Faculty of Pharmacy
Department of Pharmaceutical Chemistry

"Design, Synthesis and Biological Evaluation of Some New Pyrimidine Derivatives as Potential Anti-Inflammatory Agents."

A Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy

In

Pharmaceutical Sciences (Pharmaceutical Chemistry)

Presented by

Maged Ahmed Abd-Elsayed Ahmed Elsawy

M. Pharm. Sci., Faculty of Pharmacy
University of Mansoura
Egypt, 2014

Department of Pharmaceutical Chemistry

Faculty of Pharmacy

Alexandria University

Egypt

2019

P.U.A. Library
Library C
Ph. D. M
Serial No. 244
Classification 543

الملخص العربي

الالتهاب هو ردة فعل يصدرها الجهاز المناعي في الجسم ضد دخول عامل غريب مثل (جرثومة ،بكتيريا، فيروس، جسم غريب)، أو على إصابة تمت في أنسجة الجسم بالإضافة إلي التعرض للمواد الكميائية والإشعاع. و عادة ما تكون آلية حدوث الالتهاب معقدة حيث تتضمن مجموعة واسعة من الخلايا المناعية والأوعية الدموية والهدف من ذلك الشفاء بجلب المواد اللازمة لمكافحة المرض وإزالة الأنسجة التالفة واستبدالها بأنسجة سليمة ، ولكن ينشأ المرض من التجاوب المستمر من جهاز المناعة ؛ وبالتالي يؤدي ذلك إلى زيادة في الالتهاب، والذي بدوره يؤذي الأنسجة المُجاورة، وفي هذه الحالة يحدث الالتهاب المزمن وأيضا عند إصابة الجهاز المناعي بخلل أو اضطرابات في أداء وظيفته الرئيسة، حيث تبدأ خلايا الدم البيضاء في مهاجمة الانسجة والأعضاء السليمة ؛مما يسبب الإصابة بأمراض المناعة الذاتية.

من الحقائق الثابتة في المراجع العلمية أن مركبات البيريميدين تحظي بنشاط بيولوجي متعدد الجوانب. ولقد تواتر في التراث العلمي العديد من المركبات التي تحتوي علي حلقة البيريميدين المتصلة او المدمجة بحلقات غير متجانسة التي ثبت أن لها فاعلية مضادة للالتهاب. استنادا علي هذه الحقائق قد استهدف هذا البحث تصميم و تشييد مشتقات مستحدثة من البيريميدين ؛بهدف دراسة تأثيرها البيولوجي كمضادات للالتهاب .

تشمل الأطروحة الحالية الفصول التالية:

١. الفصل الأول: المقدمة

يتضمن هذا الجزء مقدمة علي الالتهابات ومسبباتها البيولوجية وطرق العلاج المختلفة وكذلك عرضا موجزا لما تواتر في التراث العلمي عن مشتقات البيريميدين ذات الفاعلية البيولجية كمضادات للالتهاب مع التركيز علي ما نشر حديثا بلمراجع العلمية.

٢. الفصل الثاني: أهداف البحث

يوضح هذا الجزء الأسس العلمية التي بني على أساسها برنامج البحث وقد استهدف البحث تصميم وتشييد العديد من مشتقات البيريميدين وذلك بغرض الحصول على مركبات مستحدثة ذات فاعلية كمضادات للالتهاب. ولقد اختيرت المجموعات و الحلقات المستبدلة للوصول الى دراسة العلاقة بين التركيب البنائي والفاعلية البيولوجية المستهدفة .

٣. الفصل الثالث: المناقشة

يتناول مناقشة تخليق المركبات المستهدفة وتقييمها البيولوجي وطرق النمذجة الجزيئية المستخدمة. وينقسم هذا الفصل إلى ثلاثة أجزاء:

٣.١. الكيمياء:

يناقش هذا الباب شرحا وافيا للطرق المعملية المختلفة المتبعة في المراجع العلمية لتشييد المركبات الأولية والوسطية والنهائية التي استهدفها البحث. كما يعرض إثبات التركيب البنائي للمركبات المشيدة باستخدام التحليل الدقيق

لعناصرها ودراسة أطياف الأشعة تحت الحمراء والرنين النووي المغناطيسي لذرتي الهيدروجين والكربون فضلا عن طيف الكتلة . ويحتوى هذا الجزء على ستة مخططات تبين سير التفاعلات للوصول للمركبات المنشودة وهى :

المخطط الأول:

