

رابطه ساختار و فعالیت در فسفر آمیدها

سعید قادیمی*⁺، محمدامین رشنو طائی، علی اصغر ابراهیمی ولموزویی، کیوان اسعد سامانی، زهرا جوانی

تهران، دانشگاه امام حسین (ع)، گروه شیمی، صندوق پستی ۳۴۷ - ۱۶۵۷۵

کیوان نصرت زادگان

تهران، پژوهشکده علوم و فناوری شیمیایی، صندوق پستی ۸۸۴ - ۱۹۵۸۵

مهرداد پورایوبی

مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، گروه شیمی، صندوق پستی ۹۱۷۷۹

چکیده: در این پژوهش با استفاده از نرم افزار PASS، درصد احتمال خاصیت آنتی استیل کولین استرازی دوپست و بیست و پنج مولکول فسفر آمید پیشگویی و از بین آن ها ده مولکول با بالاترین درصد احتمال آنتی استیل کولین استراز و با فرمول عمومی $[N(CH_2)_2]P(S)[OCH_2][OCH_2]$ ، $(44)[NH(CH_2)]P(O)[SCH_2][OCH_2]$ ، $(46)[N(CH_2)_2]P(O)[CN]_2$ ، $(47)[NH(CH_2)]P(O)[SCH_2CH_2][OCH_2CH_2]$ ، $(93)[N(CH_2)_2]P(O)[OCH_2CH_2][N(CH_2)_2]$ ، $(103)[2,4,5-Cl_3-C_6H_2O]P(O)[OCH_2CH_2][N(CH_2)_2]$ ، $(99)[5,4,2-Cl_3-C_6H_2O]P(O)[OCH_2][N(CH_2)_2]$ ، $(178)[p-Cl-C_6H_4O]_2P(O)[N(CH_2)_2]$ ، $(179)[p-CH_3-C_6O]_2P(O)[N(CH_2)_2]$ ، $(217)[p-CH_3-C_6H_4O]P(O)[F][N(CH_2)_2]$ ، $(183)[C_6H_5O]_2P(O)[N(CH_2)_2]$ خالص سازی و شناسایی ترکیب های هدف با استفاده از فناوری های GC-Mass، IR، 1H ، ^{13}C ، ^{19}F ، ^{31}P NMR و X-Ray، میزان مهار کنندگی و آبگریزی این ترکیب ها با استفاده از روش های المن و فلاسک لرزان اندازه گیری شد. نتیجه های $LogP$ و IC_{50} نشان می دهد که ترکیب ۴۶ بالاترین و ترکیب ۱۸۳ کمترین قدرت مهار کنندگی و ترکیب ۴۴ کمترین و ترکیب ۱۸۳ بیشترین آبگریزی را دارا می باشند. رابطه های ساختار-فعالیت در این ترکیب ها بیانگر آن است که از میان سه پارامتر الکترونی، فضایی و آبگریزی، پارامتر آبگریزی بیشترین تأثیر را در مقدار IC_{50} نشان می دهد.

واژه های کلیدی: فسفر آمید، فسفر آمیدوتیوات، PASS، آبگریزی، آنتی استیل کولین استراز، IC_{50} ، رابطه ساختار - فعالیت.

KEY WORDS: Phosphoramidate, Phosphoramidothioate, PASS, Lipophilicity, Anti-acetylcholinesterase, IC_{50} , Structure-Activity relationship.

+E-mail: ghadimi_saied@yahoo.com

*عهده دار مکاتبات

مقدمه

انتخاب و طراحی مولکول‌هایی با فعالیت زیستی ویژه یکی از موضوع‌های مورد علاقه دانشمندان حوزه‌های گوناگون علمی از جمله علوم زیستی، دارویی و کشاورزی است و تاکنون پژوهش‌های گسترده‌ای در این زمینه انجام شده است. در منابع دو مکانیسم برای رسیدن به این هدف گزارش شده است [۱-۶].

۱- طراحی مولکول‌ها براساس مکانیسم عمل، که در این روش می‌بایست ساختار سه بعدی گیرنده زیستی و ابعاد و ویژگی‌های کلی سایت‌های گیرنده مشخص شود. سپس با توجه به ابعاد و ویژگی‌های ساختاری گیرنده زیستی، مولکولی طراحی شود تا بالاترین انطباق را با مراکز فعال گیرنده داشته باشد.

۲- طراحی براساس مطالعات کمی روابط ساختار و فعالیت (QSAR)^(۱)، که اساس کار این روش اندازه‌گیری ویژگی‌های شیمی فیزیکی، برقراری رابطه کمی بین این ویژگی‌ها و فعالیت‌های زیستی و همچنین پیدا کردن الگوها و مدل‌های حاکم بر رفتار کمیت‌های اندازه‌گیری شده می‌باشد. برخی ویژگی‌های شیمی فیزیکی از جمله ویژگی‌های الکترونی، فضایی و چربی دوستی، پیوندهای هیدروژنی، قطبش‌پذیری و ممان دوقطبی نقش اساسی بر روی رفتار زیستی بازی می‌کند. از برتری‌های این روش طراحی ساده و کم هزینه بودن و در عین حال کارآمد و مؤثر بودن آن است. از عیب‌های این روش، احتمال وجود اثرات جانبی در مولکول‌های طراحی شده است. با توجه به هزینه‌های بسیار زیاد بخش پژوهش‌ها و لزوم توسعه آفت‌کش‌ها و داروهای گوناگون و کاستن اثرهای جانبی آن‌ها، پژوهشگران به دنبال روش‌هایی تند، کم هزینه و دقیق برای یافتن ترکیب‌هایی با بیشترین فعالیت زیستی و کمترین اثرهای جانبی می‌باشند. یکی از این روش‌ها، استفاده از پیشگویی‌های رایانه‌ای برای یافتن پتانسیل فعالیت زیستی ترکیب‌های گوناگون شیمیایی است [۷]. نرم‌افزار PASS^(۲) نرم افزاری است که می‌تواند در مدت و هزینه بسیار کم و با دقت بالا و به‌طور همزمان صدها فعالیت زیستی را پیشگویی نماید. اصول حاکم بر این نرم‌افزار مبتنی بر روش‌های مرسوم QSAR و عبارت معروف "فعالیت تابعی از ساختار است" بنا نهاده شده است. موضوع مورد توجه در این مطالعه ترکیب‌های آلی فسفر و به‌طور مشخص بررسی رابطه ساختار-فعالیت فسفرآمیدهاست [۲۲، ۱۸، ۸].

فسفرآمیدها علاوه بر کاربرد فراوانی که به عنوان آفت کش دارند، پژوهش‌های فراوانی بر روی فعالیت‌های ضد تومور و ضد HIV آنها در حال انجام است. اغلب این ترکیب‌ها به دلیل آنکه مانع از عملکرد آنزیم استیل کولین استراز (AChE) از طریق واکنش با گروه هیدروکسیل سرین آنزیم می‌شوند، سمی هستند. با از دست رفتن عملکرد آنزیم، هیدرولیز استیل کولین که نقش اساسی در انتقال پیام‌های عصبی دارد، مختل شده و این موضوع باعث انباشتگی استیل کولین در غشاهای عصبی و سرانجام منجر به مرگ می‌شود. به همین علت فعالیت زیستی آنتی استیل کولین استراز (Anti AChE) ترکیب‌های فسفرآمید و ارتباط آن با ویژگی‌های ساختاری مهمی مانند آب‌گریزی، عامل‌های الکترونی و فضایی این ترکیب‌ها بسیار مورد توجه است. در این پژوهش برخی ترکیب‌های فسفرآمید شناخته شده انتخاب و پتانسیل فعالیت زیستی آن‌ها به‌وسیله نرم‌افزار PASS مورد ارزیابی قرار گرفته است. سپس مولکول‌های با بالاترین پتانسیل فعالیت Anti AChE شناسایی شده و ستر و اندازه‌گیری تجربی این ویژگی‌های زیستی انجام شده است. به‌طور کلی مهم‌ترین هدف‌های این پژوهش عبارت‌اند از:

- انتخاب بیش از دویست مولکول فسفرآمید با گستره فعالیت زیستی زیاد و ویژگی‌های شیمی فیزیکی متنوع [۱۵].
- پیشگویی طیف فعالیت بیولوژیکی مولکول‌های فسفرآمید منتخب با نرم‌افزار PASS.
- انتخاب مولکول‌های با بالاترین احتمال داشتن ویژگی Anti AChE از نتیجه‌های به‌دست آمده از نرم‌افزار.
- ستر، خالص‌سازی، شناسایی و اندازه‌گیری ویژگی آنگریزی (Log P) و IC₅₀ مولکول‌های منتخب.

