکتر پیلوری، ۳،۲،۱-تری آزول، ۴،۳،۲،۱-تتراهیدروپیریمیدین، واکنش کلیک، واکنش بیجینلی

## فهرست مطالب

۱	فصل اول : مقدمه .....
۲	۱-۱- بیماری های عفونی .....
۳	۱-۲- هلیکوباکتر پیلوری .....
۵	۳-۱- علایم .....
۵	۱-۴- پاتوفیزیولوژی .....
۵	۵-۱- روش انتقال .....
۶	۶-۱- تشخیص .....
۷	۱-۶-۱- آزمایش های غیر تهاجمی تشخیص باکتری هلیکوباکتر .....
۷	۱-۶-۲- آزمایش های تهاجمی تشخیص باکتری هلیکوباکتر .....
۸	۷-۱- اپیدمیولوژی هلیکوباکتر پیلوری .....
۸	۱-۷-۱- اپیدمیولوژی در جهان .....
۹	۱-۷-۲- اپیدمیولوژی در ایران .....
۱۰	۸-۱- درمان .....
۱۰	۱-۸-۱- درمان گاستریت و پپتیک اولسر ناشی از هلیکوباکتر .....
۱۲	۲-۸-۱- درمان سرطان دستگاه گوارش ناشی از هلیکوباکتر .....
۱۳	۹-۱- مقاومت دارویی .....
۱۳	۱-۹-۱- کلاریترومایسین .....
۱۴	۲-۹-۱- مترونیدازول .....

۱-۹-۳- لووفلوکساسین .....	۱۴
۱-۹-۴- آموکسی سیلین .....	۱۴
۱-۹-۵- تتراسایکلین .....	۱۴
۱-۱۰-۱- آنزیم اوره آز .....	۱۵
۱-۱۰-۱- اثرات بیولوژیکی آنزیم اوره آز .....	۱۸
۱-۱۰-۲- مکانیسم مهار آنزیم اوره آز .....	۱۹
۱-۱۰-۲-۱- مهارکننده های مشابه سوبستراها و یا اثرگذار مستقیم بر روی جایگاه فعال .....	۱۹
۱-۱۰-۲-۲- مهارکننده ها با اثر مستقیم بر روی مکانیسم آنزیم اوره آز .....	۱۹
۱-۱۱-۱- توسعه دارویی .....	۲۰
۱-۱۲-۱- واکنش کلیک .....	۲۱
۱-۱۲-۱- مشتقات ۳،۱،۲-تری آزولی .....	۲۲
۱-۱۲-۲- واکنش های چند جزئی .....	۲۳
۱-۱۲-۳- واکنش بیجینیلی .....	۲۴
۱-۱۳-۱- مطالعات انجام شده بر روی ترکیبات دارای اسکلت‌های تری آزولی و تتراهیدروپیریمیدینی به عنوان مهارکننده های آنزیم اوره آز .....	۲۴
۱-۱۳-۱- بررسی ترکیبات با اسکلت اصلی تری آزولی به عنوان مهارکننده های آنزیم اوره آز .....	۲۴
۱-۱۳-۲- بررسی ترکیبات با اسکلت اصلی تتراهیدروپیریمیدین به عنوان مهارکننده های آنزیم اوره آز .....	۳۰
فصل دوم: .....	۳۴
مواد، دستگاه ها و روش ها .....	۳۴





