

اصطناع بعض مشتقات الإيزاتين ودراسة فعاليتها المضادة للسرطان حاسوبياً بوصفها مثبطات محتملة لإنزيم CDK2

حياة بسام الروبة^{1*}، أ.د. فاروق عبد الله قنديل²، أ.د. فرانسوا جرجي قرة بت³

^{1*} طالبة دراسات عليا (ماجستير)، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة دمشق، سورية،

hayat.alroubeh@damascusuniversity.edu.sy

² أستاذ دكتور، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة دمشق، سورية،

farouk.kandil@damascusuniversity.edu.sy

³ أستاذ دكتور، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة دمشق، سورية،

francois.karabet@damascusuniversity.edu.sy

الملخص:

اصطنع في هذا البحث مركبان من مشتقات الإيزاتين وذلك من خلال تفاعلات الاستبدال وتفاعلات النكاثف، وفق مرحلتين: في المرحلة الأولى تم الحصول على مشتق N-بنزويل إيزاتين (3a) يتفاعل الإيزاتين (1) مع الهاليد الموافق (2)، وفي المرحلة الثانية تكاثف هذا المشتق (3a) مع مركب 2

6-ثنائي أمينو بيريدين (4) بنسبة مولية (1:2) ليعطي الإيمين الموافق (5a-b). درست هوية المشتقات باستعمال أطياف تحت الأحمر FT-IR وأطياف الكتلة LC-MS وأطياف الطنين النووي المغناطيسي البروتوني ¹H-NMR. أجريت أيضاً دراسة إرساء (Docking) للمركبين المصنوعين مع إنزيم CDK2 بهدف التنبؤ بفعاليتهم المضادة للسرطان فكان كلا المركبين ملائماً بشكل جيد ضمن الجيب الفعال حيث شكلا تآثرات ارتباط مهمة ومميزة معه، أي يمكن أن يملكا قدرة مثبطة للإنزيم، وبالتالي من المحتمل أن يساهما في علاج السرطان.

الكلمات المفتاحية: اصطناع - إيزاتين - إرساء - مثبطات CDK2 - سرطان.

تاريخ الإيداع: 2022/7/20

تاريخ الموافقة: 2022/12/15



حقوق النشر: جامعة دمشق -
سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق
النشر بموجب الترخيص CC
BY-NC-SA 04

Synthesis and In-Silico Anticancer Activity of Some Isatin Derivatives as Potential CDK2 Inhibitors

Hayat Bassam AlRoubeh^{1*}, Dr.Farouk Abdulla Kandil²,
Dr.Francois George Karabet³

^{1*} Postgraduate student (Master), Department of Chemistry, Faculty of Science, Damascus University, Syrian Arab Republic,
hayat.alroubeh@damascusuniversity.edu.sy

² Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Damascus University, Syrian Arab Republic,
farouk.kandil@damascusuniversity.edu.sy

³ Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Damascus University, Syrian Arab Republic,
francois.karabet@damascusuniversity.edu.sy

Abstract:

In this paper, two compounds from Isatin derivatives were synthesized through substitution and condensation reaction upon two stages: in the first stage N-benzyl isatin (3a) was formed by reaction isatin (1) with convenient halide (2) and in the second stage, this derivative (3a) condensed with 2,6-diaminopyridine (4) for mole ratio (2:1) to yield the convenient imines (5a-b). The structures of the derivatives were characterized using FT-IR, LC-MS and ¹H-NMR spectra. A docking study of the synthesized compounds with CDK2 was performed for their anticancer activity prediction. Two compounds fit well in the active site that have shown favorable and important binding interactions and could have inhibition ability. Consequently, they are possibly contribute to the therapy of cancer.

Key Words: Synthesis– Isatin– Docking– CDK2 Inhibitors- Cancer.

Received 20/7/2022
Accepted: 15/12/2022



Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA

1- مقدمة (Introduction):

يُعد الإيزاتين (H1-اندول-3،2-ديون) حجر بناء أساسي في الاصطناع العضوي، صُيِّف منتجاً صناعياً إلى أن فُصل من مصادر طبيعية عديدة مثل *Isatis tinctoria*، كما وُجد أيضاً مشتقاً استقلابياً في جسم الإنسان [1,2]. للإيزاتين ومشتقاته تطبيقات عملية واسعة، منها تطوير مبيدات حشرية وأصبغة [3] كما يدخل في تقنية النانو والبلزمة. ومن أهم تلك التطبيقات دخوله في مجال الكيمياء الدوائية لما يملكه من طيف واسع من الفعالية الحيوية [4,5] فهو يُعد مضاداً جراثيمياً [6]، ومضاداً فيروساتياً [7]، ومضاداً التهابياً [8]، وأدوية ضد الملاريا والسل، ومضاداً اكتئاباً [3]، ومضاداً سرطاناً [9]، وفعالية مثبطة للعديد من الإنزيمات منها [1,8,10] أستيل كولين إسترز، وبروتين تيروسين فوسفاتاز (Shp2)، وتيروسين كيناز، وكيناز المعتمد على السيكلين (CDKs) [2].

توسَّع الديمرة (Dimerization) المجال الحيوي وذلك بزيادة الفعالية والتغلب على مقاومة الدواء وتحسين الحركية الدوائية بالإضافة إلى الخواص الفيزيائية والكيميائية لذا تُمثَّل استراتيجيات واعدة لتطوير أدوية جديدة. تُظهر ديمرات الإيزاتين خصائص حيوية متنوعة. بينت علاقة البنية بالفعالية Structure-Activity Relationship (SAR) أن للرابطة (Linker) بين جزئِي إيزاتين ولموقع هذا الرابطة بالإضافة إلى الاستبدال على الإيزاتين خصوصاً عند المواقع N-1، C-3، C-5، C-7 علاقة مباشرة بالفعالية الحيوية [10,11].

