

Syntheses of Two New Saccharin Hydrazide Derivatives and Evaluation of Their Chelatory Activities

Mohammad-Ali Ebrahimzadeh¹,
Nilofar Miri²,
Mahdi Bakhshipour²,
Zahra Hashemi³,
Ahmad-Reza Bekhradnia¹

¹ PhD, Associate Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, School of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Student of Pharmacy, School of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ MSc of Organic Chemistry, Pharmaceutical Sciences Research Center, School of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received May 21, 2013; Accepted September 4, 2013)

Abstract

Background and purpose: Zinc (Zn), copper (Cu) and iron (Fe) are essential minerals required for a variety of biomolecules to maintain the normal structure, function, and proliferation of cells. Abnormal metabolism of heavy metals can lead to several chronic pathogenesis. In this study, two new saccharin hydrazide derivatives were synthesized and their chelatory activities were evaluated.

Materials and methods: Acetic acid ethyl ester and propionic acid ethyl ester derivatives of saccharin were synthesized by the reaction of the starting materials (saccharin) with ethyl bromoacetate and ethyl bromopropionate under the reflux condition and using the dimethylformamide (DMF) as solvent. Ester compounds were stirred with hydrazine hydrate in ethanol and then the products were isolated. The desired hydrazide compounds were purified by thin layer chromatography. The ultraviolet (UV) spectra of hydrazide products in the absence and presence of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) were obtained in order to the analysis of chelating activity with Fe²⁺ and Fe³⁺, Zn, Cu and aluminium (Al). All products were determined by analytical methods [nuclear magnetic resonance (NMR) and infrared (IR) spectroscopy].

Results: Crystallization method was used for purification of compounds. The reactions' yields obtained 44 to 46%. Compounds showed good chelatory activities against Fe³⁺. In presence of EDTA, the reaction of complex production returned back to previous state which suggested less chelating power of the compound.

Conclusion: Overall, saccharin derivatives had the ability to chelate Fe³⁺ more efficient than that of other metals.

Keywords: Chelatory activity, saccharin, oxidative stress, Alzheimer's disease

سنتز مشتقات هیدرازیدی از ساخارین و بررسی فعالیت شلاته کنندگی آنها

محمدعلی ابراهیمزاده^۱

نیلوفر میری^۲

مهدی بخشی پور^۲

زهرا هاشمی^۳

احمد رضا بخردنیا^۱

چکیده

سابقه و هدف: روی، مس و آهن از فلزات ضروری هستند که برای حفظ ساختار طبیعی، عملکرد و رشد و نمو بسیاری از مولکول‌های بدن حیاتی می‌باشند. متابولیسم غیر طبیعی این فلزات، می‌تواند به بیماری‌های متعددی منجر گردد. در این تحقیق، دو مشتق جدید از ساخارین سنتز شد و فعالیت شلاته کنندگی آنها با پنج کاتیون به روش طیف سنجی ماورای بنفش، مورد سنجش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: جهت سنتز ترکیبات، از ساخارین استفاده شد. مشتق استیک اسید اتیل استر و پروپیونیک اسید اتیل استر از واکنش ساخارین با اتیل برومواستات و اتیل برومو پروپیونات در شرایط رفلاکس و حلال DMF (Dimethylformamide) تهیه گردید. جهت بررسی فعالیت شلاته کنندگی، نتایج طیف (Ultraviolet) UV در حضور و عدم حضور EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: جهت خالص سازی ترکیبات مورد نظر، از روش کریستالیزاسیون استفاده شد که راندمان محصولات حدود ۴۵ درصد به دست آمد. ترکیبات، توانایی شلاته کنندگی خوبی با کاتیون آهن III داشتند. در حضور EDTA، کمپلکس حاصل به حالت قبل برگشت که حاکی از قدرت شلاتوری کمتر آن می‌باشد.

استنتاج: در مجموع، مشتقات ساخارین در بین پنج کاتیون مورد بررسی، توانایی برقرای شلات را با کاتیون آهن III دارا بودند.

واژه های کلیدی: فعالیت شلاته کنندگی، ساخارین، استرس اکسیداتیو، آلزایمر

مقدمه

نسبت به استرس اکسیداتیو هستند (۲). در انسان، استرس اکسیداتیو با بروز بیماری‌های زیادی نظیر آلزایمر، پارکینسون، مولتیپل اسکلروزیس، آترواسکلروزیس، نارسایی قلبی، سکته قلبی و ... مرتبط است (۳).

از سوی، بدن انسان برای عملکرد طبیعی خود نیازمند به مقادیر کافی برخی فلزات است. چنانچه این فلزات، به میزانی بیش از نیاز بدن وارد بدن شوند، با شرکت در واکنش‌های اکسیداتیو نظیر واکنش فنتون و تولید رادیکال آزاد، می‌توانند عوارضی را برای بدن به همراه داشته باشند (۴). نقش برخی فلزات در بروز بیماری‌هایی نظیر آلزایمر و پارکینسون اثبات

اکسیداتیو استرس به عدم تعادل در تولید ذرات فعال اکسیژن و رادیکال آزاد از یک سو و جاروب نمودن و حذف این رادیکال‌های آزاد توسط سیستم آنتی اکسیدانی بدن اطلاق می‌شود که در این حالت، کفه ترازو به سمت تولید رادیکال آزاد سنگینی می‌کند. به دنبال بروز چنین حالتی، عوارض ناشی از تجمع رادیکال آزاد نمایان می‌شود. این رادیکال‌های آزاد با حمله به پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، غشای سلولی و DNA باعث ایجاد خسارت و حتی مرگ سلول می‌شوند (۱). مغز و سیستم قلب و عروق، از جمله حساس‌ترین سیستم‌های حیاتی بدن

مقاله حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی به شماره ۳۸-۹۱ مصوب دانشگاه علوم پزشکی مازندران می‌باشد.

E-mail: zadeh20@yahoo.com

مؤلف مسئول: محمدعلی ابراهیمزاده - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده دریا، دانشکده داروسازی ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۱. دانشیار، گروه شیمی دارویی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشجوی داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۲/۳۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۲/۵/۱ تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۶/۱۳

۸/۲۰ گرم سدیم ساخارین (۴۰ میلی مول) داخل ارلن ته صاف ریخته شد. سپس ۲۰ میلی لیتر DMF (Dimethylformamide) به آن اضافه شد. مجموعه ۵ دقیقه به هم زده شد تا محلول شفاف حاصل گردد. سپس ۶/۶۸ گرم (۴/۴۴ میلی لیتر، ۴۰ میلی مول) اتیل برومو استات به شکل قطره قطره به مجموعه اضافه شد. مخلوط به مدت ۲ ساعت رفلو گردید. مجموعه با کاغذ صافی چین دار صاف گردید تا نمک نامحلول آن جدا گردد. به محلول زیر صافی، به میزان دو برابر حجمی، آب اضافه شد. پس از یک ساعت، رسوبات حاصل صاف شد و دوباره در اتانول متبلور گردید. ۷ گرم کریستال سفید با راندمان ۶۵ درصد به دست آمد.