بخش تجربی

نرم‌افزار PASS - معرفی و کاربردها

اساس کار نرم‌افزار PASS مقایسه ساختار یک ماده شیمیایی جدید با موادی که فعالیت زیستی آن‌ها به خوبی شناخته شده می‌باشد. با این مقایسه می‌توان در مورد پتانسیل زیستی ماده جدید نظر داد. برای توصیف ساختار مولکولی در نرم‌افزار PASS از توصیف‌گر "همسایگان چند سطحی اتم‌ها (MNA)^(۳)" استفاده شده است. توصیف‌گرهای MNA در مباحث روابط کمی

(۱) Quantitative Structure-Activity Relationship

(۲) Prediction Activity Substance Spectra

(۳) Multilevel Neighborhoods of Atoms

به صورت فایل مول^(۶) به وب سایت PASS ارسال و طیف فعالیت زیستی پیشگویی شده آن ماده را دریافت نمود [۱۴]. با استفاده از این نرم افزار یافتن ترکیب‌های مفید و بهینه‌سازی ویژگی‌های آن‌ها (افزایش فعالیت‌های مطلوب و کاهش اثرات جانبی و نامطلوب) که به‌طور معمول به صورت مرحله به مرحله انجام می‌شود، به‌صورت همزمان و در مرحله‌های اولیه پژوهش قابل انجام است. بنابراین برای ارزیابی پتانسیل زیستی مولکول‌های فسفرآمید، ساختار دو بعدی هر مولکول به‌عنوان داده‌ی ورودی در اختیار نرم‌افزار قرار داده شد [۱۵]. در این پژوهش پس از گزینش ۲۲۵ مولکول فسفرآمید طیف پتانسیل زیستی آن‌ها با استفاده از نرم افزار PASS به دست آورده می‌شود [۱۵]. در جدول ۱ بخشی از داده‌های به‌دست آمده از نرم‌افزار برای مولکول ۴۴ آورده شده است. در جدول ۲ درصد احتمال Anti AChE شصت و پنج مولکول از ۲۲۵ مولکول منتخب جمع‌بندی و مابقی در سایت معرفی شده در مرجع [۱۵] آورده شده است. با تمرکز بر بالاترین درصد پتانسیل Anti AChE، ده مولکول برتر با شماره‌های ۴۴، ۴۶، ۴۷، ۹۳، ۹۹، ۱۰۳، ۱۷۸، ۱۷۹، ۱۸۳ و ۲۱۷ برای ورود به فاز آزمایشگاهی انتخاب شد.

پس از انتخاب ده مولکول برتر، در بررسی منابع مشخص شد این مولکول‌ها را می‌توان در پنج خانواده طبقه بندی کرد. شماره مولکول‌های منتخب و طبقه بندی آن‌ها در جدول ۳ آورده شده است.

مواد و دستگاه‌ها

فسفریل کلرید (۹۸٪)، متاکرزول (۹۹٪)، پاراکرزول (۹۸٪)، ۵،۴،۲-تری کلروفنل (۹۹٪)، دی اتیل آمین، اتانول، متانول، پتاسیم فلوئورید، اتر تاجی شکل، اتیل استات، هگزان نرمال، کلروفرم، پیریدین، اسید هیدروکلریک، متیل آمین، تری اتیل آمین، پتاسیم سیانید، استونیتریل، استیل تیوکولین یدید، سدیم هیدروژن فسفات، سدیم دی هیدروژن فسفات از شرکت Merck و بنزن (Kanto)، O.O-دی متیل کلروتیوفسفات (Aldrich)، ۵،۵-دی تیو بیس (۲-نیترو بنزویک اسید) (Sigma) و آنزیم استیل کولین استراز هسته (NMR) مدل Bruker ADVANCE DRS 250 MHz که قدرت میدان دستگاه در طیف‌گیری ¹H NMR ۲۵۰/۱۳ مگا هرتز، در طیف‌گیری ¹³C NMR ۶۲/۹ مگا هرتز و در طیف‌گیری

ساختار - خواص (QSPR)^(۱) به عنوان توصیف‌گرهای جهانی مورد پذیرش قرار گرفته‌اند. روش ریاضی مورد استفاده در نرم افزار PASS از میان حدود یکصد روش انتخاب شده است. این روش توانسته است روابط SAR و پیشگویی‌های قدرتمندی ارائه نماید. با وجودی که بانک اطلاعاتی نرم‌افزار (ویرایش ۱/۱۹۳) مجموعه کاملی نبوده، نشان داده شده که میانگین درستی پیشگویی در آن بیش از ۸۵٪ می‌باشد. پیشگویی پتانسیل فعالیت‌های زیستی در این نرم‌افزار به‌صورت کیفی ارائه می‌شود. نتیجه‌های پیشگویی به‌صورت فهرستی از فعالیت‌های زیستی محتمل (احتمال داشتن یک فعالیت زیستی خاص با P_a) و احتمال نداشتن فعالیت با (P_i) نشان داده شده است. نرم‌افزار PASS قادر است طیف فعالیت زیستی مولکول‌ها را که شامل مکانیسم‌های بیوشیمیایی اثر، اثرهای جانبی، جهش ژنی، قدرت سرطانی، نقص جنین، فعالیت Anti AChE و ده فعالیت زیستی دیگر می‌باشد را به‌صورت فهرستی به‌عنوان خروجی نرم افزار ارائه نماید. نرم‌افزار PASS این توانایی را دارد تا طیف فعالیت زیستی حدود یک هزار ترکیب را در کمتر از یک دقیقه به‌وسیله یک کامپیوتر شخصی گزارش نماید. از آنجایی که این پیشگویی براساس فرمول ساختاری ترکیب انجام می‌شود، پیشگویی را می‌توان در مراحل اولیه طراحی و تهیه نیز انجام داد. برای تعداد زیادی از داروها که به‌طور گسترده مورد استفاده هستند، این نرم‌افزار می‌تواند فعالیت‌های جدیدی را که ارزش تست‌های آزمایشگاهی و بالینی را دارند، پیشگویی نماید. نتیجه‌ی پیشگویی طیف فعالیت زیستی در دویست داروی مطرح در آمریکا نشان داده است که این پیشگویی‌ها نه تنها با اثرهای و مکانیسم‌های شناخته شده تا حدود ۹۳٪ مطابقت دارند، بلکه کاربردهای جدیدی برای این داروها معرفی کرده‌اند. برای مثال پیشگویی قدرت مهارکنندگی ژن‌های مولد عروق در داروی شل‌کننده عضله کاریزوپرودول^(۲)، پیشگویی درمان اختلالات ذهنی به‌وسیله داروی ضد فشار خون رامیپ^(۳) و پیشگویی درمان بیماری مولتیپل سکروزیز^(۴) به‌وسیله‌ی داروی ضد فشار خون آلودی پین^(۵) را می‌توان نام برد [۱۳-۹]. برای ساخت داروهای جدید اتکاء به پیشگویی‌های متکی بر سیستم‌های رایانه‌ای هزینه و زمان را به‌شدت کاهش خواهد داد. برای گسترش بازه‌ی کاربری نرم‌افزار PASS، این سامانه در شبکه اینترنت نیز قرار گرفته است. با کمک کاوشگرهای اینترنتی می‌توان ساختار شیمیایی مواد مورد نظر را