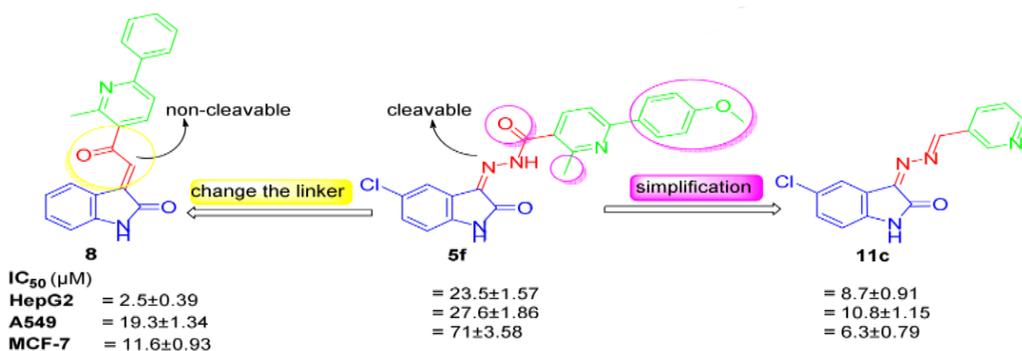
تُعرَّف الكينازات المعتمدة على السيكلين (CDKs) (Cyclin-dependent kinases) بأنها عائلة من تيروسين-سيرين بروتين كيناز التي تنظم العمليات الخلوية الأساسية مثل نسخ الجين، وتعاقب الدورة الخلوية وانقسام الخلية، إضافة إلى الحث على الموت الخلوي المبرمج (Apoptosis)، لذلك ازداد الاهتمام بها كأهداف (Targets) للأدوية المضادة للسرطان [5,12,13]. CDK2 هو أحد أهم أفراد هذه العائلة (CDKs) والذي يلعب دوراً حاسماً في تنظيم النقل الخلوي خلال الدورة الخلوية ونسخ DNA لذا يُعد هدفاً مهماً لأدوية جديدة مُصمَّمة من أجل استعادة السيطرة على الدورة الخلوية [2,12,14].

تُعد تقنية الإرساء (Docking) واحدة من أكثر تقنيات تصميم الأدوية أهمية، والتي طُبقت في العديد من الأبحاث للتنبؤ بأنماط الارتباط المحتملة للأدوية بأهدافها وتقييم إلفة ارتباطها وفقاً للطاقة والتأثرات [5]. مما جعلنا نقوم بإجراء دراسة إرساء للمركبات المصنعة مع إنزيم CDK2 لإيجاد الهدف الجزئي بشكل أولي ودعم للاختبارات التجريبية السامة للخلايا (Cytotoxic) [1].

2- الدراسات المرجعية (Literature Review):

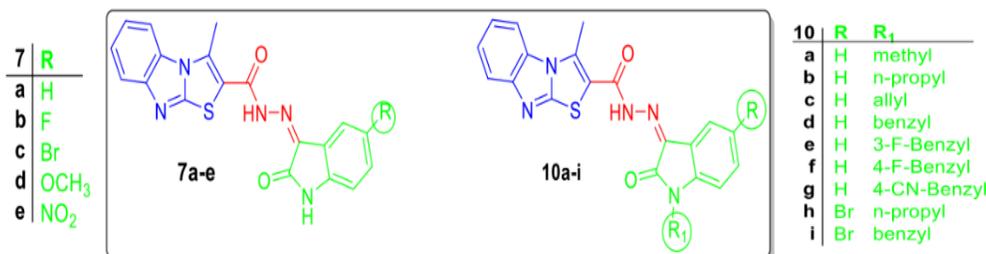
نُشر عام 2011 بحث اصطنع ووصف فيه مجموعة من أسس شيف الجديدة للإيزاتين وذلك بتفاعل الإيزاتين مع أمينات أولية عطرية وغير متجانسة مختلفة. قُيِّمت الفعالية السامة للخلايا لبعض المركبات المصنعة عن طريق اختبار MTT في ثلاثة خطوط سرطانية بشرية (HeLa (عق الرحم)، LS180 (قولون)، Raji (عدد لمفاوية B)). أظهرت جميع المركبات المختبرة تأثير سام للخلايا أعلى في الخط الخلوي السرطاني HeLa مقارنة بالخطين السرطانيين LS180 و Raji [1].

تبيَّنت دراسة عام 2015 طريقة هجائن الفارماكوفور (Hybrid Pharmacophore) لتصميم واصطناع سلسلة جديدة من هجائن إيزاتين-بيريدين الشكل (1). قُيِّمت الفعالية المضادة للتكاثر (Anti-proliferative) مخبرياً لجميع الهجائن المحضرة الجديدة تجاه ثلاثة خطوط خلوية سرطانية بشرية؛ HepG2 سرطان الكبد، وA549 سرطان الرئة، وMCF-7 سرطان الثدي وذلك عن طريق الاختبار اللوني Sulforhodamine B (SRB). أُجريت دراسة QSAR للبحث عن المتطلبات البنوية التي تتحكم بالفعالية السامة للخلايا فكانت الفعالية المتنبئ بها بنموذج QSAR قريبة جداً من الفعالية الملاحظة بشكل تجريبي، هذا يشير إلى أن هذا النموذج يمكن أن يُطبق بشكل آمن بأعمال ناجحة وأكثر فعالية تشمل نفس الإطار الهيكلي [15].



الشكل (1) هجائن إيزاتين-بيريدين

كما تهدف دراسة أجريت عام 2021 بخصوص معالجة خلايا ورمية بطريقة انتقائية إلى تطوير مجموعة جديدة لجزيئات تتضمن جزيء الإيزاتين المميز مترافق مع جزيء تيازولو[2,3-a] بنزايمايدازول (TBI) عبر رابط من الهيدرازيد قابل للانقسام (Cleavable) كمثبطات محتملة لـ CDK2 مضادة للسرطان الشكل (2). ثبتت أكثر الهجائن المحضرة نمو خطين خلويين لسرطان الثدي بشكل ملحوظ. كشفت محاكاة الإرساء كما هو متوقع قدرة حلقة TBI على إنشاء عدة تأثيرات هيدروفوبية ضمن الجيب الهيدروفوبي في مقر ارتباط CDK2. كما أبرزت محاكاة الإرساء أهمية اندماج الرابط الهيدرازيدي والإيزاتين غير المستبدل وظيفياً عند (NH) في تأثيرات الرابطة الهيدروجينية [5].