سنتز ترکیب شماره ۲

1,1,3-trioxo-2,3-dihydrobenzo[d]isothiazol-2-yl propionic acid ethyl ester

مشابه ترکیب شماره ۱ سنتز شد. راندمان این واکنش ۵۲ درصد به دست آمد.

سنتز ترکیب شماره ۳

1,1,3-trioxo-2,3-dihydrobenzo[d]isothiazol-2-yl acetic acid hydrazide

۲۶۹ میلی گرم از استر شماره ۱ (۱ میلی مول) داخل بالن ته گرد ریخته شد. سپس حداقل مقدار اتانول (۲۰ میلی لیتر) به آن اضافه شد. مجموعه ۵ دقیقه به هم زده شد تا محلول شفاف حاصل گردد. سپس ۵۰ میکرو لیتر (۱ میلی مول) هیدرازین هیدرات اضافه شد. مجموعه به مدت ۲۴ ساعت استیر شد. حجم حلال تا حد امکان کم شد و سپس مخلوط واکنش با کروماتوگرافی روی صفحات نازک جداسازی شد. حلال تانک شامل متانل و اتیل استات به نسبت ۱۰:۳ بود. سیلیکاژل جدا شده صفحات نازک، با متانول استخراج گردید. پس از حذف متانول، جامد حاصل در متانول کریستال گیری شد. ۱۱۳ میلی گرم کریستال سفید رنگ به دست آمد.

سنتز ترکیب شماره ۴

1,1,3-trioxo-2,3-dihydrobenzo[d]isothiazol-2-yl propionic acid hydrazide

شده است (۶، ۵). در بیماری ویلسون به دلایلی یون مس در بدن انباشته می شود یا در بیماری تالاسمی ماژور، به دلیل تخریب گلبول های قرمز سطح آهن در خون بالا می رود. انباشته شدن این فلزات، نه تنها منبعی برای تولید رادیکال آزاد خواهد بود، بلکه به دنبال رسوب در اندام های مختلف نظیر قلب، مغز و چشم، ضایعات جبران ناپذیری به دنبال خواهد داشت (۷). در چنین مواردی، خارج کردن این فلزات از بدن به کمک شلاتورها، می تواند کمک کننده و حتی تنها راه درمان باشد.

در حال حاضر، شلاتورهایی وجود دارند که به عنوان دارو در درمان بیماران مورد استفاده قرار می گیرند. با توجه به عوارضی که این شلاتورها دارند، همواره تلاش ها برای سنتز شلاتورهای جدید با عوارض کمتر و اثربخشی بیشتر ادامه دارد. از نظر ساختاری، هر ترکیب با استخلافاتی که توانایی برقراری شلات با کاتیون ها را دارا باشند، مانند OH، NH₂ و SH - به خصوص چنانچه روی حلقه هتروسیکل مانند پیریدین یا ایمیدازول باشند - یا در فاصله مناسبی از یکدیگر قرار گرفته باشند، مستعد انجام تست شلاته کنندگی با کاتیون ها هستند. این ساختار عمومی، در بسیاری از ترکیبات مانند دسفرال، ۸- هیدروکسی کینولین، Deferasirox، Deferiprone یا حتی در ساختار هیستامین و بسیاری از ترکیبات گیاهی مانند فلاونوئیدها به چشم می خورد.

وارد نمودن چنین استخلافاتی بر روی حلقه ساخارین که خود با وجود گروه کربونیل مستعد برقراری شلات است، ترکیبات مورد نظر در این تحقیق را شکل داده است. هدف از این تحقیق، سنتز چند مشتق هیدرازیدی از ساخارین و بررسی میزان قدرت آن ها در شلاته نمودن ۵ کاتیون فلزی یعنی آهن II و III، مس II، نیکل II و آلومینیوم III بود. سنتز و بررسی فعالیت شلاته کنندگی این ترکیبات تا زمان انجام این پژوهش، گزارش نشده بود.

مواد و روش ها

سنتز ترکیب شماره ۱

1,1,3-trioxo-2,3-dihydrobenzo[d]isothiazol-2-yl acetic acid ethyl ester

مشابه ترکیب ۳ سنتز شد. راندمان این واکنش ۴۶/۷ درصد به دست آمد.

طرح کلی سنتز در تصویر شماره ۱ آمده است:

بررسی اثرات شلاته کنندگی

به منظور بررسی اثرات شلاته کنندگی، ابتدا ۳ غلظت ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی مولار از کاتیون‌های آهن II، آهن III، مس II، آلومینیوم و نیکل II تهیه شد. به منظور تهیه محلول آهن II، از نمک سولفات آهن II، برای تهیه محلول آهن III، از نترات آهن III ۹ آب، برای تهیه محلول نمک مس، از سولفات مس ۵ آب، برای تهیه محلول نیکل، از کلرید نیکل ۶ آب و به منظور تهیه محلول آلومینیوم، از نترات آلومینیوم ۹ آب طبق جدول شماره ۱ استفاده شد.

بررسی فعالیت شلاته کنندگی هیدرازید شماره ۳

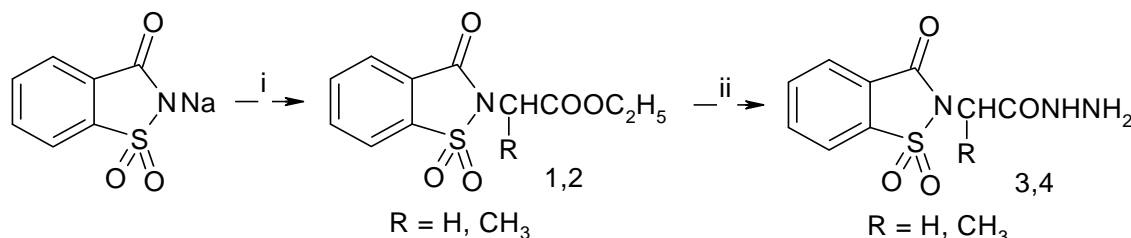
۱۲/۷۵ میلی گرم هیدرازید ۳ در ۱۰۰ میلی لیتر متانول حل گردید. بدین ترتیب، محلول ۰/۵ میلی مولار از ترکیب شماره ۳ تهیه شد. در ادامه جذب محلولی حاوی هر یک از

کاتیون‌ها با محلول ۰/۵ میلی مولار هیدرازید ۳ (به نسبت ۱:۱) تهیه گردید و سپس جذب محلول بعد از ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. سپس، محلول EDTA ۷۴۴/۴۸ میلی گرم در لیتر (۲ میلی مولار) از EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) در آب تهیه شد. ۰/۵ میلی لیتر از محلول ۰/۵ میلی مولار از ترکیب هیدرازید ۳ به همراه ۰/۵ میلی لیتر از محلول ۰/۵ میلی مولار از هر یک از ۵ کاتیون فوق، در سل (کووت) ریخته شد.

