

طراحی، سنتز سبز و ارزیابی بیولوژیک تتراهیدروپیریمیدین های استخلاف دار به عنوان مهارکنندگان بالقوه استیل کولین استراز

بهجت پورامیری^{*۱}

^۱ گروه شیمی آلی، دانشگاه صنعتی قم، قم، ایران

Email: b.pouramiri.chem@gmail.com

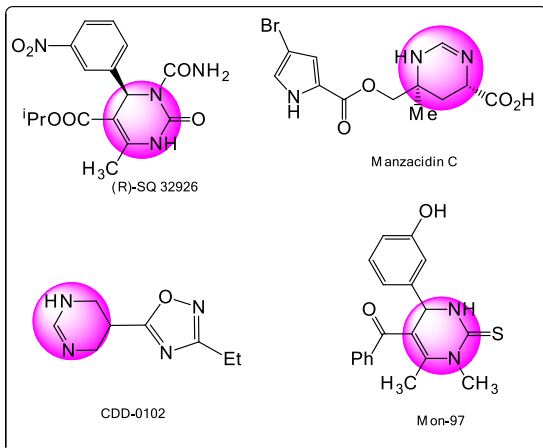
چکیده

مجموعه ای از مشتقات تتراهیدروپیریمیدین-۴-یل (پیریدین 6(a-e) عنوان مهارکننده های استیل کولین استراز (AChE) طراحی و در شرایط سبز بدون حلال در حضور مایع یونی تترابوتیل فسفونیوم هیدروژن سولفات سنتز شدند. ساختارهای شیمیایی تمام ترکیبات جدید سنتز شده با روش های طیف سنجی شامل FT-IR, ¹HNMR, ¹³CNMR و تجزیه عنصری تایید شد. در ادامه فعالیت مهارکنندگی این ترکیبات بر آنزیم AChE در شرایط in-vitro بررسی شد که نتایج نشان داد که تمام مشتقات سنتز شده فعالیت مهاری AChE خوبی را نسبت به دنپزیل به عنوان داروی استاندارد با مقادیر IC50 در محدوده ۰,۰۸ تا ۰,۱ میکرومولار دارند.

واژگان کلیدی: بیماری آلزایمر، مهارکننده استیل کولین استراز، سنتز سبز، بدون حلال

مقدمه

بیماری آلزایمر (AD) یک بیماری پیشرونده وابسته به سن است و مبتلایان به این بیماری دچار اختلالات عصبی هستند که تاکنون درمان نشده است و حدود ۴۷ میلیون نفر در سراسر جهان تحت تاثیر قرار می‌گیرند [۱]. AD یکی از علل برجسته مرگ و میر در دنیای توسعه یافته است. در بیماری آلزایمر استیل کولین استراز دچار اختلالاتی میشود که موجب پیشرفت بیماری آلزایمر میشود. استیل کولین استراز (AChE) یک آنزیم کولینرژیک است که عمدتاً در بافت‌های عصبی مانند مغز استخوان، سیستم عصبی محیطی و اتونومیک توزیع می‌شود. عضله اسکلتی همچنین حاوی AChE است که بلافاصله استیل کولین (ACh)، که یک انتقال دهنده عصبی طبیعی است را به اسید استیک و کولین هیدرولیز می‌کند [۲ و ۳]. اگرچه عملکرد اولیه AChE برای جلوگیری از انتقال پیام عصبی است، محققان دریافتند که AChE نیز نقش مهمی در توسعه عصبی دارد. AChE به طور پیچیده‌ای در توسعه سیستم عصبی نقش دارد و در طول رشد عصبی بیان می‌شود [۴]. مهار AChE باعث کاهش تخریب استیل کولین می‌شود. مهار کننده‌های AChE برای درمان آلزایمر سودمند بوده‌اند. داروهای زیادی برای جلوگیری از پیشرفت آلزایمر به کار ارایه شده‌اند که یکی از رایج‌ترین داروهایی که در بهبود علائم آلزایمر کاربرد دارد دنزیل است. اگرچه مهارکننده‌های AChE خواص درمانی نشان داده‌اند، اما عوارض جانبی شدیدی دارند. از این رو، مطالعات جدید برای طراحی و سنتز مهارکننده‌های جدید AChE با کارایی بهتر همچنان مورد نیاز است. امروزه، تعدادی از ترکیبات هتروسیکل مانند تاکرین، ایندنوکوئینولین، بنزیل پیریدین و کینولین به عنوان مهارکننده‌های AChE شناخته شده‌اند [۵-۸]. در میان انواع هتروسیکل‌ها، تتراهیدروپیریمیدین‌ها ترکیبات سنتزی و طبیعی مهمی هستند که به دلیل خواص متنوع زیستی، کاربردهای عمده‌ای در زمینه‌های دارویی و بیولوژیکی دارند [۹]. بعضی از مشتقات فعال زیستی تتراهیدروپیریمیدین در شکل ۱ آمده است.



