

سنتز و تعیین ساختار مولکولی هتروسیکل سه حلقوی اسپيرو فوران و بررسی خواص

سیتوتوکسیک آن بر روی رده سلول های سرطانی G-292

مونا بشارت، سمیرا عرب سلمان آبادی*، امید مرادی

گروه شیمی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۳/۲۰ تاریخ تصحیح: ۹۹/۰۷/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۷/۱۴

چکیده

سنتز و بررسی خواص دارویی ترکیبات اسپيرو جدید با گروه های عاملی متنوع به دلیل جنبه های ساختاری و کنفورماسیونی ویژه این ترکیبات بسیار مورد توجه محققین شیمی آلی و دارویی قرار دارد. واکنش های چند جزئی یکی از محبوب ترین روش ها برای سنتز این ترکیبات در بین شیمیادانان آلی می باشد. در این تحقیق از برهمکنش سه جزئی بین بوتیل آمین، دی متیل استیلن دی کربوکسیلات و H₁-ایندن-۳،۲،۱-تری اون تحت شرایط بازروانی تولوئن یک هتروسیکل سه حلقوی اسپيرو فوران، سنتز و با استفاده از آزمون های FTIR، ¹H-NMR، ¹³C-NMR و Mass Spectrometry با موفقیت مورد شناسایی و تعیین ساختار مولکولی دقیق قرار گرفت. در ادامه با هدف کاربردی کردن پژوهش، بررسی های سیتوتوکسیک در زمینه بررسی خواص ضد سرطانی مشتق سنتزی بر روی رده سلول های سرطانی استئوسارکوما ایستخوان انسانی (G-292) با استفاده از آزمون MTT انجام و نتایج قابل قبولی بدست آمد.

کلمات کلیدی: اسپيرو فوران، واکنش های چند جزئی، و H₁-ایندن-۳،۲،۱-تری اون، رده سلولی G-292.

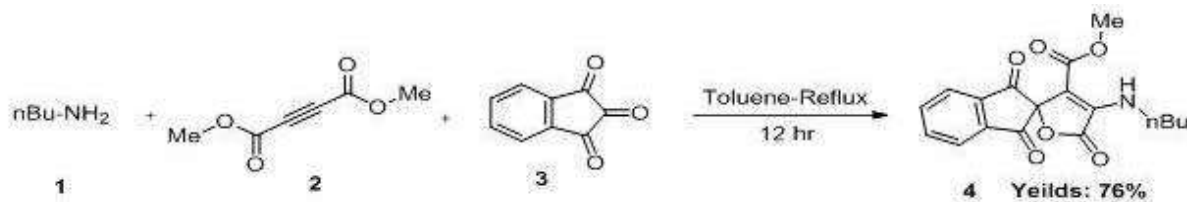
۱- مقدمه

ترکیبات اسپيرو، شامل ساختارهای حلقوی می باشند که در یک کربن مشترک به یکدیگر متصل شده اند. پیکربندی و ساختار نامتقارن ترکیبات اسپيرو به علت حضور کربن اسپيرو کایرال، منشا فعالیت های بیولوژیکی برای این دسته از ترکیبات به شمار می آیند [۱-۲]. ماهیت حلقه های کربنی ممکن است متفاوت یا یکسان باشند و معمولاً این حلقه ها نسبت به همدیگر دارای حالت تاب خورده می باشند. اتم کربن اسپيرو حتی علیرغم نداشتن چهار استخلاف متفاوت کایرال می باشد. از جمله فعالیت های بیولوژیکی ترکیبات اسپيرو می توان به فعالیت های ضد باکتری و ضد قارچی [۳]، فعالیت ضد سرطانی [۴]، ضد میکروبی، فعالیت غیرپپتیدی مهارکننده [۵]، فعالیت مهارکننده استیل کولین استراز [۶] و غیره اشاره کرد [۷-۹].

