



Evaluation of cytotoxicity effect of Synthetic Pyridopyrimidine derivatives on the cancer vs. normal cell lines

Neda Jameee^{1,2}, Seyed Saadi Hosseini^{3,4}, Hamid Reza Akrami^{1,2}, Mahmood Dehghani Ashkzari^{1,2*}

1. Department of Biology, Ashekdarz Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran
2. Medical Biotechnology Research Center, Ashekdarz, Yazd, Iran
3. Department of Biotechnology Faculty of Bioscience University of Shahid Beheshti, Tehran, Iran
4. Lab. of Regenerative Medicine and Biomedical Innovations, Pasteur institute of Iran

Abstract

Aim and Background: Recently, studies have been reported in vitro and in vivo, that these pyridopyrimidine compounds have a beneficial effect on chronic diseases such as cancer. this study was designed to evaluate the effects of synthetic pyridopyrimidine compounds on the growth and proliferation of normal and cancer cell lines.

Material and Methods: Cytotoxic effect of synthetic pyridopyrimidine at different concentrations and period on the MCF-7, MAD-MB-231, MOLT-4, PC-3, and Normal Fibroblast (HFF) cell lines were cultured in 96-well plates, thin cells were treated with synthetic compounds at different concentrations 1000, 500, 50, 5 nM at 24,48 and 72 hours, to evaluate the effect using MTT assay. the resulting data were analyzed using SPSS16 software with one-way ANOVA followed by the Tukey test and P <0.05 was considered as a significant difference.

Results: The results of this study showed that pyridopyrimidine compounds had no significant toxicity effect on the normal cell lines, Nevertheless showed strong and dose-dependent inhibition of cancer cell growth at P-value <0.05. also, results showed that pyridopyrimidines with bromide groups at a concentration of 500 to 1000 nM had a more effective effect on inhibition of cancer cell growth inhibition at 72 hours.

Conclusion: Results of this study indicated the pyrimidines inhibition effect on cancer cell lines, however, the use of these compounds as an attractive option in chronic diseases treatment in the world as alternative medicines or combination with conventional medicines are suggested

Keywords: Pyridopyrimidines, Normal and Cancer Cell lines, MTT assay, IC50

Corresponding author:

Department of Biology, Ashekdarz Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran
Email: mdashkezary@yahoo.com



ارزیابی اثر سمیت پیریدوپیریمیدین های سنتزی استخلاف دار شده بر روی رده های سلولی نرمال و سرطانی

ندا جامعی^{۱،۲}، سیدسعدی حسینی^{۳،۴}، حمید رضا اکرمی^{۱،۲}، محمود دهقانی اشکذری^{۱،۲*}

۱. گروه زیست شناسی، واحد اشکذر، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران
۲. مرکز تحقیقات زیست فناوری پزشکی، واحد اشکذر، دانشگاه آزاد اسلامی، اشکذر، یزد، ایران
۳. دانشکده علوم و فناوری های زیستی، گروه زیست فناوری، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
۴. بانک سلولی ایران، آزمایشگاه طب بازساختی و نوآوری های پزشکی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: مطالعه های اخیر در دو مدل آزمایشگاهی و حیوانی نشان می دهد، که مشتق های پیریدوپیریمیدین دارای اثرگذاری مؤثر بر بیماری های مزمن از جمله سرطان است. هدف از این مطالعه سنتز چهار مشتق پیریدوپیریمیدین و ارزیابی اثر آن ها بر سلول های سرطانی و نرمال است.

مواد و روش: پس از کشت رده های سلولی مختلف سرطانی MCF-7، MOLT-4، MAD-MB-231 و PC-3 و نرمال HFF در پلیت های ۹۶ خانه، سلول ها با چهار غلظت ۵، ۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ نانومولار در بازه های زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت، با پیریدوپیریمیدین های سنتزی جهت بررسی اثرگذاری این مواد با تست سمیت (MTT assay) تیمار گردید، آنالیزهای آماری داده ها با نرم افزار SPSS₁₆ با دو آزمون واریانس یک طرفه و متعاقب آن تست توکی در سطح $P \text{ value} < 0.05$ گزارش گردید.

یافته ها: نتایج این پژوهش نشان داد که ترکیب های پیریدوپیریمیدین در غلظت های مشخص اثر سمیت معنی داری بر روی رده سلول های نرمال نداشتند، اما بررسی اثر آن بر روی رده های سلولی سرطانی در سطح $P \text{ value} < 0.05$ نشان داد که مهار رشد سلولی با افزایش غلظت و زمان افزایش پیدا می کند، همچنین نتایج نشان داد پیریدوپیریمیدین های دارای گروه های بروماید در غلظت ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ نانومولار در بازه زمانی ۷۲ ساعت تأثیر مؤثرتری بر مهار رشد سلول های سرطانی نشان دادند.

نتیجه گیری: نتایج به دست آمده از این پژوهش اثر پیریمیدین ها را بر روی رده های سلولی سرطانی نشان داد و استفاده از این ترکیب ها به عنوان گزینه جذاب برای مقابله با بیماری های مزمن در جهان به صورت داروهای جایگزین یا ترکیب با داروهای معمول را پیشنهاد می کند.

واژه های کلیدی: پیریمیدین های سنتزی، رده های سلولی نرمال و سرطانی، تست سمیت، IC50

مقدمه

امروزه واژه سرطان متأسفانه از شایع ترین واژه ها در جهان است که شمار زیادی از مردم جهان به این بیماری مبتلا هستند، نتایج داده های آماری آژانس بین المللی تحقیقات سرطان نشان می دهد که آمار شیوع سرطان در جهان به ۱۸ میلیون نفر رسیده است، در ۸/۲ میلیون از این افراد باعث مرگ می شود. این آمار در قیاس با سال ۲۰۱۴ که حدود ۱۴

نویسنده مسئول:

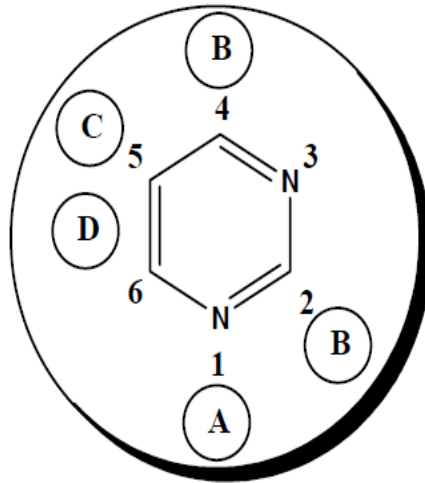
دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست شناسی، واحد اشکذر، یزد، ایران
پست الکترونیکی: mdashkezary@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۸/۲۷

میلیون نفر مبتلا به سرطان بودند افزایش چشم‌گیری داشت است، در بین انواع سرطان‌ها یک سوم کل سرطان‌های بروز یافته مربوط به سرطان‌های ریه، سرطان پستان زنان و سرطان روده بزرگ بوده است سرطان ریه و سرطان پستان زنان، هر یک بیش از ۱۱ درصد و سرطان روده بزرگ ۱۰/۲ درصد موارد کل بروز سرطان در ۲۰۱۸ را به خود اختصاص می‌دهند. در حالت طبیعی جایگزینی سلول‌های فرسوده با سلول‌های جوان از یک برنامه منظم تبعیت می‌کند و از طرفی فرآیند رشد و تجدید سلولی به‌طور ثابت در بدن اتفاق می‌افتد (۱). در بیماری سرطان سلول‌ها توانایی تقسیم و رشد عادی خود را از دست می‌دهند و این موضوع منجر به تسخیر، تخریب و فاسد شدن بافت‌های سالم می‌شود. از اجتماع سلول‌های سرطانی و تخریب سلول بافت‌های سالم توده‌ای به نام تومور ایجاد می‌شود. براساس پژوهش‌های انجام‌شده انواع داروهای ضد سرطان براساس ساختار شیمیایی، مکانیسم بیوشیمیایی، فعالیت و عملکرد دارو در سه گروه قرار می‌گیرند. براساس ساختار شیمیایی و منبع آن می‌توان عواملی از قبیل آلکیل‌کننده‌ها، آنتی‌متابولیک‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها، شیره گیاهان و هورمون‌ها را نام برد که این ترکیب‌ها می‌توانند در زیر مجموعه داروهای ضد سرطان قرار بگیرند. گروه دیگر از این داروها براساس مکانیسم بیوشیمیایی دارو در پنج زیرگروه: شامل متوقف کردن بیوسنتز نوکلئیک‌اسیدها، تأثیر مستقیم بر روی ساختار و عملکرد DNA، تداخل با رونویسی و سنتز RNA، تداخل با سنتز پروتئین و و تأثیر بر روی عملکرد هورمون‌های رشد تقسیم می‌شوند (۲، ۳). داروی ایده‌آل ضد سرطان باید بدون آسیب رساندن به بافت‌های طبیعی بدن بتواند سلول‌های سرطانی را از میان بردارد، تاکنون راهکارهای زیادی برای درمان سرطان پیشنهاد شده است که بسیاری از آن‌ها تنها در سطح تحقیق‌های دانشگاهی مطرح هستند، در سطح بالینی موفقیت‌آمیز نبوده است. از روش‌های درمانی که امروز مطرح هست استفاده از ترکیب‌های هتروسیکلیک‌ها در درمان سرطان است، به‌طور کلی ترکیب‌های هتروسیکلیک اساس بسیاری از داروهای طبیعی، سنتزی، شیمیایی، سموم گیاهی و محصول‌های دامپزشکی را تشکیل می‌دهند (۴، ۵). یکی از اهداف اصلی شیمی آلی و بیوانفورماتیک دارویی، طراحی سنتز و تولید مولکول‌هایی با داشتن ارزش تولیدی به-