(۱) Quantitative Structure-Properties Relationship

(۲) Carisoprodol

(۳) Ramipril

(۴) Multiple sclerosis

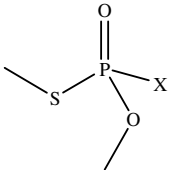
(۵) Amlodipin

(۶) Mol file

جدول ۱- بخشی از طیف فعالیت بیولوژیک پیشگویی شده از نرم افزار PASS برای مولکول ۴۴.

		
P_a	P_i	فعالیت بیولوژیکی
۰٫۹۹۴	۰٫۰۰۱	Toxic
۰٫۹۸۴	۰٫۰۰۱	Embryotoxic
۰٫۹۷۷	۰٫۰۰۳	Teratogen
۰٫۸۹۳	۰٫۰۰۴	Mutagenic, Salmonella
۰٫۸۵۹	۰٫۴۴۴	Mutagenic
۰٫۸۱۷	۰٫۰۰۵	Carcinogenic
۰٫۸۰۴	۰٫۰۰۲	Insecticide
۰٫۸۰۶	۰٫۰۰۶	Skin irritation, weak
۰٫۷۶۸	۰٫۰۰۳	Acetylcholinesterase inhibitor
۰٫۷۶۵	۰٫۰۰۵	Antiparasitic
۰٫۶۲۰	۰٫۰۰۸	Acaricide
۰٫۶۰۷	۰٫۰۰۶	Cholinergic
۰٫۵۷۶	۰٫۰۱۰	Hematopoietic inhibitor
۰٫۴۸۸	۰٫۰۰۷	DNA directed RNA polymerase inhibitor
۰٫۴۵۸	۰٫۰۰۶	Urease inhibitor
۰٫۴۵۹	۰٫۰۱۵	Miotic
۰٫۴۳۴	۰٫۰۶۸	Skin irritation, inactive
۰٫۳۹۹	۰٫۰۴۲	Carcinogenic, group 1
۰٫۳۸۷	۰٫۰۷۸	Leukopoiesis inhibitor
۰٫۳۶۲	۰٫۰۶۴	Cytostatic
۰٫۳۹۰	۰٫۱۱۹	Eye irritation, inactive
۰٫۳۷۲	۰٫۱۶۶	CYP2C19 human substrate
۰٫۳۳۳	۰٫۱۶۴	Antitoxic
۰٫۲۴۵	۰٫۰۷۷	Lipotropic
۰٫۲۲۲	۰٫۰۷۳	Aldehyde dehydrogenase inhibitor
۰٫۲۳۱	۰٫۰۹۸	Antiviral (HIV)
۰٫۳۶۱	۰٫۲۵۰	Phospholipase C inhibitor

جدول ۲- نتیجه‌های درصد احتمال فعالیت (Pa%) Anti AChE (Pa%) نسبت و پنج مولکول فسفرآمید.

					
Pa(%)	X	ردیف	Pa(%)	X	ردیف
۱۶٫۰	$N(CH_2)C(O)(CH_2)_7 (C_6H_5)$	۲۱	۱۸٫۳	NHC(O)	۱
۱۶٫۱	$N(CH_2)C(O)CH=CH(C_6H_5)$	۲۲	۲۰٫۴	NHC(O)CH ₂	۲
۱۶٫۸	$N(CH_2)C(O)CH_2-S(C_6H_5)$	۲۳	۳۹٫۰	$N(CH_2)C(O)CH_2$	۳
۱۷٫۵	$N(CH_2)C(O)CH_2-O(C_6H_5)$	۲۴	۱۷٫۱	NHC(O)CH ₂ CH ₂	۴
۲۴٫۰	$N(CH_2)C(O)Br$	۲۵	۱۷٫۱	NHC(O)(CH ₂) ₇ CH ₂	۵
۱۷٫۶	$N(CH_2)C(O)Cl$	۲۶	۱۷٫۱	NHC(O)(CH ₂) _۶ CH ₂	۶
۰٫۰	$N(CH_2)C(O)CHCl_2$	۲۷	۱۷٫۱	NHC(O)(CH ₂) _۶ CH ₂	۷
۰٫۰	$N(CH_2)C(O)(CH_2)_7 Cl_2$	۲۸	۱۷٫۱	NHC(O)(CH ₂) _۷ CH ₂	۸
۰٫۰	$N(CH_2)C(O)(CH_2)_۱۰ Br$	۲۹	۱۷٫۱	NHC(O)(CH ₂) _۸ CH ₂	۹
۱۵٫۲	$N(CH_2)C(O)CH_2OCH_2$	۳۰	۱۷٫۱	NHC(O)(CH ₂) _{۱۰} CH ₂	۱۰
۱۵٫۲	$N(CH_2)C(O)(CH_2)_7 OCH_2$	۳۱	۱۷٫۱	NHC(O)(CH ₂) _{۱۱} CH ₂	۱۱
۱۳٫۵	$N(CH_2)C(O)(CH_2)_7 OCH(CH_2)_7$	۳۲	۱۷٫۱	NHC(O)(CH ₂) _{۱۲} CH ₂	۱۲
۰٫۰	$N(CH_2)C(O)(CH_2)_7 SCH_2CH_2$	۳۳	۱۷٫۱	NHC(O)(CH ₂) _{۱۵} CH ₂	۱۳
۰٫۰	$N(CH_3)C(O)(CH_2)_7 SCH_2$	۳۴	۱۴٫۰	$N(CH_2)C(O)CH(CH_2)_7$	۱۴
۲۴٫۳	$N(CH_2)C(O)OCH_2CH_2$	۳۵	۱۶٫۸	$N(CH_2)C(O)C(CH_2)_7$	۱۵
۲۲٫۶	$N(CH_2)C(O)O(CH_2)_۶CH_2$	۳۶	۱۲٫۴	$N(CH_2)C(O)CH_2CH(CH_2)_7$	۱۶
۱۳٫۰	$N(CH_2)C(O)SCH_2CH_2$	۳۷	۱۲٫۲	$N(CH_2)C(O)CH(CH_2)(CH_2)_7 CH_2$	۱۷
۲۰٫۲	$N(CH_2)C(O)NH_2$	۳۸	۱۷٫۱	$N(CH_2)C(O)S(C_6H_5)$	۱۸
۷۶٫۸	NH(CH ₂)	۴۴	۱۴٫۲	$N(CH_2)C(O)CH=C(CH_2)_7$	۱۹
۵۶٫۵	$N(CH_2)_7$	۴۵	۱۶٫۸	$N(CH_2)C(O)CH_2 (C_6H_5)$	۲۰