همچنین از مشتقات اسپيرو به عنوان سموم دفع آفات، رنگ های لیزر، دستگاه های الکترو لومینسانس و آنتی اکسیدان نیز استفاده شده است [۸-۱۳]. با در نظر گرفتن اثرات دارویی و بیولوژیکی مهمی که برای انواع مشتقات ترکیبات اسپيرو شناخته شده است، ارائه روش های نوین برای سنتز مشتقات جدیدی از این ترکیبات و کشف خواص دارویی آنها مورد توجه بسیاری از شیمی دانان قرار دارد. یکی از مهمترین این روش های سنتز این ترکیبات استفاده از واکنش های چند جزئی است. در واقع واکنش های چند جزئی یکی از موفق ترین روش ها در زمینه افزایش تنوع ساختاری و پیچیدگی مولکولی انواع ترکیبات جدید با استفاده از یک فرایند ساده می باشند. از مزیت های این واکنش ها می توان به ایجاد پیوندهای جدید در یک مرحله و یا کاهش تعداد مراحل واکنش، جداسازی حدواسط ها بدون ایجاد تغییر در واکنش یا افزایش تعداد مراحل، بازده بالا، در دسترس بودن مواد اولیه، ایجاد تغییر در گروه های عاملی، پایداری اتم ها، سازگاری زیست محیطی، سهولت اتوماسیون و صرفه جویی در زمان و انرژی اشاره کرد [۱۴-۱۸]. در پژوهشی که توسط ساپناکوماریو همکارانش در سال ۲۰۱۷ انجام شده، سنتز مشتقات جدیدی از اسپيرو-اکسیندول بوسیله حلقه زایی ۳،۱-دوقطبی واکنش سه جزئی بین ایساتین، کالکون و امینواسیدها در حلال اتانول با موفقیت انجام شده و فعالیت بیولوژیکی آنها مورد بررسی قرار گرفته است [۱۹]. در پژوهشی دیگر نیز که توسط پیردهی و همکارانش در سال ۲۰۱۴ انجام شده، سنتز مشتقات جدیدی از اسپيرو [پیرازولوکینولین-اکسیندول ها] با استفاده از واکنش چهار جزئی بین فنیل هیدرازین، ایساتین ها، نفتیل آمین ها و ۳-کتواسترها تحت شرایط بدون حلال با موفقیت انجام شده است [۲۰]. همچنین زیارانی و همکارانش در سال ۲۰۱۳ موفق شدند سنتز مشتقات اسپيرو [ایندولین-۹،۳-زانتن] تری اون را از طریق واکنش چگالش بین ایساتین و دیمیدن تحت شرایط بدون حلال و در حضور نانوکاتالیست هتروژن SBA-15-Pr-SO₃H انجام دهند [۲۱].

بررسی تکثیر و بقای سلولی از تکنیک های مهم و اصلی در آزمایشگاه های سلولی می باشد. این بررسی نیازمند کمی سازی دقیق تعداد سلول های زنده در محیط کشت سلولی است. از اینرو روش های محاسبه بقای سلولی جهت بهینه سازی شرایط کشت سلول، ارزیابی عوامل رشد سلولی، کشف آنتی بیوتیک ها و داروهای ضد سرطان، ارزیابی اثرات سمی آلاینده های محیطی و مطالعات آپوپتوز بسیار ضروری هستند. برای چنین اهدافی روش های متعددی مورد استفاده قرار می گیرند اما روش های غیرمستقیم با استفاده از نشانگرهای فلورسنت یا کروموژن، روش هایی بسیار سریع در مقیاس بزرگ را فراهم می کنند. از میان این روش ها، سنجش بقای سلولی با استفاده از رنگ تترازولیوم با نام شیمیایی 3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyl Tetrazolium bromide که اختصاراً MTT نامیده می شود، پرکاربردترین روش محسوب می شود. این روش، یک روش رنگ سنجی برای بررسی تکثیر و بقای سلول ها است که در سال ۱۹۸۳ توسط Mossman معرفی شده است [۲۲].

لذا با توجه به اهمیت و فعالیت های بیولوژیکی متنوع مشتقات اسپيرو درارای گروه های عاملی متنوع در این پروژه تلاش شده است با استفاده از برهمکنش سه جزئی بین بوتیل آمین (۱)، دی آلکیل استیلن دی کربوکسیلات ها (۲) و H1- ایندن-۳،۲،۱-تری اون (۳) ترکیب متیل ۴- (بوتیل-آمینو)-۱،۳،۵-تری اکسو-۱،۳-دی هیدرو-۵H-اسپیرو [فوران-۲،۲-ایندن]-۳-کربوکسیلات (۴) سنتز شده و در ادامه عملکرد آن بر روی رده سلولی G-292 با استفاده از سنجش بقای سلولی MMT بررسی شود. طرح واره کلی این واکنش در شکل ۱ نشان داده شده است.



۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد شیمیایی و دستگاه ها

تمامی مواد شیمیایی و حلال های مورد استفاده در این پروژه از نمایندگی شرکت مرک خریداری شده و بدون خالص سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفته اند. جهت بررسی پیشرفت واکنش از روش TLC و سیلیکاژل F254 60 و UV-detector استفاده شده است. طیف FTIR توسط دستگاه طیف سنج مادون قرمز مدل Perkin Elmer Spectrum 100 و با استفاده از قرص پتاسیم برمید گزارش شده است. همچنین برای بدست آوردن طیف های NMR از دستگاه NMR مدل Bruker avance 300 استفاده شد. در بخش دارویی این پژوهش نمک دی متیل تiazول دی فنیل تترازولیوم برومید، حلال ایزوپروپانول، پلیت های حاوی سلول های زنده کشت شده و دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۷۰ نانومتر مورد استفاده قرار گرفتند. تحقیقات دارویی در زمینه بررسی خواص سیتوتوکسیسیستی (ضدسرطانی) مشتق سنتز شده بر روی رده سلول های سرطانی استئوسارکوما ای استخوان انسانی (G-292) در پژوهشگاه مواد و انرژی (وزارت علوم، تحقیقات و فناوری) انجام شده است.

۲-۲- روش کار سنتز متیل ۴- (بوتیل-آمینو)-۱،۳،۵-تری اکسو-۱،۳-دی هیدرو-۵H-اسپیرو [فوران-۲،۲-ایندن]-۳-کربوکسیلات

۲ میلی مول (۰/۱۴ گرم) بوتیل آمین و ۲ میلی مول دی متیل استیلن دی کربوکسیلات (۰/۲۴ گرم) به ۱۰ میلی لیتر حلال تولوئن در یک بالن ۵۰ میلی لیتری اضافه شده و با استفاده از همزن مغناطیسی تحت همزدن با شدت ثابت قرار گرفت. بعد از گذشت ۵ دقیقه، ۲ میلی مول H1- ایندن-۳،۲،۱-تری اون (۰/۳۵ گرم) در دمای اتاق به محلول به دست آمده اضافه شده و سپس مخلوط حاصله به مدت زمان ۱۲ ساعت تحت بازروانی در حلال تولوئن قرار گرفت. پیشرفت واکنش با استفاده از تکنیک

TLC (با استفاده از حلال های اتیل استات/ هگزان با نسبت ۴:۱) بررسی شد. بعد از اتمام واکنش حلال باقیمانده (تولون) با کمک فرآیند تبخیر حذف شده و محصول مورد نظر بصورت روغن زرد رنگ با استفاده از ستون کروماتوگرافی (با اتیل استات/نرمال هگزان با نسبت ۴:۱) خالص و جداسازی گردید.

۳-۲- روش کار سنجش بقای سلولی با آزمون MTT

برای انجام این تست ابتدا پودر زرد رنگ نمک تترازولیوم در محلول بافر فسفات حل می شود به طوری که غلظت نهایی آن ۵ میلی گرم بر میلی لیتر باشد. سپس محلول ساخته شده به منظور حذف نانوذرات نامحلول احتمالی از فیلتر ۲ میکرومتر عبور داده شده و سپس به مدت ۴ ساعت با محیط حاوی ۱۰ درصد MTT انکوبه شد. در ادامه به هر کدام از چاهک های حاوی سلول های سرطانی استئوسارکوما ای استخوان انسانی G-292، ۱۰ میکرولیتر تترازولیوم اضافه شده و بعد از انکوباسیون به هر یک از چاهک ها ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه کرده و پیتاژ را انجام دادیم. چگالی نوری محلول در هر چاهک با استفاده از دستگاه الیزا ریدر در طول موج ۵۳۱ نانومتر سنجیده شد. درصد بقاء سلول هایی که تحت تاثیر غلظتی خاص از مشتق قرار گرفته اند با تقسیم جذب چاهک های تیمار شده به جذب کنترل منفی ضربدر ۱۰۰ محاسبه گردید.

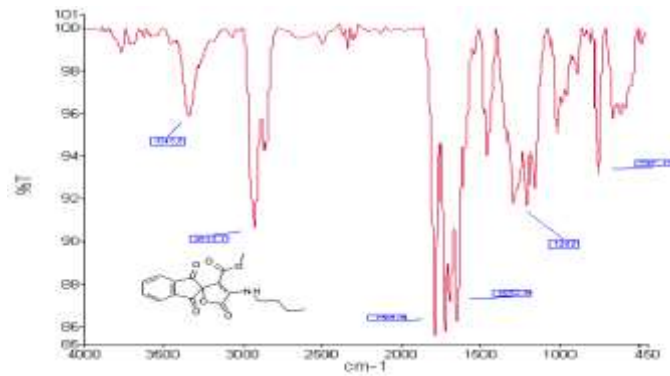
$$\% \text{Viability} = \frac{\text{Number of viable cells}}{\text{Total number of cells counted}} \times 100$$