عنوان عوامل درمانی بشر است. ساختارهای هتروسیکلیک متعلق به گروهی از ترکیب‌ها هستند که نقش شیمی دارویی آن‌ها به اثبات رسیده است. نوکلئوتیدهای پیریمیدین در سنتز DNA, RNA در همه ارگانیسم‌های زنده اهمیت بنیادی دارند. سیستم حلقه‌ای پیریمیدین به‌طور گسترده‌ای در طبیعت به‌عنوان ترکیب‌های استخلاف‌دار شده و حلقه جوش‌خورده و مشتق‌های آن، از جمله نوکلئوتیدها، تیمین و آلوکسان یافت می‌شود. اگرچه مشتق‌های پیریمیدین مانند اوریک‌اسید و آلوکسان در اوایل قرن ۱۹ شناخته‌شده بودند، اما سنتز آزمایشگاهی پیریمیدین‌ها تا سال ۱۸۷۹ انجام نشد. پیریمیدین‌ها را می‌توان آزمایشگاه با استفاده از روش‌های سنتزی آلی تولید کرد. پیریمیدین به‌طور معمول توسط حلقه‌زایی ترکیب‌های β -دی‌کربونیل‌ها با ترکیب‌های N-C-N سنتز می‌شوند. مطالعه روابط ساختار فعال (SAR) مربوط به داروهای پیریمیدین عرضه‌شده در بازار نشان می‌دهد که اگر یک حلقه هتروسیکلیک اشباع در موقعیت A قرار بگیرد منجر به فعالیت ضد سرطانی و ضد ویروسی ترکیب پیریمیدینی می‌شود. اگر پیریمیدین از دومین موقعیت یعنی ناحیه B توسط حلقه‌های ۵ یا ۶ عضوی هتروسیکلیک اشباع استخلاف‌دار شود، باعث بروز فعالیت آنتی‌پرسیکتیک، ضدپارکینسون، خلط‌آوری و درمان اختلال‌های گوارشی و نوروپاتی محیطی می‌شود. استخلاف‌دار شدن توسط گروه‌های کتون یا آمینو و یا هر دو در موقعیت‌های ۲ و ۴ حلقه پیریمیدینی یعنی نواحی B منجر به فعالیت ضد سرطان، ضد ویروس، ضد باکتری، ضد قارچ، درمان عفونت دستگاه تنفسی و اختلال‌های کبدی می‌شود. استخلاف‌دار شدن در موقعیت پنجم (ناحیه C) حلقه پیریمیدینی با آمین‌ها یا حلقه هتروسیکلیک دیستال اشباع باعث بروز فعالیت ضد باکتری و ضد سرطانی می‌شود. موقعیت‌های ۵ و ۶ حلقه پیریمیدین (ناحیه D) جوش‌خورده با حلقه‌های هتروسیکلیک استخلاف‌دار شده در موقعیت اورتو، متا و پارا با حلقه‌های آریل دیستال، باعث فعالیت ضد سرطان، ضد ویروس، ضد باکتری، تأخیر خونریزی شاهرگی و درمان عفونت‌های دستگاه ادراری این دسته از ترکیب‌های دارویی می‌شود (۶-۸). همچنین نشان داده‌ها پیریمیدین بر تنظیم مسیرهای متابولیسم سلولی⁻ و مسیرهای سرطانی در جهت درمان مؤثر است (۹).



شکل ۱: روابط ساختار فعال ترکیب دارویی پیریمیدین

در دهه‌های اخیر مشتقات پیریمیدین‌های جوش‌خورده به‌عنوان دسته‌ای از ترکیب‌های هتروسیکل پرکاربرد در شیمی دارویی مطرح بوده‌اند. این ترکیب‌ها در حیطه دارویی دارای فعالیت‌های ضد سرطان، ضد ویروسی، ضد باکتری، خلط‌آوری، درمان عفونت ادراری، بیماری پارکینسون و آنتی‌پرسیتیک، گشادکننده عروق، درمان اختلال‌های کبدی، عفونت دستگاه تنفسی و گوش، درمان کرم‌های گرد دستگاه گوارش، نوروپاتی محیطی و اختلال‌های وابسته به اسید اوریک خون هستند. تعداد مقاله‌های مرتبط با سنتز پیریدوپیریمیدین‌ها از سال ۱۹۷۵ تا ۲۰۱۶ بسیار متعدد هستند (۱۰، ۱۱). چندین روش مختلف در این زمینه ارائه شده است که بیش‌تر از روش‌های متداول حلقه‌زایی برای سنتز این ترکیب‌ها استفاده می‌شود که از این ترکیب‌های سنتز شده برای پزشکی از جمله سرطان استفاده می‌شود. امروزه نتایج آمارهای جهانی در رابطه با بیماری‌های مهلک و مرگ بار نشان می‌دهد که ضایعه سرطان روزبه‌روز در حال گسترش هست، پیدا کردن داروهای ایده‌آل 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 هست. تازگی‌ها استفاده از پیریمیدین‌ها با توجه به ویژگی‌های درمانی، زیست‌سازگاری 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،

الف‌کنندگی و یا تقویت واکنش‌های ایمنی، تنظیم سیستم دفاعی می‌توان از آن‌ها در مطالعه‌ها و کاربردهای دارویی استفاده کرد (۱۱، ۱۲). در این مطالعه هدف، تعیین اثر سنجش سمیت و تأثیر ترکیب‌های سنتزی پیریمیدین‌ها بر روی رده‌های سلولی سرطانی و نرمال در دوزها و زمان‌های مختلف است. اهداف کاربردی این تحقیق استفاده از این ترکیب‌ها در پژوهش‌های مولکولی - دارویی به‌عنوان ترکیب‌های مؤثر دارویی غیر سیتوتوکسیک، هم‌چنین استفاده از استخلاف‌های به‌کار رفته در طراحی داروهای ضد سرطانی جدید است.

روش کار

در این تحقیق رده‌های سلولی نورمال فیبروبلاست پوستی (HFF)، سلول‌های اپیتلیال سرطانی پستان (MCF-7)، (MAD-MB-231)، سلول‌های لوئمی لنفوبلاستی (MOLT-4) و سلول سرطانی پروستات (PC-3) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید، سپس در فلاسک‌های T25 با محیط کشت RPMI و DMEM غنی‌شده با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی^۱، ۲ میلی‌مولار گلوتاماکس، یک درصد آنتی-بیوتیک پنی‌سیلین - استرپتومایسین و ۱۵ میلی‌مولار سدیم بی‌کربنات که در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت کافی و میزان ۵ درصد دی‌اکسید درجه کشت داده شد، برای انجام تست‌های مختلف از پاساژ دوم به بعد زمانی

¹ Fetal bovine serum (FBS)

K4(5-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-8,8-dimethyl-2-(methylthio)-7,8,9,10-tetrahydropyrimido[4,5-b]quinoline-4,6(3H,5H)-dione)

تیمار گردیدند. هم‌چنین دو ستون از چاهک‌های پلیت به-عنوان کنترل (محیط نرمال) و کنترل مثبت (محیط حاوی سیس پلاتین) در نظر گرفته شد. در ادامه بررسی شرایط سلول‌ها در بازه‌های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با روش جذب نوری توسط دستگاه الیزار ریدر انجام شد و تأثیر این ترکیب-ها بر روی تکثیر سلول‌ها بررسی گردید. برای بررسی میزان جذب نوری سلول‌ها بعد از بازه‌های زمانی مشخص محیط روی سلول‌ها کامل برداشته شد سپس به هر چاهک، ۵۰ ماکرولیتتر MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اضافه و به مدت ۴ ساعت گرماگذاری شد. در ادامه محلول MTT با دقت برداشته شد و به هر کدام از چاهک‌ها ۱۰۰ ماکرولیتتر دی‌متیل سولفواکساید اضافه شد، بعد از آنکوبه شدن به مدت زمان یک ساعت مقدار جذب با دستگاه الیزا ریدر در طول موج ۵۷۸ نانومتر خوانده شد در نهایت درصد زنده‌مانی سلول‌ها طبق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد زنده مانی} = \frac{\text{جذب نوری سلول‌های تیمار شده}}{\text{جذب نوری سلول‌های تیمار نشده}} \times 100$$

فرمول (۱)

موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد، سپس آنالیز داده‌های به‌دست آمده با نرم‌افزار SPSS₁₆ گزارش گردید، جهت تعیین تفاوت بین میانگین‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و متعاقب آن تست توکی استفاده و سطح معنی‌داری بودن $P \text{ value} < 0.05$ در نظر گرفته شد، هم‌چنین برای اندازه‌گیری غلظتی از دارو که ۵۰ درصد سلول‌ها از بین می‌روند (شاخص IC₅₀)، بعد از مراحل از تیمار کردن سلول‌ها و اندازه‌گیری مقدار جذب آن با رسم منحنی خطی درصد مهار رشد سلولی بر حسب غلظت، تعیین شیب و عرض از مبدأ با قرار دادن در معادله خط، غلظت ۵۰ درصد کشندگی (IC₅₀) بر اساس فرمول (۲) محاسبه گردید.