به منظور تکمیل واکنش شلاته شدن، ۱ دقیقه به واکنش فرصت داده شد؛ سپس ۱ میلی لیتر از محلول ۲ میلی مولار از EDTA به داخل سل‌ها اضافه شد. جذب محلول‌ها در طول موج ۲۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. در هر مورد تغییر (کاهش یا افزایش) در طوج موج بالاترین پیک‌ها و تغییر در شدت جذب (افزایش یا کاهش) مورد بررسی قرار گرفت (۱۰-۸).

بررسی فعالیت شلاته کنندگی هیدرازید ۴

روند شلاته کنندگی هیدرازید ۴ همانند هیدرازید ۳ مورد بررسی قرار گرفت.



i: Ethyl bromopropionate / Ethyl bromoacetate, DMF, Reflux, 2 hrs

ii: NH_2NH_2 , EtOH

تصویر شماره ۱: طرح سنتزی مشتقات تهیه شده در این تحقیق

جدول شماره ۱: کاتیون‌های مورد استفاده و مقادیر هم ارز غلظت‌های مورد نیاز

| کاتیون | جرم مولی | میزان لازم برای تهیه محلول ۱ میلی مولار (mg/l) | میزان لازم برای تهیه محلول ۰/۵ میلی مولار (mg/l) | میزان لازم برای تهیه محلول ۰/۲۵ میلی مولار (mg/l) |
|--|----------|--|--|---|
| FeSO_4 | ۲۷۸/۰۲ | ۲۷۸/۰۲ | ۱۳۹/۰۱ | ۶۹/۵۰ |
| $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ | ۴۰۴/۰۰ | ۴۰۴/۰۰ | ۲۰۲/۰۰ | ۱۰۱/۰۰ |
| $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | ۲۴۴/۶۸ | ۲۴۴/۶۸ | ۱۲۴/۸۶ | ۶۲/۴۲ |
| $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | ۲۳۷/۵۹ | ۲۳۷/۵۹ | ۱۱۸/۷۹ | ۵۹/۳۹ |
| $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ | ۳۷۴/۹۸ | ۳۷۴/۹۸ | ۱۸۷/۴۹ | ۹۳/۷۵ |

یافته‌ها

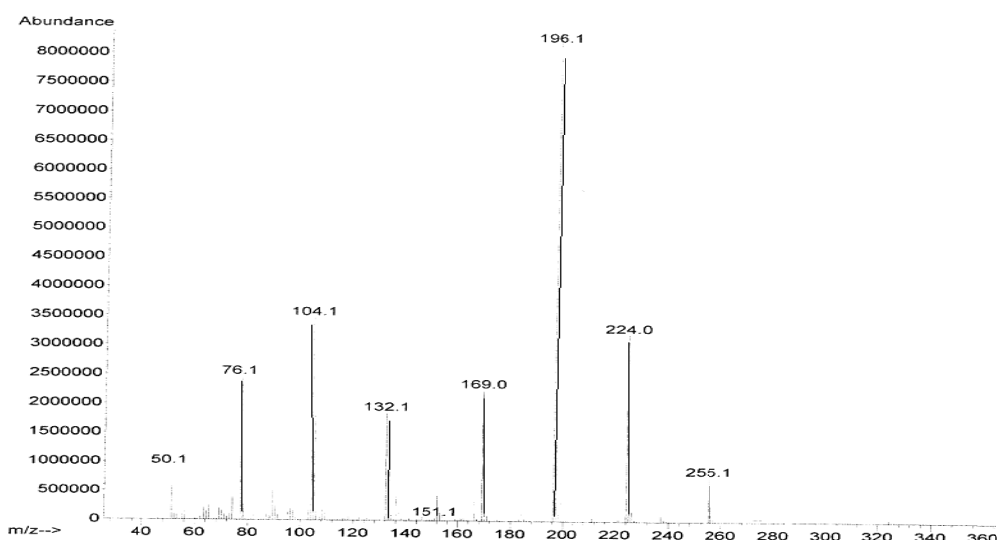
اطلاعات طیفی، نقاط ذوب و راندمان اجسام سنتز شده در جدول شماره ۲ آمده است. طیف جرمی ترکیب شماره ۳ و طیف NMR (Nuclear magnetic resonance) (۴۰۰ MHz) ترکیب شماره ۴ در نمودارهای شماره ۱ و ۲ آمده است.

نتایج تست UV جهت بررسی اثرات شلاته کنندگی هیدرازید ۳ افزایش کاتیون Fe^{3+} به میزان ۰/۲۵ مولار، موجب کاهش در طول موج‌های پایین‌تر در هیدرازید ۳ گردید. این نشان دهنده کاهش غلظت اجسام می‌باشد. اما با افزایش غلظت Fe^{3+} به جسم‌های سنتز شده، بالاترین طول موج در ۳۳۰ نانومتر به وجود

