

Cytotoxicity and Antimicrobial Activities of Dihydropyrimidine Derivatives Containing Pyrrole

Erfan Agaghantabar ¹,
Hossein Najafzadeh Darzi ²,
Zahra Molana ³,
Roghayeh Pourbagher ⁴,
Asieh Khalilpour ⁵

¹ Medical Student, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

² Professor, Cellular and Molecular Biology Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

³ Assistant Professor, Department of Laboratory Sciences, Faculty of Paramedicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

⁴ PhD in Applied Cell Science, Cellular and Molecular Biology Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

⁵ Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, Cellular and Molecular Biology Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

(Received October 14, 2024; Accepted February 22, 2025)

Abstract

Background and purpose: Given the important role that heterocyclic compounds play in the pharmaceutical and medical industries; it is essential to understand their unique properties. In particular, the presence of two heterocyclic rings in these compounds enhances their biological activity and makes them valuable in various therapeutic applications. Numerous studies have shown that heterocyclic compounds derived from pyrimidine and pyrrole exhibit various biological activities, including antimicrobial, antifungal, antiviral, and antitumor properties. Therefore, this study aims to evaluate the antimicrobial and anticancer effects of synthetic compounds on several Gram-positive and Gram-negative bacteria, as well as normal and cancerous breast cell lines, in vitro.

Materials and methods: In this experimental study, ten derivatives of dihydropyrimidine compounds attached to pyrrole were synthesized. The antibacterial activity of these compounds was evaluated against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis*, and compared with gentamicin and ciprofloxacin. Their anticancer activity was assessed in a breast cancer cell line, compared with doxorubicin, at 48 and 72 hours using an MTT assay to determine cytotoxicity.

Results: Among these compounds, compound 4e, which contains chlorine, exhibited the highest antimicrobial effect, with MIC= 3.90 µg/ml and MBC= 7.81 µg/ml, compared to gentamicin, which had MIC= 0.031 µg/ml and MBC= 0.125 µg/ml. Also, compound 4e demonstrated the highest inhibitory effect, with IC₅₀= 0.16 ± 0.009 µM, compared to doxorubicin (IC₅₀= 3.42 ± 0.10 µM), which was used as the reference drug after 48 hours.

Conclusion: The results of this research demonstrated the effectiveness of synthetic compounds against Gram-positive bacteria and cancer cells. These findings suggest that these compounds have the potential to serve as effective antimicrobial and anticancer agents.

Keywords: pyrimidine, pyrrole, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, breast cancer, normal cell lines

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 35 (243): 27-38 (Persian).

Corresponding Author: Asieh Khalilpour - Cellular and Molecular Biology Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. (E-mail: Asieh.khalilpour@gmail.com)

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی و سمیت سلولی مشتقات دی هیدروپیریمیدین متصل شده به پیرول

عرفان آقاجان تبار^۱

حسین نجف زاده درزی^۲

زهرا مولانا^۳

رقیه پور باقر^۴

آسیه خلیل پور^۵

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به نقش مهمی که ترکیبات هتروسیکلیک در صنایع دارویی و پزشکی ایفا می کنند، شناخت ویژگی های منحصر به فرد این ترکیبات ضروری است. به ویژه وجود دو حلقه هتروسیکلیک در این ترکیبات به افزایش فعالیت بیولوژیکی آن ها کمک می کند و آن ها را در کاربردهای مختلف درمانی ارزشمند می کند. مطالعات متعدد نشان داده است که ترکیبات هتروسیکلیک مشتق شده از پیریمیدین و پیرول فعالیت های بیولوژیکی از جمله خواص ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد ویروسی و ضد توموری را نشان می دهند. بنابراین، این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات ضد میکروبی و ضد سرطانی ترکیبات سنتزی بر روی چندین باکتری گرم مثبت و گرم منفی و رده های سلولی طبیعی و سرطانی پستان در شرایط آزمایشگاهی، انجام پذیرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، ۱۰ مشتق از ترکیبات دی هیدروپیریمیدین متصل شده به پیرول سنتز شد. فعالیت ضد باکتریایی این ترکیبات علیه باکتری های *اشرشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوک اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* در مقایسه با داروی جنتامایسین و سیپروفلوکساسین و فعالیت ضد سرطانی آن ها رده سلول سرطانی و نرمال پستان در مقایسه با داروی دوکسوروبیسین در بازه زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت با تست سمیت بررسی شد.

یافته ها: در میان این ترکیبات، ترکیب (۴e) حاوی کلر بالاترین اثر ضد میکروبی ($MIC = \mu g/ml$ ۳/۹۰) و ($MIC = \mu g/ml$ ۷/۸۱) و برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* را به ترتیب در مقایسه با جنتامایسین ($MIC = \mu g/ml$ ۰/۰۳۱) و ($MBC = \mu g/ml$ ۱۲۵/۱۲۵) داشتند. هم چنین ترکیب (۴e) با بالاترین اثر مهار کنندگی ($IC_{50} = \mu M$ ۰/۱۶ $\pm$ ۰/۰۰۹) را در مقایسه با دوکسوروبیسین ($IC_{50} = \mu M$ ۳/۴۲ $\pm$ ۰/۱۰) به عنوان استاندارد پس از ۴۸ ساعت نشان داد.

استنتاج: نتایج به دست آمده از این پژوهش اثر ترکیبات سنتزی را بر روی باکتری های گرم مثبت و سلول های سرطانی نشان داد؛ بنابراین، این ترکیبات می توانند به عنوان عوامل ضد میکروبی و سرطانی موثر مورد استفاده قرار گیرند.

واژه های کلیدی: پیریمیدین، رده سلول سرطانی و نرمال پستان، تست سمیت، حداقل غلظت بازدارنده، حداقل غلظت کشندگی

Email: Asieh.khalilpour@gmail.com

مؤلف مسئول: آسیه خلیل پور - بابل: دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۱. دانشجوی پزشکی عمومی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۲. استاد فارماکولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۳. استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۴. دکتری علوم سلولی کاربردی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۵. استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۷/۲۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۳/۷/۲۵ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۱۲/۴

مقدمه

ترکیب‌های هتروسیکلیک اساس بسیاری از داروهای طبیعی، سنتزی، شیمیایی، گیاهی و محصول‌های دامپزشکی را تشکیل می‌دهند. یکی از اهداف اصلی شیمی آلی و بیوانفورماتیک دارویی طراحی، سنتز و تولید مولکول‌هایی با داشتن ارزش تولیدی به عنوان عوامل درمانی بشر است (۱). ساختارهای هتروسیکل متعلق به گروهی از ترکیب‌ها هستند که نقش شیمی دارویی در آن‌ها به اثبات رسیده است (۲). نوکلئوتیدهای پیریمیدین در سنتز DNA، RNA در همه ارگانیسم‌های زنده اهمیت بنیادی دارند. سیستم حلقه‌ای پیریمیدین به‌طور گسترده‌ای در طبیعت به عنوان ترکیب‌های استخلاف‌دار شده و حلقه جوش خورده و مشتق‌های آن، از جمله نوکلئوتیدها، تیامین و آلوکسان یافت می‌شود. مطالعه مربوط به روابط ساختار فعال داروهای پیریمیدین عرضه شده در بازار نشان می‌دهد که اگر یک حلقه هتروسیکلیک اشباع در روی اتم N قرار بگیرد منجر به فعالیت ضدسرطانی و ضد ویروسی ترکیب پیریمیدینی می‌شود (۳).

