سنتز پيش دارويي از دوكسوروبيسين بعنوان تركيبي بالقوه موثر در درمان سرطان پستان

حجت صادقي علي آبادي[۱] ، كيانوش درمياني[۲] ، عباس جعفريان دهكردي[۳]

تاريخ پذيرش: ۸۳/۲/۲۹

Title: Synthesis of a novel Doxorubicin-prodrug as a potential anti-breast Cancer agent

Authors: Sadeghi-Aliabadi H.[1], Dormiani K.[2] Jafarian A.[3]

Abstract: Breast cancer is the most important kind of cancer in pre and postmenopausal women. In the treatment of cancers, spacially metastatic breast cancer, doxorubicin has the broadest spectrum among of any drugs presently available, but it produces a dose dependent cardiomyopathy and other side effects which limit its clinical usefulness. To overcome this undesired side effect, one solution was to synthesis doxorubicin based prodrugs which can specifically enter into tumor cells, with less distribution in normal tissues. For this purpose estrogen receptors, present in higher amount in cancer cells than normal one, was considered as a target and therefore doxorubicin was linked to estrone as a compound with high affinity to estrogen receptors. In this study, first the 17-keto group of estrone was linked to amine groups on spacer groups such as 4-amino-1-butanol or 5-amino-1-pentanol via schiff's base reaction to prepare an imine functional group that readily reduce to an amine compound. Then resulted amine was reacted with succinic anhydride to yield an acidic derivative of estrone. Isobutylchloro formate, afterwards, was used to catalys the final reaction that was an amide bond formation between carboxylic derivative of estrone and amine group located on the danosamine moiety of doxorubicin to yield the final proposed prodrug in 43%. Analytical spectrometric methods such as IR, MS and NMR confirmed the successful synthesis of doxorubicin-estrone prodrug which is potentially active against estrogen receptor positive breast cancers.

Key words: Prodrug, Doxorubicin, Steroid, Synthesis, Breast cancer.

۱- استادیار دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان . 1- Assistant Professor, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences.

۲- دکتر داروساز. 2- Pharm.D.

۳- دانشیار دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان . 3- Assosiate Professor, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences.

چكيده

سرطان پستان يكي از مهمترين انواع سرطانها در قبل و بعد از دوران يائسگي در خانم هاست در شيمي درماني سرطان پستان استفاده از داروي وسيع الطيف دوكسوربيسين بسيار متداول است ولي عوارض قلبي-عروقي اين دارو كه وابسته به دوز نيز مي باشد كاربرد آنرا محدود كرده است لذا محققين بدنبال يافتن راههايي هستند كه اين دارو را اختصاصا در محل بافت سرطاني تغليظ نمايد. يكي از روشهاي مورد استفاده در اين خصوص طراحي پيش داروهايي است كه داراي يك حامل مناسب باشند. تا به كمك آن بتوان داروي سيتوتوكسيك را بيشتر در محل بافت سرطاني متمركز نمود. در اين صورت از يك سو با تغليظ داروي مذكور در محل بافت مورد نظر اثر بخشي دارو افزايش يافته و از سوي ديگر با كاهش توزيع دارو در بافت هاي سالم بدن از ميزان سميت آن كاسته شده و لذا اندكس درماني آن افزايش خواهد يافت. در اين مطالعه جهت تهيه تركيباتي با اثر اختصاصي ، ابتدا گروه كتوني استرون بعنوان حامل با گروه آمين واسطه هايي چون ٤- آمينو-١- بوتانول و يا ٥- آمينو-١- پنتانول واكنش Schiff's base انجام داده و سپس ايمين سنتز شده احيا و آمين حاصله با انيدريد سوكسينيك مشتق اسيدي استرون را ايجاد نموده است. با استفاده از ايزوبوتيل كلروفورمات و تحت شرايط كنترل شده دمايي، گروه كربوكسيل مشتق اسيدي استرون با گروه آمين موجود برروي قند دانوز آمين در ساختمان دوكسوروبيسين وارد واكنش شده تا با ايجاد پيوند آميدي پيش داروي مورد نظر با احتمال اثر اختصاصي بر عليه سرطان هاي پستان كه داراي مقدار كافي رسپتورهاي استروژني هستند تهيه گردد. نتايج حاصله از مطالعات انجام شده بوسيله روشهاي ساده و اسپكتروسكوپي از جمله TLC ، IR ، MS و NMR نشان داد كه پيش داوري مورد نظر با موفقيت سنتز گرديده است.

گل واژگان : پيش دارو، دوكسوروبيسين، استروئيد، سنتز، سرطان پستان.

