

سنتز، شناسایی ساختاری و مطالعات ضد سرطانی کمپلکس آهن (III)-دیفریپرون

*امیر شکوه سلجوقی، فاطمه دلاورمندی

دانشگاه فردوسی مشهد، گروه شیمی

E-mail: saljooghi@um.ac.ir

چکیده

در این مطالعه، کمپلکس $[Fe(DFP)_3] \cdot 12H_2O$ (که DFP نام اختصار لیگاند دیفریپرون می باشد) سنتز و شناسایی گردید. سایتوتوکسیسته این کمپلکس ها به منظور ارزیابی فعالیت ضدسرطانی آن بر روی رده سلولی NALM-6 (لوسمی لنفوبلاستیک با گونه ی پیش ساز لنفوسیت B) و HL-60 (سرطان حاد پرومیلوسیتی) با روش MTT و فلوسایتومتری و استفاده از سیس پلاتین به عنوان مرجع، بررسی گردید. نتایج به دست آمده سایتوتوکسیسته ی بیشتری را برای کمپلکس مورد نظر در مقابل رده سلولی HL-60 نشان داد. همچنین نتایج فلوسایتومتری کمپلکس آهن (III)-دیفریپرون، بیانگر این است که کمپلکس سنتز شده می تواند منجر به القاء آپوپتوز سلول های سرطانی HL-60 شود. واژه های کلیدی: دیفریپرون، آهن، ضد سرطان، NALM-6، HL-60، روش MTT، فلوسایتومتری، سیس پلاتین

۱. مقدمه

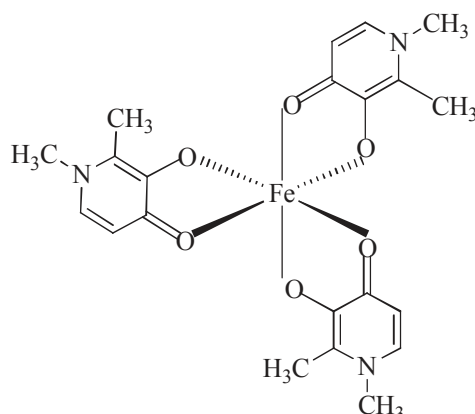
امروزه سرطان یکی از مهم ترین معضلات سلامتی در سراسر دنیا به حساب می آید که به معنای رشد، تکثیر و گاهی انتشار غیر طبیعی سلول های بدن است. از روش های درمان سرطان می توان به جراحی، پرتودرمانی، شیمی درمانی، ژن درمانی و غیره اشاره کرد. به طور کلی بسیاری از داروهای شیمیایی که به منظور شیمی درمانی سرطان به کار برده می شوند، اغلب سبب تغییراتی در فرایند تقسیم سلولی شده و بدین ترتیب، تکثیر و تمایز سلول سرطانی متوقف می شود. در سنتز این داروها علاوه بر آن که خاصیت سایتوتوکسیک آن ها در برابر سلول های سرطانی حائز اهمیت است، این ویژگی که کمترین اثرات جانبی را نیز بر روی سلول های سالم فرد بیمار داشته باشد، از اهمیت بالایی برخوردار است. یکی از مؤثرترین داروهای شیمی درمانی، سیس پلاتین است اما ایراد اساسی آن سمیت این دارو است که به سلول های سالم فرد نیز صدمه می زند. بنابراین دانشمندان سعی دارند تا داروهای جدیدتری با اثرات سمی پایین را جایگزین این داروهای سمی کنند. در سال های اخیر توجه زیادی به یافتن ترکیبات ضد سرطانی جدید حاوی یون های فلزی شده است [۱ و ۲]. از میان لیگاندهای کیلیت ساز دهنده ی اکسیژنی می توان به دفریپرون (با نام آیوپاک: ۳-هیدروکسی-۱،۲-دی متیل-۴-پیریدینون) اشاره کرد. دفریپرون یک کیلیتور آهن خوراکی از خانواده ی هیدروکسی پیریدینون می باشد که در دفع آهن در بیماری های ذخیره سازی آهن و آلومینیوم در بیماران تحت همودیالیز موثر است. مطالعات فارماکوکینتیک بر روی مصرف دفریپرون به صورت خوراکی نشان داده که در بسیاری از بیماران، این ترکیب به سرعت از معده جذب شده و در مدت چند دقیقه به خون می رسد. دفریپرون همچنین با نام های L1، CP20 و DFP نیز شناخته شده است [۳].