شکل ۱. ساختار تعدادی از مشتقات دارویی تتراهیدروپیریمیدینی تحقیقات اخیر نشان داده است که مشتقاتی از دی هیدرو و تتراهیدروپیریمیدین دارای فعالیت مهارکنندگی آنزیم استیل کولین استراز را دارند و سنتز این ترکیبات در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از شیمی‌دانان دارویی قرار گرفته است [۱۰-۱۲]. بنابراین، سنتز ترکیبات جدید حاوی اسکلت پیریمیدین و ارزیابی فعالیت مهارکنندگی آنها بر آنزیم استیل کولین استراز همچنان ارزشمند است. لذا ما در ادامه تحقیقات خود در زمینه سنتز سبز و کارآمد ترکیبات بیولوژیک [۱۳] و مهارکننده آنزیم استیل کولین استراز [۱۴]، به سنتز سبز مشتقات تتراهیدرو پیریمیدینی دارای استخلاف بنزیل و بررسی اثر مهارکنندگی آنزیم استیل کولین استراز این ترکیبات می‌پردازیم.

بخش تجربی

همه مواد شیمیایی مورد نیاز و معرف‌ها و واکنشگرها به کار رفته در این تحقیق از شرکت مواد شیمیایی مرک آلمان تهیه شدند. کروماتوگرافی لایه نازک با استفاده از ورقه‌های سیلیکاژل GF۲۵۴ ۶۰ انجام شد. نقاط ذوب با استفاده از دستگاه Electrothermal ۹۲۰۰ انجام شد. طیف‌های FT-IR در دستگاه Avatar 370 FT-IR Thermo در دستگاه Nicolet به صورت قرص KBr بدست آمد. طیف‌های $^1\text{H-NMR}$ و $^{13}\text{C-NMR}$ 300 توسط دستگاه Bruker Avance DRX آنالیز شد. مقادیر جابجایی شیمیایی (Chemical Shift) بر حسب ppm و مقادیر ثابت کوپلاژ

مول) ومشتقات بنزیل برمید (۱,۵ میلی مول) در ۱۰ میلی لیتر حلال DMF به مدت ۱ ساعت بازروانی شد. پیشرفت واکنش با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک (نرمال هگزان/ اتیل استات: ۱/۴) بررسی شد. پس از پایان واکنش، مخلوط واکنش در دمای اتاق سرد شد و رسوبات محصول فیلتر و خشک شدند. ماده آلی پس از خشک شدن در دمای محیط، توسط اتانول و آب (۱ : ۳) با انجام تبلور مجدد خالص سازی شد و محصول جامد مورد نظر به فرم خالص بدست آمد. ساختار همه ترکیبات با استفاده از روش های سنتزی تایید شدند.

1-benzyl-4-(5-(ethoxycarbonyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-4-yl)pyridin-1-ium bromide (6a): Yellow solid: mp. 118-120 °C. IR (KBr): $\nu = 3231, 3123, 2987, 1451, 750$. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) $\delta = 1.18$ (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 2.37 (s, 3H, CH₃), 4.10 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂), 5.43 (s, 1H, CH), 5.67 (s, 2H, CH₂), 7.27 – 7.34 (m, 5H, arom), 7.36 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, arom), 7.62 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, arom), 7.94 (s, 1H, NH), 9.75 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, Chloroform-*d*) $\delta = 14.1, 18.7, 55.8, 60.0, 62.4, 101.4, 126.6, 127.97, 128.7, 135.6, 138.9, 143.6, 146.1, 153.0, 158.4, 165.6$. Anal. Calcd. For : C₂₀H₂₂BrN₃O₃ C: 55.57; H: 5.13; N: 9.72 %. Found: C: 55.54, H: 5.14, N: 9.69 %.