مقدمه

دوكسوروبيسين يكي از مهمترين داروهاي ضد سرطان مورد استفاده در كلينيك مي باشد كه به طور وسيعي در درمان انواع سرطان ها نظير لوسمي، لنفوم، تومورهاي اطفال نظير تومور wilm و بسياري از تومورهاي سخت بالغين مورد استفاده قرار مي گيرد (١).

دوكسوروبيسين در سالهاي اخير به عنوان موثرترين و رايجترين دارو بر عليه سرطان متاستاتيك پستان از نوع ER^+ بكار گرفته شده است (٢). با اين وجود عوارض سمي نامطلوب وابسته به دوز اين دارو، نظير اثرات سمي قلبي، تضعيف مغز استخوان، نفروتوكسيسيتي و Extravasations استفاده كلينيكي از اين دارو را محدود ساخته است (٣ و٤). به نظر مي رسد مهم ترين علت آسيب به اندام هاي مختلف بدن بخصوص آسيب به قلب كه حتي مي تواند به نارسايي احتقاني قلب منجر شود، توليد راديكالهاي آزاد اكسيژن در حين متابوليسم اين دارو در جدار ميتوكندريها و كافي نبودن آنزيم هاي خنثي كننده اين راديكال ها در بافت هاي آسيب ديده باشد (٥).

در سال هاي اخير براي غلبه بر اين عوارض و متمركز ساختن دارو در بافت هاي هدف تلاش هاي مختلفي صورت پذيرفته است، از آن جمله متصل ساختن دوكسوروبيسين به هورمون هاي مناسب بعنوان حامل بوده است كه در واقع اين هورمونها بعنوان ليگاندهاي اختصاصي رسپتورهاي موجود در بافت سرطاني محسوب مي شوند. گروه مهمي از هورمون ها براي اين منظور تركيبات استروژني هستند. سرطان پستان مهمترين نوع سرطان در زمان قبل و بعد از يائسگي در زنان محسوب مي شود، در برخي از اين سرطان ها كه سلول هاي بدخيم براي رشد و تكثير خود وابسته به

هورمون هاي استروژني هستند (ER^+)، تعداد رسپتورهاي استروژني به ميزان قابل توجهي بيشتر از مقدار اين رسپتورها در افراد سالم و يا افراد داراي ضايعات خوش خيم پستان مي باشد (٦ و ٨). در چنين مواردي مي توان از هورمون هاي استروژني به عنوان حامل براي انتقال اختصاصي داروهاي سيتوتوكسيك به محل بافت هاي بدخيم در پستان استفاده كرد (٩ و١٠). در همين راستا داروي Estramustine phosphateكه در آن تركيب سيتوتوكسيك نور- نيتروژن موستارد با هورمون استرادیول از طريق يك استر كاربامات بصورت كونژوگه در آمده است سالهاست بعنوان دارويي سيتوتوكسيك در درمان كارسينوماي پيشرفته پروستات بكار ميرود (١١).

علاوه بر اين بر اساس مطالعات انجام شده تركيبات حاصل از اتصال هورمون هاي استروژني (نظير استرون) به دوكسوروبيسين قادر به توليد راديكالهاي آزاد نيستند (١٢). از آنجايي كه توليد اين راديكالهاي آزاد مهمترين عامل در آسيب رساني به سلولهاي عضله قلب در نظر گرفته شده است و در هنگام استفادة دراز مدت از دارو يا استفادة كوتاه مدت از آن در دوزهاي بالا مي تواند به نارسايي قلب منجر شود، به نظر مي رسد اين ويژگي يك مزيت مهم ديگر در كنار عملكرد انتخابي نسبي اين دسته از پيش داروها بر عليه سلولهاي تومور باشد. بر همين اساس تصميم گرفته شد پيش داروهايي از دوكسوروبيسين و استرون سنتز شوند كه بتوانند علاوه بر حمل هدفمند دارو به بافت مورد نظر از عوارض نا خواسته و غير اختصاصي آن جلوگيري نمايد.

شيمي واكنش ها

براي تهيه پيش داروهاي مورد نظر ابتدا گروه آمين آمينو الكل هاي چون ٤- آمينو –١- بوتانل و ٥- آمينو-١- پنتانول با گروه كتوني كربن شمارة ١٧ استرون (شكل ١) وارد واكنش شده و ايمين هاي مربوطه بدون استفاده از حلال و بروشي كه Toda ذكر كرده است سنتز گرديدند (١٣).

ايمين هاي حاصله (III و II) پس از خالص سازي با استفاده از سديم بورهيدريد ($NaBH_4$) در اتانول احياء و به آمين مربوطه (V و VI) تبديل شد. در مرحلة بعدي انيدريدسوكسينيك با آمين واكنش داده و محصول جديدي حاوي گروه كربوكسيل (VI) سنتز گرديد.

