

رابطه ساختار- فعالیت در برخی ترکیبات فسفر آمید

سعید قدیمی^{۱*}، علی اصغر ابراهیمی و لموزوی^۲

۱- دانشیار، ۲- کارشناس ارشد، گروه شیمی، دانشکده و پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه جامع امام حسین (ع)

E-mail: ghadimi_saied@yahoo.com

(دریافت: ۸۸/۴/۲۳، پذیرش: ۸۸/۸/۲۴)

چکیده

با استفاده از تکنیک QSAR در سال‌های اخیر روابط ریاضی بسیاری در ارتباط بین ساختار شیمیایی و فعالیت بیولوژیکی ترکیبات هم‌خانواده بدست آمده است. در این روش با انتخاب مولکول‌هایی با خواص الکترونی، فضایی و آگریزی معین، تغییرات هدفداری در ساختار عمومی ترکیب مادر ایجاد می‌شود. با اندازه‌گیری خواص شیمی - فیزیکی و فعالیت بیولوژیکی (سمیت، فعالیت دارویی) و یا هر فعالیت بیولوژیکی دیگر، یک خانواده از مولکول‌ها و با کمک روش‌های تحلیل پیوستگی، مهم‌ترین خواص شیمی- فیزیکی تأثیرگذار بر یک خاصیت بیولوژیک خاص، شناسایی و امکان طراحی مولکول‌هایی با خواص بیولوژیکی معین فراهم خواهد شد. بررسی‌های انجام شده بر روی خواص شیمی - فیزیکی، رفتار بیولوژیکی و روابط ساختار- فعالیت ترکیبات فسفر آمید بیانگر آن است که فعالیت بیولوژیکی این دسته از ترکیبات وابستگی زیادی به پارامتر آگریزی در مقایسه با دو پارامتر الکترونی و فضایی نشان می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: خواص بیولوژیکی؛ خواص شیمی - فیزیکی؛ فسفر آمیدها؛ QSAR؛ logP؛ IC₅₀

Study of Structure- Activity Relationship in some Phosphoramidate Compounds

S. Ghadimi*, A. A. Ebrahim Valmozoei

Department of Chemistry, Imam Hossein University, Tehran, Iran

E- mail: ghadimi_saied@yahoo.com

Abstract

In recent years application of QSAR technique has shown that, there are mathematical relationships between chemical structures and biological activities of compounds. In this method, by changing some specific directions on main molecule composition like, altering electronical shape, shifting in hydrophobicity values of molecule and certain specific changes in general structure of main molecule composition results in creation of a molecule with new chemophysical properties and biological activities.

In this method, by measuring physical and chemical properties of a family of molecules and comparing their biological activities (like: toxicity, drug properties, etc.), a data bank of molecular properties is created. The method of linkage analysis of molecules is used and important physio-chemical properties and their correlation with specific biological properties is stored in this data bank. In this way, the method provides possibilities to design a new molecule with certain biological properties. As a conclusion, it has been shown that there are very close dependency between biological activities of phosphoramidate compounds and their respective hydrophobicity.

Keywords: Structure- Activity Relationship; Phosphoramidate Compounds

۱. مقدمه

نشان دهنده الکترون دهنده می باشد. هم اکنون بسط تفکر هامت ما را به ایجاد رابطه ساختار-فعالیت (SAR) در واکنش های شیمیایی پیچیده و مهم بیوشیمیایی قادر ساخته است [۲-۳].

$$\sigma = \log K_X - \log K_H = \log K_X/K_H \quad (1)$$

با استفاده از ثابت های یونش، مشتقات اسیدهای فسفریک ماستریوکوا^۷ و کاباشینیک^۸ ثابت های استخلاف زیادی برای گروه هایی که مستقیماً به اتم فسفر متصل شده اند را بدست آوردند جدول (۱). این ثابت ها تحت عنوان S.Phosp در مراجع معرفی شده اند [۴].