1-(2-chlorobenzyl)-4-(5-(ethoxycarbonyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-4-yl)pyridin-1-ium bromide (6b): Yellow solid: mp. 106-108 °C. IR (KBr): $\nu = 3231, 3123, 2987, 1451, 750$. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) $\delta = 1.20$ (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 2.36 (s, 3H, CH₃), 4.10 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, CH₂), 5.41 (s, 1H, CH), 5.72 (s, 2H, CH₂), 7.23 – 7.34 (m, 4H, arom), 7.67 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, arom), 7.84 (s, 1H, NH), 8.04 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, arom), 9.48 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, Chloroform-*d*) $\delta = 14.1, 18.8, 55.2, 60.1, 63.9, 101.1, 128.0, 128.8, 130.3, 133.7, 139.4, 142.1, 146.3, 152.8, 159.0, 165.4$.

بر حسب Hertz گزارش شدند که از تری متیل سیلان (TMS) به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد.

سنتز اتیل ۶-متیل-۲-اکسو-۴-پیریدین-۴-یل-۴،۳،۲،۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۴): مخلوطی از ۴-پیریدین کربوکسالدهید (۱۰ میلی مول)، اتیل استو استات (۱۰ میلی مول)، اوره (۱۲ میلی مول) و مایع یونی تری اتیل آمونیوم هیدروژن فسفات (۱۰ مول %) در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد تحت شرایط بدون حلال به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد. پیشرفت واکنش با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک (نرمال هگزان/ اتیل استات: ۱/۴) بررسی شد. پس از پایان واکنش، ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به مخلوط واکنش اضافه شد. سپس رسوبات محصول فیلتر و با استفاده از اتانول ۹۶٪ نوبلور شدند. در این مرحله کاتالیزگر مایع یونی در آب حل شده و با تبخیر آب تحت خلا بازیافت شد.

Methyl 6-methyl-2-oxo-4-(pyridin-4-yl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (4):

Brown solid; m.p.: 220 °C. IR (KBr): $\nu = 3390, 3220, 3087, 2952, 1728, 1633, 1596, 752$. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) $\delta = 1.20$ (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 2.37 (s, 3H, CH₃), 4.11 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH₂), 5.41 (s, 1H, CH), 7.34 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, arom), 7.85 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, arom), 8.75 (s, 1H, NH), 9.75 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, Chloroform-*d*) $\delta = 14.4, 17.7, 53.8, 61.0, 104.4, 127.9, 146.3, 148.6, 153.8, 159.2, 165.6$. Anal. Calcd. For: C₁₂H₁₃N₃O₃ C: 58.29, H: 5.30, N: 16.99 %. Found: C: 58.33, H: 5.22, N: 17.05 %.

روش کلی تهیه مشتقات ۱-بنزیل-۴-۵-اتوکسی

کربونیل-۶-متیل-۲-اکسو-۴،۳،۲،۱-

تتراهیدروپیریمیدین-۴-یل-پیریدین-یوم برمید (6a-e):

مخلوطی از اتیل ۶-متیل-۲-اکسو-۴-پیریدین-۴-یل-۴،۳،۲،۱-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۴) (۱ میلی

1-(3-bromobenzyl)-4-(5-(ethoxycarbonyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-4-yl)pyridin-1-ium bromide (6e): Yellow solid: mp. 192-195 °C. IR (KBr): ν = 3231, 3123, 2987, 1451, 750. ¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 1.22 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 2.38 (s, 3H, CH₃), 4.08- 4.13(q, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 5.25 (1H, br, *NH*), 5.37 (s, 1H, CH), 5.68 (s, 2H, CH₂), 7.02- 7.09 (m, 2H, arom), 7.19- 7.20 (d, *J*= 7.8 Hz, 2H, arom), 7.48- 7.50 (d, *J*= 8.0 Hz, 2H, arom), 7.63- 7.65 (d, *J*= 8.0 Hz, 2H, arom), 9.36 (s, 1H, *NH*). ¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ =14.1, 18.7, 55.8, 60.0, 62.1, 101.4, 125.3, 126.6, 127.9, 128.7, 130.6, 143.6, 146.1, 149.4, 153.0, 159.7, 165.6. Anal. Calcd. For C₂₀H₂₁BrN₃O₃ C: 46.99, H: 4.14, N: 8.22 %. Found: C: 47.05, H: 4.23, N: 8.56 %.