در مرحلة نهايي واكنش از تركيبات آلكيل كلروفرماتها از جمله ايزوبوتيل كلروفرمات به عنوان كاتاليزور جهت تسهيل ايجاد باند آميدي بين گروه آمين نوع اول موجود برروي قند دانوز آمين در تركيب دوكسوروبيسين(VII) و گروه كربوكسيل موجود در مشتقات اسيدي سنتز شده از استرون (VI) استفاده گرديد. كاربرد آلكيل كلروفورمات ها نياز به شرايط سخت دمايي (١٠- درجه سانتيگراد و در محيطي بدون رطوبت و تحت گاز N_2) دارد تا مرحله نهايي اتصال دو تركيب عملي شده و پيش داروي موردنظر (VIII) سنتز گردد.

مواد و روش ها

همة حلال ها و مواد مورد استفاده از شركت Merck خريداري شده و از نوع Analytical grade بود به جزدوكسوروبيسين هيدروكلرايد (شركت Farmitalia-Upjhon)، ٥- آمينو-١- پنتانل و ٤- آمينو-١- بوتانل (شركت Aldrich) و استرون كه از شركت Sigma خريداري شده بود.

نقطة ذوب مواد با استفاده از دستگاه الكتروترمال ٩٢٠٠ اندازه گيري شده و طيف هاي IR هر محصول با تهيه قرص هاي برميد پتاسيم با استفاده از دستگاه اسپكتروفتومتر Perkin-Elmer 1420 تهيه شد. طيف هاي ^{1}H-NMR با استفاده از اسپكترومتر

MHZ 80 و Perkin-Elmer 400 MHZ در حلال ذكر شده در هر مورد بدست آمده است.
مطالعات Chemical Ionization Mass با استفاده از اسپكترومتر Finnegan Mat Tsq-70 در دانشكده داروسازي تهران انجام شده است.

سنتز ١٧- β- (٤- هيدروكسي ـ ١ـ بوتيل آمينو)- ١و ٣و ٥ (١٠) و ١٧ (٢٠) ـ استراتـ ـتران ـ ٣ ـ ال (**II**)
١/٢گرم (٦ / ٤ ميلي مول) استرون در ٦٠ ميلي ليتر متانول خالص به كمك حرارت كاملا"حل گرديد. سپس ٨٠٠ ميلي گرم (٨/٩ ميلي مول) ٤-آمينو-١-بوتانل به محلول فوق اضافه و كاملا مخلوط گرديد. آنگاه حلال با استفاده از روتاري تبخير و بالن محتوي مخلوط يكنواخت استرون وآمينوالكل به مدت ٤ ساعت در حرارت ٨٠ تا ٨٥ درجه سانتيگراد در آون قرار داده شد. پس از اين بالن از آون خارج تا دماي واكنش به دماي اتاق تقليل يابد. آنگاه ٣٠ ميلي ليتر استون به آن اضافه و تودة حاصله با استفاده از ميلة شيشه اي بخوبي صلايه گرديد تا محصول ايمين حاصله (II) به صورت يك تودة سفيد رنگ رسوب نمايد. براي تكميل رسوب گيري بالن به مدت يك ساعت در حمام آب يخ قرار داده شد. سپس مخلوط حاصله صاف شده و در كلروفرم ركريستاله گرديد. محصول بدست آمده (II) در سيستم حلال كلروفرم: متانول (٤ -١ v/v) داراي R_f = ٠/٣٣ و راندمان واكنش پس از تبلـور مجدد برابر ٩١درصد و نقطة ذوب برابر ٢٠٩ °C-٢٠٨ بدست آمد.

سنتز ١٧β ـ (٥- هيدروكسي ـ ١ـ پنتيل آمينو)ـ ١و٣و٥ (١٠) و ١٧ (٢٠) ـ استراتتران ـ ٣ـ ال (**III**)
١/٢ گرم (٤/٦ ميلي مول) استرون و ٨٠٠ ميلي گرم (٧/٧٥ ميلي مول) ٥- آمينو-١- پنتانول در شرايطي مشابه آنچه در بالا توضيح داده شد تركيب شده تا محصول (III) بدست آيد.
اين محصول نيز در كلروفرم ركريستاله شده و R_f آن ٠/٣٨ در سيستم كلروفرم- متانول (٦ به١ v/v) و راندمان نهايي واكنش ٧٠ درصد و نقطه ذوب آن بين ١٨٠-١٧٨ درجه سانتيگراد محاسبه گرديد.