در دهه‌های اخیر مشتقات پیریمیدین‌های جوش خورده به عنوان دسته‌ای از ترکیب‌های هتروسیکل پر کاربرد در شیمی دارویی مطرح بوده اند. این ترکیب‌ها در حیطه دارویی دارای فعالیت‌های ضد سرطان، ضد ویروسی، ضد باکتری، خلط‌آوری، درمان عفونت ادراری دارویی، پارکینسون، عفونت دستگاه تنفسی و گوش، گشاد کننده عروق، درمان اختلال‌های کبدی، نوروپاتی محیطی و اختلال‌های وابسته به اسید اوریک خون هستند (۴).

امروزه نتایج آمارهای جهانی در رابطه با بیماری‌های مهلک و مرگ بار نشان می‌دهد که ضایعه سرطان روز به روز در حال گسترش است و پیدا کردن داروهای ایده آل ضد سرطان که بدون آسیب رساندن به بافت‌های طبیعی بدن بتوانند سلول‌های سرطانی را از میان بردارند، یکی از نگرانی‌های مهم در حوزه علوم پزشکی است. از طرفی مقدار دارو و چگونگی مصرف

یک دارو و اثرهای درمانی آن بسیار حائز اهمیت است. تازگی‌ها استفاده از پیریمیدین‌ها با توجه به ویژگی‌های درمانی، زیست سازگاری و سمیت پایین که دارا هستند، از گزینه‌های جذابی در بحث پیشگیری و درمان سرطان است، با توجه به اثرهای این ترکیب‌ها، نوع استخلاف‌های موجود در ساختار پیریمیدین‌ها، سمیت پایین، القاء کنندگی و یا تقویت واکنش‌های ایمنی، تنظیم سیستم دفاعی می‌توان از آن‌ها در مطالعه‌ها و کاربردهای دارویی استفاده کرد (۵). در این مطالعه هدف، ارزیابی فعالیت ضد میکروبی و ضد سرطانی مشتقات دی هیدروپیریمیدین متصل شده به پیرویل بر روی *Escherichia coli* باکتری‌های *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* و رده سلول سرطانی MCF-7 و نرمال MCF-10 در دوزها و زمان‌های مختلف است. اهداف کاربردی این تحقیق استفاده از این ترکیب‌ها در پژوهش‌های مولکولی دارویی به عنوان ترکیب‌های مؤثر دارویی غیر سیتوتوکسیک و باکتری و هم‌چنین استفاده از استخلاف‌های به کار رفته در طراحی داروهای ضد سرطانی و باکتری جدید است.

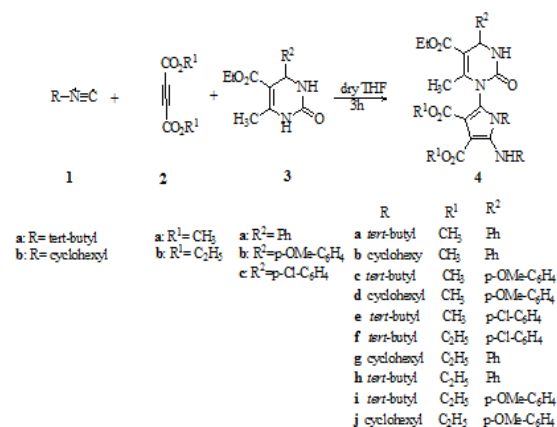
مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع مقطعی - آزمایشگاهی، با کد اخلاق IR.MUBABOL.REC.1401.151 می‌باشد که در آن فعالیت ضد باکتریایی و ضد سرطانی ۱۰ مشتق سنتز شده از قبل با ساختار دی هیدروپیریمیدین متصل شده به پیرویل (۴) مورد ارزیابی قرار گرفته است. فعالیت ضد باکتریایی این ترکیبات علیه باکتری‌های *اشرشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوک اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* در مقایسه با داروهای جنتامایسین و سیپروفلوکساسین و فعالیت ضد سرطانی آن‌ها بر روی رده سلول سرطانی پستان و نرمال در مقایسه با داروی دوکسوروبیسین در بازه زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت با تست تعیین سمیت (MTT assay) بررسی شد.

روش کار واکنش سه جزئی ۳،۴-دی هیدرو پیریمیدین-

۲-اون با دی استرهای استیلنی و ایزوسیانیدها

به محلولی از ۳،۴-دی هیدرو پیریمیدین-۲-اون (۱ میلی-مول، ۰/۲۶ گر) و دی آلکیل استیلن دی کربوکسیلات (۱ میلی-مول) در تتراهیدروفوران (۵ میلی لیتر) که به وسیله همزن مغناطیسی هم زده می شود، محلول رقیق شده ای از ایزوسیانید (۲ میلی-مول) در دو میلی لیتر تتراهیدروفوران به صورت قطره قطره به مدت ۱۰ دقیقه اضافه شد. سپس مخلوط واکنش به مدت ۳ ساعت در دمای محیط پیشرفت واکنش به روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و با استفاده از نسبت مناسب از حلال های هگزان و اتیل استات (۷:۳) دنبال شد. پس از پایان واکنش، حلال با استفاده از دستگاه تبخیرکن چرخان (روتاری) در فشار کم خارج شد و محصول واکنش به کمک ستون کروماتوگرافی و تحت فشار کم، جداسازی شد (تصویر شماره ۱) (۶).