يناقش تفاعل اليوريا و الأثيل اسيتو اسيتات مع بعض الالدهيدات المناسبة للحصول علي إيثيل4- (٤-مستبدل فينيل)-٦-ميثيل-٢-أوكسو-١،٢،٣،٤-رباعي هيدروبيريميدين-٥-كربوكسيلات (**١ أ ، ب**) وأيضا تفاعل هذة المركبات مع كلوروا سيتيل كلوريد لتحضير إيثيل-٣ (٢-كلورو أسيتيل) -٤- (مستبدل فينيل) -٦-ميثيل -٢-أوكسو ١،٢،٣،٤-رباعي هيدروبيريميدين-٥-كربوكسيلات (**٢ أ ، ب**) ومن الجدير بالذكر تفاعل مركبات(**٢ أ ، ب**) مع ازيد الصوديوم لم تعطى المركبات المنشودة (**٣ أ ، ب**) ولكن ادى الى تحللها الى المركبات (**١ أ ، ب**)

المخطط الثاني:

يصف هذا المخطط تفاعل اليوريا وايثيل اسيتو اسيتات مع ٤-هيدروكسي بنزالديهايد أو الفانيلين للحصول علي إيثيل-٤- (٤-هيدروكسي -٣ بديل للفينيل) -٦-ميثيل -٢-أوكسو- ١،٢،٣،٤-رباعي هيدروبيريميدين-٥- كربوكسيلات (**٤ أ ، ب**) والذي بدورة خضع للألكلة بواسطة بروميد البروبارجيل لتحضير إيثيل٦-ميثيل -٤- [٣- مستبدل -٤-(بروب -٢-ين-١-يل اوكسي) فينيل] -٢-أوكسو-١،٢،٣،٤-رباعي هيدروبيريميدين-٥- كربوكسيلات (**٥ أ ، ب**).
كما يوضح أيضًا تحضير بعض مشتقات الازيدوبنزين (**٦ أ- چ**) التي تم تفاعلها مع المركبات الوسطية (**٥ أ ، ب**) لإنتاج المركبات المستهدفة إيثيل٦-ميثيل-٤-(٣-مستبدل-٤-((1-مستبدل–1-هيدروجين١،٢،٣-تريازول-٤-ايل)ميثوكسي)فينيل)-٢-أوكسو-١،٢،٣،٤-رباعي هيدروبيريميدين-٥- كربوكسيلات (**٧ أ-و**)

المخطط الثالث:

يشرح هذا المخطط تفاصيل التفاعلات اللازمة لتحضير المركب المنشود ٢- فينيل-٢-هيدروجين- ١،٢،٣-ترايازول-٤-كاربالديهايد (**١٠**) عن طريق تكثيف الجلوكوز مع الفينيل هيدرازين للحصول على ٥ ، ٦– ثنائي(٢-فينيل هيدرازونو)هكسان-١،٢،٣،٤- تتراول (**٨**) الذى تم معالجته بكبريتات النحاس بالغليان فى الماء لتكوين ١- (٢ – فينيل-٢-هيدروجين- ١،٢،٣-ترايازول-٤-يل) بيوتان- ١،٢،٣،٤- تتراول (**٩**) الذى تم معالجته بحمض البيرايودك للحصول على المركب المنشود ١٠

المخطط الرابع:

يتضمن هذا المخطط تحضير المركب المستهدف (٦– ميثيل-٤- (٢-فينيل-٢-هيدروجين- ١،٢،٣- ترايازول- ٤-يل) -٢- ثيوكسو-١،٢،٣،٤-رباعي هيدروبيريميدين-٥-يل) (فينيل) ميثانون (**١١**) عن طريق تسخين خليط من الثيويوريا والبنزويل اسيتون والمركب ١٠ في أسيتونيتريل في وجود كمية حفزية من حمض الهيدروكلوريك. كما يتضمن هذا المخطط تفاعل المركب ١٠ مع اليوريا أو الثيويوريا مع مشتقات أسيتو

أسيتانيليد في أسيتونيتريل في وجود كمية حفزية من حمض الهيدروكلوريك للحصول علي المركبات المستهدفة ٦- ميثيل -٢-أوكسو- N- - مستبدل فينيل٤-(٢ - فينيل - ٢هيدرو- ٣،٢،١- ترايازول - 4 - يل) -٤،٣،٢،١- رباعي هيدروبيريميدين -5- كربوكساميد (١٢ أ -ج).