$$\% \text{Cytotoxicity} = 100 - \% \text{viable cells}$$

۳- بحث و نتیجه گیری

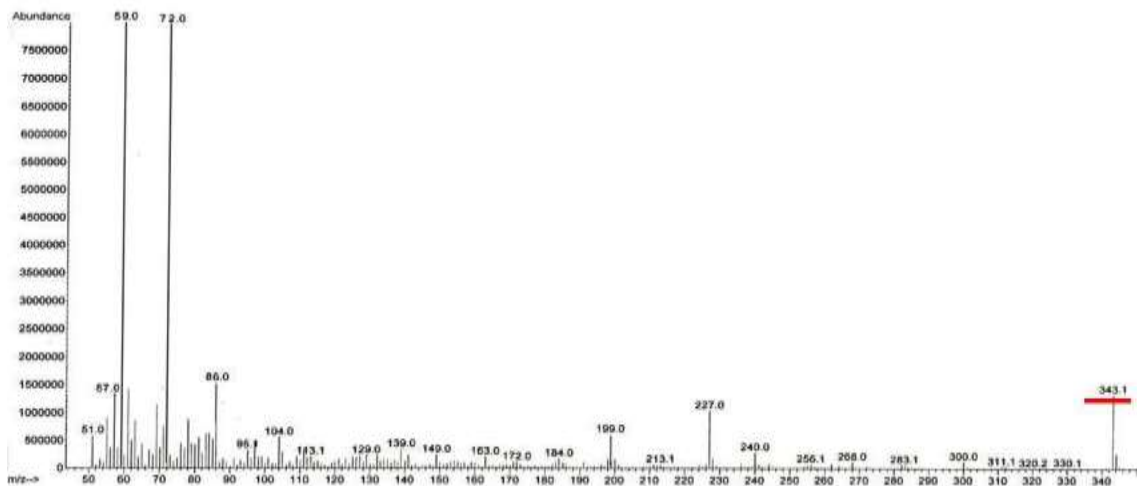
با توجه به اهمیت بسیار زیاد ترکیبات اسپيرو، و خواص بیولوژیکی ویژه این دسته از ترکیبات، در این تحقیق با استفاده از برهمکنش سه جزئی بین بوتیل آمین (۱)، دی متیل استیلن دی کربوکسیلات (۲) در مجاورت H₁- ایندن-۳،۲،۱-تری اون (۳)، ترکیب متیل ۴- (بوتیل-آمینو)-۱،۳،۵-تری اکسو-۱،۳-دی هیدرو-۵H-اسپیرو [فوران-۲،۲-ایندن]-۳-کربوکسیلات (۴) به صورت روغن زرد رنگ با راندمان ۷۶٪ در حلال تولون سنتز شده و با استفاده از آنالیزهای IR، ¹H-Mass spectrometry، NMR و ¹³C-NMR مورد شناسایی و تعیین دقیق ساختار مولکولی قرار گرفت.

طیف FTIR ترکیب ۴ در شکل ۲ نشان داده شده است. در این طیف پیک مشاهده شده در فرکانس ۳۳۴۵ cm⁻¹ مربوط به گروه N-H، پیک های مشاهده شده در فرکانس های ۱۷۹۵، ۱۷۲۵، ۱۶۹۱ و ۱۶۵۳ cm⁻¹ نیز مربوط به چهار گروه کربونیل (C=O) می باشند. پیک واقع شده در موقعیت ۱۲۸۷ cm⁻¹ ناشی از ارتعاش پیوند C-O گروه استری است و پیک مشاهده شده در ۷۵۷ cm⁻¹ ناشی از ارتعاش خارج از صفحه ای C-H پیوندهای حلقه آروماتیک می باشد.