تصویر شماره ۱: سنتز سه جزئی ۳،۴-دی هیدرو پیریمیدین-۲-اون با دی استرهای استیلنی و ایزوسیانیدها

آزمایش میکرو دایلوژن برات برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی

آزمایش MIC، در میکروپلیت ۹۶ چاهکی استریل و با روش برات میکرو دایلوژن انجام خواهد شد. این میکروپلیت ها، دارای ۸ ردیف ۱۲ چاهکی به حجم ۲۵۰ میکرو لیتر هستند. ابتدا از محیط کشت نوترینت برات،

۱۰۰ µl داخل ۹۶ چاهک میکروپلیت ریخته و به اولین چاهک هر ردیف، توسط سمپلر، ۱۰۰ µl از ترکیبات سنتزی (که در حلال DMSO حل شده بود) اضافه می گردد؛ سپس ۱۰۰ µl، از چاهک اول برداشته و در چاهک دوم ریخته شد. بعد از چند بار پر و خالی کردن توسط سمپلر، ۱۰۰ µl از چاهک دوم برداشته و به چاهک سوم ریخته شد. این کار تا چاهک شماره ۱۱ ادامه داده شد. سپس ۱۰ µl از محیط کشت حاوی باکتری استاندارد خریداری شده شامل *Escherichia coli* (ATCC 25922)، *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)، *Bacillus subtilis* (1715 PY79) و *Pseudomonas aeruginosa* (1561) اضافه می شود که معادل 10^5 cfu/ml، اضافه می شود که معادل کدورت نیم مک فارلند شده بود. به تمام چاهک ها به استثنای چاهک شماره ۱۱ هر ردیف اضافه و چاهک های شماره ۱۱ هر ردیف، به عنوان شاهد ترکیبات (کنترل منفی)، فقط حاوی محیط کشت و ترکیبات سنتزی و چاهک های شماره ۱۲ هر ردیف، به عنوان شاهد باکتری (کنترل مثبت) حاوی محیط کشت و باکتری می باشد. در ردیف های دیگر از آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین و جنتامایسین برای تعیین حساسیت باکتری های فوق استفاده گردید. پس از تلقیح باکتری ها، میکروپلیت بر روی شیکر به مدت ۳۰ ثانیه قرار داده تا مخلوط کاملاً یکنواخت گردد. برای این آزمایش غلظت هایی از ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶۲، ۷/۸ استفاده شد. نتیجه MIC بر اساس کدورت محیط کشت که نشان دهنده رشد باکتری است بررسی گردید. در مرحله آخر، میکروپلیت در انکوباتور با دمای ۳۷ °C به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و بعد از اتمام انکوباسیون، کدورت یا عدم کدورت در چاهک ها به صورت چشمی مشاهده شد. برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد، کم ترین غلظتی که کدورتی نداشت و به عبارت دیگر رشد باکتری در آن مشاهده نشد، به عنوان عدد MIC منظور گردید (۷).

بررسی حداقل غلظت کشنده

برای اندازه گیری حداقل غلظت کشندگی، از چاهک‌های فاقد کدورت (غلظت‌های MIC و بیش‌تر از آن)، مقدار ۱۰ µl در شرایط کاملاً استریل و در نزدیکی شعله برداشته و بر روی محیط بلاد آگار، تلقیح و کشت داده شد. پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته در دمای ۳۷ °C، کم‌ترین رقتی که توانسته ۹۹/۹ درصد باکتری‌ها را بکشد، به عنوان رقت MBC در نظر گرفته و از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و سیپروفلوکساسین برای مقایسه قدرت مهارکنندگی آن با ترکیبات سنتزی استفاده گردید. کلیه مراحل آزمایش، سه بار تکرار و نتایج به صورت میانگین آن‌ها ارائه شد (۷).

همه داده‌های مربوط به تعیین حداقل غلظت بازدارندگی، بررسی حداقل غلظت کشنده و فعالیت سمیت سلولی با سه بار تکرار برای هر نمونه، به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان می‌شود و با استفاده از فرمول $[(OD \text{ control} - OD \text{ sample}) / OD \text{ control}] \times 100$ در صد مهار محاسبه خواهد شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌ها پس از جمع‌آوری وارد نرم‌افزار آماری SPSS 20 شدند و با آزمون‌های آماری کروسکال-والیس و من-وینتی در سطح اطمینان ۹۵ درصد آنالیز شدند.

یافته‌ها

بررسی فعالیت ضد میکروبی مشتقات بر روی باکتری‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوک اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سوبتیلیس خاصیت ضد باکتریایی ترکیبات سنتزی در مقابل باکتری‌های اشرشیاکلاهی و سودوموناس آئروژینوزا به‌عنوان دو باکتری گرم منفی و باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس به‌عنوان دو باکتری گرم مثبت بررسی و با فعالیت دو آنتی‌بیوتیک استاندارد شناخته شده سیپروفلوکساسین و جنتامایسین مقایسه شده است.

بررسی فعالیت ضد میکروبی برای کلیه فراورده‌ها z-4a در جدول شماره ۱، نشان داده است که این ترکیبات، فعالیت ضد میکروبی بیش‌تری را در برابر باکتری‌های گرم مثبت و فعالیت ضد میکروبی کم‌تری را در برابر باکتری‌های گرم منفی از خود نشان دادند. در ارتباط با نتایج مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) ترکیبات مورد آزمایش در ارتباط با باکتری‌های مورد مطالعه نیز نتایج قابل قبولی به ویژه در مورد استافیلوکوک اورئوس (باکتری گرم مثبت) ذکر شده به دست آمد؛ کم‌ترین غلظت مهارکننده رشد مربوط به باکتری

روش کار بررسی اثر سمیت سلولی

سلول سرطانی MCF7 و سلول‌های نرمال MCF10 برای بررسی سمیت مشتقات سنتزی با استفاده از روش استاندارد MTT [۳-(۵،۴-دی متیل تiazول-۲-ای)-۵،۲-دی فنیل ترازولیوم برومید] به کار گرفته می‌شوند. سلول‌های سرطانی در محیط کشت DMEM همراه با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی FBS و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک (۱۰۰ U/mL پنی سیلین، ۱۰۰ µg/mL استرپتومایسین) در یک فلاسک کشت و سپس در انکوباتور CO₂ در دمای ۳۷ °C کشت داده شد. سپس به سلول‌های سرطانی در محیط کشت غلظت‌های مختلف از ۰، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۵۰ و ۱۲۵ نمونه‌های سنتزی اضافه و در دمای ۳۷ °C به مدت ۷۲-۲۴ ساعت در انکوباتور قرار می‌گیرند. به عنوان کنترل یک محیط کشت سلول سرطانی بدون نمونه سنتزی در نظر گرفته و برای روش سمیت، ۵۰ میلی لیتر از محلول MTT (۵ mg/mL) به همه محیط کشت‌ها اضافه و به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ °C در انکوباتور قرار داده شد، سپس کریستال‌های MTT فورمازان بنفش حل شده در ایزوپروپانول اسیدی در ۱ میلی لیتر DMSO حل شده و دانسیته نوری OD در ۵۷۰ نانومتر اندازه گیری می‌شوند (۸).

