سنتز، شناسایی ساختاری و مطالعات ضد سرطانی کمپلکس نیکل(II)-مالتول

امیر شکوه سلجوقی*، شمیلا آزموده
دانشگاه فردوسی مشهد، گروه شیمی
E-mail: saljooghi@um.ac.ir

چکیده

در این مطالعه، کمپلکس $[Ni(mal)_2].6H_2O$ (که mal نام اختصار لیگاند مالتول می‌باشد) سنتز و شناسایی گردید. سایتوتوکسیسیته این کمپلکس‌ها به‌منظور ارزیابی فعالیت ضدسرطانی 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 و استفاده از سیس‌پلاتین به‌عنوان مرجع، بررسی گردید. نتایج به‌دست‌آمده سایتوتوکسیسیته‌ی بیشتری را برای کمپلکس مورد نظر در مقابل رده سلولی HL-60 و NALM-6 نشان داد. همچنین نتایج فلوسایتومتری کمپلکس نیکل (II)-مالتول، بیانگر این است که کمپلکس سنتز شده می‌توانند منجر به القاء آپوپتوز سلول‌های سرطانی HL-60 شود.

واژه‌های کلیدی: مالتول، آهن، ضد سرطان، NALM-6، HL-60، روش MTT، فلوسایتومتری، سیس پلاتین

۱. مقدمه

امروزه سرطان یکی از مهم‌ترین معضلات سلامتی در سراسر دنیا به حساب می‌آید که به معنای رشد، تکثیر و گاهی انتشار غیر طبیعی سلول‌های بدن است. از روش‌های درمان سرطان می‌توان به جراحی، پرتودرمانی، شیمی‌درمانی، ژن‌درمانی و غیره اشاره کرد. به طور کلی بسیاری از داروهای شیمیایی که به منظور شیمی‌درمانی سرطان به کار برده می شوند، اغلب سبب تغییراتی درفرایند تقسیم سلولی شده و بدین ترتیب، تکثیر و تمایز سلول سرطانی متوقف می‌شود. در سنتز این داروها علاوه برآن‌که خاصیت سایتوتوکسیک آن‌ها در برابر سلول‌های سرطانی حائز اهمیت است، این ویژگی که کمترین اثرات جانبی را نیز بر روی سلول‌های 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 سلول‌های سالم فرد نیز صدمه می‌زند. بنابراین دانشمندان سعی دارند تا داروهای جدیدتری با اثرات سمی پایین را جایگزین این داروهای سمی کنند. در سال‌های اخیر توجه زیادی به یافتن ترکیبات ضد سرطانی جدید حاوی یون‌های فلزی شده است [۱و ۲] .

از میان لیگاندهای کیلیت‌ساز دهنده‌ی اکسیژنی می‌توان به مالتول (با نام آیوپاک: ۳-هیدروکسی-۲-متیل-٤-پیرون) اشاره کرد. مالتول یک ترکیب طبیعی است که در مواد غذایی، نوشیدنی‌ها، تنباکو و محصولات آرایشی برای طعم‌دهندگی و همچنین داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده می‌باشد. این ترکیب کاربردهای بسیاری به‌ویژه در شیمی بیومعدنی به‌عنوان کیلیتور برای تعداد زیادی از یون‌های فلزی دارد. کمپلکس‌های آن با یون‌های اکسووانادیوم (IV) و آهن (III) به ترتیب برای درمان دیابت و کم‌خونی ناشی از فقر آهن مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین این ترکیب فعالیت‌های ضدسرطانی قابل‌توجهی را از طریق تشکیل گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) و نیز کئوردینه شدن به یون‌های فلزی نشان می‌دهد. به همین دلیل لیگاندهای شامل مالتول توسعه یافته و به‌عنوان داروهای ضدتوموری پایه فلزی بهره‌برداری شده‌اند [۳و ٤] .