سنتز β١٧ ـ (٤- هيدروكسي ـ١ـ بوتيل آمينو)ـ ١و٣و٥ (١٠) - استراتري ان ـ ٣ـ ال (**IV**)
يك گرم (٢/٩ ميلي مول) از محصول II در ٦٠ ميلي ليتر اتانول خالص در دماي اتاق حل و سپس ٦٦٠ ميلي گرم (١٧/٤ ميلي مول ، به نسبت مولي ٦ به ١ با ايمين) به تدريج در چند مرحله به محصول اضافه شد. نهايتا مخلوط به مدت ٣٠ دقيقه و در حاليكه به شدت به هم زده مي شد رفلاكس گرديد. سپس دماي واكنش به دماي اتاق تقليل داده شد و به مدت ١٢ ساعت ديگر همزدن مخلوط بوسيله Magnet stirrer ادامه يافت.
براي خاتمه واكنش ١٥٠ ميلي ليتر آب مقطر به مخلوط اضافه شده تا محصول رسوب نمايد. رسوب حاصله صاف شده و با آب مقطر سرد شستشو داده شد و سپس به كمك آون خلاء كاملا خشك گرديد تا محصول بصورت آمين (IV) با راندماني برابر ٩٢ درصد و نقطة ذوبي برابر ١٥١-١٥٠ درجه سانتيگراد بدست آيد.

سنتز β١٧ ـ (٥- هيدروكسي ـ١ـ پنتيل آمينو)ـ ١و٣و٥ (١٠) - استراتري ان ـ ٣ـ ال (**V**)
در آزمايشي مشابه يك گرم (٢/٨ ميلي مول) از تركيب (III) در حضور سديم بوروهيدريد (٦٥٠ ميلي گرم، ١٧/٢ ميلي مول) احيا و محصول آمين (V) با راندماني

برابر ۹۰درصد و نقطه ذوبي برابر ١٦٦-١٦٥ درجه سانتيگراد بدست آمد.

سنتز استرون ـ (۱۷- آمينو-۱- بوتانل-۱۷- آمينو كربونيل) پروپانوئيك اسيد **(VI)**

۱۰۰ ميلي گرم (۰/۲۹۱ ميلي مول) از محصول **IV** در ۷ ميلي ليتر تتراهيدروفوران خشك حل شده و سپس ۳۰ ميلي گرم (۰/۳ ميلي مول) انيدريدسوكسينيك (به نسبت مولي ۱ به ۱) تدريجا به مخلوط اضافه و به مدت ۸ ساعت در دماي اتاق و سپس به مدت يك ساعت در حمام آب و يخ مخلوط گرديد تا محصول (VI) به صورت رسوب بدست آيد. پس از صاف كردن رسوب، آنرا با ۱۰ ميلي ليتر THF خشك شسته و خشك نموده تا محصول VI به صورت پودري سفيد رنگ با راندماني برابر ٧٤ درصد و نقطة ذوبي برابر ١٩٦-١٩٥ درجه سانتيگراد (ركريستاله در متانول) بدست آمد.

سنتز دوكسوروبيسين ۳- **NH** -[استرون -۱۷- آمينو-۱- بوتانل ۱۷- آمينوكربونيل- اتيل كربونيل] **(VIII)**

۷۰ ميلي گرم (۰/١٦ ميلي مول) از مشتق اسيدي استرون (محصول **VI**) در ۷ ميلي ليتر دي متيل فرمآميد خشك به كمك مگنت حل شد. سپس اين محلول به مدت ۲۰ دقيقه در حمام آب و يخ و نمك با دماي تقريبي ۱۰- درجة سانتيگراد و تحت گاز نيتروژن خشك قرار داده شد. مقدار ۵۰ ميكرو ليتر (۰/۳٦ ميلي مول) تري آتيل آمين به محيط اضافه و به مدت ۵ دقيقه مخلوط گرديد، در ادامه ۵۰ ميكروليتر (۰/۳۸ ميلي مول) ايزوبوتيل كلروفرمات به مخلوط واكنش اضافه گرديد و محتواي بالن به مدت ۹۰ دقيقه در دماي ۱۰- درجه سانتيگراد و تحت گاز N_2 خشك مخلوط شد. در ظرفي جداگانه مقدار ۱۸۳ ميلي گرم (۰/۳۲ ميلي مول) دوكسوروبيسين هيدروكلرايد (نسبت مولي دوكسوروبيسين به مشتق اسيدي استرون ۲ به ۱ در نظر گرفته شد) در ۸ ميلي ليتر دي متيل فرمآميد خشك حل شده و به آن ۵۰ ميكروليتر تري اتيل آمين اضافه و بخوبي مخلوط گرديد. اين محلول به تدريج به مخلوط واكنش اول اضافه و اجازه داده شد تا به مدت ۹۰ دقيقه ديگر در دماي ۱۰ـ درجه سانتيگراد و تحت گاز نيتروژن مخلوط شود. آنگاه محلول مذكور از حمام آب و يخ خارج تا دماي آن به دماي اتاق برسد. سپس حلال به كمك خلاء خارج و محصول بدست آمده در ۱۰ مـيلي ليتر آب مقطر حل و با دي كلرومتان (٤ × ۱۵ ml) استخراج گرديد. فاز آلي حاصله بوسيله محلول بيكربنات سديم ٤ درصد در چند مرحله شستشو داده شد و با استفاده از سولفات سديم انيدر كاملا"خشك شده و حلال آن به وسيلة خلاء خارج گرديد تا محصول مورد نظر به صورت جامد بدست آيد. در نهايت اين محصول با استفاده از دي اتيل اتر شسته و كريستاليزه گرديد تاپيش داروي مورد نظر(VIII) با رانـدماني برابر٤٣ درصد بدست آيد. اين محصول در دمـاي ١٦٥ درجه سانتيگراد تخريب (Decomposed) شد.

