



Semnan University of Medical Sciences

KOOMESH

Journal of Semnan University of Medical Sciences

Volume 20, Issue 4 (Autumn 2018), 603-807

ISSN: 1608-7046

Full text of all articles indexed in:

Scopus, Index Copernicus, SID, CABI (UK), EMRO, Iranmedex, Magiran, ISC, Embase

بررسی اثرات مشتقات جدید هیدرازونی سنتز شده روی سلول‌های سرطانی پستان، کولون و کبد

مهرآسا شادمانی^۱ (M.Sc)، نسرين نصیری کویایی^۲ (Pharm.D)، نسرين شیرزاد یزدی^۳ (Pharm.D)، هما عزیزیان^۴ (Ph.D)، سیده زهرا موسوی^۱ (Ph.D)، مونا سلیمی^۴ (Ph.D)، علی الماسی راد^{۲*} (Ph.D)

۱- گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی، تهران، ایران

۲- گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی، تهران، ایران

۳- گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی پردیس بین‌الملل، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۴- گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، انستیتو پاستور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۱۷

almasirad.a@iaups.ac.ir

نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱ ۲۲۶۴۰۰۵۱

چکیده

هدف: با وجود پیشرفت‌های حاصل در تحقیقات انجام شده روی بیماری سرطان هنوز راه‌کارهای کارآمد در درمان این بیماری ارائه نشده است. ترکیبات زیادی از دستجات مختلف شیمیایی جهت درمان بیماری‌های گوناگون طراحی و سنتز می‌گردند که هیدرازون‌ها از آن جمله هستند و اثرات ضد سرطان از آن‌ها گزارش شده است. بنابراین در مطالعه حاضر سری جدیدی از مشتقات هیدرازون به‌عنوان ترکیبات جدید ضد سرطان طراحی و سنتز شدند و اثرات ایجادکننده سمیت سلولی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: مشتقات هیدرازون طراحی شده (۱-۹) طی سه مرحله سنتز گردیده و ساختار آن‌ها به‌وسیله روش‌های مختلف آنالیز دستگاهی تایید شد. سپس سمیت سلولی ترکیبات سنتز شده در غلظت ۱۰ میکرومولار در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت بر روی سه رده سلولی سرطان پستان، کبد و کولون بر اساس روش MTT مورد ارزیابی قرار گرفتند. یافته‌ها: درصد سمیت سلولی به‌دست آمده نشان داد که بعضی از ترکیبات روی هر سه رده سلولی به نحو موثری عمل نموده و در زمان ۷۲ ساعت بیش‌ترین اثر سمیت سلولی مشاهده شد. ترکیبات ۳ و ۶ فعالیت قابل ملاحظه‌ای روی رشد سلول‌های سرطانی پستان، کبد و کولون بعد از ۷۲ ساعت نشان دادند و محدوده مهار آن‌ها بین ۶۰ تا ۸۰ درصد بود. نتیجه‌گیری: از نتایج به‌دست آمده در این بخش به‌عنوان نقطه آغازین توسعه عوامل جدید شیمی‌درمانی سرطان می‌توان استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: سمیت سلولی، شیمی درمانی، هیدرازون‌ها، رده سلولی سرطانی، سرطان‌ها

مقدمه

عدم استعمال دخانیات در کاهش موارد ابتلا به سرطان موثر هستند. در عین حال که تشخیص زودهنگام این بیماری می‌تواند در موفقیت درمان، کاهش هزینه‌های درمانی و کاهش میزان مرگ و میر ناشی از سرطان تاثیر به‌سزایی داشته باشد [۱-۷].

روش‌های مختلف درمان سرطان عبارتند از جراحی، شیمی‌درمانی، استفاده از رادیو داروها و پرتودرمانی که این درمان‌ها همیشه موثر نبوده و عوارض جانبی زیادی نیز ایجاد می‌نمایند. لذا جستجو برای درمان‌های جایگزین و ترکیباتی که موثرتر بوده و عوارض کم‌تری داشته باشند، همیشه در اولویت بوده است [۴]. در این میان ترکیبات هیدرازونی به

در دنیای امروز، میلیون‌ها نفر یا مبتلا به سرطان هستند و یا قبلاً مبتلا بوده‌اند و بیش‌بینی می‌گردد تا سال ۲۰۳۰ این بیماری سبب بروز ۱۳ میلیون مرگ در سراسر دنیا شود. در ایران بیش از ۴۰۰۰۰ نفر فقط به بیماری سرطان پستان مبتلا هستند و سالیانه ۷۰۰۰ هزار مورد ابتلای جدید گزارش می‌گردد. از آن جایی که بروز بیش‌تر سرطان‌ها با بالا رفتن سن افزایش می‌یابد، لذا میزان شیوع آن با احتساب پراکندگی سنی جمعیت تحت مطالعه در نظر گرفته می‌شود. محققان بر این باورند که بیش‌تر سرطان‌ها قابل پیشگیری بوده و ایجاد تغییرات در شیوه زندگی مثل استفاده از رژیم غذایی مناسب و

طیف‌های NMR به‌وسیله دستگاه Bruker FT-500 و طیف‌های جرمی نیز توسط [5973 Network Mass Selective Detector at 70 eV (Agilent Technology)] گرفته شد.