که تراکم سلول‌ها به ۷۰ درصد رسید استفاده گردید، در این تحقیق سنتز پیریدوپیریمیدین‌ها با بستن ۴ حلقه مختلف برم، متوکسی، تیو متیل و نیتروفنیل و تشکیل پیریمیدین با استفاده از ایمیدات‌ها به صورت ۴ ترکیب مجزا در آزمایشگاه سنتز گردید. در ادامه برای بررسی اثر ترکیب‌های مختلف پیریمیدین بر رشد سلول‌ها، میزان ۱۰۰ میکرو لیتر محیط کشت حاوی تعداد مشخصی از سلول ۱۰ الی ۲۰ هزار سلول بر اساس بازه‌های زمانی تست در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه قرار داده شد، بعد از ۱۲ ساعت آنکوباسیون، سلول‌ها با چهار غلظت C₁=۱۰، C₂=۱۰۰، C₃=۵۰۰، C₄=۱۰۰۰ بر حسب نانومولار از هر کدام از ترکیب‌های پیریدوپیریمیدین سنتزی

K₁(5-(4-bromophenyl)-8,8-dimethyl-2-(methylthio)-7,8,9,10-tetrahydropyrimido[4,5-b]quinoline-4,6(3H,5H)-dione) ,

K₂(8,8-dimethyl-2-(methylthio)-5-phenyl-7,8,9,10-tetrahydropyrimido[4,5-b]quinoline-4,6(3H,5H)-dione) ,

K₃(8,8-dimethyl-2-(methylthio)-5-(3-nitrophenyl)-7,8,9,10-tetrahydropyrimido[4,5-b]quinoline-4,6(3H,5H)-dione) ,

در بخشی دیگر از این تحقیق دارو مورد نظر در غلظت‌های مختلف بر روی رده‌های سلولی سرطانی سینه، پروستات و لوسومی لنفوبلاستی با ۴ غلظت مختلف ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ نانو مولار از ترکیب‌های پیریدوپیریمیدین سنتزی تیمار و بررسی گردیدند، بعد از دفریز و رو آمدن سلول‌ها زمانی که تراکم سلولی به ۸۰ درصد رسید سلول‌ها پاساژ داده شدند، سپس مقدار مشخصی سلول ۱۰ الی ۲۰ هزار سلول در هر چاهک از پلیت ۹۶ بر اساس بازه‌های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه برای تست MTT کشت داده شد، سپس ترکیب‌های مورد نظر به پلیت‌ها اضافه گردید، بعد از بازه زمانی مشخص مقدار جذب نوری سلول‌ها در طول

$$Y = aX + b \text{ (عرض از مبدأ) (شیب)}$$

$$IC50 = (50 - b)/a$$

فرمول (۲)

یافته‌ها

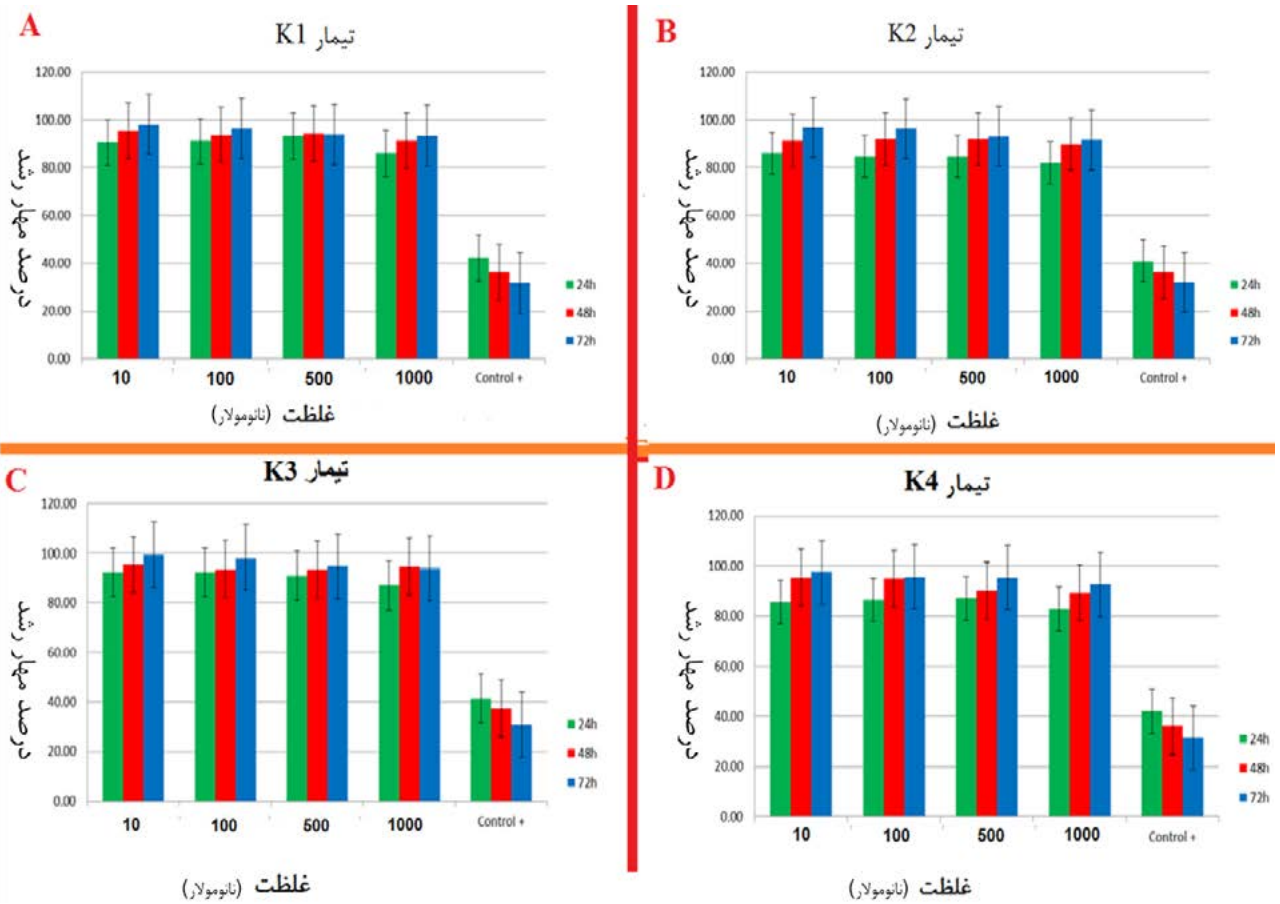
آنالیز نتایج به دست آمده از تأثیر ترکیب K1 بر روی سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 نشان می‌دهد. با کاهش غلظت درصد مهار رشد کاهش یافته است و افزایش این ترکیب زمان روند رو به رشد درصد مهار رشد سلولی را نشان می‌دهد. روند مشابهی را برای ترکیب‌های K2، K3 و K4 می‌توان در این سه نمونه ملاحظه کرد؛ که از نظر آماری در سطح پنج درصد اثر معنی‌داری نشان نداد (شکل ۳).