المخطط الخامس:

يصف هذا المخطط تكثيف المركب 10 مع مشتقات أريل ميثيل كيتون في وجود هيدروكسيد الصوديوم المائي (٤٠٪) في الايثانول لإنتاج (E)-١- اريل -٣-(٢ - فينيل - ٢هيدرو- ٣،٢،١- ترايازول - ٤ - يل) بروب-٢-اين-١-اون)(١٣ أ-ه).كما يتضمن أيضا حولقة المركبات (١٣أ-ه) مع كلوريد الجوانيدينيوم في وجود أسيتات الصوديوم اللامائية في الإيثانول للحصول علي المركبات المستهدفة ٤- اريل -٦- (٢- فينيل - ٢هيدرو- ٣،٢،١- ترايازول - ٤ - يل) بيريميدين -2 أمينات (١٤ أ-ه).

المخطط السادس:

يتناول هذا المخطط تكثيف بعض الأريل ميثل كيتون مع الألديهيدات العطرية في وجود هيدروكسيد الصوديوم المائي (٤٠٪) في الايثانول لإنتاج (E)-٣،١-داي اريل بروب-٢-إين-١-اونات (١٥ أ-ي).وكذلك ، تفاعل المركبات (١٥ أ-ي) مع كلوريد الجوانيدينيوم في وجود أسيتات الصوديوم اللامائية في الإيثانول للحصول علي ٤, ٦ داي اريل بيريميدين- 2 - امينات (١٦ أ-ي).كما تم معالجه المركبات، (١٦أ-ي) باندريد الخل للحصول على N- (٤, ٦ داي اريل بيريميدين- ٢ ايل) استاميدات (١٧أ-ي).

٢.٣. المسح البيولوجي:

يصف هذا الجزء الفحص البيولوجي للمركبات الجديدة التي تم تحضيرها و قد أجريت على النحو التالي :

١.٢.٣ . اختبار الفاعلية كمثبطات لانزيمات السيكلوجينيز ٢\١:

تم اختبار جميع المركبات المشيدة كمثبطات لإنزيمات السيكلواوكسيجيناز ١/ ٢ و قد أظهرت النتائج أن جميع المركبات التي تم اختبارها كانت أكثر نشاطًا وانتقائية من الأدوية القياسية ديكلوفيناك الصوديوم والإندوميثاسين كمثبطات لإنزيم السيكلواوكسيجيناز-٢ بينما أظهرت المركبات (٧ج و٧و و١٢ب) ما يقرب من نصف قوة السيليكوكسيب كدواء قياسي كما تم اختبار جميع المركبات كمثبطات لانزيم السيكلواوكسيجيناز-١ كانت أقل فاعلية مقارنة مع ديكلوفيناك الصوديوم وإندوميتاسين .

٢.٢.٣ . اختبار الفاعلية كمثبطات لانزيم الليبوأوكسيجينيز-١٥ :

تم اختبار قدرة المركبات المشيدة أيضًا على تثبيط إنزيم (الليبوكسيجينيز-١٥) باستخدام ميكلوفينامات الصوديوم كدواء قياسي وقد اظهرت النتائج ان للمركبات (**٢ب، ١٣ه ، ١٤ أ ،١٤ ج ، ١٧ه ، ١٧و)** نشاطًا أعلى من ميكلوفينامات الصوديوم بينما أظهر المركب **(١٧ ج)** فاعلية متساوية لميكلوفينامات الصوديوم.

٣.٢.٣ . اختبار الفاعلية علي تثبيط الانتاج الجيني لانزيمي السيكلواوكسيجينيز2- وiNOS و السيتوكينات (TNF-α)وتحفيز الانتاج الجيني (IL-10)

تم اختبار المركبات (**١٧و, ٧ب, ٧ ج, ٧ه, ١٢ب, ١٣ه, ٧أ، ١٤ ج, ١٧ه ، ١٤ أ)** لتقييم فاعليتها علي تثبيط الإنتاج الجيني للانزيمات المؤدية للالتهابات و السيتوكينات مثل **(TNF-α)** و زيادة إنتاج السيتوكاين **(IL-10)** بعد تعرض الخلايا للمحفز الجيني للالتهاب الليبوساكاريد.

كانت المركبات **٧ب، ١٤ أ ، ١٧و** الأكثر فاعلية في تثبيط الانتاج الجيني لـ إنزيمات السيكلواوكسيجينيز- ٢ بلمقارنة بالأدوية القياسية سيليكوكسيب وديكلوفيناك. علاوة على ذلك، كانت المركبات**٧أ , ٧ ج , ٧ه , ١٢ب , ١٣ه ,١٧و** أكثر المركبات فاعلية لتثبيط iNOS بلمقارنة بالأدوية القياسية وقد اظهرت النتائج ان المركبات ٧ ج و ١٤ ج و**١٢ب و١٤ أ و١٧و** قادرة على زيادة التحفيز الجيني لانتاج **(IL-10)** بدرجة أعلي من السيليكوكسيب بينما كانت ٧أ- ج , **١٣ه , ١٧ه** قادرة على تحفيز انترليوكن-10أكثر من ديكلوفيناك .