روش سنتز ترکیبات: ترکیبات نهایی با شروع از ۴- آمینوبنزوئیک اسید اتیل استروواکنش آن با هیدرازین هیدرات طی ۳ مرحله سنتز شدند [۱۱، ۱۲]. ترکیب حاصل از این مرحله با آلد‌های آروماتیک مختلف ۳- نیترو بنز آلد‌هاید، ۳- کلرو بنز آلد‌هاید، ۴- کلرو بنز آلد‌هاید و ۴- پیریدین کربال‌هاید واکنش داده شد و هیدرازون‌های حد واسط تهیه گردیدند. مشتقات نهایی به شرح ذیل از واکنش هیدرازون‌ها با مشتقات ایزوسیانات سنتز شدند:

به محلولی از ۰/۷ میلی‌مول از هیدرازون حد واسط در حلال دی متیل فرماید، ۵ میلی‌مول از مشتق ایزوسیانات یا ایزوتیوسیانات مربوطه (فنیل، ۴- کلروفنیل، ۴- متیل فنیل ایزوسیانات و فنیل ایزوتیوسیانات) افزوده و محلول حاصل به مدت یک ساعت رفلکس شد. اتمام واکنش به وسیله کروماتوگرافی لایه نازک چک گردید و به آن آب اضافه و محصول به وسیله اتیل استات استخراج و با آب شسته شده و توسط ۲- پروپانول کریستال گردید. در نهایت ساختار ترکیبات به روش طیف سنجی FT-IR؛ ¹HNMR و MASS تایید گردیدند. راندمان ۹ ترکیب سنتز شده بین ۱۱ تا ۷۸ درصد بوده و نام، وزن مولکولی و نقطه ذوب آن‌ها به شرح ذیل می‌باشد:

۱) ۱- (۳- نیترو بنز یلیدین آمینو کارباموئیل) - ۳- فنیل اوره: وزن مولکولی: ۴۰۳، نقطه ذوب ۲۵۸-۲۵۹ درجه سانتی‌گراد.

۲) ۱- (۳- نیترو بنز یلیدین آمینو کارباموئیل) فنیل - ۳- (۴- متیل فنیل) اوره: وزن مولکولی: ۴۸۱، نقطه ذوب ۲۴۵-۲۴۷ درجه سانتی‌گراد.

۳) ۱- (۳- نیترو بنز یلیدین آمینو کارباموئیل) فنیل - ۳- (۴- کلروفنیل) اوره: وزن مولکولی: ۴۳۷/۵، نقطه ذوب ۲۴۷-۲۴۹ درجه سانتی‌گراد.

۴) ۱- (۳- کلرو بنز یلیدین آمینو کارباموئیل) فنیل - ۳- فنیل تیواوره: وزن مولکول ۴۰۸/۵، نقطه ذوب ۲۶۶-۲۶۷ درجه سانتی‌گراد.

۵) ۱- (۳- کلرو بنز یلیدین آمینو کارباموئیل) فنیل - ۳- فنیل اوره: وزن مولکولی ۹۲/۵، نقطه ذوب ۲۵۱-۲۵۲ درجه سانتی‌گراد.

۶) ۱- (۳- کلرو بنز یلیدین آمینو کارباموئیل) فنیل - ۳- (۴- کلروفنیل) اوره: وزن مولکولی: ۴۲۷، نقطه ذوب ۲۵۵-۲۵۷ درجه سانتی‌گراد.

دلیل در اختیار داشتن گروه (-NHN=C) به عنوان ترکیباتی پیشرو در تحقیقات داروسازی به شمار می‌آیند. آن‌ها دارای فعالیت‌های فارماکولوژیک مختلف مانند اثرات ضد تشنج، ضد التهاب، ضد مالاریا، ضد مایکوباکتریوم، ضد باکتری، ضد سل، ضد تجمع پلاکت و ضد قارچ می‌باشند [۸]. از معروف‌ترین داروهایی که دارای ساختمان هیدرازونی هستند می‌توان به داروی ایزونیاژید اشاره نمود که دارای فعالیت ضد باکتری وسیعی بوده و به طور گسترده در درمان سل به کار می‌رود [۹]. یکی از اثرات درمانی مهم مشتقات اشاره شده خاصیت ضد سرطان می‌باشد و چندین مکانیسم جهت فعالیت ضد سرطانی آن‌ها گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به شلاته نمودن یون‌های فلزی به خصوص آهن که برای عملکرد رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی لازم است نام برد. از دیگر مکانیسم‌های محتمل می‌توان به درج شدن داخل ساختار DNA و مهار آنزیم‌هایی چون ریبونوکلوئوتاید ردوکتاز، هیستون داستیلازوآسیل ترانسفراز که مسئول بیوسنتز DNA و RNA و دیگر روندهای بیولوژیک هستند نام برد. ورود به مسیرهای تولید گونه‌های فعال اکسیژن و بدین ترتیب ایجاد سمیت سلولی از دیگر مکانیسم‌های قابل ذکر فعالیت ضد سرطان هیدرازون‌ها می‌باشد. [۱۰] از آن‌جا که تاکنون اثرات ضد سرطانی متعددی از مشتقات هیدرازونی گزارش شده است و همچنین با توجه به شایع بودن سه نوع سرطان سینه، کولون و کبد، در این مقاله به بررسی اثرات ضد تکثیری مشتقات جدید دارای ساختار هیدرازون طراحی و سنتز شده بر روی این سه رده سلولی پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