آنالیز نمودارهای حاصل از بررسی این ترکیب بر روی سلول‌های رده سرطانی لوسمی لنفوبلاست MOLT-4 نشان می‌دهد؛ در غلظت‌های بالاتری از این ترکیب درصد مهار رشد افزایش می‌یابد و پارامتر مهار رشد^۲ مقدار عددی بیش‌تری را نشان می‌دهد. در غلظت‌های پایین‌تر تأثیر این ترکیب بر روی MOLT-4 روند مشخصی را ندارد که می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که در ابتدای تیمار میزان جذب بالا بوده و به دلیل این که غلظت کم است با گذشت زمان میزان جذب هم کاهش یافته و منجر به عدم افزایش درصد مهار رشد به صورت منظم با گذشت زمان شده است. هم‌چنین روند مشابهی را برای مواد K2، K3 می‌توان ملاحظه کرد. اختلاف‌های مشاهده شده با گذشت زمان از ۲۴ ساعت به ۷۲ ساعت از نظر آماری معنی‌دار است. در مورد ترکیب K4 با گذشت زمان و افزایش غلظت روند منظمی در میزان درصد مهار رشد مشاهده می‌شود؛ که این روند را می‌توان از روی نمودارهای مربوطه مشاهده کرد (شکل ۴).

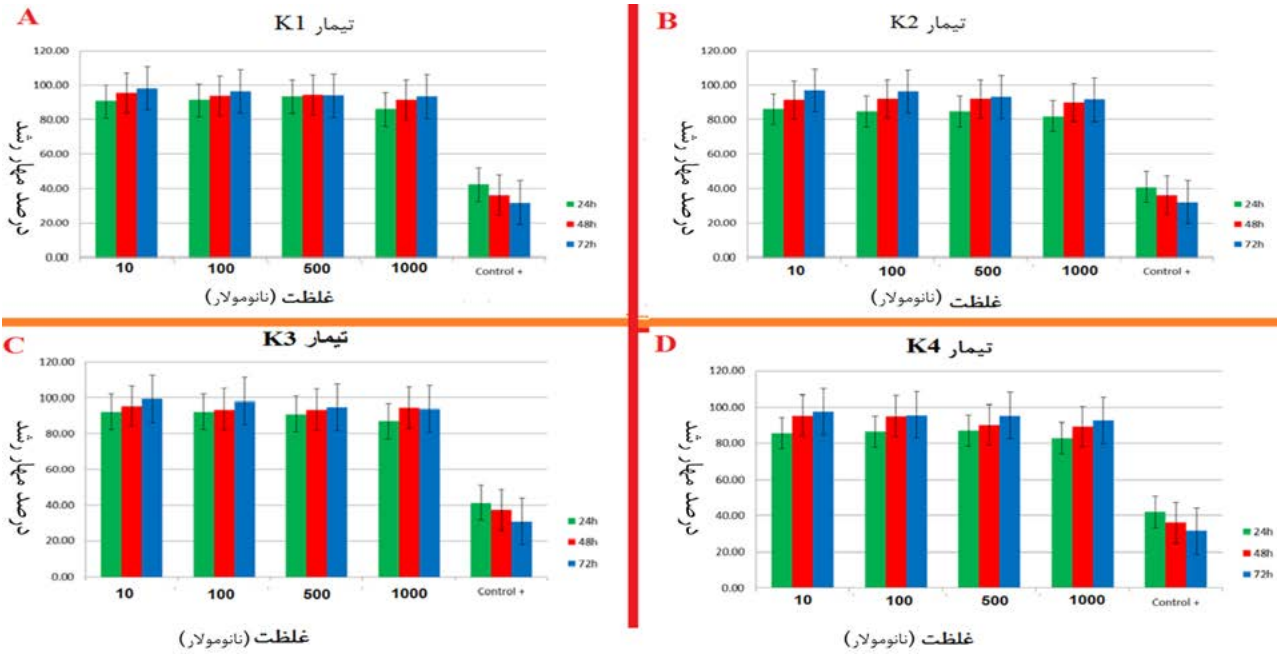
کشت سلول‌های HFF در محیط DMEM غنی شده با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی نشان داد، که این رده سلولی بعد از ۶ الی ۷ ساعت در اوج رشد خود هستند، بعد از این که تراکم سلولی در فلاسک به ۸۰ درصد رسید پاساژ داده شدند، در ادامه برای انجام تست MTT از سوسپانسیون سلولی ۲۰۰ ماکرولیتر حاوی 2×10^4 سلول به هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه اضافه گردید. سپس سلول‌ها با ۴ غلظت ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ نانومولار از هر کدام از ترکیب‌ها) برای هر غلظت با ۶ تکرار تیمار شدند. نتایج این تست نشان داد که با افزایش غلظت هر کدام از این ترکیب‌ها، میزان تکثیر سلول‌های HFF تغییر قابل ملاحظه‌ای نداشته است و از نظر آماری در سطح $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار نبود. نحوه تغییر نمودارها نشان می‌دهد که با افزایش زمان، رشد سلول‌ها افزایش نشان می‌دهد، یعنی این ترکیب‌ها بر روی روند طبیعی رشد سلول‌ها با گذشت زمان اثر سمیتی معنی‌داری نشان نداده است، در واقع با افزایش زمان اثر ترکیب‌های پیریدوپیریمیدین بر روی رشد سلول‌های HFF در یک حالت خطی افزایش می‌یابد که غلظت تأثیر چندانی بر روی روند رشد ندارد (شکل ۱). مقایسه بین نمونه کنترل با نمونه‌های تیمار شده با آزمون توکی در سطح $P \text{ value} < 0.05$ اثر معنی‌داری را نشان داد.

بررسی اثر این ترکیب‌ها در ۴ غلظت مختلف بر روی سل‌لاین‌های سرطانی MCF-7 نشان داد که اثر این ترکیب بر روی رشد سلول‌ها، برعکس اثر آن بر روی سلول‌های نرمال است، هم‌چنین اثر مهار رشد آن به‌طور کامل مشخص است، و هرچه غلظت و مدت زمان تأثیر این ترکیب بر سلول‌های سرطانی بیش‌تر می‌شود، رشد این سلول‌ها کاهش، به عبارتی مهار رشد (growth inhibition) افزایش می‌یابد (شکل ۲).