الشكل (2) المركبات المحضرة من الإيزاتين مع (TBI) عبر رابط هيدرازيدي

3- مواد البحث وطرائقه (Materials and Methods):

3-1- المواد:

المواد والمحاللات من شركة: Riedel de Haen - Merck - Sigma Aldrich.

الإيزاتين - كلوريد البنزيل - كربونات البوتاسيوم - 6,2-ثنائي أمينو البيريدين - ثنائي متيل فورم أميد - إيتانول - حمض الخل الثلجي.

3-2- الأجهزة:

- سُجلت أطراف الطنين النووي المغناطيسي البروتوني ¹H-NMR على Bruker AC- و Bruker DRX600 (600-500 MHz) باستخدام الكلوروفورم المدتير CDCl₃ و ثنائي متيل سلفوكسيد المدتير DMSO-D₆ محلاً، يُشار إلى تعددية القمم s (أحادية عريضة)، s (أحادية)، d (ثنائية)، t (ثلاثية)، q (رباعية)، m (متعددة). أُعطي ثابت التزاوج بالهرتز (Hz).

- سُجّلت أطياف الكتلة منخفضة الفصل (MS-ESI) (باستعمال نموذج من شركة Waters). نظام LC-MS (عمود: LC طور عكوس CC Nucleodur C4 Gravity، 5 µm من Mancherrey-Nage) مجهز بمكشاف UV-Waters 2487 Dual Absorbance Detector و مكشاف Waters Micromass ZQ 2000 ESCI+ Multi-Mode-Ionization MS-Detector.

- تم الحصول على أطياف تحت الأحمر (FT-IR) بجهاز من نوع Bruker Tensor 27 spectrometer (ATR, neat).
- جهاز قياس درجة الانصهار من إنتاج شركة Stuart نوع SMP10 يقيس حتى درجة حرارة 300 °C.
- سخان كهربائي مزود بمحرك مغناطيسي من نوع VELP SCIENTIFICA.
- مجفف كهربائي من إنتاج شركة Memmert.
- فرن ميكرويف من شركة Wattar.

3-3- البرمجيات:

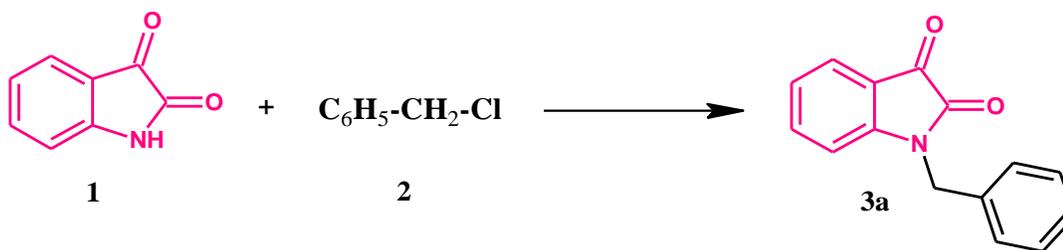
Discovery Studio Biovia 2016 - موقع PDB (Protein Data Bank) - برنامج رسم الصيغ الكيميائية ChemBioOffice 2010.

3-4- الطرائق:

3-4-1- الاصطناع العضوي:

أجري في هذا العمل اصطناع مشتقات الإيزاتين وفق مرحلتين:

المرحلة الأولى: اصطناع مركب من مشتقات الإيزاتين المستبدلة عند N من خلال تفاعل استبدال الإيزاتين (1) مع هاليد الأريل الموافق كلوريد البنزويل (2) والحصول على المشتق (3a) الموضح بالمعادلة (1).

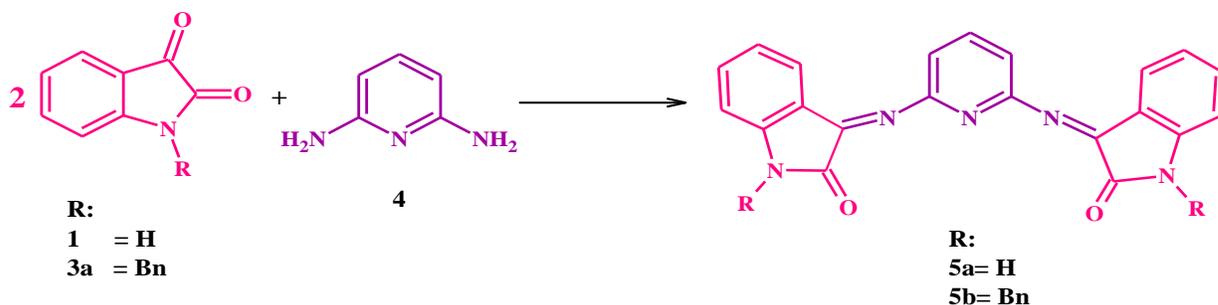


المعادلة (1): اصطناع المركب المرهلي (3a)

3-4-1-1- اصطناع N-بنزويل إيزاتين (3a):

يُحل (5 mmol) من الإيزاتين في 3ml من DMF، ويضاف إليه (1 g) من كربونات البوتاسيوم K_2CO_3 ، ثم (15 mmol) من كلوريد البنزويل $PhCH_2Cl$ ، يوضع المزيج في بيشر سعة 100 ml ويُدخل إلى فرن الميكرويف، بعد أن يُعطى البيشر بقمع. تُضبط شروط التشعيع باستطاعة $p=100w$ مدة 5 دقائق، يُبرّد المزيج التفاعلي بعد ذلك عند درجة حرارة الغرفة ويضاف 5ml من الماء البارد. يُرشح الراسب الذي تم الحصول عليه ويُغسل بالماء. تم التأكد من انتهاء التفاعل باستخدام تقانة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC. تُعاد بلورة الناتج من الإيتانول معطياً بلورات إبرية برتقالية اللون. درجة انصهار المركب 136-134 °C (Lit.133-132) [16].