جدول شماره ۱: فعالیت ضد میکروبی مشتقات 4a-j بر روی باکتری های اشرشیاکلی، استافیلوکوک اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سوبتیلیس

compounds	gram negative (µg/ml)				Gram positive (µg/ml)			
	Escherichia coli		Pseudomonas aeruginosa		B. subtilis		S. aureus	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
4a	۱۲۵	۲۵۰	۱۲۵	۲۵۰	۶۲/۵	۲۵۰	۶۲/۵	۱۲۵
4b	۱۲۵	۲۵۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۲۵	۲۵۰	۱۲۵	۲۵۰
4c	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۳۱/۲۰	۶۲/۵	۳۱/۲۰	۶۲/۵	۱۵/۶۰	۳۱/۲۰
4d	۶۲/۵	۱۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵۰
4e	۷/۸۱	۱۵/۶۲	۷/۸۱	۱۵/۶۲	۷/۸۱	۱۵/۶۲	۳/۹۰	۷/۸۱
4f	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۷/۸۱	۱۵/۶۲
4g	۲۵۰	۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰
4h	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰
4i	۶۲/۵۵	۱۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵
4j	۶۲/۵	۱۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵
ciprofloxacin	۰/۰۱۶	۰/۰۶۲	۰/۰۶۲	۰/۱۲۵	۰/۰۳۱	۰/۰۶۲	۰/۰۳۱	۰/۱۲۵
gentamicin	۴	۸	۱۲۸	-	۴	۸	۰/۵	۱

کار در این بررسی، سنجیدن میزان کارایی ترکیبات سنتز شده در مهار کردن رشد و یا نابود کردن این سلول سرطانی است. در بررسی سمیت این ترکیبات، از غلظت های مختلف ۱۲۵، ۶۲، ۳۱، ۱۵، ۷/۵ µg/mL آن ها در مهار کردن رشد و یا نابود کردن سلول های سرطانی استفاده شده است. همچنین این مطالعات بعد از گذشت زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت تکرار شده است. لازم به ذکر است از یک نمونه فاقد ترکیبات سنتزی به عنوان کنترل منفی و از ترکیب دو کسورویسین (Doxorubicin) به عنوان کنترل مثبت در این بررسی ها استفاده شده است. درصد زنده ماندن سلولی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شده است.

$$100 \times \text{جذب کنترل} / \text{جذب نمونه} = \text{درصد زنده ماندن سلولی}$$

ارتباط مهار کنندگی رشد سلول ها با غلظت های مورد استفاده در سلول های سرطانی (MCF-7) برای ترکیبات سنتزی 4a-j در مقایسه با رده سلولی طبیعی (MCF-10) در ۴۸ و ۷۲ ساعت نشان می دهند که ترکیبات سنتزی مورد مطالعه بر روی سلول سرطانی مورد آزمایش دارای سمیت سلولی در اکثر غلظت ها بوده اند. در همه موارد با افزایش غلظت نمونه های سنتزی، درصد زنده ماندن سلول کاهش می یابد که این بیانگر افزایش مهار کنندگی رشد سلول ها در غلظت های بالاتر است، به طوری که در همه موارد، کم ترین مهار شدگی

استافیلوکوک اورئوس و ترکیب 4e است که گمان می رود گروه عاملی کلر متصل به موقعیت پارا، با فعالیت ضد میکروبی خود باعث ایجاد خاصیت ضد باکتریایی شده باشند. در مقایسه دو باکتری گرم مثبت، باکتری استافیلوکوک اورئوس نسبت به ترکیبات سنتزی حساس تر بودند و بیش ترین مقدار غلظت مربوط به باکتری اشرشیاکلی و ترکیب 4h است که فاقد استخلاف می باشد. حداقل غلظت کشندگی ۷/۸۱ µg/ml مربوط به ترکیب 4e و باکتری استافیلوکوک اورئوس می باشد و حداکثر غلظت کشندگی ۵۰۰ µg/ml و ترکیب 4h می باشد که مربوط به باکتری های گرم منفی که میزان MBC با MIC برابر بود، به طوری که همان غلظتی که باعث ممانعت از رشد باکتری ها می شود سبب کشته شدن باکتری ها نیز می گردد. در بررسی هر کدام از مشتقات (4a-j) نسبت به داروی سیروفلاکسین به عنوان کنترل منفی و جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت مشاهده شد اختلاف بین میانگین های MIC و MBC ترکیبات مختلف مورد سنجش با داروی استاندارد برای باکتری های گرم منفی و مثبت معنی دار است.

بررسی اثر سمیت ترکیبات سنتزی بر روی سلول سرطانی پستان

به منظور بررسی سمیت ترکیبات سنتزی، از سلول های سرطانی پستان یعنی MCF7 استفاده شد. اساس

در کم‌ترین غلظت ($7/5 \mu\text{g/mL}$) و بیش‌ترین مهارشدگی در بالاترین غلظت ($125 \mu\text{g/mL}$) مشاهده شده است. هم‌چنین بررسی میزان مهارکنندگی ترکیبات مختلف پس از زمان‌های مختلف (۴۸ و ۷۲ ساعت) نشان می‌دهد در زمان ۴۸ ساعت برای همه ترکیبات مهارکنندگی مشاهده می‌شود. ولی وقتی زمان به ۷۲ ساعت افزایش یافت در برخی موارد کاهش مهارکنندگی مشاهده می‌شود که این می‌تواند یا ناشی از سازگاری سلول‌های سرطانی باشد و یا کاهش اثر گذاری این ترکیبات بر سلول سرطانی پس از گذشت زمان طولانی تر ۷۲ ساعت باشد (۸).

مقادیر IC_{50} برای ترکیبات سنتزی ز-4a پس از گذشت زمان ۴۸ ساعت، در جدول شماره ۲ آورده شده است. در بین این ترکیبات، 4e و 4f که شامل استخلاف کلر می‌باشند، کم‌ترین مقدار IC_{50} مقدار ($0/16 \pm 0/009 \mu\text{g/mL}$) برای ترکیب 4e و مقدار ($0/17 \pm 0/007 \mu\text{g/mL}$) برای ترکیب 4f و بیش‌ترین اثر مهارکنندگی را از خود نشان داده‌اند.

جدول شماره ۲: فعالیت ضد سرطانی ترکیبات ز-4a در برابر رده‌های سلولی MCF-7 (سرطان سینه) و MCF-10 (طبیعی) از طریق سنجش MTT پس از ۴۸ ساعت

ترکیبات	$IC_{50} \pm SDa (\mu\text{M})$ MCF-7	$IC_{50} \pm SDa (\mu\text{M})$ MCF-10	۱
4a	$10/58 \pm 0/008$	$35/56 \pm 0/012$	۲
4b	$11/81 \pm 0/007$	$50/90 \pm 0/001$	۳
4c	$2/37 \pm 0/009$	$55/75 \pm 0/008$	۴
4d	$5/35 \pm 0/001$	$23/41 \pm 0/001$	۵
4e	$0/16 \pm 0/009$	$85/87 \pm 0/001$	۶
4f	$0/17 \pm 0/007$	$48/11 \pm 0/009$	۷
4g	$10/99 \pm 0/016$	$45/38 \pm 0/015$	۸
4h	$13/71 \pm 0/009$	$11/93 \pm 0/001$	۹
4i	$6/18 \pm 0/008$	$18/87 \pm 0/001$	۱۰
4j	$7/19 \pm 0/006$	$27/11 \pm 0/009$	۱۱
دوکسوروبین	$3/42 \pm 0/10$	-	۱۲