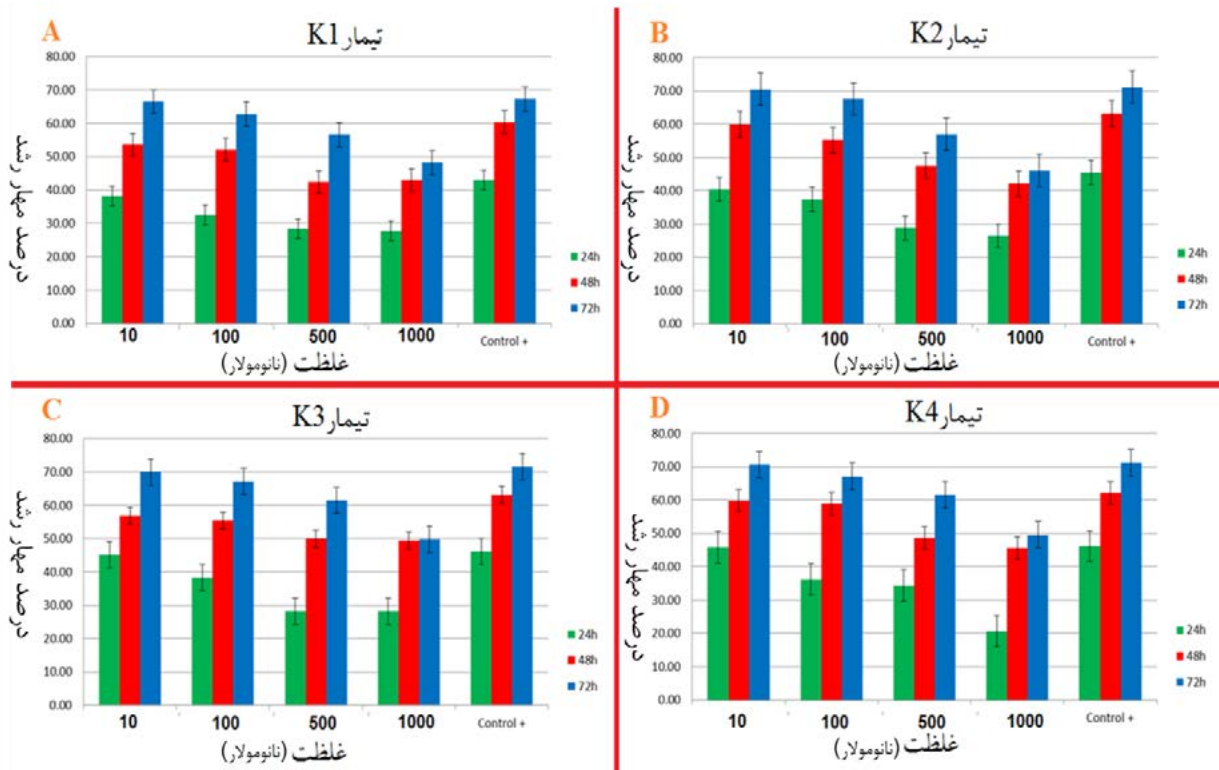
² Growth inhibition



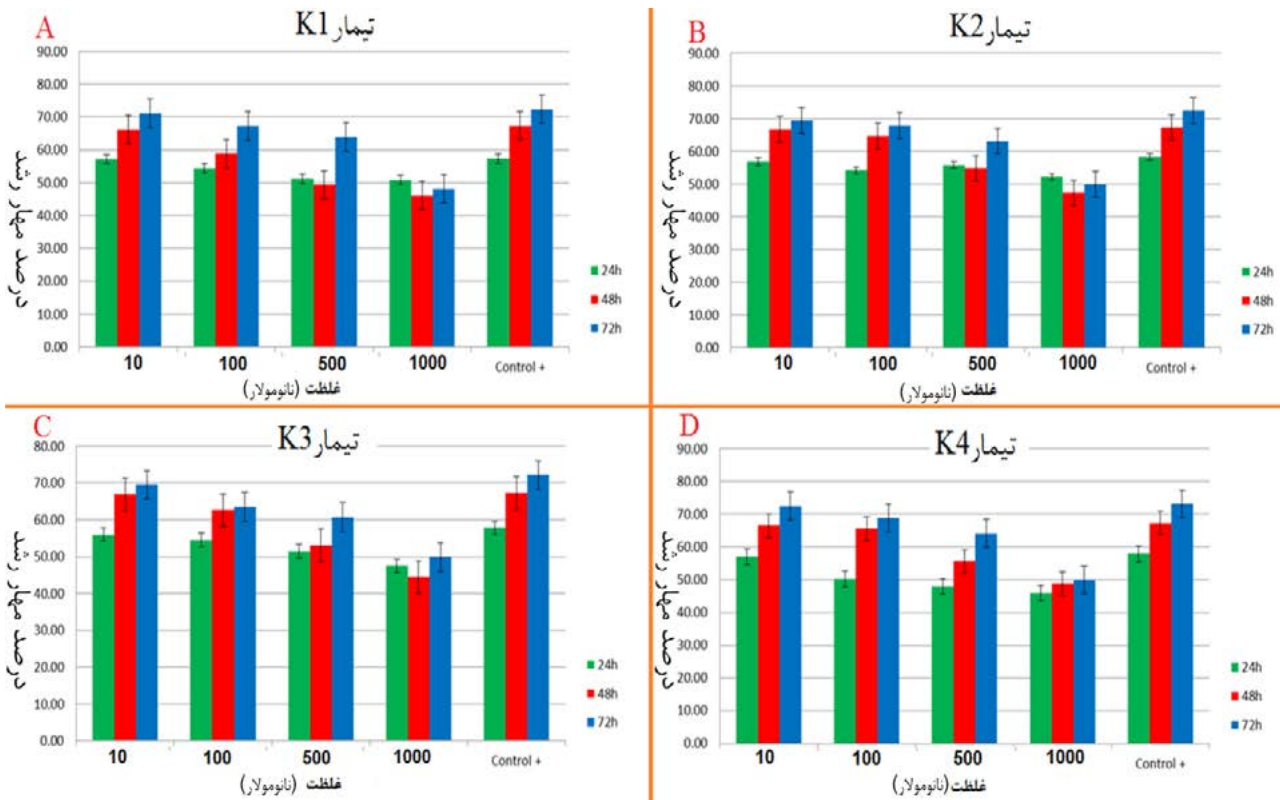
شکل ۲: (A) نمودار میله‌ای اثر ترکیب K1 بر روی سلول‌های HFF در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود. (B) نمودار میله‌ای اثر ترکیب K2 بر روی سلول‌های HFF در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود. (C) نمودار میله‌ای اثر ترکیب K3 بر روی سلول‌های HFF در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود. (D) نمودار میله‌ای اثر ترکیب K4 بر روی سلول‌های HFF در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود.



شکل ۳: (A) - نمودار میله‌ای اثر ترکیب K1 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی MCF-7 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود. (B) - نمودار میله‌ای اثر ترکیب K2 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی MCF-7 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود. (C) - نمودار میله‌ای اثر ترکیب K3 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی MCF-7 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود. (D) - نمودار میله‌ای اثر ترکیب K4 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی MCF-7 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود.



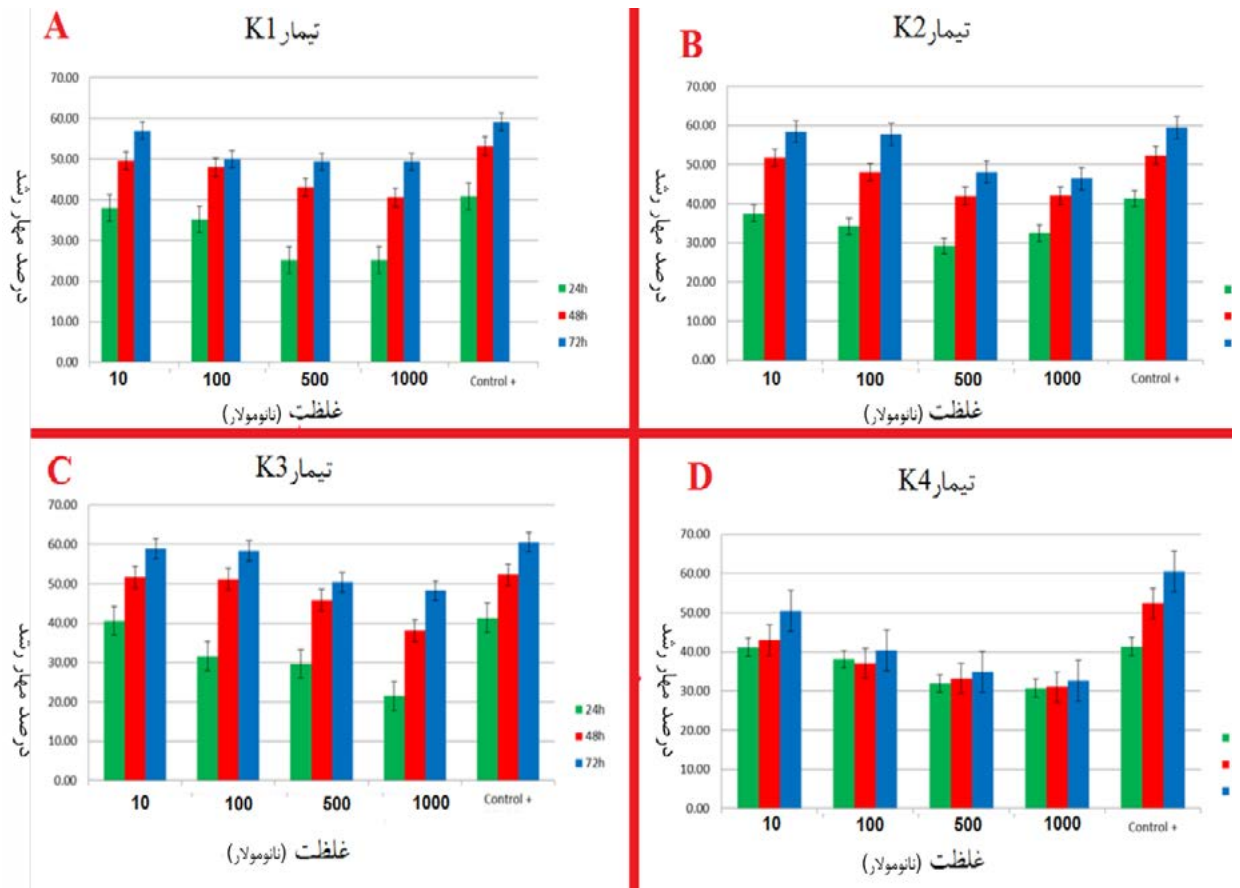
شکل ۴: (A) - نمودار میله‌ای اثر ترکیب K1 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود. (B) - نمودار میله‌ای اثر ترکیب K2 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود. (C) - نمودار میله‌ای اثر ترکیب K3 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود. (D) - نمودار میله‌ای اثر ترکیب K4 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود.



شکل ۵: (A) -نمودار میله‌ای اثر ترکیب K1 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی MOLT-4 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود. (B) -نمودار میله‌ای اثر ترکیب K2 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی MOLT-4 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود. (C) -نمودار میله‌ای اثر ترکیب K3 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی MOLT-4 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود. (D) -نمودار میله‌ای اثر ترکیب K4 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی MOLT-4 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی‌دار بود.

گذشت زمان افزایش قابل ملاحظه در درصد مهار رشد دیده نمی‌شود (شکل ۵).