المرحلة الثانية: أُجري تفاعل تكاثف بين المشتق (3a) والإيزاتين (1) مع مركب 2،6-ثنائي أمينو بيريدين (4) للحصول على المشتقين (5a-b) الموضحين بالمعادلة (2).



المعادلة (2): اصطناع المركبان الناتجان (5a-b)

3-4-1-2- اصطناع 2،6-ثنائي أمينو بيريدين (5a):

يضاف (0.004 mol) من 2،6-ثنائي أمينو بيريدين إلى محلول (0.008 mol) من الإيزاتين في (20 ml) إيثانول. يضاف بعد ذلك قطرات من حمض الخل الثلجي ثم يُحرك مزيج التفاعل بمحرك مغناطيسي ويُقطر تقطيراً مرتداً مدة 8 ساعات. يُبرد المزيج لدرجة حرارة الغرفة ثم يوضع بالمجمدة، يتشكل راسب يُجمع ويُرشح ثم تُعاد بلورته من الإيثانول. درجة انصهاره فوق 300°C [17].

3-4-1-3- اصطناع 2،6-ثنائي أمينو بيريدين (5b):

يضاف (0.004 mol) من 2،6-ثنائي أمينو بيريدين إلى محلول (0.008 mol) N-بنزيل الإيزاتين في (20 ml) الإيثانول، يُحرك مزيج التفاعل بمحرك مغناطيسي بعد إضافة قطرات من حمض الخل الثلجي ويُقطر تقطيراً مرتداً مدة 13 ساعة، يُبرد المزيج لدرجة حرارة الغرفة ثم يوضع بالمجمدة، يتشكل راسب ذو لون برتقالي قرميدي يُجمع ويُرشح ثم تُعاد بلورته من الإيثانول. درجة انصهاره 222-221°C ومردوده 33.2%.

3-4-2- تحضير بنية البروتين CDK2 لإجراء دراسة الإرساء:

تم الحصول على البنية البلورية لبروتين CDK2 ذي الرمز (PDB ID: 2C6O) من موقع RCSB Protein Data Bank (PDB) وبدقة resolution تساوي 2.1Å لاستخدامها قالباً بنيوياً في دراسة المثبطات، يُحضر البروتين باستعمال برنامج Discovery Studio Biovia 2016 بتطبيق عدة خطوات وحقول قوى أهمها CHARMm بعد إضافة ذرات الهيدروجين والتي تستدعي إضافتها إجراء عملية استرخاء Minimization. من أجل التحقق من جودة ومصداقية الطريقة Validation قورن الانحراف المعياري بين التوضع الفراغي للمركب المثبط الموجود في البنية البلورية المرجعية 2C6O والتوضع الفراغي لنفس المركب حسب طريقة الإرساء المتبعة بحيث لا يتجاوز الانحراف RMSD 2. Å عبر (Protocol: Prepare Ligand) (5a-b) بينما أُجريت عملية الإرساء باستخدام (Protocol: Dock Ligand: CDocker).

4- النتائج والمناقشة (Results and Discussion):

4-1- التوصيف البنوي للمركب المرهلي (3a):

4-1-1- نتائج مطيافية تحت الأحمر FT-IR :

FT-IR: (3a) $\tilde{\nu}$ = 3030.89 st¹(=C-H Ar²), 1728.17 st(C=O)_{α-COCON} (Lit.^[16] 1732), 1608.77 st(C=O)_{Lactam} (Lit. 1612), 1494.76-1440.61 st(C=C Ar), 1347.99 cm⁻¹ st(C-N).

4-1-2- نتائج مطيافية الكتلة LC-MS :

LC-MS (3a): (C₁₅H₁₁O₂N) m/z=238.1 [M+H]⁺

4-1-3- نتائج مطيافية الطنين النووي المغناطيسي البروتوني ¹H-NMR :

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) (3a): (δ,ppm)

الجدول (1) مقارنة معطيات الطنين النووي المغناطيسي البروتوني ¹H-NMR للمركب (3a) مع المعطيات المرجعية

(CH Ar) _{oxindole}	(CH Ar) _{oxindole}	(CH Ar) _{ph}	(CH Ar) _{oxindole}	(CH Ar) _{oxindole}	(CH ₂ Al*)	
7.55 (ddd, J = 7.5, 1.4, 0.6 Hz, 1H)	7.41 (td, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H)	7.30 – 7.21 (m, 5H)	7.02 (td, J = 7.5, 0.8 Hz, 1H)	6.71 (dt, J = 8.0, 0.7 Hz, 1H)	4.87 (s, 2H)	(3a)
7.61 (1H, d, CH)	7.49 (1H, dd, CH)	7.35 (5H, m, 5CH)	7.09 (1H, dd, CH)	6.80 (1H, d, CH)	4.93 (2H, s, CH ₂)	Lit [16]

(حيث أن: Ar = Aromatic = عطري و Al = Aliphatic = أليفاتي)

يُلاحظ من المعطيات الطيفية للمركب المرهلي (3a) اختفاء عصابة الامتصاص التي تعود إلى امتطاط الرابطة N-H للمادة الأولية في طيف تحت الأحمر وظهور العصابات العائدة لزمرة البنزيل، كما أعطت مطيافية الكتلة LC-MS قمة متوافقة مع الكتلة الجزيئية للمركب مضافاً إليها بروتون [M+H]⁺، أما طيف الطنين النووي المغناطيسي البروتوني فأظهر غياب الإشارة الخاصة بالانزياح الكيميائي لزمرة اللاكتام وذلك بعد مقارنة هذه المعطيات مع الدراسات السابقة.