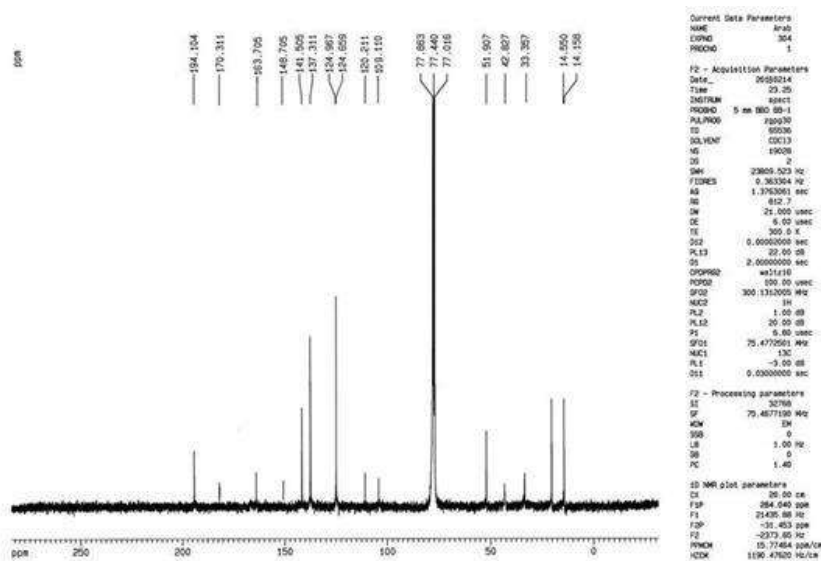
شکل ۲- طیف FTIR ترکیب ۴

طیف جرمی ترکیب پیک یون مولکولی را در $m/z = 343$ نشان داده که با جرم مولکولی ترکیب سنتزی کاملاً مطابقت دارد (شکل ۳).



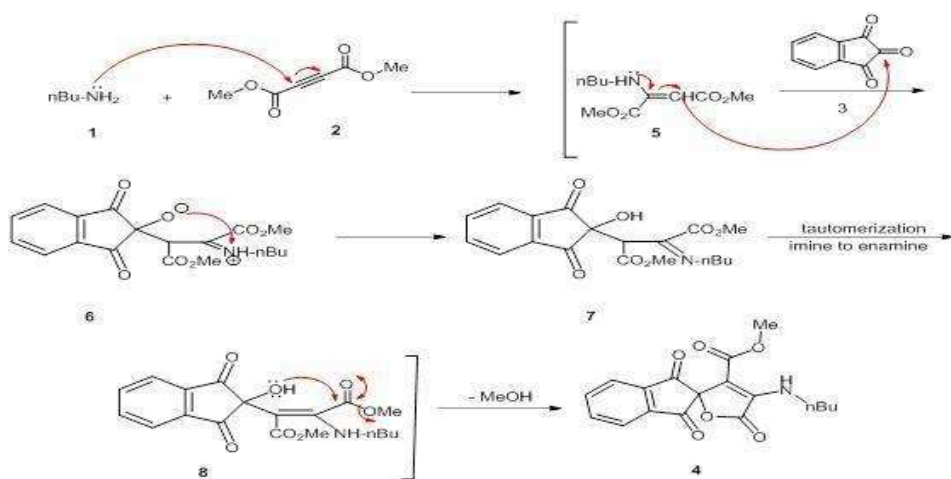
شکل ۳- طیف Mass spectrometry ترکیب ۴

طیف $^1\text{H-NMR}$ ترکیب ۴ در شکل ۴ و طیف باز شده آن در شکل ۵ نشان داده شده است، در این طیف، یک پیک سه تایی برای گروه متیل در ناحیه $\delta = 0.98$ ppm، پیک های چندتایی در نواحی $\delta = 1.44$ ppm و $\delta = 1.64$ ppm، برای دو گروه متیلن، یک پیک یکتایی در ناحیه $\delta = 3.43$ ppm، مربوط به گروه متوکسی، یک پیک سه تایی در ناحیه $\delta = 3.83$ ppm، مربوط به پروتون های متیلن متصل به نیتروژن، یک پیک یکتایی پهن در ناحیه $\delta = 6.78$ ppm، مربوط به پروتون گروه N-H و پیک های چندتایی در ناحیه $\delta = 7.96-8.11$ ppm، برای پروتون های ناحیه آروماتیک ظاهر شده است.