نتايج

۱- سنتز تركيب شماره **(II)**

IR (KBr): 3600-3020(OH), 1670 (C=N), 1615-1580 (aromatic), 1070 (C-OH) cm^{-1}

^{1}HNMR (DMSO-d6): δ 0.85(s, 3H, C18-CH_3), 1.20-2.70(m, 2H, C16-CH_2), 3.15(m, 2H, =N-CH_2), 3.30(t, J=5Hz, 2H,CH_2-OH), 6.45(d, J=2.5Hz, 1H, C4-H), 6.60(dd, J= 8.5Hz, 1H, C2-H), 7.10(d, J=8.5Hz, 1H, C1-H).

۲- سنتز تركيب شماره **(III)**

IR (KBr): 3600-3080(OH), 1665 (C=N), 1610 (aromatic), 1060 (C-OH) cm^{-1}

^{1}HNMR (DMSO-d6): δ 0.85(s, 3H, C18-CH_3), 1.10-2.85(m, 2H, C16-CH_2), 3.20(m, 2H, =N-CH_2), 3.52(t, J=5Hz, 2H,CH_2-OH), 6.45(d, J=2.5Hz,1H, C4-H), 6.62(dd, J= 8.5Hz,1H, C2-H), 7.10(d, J=8.5Hz,1H, C1-H).

٣ - سنتز تركيب شماره (IV)

IR (KBr): 3300-3000(OH), 3300 (NH), 1610 (aromatic) cm^{-1}

^{1}HNMR (DMSO-d6): δ 0.72(s, 3H, C18-CH_3), 1.40-2.75(m, 2H, NH-CH_2), 3.50(t, J=6.2Hz, 2H, CH_2-OH), 6.45(d, J=2.7Hz,1H, C4-H), 6.65(dd, J=8.4Hz and 2.7Hz, 1H, C2-H), 7.05(d, J=8.4Hz,1H, C1-H).

٤ - سنتز تركيب شماره (V)

IR (KBr): 3400-3250(OH), 3320 (NH), 1605 (aromatic) cm^{-1}

^{1}HNMR (DMSO-d6): δ 0.70(s, 3H, C18-CH_3), 1.50-2.75(m, 2H, NH-CH_2), 3.50(t, J=6.4Hz, 2H, CH_2-OH), 6.50(d, J=2.6Hz, 1H, C4-H), 6.62(dd, J=8.5Hz, and 2.6Hz,1H, C2-H), 7.10(d, J= 8.5Hz, 1H, C1-H).

٥ - سنتز تركيب شماره(VI)

IR (KBr): 3700-2250(acidic and alcoholic OH), 1730 (carboxylic C=O), 1620 (amidic C=O), 1410-1390(OH bending), 1290(Carboxylic C-O) cm^{-1}

^{1}HNMR (DMSO-d6): δ 0.75(s, 3H, C18-CH_3), 1.00-2.20(m), 2H, NH-CH_2 2.45(m, 2H, CH_2-COOH), 3.40(t, J= 6.20Hz, 2H, CH_2-OH), 6.40(d, J= 2.5Hz, 1H, C4-H), 6.55(dd, J= 8.4Hz and 2.5H_2, 1H, C2-H), 7.05(d, J= 8.2Hz, 1H, C1-H).