جدول ۱. مقادیر σ^p برای برخی از استخلافات متصل به فسفر

σ^p	X	ردیف
۰/۰۰	H	۱
-۰/۹۶	CH ₃	۲
-۱/۱۰	C ₂ H ₆	۳
-۱/۱۸	C ₃ H ₇	۴
-۱/۳۰	<i>i</i> -C ₃ H ₇	۵
-۱/۲۲	C ₄ H ₉	۶
-۱/۳۰	<i>i</i> -C ₄ H ₉	۷
-۱/۳۶	<i>sec</i> -C ₄ H ₉	۸
-۱/۵۵	<i>tert</i> -C ₄ H ₉	۹
-۱/۲۷	<i>i</i> -C ₅ H ₁₁	۱۰
-۱/۴۴	Neo-C ₅ H ₁₁	۱۱
-۱/۱۹	<i>c</i> -C ₆ H ₁₁	۱۲
-۰/۶۹	C ₆ H ₅ CH ₂	۱۳

تافت^۹ نیز اثرات فضایی را با ثابت Es معرفی کرد. پارامترهای دیگری مانند پارامترهای استریمولز^{۱۰} (L و B_i)، انکسار مولار (MR)، شعاع واندروالس مولکول (r) و زاویه تولمن نیز به عنوان معیاری برای کمی کردن پارامتر فضایی معرفی شده اند [۵ و ۶]. اثر آگریزی به عنوان یکی دیگر از پارامترهای شیمی- فیزیکی تأثیر بسزایی در واکنش های شیمیایی،

اندازه گیری و کمی کردن خواص شیمی- فیزیکی و فعالیت های بیولوژیکی مواد طبیعی و سنتزی و همچنین پیدا کردن الگوها، نمونه ها و روابط حاکم بر کمیت های اندازه گیری شده موضوعی جالب، در حال تکامل و مورد بحث در روش^۱ QSAR است. تا قبل از سال های ۱۹۳۰ میلادی آگاهی کافی از وسعت و سرعت واکنش های شیمیایی و خواص شیمی- فیزیکی (شکل، اندازه و خواص الکترونی) مولکول های واکنش کننده وجود نداشت. با وجود شباهت های زیادی که آن زمان در نحوه اندازه گیری فعالیت های بیولوژیکی بخصوص در ارتباط با میزان فعالیت داروها و سموم وجود داشت، کوشش چندانی برای ایجاد ارتباط بین فعالیت های بیولوژیکی و خواص شیمی- فیزیکی بعمل نیامده بود. از آن زمان به بعد امکان ایجاد روابط کمی بین ماهیت و واکنش پذیری مولکول ها فراهم شد [۱]. در سال ۱۹۵۰ «هانس» پارامتر آگریزی را معرفی و از تحلیل پیوستگی برای ایجاد ارتباط بین فعالیت بیولوژیکی و خواص شیمی- فیزیکی استفاده نمود. از آن زمان به بعد دانشمندان روش های آماری پیشرفته تری (از جمله تحلیل خوشه ای^۲، تحلیل فاکتور^۳ و تحلیل ترکیبات اصلی^۴) را برای ایجاد معادلات ریاضی بین داده های بیولوژیکی و خواص شیمی- فیزیکی به کار بردند [۱]. در روش QSAR معادلات ریاضی معمولاً به کمک تکنیک های آماری از جمله تکنیک پیوستگی خطی چند متغیره^۵ (MLR) بدست می آیند. در این معادلات پارامترهای توصیف کننده خواص شیمی- فیزیکی به صورت متغیرهای مستقل و فعالیت بیولوژیکی به صورت متغیرهای وابسته در نظر گرفته می شوند.