4-2- التوصيف البنوي للمركبين الناتجين (5a-b):

4-2-1- تشخيص المركبات بمطيافية تحت الأحمر FT-IR :

FT-IR (5a): $\tilde{\nu}$ = 3296.56 st(NH) (Lit.^[17] 3166), 3089.15 st(=CH Ar) (Lit. 3022), 1719.18 st(C=O) (Lit. 1720), 1618.58 cm⁻¹ st(C=N) (Lit. 1620).

FT-IR (5b): $\tilde{\nu}$ = 3011.05 st(CH Ar), 2973.11-2865.68 st(CH Al*)_{sym-asy} 1701.17 st(C=O), 1603.97 st(C=N), 1454.40 δ^{***} (CH₂)+st(C=C Ar), 1345.97 cm⁻¹ st(C-N).

4-2-2- تشخيص المركبات بمطيافية الكتلة LC-MS :

LC-MS (5b): (C₃₅H₂₅O₂N₅) m/z=566 [M+H+NH₄]⁺[18,19]

¹ st= Stretching Vibration = اهتزاز الامتطاط ² Ar= Aromatic = عطري

* Al= Aliphatic = أليفاتي

** sym= Symmetric= متناظر

asy= Asymmetric= غير متناظر

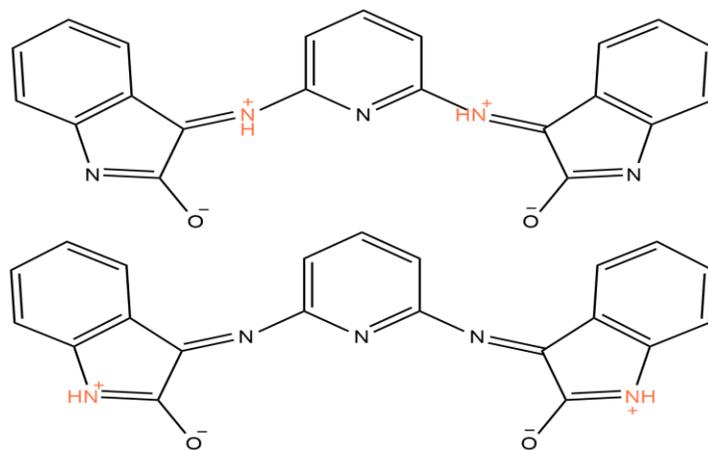
*** δ=bend= حني

4-2-3- تشخيص المركبات بمطيافية الطنين النووي المغناطيسي البروتوني $^1\text{H-NMR}$: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) (5a): (δ ,ppm)الجدول 2: مقارنة معطيات الطنين النووي المغناطيسي البروتوني $^1\text{H-NMR}$ للمركب (5a) مع المعطيات المرجعية

(NH ⁺)	(Ar-H)	(NH)	
5.79 (s, 4H)	7.21 – 7.11 (m, 4H), 6.91 (td, J = 7.6, 1.0 Hz, 2H), 6.71 (dt, J = 7.7, 0.7 Hz, 2H), 6.42 (s, 2H), 6.26 (s, 1H)	10.17 (s, 2H)	(5a)
	7.54–6.5 (m, 11H, 3Ar-H)	11.00 (s, 2H, 2NH)	Lit [17]

 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) (5b): (δ ,ppm) 1.23 (4H, 2CH₂), 7.0-7.2 (21H, 3Ar-H).

ُحددت هوية المركبين المصنوعين (5a-b) من خلال التقانات الطيفية المتاحة فنلاحظ غياب عصابة الامتصاص المضاعفة المميزة للأمين الأولي NH₂ في 6،2-ثنائي أمينو بيريدين في طيف تحت الأحمر وتظهر بالمقابل عصابة الامتصاص الخاصة بامتطاط زمرة الإيمين C=N، كذلك أظهر طيف الطنين النووي المغناطيسي البروتوني للمركب (5a) قمة أحادية عند القيمة 10.17 ppm تعود إلى بروتونات اللاكتام في الإيزاتين CONH (2H) بالإضافة إلى سلسلة من القمم ممتدة في المجال (7.21 – 6.26)ppm تعود إلى بروتونات الحلقتين العطريتين في الإيزاتين وبروتونات الحلقة العطرية في البيريدين (11H)، أما القمة الأحادية عند 5.79 ppm فربما تعود إلى بروتون زويتر أيون (Zwitter ion) [20,3] الشكل (3).



الشكل (3) زويتر أيون (Zwitter ion) للمركب (5a)

ويظهر طيف الطنين النووي المغناطيسي البروتوني للمركب (5b) قمة أحادية عند الانزياح 1.23 ppm تنسب إلى بروتونات زمرة الميثيلين المرتبطة بالحلقة العطرية Ph-CH₂ (4H) وقيم عند (7.0-7.2)ppm تعود إلى بروتونات الحلقات العطرية في المركب (21H).

3-4- نتائج الإرساء الجزيئي:

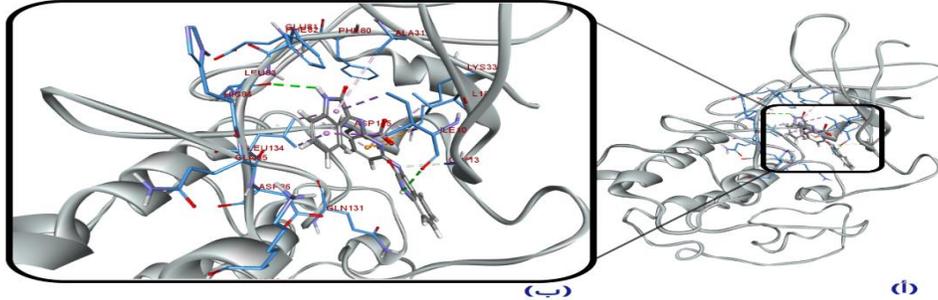
الجدول 3: نتائج الإرساء الجزيئي التي توضح التأثيرات المتشكلة للمركبين (5a-b) مع أطوال الروابط ب^o A و طاقة CDocker interaction energy-