ترکیبات 4c، 4d، 4i و 4j شامل استخلاف متوکسی به‌عنوان گروه الکترون دهنده، سمیت متوسط از خود نشان دادند. ولی ترکیبات سنتزی 4a، 4b، 4g و 4h (فاقد استخلاف) کم‌ترین سمیت را نشان دادند. به‌طور کلی، این مقایسه با کنترل مثبت (دوکسوروبین) که پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، IC_{50} معادل $\mu\text{g/mL}$

$3/426 \pm 0/1$ دارد، صورت گرفته است. از آنجایی که ترکیب 4e کم‌ترین اثر سیتوتوکسیک را در برابر آن نشان داد رده سلولی نرمال ($IC_{50} = 85/87 \pm 0/01$ میکرومولار)، موثرترین ترکیب در بین تمام ترکیبات در این مطالعه در نظر گرفته شده است. مقایسه بین نمونه کنترل با مشتقات با آزمون تی-تست در سطح $P = 0/54$ اثر معنی‌داری نداشت.

جدول شماره ۲: فعالیت ضد سرطانی ترکیبات ز-4a در برابر رده‌های سلولی MCF-7 (سرطان سینه) و MCF-10 (طبیعی) از طریق سنجش MTT پس از ۴۸ ساعت

ترکیبات	$IC_{50} \pm SDa (\mu\text{M})$ MCF-7	$IC_{50} \pm SDa (\mu\text{M})$ MCF-10	۱
4a	$10/58 \pm 0/008$	$35/56 \pm 0/012$	۲
4b	$11/81 \pm 0/007$	$50/90 \pm 0/001$	۳
4c	$2/37 \pm 0/009$	$55/75 \pm 0/008$	۴
4d	$5/35 \pm 0/001$	$23/41 \pm 0/001$	۵
4e	$0/16 \pm 0/009$	$85/87 \pm 0/001$	۶
4f	$0/17 \pm 0/007$	$48/11 \pm 0/009$	۷
4g	$10/99 \pm 0/016$	$45/38 \pm 0/015$	۸
4h	$13/71 \pm 0/009$	$11/93 \pm 0/001$	۹
4i	$6/18 \pm 0/008$	$18/87 \pm 0/001$	۱۰
4j	$7/19 \pm 0/006$	$27/11 \pm 0/009$	۱۱
دوکسوروبین	$3/42 \pm 0/10$	-	۱۲

مقادیر IC_{50} برای ترکیبات سنتزی ز-4a پس از گذشت زمان ۷۲ ساعت، در جدول شماره ۳ آورده شده است. در بین این ترکیبات، 4e و 4f که شامل استخلاف کلر می‌باشند، کم‌ترین مقدار IC_{50} مقدار $0/005 \pm 0/007 \mu\text{g/mL}$ برای ترکیب 4e و مقدار $0/40 \pm 0/007 \mu\text{g/mL}$ برای ترکیب 4f و بیش‌ترین اثر مهارکنندگی را از خود نشان داده‌اند. ترکیبات 4c، 4d، 4i و 4j شامل استخلاف متوکسی به‌عنوان گروه الکترون دهنده، سمیت متوسط از خود نشان دادند. ولی ترکیبات سنتزی 4a، 4b، 4g و 4h (فاقد استخلاف) کم‌ترین سمیت را نشان دادند. به‌طور کلی، این مقایسه با کنترل مثبت (دوکسوروبین) که پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون، IC_{50} معادل $0/10 + 0/68 \mu\text{g/mL}$ دارد، صورت گرفته است. از آنجایی که ترکیب 4f کم‌ترین اثر سیتوتوکسیک را در برابر آن نشان داد رده سلولی نرمال ($IC_{50} = 85/87 \pm 0/01$ میکرومولار)، موثرترین ترکیب در بین تمام ترکیبات در این مطالعه در نظر گرفته شده است. مقایسه

بین نمونه کنترل با مشتقات با آزمون تی تست در سطح $P = 0/01$ اختلاف معنی داری داشت. هم چنین مقایسه بین زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت اختلاف معنی دار نشد ($P = 0/593$).

جدول شماره ۳: فعالیت ضد سرطانی ترکیبات a-j۴ در برابر رده های سلولی MCF-7 (سرطان سینه) و MCF-10 (طبیعی) از طریق سنجش MTT پس از ۷۲ ساعت

۱	ترکیبات	IC50±SDa (μM) MCF-7	IC50±SDa (μM) MCF-10
۲	4a	۹/۲۲±۰/۰۱۵	۵۰/۰۴±۰/۰۰۴
۳	4b	۱۲/۷۹±۰/۰۰۹	۲۹/۱۸±۰/۰۱۴
۴	4c	۰/۹±۰/۰۰۷	۰/۰۰۳±۰/۰۰۸
۵	4d	۵/۷۴±۰/۰۰۴	۷/۸۸±۰/۰۰۸
۶	4e	۰/۳۲±۰/۰۰۵	۴۴/۰۵±۰/۰۰۱
۷	4f	۰/۴۰±۰/۰۰۷	۵۲/۴۶±۰/۰۰۸
۸	4g	۱۷/۰۷±۰/۰۰۱	۳۱/۱۲±۰/۰۰۴
۹	4h	۲۳/۱۶±۰/۰۱۴	۴۴/۶۴±۰/۰۱۱
۱۰	4i	۶/۷۱±۰/۰۰۸	۵۲/۷۸±۰/۰۰۶
۱۱	4j	۷/۶۳±۰/۰۰۷	۴/۶۴±۰/۰۰۹
۱۲	دوکوروسین	۰/۶۸±۰/۰۰۱	-

بحث

مطالعه روابط ساختار فعال (SAR) مربوط به داروهای پیریمیدین عرضه شده در بازار نشان می دهد که اگر یک حلقه هتروسیکلیک اشباع در موقعیت A قرار بگیرد منجر به فعالیت ضد سرطانی و ضد ویروسی ترکیب پیریمیدینی می شود. اگر پیریمیدین از دومین موقعیت یعنی ناحیه B توسط حلقه های ۵ یا ۶ عضوی هتروسیکل اشباع استخلاف دار شود، باعث بروز فعالیت ضد پارکینگسون، خلط آوری و درمان اختلال های گوارشی و نوروپاتی محیطی، استخلاف دار شدن توسط گروه های کتونی یا آمینو ویا هر دو می شود. در موقعیت های ۲ و ۴ حلقه پیریمیدینی یعنی نواحی B منجر به فعالیت ضد سرطان، ضد ویروس، ضد باکتری، ضد قارچ، درمان عفونت دستگاه تنفسی و اختلال های کبدی می شود. استخلاف دار شدن در موقعیت پنجم ناحیه C حلقه پیریمیدینی با آمین ها یا حلقه هتروسیکل اشباع باعث بروز فعالیت ضد باکتری و ضد سرطانی می شود. موقعیت های ۵ و ۶ حلقه پیریمیدین ناحیه D جوش خورده با حلقه های هتروسیکل استخلاف دار شده در موقعیت اورتو، متا و پارا با حلقه های آریل، باعث فعالیت ضد سرطان، ضد ویروس، ضد باکتری، تأخیر خونریزی

شاهرگی و درمان عفونت های دستگاه ادراری این دسته از ترکیب های دارویی می شود (۹-۱۱). هم چنین نشان داده ا پیریمیدین بر تنظیم مسیرهای متابولیسم سلولی و مسیرهای سرطانی در جهت درمان مؤثر است (۱۲).