آزمایش مهار آنزیم استیل کولین استراز

استیل کولین استراز (AChE), BuChE و BTCh از Sigma-Aldrich تهیه شدند. دی هیدروژن فسفات پتاسیم، دی فسفات هیدروژن فسفات، پتاسیم، کربنات سدیم هیدروژن و استیل تیوکولین یدید (ATCh) از Fluka خریداری شدند. محلولهای موجود در ترکیبات هدف در مخلوطی از DMSO (1 mL) و اتانول (۹ میلی لیتر) تهیه شده و با غلظت ۰٫۱ MKH₂PO₄ / K₂HPO₄ (pH = 8.0) رقیق شدند ۲۰ میلی لیتر سوبسترات (استیل تیوکولین یدید (۰٫۰۷۵ مولار) به محلول آزمایشی اضافه شد تا غلظت نهایی ۴۶۶ میلی لیتری بدست آید. مهارکنندگی ترکیبات مورد آزمایش نسبت به AChE با توجه به مقادیر IC₅₀، با استفاده از روش رنگ سنجی اصلاح شده المن تعیین شد.

بحث و نتیجه گیری

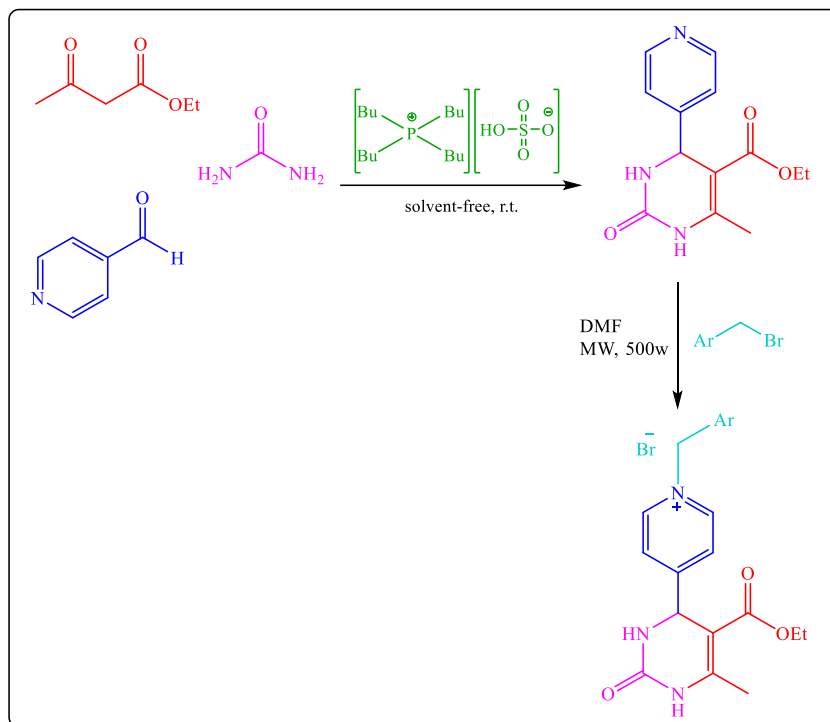
مسیر کلی برای سنتز ترکیبات هدف در طرح ۱ نشان داده شده است.

Anal. Calcd. For : C₂₀H₂₁BrClN₃O₃ C:51.46, H: 4.53, N: 9.00 %. Found: C: 51.39, H: 4.52, N: 8.92 %.

4-(5-(ethoxycarbonyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-4-yl)-1-(2-nitrobenzyl)pyridin-1-ium bromide (6c): Yellow solid: mp. 173-175 °C. IR (KBr): ν = 3231, 3123, 2987, 1451, 750. ¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 1.22 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 2.42 (s, 3H, CH₃), 4.37 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 5.56 (s, 1H, CH), 5.71 (s, 2H, CH₂), 7.33 (s, 1H, NH), 7.53- 7.57 (t, *J*= 7.5 Hz, 1H, arom), 7.62 (m, 1H, arom), 7.72 (d, *J*= 8.0 Hz, 1H, arom), 8.16-8.18 (d, *J*= 8 Hz, 2H, arom), 8.22 (m, 1H, arom), 8.28-8.33 (m, 1H, arom), 8.36 (s, 1H, arom), 9.22 (s, 1H, *NH*). ¹³C NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ =14.1, 19.0, 55.3, 60.4, 62.6, 101.7, 121.8, 123.0, 125.4, 126.7, 129.8, 132.7, 138.2, 145.6, 146.3, 156.0, 157.6, 166.0. Anal. Calcd. For C₂₀H₂₁BrN₄O₅ C: 50.33, H: 4.43, N: 11.74%. Found: C: 50.34, H: 4.39, N: 11.82 %.