٦ - سنتز تركيب شماره(VII)

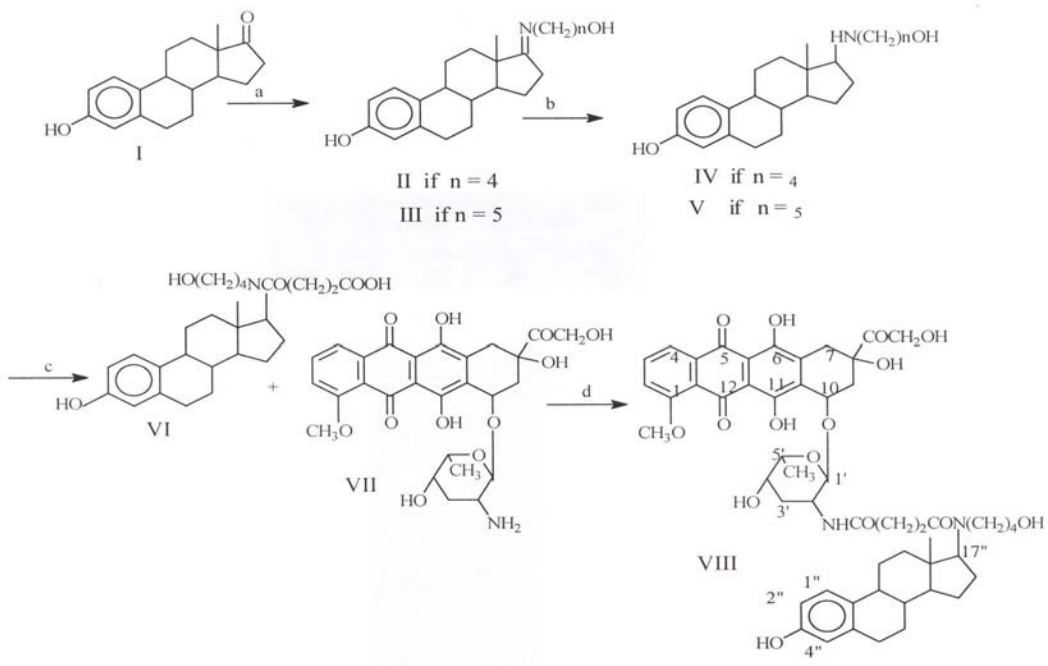
IR (KBr): 3700-3150 (phenolic and alcholic OH), 1800-1650 (C=O),1620, 1580 (C=C aromatic and quinone), 1285 (C-O-C)cm^{-1}

^{1}HNMR (DMSO-d6): δ 0.85(s, 3H, C13"-CH_3), 1.30(d, J= 6.4Hz, 3H, C5'-CH_3), 1.40-2.30(m, 4H, C9-CH_2 and C'2-CH_2), 2.75(m, 2H, CH_2-CO-NH), 2.90(d, J= 19Hz, C16"-CH_3), 3.20(d, J= 18.2Hz, 2H, C7-CH_2), 3.40(m, 1H, C3'-CH), 3.60(s, 1H, C4'-CH), 4.00(s, 3H, CH_3-O), 4.15(m,C5'-CH), 4.55(bs, 2H,C14-H_2), 4.75(s, 1H, C14-OH), 4.95(bs, 1H,C10-CH), 5.25(bs, 1H,C1'-CH), 6.45(d, J= 2.6Hz, 1H, C4"-H), 6.60(dd, J= 8.2Hz and 2.6H_2, 1H, C2"-H), 7.00(d, J= 8.2Hz, C1"-1H), 7.65(t, J= 8.0H_2, 1H, C3-H), 7.90(d, J= 7.00Hz, 2H, C2-H and C4-H).

MS: m/z 968

بحث و نتيجه گيري

سنتز پيش داروهاي استروژني حاوي دوكسوروبيسين در چهار مرحله صورت گرفته است كه بطور خلاصه در شماي شماره يك نشان داده شده است (شكل ١).



الف) بررسي سنتز محصولات شماره **II** و **III**

۱- واكنش تهيه ايمين يا Schiffs base در حضور استرون و آمينو الكل هاي مربوطه در محيط جامد و بدون استفاده از حلال و با راندماني قابل توجه صورت گرفت (شكل۱-a). براي مطالعه بيشتر در خصوص مكانيسم اين واكنش به رفرانس شماره ١٤ مراجعه شود.