جدول ۲- ادامه

$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{X}-\text{P}-\text{N}(\text{Z}) \\ \diagdown \\ \text{Y} \end{array}$				
Pa(%)	X	Y	Z	ردیف
۱۵,۵	SCH _۲ CH _۲	OCH _۲ CH _۲	H _۲	۳۹
۲۲,۹	SCH(CH _۲) _۲	OCH(CH _۲) _۲	H _۲	۴۰
۳۵,۷	SCH _۲	OCH(CH _۲) _۲	H _۲	۴۱
۲۳,۹	SCH _۲	OCH _۲ CH _۲	H _۲	۴۲
۳۵,۷	SCH _۲	OCH _۲ (CH _۲) _۲	H _۲	۴۳
۷۴,۴	SCH _۲ CH _۲	OCH _۲ CH _۲	HCH ₃	۴۷
۰,۰	SCH _۲ CH _۲	OCH _۲ CH _۲	(CH _۲) _۲	۴۸
۰,۰	SCH _۲ CH _۲	OCH _۲ CH _۲	(CH _۲ CH _۲) _۲	۴۹
۰,۰	SCH _۲ CH _۲	OCH _۲	H _۲	۵۰
۵۴,۱	OCH _۲ CH _۲	OCH _۲ CH _۲	H _۲	۵۱
۱۵,۰	SCH _۲ CH _۲	OCH _۲ CH _۲	H ₂	۵۲
۵۴,۳	SCH _۲ CH _۲	OCH _۲ CH _۲	(CH _۲) _۲	۵۳
۱۵,۹	SCH _۲	OCH _۲ CH _۲	H _۲	۵۴
۱۵,۲	NH _۲	SCH _۲	H _۲	۵۵
۱۸,۹	OCH _۲ CH _۲	S(C _۲ H _۵)	H _۲	۵۶
۱۸,۶	OCH _۲ CH _۲	S(C _۲ H _۴ -F)	H _۲	۵۷
۰,۰	OCH _۲ CH _۲	S(C _۲ H _۴ -Br)	H _۲	۵۸
۱۷,۹	OCH _۲ CH _۲	S(C _۲ H _۴ -CH _۲)	H _۲	۵۹
۱۶,۸	OCH _۲ CH _۲	S(C _۲ H _۴ -CH _۲ CH _۲)	H _۲	۶۰
۱۳,۹	OCH _۲ CH _۲	S(C _۲ H _۴ -CH(CH _۲) _۲)	H _۲	۶۱
۲۰,۷	OCH _۲ CH _۲	S(C _۲ H _۴ -C(CH _۲) _۲)	H _۲	۶۲
۱۵,۹	OCH _۲ CH _۲	S(C _۲ H _۴ -Cl)	H _۲	۶۳
۶۷,۰	OCH _۲ CH _۲	S(C _۲ H _۴ -Cl)	HCH _۲	۶۴
۴۲,۶	OCH _۲ CH _۲	S(C _۲ H _۴ -Cl)	(CH _۲) _۲	۶۵

جدول ۳- ده مولکول منتخب و طبقه‌بندی آن‌ها.

خانواده	ساختار مولکولی
فسفر آمیدوتیوات‌ها	<p>۴۴ ۴۶ ۴۷</p>
سیانوفسفرآمیدات‌ها	<p>۹۳</p>
تری کلرو فنیل آلکیل فسفرآمیدات‌ها	<p>۹۹ ۱۰۳</p>
فسفرآمیدهای فوزاکتیم	<p>۱۷۸ ۱۸۳ ۱۷۹</p>
دی آلکیل فسفر آمیدوفلوریدیک اسید استرها	<p>۲۱۷</p>

(ویرایش ۱/۱۹۳) Shimadzu GC-4C(PTF) و نرم افزار PASS (ویرایش ۱/۱۹۳) استفاده شده است.

تهیه

روش تهیه ترکیب N,N-دی متیل فسفرآمیدیک اسید بیس (فنیل) استر (۱۷۸)، N,N-دی متیل فسفرآمیدیک اسید

^{31}P NMR ۱۰۱٫۲۵ مگا هرتز می‌باشد. جابه‌جایی شیمیایی ^1H NMR و ^{13}C نسبت به استاندارد داخلی TMS و ^{31}P NMR نسبت به استاندارد خارجی H_3PO_4 ۸۵٪ سنجیده شده‌اند. در این پژوهش همچنین از دستگاه‌های فرو سرخ (IR) مدل PERKIN ELMER 783، طیف سنج جذبی (UV-Vis) مدل PERKIN-ELMER Lambda 5 & CECIL 8000 (SER:35) و

جدول ۴- شرایط به کار رفته در واکنش تک فازي تولید N-متیل O.O-دی متیل فسفرآمیدو تیوات (نسبت $(\text{CH}_3\text{O})_2\text{P}(\text{S})\text{Cl}$ به نمک متیل آمین هیدروکلراید به باز در تمام واکنش‌ها به صورت ۲-۲-۲ می‌باشد).

شماره	باز	حلال	دما	زمان	ملاحظات
۱	پیریدین	بنزن	حمام آب و یخ	۲۴ ساعت	راندمان صفر
۲	پیریدین	بنزن	دمای اتاق	۱۷ ساعت	راندمان کم
۳	پیریدین	بنزن	۸۵°C	۳ ساعت	راندمان کم
۴	تری اتیل آمین	بنزن	۸۰°C	۳ ساعت	راندمان کم
۵	تری اتیل آمین	هگزان	۶۵°C	۳ ساعت	راندمان کم
۶	تری اتیل آمین	دی اتیل اتر	۴۰°C	۳٫۵ ساعت	واکنش مناسب
۷	تری اتیل آمین	کلروفرم	۶۵°C	۳٫۵ ساعت	واکنش مناسب
۸	تری اتیل آمین	کلروفرم	۶۵°C	۲٫۵ ساعت	واکنش مناسب
۹	تری اتیل آمین	دی کلرومتان	۴۵°C	۲٫۵ ساعت	واکنش مناسب

فرآورده از روش فلش کروماتوگرافی به نسبت حلال ۱ به ۹ اتیل استات و هگزان استفاده شد. شرایط در واکنش ردیف های ۶ الی ۹ مناسب می‌باشد. جزئیات مربوط به نحوه واکنش در مرجع [۱۶] آمده است.

ب) شرایط دو فازي

واکنش دی متیل کلرو تیو فسفات با متیل آمین در حضور باز و به صورت دو فازي در چندین نوبت با تغییر شرایط دمایی و تنظیم pH انجام و شرایط مختلف به دست آمده در جدول ۵ گزارش شده است.

در شرایط دو فازي واکنش ردیف ۹ شرایط مناسب تری را نشان می دهد. pH در واکنش ۸ و ۹ در گستره ۹-۸ (با استفاده از بافر بوریک اسید) تنظیم شده است. روش سنتز ترکیب II مشابه روش استفاده شده برای ترکیب I می‌باشد، با این تفاوت که برای تهیه این ترکیب از پیش ماده $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{S})\text{Cl}$ استفاده شده است (راندمان ۶۵٪) [۱۷].

N-متیل O.O-دی متیل فسفر آمیدوات (۴۴)، N-دی متیل O.O-دی متیل فسفر آمیدوات (۴۶) و N-متیل S.O-دی اتیل فسفر آمیدوات (۴۷) برای سنتز ترکیب ۴۴ از نوآرایی N-متیل O.O-دی متیل فسفر آمیدو تیوات در حضور کاتالیزور دی متیل سولفات

بیس- (۴-متیل-فنیل) استر (۱۷۹) و N,N-دی متیل فسفر آمیدیک اسیدیسیس- (۴-کلرو-فنیل) استر (۱۸۳)، N,N-دی متیل فسفر آمیدو فلوروئوریدیک اسید ۴-متیل فنیل استر (۲۱۷) در مرجع‌های [۱۸] و [۱۹] ذکر شده است.