4-(5-(ethoxycarbonyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-4-yl)-1-(4-methylbenzyl)pyridin-1-ium bromide (6d): Yellow solid: mp. 173-175 °C. IR (KBr): ν = 3231, 3123, 2987, 1451, 750. ¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 1.20 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 2.34 (s, 3H, CH₃), 2.36 (s, 3H, CH₃), 4.10 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 5.38 (s, 1H, CH), 5.69 (s, 2H, CH₂), 7.12- 7.14 (d, *J*= 7.8 Hz, 2H, arom), 7.22- 7.24 (d, *J*= 7.8 Hz, 2H, arom), 7.55- 7.56 (d, *J*= 8.0 Hz, 2H, arom), 7.68-7.70 (d, *J*= 8 Hz, 2H, arom), 8.05 (s, 1H, *NH*), 9.32 (s, 1H, *NH*). ¹³C NMR (100 MHz, Chloroform-*d*) δ =14.1, 19.0, 21.8, 55.3, 60.4, 62.6, 101.7, 121.8, 123.1, 125.4, 126.7, 129.8, 132.7, 138.2, 145.6, 146.3, 156.0, 157.6, 166.0. Anal. Calcd. For C₂₁H₂₄BrN₃O₃ C: 56.51, H: 5.42, N: 9.41 %. Found: C: 56.62, H: 5.22, N: 9.35 %.

طرح ۱. مسیر کلی سنتز ترکیبات تتراهیدروپیریمیدینی

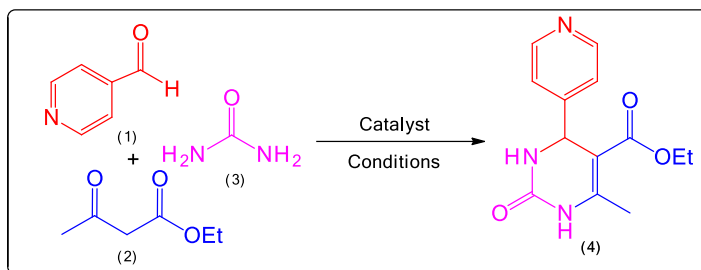


طرح ۱. مسیر کلی سنتز ترکیبات تتراهیدروپیریمیدینی

در ابتدا جهت بهینه سازی شرایط، واکنش تراکمی اتیل استواسات (۱)، ۴-پیریدین کربوکسالدئید (۲) و اوره (۳) به عنوان واکنش مدل انتخاب شد. واکنش مدل در شرایط مختلفی از جمله دما، کاتالیزور، مقدار کاتالیزور و حلال بر بازده اتیل ۶-متیل-۲-اکسو-۴-پیریدین-۴-یل-۱،۲،۳،۴- تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۴) مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱).

در مرحله اول، واکنش تراکم سه جزئی بیجینیلی اتیل استواسات (۱)، ۴-پیریدین کربوکسالدئید (۲) و اوره (۳) در حضور کاتالیزور مایع یونی انجام شده و ترکیب اتیل تتراهیدروپیریمیدینی، اتیل-۶-متیل-۲-اکسو-۴-پیریدین-۴-یل-۱،۲،۳،۴- تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۴) با بازده عالی (۹۵٪) بدست آمد. در ادامه از واکنش ترکیب (۴) با مشتقات مختلف بنزیل برمید در حلال DMF در شرایط مایکروویو در مدت کوتاه مشتقات نهایی به دست آمدند (طرح ۱).

جدول ۱. بررسی حلال و کاتالیزور و بهینه سازی شرایط واکنش



ردیف	کاتالیست مول (%)	شرایط (°C)	زمان (دقیقه)	بازده ^b (%)
۱	-----	بدون حلال) ۱۰۰)	۱۲۰	۱۰
۲	HCl	EtOH (Reflux)	۱۲۰	۳۰
۳	(۲۰·LaCl ₃ ·7H ₂ O)	بدون حلال) ۱۰۰)	۱۰۰	۴۵
۴	(۳۰·ZnCl ₂)	بدون حلال) ۱۰۰)	۴۰	۵۰
۵	(۲۰·ZnCl ₂)	THF (Reflux)	۱۲۰	۵۵
۶	(۲۰·ZnCl ₂)	MeOH (Reflux)	۶۰	۴۰
۷	(۵[TBP][HSO ₄])	بدون حلال) دمای اتاق)	۵۰	۷۵
۸	(۱۰[TBP][HSO ₄])	بدون حلال) دمای اتاق)	۳۰	۹۰
۹	(۱۵[TBP][HSO ₄])	بدون حلال) دمای اتاق)	۳۰	۹۰
۱۰	(۱۰[TBP][HSO ₄])	بدون حلال) ۴۵)	۳۰	۹۰
۱۱	(۲۰[TBP][HSO ₄])	بدون حلال) ۶۰)	۳۵	۸۷
۱۲	(۲۰[TBP][HSO ₄])	بدون حلال) ۹۰)	۳۰	۸۷