شکل ۶- طیف $^{13}\text{C-NMR}$ ترکیب ۴

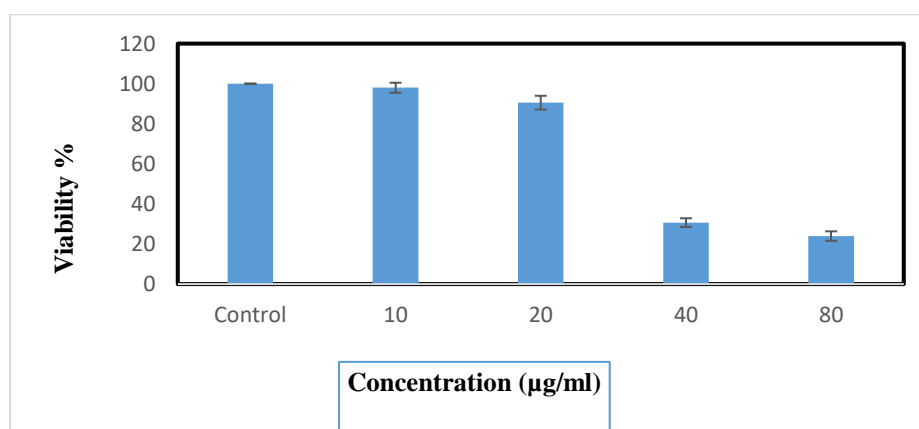
مکانیسم پیشنهادی برای سنتز مشتق مورد نظر در شکل ۷ نشان داده شده است. در این مکانیسم حدواسط انامینوستر ۵ تهیه شده در اثر برهمکنش مواد اولیه ۱ و ۲ تحت حمله H^+ -ایندن-۱،۲،۳-تری اون ۳ قرار گرفته و منجر به تشکیل حدواسط ۶ می گردد. این حدواسط در ادامه با انجام واکنش انتقال پروتون به مشتق ایمینی ۷ تبدیل می شود و متعاقباً این حدواسط با انجام توتومریزاسیون (تبدیل ایمین به انامین) حدواسط ۸ را ایجاد می کند. در نهایت حدواسط ۸ طی یک واکنش حلقوی شدن درون مولکولی با حذف یک مولکول الکل (MeOH) به فراورده ۴ تبدیل می شود.



شکل ۷- مکانیسم تشکیل فراورده ۴

پس از سنتز و تعیین ساختار دقیق ترکیب متیل ۴- (بوتیل-آمینو)-۱،۳،۵-تری اکسو-۱،۳-دی هیدرو-۵H-اسپیرو [فوران-۲،۲-ایندن]-۳-کربوکسیلات، اثر سیتوتوکسیسیستی آن بر اساس روش MTT مبتنی بر فعالیت میتوکندری بر روی رده سلول

های سرطانی استئوسارکومای استخوان انسانی G-292 بررسی شد. فعالیت میتوکندریایی در سلول‌های زنده به صورت پایدار بوده و بنابراین افزایش یا کاهش تعداد سلول‌های زنده به صورت خطی با فعالیت میتوکندری در ارتباط می‌باشد. رنگ تترازولیموم MTT در سلول‌های فعال (به لحاظ متابولیکی)، احیا می‌شود. دهیدروژنازهای میتوکندریایی در سلول‌های زنده، حلقه تترازولیموم را شکسته و با تولید NADH و NADPH منجر به تشکیل رسوب نامحلول ارغوانی رنگ به نام فورمازان می‌شوند که این رسوب توسط ایزوپروپانول یا دی‌متیل سولفواکسید حل می‌شود. از سوی دیگر، سلول‌های مرده، چنین توانایی را نداشته و بنابراین سیگنالی را نشان نمی‌دهند. در این روش، تشکیل رنگ به عنوان نشانگر سلول‌های زنده مورد استفاده قرار می‌گیرد. هر چه سلول‌ها فعال‌تر و تعدادشان بیشتر باشد، میزان رنگ ایجاد شده بیشتر است. پس از انحلال این رسوب در حلال مناسب، میزان دانسیته نوری نمونه‌ها اندازه‌گیری می‌شود. شدت رنگ تولید شده، در طول موج ۵۴۰ تا ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود که به طور مستقیم با تعداد سلول‌های زنده متناسب است [۲۳]. در این پروژه آزمون سمیت مشتق متیل ۴- (بوتیل-آمینو)-۱',۳',۵'-تری اکسو-۱',۳'-دی هیدرو-۵H-اسپیرو [فوران-۲',۲'-ایندن]-۳-کربوکسیلات با استفاده از آزمون MTT بر روی رده سلولی استئوسارکومای استخوان انسانی (G-292) انجام گردید. نتایج به دست آمده نشان دادند که غلظت‌های کمتر از ۲۰ µg/mL اثرات کشنده بر رده سلول‌های سرطانی استئوسارکومای استخوان انسانی G-292 دارد و دوزهای بالاتر از این غلظت اثرات عمیق بر زیست‌پذیری می‌گذارند. به طوری که میزان زیست‌پذیری سلول‌ها به هنگام استفاده از دارو با غلظت ۲۰ µg/mL برابر با ۹۰/۵ درصد به دست آمده در حالی که در غلظت برابر با ۴۰ µg/mL میزان زیست‌پذیری برابر با ۳۰/۷ درصد می‌باشد. لذا برای تمایز از غلظت‌های غیر کشنده این دارو استفاده گردید. نمودار زیست‌پذیری بر حسب غلظت دارو (مشتق سنتز شده) در شکل ۸ و داده‌های زیست‌پذیری، میانگین و انحراف از میانگین نیز در جدول ۱ نشان داده شده است.