در این مطالعه نیز با توجه به اثرات دارویی مشاهده شده در دفریپرون و خصوصیات ضدسرطانی کیلیتورهای آهن و نیز کمپلکس های آن، کمپلکس کمپلکس آهن (III)-دیفریپرون سنتز شد. پس از سنتز، خاصیت ضد سرطانی و سایتوتوکسیک آن بر روی رده سلولی NALM-6 (لوسمی لنفوبلاستیک با گونه ی پیش ساز لنفوسیت B) و HL-60 (سرطان حاد پرومیلوسیتی) با روش MTT و فلوسایتومتری بررسی گردید. همچنین به منظور مقایسه خاصیت سایتوتوکسیک این ترکیب با داروهای رایج در شیمی درمانی، خاصیت سایتوتوکسیک داروی سیس پلاتین نیز به عنوان مرجع، مورد بررسی گرفت.

۲. شرح آزمایش

سنتز کمپلکس تریس (۳-هیدروکسی-۱،۲-دی‌متیل-۴-پیریدینوناتو) آهن (III)

به ۰/۲۲ میلی‌مول (۰/۰۵۳ گرم) آهن (III) نیترات، $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ، محلول در ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر، مقدار ۰/۶۷ میلی‌مول (۰/۰۹۳ گرم) از لیگاند ۳-هیدروکسی-۱،۲-دی‌متیل-۴-پیریدینون محلول در ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر می‌افزاییم. سپس pH مخلوط حاصل را با کمک افزودن قطره قطره از KOH (۱۰ M) به ۸/۵ می‌رسانیم. مخلوط حاصل، برای مدت ۲۴ ساعت همراه با حرارت (70°C) هم‌زده شد. رنگ محلول به رنگ قهوه‌ای تیره می‌باشد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، تک بلورهای قهوه‌ای رنگی در محلول تشکیل می‌گردد (شکل ۱) [۴].



شکل ۱: ساختار کمپلکس تریس (۳-هیدروکسی-۱،۲-دی‌متیل-۴-پیریدینوناتو) آهن (III)

سنتز کمپلکس مورد نظر با انجام طیف‌سنجی IR و تجزیه‌ی عنصری تایید شد. از بررسی طیف IR کمپلکس مشاهده می‌شود که نوارهای مشاهده شده در 3163 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی OH، نوار جذبی در 1636 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات گروه کربونیل، نوار جذبی در 1575 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات پیوند دوگانه $\text{C}=\text{C}$ حلقه و نوار جذبی در ناحیه‌ی 1511 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی C-N می‌باشد و می‌تواند شاهد خوبی برای وجود لیگاند (۳-هیدروکسی-۱،۲-دی‌متیل-۴-پیریدینون) باشد. با مقایسه‌ی طیف زیر قرمز این کمپلکس و لیگاند مذکور، مشاهده می‌شود که این نوارها 1636 cm^{-1} به 1610 cm^{-1} و باند ارتعاشی 1575 cm^{-1} به 1554 cm^{-1} و باند ارتعاشی 1511 cm^{-1} به 1509 cm^{-1} جابجا شده است. به عبارت دیگر این کاهش نشان دهنده‌ی ضعیف شدن پیوند دوگانه بین کربن و اکسیژن در ساختار کربونیل می‌باشد به عبارتی، جابجایی به طول موج‌های قرمز صورت گرفته است.