۱) ۱ میلی مول، ۲) ۱ میلی مول، ۳) ۱/۱ میلی مول و کاتالیست

حضور کاتالیزور اسید لوییس کلرید روی در شرایط بدون حلال و در حلال های THF و متانول تحت شرایط بازروانی مورد بررسی قرار گرفت که در این شرایط محصول مورد نظر با بازده متوسط سنتز شد (جدول ۱-ردیف های ۴-۶). در ادامه مایع یونی تتراپوتیل فسفونیوم هیدروژن سولفات ([TBP][HSO₄]) به عنوان کاتالیزور استفاده شد (جدول ۱-ردیف های ۷-۱۲). در حضور ۵ مول درصد از این مایع یونی در دمای اتاق بعد از گذشت ۵۰ دقیقه، محصول مورد انتظار با بازده ۷۵ درصدی بدست آمد. نتایج نشان داد که با

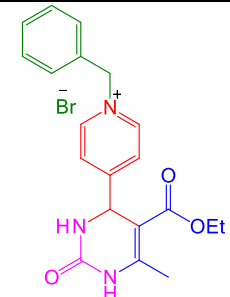
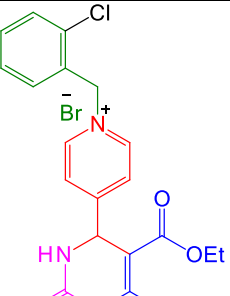
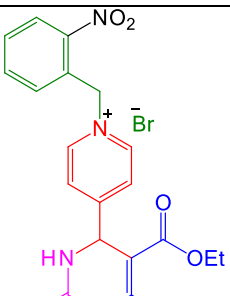
ابتدا واکنش مدل بدون حضور کاتالیزور انجام شد و بعد از گذشت ۲ ساعت هیچ محصولی مشاهده نشد (جدول ۱-ردیف ۱). واکنش مدل در حضور کاتالیزور هیدروژن کلرید در حلال اتانول و در دمای اتاق به مدت ۱۰ ساعت در شرایط بازروانی انجام شد و محصول مورد نظر با بازده ۳۰ درصد به دست آمد (جدول ۱-ردیف ۲). در ادامه همین واکنش در حضور لانتانیم تری کلرید ۷ آبه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد انجام شد و محصول مورد نظر فقط با بازده ۴۵ درصد تشکیل شد (جدول ۱-ردیف ۳). در ادامه تحقیقات واکنش الگو در

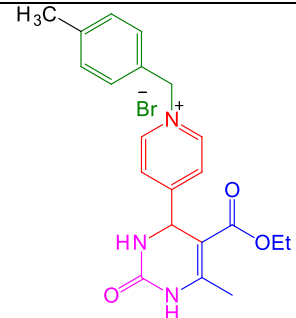
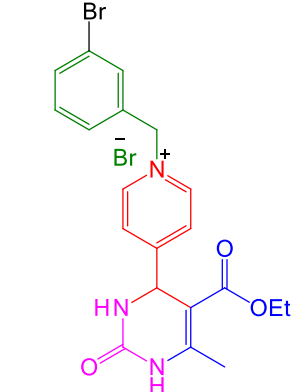
نکرد (جدول ۱-ردیف ۹). بنابراین با استفاده از شرایط بهینه ترکیب اتیل ۶-متیل-۲-اکسو-۴-پیریدین-۴-یل- (۴) سنتز ۱،۲،۳،۴-تتراهیدروپیریمیدین-۵-کربوکسیلات (۴) سنتز شد. در ادامه از واکنش ترکیب ۴ با مشتقات مختلف بنزیل برمید دارای گروه های الکترون دهنده و الکترون کشنده در حلال DMF در شرایط مایکروبو، محصولات نهایی سنتز شدند (جدول ۲).

ساختار کلیه ترکیبات سنتزی شده با کمک داده‌های طیفی و نقطه ذوب شناسایی و تایید شد.