بالأضافة الي ذلك فإن المركبات قد قللت من إنتاج **(TNF-α)** بالترتيب التالي : **(٧أ و٧ب و٧ ه<١٤ و١٧ه) <** ديكلوفيناك و**(١٢ب و٧ج) <(١٧و ، ١٣ ه و١٤ج)<** سيليكوكسيب.

٤.٢.٣. النشاط المضاد للالتهابات في الجسم الحي:

تم اختيار ستة مركبات **(٧أ و٧ب و١٢ب و١٤ أ و١٧ه و١٧و)** لاختبار نشاطها المضاد للالتهابات باستخدام بروتوكول الفورمالين علي الفئران وقد أظهرت جميع المركبات تثبيط اقل للالتهاب بالمقارنة بالدواء القياسي ديكلوفيناك الصوديوم والسيليكوكسيب ماعدا **١٧ه** حيث أظهر مقدرة علي تثبيط الالتهاب اعلي من الدواء القياسي السيليكوكسيب .

٣. ٣ . النمذجة الجزيئية:

يشمل هذا الجزء:

٣. ٣. ١ . التنبؤ الحاسوبي للاتحاد الجزيئي مع انزيم سيكلواوكسيجيناز-٢ أواللليبوكسيجينيز-١٥:

يدرس هذا الجزء مدي قدرة المركبين**٧ه, ب١٢** علي الاتحاد الجزيئي مع الموقع النشط لإنزيم سيكلواوكسيجيناز-2 للتعرف عليهما كمثبطين لذلك الانزيم باستخدام برنامج تصميم الأدوية (MOE) باستخدام الحاسوب و قد أظهرت الدراسة أن للمركبين نموذج ارتباط مشابه للمركب المرجعي **(S58)**، كمايوضح أيضا مدي قدرة المركبين ١٤ أ ,

١٧و علي الاتحاد الجزيئي مع الموقع النشط لإنزيم الليبوكسيجينيز-١٥حيث وجد ان للمركبين نموذج ارتباطي مشابه للمركب المرجعي (RS7).

٣. ٣. ٢. التنبؤ الحاسوبي للخصائص الفيزيائية والكيميائية الدوائية:

تم إخضاع المركبات الاكثر نشاطا بيلوجيا لحساب بعض الخواص الكيموفزيائية و دراسة امتثال هذه المركبات لقاعدة لبنسكي باستخدام برنامج Swiss ADME .ولقد تم تقييم السمية لهذة المركبات بإستخدام برنامج Lazar toxicity prediction

الفصل الرابع: التجارب المعملية:

ينقسم هذا الفصل إلى ثلاثة أجزاء:

٤. ١. الكيمياء:

يتضمن هذا الباب وصفا تفصيليا للتجارب المعملية التي اتبعت لتحضير كافة المركبات الوسيطية والنهائية التي استهدفها البحث ورصدا علميا لثوابتها الطبيعية قرين كل مركب هذا وقد تم إثبات التركيب البنائي للمركبات الجديدة باستخدام التحليل الدقيق لعناصرها وبدراسة أطياف الأشعة تحت الحمراء والرنيين النووي المغناطيسي لذرتي الهيدروجين والكربون بالإضافة لإجراء طيف الكتلة

٤. ٢. المسح البيولوجي:

يصف هذا الجزء المفهوم العلمي والمنهجية المتبعة للمسح البيولوجي للمركبات المستهدفة كمضادات للالتهاب في المختبر وفي الجسم الحي.

٤. ٣. النمذجة الجزيئية:

يتضمن هذا الجزء الخطوات العملية الحسابية التي تم اتباعها لدراسة اللإ رساء الجزيئي و حساب بعض المعايير الفزيائية والكيميائية الدوائية وكذلك تقييم السمية للمركبات الأكثر فاعلية بيولوجية

المراجع:

يشتمل هذا الجزء علي سرد لجميع المراجع والدوريات العلمية التي تم الاستعانة بها أثناء التخطيط لهذا البحث وكذلك أثناء إجراء التجارب المعملية والبيولوجية وهي مرتبة ترتيبا علميا طبقا لورودها في فحوي الرسالة وعددها ٢١١

الملخص باللغة الإنجليزية:

يشمل ملخصاً موجزاً لجميع الفصول باللغة الإنجليزية.

الملخص باللغة العربية:

يشمل ملخصاً موجزاً باللغة العربية