سلول و مواد شیمیایی استفاده شده. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده جهت سنتز مشتقات از شرکت مرک آلمان تهیه گردید. رده‌های سلولی مورد استفاده MDA-MB-231؛ HepG2 و HT-29 می‌باشند که از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شد. سلول‌ها در مدت کشت سلولی در انکوباتور با شرایط ۵ درصد کربن دی‌اکسید، رطوبت ۹۵ درصد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. محیط کشت DMEM و سرم جنین گاوی (FBS) از شرکت Gibco-BRL آمریکا تهیه شد. آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین و پنی‌سیلین از Gibco-BRL آمریکا تهیه شدند.

نمک تترازولیوم-2,5-(4-dimethylthiazol-2-yl)-3) MTT (diphenyltetrazolium bromide) از شرکت Sigma_Aldrich آمریکا خریداری گردید. طیف‌های مادون قرمز توسط دستگاه Shimadzu FT-IR 8400S تهیه شد،

نتایج

ساختار ترکیبات (۱-۹) سنتز شده توسط طیف‌های مادون قرمز، رزونانس مغناطیسی هسته پروتون با فرکانس ۵۰۰ مگاهرتز و طیف سنجی جرمی تأیید شدند، سپس سمیت سلولی این ترکیبات بر روی سه رده سلولی پستان، کبد و کولون در غلظت ۱۰ میکرومولار و در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت بررسی گردید. همان‌گونه که نتایج این غربالگری نشان می‌دهد (جدول ۱ و ۲)، حساسیت سلول‌های مختلف نسبت به ترکیبات متفاوت است و در عین حال سمیت سلولی نیز روند وابسته به زمان دارد به عنوان مثال حساسیت سلول‌های پستان و کبد به سمیت سلولی ایجاد شده توسط ترکیب (۱) بیش‌تر از سایر سلول‌ها بوده است. در این میان ترکیب (۳ و ۶) بیش‌ترین اثر سمیت سلولی را در رده سلولی کولون در زمان ۴۸ ساعت داشته است که معادل (۴۹ درصد و ۵۳ درصد) می‌باشد. از طرفی پس از گذشت ۷۲ ساعت درصد سمیت سلولی این دو ترکیب در این رده سلولی به (۶۲ درصد و ۶۴ درصد) افزایش یافته است. با توجه به توضیحات قبلی زمان پارامتر موثر در جذب سلولی این ترکیبات بوده و سمیت سلولی وابسته به زمان می‌باشد (شکل ۱). به همین ترتیب مطابق جداول هر یک از ترکیبات الگوی متفاوتی از عملکرد روی این سه رده سلولی نشان می‌دهند. در واقع دو ترکیب ۱ و ۵ نیز کمابیش روی هر سه رده سلولی سمیت مناسبی نشان دادند ولی اثرات آن‌ها اغلب نسبت به ترکیب ۳ و ۶ ضعیف‌تر بود و مابقی ترکیبات اثرات خوبی نشان ندادند. ترکیب ۱ و ۳ بعد از ۴۸ ساعت روی سرطان پستان نسبت به ۶ اثر بهتری نشان دادند و ترکیب ۱ و ۶ روی سرطان کبد از ۳ قوی‌تر عمل نمودند اما بعد از ۷۲ ساعت ترکیبات ۳ و ۶ روی هر سه رده سلولی سمیت بالاتری نشان دادند.

جدول ۱. بررسی اثرات سمیت سلولی ترکیبات (۱-۹) به روش MTT در غلظت ۱۰ میکرومولار و زمان ۴۸ ساعت بروی رده سلولی سرطان‌های پستان، کبد و کولون