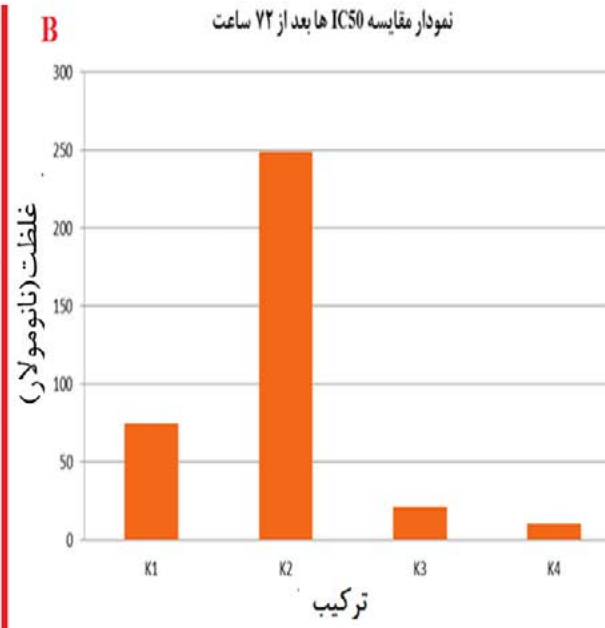
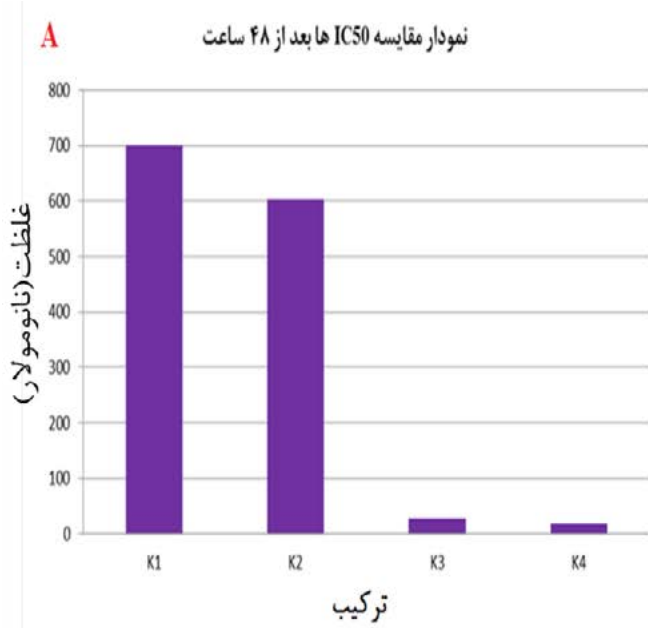
ارزیابی تأثیر K1 بر روی سلول‌های سرطانی پروستات انسان PC-3 نشان می‌دهد (شکل ۶) که درصد مهار رشد این ترکیب با افزایش غلظت (از C1 به C4) و گذشت زمان افزایش می‌یابد که این نشان دهنده اثر سمیت این ترکیب بر روی رشد سلول‌های سرطانی PC-3 است. روند مشابهی را برای مشتق‌های پیریدوپیریمیدینی K2، K3 و K4 می‌توان مشاهده کرد. در رابطه با بررسی اثر ترکیب K4 بر روی رده سلولی سرطانی PC-3 با گذشت زمان روند درصد رشد با شیب کم افزایش یافته است که می‌توان نتیجه گرفت میزان جذب این ترکیب در زمان‌های آغازین ماکزیمم بوده و با



۶: A) - نمودار میله‌ای اثر ترکیب K1 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی PC-3 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی دار بود. B) - نمودار میله‌ای اثر ترکیب K2 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی دار بود. C) - نمودار میله‌ای اثر ترکیب K3 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی PC-3 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی دار بود. D) - نمودار میله‌ای اثر ترکیب K4 بر روی درصد مهار رشد و نمو سلول‌های سرطانی PC-3 در غلظت‌های تعریف شده در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ بعد از کشت. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی دار بود.

افزایش زمان مقدار IC_{50} کاهش می‌یابد، همچنین ترکیب‌های پیریدوپیریمیدینی با استخلاف‌های نیتروفنیل و متوکسی فنیل سمیت بیش‌تری بر این رده سلولی سرطانی نشان دادند. مقادیر IC_{50} برای K3 و K4 در ۷۲ ساعت به ترتیب ۲۱ و ۱۱ نانومولار به دست آمد. (شکل ۶)

امه این مطالعه برای به دست آوردن مقداری از ترکیب که درصد سلول‌ها رو از بین می‌برد، IC_{50} محاسبه گردید، این کار ۲۰۰ ماکرولیتر از سوسپانسیون سلولی حاوی ۱: سلول به هرچاهک از پلیت ۹۶ خانه اضافه گردید، چهار غلظت ۵، ۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ نانومولار و پیریمیدینی به چاهک‌ها اضافه و در بازه‌های زمانی ۲۴، ۷۲ ساعت میزان جذب اندازه‌گیری، سپس با رسم ی خطی بر اساس فاکتورهای غلظت، تعیین شیب عرضی دأ، با قرار دادن در معادله خط درصد مهار رشد سلولی به گردید. برای سلول سرطانی MCF-7 نشان داد که با



شکل ۷: A) نمودار مقایسه IC50 های سلول‌های سرطانی MCF-7 تحت تاثیر ترکیب‌های مختلف پیریدوپیریمیدینی K1, K2, K3 و K4، ۴۸ ساعت بعد از تیمار. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی دار بود. B) نمودار مقایسه IC50 های سلول‌های سرطانی MCF-7 تحت تاثیر ترکیب‌های مختلف پیریدوپیریمیدینی K1, K2, K3 و K4، ۷۲ ساعت بعد از تیمار. تفاوت تیمارها نسبت به کنترل با $P \text{ value} < 0.05$ معنی دار بود.

رده سلول سرطانی پروستات دارای کم‌ترین سمیت بوده، به طوری که برای دو ترکیب K1 و K4 در ۴۸ ساعت IC50 قابل محاسبه نبود، در رابطه با K3 با دارا بودن IC50 معادل ۴۱ نانومولار نسبت به سایر ترکیب‌ها در ۷۲ ساعت نسبت به رده سلول سرطانی PC-3 قدرت مهارکنندگی بیشتری از خود نشان داد.

بحث

خاصیت ضد سرطانی داروهای رایج برای درمان سرطان از چندین سال قبل مشخص شده است، به تازگی پیدا کردن داروهای جدید بر پایه ترکیب‌های سنتزی با سازگاری مناسب جهت درمان سرطان از اهمیت بالایی برخوردار است. هدف ما در این مطالعه ارزیابی اثر ضد سرطانی چهار ترکیب پیریمیدین سنتزی با استخلاف‌های مختلف بر روی رده سرطانی است. نتایج پژوهش ما نشان داد این ترکیب‌ها در کم‌ترین بازه زمانی و با غلظت‌های مشخص دارای اثر مهار رشد بر روی سلول‌های سرطانی هستند، مطالعه‌های قبلی نشان

در رابطه با رده سلولی MDA-MB-231 نتایج نشان داد که با افزایش زمان مقدار IC50 کاهش و در بازه‌های زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت K3 دارای کم‌ترین مقدار IC50 بود، این نشان می‌دهد مشتق پیریدوپیریمیدینی با استخلاف نیتروفینیل دارای سمیت سلولی بیشتری نسبت به سایر ترکیب‌های سنتزی در برابر رده سلول سرطانی MDA-MB-231 است. مقادیر IC50 برای این ترکیب در دوبازه زمانی موردنظر به ترتیب ۲۱ و ۱۱ نانومولار نشان داد.

در رابطه با رده سلولی MOLT-4 نتایج نشان داد که با افزایش زمان مقدار IC50 کاهش می‌یابد، و ترکیب K4 با ۱۳ نانومولار در ۴۸ ساعت دارای کم‌ترین مقدار IC50 است که با گذشت زمان این غلظت کاهش می‌یابد، بنابراین مشتق پیریدوپیریمیدینی با استخلاف نیتروفینیل دارای سمیت سلولی بیشتری نسبت به سایر ترکیب‌های سنتزی در برابر رده سلول سرطانی MOLT-4 است، در ادامه بررسی روی سلول سرطانی PC-3 نشان داد که مواد شیمیایی سنتزی بر روی

بر روی سلول‌های اپیتلیال آدنوکارسینوم انسان (A549)، سلول‌های لوسمی پرومی لوسیتیک^۳ انسان (HL-60)، سرطان معده انسان (BGC-823) و رده سلول سرطانی هیپاتوم انسانی (SMMC-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 (۱۷،۱۸). در راستای این مطالعه نتایج ما نشان داد که ترکیب‌های پریمییدینی که حاوی استخلاف‌های برم به تنهای هستند دارای بیش‌ترین تأثیر در غلظت‌های معقول وزمان‌های مشخص بر کاهش رشد سلول‌های سرطانی سینه هستند و از طرفی بر روی سلول‌های نرمال در این غلظت‌ها اثر سمیت نشان ندادند.