پیریمیدین و پیرول دو ترکیب آلی شناخته شده از هتروسیکل ها می باشند که در تعداد زیادی از ترکیبات مهم موجود در طبیعت وجود دارند. هم چنین مقالات اخیر نشان داده است که از بعضی از ترکیبات حاوی هسته پیریمیدین و پیرول، به عنوان یک هتروسیکل منحصر به فرد و یا همراه با سایر هتروسیکل ها می توانند خواص ضد باکتری، ضد سرطانی، ضد قارچی و ضد ویروسی قابل توجهی از خود نشان دهند (۱۳-۱۶).

مقاومت ضد میکروبی یکی از مهم ترین نگرانی های بهداشت عمومی در سراسر جهان است و بر هزینه های مربوط به درمان، بستری شدن در بیمارستان و روش های کنترل عفونت، به بار اقتصادی کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه موثر است. بخشی از نقش مطلوب پیریمیدین ها در بیماری های عفونی ممکن است از خواص ضد باکتریایی آن ها ناشی شود. مشتقات کلردار در مطالعه حاضر فعالیت ضد باکتریایی بر روی باکتری های گرم مثبت در شرایط آزمایشگاهی را نشان دادند. 4e بهترین عملکرد ضد باکتریایی را نشان داد و ترکیبات با استخلاف متوکسی و بدون استخلاف در رتبه های بعدی قرار گرفتند.

در مطالعه Patel و همکاران در سال ۲۰۲۱، که در زمینه ارزیابی بیولوژیکی برخی از مشتقات پیرول و دی هیدروپیریمیدین به عنوان عوامل ضد میکروبی بالقوه انجام دادند، تمامی مشتق ها از نظر فعالیت ضد میکروبی در شرایط آزمایشگاهی با روش میکرو برات رقیق سازی و خاصیت ضد سلی در شرایط آزمایشگاهی با روش میکروپلیت آلامار بلو ارزیابی شدند. ترکیبات j۳ و l۱ حاوی گروه های OH- و CH3- به عنوان ضد میکروبی قوی و کاندیدهای ضد سل با سمیت سلولی نسبتاً کم بر روی سلول های VERO عمل کردند (۱۷).

در مطالعه حاضر نیز مشتقات کلردار تاثیرات ضد میکروبی خوبی بروی باکتری مثبت داشتند که همانند مطالعه فوق نشان دهنده اثرات ضد میکروبی و ضد سلی ترکیبات دارای ساختار پیریمیدین هستند و نتایج همخوانی داشتند.

مطالعه Mughal و همکاران در سال ۲۰۱۸ تحت عنوان طراحی، سنتز و ارزیابی بیولوژیکی مشتقات جدید دی هیدروپیریمیدین-۲-تیون به عنوان عوامل ضد میکروبی قوی، رویکرد اتصال تجربی و مولکولی انجام دادند. فعالیت ضد باکتریایی، ترکیبات ۵، ۱۲ و ۱۳ بیشترین ناحیه مهار را در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین در مقایسه با داروی استاندارد سفیکسیم نشان دادند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اکثر ترکیبات سنتز شده در مقایسه با داروی استاندارد در برابر همه سویه های باکتریایی آزمایش شده فعال تر بودند که با نتایج تجربی و نظری آشکار شد (۱۸). در مطالعه حاضر نیز همانند مطالعات فوق اثرات ضد میکروبی در مقابل باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با داروی استاندارد جنتامایسین اثر مهار و کشندگی خوبی را نشان داد.

مطالعه Desai و همکاران در سال ۲۰۱۸، تحت عنوان سنتز و فعالیت ضد میکروبی دی هیدروپیریمیدینون های حاوی فلونور و حاوی پیرازول انجام دادند. ترکیبات 4b، 4c، 4f، 4g، 4i و 4j فعال ترین مشتقات شناسایی شده در فعالیت ضد میکروبی بودند. بر اساس فعالیت ضد باکتریایی، مشاهده شد که ترکیبات 4b و 4c در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین با حداقل غلظت مهاری ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب فعالیت از خود نشان دادند. از مطالعات مربوط به فعالیت ساختار، می توان نتیجه گرفت که گروه های الکترون کشنده نقش مهمی در افزایش اثرات ضد میکروبی و سیتوتوکسیک ترکیبات عنوان شده داشتند. علاوه بر این، نتایج مطالعات سمیت سلولی نشان داد که ترکیبات 4b، 4c، 4g و 4j دارای سطوح

پایین تری از سمیت سلولی هستند (۱۹). نتایج مطالعات فوق با مطالعه حاضر همخوانی داشت که در مشتقات مطالعه حاضر هم گروه الکترون کشنده کلر نسبت به سایر ترکیبات اثر ضد میکروبی و سیتوتوکسیک قوی نشان داد. داروی ایده آل ضد سرطان باید بدون آسیب رساندن به بافت های طبیعی بدن بتواند سلول های سرطانی را از میان بردارد. تاکنون راهکارهای زیادی برای درمان سرطان پیشنهاد شده است که بسیاری از آنها تنها در سطح تحقیق های دانشگاهی مطرح هستند و در سطح بالینی موفقیت آمیز نبوده است. از روش های درمانی که امروز مطرح هست استفاده از ترکیب های هتروسیکلیک در درمان سرطان است (۲۰). نوکلئوتیدهای پیریمیدین در ستر DNA، RNA در همه ارگانیسم های زنده اهمیت بنیادی دارند (۲۱). نتایج پژوهش حاضر نشان داد این ترکیب ها در کمترین بازه زمانی و با غلظت های مشخص دارای اثر مهار رشد بر روی سل لاین سرطانی هستند، مطالعه های قبلی نشان داد پیریمیدین ها دارای اثر ضد سرطانی است. فعالیت آنتی اکسیدانی این ترکیب ها ناشی از ظرفیت بالای آن ها در انتقال الکترون ها، شلاته کردن یون های آهن و روبش گونه های واکشنر اکسیژن است (۲۲). در ستر این ترکیب ها یکی از اهداف مورد توجه اضافه کردن استخلاف به این ترکیب ها جهت بازدهی بالای آن ها است. انتخاب این استخلاف ها براساس مطالعه های انجام شده در این زمینه ها است. در مطالعه ای مشخص شده است که حضور استخلاف ۹ متوکسی در ساختار این ترکیب های حلقوی در ایفای نقش آن به عنوان یک عامل ضد ویروسی بسیار مؤثر است (۲۳). هم چنین احتمال داد شده که استخلاف های کلر و برم این ترکیب ها در بروز خاصیت ضد سرطانی بودن آن مؤثر است (۲۴). در مطالعه حاضر استخلاف هایی نظیر کلر، متوکسی استفاده شد که پیش تر به عنوان یک استخلاف مهم و تأثیر گذار در سمیت مشتق ها عنوان شده بودند. ترکیب های سنتزی و هم چنین غلظت های متفاوت آن ها بر روی رشد و تکثیر سلول های نرمال MCF-10 و سلول های سرطانی MCF-7 بررسی شد. در مطالعه Zhang