المركب	طاقة CDocker interaction energy-	الروابط المتشكلة	أطوال الروابط A ^o
5a	47.607	رابطة هيدروجينية مع LEU83	2.999
		رابطة هيدروجينية مع ILE10	2.765
		رابطة هيدروجينية مع GLY13	3.586
		رابطة أيونية Pi-Cation مع LYS33	4.601
		رابطة أيونية Pi-Anion مع ASP145	4.485
		رابطتين كارهتين للماء مع ILE10 مع Pi-Sigma	3.900 – 3.604
		رابطتين كارهتين للماء مع Pi-Sigma مع LEU134	3.465 – 3.831
		رابطة كارهة للماء مع VAL18 مع Pi-Alkyl	5.334
		رابطة كارهة للماء مع ALA144 مع Pi-Alkyl	5.177
		رابطة كارهة للماء مع ALA31 مع Pi-Alkyl	5.292
		5b	52.919
رابطة هيدروجينية مع GLU8	2.870		
رابطتين أيونيتين مع LYS89 مع Pi-Cation	2.998 – 3.611		
رابطة أيونية Pi-Cation مع LYS129	4.628		
رابطة أيونية Pi-Anion مع ASP145	3.182		
رابطتين كارهتين للماء مع ILE10 مع Pi-Sigma	3.323 – 3.983		
رابطتين كارهتين للماء مع Pi-Sigma مع LEU134	3.490 – 3.824		
رابطة كارهة للماء مع Amide-Pi Stacked مع HIS84;GLN85	4.587		
رابطة كارهة للماء مع LYS89 مع Pi-Alkyl	4.750		

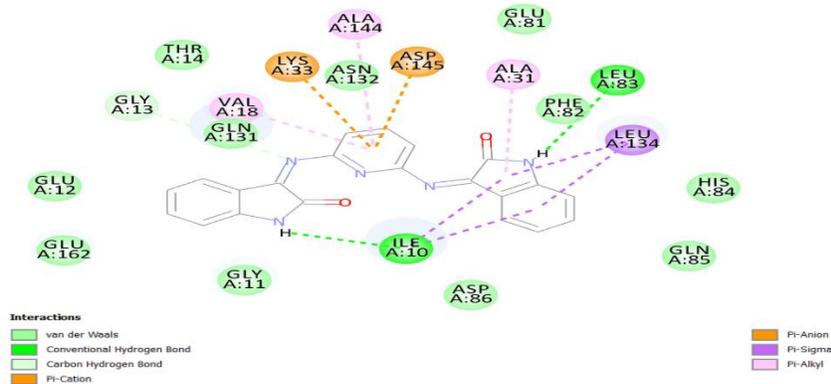
أظهرت دراسة الإرساء للمركبين المصنوعين مع إنزيم CDK2 أنّ هذين المركبين يتأثران بروابط مهمة ومميزة مع الجيب الفعال للإنزيم ويستطيعا أن يشكلوا روابط مع منطقة ارتباط الـ ATP كما أنهما يملكان قيم CDocker interaction energy- جيدة جداً. فيشكل المركب (5a) عدة تأثيرات (interactions) هامة مع ثمالات الحموض الأمينية في المركز الفعال للإنزيم الشكل (4-5)، على سبيل المثال:

تتشكل رابطة هيدروجينية بين ذرة الهيدروجين المرتبطة بذرة النتروجين في الجزيء (والتي تتصرف كمانح للرابطة الهيدروجينية Hydrogen Bond Donor (HBD)) وأكسجين مجموعة الكربونيل في LEU83 (والتي تتأثر مع منطقة حلقة الأدينوزين في الـ ATP)، كذلك تتأثر نفس الذرة في الجزيء المتناظر مع أكسجين مجموعة الكربونيل في ILE10 (والذي يتصرف كمستقبل للرابطة الهيدروجينية Hydrogen Bond Acceptor (HBA))، أيضاً تتأثر ذرة النتروجين في زمرة الإيمين (HBA) مع GLY13 برابطة هيدروجينية، إلى جانب ذلك يتشكل تأثير من النوع Pi-Cation كرابطة أيونية (Electrostatic) بين الكترولونات نظام Pi غير

التموضعة العائدة لحلقة البيريدين والنتروجين المشحون إيجاباً في LYS33 (والذي يتأثر مع منطقة ثلاثي فوسفات في الـ ATP)، بالإضافة إلى رابطة أيونية من النوع Pi-Anion بين مركز الحلقة العطرية Pi في البيريدين و ASP145 (منطقة ثلاثي فوسفات في الـ ATP)، في حين تشكل حلقة البنزن وحلقة أوكسي اندول في الإيزاتين تأثر كاره للماء (Hydrophobic) من النوع Pi-Sigma مع ILE10 و LEU134 بينما تشكل حلقة البيريدين وحلقة أوكسي اندول تأثراً من النوع Pi-Alkyl مع كل من VAL18 و ALA144 و ALA31.



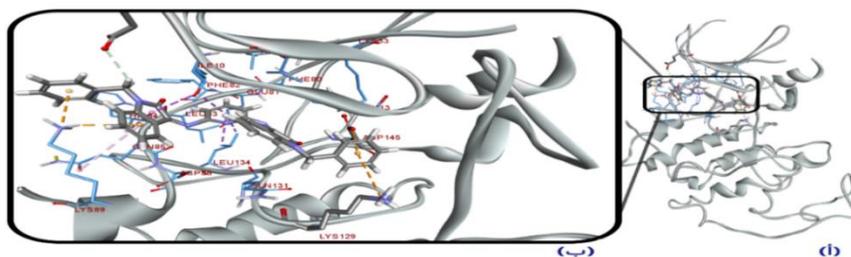
الشكل (4) الشكل ثلاثي البعد 3D (أ): موقع الجيب الفعال (موقع الارتباط) لإنزيم CDK2 مع المركب (5a)، (ب): المعلومات التفصيلية لتأثيرات المركب (5a) مع ثمالات الحموض الأمينية في الجيب الفعال للإنزيم. حيث تُمَثَّل الرابطة الهيدروجينية بخط أخضر منقط والرابطة الأيونية (Pi- و Pi-Cation) Anion) بخط برتقالي منقط والرابطة الكارهة للماء (Pi-Alkyl و Pi-Sigma) بخط بنفسجي منقط.