در مطالعه‌ای Smaill و همکاران مشتقات ۶- و ۷- آکریل امید از ۴-فنیل آمینو کوئینوزالین و پیریدوپیریمییدین‌ها را سنتز کردند و تأثیر سمیت سلولی این ترکیب‌های را بر روی رده سلول سرطان سینه MDA-MB-453 را بررسی کردند. این گروه تحقیقاتی نشان دادند که تمامی ۶-آکریل آمیدها از ۷-آکریل آمیدها سمیت بیش‌تری داشته و احتمال دادند که در بین پیریدوپیریمییدین‌ها، پیریدو [۳-۴-d] پیریمییدین نسبت به پیریدو [۲-۳-d] پیریمییدین بیش‌ترین قابلیت بازدارندگی آنزیم‌های کیناز تیروزین مربوطه را دارد (۱۹). نتایج پژوهش ما تأثیر پیریدوپیریمییدین‌ها بر روی این رده سرطانی سینه را نشان داد و این نتایج قبلی که بر اساس احتمال بود را تأیید کرد. Font و همکاران مشتق‌های ۲-۴-دی‌آمینوپیریدو [۲-۳-d] پیریمییدین را سنتز کردند و نشان دادند که این ترکیب‌ها خاصیت سیتوتوکسیک و القاکننده آپوپتوز را از خود نشان می‌دهند. این ترکیب‌ها در شرایط *in vitro* بر روی سه رده سلول تومور (سینه MDA-MB-231، مثانه T-24 و روده بزرگ HT-29) بررسی کردند و فعالیت سری کوئینوزالین و پیریدو [۲-۳-d] پیریمییدین را مقایسه کردند. نتایج این تحقیقات نشان داد که حضور خانواده پیریدوپیریمییدین تأثیر

داده پریمییدین‌ها دارای اثر ضد سرطانی است. از کاربردهای در نظر گرفته برای پریمییدین‌ها در زمینه علوم پزشکی می‌توان به مواردی از جمله اثر آن بر پیشرفت سرطان، محافظت از DNA در برابر آسیب اکسیداتیو، غیرفعال‌سازی متابولیسم کارسینوژن، مهار آنژیوژنز، سم‌زدایی، جلوگیری از رشد سلولی و القای سیتوتوکسیسیتی سلولی اشاره کرد. فعالیت آنتی-اکسیدانی این ترکیب‌ها ناشی از ظرفیت بالای آن‌ها در انتقال الکترون‌ها، شلاته کردن یون‌های آهن و روبش گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن است (۱۴،۱۳). هم‌اکنون تمرکز زیادی بر روی جداسازی این ترکیب‌ها به‌طور طبیعی و نیز تولید سنتتیک آن‌ها وجود دارد. در سنتز این ترکیب‌ها یکی از اهداف مورد توجه اضافه کردن استخلاف به این ترکیب‌ها جهت بازدهی بالای آنهاست. انتخاب این استخلاف‌ها براساس مطالعه‌های انجام شده در این زمینه‌ها است در مطالعه‌ای مشخص شده است که حضور استخلاف ۳-متوکسی در ساختار این ترکیب‌های حلقوی در ایفای نقش آن به‌عنوان یک عامل ضد ویروسی بسیار مؤثر است (۱۵). هم‌چنین احتمال داد شده که استخلاف‌های کلر و برم این ترکیب‌ها -در بروز خاصیت ضد سرطانی بودن آن مؤثر است (۱۶). در این راستا و با توجه به پژوهش‌های پیشین که بر روی ترکیب‌های پیریدوپیریمییدینی صورت گرفته بود، به سنتز چهار ترکیب جدید پیریدوپیریمییدینی پرداختیم. در این ترکیب‌ها از استخلاف‌هایی نظیر برم، متوکسی و نیتروفنیل استفاده شد که پیش‌تر به‌عنوان یک استخلاف مهم و تأثیرگذار در سمیت مشتق‌های پیریدوپیریمییدینی عنوان شده بودند. هم‌چنین از استخلاف‌های دیگری نظیر تیومتیل نیز استفاده شد تا اثر آن‌ها بر سمیت سلول‌های سرطانی بررسی گردد. این ترکیب‌ها بسته به امکانات آزمایشگاهی با خلوص بالا سنتز شدند. ترکیب‌ها مختلف پیریدوپیریمییدین سنتزی و هم‌چنین غلظت‌های متفاوت آن‌ها بر روی رشد و تکثیر سلول‌های نرمال HFF و سلول‌های سرطانی MCF-7، MDA-MB-231، MOLT-4 و PC-3 بررسی شد. دلیل انتخاب سلول‌های سرطانی، در دسترس بودن و قابلیت مقایسه آن با کارهای پیشین در این زمینه بود، در مطالعه‌ای Zhang و همکاران از مشتقات ۳-بنزوهتروسیکل پیریدوپیریمییدین را طراحی و سنتز کردند. این گروه فعالیت ضد تکثیری ۱۳ ترکیب جدید سنتزی

³ promyelocytic

و هم‌چنین مهار آپوپتوز است. مسیر سیگنال دهی $PIK3^4$ یکی از مهم‌ترین مسیرها در لقاء بیان بیش از حد فاکتورهای رشد است. در مطالعه‌های مختلف گزارش شده که پیریدوپیریمیدینی می‌توانند با اثر بر مسیر مربوطه رشد سلول‌های سرطانی را متوقف کنند. در این پژوهش درصد مهار رشد سلول‌های تحت تأثیر این ترکیب‌های سنتزی محاسبه شد، که در بین این ترکیب‌ها اثر K3 بسیار مشهودتر بود. اگرچه سایر ترکیب‌ها هم دارای اثر سمیت بر روی سلول‌ها هستند. به‌عنوان مثال در سلول سرطانی MCF-7 اثر ترکیب K3 در غلظت ۵۰ نانومولار با ترکیب K1 و K2 در غلظت ۵۰۰ نانومولار مشابه است. و در غلظت ۵۰۰ با ترکیب K4 کمابیش مشابه است. هرچند به‌احتمال عوامل شناخته شده و ناشناخته بسیاری می‌توانند این تغییرها را در مورد این مواد به‌وجود آورند، اما به‌نظر می‌رسد این اثرها، با ساختار شیمیایی این مواد ارتباط مستقیم داشته باشند. همان‌طور که پیش‌تر به آن اشاره شد، ساختار شیمیایی K3 دارای گروه نیترو متصل به حلقه فنیلی در زنجیره جانبی خود است در حالی‌که ترکیب K1 در زنجیره جانبی خود دارای برم است. نکته دیگری که در نتایج بایستی مورد توجه قرار گیرد، میزان خلوص ترکیب‌های سنتز شده است میزان خلوص این ترکیب‌ها تا حدودی با هم متفاوت است و این مطلب بایستی در آنالیز و مقایسه اثر آن‌ها در نظر گرفته شود. به‌طور کلی نتایج این پژوهش با توجه به کارهای مشابه در این زمینه نشان می‌دهد مشتق‌های پیریدوپیریمیدینی تازه سنتز شده در مورد سلول‌های سرطانی MCF-7، MAD-MB-231، MOLT-4، PC-3 و سلول‌های نرمال HFF تأییدی بر اثر عمومی مشتق‌های پیریدوپیریمیدینی بر روی سلول‌های سرطانی هستند. به‌طور کلی این ترکیب‌ها موجب رشد سلول‌های طبیعی و مرگ سلول‌های سرطانی می‌شوند که تأییدی بر مطالعه‌های انجام گرفته در این زمینه است. نتایج این مطالعه و نتایج به‌دست آمده از پژوهش‌های دیگر صورت گرفته در سراسر دنیا، استفاده از مشتق‌های پیریدوپیریمیدینی را در درمان سرطان بسیار مؤثر دانسته و می‌توان آن را جایگزین بسیاری از روش‌های پرهزینه و دارای عوارض جانبی نمود تا به این ترتیب گام