ترکیبات	درصد سمیت سلولی		
	سرطان کولون	سرطان کبد	سرطان پستان
۱	۲۵/۷۴±۵/۴۶	۴۶/۹۴±۱/۴۷	۴۶/۷۸±۳/۴۱
۲	۲۱/۹۰±۱/۹۱	۲۸/۳۳±۱/۱۷	-
۳	۴۹/۶۱±۹/۱۷	۳۸/۵۴±۲/۴۶	۵۱/۰۸±۱/۹۴
۴	۲۸/۳۳±۱/۸۴	۱۹/۹۳±۱/۹۷	-
۵	۴۳/۶۱±۳/۰۹	۳۶/۳۳±۱/۰۶	۴۵/۵۳±۶/۹۷
۶	۵۳/۱۹±۲/۱۶	۶۵/۳۹±۳/۰۸	۳۱/۵۹±۲/۵۸
۷	۱۴/۶۷±۹/۴۴	۲۱/۰۰±۳/۵۴	-
۸	۲۹/۴۳±۲/۱۴	۲۴/۵۷±۲/۴۳	-
۹	۱۲/۴۶±۲/۷۲	۱۷/۷۵±۱/۸۰	-

۱. درصد سمیت سلولی طبق فرمول ذکر شده در بخش مواد و روش‌ها محاسبه شده است. تمامی داده‌ها حاصل از حداقل ۳ بار تکراری باشد و بیانگر میانگین ± خطای استاندارد است.

(۷) ۱- (۴-۴) - کلروبنزیلیدین آمینوکارباموئیل) فنیل-۳- (۴-کلروفنیل) اوره: وزن مولکولی ۴۲۷، نقطه ذوب ۲۶۶-۲۶۸ درجه سانتی‌گراد.

(۸) ۱- (۴-۳) - کلروبنزیلیدین آمینوکارباموئیل) فنیل-۳- تاسیل اوره: وزن مولکولی ۴۷۰، نقطه ذوب ۲۴۳-۲۴۴ درجه سانتی‌گراد.

(۹) ۱- (۴-پیریدین-۴-ایل) متیلن آمینوکارباموئیل) فنیل-۳- تاسیل اوره: وزن مولکولی: ۴۳۷، نقطه ذوب ۲۴۸-۲۴۹ درجه سانتی‌گراد.

آزمون سمیت سلولی: برای بررسی اثرات سمیت سلولی از

آزمون MTT

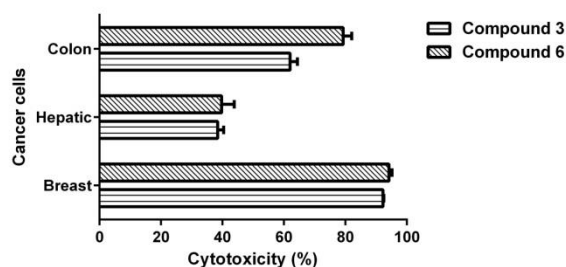
[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] استفاده شد. این آزمون که نوعی آزمون رنگ‌سنجی محسوب می‌شود، بر پایه شکسته شدن نمک تترازولیوم زرد رنگ MTT به کریستال‌های فورمازان بنفش رنگ توسط سلول‌هایی می‌باشد که از نظر متابولیکی فعال هستند. این احیاء سلولی نیز می‌تواند با دخالت کوفاکتور نوکلئوتید پیریدین NADH و NADPH و دهیدروژنازهای میتوکندریایی صورت گیرد. کریستال‌های فورمازانی بنفش رنگ تشکیل شده، در حلال DMSO محلول بوده و جذب محلول رنگی حاصل با استفاده از اسپکتروفتومترهای چند چاهکی اندازه گرفته می‌شود. به منظور انجام این آزمون ابتدا تعداد $10^3 \times 1-3$ از سلول‌های سرطانی پستان، $10^3 \times 5-9$ از سلول‌های سرطانی کبد و $10^3 \times 4-5$ از سلول‌های سرطانی کولون در هر چاهک درپلیت ۹۶ چاهکی قرار داده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، سلول‌ها برای زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت و غلظت ۱۰ میکرومولار از ترکیبات، مورد تیمار قرار گرفتند. سپس میزان ۲۰ میکرولیتر از نمک MTT به درون هر چاهک اضافه و به مدت ۴ ساعت فرصت داده شد تا واکنش تبدیل MTT به فورمازان انجام گیرد. پس از طی ۴ ساعت ۲۰۰ میکرولیتر از DMSO جهت حل کردن کریستال‌های فورمازان تولید شده، استفاده گردید. سپس جذب نوری هر یک از چاهک‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر چند چاهکی در طول موج ۵۴۵ نانومتر در مقابل ۶۳۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد سمیت سلولی طبق فرمول زیر محاسبه گردید $100 \times ((\text{جذب کنترل} / \text{جذب نمونه}) - 1) = \text{سمیت سلولی}$ آنالیز آماری: نتایج آنالیز آماری کمک نرم‌افزار Graph Pad حاصل شد و به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بعد از حداقل ۴ مرتبه تکرار گزارش گردیده است.