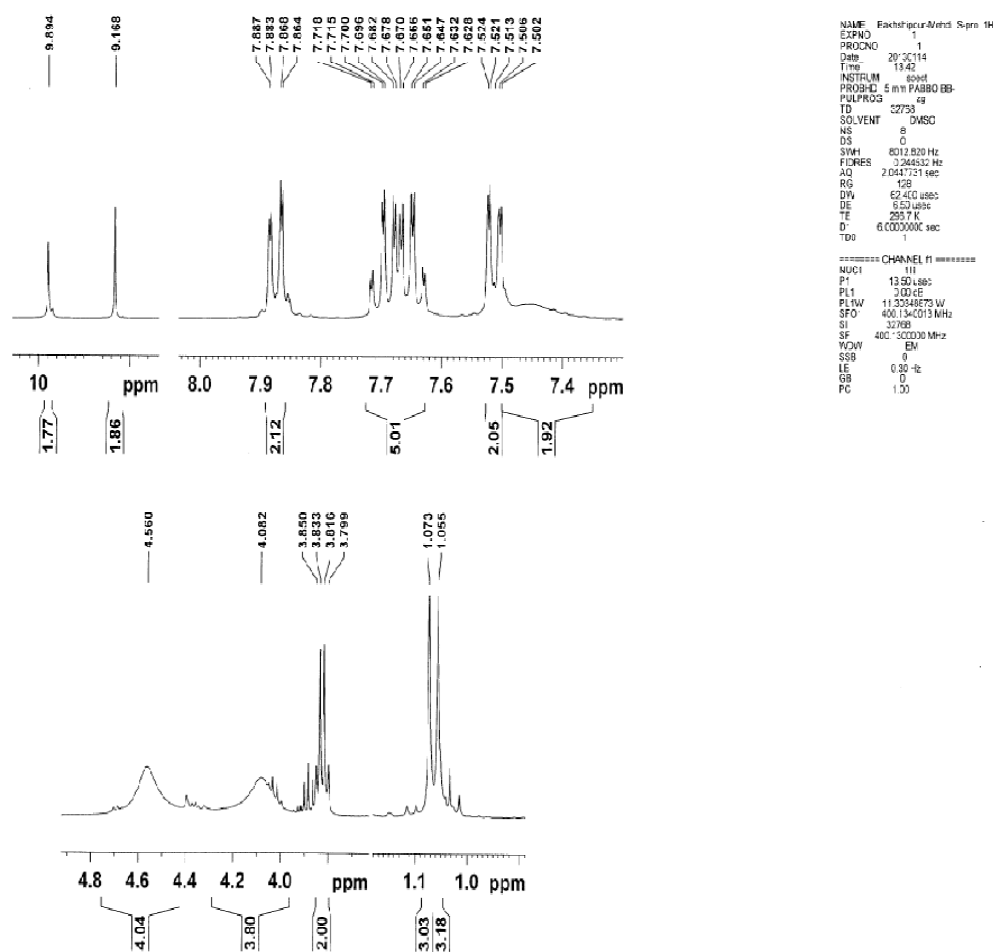
جدول شماره ۲: اطلاعات طیفی، نقاط ذوب و راندمان اجسام سنتز شده در این مقاله

| جسم | داده‌های طیفی اجسام سنتز شده | نقطه ذوب | راندمان (درصد) |
|-----|--|----------|----------------|
| ۱ | FT-IR, (KBr disk) cm^{-1} , 1754 (cyclic carbonyl), 1735 (ester carbonyl). 1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ ppm: 8.11 (d, 1H, J = 8 Hz, Ar), 7.97 (d, 1H, J = 8 Hz, Ar), 7.89 (m, 2H, Ar), 4.46 (s, 2H, CH_2CO), 4.28 (q, 2H, J = 7.2 Hz, CH_2CH_3) and 1.31 (t, 3H, J = 7.2 Hz, CH_3). | ۱۱۰-۱۱۲ | ۶۵/۰ |
| ۲ | FT-IR, (KBr disk) cm^{-1} , 1754 (cyclic carbonyl), 1732 (COCH). 1H -NMR ($CDCl_3$) δ ppm: 8.097 (d, 1H, J = 9.6 Hz, Ar), 7.96 (d, 1H, J = 9.6 Hz, Ar), 7.925 (m, 2H, Ar), 4.84 (q, 1H, $CHCO$), 4.25 (q, 2H, J = 6.8 Hz, CH_2CH_3), 1.88 (d, 3H, J = 7.6 Hz, $CHCH_3$) and 1.26 (t, 3H, J = 6.8 Hz, CH_3). FT-IR, (KBr disk) cm^{-1} , 3386, 3337 and 3192 (amine NH), 1671 (carbonyl). 1H -NMR ($CDCl_3$) δ ppm: 7.86-7.89 (m, 1H, J = 11.2 Hz, Ar), 7.63-7.73 (m, 2H, Ar), 7.50-7.53 (m, 1H, J = 8.8 Hz, Ar), 4.57 (br, s, CONH), 4.16 (br, s, NH), and 3.36 (s, 3H, CH_2CO). Mass: m/z(%) 255(M^+ , 17), 224(46), 196(100), 169(24). | ۸۶-۸۸ | ۵۲/۰ |
| ۳ | FT-IR, (KBr disk) cm^{-1} , 3323, 3274 and 3119 (amine NH), 1723 (cyclic carbonyl), 1654 (hydrazide carbonyl group). 1H -NMR ($CDCl_3$) δ ppm: 7.86-7.88 (m, 1H, J = 6 Hz, Ar), 7.62-7.71 (m, 2H, Ar), 7.50-7.52 (m, 1H, J = 6 Hz, Ar), 4.56 (br, s, CONH), 4.08 (br, s, NH), 3.83 (q, 1H, J = 6.8 Hz, $CHCO$) and 1.06 (d, 3H, J = 6.8 Hz, CH_3). Mass: m/z (%) 269 (M^+ -1, 5), 210 (100), 169 (24). | ۱۵۶-۱۵۷ | ۴۴/۳ |
| ۴ | | ۱۵۱-۱۵۳ | ۴۶/۷ |

File :D:\data\mass spectrum\5 ACT.D
Operator : AA
Acquired : 3 Feb 2013 11:15 using AcqMethod weak umz.M
Instrument : MSD
Sample Name: S ACT
Misc Info :
Vial Number: 1



نمودار شماره ۱: طیف جرمی هیدرازید ۳



نمودار شماره ۲: طیف NMR ترکیب شماره ۴

بر می گردند و افزایش شدت جذب در آن‌ها دیده می شود.
 نتایج طیف UV جهت بررسی توانایی شلاته کنندگی

هیدرازید ۳ با آهن III

وجود طول موج جدید در محدوده ۳۳۰ نانومتر به عنوان تشکیل کمپلکس جدید در نظر گرفته می شود. افزایش EDTA به این کمپلکس، باعث می شود کمپلکس به نسبت ناپایدار با Fe^{3+} تجزیه شده و Fe^{3+} با EDTA کمپلکس جدید تشکیل دهد و دوباره جسم اولیه با طول موج‌های اختصاصی خود ظاهر شود. بنابراین، کمپلکس Fe^{3+} -EDTA از کمپلکس Fe^{3+} -ligand پایدارتر است و EDTA توانایی جدا کردن آهن III را از کمپلکس تشکیل شده با اجسام دارا می باشد.