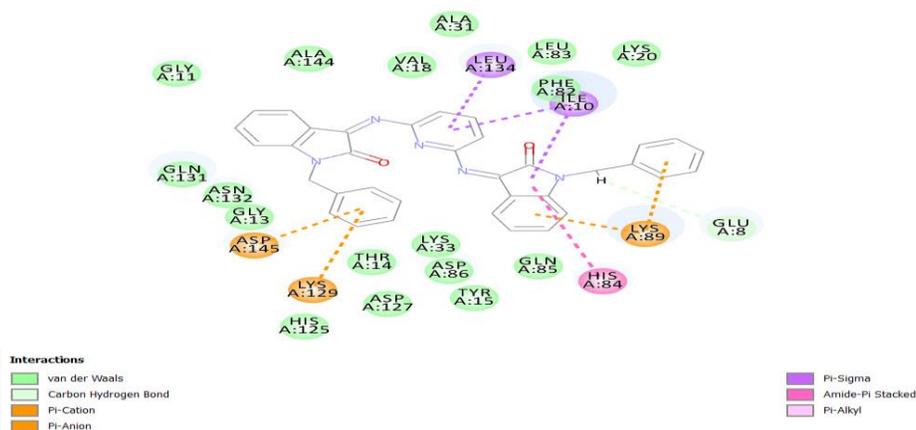
الشكل (5) الشكل ثنائي البعد 2D لتأثيرات المركب (5a) مع الجيب الفعال للإنزيم، حيث تُمَثَّل الرابطة الهيدروجينية (التقليدية وغير التقليدية) بخط أخضر منقط والرابطة الأيونية (Pi-Anion و Pi-Cation) بخط برتقالي منقط والرابطة الكارهة للماء (Pi-Alkyl و Pi-Sigma) بخط بنفسجي منقط.

تشير نتائج الإرساء أيضاً أن المركب (5b) أبدى تأثيرات هامة (الشكل 6-7) وهي: رابطة هيدروجينية بين زمرة المثلين المرتبطة بذرة النتروجين من جهة وبحلقة البنزن من جهة أخرى أي (المشكلة لجذر البنزيل) ومجموعة الكربونيل (HBA) في الثمالة GLU8، رابطة هيدروجينية أخرى بين الثمالة LYS89 (HBD) وحلقة البنزن في الإيزاتين، كذلك تظهر رابطتين أيونيتين Pi-Cation بين الثمالة LYS89 وحلقة البنزن في جذر البنزيل وحلقة البنزن في الإيزاتين، كما تتأثر حلقة البنزن في البنزيل في الجزء المتناظر برابطتين أيونيتين Pi-Cation و Pi-Anion مع الثمالتين LYS129 و ASP145 على الترتيب، أما الروابط الكارهة للماء فتظهر على النحو التالي؛ تتأثر حلقة البيريدين بروابط من النوع Pi-Sigma مع ILE10 و LEU134، أما حلقة أوكسي اندول فتشكل رابطة من النوع

بين حلقة البنزن في الإيزاتين والثمالة LYS89. Pi- Sigma مع ILE10 ورابطة من النوع Amide-Pi Stacked مع HIS84;GLN85، في حين تتشكل رابطة من النوع Pi-Alkyl



الشكل (6) الشكل ثلاثي البعد 3D (أ): موقع الجيب الفعال (موقع الارتباط) لإنزيم CDK2 مع المركب (5b)، (ب): المعلومات التفصيلية لتأثرات المركب (5b) مع ثمالات الحموض الأمينية في الجيب الفعال للإنزيم.



الشكل (7) الشكل ثنائي البعد 2D لتأثرات المركب (5b) مع الجيب الفعال للإنزيم.

5- الاستنتاجات (Discussion):

استناداً إلى ديمرة الإيزاتين وطريقة هجانن الفارماكوفور اصطنع مركبان من مشتقات الإيزاتين (5a-b) أحدهما مركب جديد وهو (5b)، حيث وصّف المركبان المصنعان بنيوياً بالاعتماد على التقانات الطيفية المتاحة وهي مطيافية تحت الأحمر FT-IR ومطيافية الكتلة LC-MS ومطيافية الطنين النووي المغناطيسي ¹H-NMR. أشارت دراسة الإرساء الجزيئي مع إنزيم CDK2 الذي يلعب دوراً مهماً في تنظيم الدورة الخلوية أنّ هذين المركبين يتأثران بروابط مهمة ضمن الجيب الفعال للإنزيم مما يجعلهما شبه أدوية (Drug-Like) محتملة لعلاج السرطان ومثبطات لإنزيم CDK2.

شكر وتقدير (Acknowledgements):

الشكر الكبير للدكتورة قمر عيسى والدكتور جهاد حربالي والدكتورة فاتن سليمان للمساعدة القيمة المقدمة في إنجاز دراسة الإرساء الجزيئي.

هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم التمويل (501100020595).