ب) بررسي مسير واكنش سنتز محصول آمين از ايمين (محصولات **IV** و **V**)

در اين واكنش با استفاده از سديم بوروهيدريد كه يك احياء كنندة ملايم محسوب مي شود سعي شد تا باند ايمين در محصول سنتز شده احياء و آمين مربوطه تهيه شود. اين واكنش پس از اضافه كردن تدريجي سديم بوروهيدريد در دو مرحله انجام پذيرفت. ابتدا مخلوط واكنش به مدت ۳۰ دقيقه در اتانل خالص رفلاكس گشت كه در اين مرحله مقدار عمده اي از ايمين احياء شد و در مرحلة دوم با ادامة مخلوط سازي در دماي اتاق به مدت ۱۲ ساعت از كامل شدن واكنش اطمينان حاصل شد. پس از پايان واكنش با اضافه كردن آب مقطر به مخلوط، محصول آمين به علت پديدة mixed solvents crystallization رسوب كرد و پس از صاف كردن، محصول با مقادير بيشتري آب مقطر شسته شد تا تركيبات معدني بجا مانده خارج شود. در واكنش احياء ايمين با سديم بوروهيدريد كه به صورت يك واكنش افزايشي نوكلئوفيلي انجام مي پذيرد، يون هيدريد (H^-) به عنوان نوكلئوفيل به كربن گروه ايميني به عنوان الكتروفيل حمله مي كند، از دو هيدروژن مورد نياز براي احياء ايمين، يك هيدروژن مستقيما" از سديم بورو هيدريد و ديگري از يك حلال پروتيك مانند اتانول تأمين مي شود (شكل۱-b).

ج) بررسي مسير سنتز محصول اسيدي از آمين (محصول **IV**)

در اين واكنش از انيدريد سوكسينيك براي تهيه آميد استفاده شد (شكل١- c) كه در رقابت بين گروه آمين نوع دوم حاصل از احياء مرحلة قبل و گروههاي الكلي وفنلي براي واكنش با انيدريد سوكسينيك با انتخاب شرايط خاص آزمايش، گروه آمين نوع دوم براي انجام واكنش كاملا" برتري داشت، چرا كه اين واكنش در دماي اتاق (٢٠ تا ٢٥ °C) و بدون استفاده از حرارت و كاتاليزور اسيدي صورت گرفته ضمن اينكه بكار گيري آمين وانيدريد به نسبت مولي ١ به ١، از انجام واكنش هاي جانبي جلوگيري كرده و در نهايت منجر به تشكيل آميد با خلوص بالاتر گرديد. وجود يك لكه در، TLC راندمان بالاي٧٠% و نقطة ذوب دقيق (°C ١٩٦-١٩٥)، در ابتدا تشكيل محصول مورد نظر را تأئيد نمود. صحت سنتز و خلوص آن با استفاده از روشهاي دستگاهي ذكر شده در قسمت مواد و روشها تايید گرديد.

د) بررسي مسير سنتز مشتقات كاربامات دوكسوروبيسين (محصول**VII**)

هدف از انجام اين واكنش اتصال مولكول دوكسوروبيسين به مشتق اسيدي تهيه شده از استرون يعني استرون-[١٧-آمينو-١- بوتانل - ١٧- آمينو كربونيل - پروپانوئيك اسيد] جهت تهيه پيش داروي نهايي بوده است. در مرحلة نخست فرض بر اين است كه با اضافه شدن ايزوبوتيل كلروفرمات به مشتق اسيدي يك محصول حد واسطه تشكيل مي گردد. در اين مرحله وجود تري اتيل آمين باعث جذب HCl شده و خود به ملح آمونيوم تبديل مي شود و به پيشرفت واكنش كمك مي كند، از سوي ديگر چون واكنش مذكور يك واكنش گرمازا مي باشد با كاهش دماي محيط واكنش به حدود °C١٠- و نيز خارج كردن هواي محيط با استفاده از جريان گاز نيتروژن خشك براي جلوگيري از واكنش ايزوبوتيل كلروفرمات كه شديدا" واكنش پذير با رطوبت هوامي باشد، شرايط مناسب جهت انجام واكنش فراهم گرديد. با اضافه كردن مخلوط دوكسوروبيسين هيدروكلرايد و تري اتيل آمين در همان شرايط به محيط واكنش اول چنين به نظر مي رسد كه دوكسوروبيسين از سمت گروه نيتروژن نوع اول قند دانوز آمين خود يك حمله نوكلئوفيلي را به سمت گروه كربونيل تركيب واسطه انجام مي دهد و بر اساس گزارش هاي موجود (١٦ و ١٥) بـا انجام يك واكنش آمينوليز، ايزوبوتيل الكل و CO_2 جدا شده و محصول تشكيل مي شود (شكل-d١). روش اتصال گروه اسيدي بـه يك گـروه آمين نوع اول بـا استفاده، از مشتـقات مخـتلف كلروفورمات را كه به صورت اختـصاصي انجـام مي پـذيـرد mixed anhydride coupling مي نامند.