افزایش کاتیون Fe^{3+} به استر مربوط (ترکیب شماره ۱) نیز بالاترین طول موج‌ها را در ۳۳۰ و ۳۵۴ نانومتر به وجود آورد

آمد که اثبات کننده تشکیل کمپلکس در این غلظت از Fe^{3+} می باشد. بنابراین، حداقل حضور Fe^{3+} ۰/۲۵ میلی مولار، برای تشکیل کمپلکس لازم می باشد. بر این اساس، نسبت لیگاند فلزی برابر ۰/۲۵ : ۰/۵ : ۱ یا ۰/۲۵ : ۰/۵ : ۱ می باشد. افزایش غلظت ۰/۲۵ میلی مولار تأثیری روی طول موج‌های ذکر شده نداشت. افزایش غلظت کاتیون Fe^{3+} باعث افزایش شدت جذب در طول موج‌های پایین تر گردید. از آن جایی که طول موج‌های پایین تر مربوط به حلقه آروماتیک می باشند، زمانی که کاتیون اضافه نشده است، شدت پیک‌های حلقه آروماتیک به دلیل رزونانس در نواحی اورتو در طول موج‌های بالاتر از نواحی نرمال حلقه بنزن قرار می گیرد؛ اما وقتی گروه‌های عاملی با کاتیون کمپلکس تشکیل دهند، نوارهای حلقه آروماتیک به دلیل کاهش سهم رزونانس باندهای π آروماتیک با گروه‌های عاملی مورد نظر، به حالت خود

موج‌های جذبی گردید.

نتایج طیف UV جهت بررسی توانایی شلاته کنندگی

هیدرازید ۲ مس II

افزایش مس II به غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار، شدت جذب را افزایش داد. دو برابر کردن غلظت مس II، (۰/۵ میلی‌مولار) موجب افزایش بیشتر در شدت جذب طول موج‌ها نسبت به غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار شد. با دو برابر شدن مجدد غلظت مس II (۱ میلی‌مولار) شدت جذب در این پیک‌ها باز هم افزایش یافت. افزایش EDTA (۲ میلی‌مولار) این افزایش در میزان جذب را برگرداند.

نتایج طیف UV جهت بررسی توانایی شلاته کنندگی

هیدرازید ۳ نیکل II

افزایش نیکل در هر سه غلظت، موجب کاهش جذب در هر سه طول موج گردید. تغییر غلظت در نیکل، تأثیری بر میزان کاهش جذب نداشت. افزایش EDTA (۲ میلی‌مولار) میزان جذب را به همان طول موج‌ها، کاهش داد.

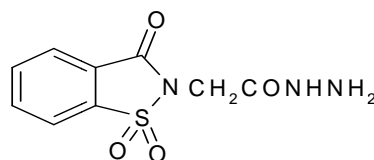
نتایج طیف UV جهت بررسی توانایی شلاته کنندگی

هیدرازید ۳ آلومینیوم III

افزایش آلومینیوم به غلظت‌های مختلف موجب افزایش طول موج ۲۰۳ به ۲۱۰ گردید. اما انتقالی در سایر طول موج‌ها ایجاد نکرد. علاوه بر آن، افزایش آلومینیوم III به غلظت ۱ میلی‌مولار، شدت جذب را حدود ۷ درصد افزایش داد. افزایش EDTA (۲ میلی‌مولار) جذب را به حالت قبلی برگرداند.

که نشان می‌دهد استر شماره ۱ نیز قادر به تشکیل کمپلکس با Fe^{3+} می‌باشد. اما در استر حداقل حضور ۰/۵ میلی‌مولار Fe^{3+} برای تشکیل کمپلکس لازم بود. بر این اساس، نسبت لیگاند فلزی در استر برابر ۰/۵:۰/۵ یا ۱:۱ می‌باشد.

در استر شماره ۱ نیز افزایش EDTA به این کمپلکس، موجب تجزیه شدن آن و تشکیل کمپلکس جدید Fe^{3+} با EDTA شد. بنابراین، کمپلکس $EDTA-Fe^{3+}$ از کمپلکس Fe^{3+} -ligand در استر نیز پایدارتر است و EDTA توانایی جدا کردن آهن III را از کمپلکس تشکیل شده با اجسام (استر و هیدرازید) مربوط دارا می‌باشد (نمودار شماره ۳).

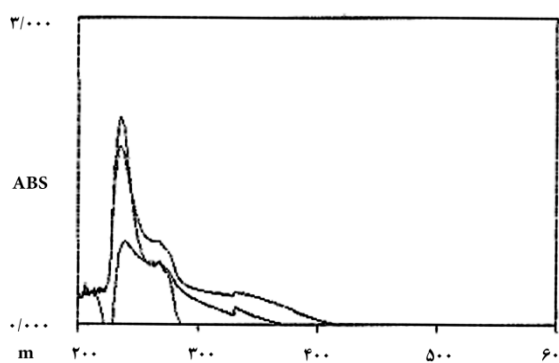


نتایج طیف UV جهت بررسی توانایی شلاته کنندگی

هیدرازید ۳ با آهن II

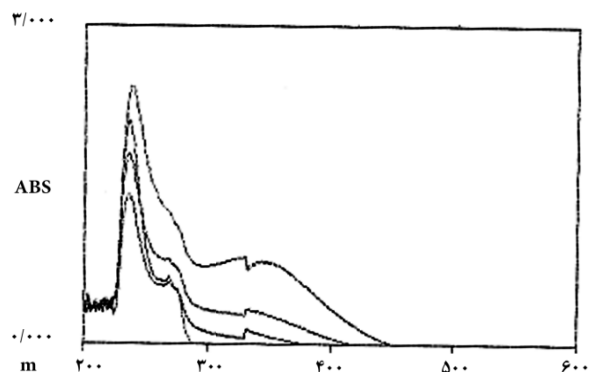
افزایش آهن II به غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار، تغییری در طول موج‌های جذبی ایجاد نکرد؛ اما شدت جذب را افزایش داد. دو برابر کردن غلظت آهن II، (۰/۵ میلی‌مولار) و چهار برابر شدن غلظت آهن II (۱ میلی‌مولار) تغییری در شدت جذب و طول موج‌های جذبی ایجاد نکرد.

افزایش EDTA (۲ میلی‌مولار) تغییری در طول موج‌های جذبی به همراه نداشت. اما موجب کاهش جذب در طول



نمودار شماره ۳: طیف UV هیدرازید ۳ با آهن III (بالا)، با آهن III و EDTA (پایین)

UV: Ultraviolet; EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid



نتایج تست UV جهت بررسی اثرات شلاته کنندگی

هیدرازید ۴

نتایج طیف UV جهت بررسی توانایی شلاته کنندگی

هیدرازید ۴ با آهن III

هیدرازید ۴ در دو طول موج دارای جذب ماکزیم بود. افزایش آهن III، شدت جذب را در هر دو طول موج کاهش داد. اما همزمان با افزایش آهن، طول موج جدید در ۳۳۲ ظاهر شد که با افزایش غلظت آهن، شدت جذب آن به شدت افزایش یافت. افزایش EDTA تماما جذب ها را به حالت قبل برگرداند (نمودار شماره ۴).