«هامت» اولین بار اثر الکترونی را به عنوان یک خاصیت شیمی- فیزیکی با ارائه نمونه ای که کمک فراوانی به تشخیص مکانیزم واکنش های آلی، بیولوژیکی و بیوشیمیایی کرد، پایه گذاری نمود. براساس این نمونه، تغییرات در ساختار، تغییرات مشابهی را در فعالیت ایجاد می کنند. در این نمونه «هامت» به جای استفاده از ثابت های یونیزاسیون، پارامتر سیگما (σ) را به عنوان استاندارد معرفی کرد معادله (۱). مقدار مثبت σ بیانگر الکترون کشندگی استخلاف و مقدار منفی σ

6- Structure-Activity Relationships (SAR)
7- Mastryukova
8- Kabachinik
9- Taft
10- Strimol

1- Quantitative Structure Activity Relation-Ship
2- Cluster Analysis
3- Factor Analysis
4- Principal Analysis
5- Multiple Linear Regression

فرایندهای بیوشیمیایی، دارویی و محیطی دارد. پارامتر آبگریزی بیانگر میل ترکیبی مولکول یا بخشی از آن به محیط چرب است. این پارامتر معمولاً توسط اندازه‌گیری رفتار توزیعی ترکیب در یک سیستم دو فازی قابل سنجش می‌باشد. نسبت توزیع را اصطلاحاً ضریب تقسیم (P) می‌نامند و پارامتر آبگریزی لگاریتم و این نسبت یعنی $\log P$ می‌باشد. خلاصه‌ای از روش‌های معمول برای محاسبه $\log P$ در شکل (۱) آورده شده است [۱ و ۷].

۲. بخش تجربی

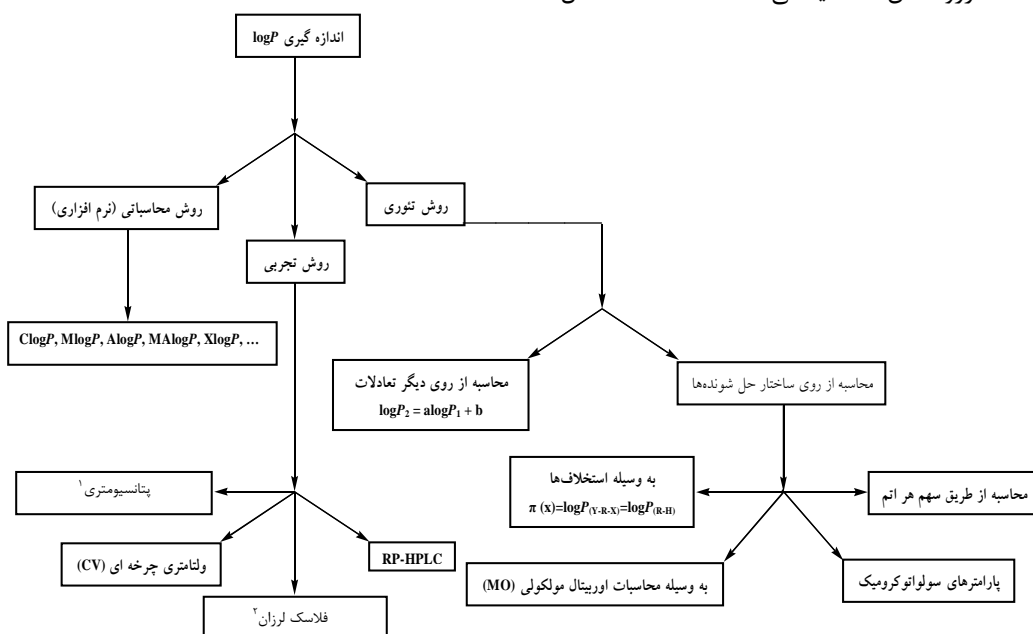
۲-۱. مواد و دستگاه‌ها

مواد فسفریل کلرید (۹۸٪)، پارا کرزول (۹۸٪)، دی‌اتیل آمین، اتیل استات، هگزان نرمال، کلروفرم، پیریدین، اسید هیدروکلریک، متیل آمین، تری‌اتیل آمین، پتاسیم سیانید، استونیتریل، استیل تیوکولین یدید، فسفات هیدروژن سدیم و فسفات دی‌هیدروژن سدیم از شرکت Merck و بنزن (Kanto)، O.O-دی‌متیل کلرو تیوفسفات (Aldrich)، ۵،۵-دی‌تیوبیس (۲-نیترو بنزویک اسید) (Sigma) و آنزیم استیل کولین استراز (erythrocyte, Cat. No. C0663) از شرکت سیگما تهیه شده است و دستگاه رزونانس مغناطیسی هسته (NMR) مدل