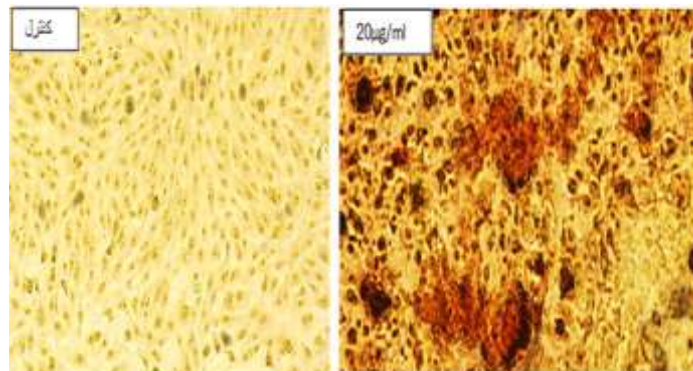


شکل ۸- نمودار زیست‌پذیری بر حسب غلظت دارو

جدول ۱- داده های به دست آمده برای زیست پذیری و میانگین در غلظت های مختلف دارو

غلظت (Concentration)	شاهد (Control)	۱۰ $\mu\text{g/mL}$	۲۰ $\mu\text{g/mL}$	۴۰ $\mu\text{g/mL}$	۸۰ $\mu\text{g/mL}$
آزمون ۱	۰/۱۸۵	۰/۲۲۲	۰/۲۲۶	۰/۰۶۲	۰/۰۴۳
آزمون ۲	۰/۲۸۰	۰/۲۵۵	۰/۱۷۱	۰/۰۹۶	۰/۰۸۳
آزمون ۳	۰/۲۳۲	۰/۲۰۶	۰/۲۳۴	۰/۰۵۶	۰/۰۴۱
میانگین (Average)	۰/۲۳۲۳۳۳	۰/۲۲۷۶۶۷	۰/۲۱۰۳۳۳	۰/۰۷۱۳۳۳	۰/۰۵۵۶۶۷
زیست پذیری (Viability)	۱۰۰	۹۷/۹۹۱۳۹	۹۰/۵۳۰۸۵	۳۰/۷۰۳۰۱	۲۳/۹۵۹۸۳
انحراف از میانگین (Sd)	۰	۲/۴۹۸۶۶۶	۳/۴۲۹۷۷۲	۲/۱۵۷۱۵۹	۲/۳۶۹۲۴۷

همچنین در این پروژه از رنگ آمیزی آلیزارین رد در سلول های تیمار با غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر برای القای تمایز، استفاده شده است. در این نوع رنگ آمیزی رسوب کلسیم که در اثر تمایز استئوبلاست ها سلول های استخوانی تمایز یافته تر ایجاد شده بود، به رنگ قرمز مشخص می شوند (شکل ۹).



شکل ۹- رنگ آمیزی آلیزارین رد در سلول های تیمار با غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر

۴- نتیجه گیری

سنتز و تعیین ساختار ترکیبات اسپيرو با گروه های عاملی متنوع به دلیل جنبه های ساختاری و کنفورماسیونی ویژه این ترکیبات در زمینه سنتز ترکیبات دارویی اهمیت ویژه ای دارند چرا که می توانند منشاء فعالیت های بیولوژیکی متعددی باشند. در این تحقیق یک هتروسیکل اسپيرو فوران سه حلقوی از برهمکنش سه جزئی بین بوتیل آمین، دی متیل استیلن دی کربوکسیلات و H1- ایندن-۲،۱-تری اون در حلال تولوئن با موفقیت سنتز و با استفاده از آزمون های اسپکتروسکوپی مورد تجزیه، تحلیل و شناسایی دقیق ساختار مولکولی قرار گرفت. در ادامه با هدف کاربردی کردن نتایج، آزمون سمیت مشتق سنتز شده بر روی رده سلول های سرطانی استئوسارکومای استخوان انسانی (G-292) با استفاده از آزمون MTT انجام و نتایج به دست آمده نشان دادند که در غلظت های کمتر از ۲۰ $\mu\text{g/mL}$ ، مشتق سنتز شده اثرات کشنده بر رده سلول های G-292 دارد. از این رو مشتق سنتزی می تواند بعنوان یک دارو توسط یک دارورسان در درمان بیماری سرطان استخوان انسانی مورد ارزیابی قرار گیرد.