معنی‌داری برسرطان دارد (۲۰). مطالعه حاضر این نتایج را بر روی رده‌های سلولی سرطانی تأیید کرد و هم‌چنین دوزهای مصرفی از این ترکیب‌ها بدون داشتن اثر سمیت بر روی سلول‌های نرمال را نشان داد. در این مطالعه اگر چه طرح آزمایش تا حدودی براساس مطالعه‌های گزارش شده قبلی طراحی گردید، اما به توجه به این‌که استفاده از این ترکیب‌های پیریدوپیریمیدینی سنتزی K1, K2, K3, K4 با استخلاف‌های موردنظر تا به امروز گزارش نشده‌اند، به این دلیل امکان مقایسه دقیق پژوهش فراهم نبود، با این حال گزارش‌های مختلفی از مشتق‌های مختلف پیریمیدین‌ها و به‌طور اختصاصی پیریدوپیریمیدین‌ها در مقابله با سرطان شده است و اثر بازدارندگی و ضد سرطانی آن‌ها را به اثبات رسانده‌اند. مقاله‌های مختلفی در کنار بررسی اثر سائیتوتوکسیک ترکیب‌های پیریدوپیریمیدینی، به بررسی مکانیسم‌های احتمالی اثر این ترکیب‌ها پرداخته‌اند و فرضیه‌هایی را در این زمینه بیان نموده‌اند (۲۱). هم‌چنین تعدادی از پژوهش‌ها به بررسی محل اثر این ترکیب‌ها در چرخه سلولی پرداخته‌اند و آن‌ها نیز به نقطه نظرهای مشترکی رسیده‌اند. در این مطالعه نشان داده شد ترکیب پیریمیدین سنتزی حاوی گروه عاملی برم نسبت به سایر مشتق‌های در غلظت ۱۰۰۰ نانومولار نقش مؤثری در کاهش رشد سلول‌های سرطانی از جمله سرطان سینه MCF-7 ایفا می‌کند. این نتایج با کار تحقیقاتی Fadhil Lafta و همکاران تطابق دارد. اگرچه در مطالعه در مقایسه با این مطالعه بر روی رده‌های مختلف سرطان سینه و حتی سلول‌های نرمال انجام گرفت. این گروه در پژوهشی اثر سمیت مشتق برم‌دار کوئینازولین بر روی رده سلول سرطانی MCF-7 با $IC_{50}=6$ میکرومول بر لیتر را نشان دادند، می‌توان نتیجه گرفت ترکیبی K1 با استخلاف فنیل برومید دارای کم‌ترین اثر بازدارندگی رشد سلول‌های سرطان سینه MDA-MB-231 را است. تحقیقات مشابه نیز روند بازدارندگی رشد سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 با استفاده از مشتق اسکافولدی پیریدوپیریمیدین را نشان داده‌اند. این ترکیب‌ها منجر به توقف چرخه سلولی G1-phase در رده سلول سرطان سینه می‌شوند و آپوپتوز را آغاز می‌کنند (۲۲). تومورزایی به‌دلیل رشد بی‌رویه و کنترل نشده سلول‌های سرطانی صورت می‌گیرد، از عوامل اصلی آن بیان بیش از حد فاکتورهای رشد

⁴ Phosphoinositide 3-kinase

مهمی در درمان سرطان به عنوان یکی از شایع ترین و کشنده ترین بیماری ها برداشته شود.

نتیجه گیری

در این مطالعه مقایسه بین نتایج نشان داد درصد مهار رشد سلول های سرطانی تیمار شده با K1⁵ در غلظت ۱۰۰۰ نانومولار در بازه های زمانی مورد مطالعه از سایر مشتق های پیریدوپیریمیدین بیش تر بوده است؛ بنابراین گروه عاملی بروماید توانسته نسبت به سایر مشتق های آن در غلظت ۱۰۰۰ نانومولار نقش مؤثرتری بر کاهش رشد سلول های سرطانی مختلف ایفا کند. نتایج این مطالعه تأثیر این ترکیب های سنتزی بر روی رده های سلولی سرطانی را نشان داد، و استفاده از این ترکیب ها را در علوم پزشکی و داروسازی به عنوان دآوری جایگزین یا مکمل سایر درمان های معمول در جهت پیش گیری و درمان بسیاری از بیماری های از جمله سرطان را حمایت می کند.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود می دارند که از زحمات های پرسنل بانک خون استان یزد و هم چنین از سرکار خانم المیرا شیوخی دانشجویی ارشد ژنتیک دانشگاه تهران مرکز برای ویرایش مقاله تقدیر نماید.

⁵ K1(8,8-dimethyl-2-(methylthio)-5-phenyl-7,8,9,10tetrahydropyrimido[4,5-b]quinolone 4,6(3H,5H)-dione)

- 1- Ormel HL, van der Schoot GG, Sluiter WJ, Jalving M, Gietema JA, Walenkamp AM. Predictors of adherence to exercise interventions during and after cancer treatment: a systematic review. *Psycho-oncology*. 2018; 27(3):713-24.
- 2- Font M, González Á, Palop JA, Sanmartín C. New insights into the structural requirements for pro-apoptotic agents based on 2, 4-diaminoquinazoline, 2, 4-diaminopyrido [2, 3-d] pyrimidine and 2, 4-diaminopyrimidine derivatives. *Eur J Med Chem*.2011; 46(9):3887-99.
- 3- Thallinger C, Füreder T, Preusser M, Heller G, Müllauer L, Höller C, et al. Review of cancer treatment with immune checkpoint inhibitors. *Wiener Klinische Wochenschrift*. 2018; 130(3-4):85-91.
- 4- Buron F, Mérour JY, Akssira M, Guillaumet G, Routier S. Recent advances in the chemistry and biology of pyridopyrimidines. *Eur J Med Chem*. 2015; 5(95):76-95.
- 5- Irwin WJ, Wibberley DG. Pyridopyrimidines: I, 3, 5-, I, 3, 6-, I, 3, 7-, and I, 3, 8-Triazanaphthalenes. *J. Am. Chem*.1969 ;(10):149-198.
- 6- Mohana R, Selvara J, Rajesh S. Synthetic chemistry of pyrimidines and fused pyrimidines: a review. *S C*.2016; 46(8):645-672
- 7- Estrada E, Peña A. In silico studies for the rational discovery of anticonvulsant compounds. *Bioorg Med Chem*. 2000; 8(12):2755--2770.
- 8- 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 Research AACR*.2019; 79(13):2201-2201.
- 9- 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):77734.
- 10- Brown DJ. *Fused Pyrimidines, Part 3: Pteridines*. John Wiley & Sons; 2009.
- 11- Katritzky AR, Rees CW, Scriven EF V. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II: A Review of the Literature*.2nd Ed; 1982-1995.
- 12- Chen S, Ding S, Yin Y, Xu L, Li P, Peppelenbosch MP, Pan Q, Wang W. Suppression of pyrimidine biosynthesis by targeting DHODH enzyme robustly inhibits rotavirus replication. *Antiviral research*. 2019 ;(167):35-44.
- 13- Baroniya S, Anwer Z, Sharma PK, Dudhe R, Kumar N. Recent advancement in imidazole as anticancer agents: A review. *Der Pharmacia Sinica*. 2010; 1(3):172-82.
- 14- Klyba L V, Nedolya NA, Tarasova OA, Sanzheeva ER. Mass spectra of new heterocycles: XII. Main fragmentation pathways of the molecular ions of 5-methylsulfanyl-1-vinyl-1H-pyrrol-2-amines under electron impact and chemical ionization. *Russ J Org Chem*.2014; 50(1):35-44.
- 15- Dansena H, Dhongade HJ, Chandrakar K. Pharmacological potentials of pyrimidine derivative: a review. *Asian J Pharm Clin Res*.2015; 8(4):171-177.
- 16- Singh B, Sharma V, Singh G, Kumar R, Arora S, Ishar MP. Synthesis and in vitro cytotoxic activity of chromenopyridones. *Int J Med Chem*. 2013; 2013: 984329.

- 17- 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. *Chin Chem Lett.* 2014; 25(7):1025-8.
- 18- Li Z, Ding L, Wang Z, Suo F, Shen D, Zhao T, et al. Development of the triazole-fused pyrimidine derivatives as highly potent and reversible inhibitors of histone lysine specific demethylase 1 (LSD1/KDM1A). *Acta Pharmaceutica Sinica B.* 2019; 9(4):794-808
- 19- Smaill JB, Palmer BD, Rewcastle GW, Denny WA, McNamara DJ, Dobrusin EM, et al. Tyrosine kinase inhibitors. 15. 4-(Phenylamino) quinazoline and 4-(phenylamino) pyrido [d] pyrimidine acrylamides as irreversible inhibitors of the ATP binding site of the epidermal growth factor receptor. *J Med Chem.* 1999; 42(10):1803-15.
- 20- Desideri N, Conti C, Sestili I, Tomao P, Stein ML, Orsi N. Synthesis and evaluation of anti-rhinovirus 1B activity of oxazolinyli-isoflavans and-3 (2H)-isoflavenes. *Antivir Chem Chemother.* 1992; 3(4):195-202.
- 21- Wan QL, Meng X, Fu X, Chen B, Yang J, Yang H, et al. Intermediate metabolites of the pyrimidine metabolism pathway extend the lifespan of *C. elegans* through regulating reproductive signals. *Aging (Albany NY).* 2019; 11(12):3993.
- 22- 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):613-31.