۲-۲. اندازه‌گیری مقادیر پارامتر آبگریزی، الکترونی و

IC₅₀ برخی فسفر آمیدها

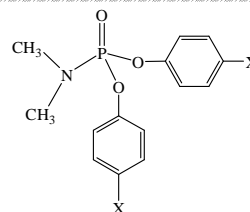
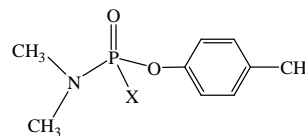
برای اندازه‌گیری پارامتر آبگریزی و الکترونی به ترتیب از روش فلاسک لرزان و داده‌های جابجایی شیمیایی فسفر در طیف $^3\text{P}\{^1\text{H}\}\text{NMR}$ و برای اندازه‌گیری پارامتر IC₅₀ (مهار آنزیم استیل کولین استراز) نیز از روش المن استفاده شده است [۸]. نتایج مربوط به پارامترهای شیمی - فیزیکی و IC₅₀ برای ترکیبات ۱ تا ۱۰ در جدول (۲) آورده شده است [۹].



شکل ۱. شکل کلی از روش‌های اندازه‌گیری پارامتر آبگریزی ($\log P$)

جدول ۲. مقادیر $\log P$ ، $\delta(^{31}\text{P})$ و IC_{50} برای ترکیبات ۱ تا ۱۰

ردیف	X	$\delta^{31}\text{P}$ (ppm)	$\log P$	IC_{50} (mM)
۱	Cl	۱۳/۸۱	۱/۶۰	۱/۳۷
۲	CN	-۱۱/۸۲	۲/۲۰	۷/۵۳
۳	OCH ₃	۹/۸۳	۱/۷۲	۱/۷۳
۴	N(CH ₂ CH ₃) ₂	۱۵/۵۵	۲/۲۴	۴/۹۳
۵	N(CH ₂) ₄ O	۱۳/۴۰	۲/۶۹	۱۳/۵۵
۶	H	۱/۶۰	۱/۰۳	۳۱/۳۰
۷	Cl	۱/۶۸	۲/۷۵	۴۰/۹۰
۸	CH ₃	۲/۱۵	۱/۶۳	۳۵/۴۰
۹	CN	۱/۲۸	۰/۲۸	۲۶/۰۰
۱۰	NO ₂	۰/۵۰	۰/۷۱	۲۸/۷۰



$$\log(1/\text{IC}_{50}) = -0.929 (\pm 0.28) \log P + 0.008 (\pm 0.001) \delta(^{31}\text{P}) + 1.264 (\pm 0.060)$$

$$n = 5, r^2 = 0.998, s = 0.245, F = 591.57 \quad (۳)$$

$$\log(1/\text{IC}_{50}) = -0.0749 (\pm 0.009) \log P + 0.013 (\pm 0.007) \delta(^{31}\text{P}) - 1.391 (\pm 0.018)$$

$$n = 5, r^2 = 0.967, s = 0.0141, F = 58.78 \quad (۴)$$

۳. بحث و نتیجه گیری

از روابط (۳) و (۴) می توان نتایج زیر را بدست آورد:

۳-۱. بررسی اثر آبریزی: وجود رابطه خطی بین $\log(1/\text{IC}_{50})$ و $\log P$ با ضریب $0.929 (\pm 0.28)$ در معادله (۴) و ضریب $0.0749 (\pm 0.009)$ در معادله (۳) نشان دهنده تأثیر نسبتاً زیاد پارامتر آبریزی نسبت به پارامتر الکترونی می باشد. علامت منفی در این ضرایب بیانگر آن است که با افزایش میزان آبریزی، قدرت مهارکنندگی ترکیبات فسفر آمیدو اسید استرها کاهش می یابد. از آنجا که ساختار پروتئینی آنزیم ها دارای مراکز آبدوست و آبریز می باشد، از این داده ها می توان انتظار داشت که برهم کنش ترکیبات فوق عمدتاً با مراکز آبریز ساختار آنزیم استیل کولین استراز برقرار شده است.