افزایش مقدار کاتالیزگر به ۱۰ مول درصد بازده محصول به طرز چشمگیری افزایش یافت و به ۹۰ درصد رسید و مدت زمان انجام واکنش به ۳۰ دقیقه کاهش یافت. در ادامه با افزایش دما به ۴۵، ۶۰ و ۹۰ درجه سانتی گراد افزایشی در بازده محصول مشاهده نشد (جدول ۱-ردیف های ۱۰-۱۲). برای بهینه سازی مقدار کاتالیزور نیز، مقادیر ۱۰، ۱۵ و ۲۰ مول درصد از کاتالیزگر در واکنش بکار برده شد که مقدار ۱۰ مول درصد به عنوان مقدار بهینه انتخاب شد. همچنین افزایش مقدار کاتالیزور نیز تغییری در بازده محصول مورد نظر ایجاد

جدول ۲. مشتقات مختلف تتراهیدروپیریمیدینی سنتز شده

ردیف	محصول	زمان (دقیقه)	بازده (%)	نقطه ذوب (°C)	AChE IC ₅₀ μM
6a		۶	۹۰	۱۱۸-۱۲۰	۰/۰۰۲± ۰/۱۰۸
6b		۷	۸۵	۱۱۰-۱۱	۰/۰۰۲± ۰/۱۱۴
6c		۱۰	۹۲	۱۰۷-۱۰۹	۰/۰۰۱± ۰/۰۸۶

6d		۱۲	۹۵	۱۲۱-۱۲۳	0.001 ± 0.082
6e		۱۰	۹۷	۱۲۵-۱۲۷	0.001 ± 0.105
	DONEPEZIL				0.079 ± 0.002

الکترون‌کشنده مانند کلرو و برومو روی حلقه فنیل، اثر مهارکننده AChE تغییر چندانی نداشت. در حالی که حضور گروه‌های الکترون‌کشنده نیترو، فعالیت مهارکنندگی ترکیبات را بهبود بخشید. مشتق C۶ که دارای گروه نیترو در موقعیت‌های ارتو بود، فعالیت ضد AChE قوی از خود نشان دادند. جایگزینی نیترو با گروه متیل الکترون دهنده در موقعیت پارا حلقه فنیل در ترکیب 6d، منجر به قویترین مهارکنندگی برابر آنزیم AChE شد ($IC_{50} = 0.082$ میکرومولار).

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، سری جدیدی از ترکیبات تتراهیدروپیریمیدین-۴-یل) پیریدین در حضور مایع یونی تترابوتیل فسفونیوم هیدروژن سولفات در شرایط سبز بدون حلال و در دمای اتاق سنتز شدند. ساختار تمامی ترکیبات با استفاده از روش‌های روش‌های طیف سنجی شامل FT-IR، 1H NMR، ^{13}C NMR و تجزیه عنصری تایید شد. فعالیت مهارکنندگی AChE تمام ترکیبات سنتز شده در شرایط آزمایشگاهی با روش رنگ سنجی المن بررسی شدند.

بررسی اثر مهارکنندگی آنزیم استیل کولین استراز فعالیت‌های مهارکنندگی مشتقات مختلف تتراهیدروپیریمیدینی سنتز شده در شرایط آزمایشگاهی نسبت به استیل کولین استراز (AChE) مورد ارزیابی قرار گرفت و با دونپزیل به عنوان داروی استاندارد مقایسه شد. مقادیر IC_{50} برای مهار AChE در جدول ۲ خلاصه شده است. طبق داده‌های غربالگری، تمام مشتقات سنتز شده اثرات مهاری AChE خوبی را نشان دادند که با دونپزیل به عنوان داروی مرجع با مقادیر IC_{50} در محدوده ۰.۰۸ تا ۰.۱ میکرومولار قابل مقایسه است. بهترین نتایج را ترکیب 6d دارای استخلاف متیل با مقدار IC_{50} 0.082 میکرومولار بدست آمد که با اثرات مهاری AChE دونپزیل به عنوان داروی مرجع ($IC_{50} = 0.079$ میکرومولار) قابل مقایسه بود.

بر اساس نتایج بیولوژیکی، ترکیب 6a دارای مهارکننده AChE متوسط با $IC_{50} = 0.108$ میکرومولار بود. نوع و موقعیت شاخه جانبی روی حلقه فنیل، فعالیت مهارکنندگی ترکیبات را تغییر می‌دهد. با قرار دادن گروه‌های

[8] Ökten S., Ekiz M., Koçyiğit Ü.M., Tutar A., Çelik İ., Akkurt M., Gökalp F., Taslimi P., Gülçin İ., Synthesis, characterization, crystal structures, theoretical calculations and biological evaluations of novel substituted tacrine derivatives as cholinesterase and carbonic anhydrase enzymes inhibitors, *Journal of Molecular Structure*. **2019**, 1175, 906-15.