نتایج طیف UV جهت بررسی توانایی شلاته کنندگی

هیدرازید ۴ با آهن II

افزایش آهن II به غلظت های مختلف، تغییری در این طول موج ها ایجاد نکرد؛ اما در تمامی غلظت ها، جذب را در طول موج ۲۱۹ به شدت افزایش داد؛ اما موجب کاهش جذب در طول موج دوم شد. افزایش EDTA (۲ میلی مولار) تمامی جذب ها را به حالت قبل برگرداند.

نتایج طیف UV جهت بررسی توانایی شلاته کنندگی

هیدرازید ۴ با مس II

افزایش مس II به غلظت های مختلف، تغییری در این طول موج ها ایجاد نکرد؛ اما در تمامی غلظت ها، جذب را در طول موج ۲۱۹ به شدت افزایش داد و موجب کاهش جذب در طول موج دوم شد. افزایش EDTA (۲ میلی مولار) تمامی جذب ها را به حالت قبل برگرداند.

نتایج طیف UV جهت بررسی توانایی شلاته کنندگی

هیدرازید ۴ با نیکل II

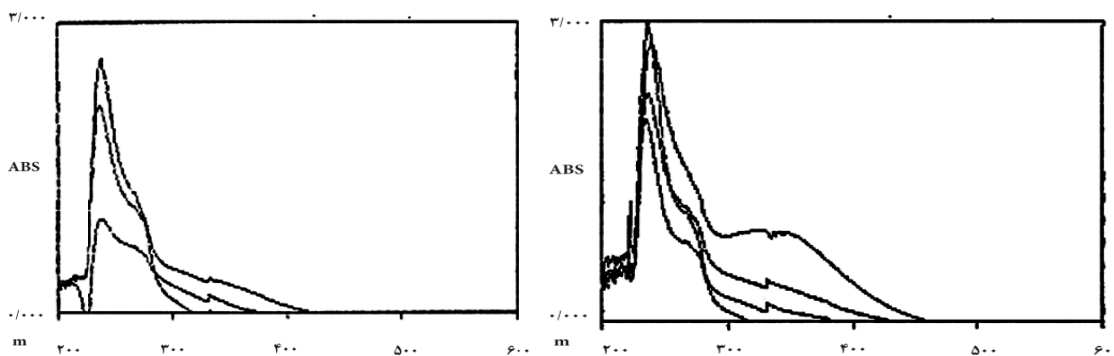
افزایش نیکل II به غلظت های مختلف، تغییری در این طول موج ها ایجاد نکرد؛ اما در تمامی غلظت ها، جذب را در طول موج ۲۱۹ به شدت افزایش داد و موجب کاهش جذب در طول موج دوم شد. افزایش EDTA (۲ میلی مولار) تمامی جذب ها را به حالت قبل برگرداند (نمودار شماره ۵).

نتایج طیف UV جهت بررسی توانایی شلاته کنندگی

هیدرازید ۴ با آلومینیوم III

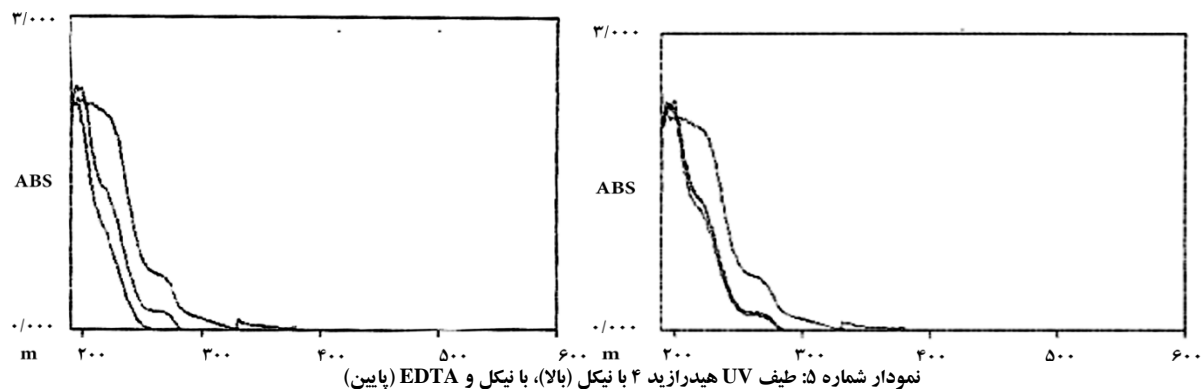
افزایش آلومینیوم به غلظت های مختلف، موجب افزایش طول موج از ۲۱۹ به ۲۳۱ شد. علاوه بر آن وابسته به غلظت، شدت جذب را نیز در این طول موج افزایش داد. افزایش EDTA (۲ میلی مولار) تمامی جذب ها را به حالت قبل برگرداند. ترکیبات سنتز شده توانایی برقراری شلات با کاتیون آهن III را داشتند، اما کمپلکس حاصل در حضور EDTA به حالت قبل بر می گشت که حاکی از قدرت تشکیل کم و برگشت پذیری کمپلکس بود. این ترکیبات، قادر به شلاته کردن کاتیون های دیگر نبودند.

به نظر می رسد وارد نمودن گروه های عاملی دیگر با پتانسیل شلاته کنندگی مانند گروه اسیدی، سمی کاربازون، هیدروکسامیک اسید و ... می تواند قدرت شلاته کنندگی را افزایش دهد و از سویی امکان برقراری شلات را با کاتیون های دیگر مهیا سازد. این کار به عنوان یک پیشنهاد در ادامه کار مورد نظر قرار خواهد گرفت.



نمودار شماره ۴: طیف UV هیدرازید ۴ با آهن III (بالا)، با آهن III و EDTA (پایین)

UV: Ultraviolet; EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid



UV: Ultraviolet; EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid

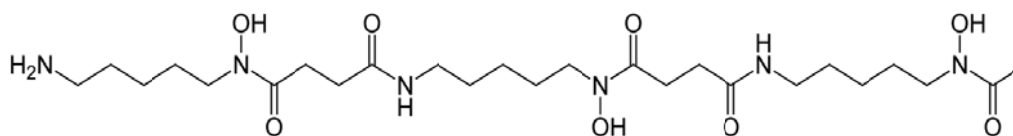


طی واکنش فنتون با اکسید و احیا شدن مکرر آهن، تا زمانی که H_2O_2 در محیط باشد، رادیکال آزاد تولید می شود که اثرات مخربی را بر سلول های بدن خواهد گذاشت (۴). بنابراین، فلزات چند ظرفیتی نظیر آهن و مس در کنار اثرات سودمندی که در بدن دارند، چنانچه بیش از حد نیاز مصرف شوند، یا در بدن تجمع یابند، از طریق فرایندهای اکسیداتیو نظیر واکنش فنتون با تولید رادیکال آزاد، می توانند اثرات سمی بر سلول های بدن داشته باشند. در این حالت، درمان با شلاتور به منظور خارج کردن فلزات از بدن است.