مهارى این ترکیبات در برابر سلول‌های سرطانی نه تنها به فرم چربی دوستی ترکیب مرتبط بوده بلکه به ظرفیت برداشت یون‌های آهن توسط ترکیب نیز وابسته است. این ترکیبات به علت چربی دوستی به راحتی وارد سلول شده و با برداشت یون آهن می‌توانند مانع از رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی شوند [۱۴]. از طرف دیگر ترکیبات هیدرازونی با ساختار کومارین هیدرازید هیدرازون در سال ۲۰۱۴ توسط Nasr و همکاران سنتز شده که این ترکیبات اثر ضد سرطانی بیشتری نسبت به داروی دوکسوروبیسین در سلول‌ها از خود نشان داده‌اند. این ترکیبات بر روی سلول سرطانی پانکراس، کبد و سرطان خون مورد آزمون قرار گرفتند و نتایج نشان داده که یکی از این ترکیبات با IC_{50} معادل $3/60$ تا $6/50$ میکرومولار، باعث توقف چرخه سلولی در فاز G2/M شده است [۱۵]. در مطالعه‌ای دیگر ترکیباتی با ساختار تریازین هیدرازون سنتز و سپس اثرات ضد تکثیری این ترکیبات بر روی سلول‌های سرطانی کبد و سرطان گردن رحم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که از میان این ترکیبات، مشتقات هیدرازونی با گروه عاملی نیترو و متیل اثرات ضد تکثیری مطلوبی با IC_{50} معادل $52/34$ تا $58/91$ میکرومولار بر روی سلول‌های سرطانی کبد نشان داده‌اند. همچنین این ترکیبات سنتزی جدید با گروه عاملی کلر و آمینی اثرات مهارى خوبی با IC_{50} معادل $23/35$ تا $36/28$ میکرومولار در سرطان گردن رحم داشته‌اند [۱۶]. در مطالعه دیگری ترکیبات جدید مورفولین هیدرازون سنتز شدند و نتایج نشان داد با IC_{50} کم‌تر از 10 میکرومولار روی سلول‌های سرطان پستان و کبد موثر بودند [۱۷]. در تحقیقی دیگر مشتقات ایزو نیکوتینوهیدرازون سنتز و اثرات آن‌ها روی سلول‌های سرطان معده نشان داد که با غلظت بین 10 تا 45 میکرومولار موثر هستند [۱۸]. ارزیابی مشتقات آمینوپیریمیدین هیدرازون روی سلول‌های سرطان ریه حاکی از آن بود که این ترکیبات با IC_{50} بین $0/2$ تا 52 میکرومولار تاثیر داشتند [۱۹]. در مطالعه دیگری مشتقات ۲-استیل پیرازین ایزونیکوتینوئیل هیدرازون سنتز گردیدند و مطابق نتایج حاصل آن‌ها روی سه رده سلولی سرطان پانکراس، مری و معده با IC_{50} بین 5 تا 11 میکرومولار فعالیت نشان دادند. نتایج حاصل مطالعه حاضر نیز در راستای مطالعات قبلی بوده و نشان می‌دهد مشتقات هیدرازیدی سنتز شده (۱-۹) در این تحقیق نیز در غلظتی که در محدوده IC_{50} گزارش شده در مقالات است فعالیت سمیت سلولی قابل توجهی بر روی سه رده سلولی کبد، کولون و پستان دارند. در صورت زیادتر بودن تعداد ترکیبات سنتز شده امکان مطالعه

جدول ۲. بررسی اثرات سمیت سلولی ترکیبات (۱-۹) به روش MTT در غلظت 10 میکرومولار و زمان 72 ساعت بر روی رده سلولی سرطان‌های پستان، کبد و کولون

ترکیبات	درصد سمیت سلولی ^۱		
	سرطان پستان	سرطان کبد	سرطان کولون
۱	$51/95 \pm 4/95$	$49/28 \pm 3/95$	$33/57 \pm 5/57$
۲	$26/54 \pm 6/65$	$29/73 \pm 1/99$	$42/69 \pm 0/68$
۳	$75/50 \pm 1/03$	$60/69 \pm 0/87$	$62/02 \pm 2/38$
۴	$17/92 \pm 0/57$	$28/32 \pm 3/78$	$28/75 \pm 3/65$
۵	$59/86 \pm 8/89$	$37/37 \pm 3/46$	$45/86 \pm 13/41$
۶	$65/67 \pm 3/01$	$67/06 \pm 2/53$	$64/37 \pm 15/08$
۷	$42/02 \pm 1/69$	$33/22 \pm 2/53$	$36/08 \pm 4/62$
۸	$25/74 \pm 2/29$	$38/60 \pm 1/11$	$26/05 \pm 3/39$
۹	$35/87 \pm 5/92$	$26/86 \pm 3/11$	$13/68 \pm 5/74$

۱. درصد سمیت سلولی طبق فرمول ذکر شده در بخش مواد و روش‌ها محاسبه شده است. تمامی داده‌ها حاصل از حداقل ۳ بار تکرار می‌باشد و بیانگر میانگین \pm خطای استاندارد است.