برای سنتز مولکول های ۴۴ و ۴۷ نیاز به سنتز پیش ماده های (I) $[\text{MeO}]_2\text{P}(\text{S})[\text{NHMe}]$ و (II) $[\text{EtO}]_2\text{P}(\text{S})[\text{NHMe}]$ می‌باشد، که در ادامه جزئیات روش سنتز این مواد بیان شده است.

N-متیل O.O-دی متیل فسفر آمیدو تیوات (I) و N-متیل O.O-دی اتیل فسفر آمیدو تیوات (II)

واکنش O.O-دی متیل کلرو تیو فسفات با N-متیل آمین در شرایط تک فازي و دو فازي با بهینه کردن شرایط (نوع حلال، باز، زمان و دما در شرایط تک فازي و دو فازي) انجام شد که مسیر کلی واکنش در شمای ۱ نشان داده شده است.

الف) شرایط تک فازي

واکنش O.O-دی متیل کلرو تیو فسفات با نمک N-متیل آمین هیدروکلراید در حضور باز، به صورت تک فازي با تغییر شرایط دمایی، مقیاس، نوع باز و نوع حلال انجام شد. شرایط مختلف واکنش تک فازي در جدول ۴ ارائه شده است. برای خالص کردن و جداسازی

جدول ۵ - واکنش دو فازی تولید N-متیل فسفر آمید و تیوات‌ها.

شماره	حلال سیستم دو فاز	باز	زمان (ساعت)	دما (°C)	توضیحات
۱	کلروفرم/آب	پیریدین	۲	۳۰	ناخالصی زیاد
۲	دی کلرومتان/آب	پیریدین	۲	۳۰	ناخالصی زیاد
۳	دی کلرومتان/آب	تری اتیل آمین	۲	۳۵	ناخالصی کم
۴	دی کلرومتان/آب	محلول متیل آمین (دو برابر)	۲	۳۵	ناخالصی کم
۵	دی کلرومتان/آب	محلول متیل آمین (دو برابر)	۲	۴۵	ناخالصی کم
۶	دی کلرومتان/آب	محلول متیل آمین (دو برابر)	۱٫۵	۴۵	ناخالصی کم
۷	دی کلرومتان/آب	NaOH	۱٫۵	۴۵	ناخالصی زیاد
۸	دی کلرومتان/بافر	NaOH	۱٫۱۵	۴۵	ناخالصی کم
۹	دی کلرومتان/بافر	محلول متیل آمین (دو برابر)	۱	۴۵	مناسب

جدول ۶- اثر غلظت کاتالیست دی متیل سولفات در پیشرفت واکنش (کلیه واکنش‌ها در دمای دما ۵۰°C انجام شده است).

شماره	حلال	نسبت واکنشگر-حلال-دی متیل سولفات (وزنی)	زمان (ساعت)	بهره
۱	دی کلرو متان	۱-۲۵-۲۵	۲٫۵	۲۳
۲	دی کلرو متان	۱-۱۵-۱۵	۲٫۵	۳۵
۳	دی کلرو متان	۱-۱۰-۱۰	۲٫۵	۵۶
۴	دی کلرو متان	۱-۶-۶	۲٫۵	۶۳
۵	دی کلرو متان	۱-۵-۵	۲٫۵	۶۹
۶	دی کلرو متان	۱-۴-۴	۲٫۵	۶۱
۷	دی کلرو متان	۱-۱-۱	۲٫۵	۴۳

N,N-دی متیل فسفر آمید و دی سیانیدات (۹۳)

به مخلوطی از ۱۲٫۰۹ گرم (۰٫۱۸۶ مول) پتاسیم سیانید و ۳۰ میلی لیتر استونیتریل، ۱۰ گرم (۰٫۰۶۲ مول) N,N-دی متیل آمین دی کلرو فسفات قطره قطره اضافه و پس از ۱۲ ساعت به هم خوردن در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد حلال با پمپ خلاء خارج شد. برای خالص سازی فراورده از روش فلش کروماتوگرافی و با نسبت حلال ۳:۲ اتیل استات - هگزان استفاده شد. فراورده‌ی خالص شده مایع قرمز رنگ و راندمان آن ناچیز می باشد. اطلاعات طیفی مولکول ۹۳ در ادامه آورده شده است (شما ۲).

$^3\text{P} \{^1\text{H}\}$ NMR (101.25 MHz, CDCl_3 , 25°C, H_3PO_4 external), δ (ppm): 3.85 (s). ^3P NMR, δ (ppm): 3.85 (h, $^3\text{J}_{\text{PNCH}} = 11.7$ Hz). ^1H NMR (500.13 MHz, CDCl_3 , 25°C, TMS), δ (ppm): 2.69 (d, $^3\text{J}_{\text{PNCH}} = 11.7$ Hz, 6 H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$). ^{13}C NMR (125.76 MHz, CDCl_3 , 25°C, TMS), δ (ppm): 35.26 (d, $^2\text{J}_{\text{P-C}} = 4.7$ Hz, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 115.45 (d, $^1\text{J}_{\text{P-C}} = 154.7$ Hz, 2C, CN).

جدول ۷- اثر حلال در پیشرفت واکنش (زمان رفلکس ۳ ساعت و نسبت وزنی ۵-۵-۱ برای واکنشگر-حلال-دی متیل سولفات).

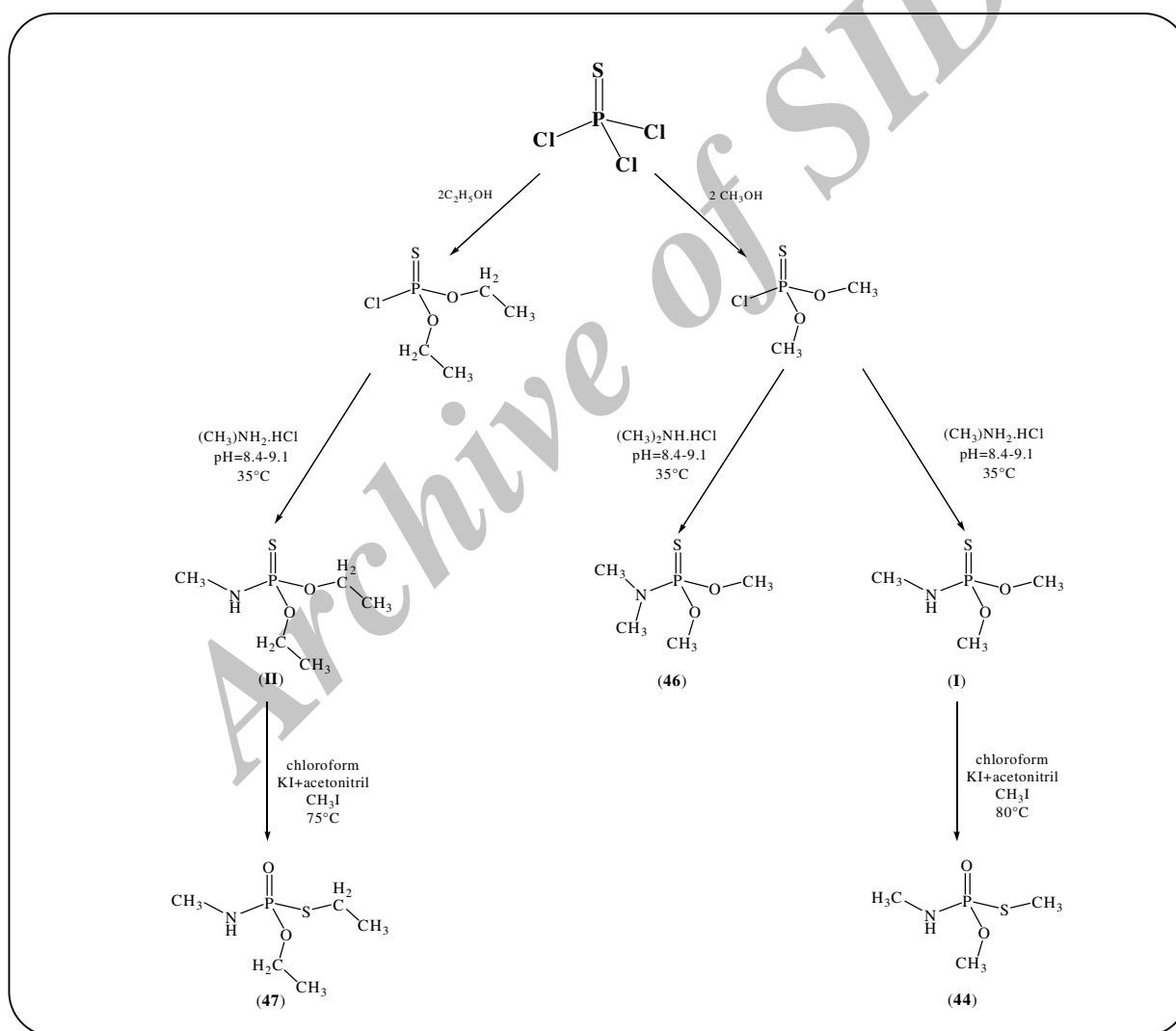
شماره	حلال	دمای رفلکس (°C)	بهره
۱	دی کلرومتان	۴۵	۷۲
۲	کلروفرم	۶۵	۹۲
۳	هگزان	۷۰	۶۷
۴	تولوئن	۱۲۰	۷۸