و همکاران مشتقات ۹ بنزو هتروسیکل پیریدوپیریمیدین طراحی و سنتز شد. این گروه فعالیت ضد تکثیری ۶۹ ترکیب جدید سنتزی سلول‌های لوسمی پرومی لوسیتیک 9 انسان (HL-60) سرطان معده انسان (BGC-823) و رده سلول سرطانی هپاتوم انسانی (SMC-7721) مورد ارزیابی قرار دادند. ترکیب‌های با استخلاف‌های نیتروبنزیلی و هالوبنزیلی (فلوئور و برم) بیش‌ترین اثر سمیت بر روی این چهار رده سلول سرطانی را از خود نشان دادند. مکانیسم اثر گزارش شده توسط این گروه، بازدارندگی آنزیم Top 1 در مرحله تکثیر سلولی است (۲۵، ۲۶). در راستای این مطالعه نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ترکیب‌های پیریمیدینی که حاوی استخلاف‌های کلر از گروه الکترون کشنده به تنهای هستند، دارای بیش‌ترین تأثیر در غلظت و زمان‌های مشخص بر کاهش رشد سلول‌های سرطانی سینه هستند و از طرفی بر روی سلول‌های نرمال در این غلظت‌ها اثر سمیت نشان ندادند.

در مطالعه Metwally و همکاران در سال ۲۰۱۹، تحت عنوان طراحی، سنتز، ارزیابی ضد سرطان، اتصال مولکولی و تجزیه و تحلیل چرخه سلولی مشتقات ۳-متیل-۴،۷-دی هیدروپیرازول (۱ و ۵) پیریمیدین به عنوان مهارکننده‌های قوی هیستون لیزین دمیلازا KDM و القاء کننده آپوپتوز را انجام دادند، برخی از ترکیبات انتخاب شده از این سری برای اثر سیتوتوکسیک روی رده‌های سلولی بدخیم پستان MCF-7 و Hela از طریق سنجش MTT مورد آزمایش قرار گرفتند. ترکیبات ۵، 7e و 7i فعالیت سیتوتوکسیک بیش‌تری را در مقابل دو رده سلولی سرطانی که دوکسوروبیسین به عنوان داروی کنترل مصرف می کردند، نشان دادند (۲۷). مطالعه حاضر این نتایج قوی را بر روی رده سلولی سرطانی در مقابل داروی دوکسوروبیسین به عنوان کنترل داشت و هم‌چنین دوزهای مصرفی از این ترکیب‌ها بدون داشتن اثر سمیت بر روی سلول‌های نرمال را نشان داد. مقاله‌های مختلفی در کنار بررسی اثر سیتوتوکسیک ترکیب‌های پیریمیدینی، به بررسی مکانیسم‌های احتمالی

اثر این ترکیب‌ها پرداخته‌اند و فرضیه‌هایی را در این زمینه بیان نموده‌اند (۲۸). در مطالعه اصغری و همکاران در سال ۲۰۱۸، ترکیبات سنتز شده از نظر سمیت سلولی علیه رده‌های سلولی سرطانی HeLa با استفاده از روش MTT ارزیابی و بررسی شدند. نتایج نشان داد که سمیت سلولی با غلظت افزایش می‌یابد. در میان ترکیبات آزمایش شده، 4e و 4f که حاوی یک استخلاف کلر هستند، اثرات سیتوتوکسیک بیش‌تری (به ترتیب $9/90 \pm 0/2 \mu M$ و $10/36 \pm 0/60 \mu M$) در مقایسه با دوکسوروبیسین ($IC_{50} = 3/40 \pm 0/20 \mu M$) پس از ۴۸ ساعت نشان دادند. علاوه بر این، ارزیابی آنتی‌اکسیدانی نشان داد که استخلاف (الکترون دهنده یا اهدای کننده) روی حلقه آروماتیک به طور قابل توجهی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی تأثیر می‌گذارند (۶).

در بررسی اثرات ضد میکروبی مشتقات، مشتق 4e نسبت به مشتقات دیگر اثرات بهتری بر روی باکتری‌های گرم مثبت داشته ولی بر روی باکتری‌های گرم منفی اثرات ضد باکتری ضعیفی داشتند و خاصیت میکروبی آن‌ها نسبت به داروی استاندارد کم تر بوده ولی با توجه به تایید اثرات ضد میکروبی این مشتقات در مطالعات متعدد دیگر می‌توان با بررسی‌های بیش‌تر بر روی باکتری‌های گرم منفی و مثبت و با اضافه کردن استخلاف‌های الکترون کشنده در ساختار مشتقات ترکیباتی با خاصیت ضد میکروبی خوبی تهیه نمود. هم‌چنین در این مطالعه مقایسه بین نتایج نشان داد درصد مهار رشد سلول‌های سرطانی در ترکیب 4e در بازه‌های زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت از سایر مشتق‌ها بیش‌تر بوده است؛ بنابراین گروه عاملی کلر توانسته نسبت به سایر مشتق‌ها نقش مؤثرتری بر کاهش رشد سلول‌های سرطانی ایفا کند.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی و نتیجه طرح تحقیقاتی با کد رهگیری ۷۲۴۱۳۴۵۷۱، صورت پذیرفت. کمال تشکر و قدردانی را از کسانی که در این پژوهش یاری رساندند داریم.