شکل ۱. مقایسه اثر سمیت سلولی دو ترکیب ۳ [۱-۴-۳] نیتروبنزلییدین آمینوکارباموئیل(فنیل)-۳-(۴-کلروفنیل) اوره] و ۶ [۱-۴-۳] کلرو بنزلییدین آمینوکارباموئیل(فنیل)-۳-(۴-کلروفنیل) اوره] در سه رده سلولی سرطانی سینه، کبد و کولون در زمان 72 ساعت و تمامی داده‌ها حاصل از حداقل ۳ بار تکرار می‌باشد و بیانگر میانگین \pm خطای استاندارد است.

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه با توجه به عوارض جانبی داروهای رایج شیمی‌درمانی و مقاومت تدریجی آن‌ها تحقیق برای دستیابی به داروهای جدید که حتی الامکان عوارض داروهای متداول را نداشته باشند ادامه دارد و در این میان ترکیبات شیمیایی سنتز شده با ساختار هیدرازونی مورد توجه قرار گرفته‌اند. بر اساس مطالعات صورت گرفته تا کنون مشخص شده است که این نوع ترکیبات دارای اثرات ضد سرطانی بر روی رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی می‌باشد [۱۳، ۸]. در این رابطه می‌توان به مطالعه‌ای که در سال 2008 توسط Xia و همکاران انجام شده اشاره نمود که در آن ترکیباتی با ساختار ۱-آریل متیل-۳-آریل پیرازول-۵-کربوهیدرازید سنتز و اثرات آن‌ها بر روی رده سلولی سرطان ریه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده حاکی از اثرات مهارى آن‌ها در رشد و تکثیر این رده سلولی سرطانی بود، در این تحقیق پیشنهاد شد که قدرت

ایجاد شده موثر می‌باشد و مطالعه حاضر نشانگر آن است که با توجه به بررسی انجام شده طراحی ترکیبات سنتز شده نسبتاً موفقیت‌آمیز بوده است. این در حالی است که مشاهده شد هر سه رده سلولی به‌طور نسبی به این ترکیبات حساس بوده و کمابیش آثار سمیت سلولی را نشان دادند. طبق این نتایج می‌توان دو مشتق ۳ و ۶ را به عنوان ترکیب رهبر جهت طراحی و سنتز ترکیبات جدیدتر از این خانواده انتخاب نمود. در نتیجه‌گیری کلی باید گفت که با توجه به آن‌که در طراحی ترکیبات حاضر از اصل هیبریداسیون مولکولی استفاده شده و در این ترکیبات علاوه بر ساختار هیدرازون، فارماکوفور شبه اوره‌ای موجود در داروهایی مثل سورا فنیب نیز دیده می‌شود به نظر محتمل می‌رسد که ترکیبات سنتز شده بتوانند با دو مکانیسم هم‌زمان و با کارایی مناسبی بر ضد سلول‌های سرطانی عمل نمایند. پیشنهاد می‌گردد که جهت مطالعات بعدی مشتقات جدیدی سنتز شوند که استخلاف‌های روی هر دو حلقه فنیل مربوط به بخش‌های هیدرازون و شبه‌اوره‌ای روی نواحی غیر از ۳ و ۴ حلقه متصل باشند. در ضمن استفاده از استخلاف‌های متنوع‌تر مثل جایگزینی کلر با فلئور، برم و ید در مشتقات جدیدتر مناسب به نظر می‌رسد. در نهایت جایگزینی بیوایزواستری حلقه‌های فنیل با هتروسیکل‌هایی مثل تیوفن علاوه بر موارد بالا در تکمیل مطالعات ارتباط ساختمان و اثر و دستیابی به ترکیبات بهتر می‌تواند کمک‌کننده باشد. لازم به ذکر است که برای روشن شدن مکانیسم احتمالی اثر ترکیبات و چگونگی تاثیرگذاری روی چرخه تکثیر سلولی مطالعات تکمیلی در جریان است که در آینده گزارش خواهد شد.

تشکر و قدردانی

بخش سنتز این مطالعه با کمک دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی انجام شده که بدین وسیله از حمایت‌های معاونت پژوهشی این واحد قدردانی می‌گردد. بخش بررسی اثرات ضد سرطانی این مطالعه با هزینه انستیتو پاستور تهران انجام شده که به این وسیله نویسندگان از مسئولین آن تقدیر و تشکر می‌نمایند.

منابع

[1] Valiyari S. Dichloromethane and methanol extracts of *Scrophularia oxysepala* induces apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells. *Adv Pharm Bull* 2012; 2: 223-231.

[2] Tavakolfar S, Mousavi E, Almasirad A, Amanzadeh A, Mohamamd Atyabi S, Yaghmami P, et al. In vitro anticancer effects of two new potent hydrazide compounds on leukemic cells. *Anti-Cancer Agent Me* 2016; 16: 1646-1651. (Persian).