[9] Sondhi S.M., Jain S., Dinodia M., Shukla R. Raghur R., One pot synthesis of pyrimidine and bispyrimidine derivatives and their evaluation for anti-inflammatory and analgesic activities, *Bioorganic Medicinal Chemistry*. **2007**, 15, 3334-44.

[10] Elumalai K., Ali M.A., Elumalai M., Eluri K., Srinivasan S., Acetylcholinesterase enzyme inhibitor activity of some novel pyrazinamide condensed 1, 2, 3, 4-tetrahydropyrimidines, *Biotechnology Reports*. **2015**, 5, 1-6.

[11] Messer Jr., William S., Yahaya F., Abuh, Kevin Ryan, A. Mary Shepherd, Melanie Schroeder, Sufyan Abunada, Rupa Sehgal, Afif El-Assadi A., Tetrahydropyrimidine derivatives display functional selectivity for M1 muscarinic receptors in brain, *Drug Development Research*. **1997**, 40, 171-184.

[12] Rouleau J., Iorga B.I., Guillou C., New potent human acetylcholinesterase inhibitors in the tetracyclic triterpene series with inhibitory potency on amyloid β aggregation, *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2011**, 46, 2193-205.

[13] Pouramiri B., Zahedifar M., Ayati A., Pouramiri F., Mahdijeh A., Design, synthesis and biological evaluation of new substituted benzofuran-based derivatives via C-H bond activation, *Journal of the Serbian Chemical Society*. **2020**, 85, 1405-1415.

[14] Lotfi S., Rahmani T., Hatami M., Pouramiri, B., Kermani E.T., Rezvannejad E., Mortazavi M., Hafshejani S.F., Askari N., Pourjamali N., Zahedifar, M. Design, synthesis and biological assessment of acridine derivatives containing 1, 3, 4-thiadiazole moiety as novel selective acetylcholinesterase inhibitors, *Bioorganic Chemistry*. **2020**, 105, 104457.

کلیه ترکیبات مهارکنندگی نسبتاً خوبی AChE در مقایسه با دونپزیل نشان دادند. این نتایج اولیه میتواند در توسعه مهارکننده‌های جدید استیل کولین استراز و کشف درمان‌های جدید برای بیماری آلزایمر مفید باشد

تقدیر و تشکر

نویسنده این مقاله از حمایت‌های مالی دانشگاه صنعتی قم تقدیر و تشکر بعمل می‌آورد.

منابع

[1] Alzheimer's Association, Alzheimer's disease facts and figures: *Alzheimers Dement* **2017**, 13, 325-73.

[2] McHardy SF., Wang HL., McCowen SV., Valdez MC. Recent advances in acetylcholinesterase Inhibitors and Reactivators: an update on the patent literature, *Expert Opin Ther Pat*. **2017**, 27, 455-476.

[3] Brimijoin S. Molecular forms of acetylcholinesterase in brain, nerve and muscle: nature, localization and dynamics. *Progress in neurobiology*. **1983**, 21, 291-322.

[4] Bigbee JW, Sharma KV, Gupta JJ, Dupree JL. Morphogenic role for acetylcholinesterase in axonal outgrowth during neural development. *Environmental health perspectives*. **1999**, 107 81-87.

[5] Tong W., Collantes E.R., Chen Y., Welsh, WJ., A comparative molecular field analysis study of N-benzylpiperidines as acetylcholinesterase inhibitors, *Journal of Medicinal Chemistry*. **1996**, 39, 380-387.

[6] Araújo JQ., de Brito MA., Hoelz LV., de Alencastro RB., Castro HC., Rodrigues CR., Albuquerque M.G., Receptor-dependent (RD) 3D-QSAR approach of a series of benzylpiperidine inhibitors of human acetylcholinesterase (HuAChE), *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2011**, 46, 39-51.

[7] Ekiz M., Tutar A., Ökten S., Bütün B., Koçyiğit ÜM., Taslimi P., Topçu G., Synthesis, characterization, and SAR of arylated indenoquinoline-based cholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors, *Archiv der Pharmazie*. **2018**, 351, 1800167.