با نسبت‌های مختلف و با تغییر حلال و دما مطابق شرایط اعلام شده در جدول‌های ۶ تا ۸ استفاده شده است.

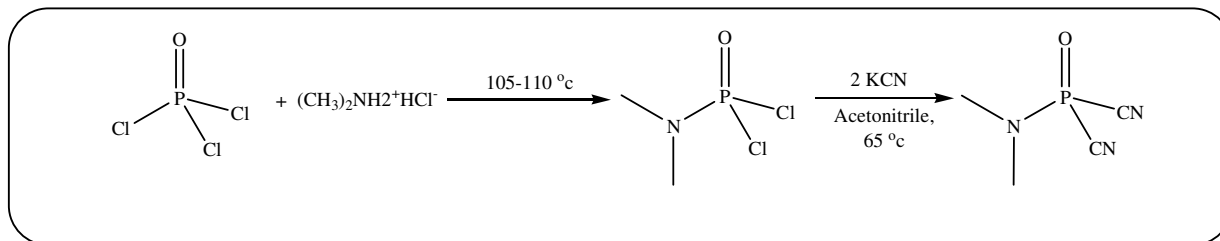
جزئیات مربوط به نحوه واکنش و روش سنتز ترکیبات ۴۶ و ۴۷ که مشابه روش سنتز ترکیب ۴۴ می باشد، در مرجع [۱۷] آمده است (شما ۱).

جدول ۸- اثر زمان و دما در پیشرفت واکنش (نسبت وزنی ۱-۵-۵ برای واکنشگر- حلال- دی متیل سولفات).

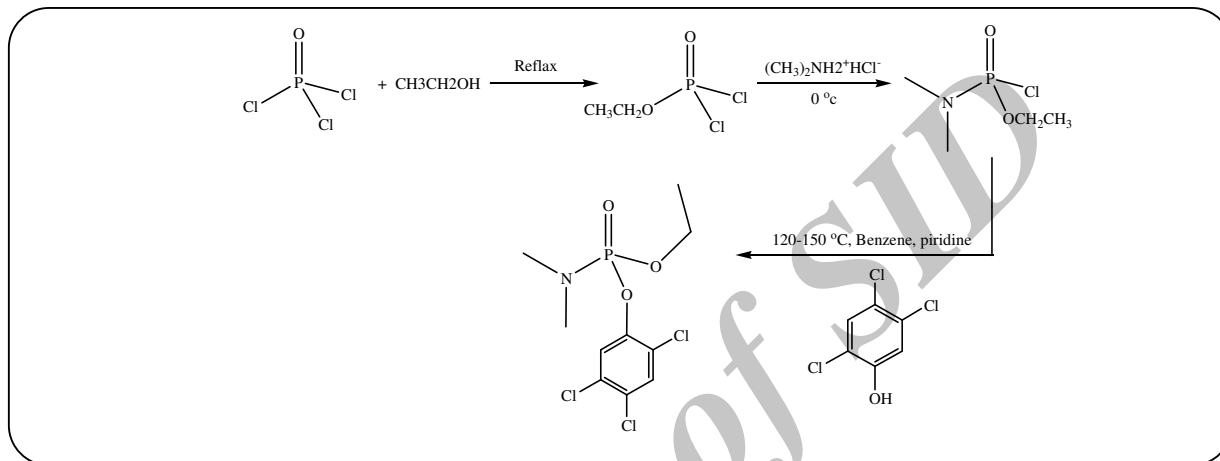
شماره	حلال	دما (°C)	زمان	بهره
۱	کلروفرم	محیط	۳ روز	۸۵
۲	کلروفرم	۳۵-۳۰	۵ ساعت	۴۵
۳	کلروفرم	۵۰	۵ ساعت	۵۹
۴	کلروفرم	۶۵	۵ ساعت	۸۷
۵	تولوئن	۱۲۰	۵ ساعت	۵۵
۶	تولوئن	۱۲۰	۲ ساعت	۷۵
۷	کلروفرم	۶۵	۷ ساعت	۷۲
۸	کلروفرم	۶۵	۴ ساعت	۹۵



شماي ۱- مسيرهاي مختلف سنتز فسفرآמידوتیوات های ۴۴، ۴۶ و ۴۷.



شمای ۲- روش سنتز N,N-دی متیل فسفر آمیدو دی سیانیدات.



شمای ۳- روش سنتز O-اتیل-O-(۲،۴،۶-تری کلروفنل) N,N-دی متیل فسفرآمیدات.

2.79 (d, $^3J_{P-H} = 10.0$ Hz, 6H, N(CH₃)₂), 4.40-4.50 (m, 2H), 7.13 (s, 1H, Ar-H), 7.41 (s, 1H, Ar-H). ¹³C NMR (62.90 MHz, CDCl₃, 25°C, TMS), δ (ppm): 16.1 (d, $^3J_{P-C} = 8.8$ Hz), 64.2 (d, $^2J_{P-C} = 9.4$ Hz).

روش سنتز مولکول ۹۳ دقیقاً شبیه مولکول ۱۰۳ است. ولی به دلیل شباهت قطبیت آن با ماده اولیه امکان خالص سازی آن میسر نشد. از این رو به دلیل وجود ناخالصی در مولکول ۱۰۳ و نبود امکان خالص سازی مولکول ۹۹، پارامترهای IC₅₀ و LogP این دو مولکول اندازه گیری نشد.