تجمع یون های فلزی در بدن و به دنبال آن، بروز استرس اکسیداتیو با بروز بیماری هایی مرتبط است که از مهم ترین نمونه های اثبات شده آن می توان به آلزایمر، پارکینسون و بیماری ویلسون اشاره کرد. به نظر می رسد تجمع بتا آمیلوئیدها به شکل پلاک، نقش اساسی در پاتوژنز بیماری آلزایمر ایفا کند. اکسیداتیو استرس، موجب افزایش تولید بتا آمیلوئیدها می شود. از جمله هیدروژن پراکساید و اشعه UV (Ultraviolet) موجب افزایش تولید این ترکیبات می شوند. به خصوص در میتوکندری، منابع مهمی از ذرات اکسیژن فعال

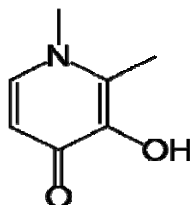
بحث

در استرس اکسیداتیو، تعادل بین تولید ذرات فعال اکسیژن و توانایی بدن در حذف این رادیکال ها به هم خورده و به سمت تولید رادیکال ها متمایل می شود. ذرات فعال اکسیژن در بروز مشکلاتی از قبیل سرطان، بیماری های قلبی - عروقی، ایسکمی، آرتریت روماتوئید، دیابت، بیماری های نروژنیک مانند پارکینسون و آلزایمر و همچنین در پیری نقش دارند (۱۱). تولید رادیکال های آزاد در بدن، به واسطه متابولیسم سلولی، آلودگی هوا، شکسته شدن ناقص چربی و یا پروتئین در بدن، مصرف مواد غذایی سرطان زا مانند نیترات ها، سرب و مواد شیمیایی آسیب رسان، سموم، باکتری ها، ویروس ها و به طور کلی شرایط ناآرام استرسی و اکسیداسیون شیمیایی صورت می پذیرد. اکسیداسیون شیمیایی، یکی از روش های مهم در تولید رادیکال آزاد به خصوص تحت تأثیر یون های فلزی است. از جمله این روش ها، می توان به واکنش فنتون اشاره کرد. این واکنش اولین بار توسط فنتون در سال ۱۸۹۴ طی تحقیقی که در مورد اکسیداسیون اسید تارتاریک به کمک مخلوط هیدروژن پراکسید و نمک های آهن انجام شد، معرفی گردید.



تصویر شماره ۲: آرایش خطی مولکول دسفروکسامین

مصارف طولانی محدود کرده است. برای حل این مشکل داروی Deferiprone طراحی و سنتز گردید (تصویر شماره ۳) که به صورت خوراکی مصرف می‌گردد (۱۵).



تصویر شماره ۳: آرایش خطی مولکول Deferiprone

عوارض گوارشی و راش‌های پوستی، از مهم‌ترین عوارض این دارو است که باعث گردیده است که مطالعات جهت سنتز شلاتورهای جدیدتر با عوارض کمتر توسط محققین صورت گیرد. در این راستا، ترکیبی سنتز گردید که یک شلاته کننده خوراکی آهن سه دندانه‌ای است. دو مولکول از این ماده برای ایجاد فرم ۶ گوشه شامل یک مولکول آهن III لازم است (۱۶). امروزه این ترکیب با نام Deferasirox در درمان افزایش سطح آهن خون به کار می‌رود (تصویر شماره ۴). این دارو نیز مانند داروی Deferiprone به صورت خوراکی مصرف می‌شود (۱۶، ۱۷).

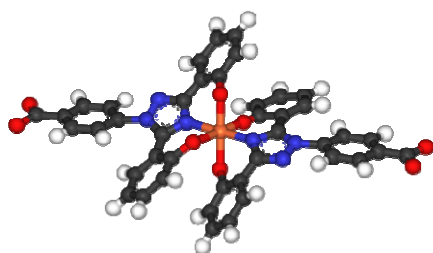
کورکومین ماده مؤثره زردچوبه است که در طب سنتی چین و هند به عنوان ضد التهاب به طور گسترده استفاده می‌شود. این ترکیب، به عنوان یک شلاته کننده آهن مطرح شده است (۱۸). آلومینیوم فسفاید در ایران به نام قرص برنج معروف است. مسمومیت با آن، خطرات غیر قابل جبرانی در پی دارد و به وسیله افراد به قصد خودکشی نیز مصرف شده

وجود دارد که موجب افزایش تولید بتا آمیلوئیدها می‌شود. تجمع بتا آمیلوئیدها با فلزات واسطه تشدید می‌گردد. کمپلکس‌های بتا آمیلوئید-فلز تشکیل شده، باید به طور مؤثری پاک‌سازی شوند. در این محل، نقش شلاتورها مانند EDTA نمایان می‌گردد. این شلاتورها می‌توانند تشکیل پلاک‌های بتا آمیلوئیدها را معکوس کنند (۱۲).

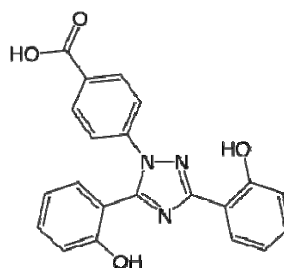
در بیماری تالاسمی، به دنبال لیز گویچه‌های قرمز خون، مقدار آهن خون بالا می‌رود. اگر این روند ادامه پیدا کند و درمان‌های کمکی صورت نگیرد، به دنبال افزایش فعالیت مغز استخوان در تولید گویچه‌های قرمز خون، تغییراتی در ظاهر استخوان‌ها به خصوص استخوان‌های صورت و جمجمه ایجاد می‌شود و به دنبال رسوب آهن در بافت‌های مختلف، مثل قلب، مغز و کبد، مشکلات و اختلالات عمده‌ای برای بیمار به وجود می‌آید که تهدید کننده حیات بیمار خواهد بود. در چنین شرایطی، ارگان‌هایی که بیشترین آسیب را از افزایش سطح آهن سرم خواهند داشت، کبد، قلب و غدد درون ریز هستند (۱۳).

درمان با شلاته کننده‌های آهن به عنوان دارو درمانی انجام می‌گردد. دسفروکسامین (دسفرال، تصویر شماره ۲) که به عنوان داروی انتخابی در درمان افزایش سطح آهن خون (بیماری تالاسمی) استفاده می‌شود، یک شلاتور قوی آهن است (۱۴).