Anal. Calcd: C: ۴۸/۱۲; H: ۵/۷۵; N: ۸/۰۳; Found: C: ۴۸/۷۱; H: ۵/۶۸; N: ۸/۱۱

۳. نتایج و بحث

در این کار تحقیقاتی، اثرات بیولوژیکی کمپلکس آهن (III)-دیفیرپرون آن بر روی رده سلولی NALM-6 (لوسمی لنفوبلاستیک با گونه‌ی پیش ساز لنفوسیت B) و HL-60 (سرطان حاد پرومیلوسیتی) با روش MTT و فلوسایتومتری بررسی گردید. همچنین به منظور مقایسه‌ی خاصیت سایتوتوکسیک این ترکیب با داروهای رایج در شیمی‌درمانی، خاصیت سایتوتوکسیک داروی سیس‌پلاتین نیز به-عنوان مرجع، مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج سمیت سلولی توسط کمیت IC_{50} برای کمپلکس مورد نظر بر روی دو رده‌ی سلولی در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: فعالیت ضدسرطانی کمپلکس آهن (III)-دیفریپرون در مقابل رده‌های سلولی NALM-6 (لوسمی لنفوبلاستیک با گونه‌ی پیش ساز لنفوسیت B) و HL-60 (سرطان حاد پرومیلوسیتی) پس از ۴۸ ساعت تیمار پیوسته

رده‌ی سلولی	IC ₅₀ ± SD (μM)	
	آهن (III)-دیفریپرون	سیس‌پلاتین
رده‌ی سلولی NALM-6 (لوسمی لنفوبلاستیک با گونه‌ی پیش ساز لنفوسیت B)	۱۲/۶ ± ۳/۰۱	۰/۴۵ ± ۰/۱۳
رده‌ی سلولی HL-60 (سرطان حاد پرومیلوسیتی)	۲/۲۳ ± ۱/۰۷	۵/۶۵ ± ۲/۴۵

نتایج به‌دست آمده نشان داد که مقادیر IC₅₀ برای کمپلکس مورد نظر در گستره‌ی ۲/۲۳ تا ۱۲/۶ تغییر می‌کنند در حالی که مقادیر این پارامتر در سیس‌پلاتین به‌عنوان داروی مرجع، بین ۰/۴۵ تا ۵/۶۵ تغییر می‌کنند. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که میزان بقاء سلول‌های سرطانی HL-60 (سرطان حاد پرومیلوسیتی) در گستره‌ی غلظتی ۲۰ nM-۲۰۰ μM از کمپلکس مورد نظر پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر میزان مرگ و میر این سلول‌های سرطانی دارد. به‌منظور اینکه مطالعه کنیم به‌چه شکلی کمپلکس‌های مورد نظر، مرگ سلولی (نکروز یا آپوپتوز) ایجاد می‌کنند، مطالعات فلوسایتومتری بر روی این ترکیبات و سیس‌پلاتین به‌عنوان مرجع صورت می‌پذیرد. با توجه به‌نتایج جدول ۲، کمپلکس مورد نظر جمعیت زیادی از سلول‌ها را در نواحی آپوپتوز (۵۸/۰٪) و ۱/۶ برابر بیشتر از سیس‌پلاتین (۳۶/۸٪) در غلظت یکسان نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که کمپلکس جدید سنتز شده می‌تواند منجر به آپوپتوز سلول‌های سرطانی HL-60 شود.

جدول ۲: درصد مرگ سلولی مشاهده شده به‌وسیله‌ی آزمون فلوسایتومتری بر روی رده‌ی سلولی HL-60 (سرطان حاد پرومیلوسیتی) پس از ۲۴ ساعت تیمار پیوسته

تیمار	سلول‌های زنده %	سلول‌های آپوپتیک %	سلول‌های آپوپتیک-نکروتیک %	سلول‌های نکروتیک %
کنترل	۹۸/۴	۰/۳۷	۰/۷۴	۰/۴۹
سیس‌پلاتین	۵۸/۳	۸/۹	۲۷/۹	۱/۶
آهن (III)-دیفریپرون	۴۱/۱۵	۲۲/۶	۳۵/۴	۰/۸۵

۴. مراجع

1. Rosenberg. B, Van Camp. L, Krigas. T. S, Nature. 1965 (205) 968-969.
2. Rosenberg. B, Van Camp. L, Trosko. J. E, Mansour. V. H, Nature. 1969 (222) 385-386.
3. Kontoghiorghes. G. J, Analyst. 1995 (120) 845-851.
4. Clarke. E. T, Martell. A. E, Reibenspies. J, Inorg Chim Acta. 1992 (196) 177-183.