[3] Semnani V, Farhidzadeh E, Mirmohammadkhani M, Ghahremanfard F. Investigation of blood levels of vitamin D in

جامع‌تر ارتباط ساختمان و اثر و ارائه نتایج دقیق‌تر ایجاد می‌گردید [۲۰]. به هر حال اثرات سمیت سلولی بر روی این سه رده برحسب نوع استخلاف تفاوت داشته و علاوه بر آن حساسیت سه رده سلولی به ترکیبات سنتزی نیز متفاوت بوده است. می‌توان نتیجه گرفت که به‌طور کلی ترکیبات ۱، ۳، ۵ و ۶ اثرات قابل ملاحظه‌تری نسبت به بقیه ترکیبات نشان داده‌اند و در بین مشتقات سنتزی در این تحقیق آن‌هایی که دارای کلر می‌باشند موثرتر عمل نموده‌اند. بررسی اثرات ترکیبات ۲، ۸ و ۹ نشان می‌دهد که وجود استخلاف متیل روی فنیل بخش شبه اوره ترکیبات باعث افت اثر می‌شود و نبود استخلاف یا وجود کلر اثرات بهتری را ایجاد می‌نماید. مقایسه اثرات دو ترکیب ۴ و ۵ نیز بر این نکته تاکید دارد که ساختار شبه‌اوره بهتر از تیواوره می‌باشد. در ضمن بررسی دو ترکیب ۶ و ۷ نیز حاکی از آن است که وجود استخلاف کلر در ناحیه ۳ ساختار بنزیلیدن (هیدرازون) اثرات بهتری از کلر در ناحیه ۴ ایجاد می‌نماید. جالب توجه آن است که در این ترکیبات اثرات وابسته به زمان نیز مشاهده می‌گردد به طوری که با افزایش زمان تیمار سلولی در ۴۸ و ۷۲ ساعت سمیت سلولی نیز افزایش یافته است. این نکته نیز باید ذکر گردد که ترکیب ۱ نیز که دارای استخلاف نیترو می‌باشد در زمان ۷۲ ساعت به میزان کم‌تری باعث سمیت سلولی ۵۰ درصد در سلول‌های سرطانی پستان و کبد شده و نسبت به دو ترکیب ۳ و ۶ افزایش سمیت قابل ملاحظه‌ای نداشته است. علت می‌تواند اختلاف در سرعت ورود به سلول باشد که احتمالاً قسمت اعظم ترکیب ۱ بعد از ۴۸ ساعت وارد سلول شده ولی در مورد ۳ و ۶ نسبت به ۱ مقادیر کم‌تری بعد از ۴۸ ساعت به سلول نفوذ نموده که با گذشت زمان به ۷۲ ساعت زیادتر شده است. ذکر این نکته ضروری است که علت اختلاف در تمایل ورود به سلول به‌طور عمده تفاوت قطبیت و ضریب توزیع ترکیبات است [۲۱].

مطابق شکل ۱ از آن‌جا که بعد از ۷۲ ساعت ترکیب ۶ از ۳ قوی‌تر عمل نموده بنابراین می‌توان نتیجه گرفت استخلاف ترجیحی ناحیه ۳ گروه عاملی فنیل در هیدرازون، گروه‌های الکترون کشنده و لیوفیل می‌باشند. به‌طور خلاصه می‌توان ذکر کرد که ساختار هیدرازیدی، ساختار اصلی در ایجاد سمیت سلولی است ولی نقش بخش شبه‌اوره‌ای موجود در ترکیبات نیز پررنگ می‌باشد به‌عنوان مثال ترکیب ۱ و ۲ هر دو ساختار هیدرازون یکسانی دارند ولی به دلیل تفاوت در بخش اوره‌ای یکی قوی و دیگری ضعیف است. همان‌طور که در بخش قبلی اشاره شد حضور استخلاف‌ها در هر دو بخش همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد نیز در میزان سمیت سلولی