اندازه گیری پارامتر آگریزی (LogP)

یکی از مهم ترین پارامترها در مطالعات ساختار- فعالیت اندازه گیری پارامتر آگریزی مولکول ها است. در این پژوهش برای کمی کردن پارامتر آگریزی از روش تجربی فلاسک لرزان استفاده شد. در این روش از دستگاه اسپکتروفتومتری UV-Vis برای اندازه گیری غلظت مولکول ها در فازهای آلی و آبی استفاده شد. برای اندازه گیری غلظت فسفرآمیدوتیوات به دلیل نداشتن جذب مناسب

O-اتیل-O-(۲،۴،۶-تری کلروفنل) N,N-دی متیل فسفرآمیدات (۱۰۳)

در یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری به ۶/۸۶ گرم (۰/۰۴ مول) O-اتیل N,N-دی متیل فسفر آمیدو کلریدات، ۵۰ میلی لیتر حلال بنزن خشک اضافه و سپس ۷/۹۰ گرم (۰/۰۴ مول) ۵،۴،۲-تری کلروفنل و ۳/۱۶ گرم (۰/۰۴ مول) پیریدین افزوده شد. مخلوط واکنش به مدت ۱۲ ساعت رفلاکس و پس از آن نمک پیریدینیوم کلرید صاف و حلال بنزن به کمک تقطیر در خلأ خارج شد. فراورده به کمک فناوری فلش کروماتوگرافی (سیلیکاژل، هگزان و اتیل استات با نسبت ۵ به ۱) خالص سازی شد. فراورده ی جامد سفید رنگ با خلوص ۹۷٪ نسبت به طیف ³¹P NMR و با ناخالصی حدود ۲۵٪ نسبت به طیف ¹H NMR و ¹³C NMR و با راندمان پایین به دست آمد. داده های طیفی این مولکول در ادامه آورده شده است (شمای ۳).

³¹P {¹H} NMR (101.25 MHz, CDCl₃, 25°C, H₃PO₄ external), δ (ppm): 6.21 (s). ³¹P NMR, δ (ppm): 6.20 (h, $^3J_{P-H} = 9.7$ Hz). ¹H NMR (250.13 MHz, CDCl₃, 25°C, TMS), δ (ppm): 1.38 (td, 3H, $^3J_{H-H} = 5.5$ Hz, $^4J_{P-H} = 1.8$ Hz),

قدرت مهارکنندگی کمتری از ترکیب‌های مشابه با گروه P=O (ترکیب‌های ۴۴ و ۴۷) نشان می‌دهد.

۳- IC_{50} فسفرآمیدهای با استخلاف‌های آلیفاتیک در مقایسه با استخلاف‌های آروماتیک به‌طور عموم مقادیر کوچکتری نشان می‌دهند. این داده‌ها نشان دهنده آن است که قدرت مهارکنندگی ترکیب‌ها با استخلاف آلیفاتیک حدود ده تا هزار برابر بیشتر از ترکیبات با استخلاف آروماتیک می‌باشد. ترکیب ۲۱۷ قدرت مهارکنندگی نزدیکی به ترکیبات با استخلاف آلیفاتیک نشان می‌دهد، که شاید بیانگر نقش استخلاف فلئور در این افزایش قدرت مهارکنندگی است.

۴- به‌طور قطع یکی از پارامترهای اصلی در افزایش یا کاهش قدرت مهارکنندگی ترکیب‌های گوناگون پارامتر آب‌گریزی است. همان‌طور که در جدول ۹ نشان داده شده ترکیبات با قدرت آب‌گریزی بیشتر قدرت مهارکنندگی کمتری نشان می‌دهند. به‌عبارت دیگر ترکیباتی که حلالیت بیشتری در محیط آبی دارند، قدرت مهارکنندگی و شاید سمی بودن بیشتری را نشان می‌دهند. برای مثال ترکیبات ۴۴ و ۴۷ با مقادیر $LogP$ به ترتیب -0.14 و 0.73 بیشترین قدرت مهارکنندگی (با IC_{50} به ترتیب 0.33 و 0.51 میلی مولار) را نشان می‌دهند. درحالی که ترکیبات ۱۷۸، ۱۷۹ و ۱۸۳ به ترتیب با مقدارهای $LogP$ 1.03 ، 1.63 و 2.75 کمترین قدرت مهارکنندگی (IC_{50} به ترتیب 3.13 ، 35.4 و 40.9) را نشان می‌دهند.

همان‌گونه که اشاره شد کمیت‌های حاصل از نرم‌افزار PASS (P_a و P_i) که بیانگر احتمال داشتن و یا نداشتن یک فعالیت زیستی خاص هستند، به‌طور کامل کیفی بوده و قابل مقایسه با داده‌های IC_{50} تجربی نمی‌باشند. نرم‌افزار PASS فقط قدرت معرفی نمونه‌های نامزد برای مرحله آزمایشگاهی را دارد. به همین دلیل در جدول ۹ احتمال داشتن فعالیت $Anti\ AChE$ (P_a) گسترده‌ای بین 71.1 تا 83.1 درصد و مقادیر IC_{50} تجربی گسترده‌ای بین 0.04 تا 40.9 میلی مولار را نشان می‌دهد. سرانجام از نتیجه‌های به دست آمده از این پژوهش می‌توان در این مجموعه ترکیب ۴۴ را به عنوان قوی ترین فسفرآمید با قدرت $Anti\ AChE$ 0.23 میلی مولار معرفی نمود. در بررسی‌های بعدی مشخص شد، این ترکیب یک سم کشاورزی از خانواده متامیدوفوس است [۲۴]. از نتیجه‌های به دست آمده از این پژوهش استفاده و اقدام به سنتز و شناسایی دو سم با ارزش متامیدوفوس^(۱) و آسفات^(۲) شد که نتیجه‌های آن در مجله Phos. Sulf. Sili. به چاپ رسیده است [۲۵].

در UV-Vis از فناوری کروماتوگرافی گازی (GC) بهره گرفته شده است. روش اندازه‌گیری در مراجع [۲۱، ۲۰ و ۱۸] آمده است. مقدارهای $LogP$ اندازه‌گیری شده برای برخی از فسفرآمیدها در جدول ۹ آورده شده است.

۵-۲) اندازه گیری قدرت مهارکنندگی (IC_{50})

لمن و کول با مطالعه و بررسی روش‌های اندازه‌گیری و ارزیابی فعالیت آنزیم‌ها، روش جدیدی که حساسیت بالا و قابلیت به کارگیری در مقیاس کم و غلظت پایین آنزیم‌ها را داراست، معرفی کردند. این روش علاوه بر برتری‌های نسبی، امکان انجام بررسی‌های سینتیکی را در چگونگی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز ممکن می‌سازد. برای تعیین فعالیت آنزیم در حضور مهارکننده از روش *لمن* که در مراجع [۱۸] آمده، استفاده شده است. مقدارهای IC_{50} مولکول‌های ۴۴، ۴۶، ۴۷، ۹۳، ۱۷۸، ۱۷۹، ۱۸۳ و ۲۱۷ در جدول ۹ ارایه شده است.