References

- Heydari A, Taghizadeh Armaki M, Jafarzade J, Vahidi B, Yazdizadeh M, khafri S, et al. Evaluation of the Efficacy of Synthetic Indole-HydrazonoThiazolidinone Compounds on Candida Isolates from Oral Infections. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2024; 34 (237): 30-39. (Persian).
- Abd Rehan T. Review on different five-membered heterocyclic aromatic compounds and their pharmaceutical applications. Thamer Abd Rehan thamer. abd. rehan@ kus. edu. iq College of Science, Alkarth University of Science 2024; 12(6):2320-9186.
- Abdullahi SR, Shafi AM, Raghav S, MA'ARUF AM. Pyrimidine derivatives: Recent discoveries and development towards its medicinal impact. *GSC Advanced Research and Reviews* 2024; 20(1):114-128.
- Brown DJ. Fused Pyrimidines, Part 3: Pteridines. John Wiley & Sons; 2009.
- Katritzky AR, Rees CW, Scriven EF V. Comprehensive Heterocyclic Chemistry II: A Review of the Literature. 2nd ed; 1982-1995.
- Khalilpour A, Asghari S. Synthesis, characterization and evaluation of cytotoxic and antioxidant activities of dihydropyrimidone substituted pyrrole derivatives. *Med Chem Res* 2018; 27:15-22.
- Hu X, Sun L, Nie T, Yang Y, Wang X, Pang J, et al. Evaluation of Agar Dilution Method in Susceptibility Testing of Polymyxins for Enterobacteriaceae and Non-Fermentative Rods: Advantages Compared to Broth Microdilution and Broth Macrodilution. *Antibiotics* 2022; 11(10): 1392 PMID: 36290050.
- Khalilpour A, Asghari S, Pourshab M. Synthesis and characterization of novel Thiazolo [3, 2-a] pyrimidine derivatives and evaluation of antioxidant and cytotoxic activities. *Chemistry & Biodiversity*. 2019 May; 16(5): e1800563 PMID: 30740903.
- Mohana R, Selvara J, Rajesh S. Synthetic chemistry of pyrimidines and fused pyrimidines: a review. *Synthetic Communications* 2016; 46(8): 645-672.
- Estrada E, Peña A. In silico studies for the rational discovery of anticonvulsant compounds. *Bioorg Med Chem* 2000; 8(12): 2755-2770 PMID: 11131167.
- Mancini A, Fallacara AL, Zamperini C, Iovenitti G, Molinari A, Rango E, et al. Preclinical development of novel pyrazolo [3, 4-d] pyrimidines structure-based TKIs for the treatment of glioblastoma. *Cancer Res* 2019; 79(13):2201-2201.
- Yeh HW, Lee SS, Chang CY, Hu CM, Jou YS. Pyrimidine metabolic rate limiting enzymes in poorly differentiated hepatocellular carcinoma are signature genes of cancer stemness and associated with poor prognosis. *Oncotarget* 2017; 8(44):7 7734-77751 PMID: 29100421.
- Kumar D, Khan SI, Ponnann P, Rawat DS. Triazine-pyrimidine based molecular hybrids: Synthesis, docking studies and evaluation of antimalarial activity. *New J Chem* 2014; 38(10): 5087-5095.
- Hamama WS, Ibrahim ME, Metwalli AE, Zoorob HH. New synthetic approach to coumarino [4, 3-b] pyridine systems and potential cytotoxic evaluation. *Medicinal Chemistry Research* 2014; 23(5): 2615-2621.
- Reddy OS, Suryanarayana CV, Narayana KJ, Anuradha V, Babu BH. Synthesis and cytotoxic evaluation for some new 2, 5-disubstituted pyrimidine derivatives for

- anticancer activity. *Med Chem Res* 2015; 24: 1777-1788.
16. Mohamed MS, Youns MM, Ahmed NM. Novel indolyl-pyrimidine derivatives: synthesis, antimicrobial, and antioxidant evaluations. *Medicinal Chemistry Research* 2014; 23(7): 3374-3388.
17. Patel BY, Karkar TJ, Bhatt MJ. Synthesis of 5-substituted-1, 3, 4-oxadiazole clubbed pyrazole and dihydropyrimidine derivatives as potent bioactive agents. *European Chemical Bulletin* 2021; 10(1):13-20.
18. Mughal EU, Sadiq A, Hamayun M, Zafar MN, Fatima N, Yameen MA, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel dihydropyrimidine-2-thione derivatives as potent antimicrobial agents: experimental and molecular docking approach. *Letters in Drug Design & Discovery* 2018; 15(11): 1189-1201.
19. Desai N, Vaghani H, Patel B, Karkar T. Synthesis and Antimicrobial Activity of Fluorine Containing Pyrazole-clubbed Dihydropyrimidinones. *Indian J Pharm Sci* 2018; 80(2): 242-252.
20. Buron F, Méroux JY, Akssira M, Guillaumet G, Routier S. Recent advances in the chemistry and biology of pyridopyrimidines. *Eur J Med Chem* 2015; 95: 76-95 PMID: 25794791.
21. Irwin WJ, Wibberley DG. Pyridopyrimidines: I, 3, 5-, I, 3, 6-, I, 3, 7-, and I, 3, 8-Triazaphthalenes. *Advances in Heterocyclic Chemistry* 1969; (10):149-198.
22. Khalilpour A, Asghari S, Pourshab M. Synthesis and Characterization of Novel Thiazolo [3, 2-a] pyrimidine Derivatives and Evaluation of Antioxidant and Cytotoxic Activities. *Chem Biodivers* 2019; 16(5): e1800563 PMID: 30740903.
23. Dansena H, Dhongade HJ, Chandrakar K. Pharmacological potentials of pyrimidine derivative: a review. *Asian J Pharm Clin Res* 2015; 8(4): 171-177.
24. Wan QL, Meng X, Fu X, Chen B, Yang J, Yang H, et al. Intermediate metabolites of the pyrimidinemetabolism pathway extend the lifespan of *C. elegans* through regulating reproductive signals. *Aging (Albany NY)* 2019; 11(12): 3993-4010 PMID: 31232697.
25. Zhang JP, Huang J, Liu C, Lu XF, Wu BX, Zhao L, et al. Discovery of a series of pyridopyrimidine derivatives as potential topoisomerase I inhibitors. *Chinese Chemical Letters* 2014; 25(7): 1025-1028.
26. Li Z, Ding L, Li Z, Wang Z, Suo F, Shen D, et al. Development of the triazole-fused pyrimidine derivatives as highly potent and reversible inhibitors of histone lysine specific demethylase 1 (LSD1/KDM1A). *Acta Pharm Sin B* 2019; 9(4):794-808 PMID: 31384539.
27. Metwally NH, Mohamed MS, Ragb EA. Design, synthesis, anticancer evaluation, molecular docking and cell cycle analysis of 3-methyl-4, 7-dihydropyrazolo [1, 5-a] pyrimidine derivatives as potent histone lysine demethylases (KDM) inhibitors and apoptosis inducers. *Bioorganic chemistry*. 2019 Jul 1; 88: 102929 PMID: 31015179.
28. Saurat T, Buron F, Rodrigues N, De Tauzia ML, Colliandre L, Bourg S, et al. Design, synthesis, and biological activity of pyridopyrimidine scaffolds as novel PI3K/mTOR dual inhibitors. *J Med Chem* 2014; 57(3): 613-131 PMID: 24345273.