۶-۳-۲-۲- سننز ترکیب بنزیل-۴-۴-((۱-۲-کلروبنزیل)-H۱-۳,۲,۱-تری آزول-۴-ایل) متوکسی) فنیل)-۶-	
۴۵ ..... متیل-۲-تیواکسی-۴,۳,۲,۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۸)	
۴۶.....۴-۲-۲- روش سننز ترکیب ۳-متوکسی-۴-(پروپ-۲-این-۱-ایلوکسی) بنزآلدهید (۹)	
۴۷ .....۲-۲-۵- روش سننز ترکیب ۴-((۱-۲-کلروبنزیل)-H۱-۳,۲,۱-تری آزول-۴-ایل) متوکسی) متوکسی بنزآلدهید (۱۰)	
۴۸ .....۶-۲-۲- سننز ترکیب متیل-۴-۴-((۱-۲-کلروبنزیل)-H۱-۳,۲,۱-تری آزول-۴-ایل) متوکسی)-۳-متوکسی فنیل)-۶-متیل-۲-اکسو-۴,۳,۲,۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۱۱)	
۴۹ .....۲-۳- روش بررسی اثرات ضد آنزیم اوره آز ترکیبات سننز شده	
۵۰ .....۱-۳-۲- بررسی های آماری	
۵۲ ..... فصل سوم:	
۵۲ ..... نتایج و بحث	
۵۲ .....۱-۳- سننز ترکیبات	
۵۲ .....۱-۱-۳- سننز ترکیبات ۴-(پروپ-۲-این-۱-ایلوکسی) بنزآلدهید (۱) و ۳-متوکسی-۴-(پروپ-۲-این-۱-ایلوکسی) بنزآلدهید (۹)	
۵۴ .....۳-۱-۲- سننز ترکیبات ۴-((۱-۲-کلروبنزیل)-H ۱-۳,۲,۱-تری آزول-۴-ایل) متوکسی) بنزآلدهید (۲) و ۴-((۱-۲-کلروبنزیل)-H۱-۳,۲,۱-تری آزول-۴-ایل) متوکسی) بنزآلدهید (۱۰)	
۵۵ .....۳-۱-۲-۱- نقش کاتالیزور مس سولفات پنج آبه و سدیم آسکوربات	
۵۶ .....۳-۱-۳- سننز ترکیبات آلکیل-۴-۴-((۱-۲-کلروبنزیل)-H۱-۳,۲,۱-تری آزول-۴-ایل) متوکسی) فنیل)-۶-متیل-۲-اکسو/تیواکسو-۴,۳,۲,۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۳-۸ و ۱۱)	
۵۶ .....۳-۱-۳-۱- نقش کاتالیزور کبالت (II) هیدروژن سولفات	

۳-۲-۳- مکانسیم ترکیبات سنتز شده	۵۷
۳-۲-۱- مکانسیم سنتز ترکیبات ۴-(پروپ-۲-این-۱-یلوکسی) بنزآلدهید (۱) و ۳-متوکسی-۴-(پروپ-۲-این-۱-یلوکسی) بنزآلدهید (۲)	۵۷
۳-۲-۳- مکانسیم سنتز ترکیبات ۴-(۱-کلروبنزیل)-H ۱-۳,۲,۱-تری آزول-۴-یل(متوکسی) بنزآلدهید (۲) و ۴-(۱-۲-کلروبنزیل)-H ۱-۳,۲,۱-تری آزول-۴-یل (متوکسی) متوکسی بنزآلدهید (۱۰)	۵۸
۳-۲-۳- مکانسیم سنتز مشتقات آلکیل-۴-۴-(۱-۲-کلروبنزیل)-H ۱-۳,۲,۱-تری آزول-۴-یل(متوکسی) فنیل-	۶۰
۳-۳-۳- تعیین ساختار ترکیبات سنتز شده آلکیل-۴-۴-(۱-۲-کلروبنزیل)-H ۱-۳,۲,۱-تری آزول-۴-یل(متوکسی) فنیل-۶-متیل-۲-اکسو/تیواکسو-۴,۳,۲,۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۳-۸ و ۱۱)	۶۰
۳-۳-۱- بررسی طیف سنجی مادون قرمز (FT-IR) ترکیبات سنتز شده	۶۲
۳-۳-۲- بررسی طیف رزونانس مغناطیسی هسته ( <sup>1</sup> H-NMR) ترکیبات سنتز شده	۶۴
۳-۳-۳- بررسی طیف سنجی جرمی ترکیبات سنتز شده	۶۷
۴-۳- بررسی اثرات بیولوژیک ترکیبات سنتز شده	۷۰
۳-۴-۱- بررسی اثرات ضد آنزیم اوره آز ترکیبات سنتز شده	۷۰
۳-۴-۲- مقایسه و بررسی ساختار و اثرات بیولوژیک ترکیبات سنتز شده	۷۱
۳-۴-۳- مقایسه و بررسی ساختار ترکیبات هیبریدی سنتز شده با سایر ترکیبات تری آزولی و تتراهیدروپیریمیدینی موجود در مطالعات پیشین به عنوان مهارکننده های آنزیم اوره آز	۷۷
۳-۴-۴- آنالیز آماری	۷۸
فصل چهارم: نتیجه گیری و پیشنهادات	۸۰