نتیجه گیری

ساختار مولکولی فسفرآمیدها، پارامترهای آب‌گریزی، الکترونی و IC_{50} اندازه گیری شده و درصد احتمال $Anti\ AChE$ به دست آمده از نرم افزار PASS برای هر مولکول در جدول ۹ ارایه شده است. به منظور تحلیل رابطه ساختار- فعالیت در این مولکول‌ها روند تأثیر تغییرات سه پارامتر فضایی (اندازه مولکول)، الکترونی (δ_{31P}) و آب‌گریزی ($LogP$) بر فعالیت $Anti\ AChE$ (IC_{50}) مورد توجه قرار گرفته است. برای این منظور با بررسی داده‌های جدول ۹ چهار نتیجه کلی زیر به دست می‌آید:

- ۱- تغییر منظم اندازه مولکول‌ها روند مشخصی را در افزایش و یا کاهش منظم IC_{50} نشان نمی‌دهد. به عبارت دیگر شاید می‌توان نتیجه گرفت در این خانواده از ترکیبات پارامتر فضایی تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر IC_{50} ایجاد نمی‌کند. این نتیجه‌گیری با بسیاری از معادلات QSAR ارایه شده در مراجع سازگار است [۲۲، ۱].
- ۲- تغییرات پارامتر الکترونی (δ_{31P}) در ترکیبات سنتز شده نشان می‌دهد که به‌طور عموم کاهش دانسیته ابر الکترونی اتم فسفر با افزایش قدرت مهارکنندگی آنزیم استیل کولین استراز رابطه مستقیم دارد. البته همان‌گونه که در منابع نیز به اثبات رسیده است، به‌طورعموم ترکیبات فسفر با گروه P=O سمی بودن بیشتری از ترکیب‌های با گروه P=S نشان می‌دهند [۲۳، ۱۹]. به همین دلیل ترکیب ۴۶ از خانواده فسفرآمیدوتیوات‌ها که دارای گروه P=S است، با وجود داشتن بیشترین جابه‌جایی شیمیایی اتم فسفر ($\delta_{31P} = 80.92\text{ ppm}$)

(۱) Methamidophos

(۲) Acephate

جدول ۹- ساختار، پارامتر آگریزی، الکترونی، درصد احتمال Anti AChE و IC50 مولکول‌های فسفرآمید.

شماره مولکول	ساختار مولکولی	(LogP)	(δ_{31P})	(P%)Anti AChE	IC ₅₀ (mM)
۴۴		-۰٫۱۴	۳۸٫۶۶	۷۶٫۸	۰٫۲۳
۴۶		۲٫۱۰	۸۰٫۹۲	۷۲٫۴	۴٫۸
۴۷		۰٫۷۳	۳۶٫۰۴	۷۴٫۴	۰٫۵۱
۹۳		۲٫۱۶	۳٫۸۴	۷۵٫۷	۲٫۱
۲۱۷		۱٫۶۱	۰٫۲۸	۷۳٫۵	۴٫۲
۱۰۳		-	۶٫۲۰	۷۱٫۱	-
۱۷۸		۱٫۰۳	۱٫۶۰	۸۳٫۱	۳٫۳
۱۸۳		۲٫۷۵	۱٫۶۸	۷۲٫۴	۴۰٫۹
۱۷۹		۱٫۶۳	۲٫۰۵	۷۲٫۶	۳۵٫۴

قدردانی

از دانشگاه امام حسین(ع) به خاطر پشتیبانی مالی و آزمایشگاهی از این پژوهش و از جناب آقای دکتر خدایار قلیوند به دلیل معرفی برخی مولکول‌های فسفرآمید، راهنمایی‌هایی ایشان

در کارهای آزمایشگاهی و مطالعه مقاله تشکر و قدردانی می‌شود.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸، ۱۲، ۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹، ۹، ۲۲

مراجع

- [1] Hansch C., Leo A., Hoekman D., "Exploring QSAR- Hydrophobic, Electronic and Steric Constants", American Chemical Society, Washington, Chapter 1-7, (1995).
- [2] www.Chem.swin.edu.au.
- [3] Golderg A.M., Frazier J.M., Alternatives to Animals in Toxicity Testing, *Scientific American*, **2**, p. 261 (1989).
- [4] Mallender W., Szegletes T., Rosenberry T., Acetylthiocholine Binds to Asp74 at the Peripheral Site of Human Acetylcholinesterase as the First Step in the Catalytic Pathway, *Biochemistry*, **39**, p. 7753 (2000).
- [5] Baldwin A., Huang Z., Jounaidi Y., Waxman D., Identification of Novel Enzyme-Prodrug Combination for use in Cytochrome P450-Based Gene therapy for Cancer, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **409**, p. 197 (2003).
- [6] Pang Y., Kollmeyer T., Hong F., Lee J., Hammond P., Haugabouk S., Brimijoin S., *Biochem. Biol.*, **10**, p. 491 (2003).
- [7] Akimov D.V., Filimonov D.A., Porolikov V.V., *Pharm. Chem. J.*, **36**(11), p. 575 (2002).
- [8] Sing A.K., Quantitative Structure-Activity Relationships for Phosphormidithioate Toxicity in Housefly, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, **123**, p. 241 (1999).
- [9] Stepanchikova A.V., Lagunin A.A., Filimonov D. A., Poroikov V.V., Prediction of Biological Activity Spectra for Substances: Evaluation on the Diverse Sets of Drug-Like Structures, *Current Medicinal Chemistry*, **10**, p. 225 (2003).
- [10] Anzali S., Barnickel G., Cezanne B., Krug M., Filimonov D.A., Poroikov V.V., Discriminating Between Drugs and Nondrugs by Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS), *Journal of Medicinal Chemistry*, **44**, p. 2432 (2001).
- [11] Geronikaki A.A., Dearden J.C., Filimonov D.A., Galaeva I., Design of New Cognition Enhancers: From Computer Prediction to Synthesis and Biological Evaluation, *Journal of Medicinal Chemistry*, **47**, p. 2870 (2004).
- [12] Poroikov V.V., Filimonov D.A., Borodina V.Yu., Lagunin A.A., Kos A., Robustness of Biological Activity Spectra Predicting by Computer Program PASS for Noncongeneric Sets of Chemical Compounds, *Journal of Chemical Information Computer Sciences*, **40**, p. 1349 (2000).
- [13] Glorizova T.A., Filimonov D.A., Lagunin A.A., Porolikov V.V., Computer-Aided Prediction of Activity Spectrum for Substance (PASS) System Evaluated on a Set of New Biologically Active Compounds, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, **32**, p. 658 (1998).

- [14] <http://www.ibmh.msk.su/pass>.
- [15] <http://www.PDPQ.mahbloge.com>
- [16] Chemical Abstracts (C.A.), Vol. 130, 209819w (1999).
- [17] Chemical Abstracts (C.A.), Vol. 134, 26519m (2001).
- [18] Ghadimi S., Mousavi S., Javani Z., Synthesis, Lipophilicity Study and in Vitro Evaluation of Some Rodenticides as Acetylcholinesterase Reversible Inhibitors, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **23**, p. 213 (2008).
- [19] Gholivand K., Mahmoudkhani A., Khosravi M., Synthesis and Spectroscopic Investigation of 4-Methylphenyl Esters of Dimethyl Phosphoramidochloridic Acid and Dimethyl Phosphoramidofluoridic Acid, *Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Element*, **106**, p. 173 (1995).
- [20] Hussain M., Fukuto T.R., Reynolds H., Physical and Chemical Basis for Systemic Movement of Organophosphorus Esters in the Cotton Plant, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **22**, p. 225 (1974).
- [21] Finizio A., Vighi M., Sandroni D., Determination of n-Octanol / Water Partition Coefficient (Kow) of Pesticide Critical Review and Comparison of Methods, *Chemosphere.*, **34**, p. 131 (1997).
- [22] Ghadimi S., Khajeh V., Characterization, and Prediction of Biological Activity of Phosphoramidate Compounds, *Journal of Iranian Chemical Society*, **4**, p. 325 (2007).
- [23] Fahmy M.A.H., Derivatization Techniques in the Development and Utilization of Pesticides, *Annual Review Entomology*, **31**, p. 221 (1986).
- [24] www.cbgnetwork.org
- [25] Ghadimi S., Mousavi S.L., Rahnama Z., Rahimi M., Synthesis and Characterization of O,S-Dimethylphosphoramidothioate and N-Acetyl O,S-Dimethylphosphoramidothioate, *Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Element*, **185**, p. 347 (2010).