۳-۲. بررسی اثر الکترونی: میزان جابجایی شیمیایی اتم فسفر $\delta(^{31}\text{P})$ را می توان به عنوان پارامتر الکترونی در نظر گرفت. ضریب جابجایی شیمیایی فسفر در معادلات (۳) و (۴) نشان می دهد که پارامتر الکترونی در این دسته از ترکیبات تأثیر کمی بر روی IC_{50} ایجاد می کند.

۳-۲. بررسی روابط ساختار- فعالیت (SAR) ترکیبات

هدف

هانش و همکارانش با طرح معادله (۲)، نقش پارامتر آبریزی ($\log P$)، الکترونی (σ) و برهمکنش های فضایی (E_s) را در مهار آنزیم استیل کولین استراز توسط اورگانو فسفرها بسیار مهم ارزیابی کردند.

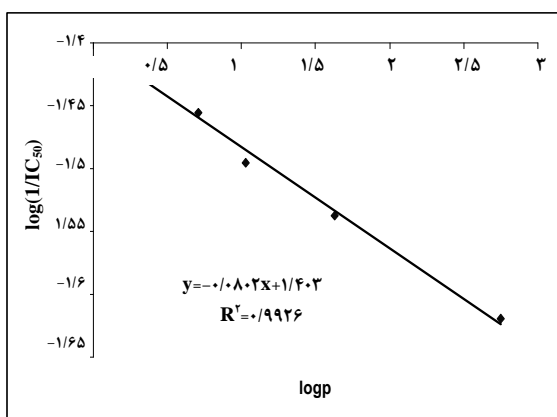
$$\log 1/\text{IC}_{50} = a(\log P) + b(\sigma) + c(E_s) + d \quad (۲)$$

در این معادله، $\log P$ معرف پارامتر آبریزی، σ معرف اثرات الکترونی (ثابت های هامت)، E_s معرف اثرات فضایی و d بیانگر تأثیر عوامل دیگر از جمله اثرات توپولوژیکی، قطبش پذیری و پیوند هیدروژنی در مقدار IC_{50} است. در معادله (۲)، مکانیزم اثر اورگانو فسفرهای محلول در آب و نقش خواص مولکولی از جمله خواص توپولوژیکی، اثرات فضایی استخلاف ها، خواص استریمول و قطبش پذیری در مهار آنزیم استیل کولین استراز به روشنی مشخص نشده است [۱۰].

برای بدست آوردن یک رابطه ساختار- فعالیت مناسب، شرایط مطلوب آن است که سهم هر یک از متغیرهای مؤثر در فعالیت بیولوژیکی مشخص گردد. بنابراین برای تأمین این هدف با استفاده از نرم افزار SPSS (نرم افزار محاسبات آماری)، رابطه خطی بین $\log(1/\text{IC}_{50})$ ، $\log P$ و $\delta(^{31}\text{P})$ به ترتیب برای ترکیبات ۱ تا ۵، معادله (۳) و ترکیبات ۶ تا ۱۰، معادله (۴) بدست آورده شده است.

مفهوم را نمی‌توان مستقیماً از داده‌های آزمایشگاهی بدون وجود رابطه QSAR درک کرد. به کمک این روش امکان پیشگویی و طراحی ترکیباتی با خواص بیولوژیک خاص میسر می‌شود. در این روش طراحی بر اساس درون‌یابی به‌راحتی قابل توجه خواهد بود؛ اما باید دقت کرد که از این روش برای برون‌یابی خارج از گستره داده‌ها استفاده نشود. (شکل ۲)