۸۱ ..... ۴-۱- نتیجه گیری

۸۳ ..... ۴-۲- پیشنهادات

۸۵ ..... منابع و مأخذ

۹۶..... پیوست ها

## فهرست جدول ها

جدول ۱-۱- سوبستراهای شناخته شده آنزیم اوره ..... ۱۸

جدول ۱-۲- لیست مواد و تجهیزات مورد استفاده در بخش سنتز ..... ۳۵

جدول ۲-۲- لیست دستگاه های مورد استفاده ..... ۳۶

جدول ۳-۲- لیست مواد و تجهیزات مورد استفاده در بخش ارزیابی زیستی ..... ۳۷

جدول ۱-۳- نتایج ارزیابی فعالیت مهارکنندگی آنزیم اوره از ترکیبات سنتز شده ..... ۷۰

## فهرست عکس ها و نمودار ها

شکل ۱-۱- ساختار شیمیایی ترکیبات موثر بر درمان بیماری ناشی از هلیکوباکتر پیلوری..... ۱۱

شکل ۲-۱- ساختار شیمیایی موثر در درمان مالت لنفوما - هلیکوباکتر پیلوری مثبت..... ۱۳

شکل ۳-۱- معادلات تجزیه اوره (معادله شماره ۱ بدون کاتالیزور و معادله شماره ۲ به همراه کاتالیزور)..... ۱۷

شکل ۴-۱- ساختار شیمیایی هیدروکسی اوره (b) و اوره (a) به عنوان سوبسترای آنزیم اوره آز..... ۱۷

شکل ۵-۱- ساختار شیمیایی فسفورامیدیت..... ۲۰

شکل ۶-۱- واکنش کلیک نوع افزایش حلقه آزید-آلکین بوسیله ی کاتالیزور مس (CuAAC)..... ۲۲

شکل ۷-۱- واکنش بیجینلی..... ۲۴

شکل ۸-۱- ترکیبات با ساختار ۴،۲،۱-تری آزولی..... ۲۵

شکل ۹-۱- ترکیبات تری آزولی با مهارکنندگی آنزیم اوره آز..... ۲۶

شکل ۱۰-۱- ترکیبات ۴،۲،۱-تری آزولی با خاصیت ضد اوره ازی..... ۲۷

شکل ۱۱-۱- ساختار مشتق ۴-آمینو-۵-آریل-۳-H-۴،۲،۱-تری آزولی-۳-تیون با بالاترین قدرت مهارکنندگی آنزیم اوره آز..... ۲۸

شکل ۱-۱۲- ترکیبات تری آزولی با مهارکنندگی بالای آنزیم اوره آز  
.....۲۹

شکل ۱-۱۳- ترکیبات ۳،۲،۱-تری آزولی با قدرت مهارکنندگی بالای آنزیم اوره آز.....۳۰

شکل ۱-۱۴- مشتقات ۳،۲،۱-تری آزول-باربیتورات با قدرت مهارکنندگی بالای آنزیم اوره آز.....۳۱

شکل ۱-۱۵- ترکیبات تتراهیدروپیریمیدینی با بالاترین خاصیت ضد اوره آز  
.....۳۲

شکل ۱-۱۶- ترکیبات دی هیدروپیریمیدینی بررسی شده از لحاظ مهارکنندگی آنزیم آنزیم اوره آز  
.....۳۳

شکل ۱-۳- واکنش سنتز ترکیب ۴-(پروپ-۲-این-۱-یلوکسی) بنزآلدهید (۱) و ۳-متوکسی-۴-(پروپ-۲-این-۱-یلوکسی) بنزآلدهید (۹)  
.....۵۳

شکل ۲-۳- واکنش سنتز ترکیبات ۴-(۱-۲-کلروبنزیل)-۱-۳،۲،۱H-تری آزول-۴-ایل (متوکسی) بنزآلدهید (۲) و ۴-(۱-۲-کلروبنزیل)-۱-۳،۲،۱H-تری آزول-۴-ایل (متوکسی) بنزآلدهید (۱۰)  
.....۵۴

شکل ۳-۳- واکنش سنتز کلی ترکیبات آلکیل-۴-۴-(۱-۲-کلروبنزیل)-۱-۳،۲،۱H-تری آزول-۴-ایل (متوکسی) فنیل-۶-متیل-۲-اکسو/تیواکسو-۴،۳،۲،۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۳-۸ و ۱۱)  
.....۵۶