با وجود کاربرد فراوان این دارو به خصوص در بیماران تالاسمی ماژور، نیمه عمر پلاسمایی پایین و جذب خوراکی ناچیز و ضرورت تجویز این دارو به صورت انفوزیون وریدی یا زیرجلدی، پذیرش این دارو را در بیماران به خصوص برای



تصویر شماره ۴: آرایش ۳ بعدی کمپلکس Deferasirox با آهن III (راست) و آرایش خطی مولکول



طور معمول، پنی سیلامین است (۷). در این مورد، شلاتور هایی سنتز شده و مورد بررسی قرار گرفته است. ترینتین (Trientine) یک شلاتور برای مس می باشد (۲۱). اما همچنان تلاش ها برای رسیدن به شلاتورهایی با کمترین عوارض جانبی و بیشترین اثربخشی ادامه دارد. امروزه حتی توانایی شلاته کردن فلانونوئید به عنوان مکانیسمی برای اثر آنتی اکسیدانی آن مطرح شده است (۸). نظر به اهمیت موضوع، در این تحقیق چند ترکیب سنتز بر پایه ساختار ساخارین سنتز شد و سپس میزان توانایی آن ها در شلاته نمودن ۵ کاتیون فلزی یعنی آهن II و III، مس II، نیکل II و آلومینیوم III مورد سنجش قرار گرفت.

است. تاکنون پادزهر مناسبی برای آن معرفی نشده است. تنها ترکیبی که تاکنون باعث تأخیر در مرگ ناشی از مصرف قرص برنج گردیده است، N-استیل سیتین می باشد. اما با این حال، این ترکیب نیز درمان چندان مؤثری محسوب نمی گردد. در مورد یون آلومینیوم، هنوز شلاتور اختصاصی مناسب به عنوان دارو وارد بازار نشده است. اما ویتامین ث، Feralex-G و Deferrioxamine می توانند به عنوان شلاتور آلومینیوم عمل کنند (۲۰، ۱۹).

بیماری ویلسون از جمله بیماری های مرتبط با تجمع یون مس در بدن می باشد. در درمان این بیماری از یک شلاتور جهت خارج نمودن مس استفاده می شود. داروی مصرفی به

References

- De Diego-Otero Y, Romero-Zerbo Y, el Bekay R, Decara J, Sanchez L, Rodriguez-de FF, et al. Alpha-tocopherol protects against oxidative stress in the fragile X knockout mouse: an experimental therapeutic approach for the Fmr1 deficiency. *Neuropsychopharmacology* 2009; 34(4): 1011-26.
- Bendova P, Mackova E, Haskova P, Vavrova A, Jirkovsky E, Sterba M, et al. Comparison of clinically used and experimental iron chelators for protection against oxidative stress-induced cellular injury. *Chem Res Toxicol* 2010; 23(6): 1105-14.
- Ebrahimzadeh MA, Nabavi S.M, Nabavi SF, Eslami B. Free radical scavenging ability of methanolic extract of hyoscyamus squarrosus leaves. *Pharmacologyonline* 2009; 2: 796-802.
- Nabavi SF, Nabavi SM, Ebrahimzadeh MA, Asgarirad H. The antioxidant activity of wild medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit, stem bark and leaf. *African Journal of Biotechnology* 2011; 10(2): 283-9.
- Liu G, Men P, Perry G, Smith MA. Chapter 5-Development of iron chelator-nanoparticle conjugates as potential therapeutic agents for Alzheimer disease. *Prog Brain Res* 2009; 180: 97-108.
- Shachar DB, Kahana N, Kampel V, Warshawsky A, Youdim MB. Neuroprotection by a novel brain permeable iron chelator, VK-28, against 6-hydroxydopamine lesion in rats. *Neuropharmacology* 2004; 46(2): 254-63.
- Merle U, Schaefer M, Ferenci P, Stremmel W. Clinical presentation, diagnosis and long-term outcome of Wilson's disease: a cohort study. *Gut* 2007; 56(1): 115-20.
- Brown JE, Khodr H, Hider RC, Rice-Evans CA. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. *Biochem J* 1998; 330 (Pt 3): 1173-8.
- Zheng H, Weiner LM, Bar-Am O, Epsztejn S, Cabantchik ZI, Warshawsky A, et al. Design, synthesis, and evaluation of novel bifunctional iron-chelators as potential agents for neuroprotection in Alzheimer's, Parkinson's, and other neurodegenerative diseases. *Bioorg Med Chem* 2005; 13(3): 773-83.
- Farkas E, Enyedy EA, Zekany L, Deak G. Interaction between iron(II) and hydroxamic acids: oxidation of iron(II) to iron(III) by desferrioxamine B under anaerobic conditions. *J Inorg Biochem* 2001; 83(2-3): 107-14.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39(1): 44-84.
- Kontush A. Alzheimer's amyloid-beta as a preventive antioxidant for brain lipoproteins. *Cell Mol Neurobiol* 2001; 21(4): 299-315.
- Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999; 341(26): 1986-95.
- Kawano I, Oda T, Ishimatsu A, Muramatsu T. Inhibitory effect of the iron chelator desferrioxamine (Desferal) on the generation of activated oxygen species by *Chattonella marina*. *Marine Biology* 1996; 126(4): 765-71.
- Gaboriau F, Leray AM, Ropert M, Gouffier L, Cannie I, Troadec MB, et al. Effects of deferasirox and deferiprone on cellular iron load in the human hepatoma cell line HepaRG. *Biometals* 2010; 23(2): 231-45.
- Rouan MC, Marfil F, Mangoni P, Sechaud R, Humbert H, Maurer G. Determination of a new oral iron chelator, ICL670, and its iron complex in

- plasma by high-performance liquid chromatography and ultraviolet detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001; 755(1-2): 203-13.
17. Yang LP, Keam SJ, Keating GM. Deferasirox: a review of its use in the management of transfusional chronic iron overload. *Drugs* 2007; 67(15): 2211-30.
 18. Jiao Y, Wilkinson J, Di X, Wang W, Hatcher H, Kock ND, et al. Curcumin, a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent, is a biologically active iron chelator. *Blood* 2009; 113(2): 462-9.
 19. Kruck TP, Burrow TE. Synthesis of feralex a novel aluminum/iron chelating compound. *J Inorg Biochem* 2002; 88(1): 19-24.
 20. Kruck TP, Cui JG, Percy ME, Lukiw WJ. Molecular shuttle chelation: the use of ascorbate, desferrioxamine and Feralex-G in combination to remove nuclear bound aluminum. *Cell Mol Neurobiol* 2004; 24(3): 443-59.
 21. Cooper GJ, Young AA, Gamble GD, Occleshaw CJ, Dissanayake AM, Cowan BR, et al. A copper (II)-selective chelator ameliorates left-ventricular hypertrophy in type 2 diabetic patients: a randomised placebo-controlled study. *Diabetologia* 2009; 52(4): 715-22.