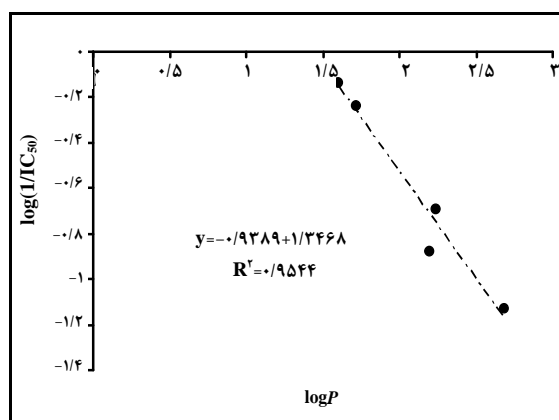
از نتایج بدست آمده از این روش همچنین می‌توان برای درک صحیح نوع برهم‌کنش بین گروه‌های عاملی مولکول‌ها و هدف بیولوژیکی نیز استفاده کرد. همان‌طوری که از روابط SAR و داده‌های تجربی ترکیبات فسفرآمید قابل مشاهده است، با کاهش پارامتر آبگریزی می‌توان خاصیت آنتی‌استیل‌کولین استرازی این دسته از ترکیبات را مؤثرتر از پارامتر الکترونی و فضایی افزایش داد (شکل‌های ۲) و (۳). در این روش مولکول‌های هدف با صرف وقت و هزینه کمتر قابل طراحی و تهیه است. در شکل‌های (۲) و (۳) وجود رابطه خطی بین $\log P$ و $\log(1/IC_{50})$ در ترکیبات ۱ تا ۱۰ بخوبی مطلب فوق را تأیید می‌کند.



شکل ۳. رابطه خطی بین $\log(1/IC_{50})$ و $\log P$ برای ترکیبات ۶ تا ۱۰

۳-۳. بررسی اثر فضایی: نکته قابل توجه در معادلات (۳) و (۴) عرض از مبدأ آن‌ها است (± 0.060) و $1/264$ در معادله (۳) و (± 0.018) و $1/391$ در معادله (۴). این مقادیر نشان‌دهنده آن است که علاوه بر پارامتر آبگریزی و الکترونی، پارامتر فضایی و احتمالاً پارامترهای مهم دیگری نیز بر قدرت مهارکنندگی اثرگذارند. براساس گزارش‌های ارائه شده در ترکیبات فسفرآمید پارامتر فضایی (اندازه مولکول) نقش کوچکی در مهار آنزیم نشان می‌دهد. با این وجود دیده شده است که در برخی ترکیبات فسفرآمید با کاهش میزان اندازه مولکول، قدرت مهار آنزیم استیل‌کولین استراز افزایش پیدا می‌کند [۹].

در تحلیل QSAR فرض بر این است که متغیرهای شیمی- فیزیکی مستقل‌اند. بنابراین هر کدام از متغیرها و یا ترکیبی از آن‌ها که همپوشانی و ارتباط کمتری با هم دارند، باید در تحلیل QSAR مورد استفاده قرار گیرند. با این وجود، کمی کردن رابطه ساختار- فعالیت درک ما را از چگونگی تاثیر ساختمان مولکولی بر فعالیت بیولوژیکی افزایش می‌دهد. این



شکل ۲. رابطه خطی بین $\log(1/IC_{50})$ و $\log P$ برای ترکیبات ۱ تا ۵

۴. مراجع

- [6] A. Verloop, the Sterimol Approach to Drug Design, Marcel Dekker, New York, 1987.
- [7] Smith, D.A.; Jones, B.C.; Walker, D.K. Med. Res. Revs. 1996, 16, 243.
- [8] Ghadimi, S.; Mousavi, S.; Javani, Z. J. Enzy. Inhibit. Med. Chem. 2008, 23, 213.
- [9] Ghadimi, S.; Ebrahimi Valmoozi, A.A.; Pourayoubi, M.; Samamni, K.A. J. Enzy. Inhib. Med. Chem. 2007, 23, 556.
- [10] Singh, A. K. Com. Biochem. Physico. 1999, 123, 241.
- [1] Hansch, C.; Leo, A. "Exploring QSAR. Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology", Washington DC, ACS Professional References Book, 1995.
- [2] Hammett, L.P. Chem. Rev. 1937, 17, 125.
- [3] Hammett, L.P. J. Am. Chem. Soc. 1937, 59, 125.
- [4] Mastryukova, T. A.; Kabachnik, M. I. J. Org. Chem. 1971, 36, 1201.
- [5] Taft, R.W.; Lewis, I.C. J. Am. Chem. Soc. 1937, 80, 125.