شکل ۴-۳- مکانیسم سنتز ترکیبات ۴-(پروپ-۲-این-۱-یلوکسی) بنزآلدهید (۱) و ۳-متوکسی-۴-(پروپ-۲-این-۱-یلوکسی) بنزآلدهید (۹)  
.....۵۷

شکل ۵-۳- مکانیسم سنتز ترکیب ۱-آزیدومتیل-۲-کلروبنزن.....۵۸

شکل ۳-۶- مکانسیم سنتز ترکیب ۴-((۱-۲-کلروبنزیل)-۱-۳،۲،۱H-تری آزول ۴-ایل)متوکسی)بنزآلدهید (۲) و ۴-  
((۱-۲-کلروبنزیل)-۱-۳،۲،۱H-تری آزول ۴-ایل)متوکسی)متوکسی بنزآلدهید (۱۰).....۵۹

شکل ۳-۷- مکانسیم سنتز مشتقات آلکیل-۴-((۱-۲-کلروبنزیل)-۱-۳،۲،۱H-تری آزول ۴-ایل)متوکسی)فنیل)-  
۶-متیل-۲-اکسو/تیواکسو-۴،۳،۲،۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۳-۸) و  
.....(۱۱)۶۱

شکل ۳-۸- طیف مادون قرمز ترکیب اتیل-۴-((۱-۲-کلروبنزیل)-۱-۳،۲،۱H-تری آزول ۴-ایل)متوکسی)فنیل)-  
۶-متیل-۲-اکسو-۴،۳،۲،۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۴).....۶۴

شکل ۳-۹- طیف رزونانس هسته ای ترکیب اتیل-۴-((۱-۲-کلروبنزیل)-۱-۳،۲،۱H-تری آزول ۴-  
ایل)متوکسی)فنیل)-۶-متیل-۲-اکسو-۴،۳،۲،۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۴).....۶۶

شکل ۳-۱۰- طیف جرم سنجی ترکیب اتیل-۴-((۱-۲-کلروبنزیل)-۱-۳،۲،۱H-تری آزول ۴-  
ایل)متوکسی)فنیل)-۶-متیل-۲-اکسو-۴،۳،۲،۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات  
.....(۴)۶۸

شکل ۳-۱۱- یون های حاصل از شکستن ترکیب اتیل-۴-((۱-۲-کلروبنزیل)-۱-۳،۲،۱H-تری آزول ۴-  
ایل)متوکسی)فنیل)-۶-متیل-۲-اکسو-۴،۳،۲،۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۴) در طیف سنجی  
جرمی.....۶۹

شکل ۳-۱۲- ساختار شیمیایی ترکیبات ۳ و  
.....۷۲

شکل ۳-۱۳- ساختار شیمیایی ترکیبات ۳، ۶ و ۱۱  
.....۷۳



شکل ۳-۱۴ - ساختار شیمیایی ترکیبات ۳ و

۴.....۷۳

شکل ۳-۱۵ - ساختار شیمیایی ترکیبات ۶ و ۸.....۷۴

شکل ۳-۱۶ - ساختار شیمیایی ترکیبات ۳ و ۸.....۷۵

شکل ۳-۱۷ - ساختار شیمیایی ترکیب ۷ و ۸.....۷۶

شکل ۳-۱۸ - بررسی رابطه ساختار-فعالیت ترکیب ایده آل و موثر بر علیه آنزیم اوره آز.....۷۶

MALT: Mucosa-Associated Lymphoid Tissue

MCR: Multicomponent reactions

PBS: Phosphate buffer solution

FT-IR: Fourier transform - infrared spectroscopy

<sup>1</sup>H-NMR: <sup>1</sup>H – Nuclear Magnetic Resonance

DMSO: dimethyl sulfoxide

PBP: Penicillin binding protein

SPAAC: Strain-promoted Azide-alkyneCycloaddition

RuAAC: Ruthenium-catalyzed azide-alkyne cycloaddition

SAR: Structure-activity relationship

IC<sub>50</sub>: Inhibitory concentration

BSA: Bovine serum albumin

THPM: Tetrahydropyrimidine

NS: Not Soluble