از نظر مكانيزم عمل به نظر مي رسد پيش داروي سنتز شده پس از رسيدن به محل و ورود به درون سلول هاي بدخيم بوسيله آنزيم هاي استراز يا آميداز موجود در سيتوپلاسم و يا در داخل ليزوزم هاي سلول با pH اسيدي به كمك هيدرولازهاي اسيدي شكسته شده و داروي فعال آزاد گردد (١٧و١٨). بر اساس برخي از يافته هاي ديگر بعضي از پيش داروهاي دوكسوروبيسين بدون واكنش با هستة سلول از طريق آسيب به غشاء سيتوپلاسمي اثرات سيتوتوكسيك خود را اعمال ميكنند (٢٠ و ١٩).

تشكر و قدرداني

اين مطالعه در قالب طرح تحقيقاتي با همكاري و مساعدت معاونت پژوهشي دانشگاه علوم پزشكي اصفهان صورت گرفته كه بدين وسيله نويسندگان مراتب تقدير و تشكر خود را اعلام مي دارند.

References:

1- Muggia F.M. Chemo-pharmacology and immunopharmacology: The reality and the horizon of cancer treatment, Recent Results in Cancer Research, 1982, 75: 260.

2- Ferguson J.E., Dodwell D.J., Seymour A.M., Richard M.A. and Howell A. High dose, intensive chemotherapy with doxorubicin and cyclophosphamide for the treatment of advanced breast cancer, British Journal of Cancer, 1993, 67: 825-829.

3- Mayer C.E., Chabner B.A. Anthracyclins in cancer chemotherapy- principles and practice; chabner B.A., Collins J.M., Eds; Lippincott: Philadelphia, 1990, 356-381.

4- Haddad L.M., Shannou M.W. and Winchester J.F. Clinical management of poisoning and drug overdose. 3rd ed. Saunders Co., Philadelphia, 1998, 728.

5- Lipp H.P. Anticancer drug toxicity. 1st ed. Marsel Dekker Inc., New York, 1999, 81-88, 471-478.

6- Wittliff J.L. Steroid hormone receptors in breast cancer, Cancer, 1984, 53: 630-643.

7- Leclercq G., Heuson J.C., Deboel M.C., Mattheiem W.H. Estrogen receptor in breast cancer, British Medical Journal, 1975, 25:1(5951), 185-189.

8- Wittliff J.L., Hilf R., Brooks W.F., Savlov E.D., Hall T.C. and Orlando R.A. Specific estrogen-binding capacity of the cytoplasmic receptor in normal and neoplastic breast tissues of humans, Cancer Research, 1972, 32(9): 1983-1992.

9- Eisenbrand G., Muller N. and schrehiber J. Drug design: nitrosourease in carcinegencity of alkilating cytostatic drugs. Eds. Science publication, 1986, 281-293.

10- Wilson S., Ruenitz P.C., Ruzicka J.A. Estrogen receptor affinity and effect on MC-7 cell growth of triarylethylene carboxylic acid related to tamoxifen, Steroid Molecular Biology, 1992, 42: 613-616.

11- Bergenheim A.T. and Henriksson R. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of Estramustine phosphate, Clinical Pharmacokinetic 1998, 34(2):163-172.

12- Hartman N.G., Patterson L.H., workman P., Snarato A. and Angeluccif F. Doxorubicin-oestron-17-oxim-ethyl-carbonyl, a doxorubicin-estrone conjugate that does not redox cycle in rat liver microsoms, Biochemical Pharmacology, 1990, 40: 1164-1167.

13- Toda F. Solid state organic chemistry: effect reactions, remarkable yields and sterioselectivity, Accounts of Chemical Research, 1995, 28: 480-486.

14- McMurry J. Organic chemistry. 3rd ed. California: Brooks/Cole publishing company, 1992, 724.

15- Vaughan J.R.and Echlor J.A. The preparation of optical-active peptides using mixed carbonic-carboxylic anhydrides, Journal of American Chemical Society, 1953, 75: 5556-5560.

16- Anderson G.W., J. Zimmerman and Callahan R.M. A reinvestigation of the mixed carbonyl anhydride method of peptide synthesis, Journal of American Chemical Society, 1967, 89: 5012.

17- Trouet A. Increased selectivity of drugs by linking to carriers, European Journal of Cancer, 1974, 10: 405-411.

18- Boyer M.J., Tannock I.F. Lysosomes, lysosomal enzymes, Advanced Cancer Research, 1993, 53: 269-291.

19- Triton T.R., Yee G. The anticancer agent adriamycin can be actively cytotoxic without entering cells, Science, 1982, 217(4556): 248-250.

20- Duffy P.M., Hayes M.C., Cooper A., Smart C.J. Confocal microscopy of idarubicin localization in sensitive and multidrug-resistant bladder cancer cell lines, British Journal of Cancer, 1996, 74(6): 906-909.