- [14] Xia Y, Fan CD, Zhao BX, Zhao J, Shin DS, Miao JY. Synthesis and structure-activity relationships of novel 1-arylmethyl-3-aryl-1H-pyrazole-5-carbohydrazide hydrazone derivatives as potential agents against A549 lung cancer cells. *Eur J Med Chem* 2008; 43: 2347-2353.
- [15] Nasr T, Bondock S, Youns M. Anticancer activity of new coumarin substituted hydrazide-hydrazone derivatives. *Eur J Med Chem* 2014; 76: 539-548.
- [16] Machakanur SS, Patil BR, Badiger DS, Bakale RP, Gudasi KB, Bligh SA. Synthesis, characterization and anticancer evaluation of novel tri-arm star shaped 1, 3, 5-triazine hydrazones. *J Mol Struct* 2012; 1011: 121-127.
- [17] Taha M, Shah SA, Afifi M, Zulkeflee M, Sultan S, Wadood A, et al. Morpholine hydrazone scaffold: Synthesis, anticancer activity and docking studies. *Chinese Chem Lett* 2017; 28: 607-611.
- [18] Xie J, Shen S, Chen R, Xu J, Dong K, Huang J, et al. Synthesis, characterization and antitumor activity of Ln (III) complexes with hydrazone Schiff base derived from 2-acetylpyridine and isonicotinohydrazone. *Oncol Lett* 2017; 13: 4413-4419.
- [19] Qin MZ, Wang L, Yan S, Ma JJ, Tian Y, Zhao YF, Gong P. Identification of hydrazone moiety-bearing aminopyrimidines as potent antitumor agents with selective inhibition of gefitinib-resistant H1975 cancer cells. *Chinese Chem Lett* 2017; 28: 991-994.
- [20] Xu J, Zhou T, Xu ZQ, Gu XN, Wu WN, Chen H, et al. Synthesis, crystal structures and antitumor activities of copper (II) complexes with a 2-acetylpyrazine isonicotinoyl hydrazone ligand. *J Mol Struct* 2017; 1128: 448-454.
- [21] Ertl P, Rohde B, Selzer P. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties. *J Med Chem* 2000; 43: 3714-3717.
- women with breast cancer and its correlation with prognostic markers. *Koomesh* 2017; 19: 735-471. (Persian).
- [4] Kaya B, Menemen Y, Oğuztuuml S. Apoptotic and necrotic effects of plant extracts belonging to the genus *Alchemilla* L. species on HeLa cells in vitro. *J Med Plants Res* 2011; 5: 4566-4571.
- [5] Jonoush Z, Mansori R, Yazdian F, Omidi M. Detection of prostate cancer biomarker using optical nanobiosensor based on gold nanoparticle. *Koomesh* 2017; 19: 774-784. (Persian).
- [6] Florea A-M, Büsselberg D. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. *Cancers* 2011; 3: 1351-1371.
- [7] Eguchi T, Bains S, Lee MC, Tan KS, Hristov B, Buitrago DH, et al. Impact of increasing age on cause-specific mortality and morbidity in patients with stage I non-small-cell lung cancer: a competing risks analysis. *J Clin Oncol* 2017; 35: 281-290.
- [8] Rollas S, Küçükgülzel SG. Biological activities of hydrazone derivatives. *Molecules* 2007; 12: 1910-1939.
- [9] Ferraresi-Curotto V, Echeverría GA, Piro OE, Pis-Diez R, González-Baró AC. Synthesis and characterization of a series of isoniazid hydrazones. Spectroscopic and theoretical study. *J Mol Struct* 2017; 1133: 436-447.
- [10] Kapláneek R, Havlík M, Dolenský B, Rak J, Džubák P, Konečný P, et al. Synthesis and biological activity evaluation of hydrazone derivatives based on a Tröger's base skeleton. *Bioorg Med Chem* 2015; 23: 1651-1659.
- [11] Yazdi NS. Design and synthesis of thiourea derivatives as potential anticancer agents [dissertation]. Tehran: Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad Univ; 2014.
- [12] Yazdi NS. Design and synthesis of thiourea derivatives as potential anticancer agents [dissertation]. Tehran: Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad Univ; 2014..
- [13] Singh M, Raghav N. Biological activities of hydrazones: a review. *Int J Pharm Pharm Sci* 2011; 3: 26-32.

Anti-proliferative effects of new synthesized hydrazone derivatives on breast, colon and hepatic cancer cells

Mehrasa Shademani (M.Sc)¹, Nasrin Nassiri Koopaei (Pharm.D)², Nasrin Shirzad Yazdi (Pharm.D)², Homa Azizian (Ph.D)³, Zahra Mousavi (Ph.D)¹, Mona Salimi (Ph.D)⁴, Ali Almasirad (Ph.D)^{*2}

1 – Dept. of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2 – Dept. of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3- Dept. of Medicinal Chemistry, Pharmacy School, International Vice Chancellor Office, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Dept. of Physiology and Pharmacology, Pasteur institute of Iran, Tehran, Iran

* Corresponding author. +98 2122640051 Almasirad.a@iaups.ac.ir

Received: 10 Feb 2017; Accepted: 7 May 2018

Introduction: Despite the advances made in research on cancer, there is still no effective way to treat this condition. A number of compounds including hydrazone derivatives have been increasingly investigated as anticancer agents. So, in this study a series of novel hydrazone derivatives were designed and synthesized as potential anticancer compounds and their cytotoxic effects were further evaluated.

Materials and Methods: The designed hydrazone compounds (1-9) were synthesized in three steps and their structures were characterized by different instrumental analysis methods. The cytotoxic activity was measured using MTT assay at 48 and 72 h on human breast, colon and liver cancer cell lines.

Results: The obtained percentage of cytotoxicity indicated that some compounds were potent against cancer cell lines and the most effective incubation time was after 72 h of treatment. Among the synthesized compounds, compounds 3 and 6 revealed the considerable cytotoxic activity on breast, liver and colon cells after 72 h of treatment ranging from 60 to 80%.

Conclusion: The results obtained in this section can be used as the starting point for the development of new cancer chemotherapy agents.

Keywords: Cytotoxic, Chemotherapy, Hydrazones, Carcinoma Cell Line, Neoplasms