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان این تحقیق مراتب تشکر خود را دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرقدس بواسطه حمایت مالی و نیز از دانشگاه تربیت مدرس و دانشگاه خوارزمی در خصوص انجام آزمون های اسپکتروسکوپی و همچنین پژوهشگاه مواد و انرژی (وزارت علوم، تحقیقات و فناوری) بواسطه مساعدت در انجام تحقیقات دارویی این پژوهش، اعلام می نمایند.

۶- مراجع

- [1] R. Pradhan, M. Patra, A.K. Behera, B.K. Mishra, R.K. Behera, *Tetrahedron*, **5** (2006) 779.
- [2] R.R. Kumar, S. Perumal, P. Senthilkumar, P. Yogeeswari, D. Sriram, *J. med .chem*, **51** (2008)5731.
- [3] S.U. Maheswari, K. Balamurugan, S. Perumal, P. Yogeeswari, D. Sriram, *Bioorg .med .chem .lett.*, **20** (2010) 7278.
- [4] N. Najim, Y. Bathich, M.M. Zain, A.S. Hamzah, Z. Shaameri, *Molecules*, **15** (2010) 9340.
- [5] K. Ding, G. Wang, J.R. Deschamps, D.A. Parrish, S. Wang, *Tetrahedron lett.*, **46** (2005) 5949.
- [6] M.A. Ali, R. Ismail, T.S. Choon, Y.K. Yoon, A.C. Wei, S. Pandian, R.S. Kumar, H. Osman, E. Manogaran, *Bioorg .med .chem .lett.*, **20** (2010) 7064.
- [7] P. Saraswat, G. Jeyabalan, M.Z. Hassan, M.U. Rahman, N.K. Nyola, *Synthetic Communications*, **46** (2016) 1643.
- [8] K. Arya, A. Dandia, *J. fluorine chem.*, **128** (2007) 224.
- [9] T.L. Pavlovska, R.G. Redkin, V.V. Lipson, D.V. Atamanuk, *Molecular diversity*, **20** (2016) 299.
- [10] H. Foks, D. Pancechowska-Ksepko, M. Janowiec, Z. Zwolska, E. Augustynowicz-Kopec, *Acta Pol Pharm*, **61** (2004) 473.
- [11] K. Bethge, H.H. Pertz, K. Rehse, *An International Journal Pharmaceutical and Medicinal Chemistry*, **338** (2005) 78.
- [12] I. Stylianakis, A. Kolocouris, N. Kolocouris, G. Fytas, G.B. Foscolos, E. Padalko, J. Neyts, E. De Clercq, *Bioorg .med .chem .lett.*, **13** (2003) 1699.
- [13] T.P. Saragi, T. Spehr, A. Siebert, T. Fuhrmann-Lieker, J. Salbeck, *Chemical Reviews*, **107** (2007) 1011.
- [14] S. Arab-Salmanabadi, M. Dorvar, B. Notash, *Tetrahedron*, **71** (2015) 1292.
- [15] S. Arab-Salmanabadi, *J. Heterocyclic Chem*, **54** (2017) 2986.
- [16] S. Arab-Salmanabadi, *IJCCE*, **38** (2019) 205.
- [17] L. Zare Fekri, *Journal of Applied Chemistry*, **56** (2020) 257.
- [18] A. Keivanloo, M. Gholizadeh, E. Rezaii, *Journal of Applied Chemistry*, **54** (2020) 71.
- [19] M. Sapnakumari, B. Narayana, K. Shashidhara, B. Sarojini, *Journal of Taibah University for Science*, **11** (2017) 1008.
- [20] H. Hosseinjani-Pirdehi, K. Rad-Moghadam, L. Youseftabar-Miri, *Tetrahedron*, **70** (2014) 1780.

-
- [21] G.M. Ziarani, N. Lashgari, A.-R. Badiei, *Scientia Iranica*, **20** (2013) 580.
- [22] T. Hayon, A. Dvilansky, O. Shpilberg, I. Nathan, *Leukemia & lymphoma*, **44** (2003) 1957.
- [23] J. van Meerloo, G.J. Kaspers, J. Cloos, *Cell Sensitivity Assays: The MTT Assay, Springer Protocols*, (2011) 237.