المراجع (References):

- [1] J. Azizian, M. K. Mohammadi, O. Firuzi, N. Razzaghi-Asl, and R. Miri,(2012) “Synthesis, biological activity and docking study of some new isatin Schiff base derivatives,” *Med. Chem. Res.*, vol. 21, no. 11, pp. 3730–3740. Iran. doi: 10.1007/s00044-011-9896-6.
- [2] H. S. Al-Salem et al.,(2020) “A series of isatin-hydrazones with cytotoxic activity and CDK2 kinase inhibitory activity: A potential type II ATP competitive inhibitor,” *Molecules*, vol. 25, no. 19, pp. 1–16. Saudi Arabia, Korea. doi: 10.3390/molecules25194400.
- [3] P. Tisovský et al.,(2017) “Effect of structure on charge distribution in the Isatin Anions in aprotic environment: Spectral study,” *Molecules*, vol. 22, no. 11. Slovakia. doi: 10.3390/molecules22111961.
- [4] H. Pervez, M. Ahmad, S. Zaib, M. Yaqub, M. M. Naseer, and J. Iqbal, (2016) “Synthesis, cytotoxic and urease inhibitory activities of some novel isatin- derived bis-Schiff bases and their copper(II) complexes.” *MedChemComm. Pakistan*.
- [5] W. M. Eldehna et al.,(2021) “Development of isatin-thiazolo[3,2-a]benzimidazole hybrids as novel CDK2 inhibitors with potent in vitro apoptotic anti-proliferative activity: Synthesis, biological and molecular dynamics investigations,” *Bioorg. Chem.*, vol. 110. Egypt, Saudi Arabia. doi: 10.1016/j.bioorg.2021.104748.
- [6] M. S. Majik, C. Rodrigues, S. Mascarenhas, and L. D’Souza,(2014) “Design and synthesis of marine natural product-based 1H-indole-2,3-dione scaffold as a new antifouling/antibacterial agent against fouling bacteria,” *Bioorg. Chem.*, vol. 54, pp. 89–95. India. doi: 10.1016/j.bioorg.2014.05.001.
- [7] Z. Ş. Sevinçli, G. N. Duran, M. Özbil, and N. Karalı,(2020) “Synthesis, molecular modeling and antiviral activity of novel 5-fluoro-1H-indole-2,3-dione 3-thiosemicarbazones,” *Bioorg. Chem.*, vol. 104, no. August, p. 104202. Turkey. doi: 10.1016/j.bioorg.2020.104202.
- [8] E. Susithra et al.,(2022) “Design, synthesis, antimicrobial and anticancer activity of some novel benzoxazole-isatin conjugates,” *Biointerface Res. Appl. Chem.*, vol. 12, no. 2, pp. 2392–2403. India. doi: 10.33263/BRIAC122.23922403.
- [9] K. L. Vine, L. Matesic, J. M. Locke, and D. Skropeta,(2013) *Recent highlights in the development of isatin- based anticancer agents*. Australia. pp. 254-312. Sharjah, UAE: Bentham Science Publishers.
- [10] Y. Z. Zhang, H. Z. Du, H. L. Liu, Q. S. He, and Z. Xu,(2020) “Isatin dimers and their biological activities,” *Archiv der Pharmazie*, vol. 353, no. 3, pp. 1–11. China. doi: 10.1002/ardp.201900299.
- [11] C. Liang, J. Xia, D. Lei, X. Li, Q. Yao, and J. Gao,(2014) “Synthesis, in vitro and in vivo antitumor activity of symmetrical bis-Schiff base derivatives of isatin,” *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 74, pp. 742–750. China. doi: 10.1016/j.ejmech.2013.04.040.
- [12] A. Issa, F. Sliman, and J. Harbali,(2021) “Pharmacophore Based Virtual Screening for Identification of Novel CDK₂ Inhibitors,” *Int. J. Org. Chem.*, vol. 11, no. 02, pp. 72–89. Syria. doi: 10.4236/ijoc.2021.112007.
- [13] R. I. Activity, I. B. Mechanism, H. S. Al-salem, I. S. Issa, and A. F. M. M. Rahman,(2021) “applied sciences Isatin-Hydrazones with Multiple Receptor Tyrosine Kinases,” *applied sciences.*, vol. 11, pp. Saudi Arabia, Korea.
- [14] P. Łukasik, M. Załuski, and I. Gutowska,(2021) “Cyclin-dependent kinases (Cdk) and their role in

- diseases development–review,” International Journal of Molecular Sciences, vol. 22, no. 6. pp. 1–33. Poland. doi: 10.3390/ijms22062935.
- [15] W. M. Eldehna, A. Altoukhy, H. Mahrous, and H. A. Abdel-Aziz,(2015) “Design, synthesis and QSAR study of certain isatin-pyridine hybrids as potential anti-proliferative agents,” Eur. J. Med. Chem., vol. 90, pp. 684–694. Egypt, Saudi Arabia. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.12.010.
- [16] J. Azizian, H. Fallah-Bagher-Shaidaei, and H. Kefayati,(2003) “A facile one-pot method for the preparation of N-Alkyl isatins under microwave irradiation,” Synth. Commun., vol. 33, no. 5, pp. 789–793. Iran. doi: 10.1081/SCC-120016324.
- [17] N. G. Kandile, M. I. Mohamed, and H. M. Ismaeel,(2017) “Synthesis of new Schiff bases bearing 1 , 2 , 4- triazole , thiazolidine and chloroazetidine moieties and their pharmacological evaluation chloroazetidine moieties and their pharmacological evaluation,” J. Enzyme Inhib. Med. Chem., vol. 32, no. 1, p. 119-129. Egypt. doi: 10.1080/14756366.2016.1238365.
- [18] H. Tong, D. Bell, K. Tabei, and M. M. Siegel,(1999) “Automated Data Messaging, Interpretation, and E-Mailing Modules for High Throughput Open Access Mass Spectrometry,” Am. Soc. Mass Spectrom., vol. 0305, no. 99,. USA.
- [19] C. Shackleton and E. Roitman,(1993) “NEW SYNTHESIS OF 2 β -HYDROXY- 19-OXOANDROST-4-ENE-3,17-DIONE AND ITS 2 β -18O ANALOG,” Steroid Biochem. Molec. Biol, vol. 45, no. 6, pp. 571–580,. USA.
- [20] E. Kohli, R. Arora, and R. Kakkar,(2014) “Theoretical Study of the Stability of Tautomers and Conformers of Isatin-3-Thiosemicarbazone (IBT),” Can. Chem. Trans., vol. 2, no. 3, pp. 327–342. India. doi: 10.13179/canchemtrans.2014.02.03.0112.