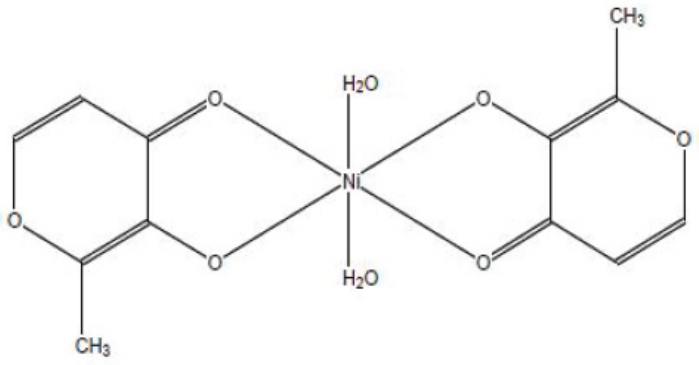
در این مطالعه نیز با توجه به اثرات ضد سرطانی گزارش شده از مالتول و نیز نقش بیولوژیکی کمپلکس‌های نیکل، کمپلکسی از نیکل (II)-مالتول سنتز شد. پس از سنتز، خاصیت ضد سرطانی و سایتوتوکسیک آن بر روی رده سلولی NALM-6 (لوسمی لنفوبلاستیک با

گونه‌ی پیش ساز لنفوسیت B) و HL-60 (سرطان حاد پرومیلوسیتی) با روش MTT و فلوسایتومتری بررسی گردید. همچنین به‌منظور 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 $[Ni(mal)_2(H_2O)_2]$

به ۰/۳۹ میلی‌مول (۹۹ میلی‌گرم) نیکل(II) استات، $Ni(OAc)_2$، محلول در ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر، مقدار ۰/۷۹ میلی‌مول (۱۰۰ میلی-گرم) از لیگاند ۳-هیدروکسی-۲-متیل-٤-پیرون محلول در ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر می‌افزائیم. سپس pH مخلوط حاصل را با کمک افزودن قطره قطره از NaOH (۱۰ M) به ۸/۵ می رسانیم. مخلوط حاصل، برای مدت ۲٤ ساعت همراه با حرارت (٦٥°C) هم‌زده شد. پس از گذشت ۲٤ ساعت، رسوب سبز رنگی تولید می‌شود. پس از چند بار شستشو با استن خالص و تبلور مجدد رسوب در نسبت ۱:۱استونیتریل: تولوئن، تک بلورهای سبز رنگی در محلول تشکیل می‌گردد (شکل ۱) [۵].



شکل ۱: ساختار کمپلکس $[Ni(mal)_2].6H_2O$

سنتز کمپلکس مورد نظر با انجام طیف‌سنجی IR و تجزیه‌ی عنصری تایید شد. نوار مشاهده شده در در ناحیه‌ی $3271\ cm^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی OH، نوار جذبی در ناحیه‌ی $1657\ cm^{-1}$ مربوط به ارتعاشات گروه کربونیل و نوار جذبی در ناحیه‌ی $1625\ cm^{-1}$ مربوط به ارتعاشات پیوند دوگانه C=C حلقه می‌باشد و می‌توانند شاهد خوبی برای وجود لیگاند (۳-هیدروکسی-۲-متیل-٤-پیران) باشد. با مقایسه‌ی طیف زیر قرمز این کمپلکس و لیگاند مذکور، مشاهده می‌شود که این نوارها با جابه‌جایی قرمز همراه هستند و برای ترکیب مورد نظر، باند ارتعاشی $1645\ cm^{-1}$ به $1601\ cm^{-1}$ و باند ارتعاشی $1620\ cm^{-1}$ به $1585\ cm^{-1}$ جابجا شده است. به عبارت دیگر این کاهش نشان دهنده‌ی ضعیف شدن پیوند دوگانه بین کربن و اکسیژن در ساختار کربونیل می‌باشد و به طول موج‌های قرمز جابجایی صورت گرفته است، که موید برهمکنش بین فلز و لیگاند می‌باشد.

Anal. Calcd: C: ٤۹/۷۵; H: ٤/۷۸; N: ٤/۸۳ ; Found: C: ۵۰/۳۹; H: ٤/٤۸; N: ٤/۹۵

۳. نتایج و بحث

در این کار تحقیقاتی، اثرات بیولوژیکی کمپلکس $[Ni(mal)_2].6H_2O$ 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 بررسی‌گردید. همچنین به‌منظور مقایسه-ی خاصیت سایتوتوکسیک این ترکیب با داروهای رایج در شیمی‌درمانی، خاصیت سایتوتوکسیک داروی سیس‌پلاتین نیز به‌عنوان مرجع، مورد بررسی قرارگرفت.

نتایج سمیت سلولی توسط کمیت IC_{50} برای کمپلکس مورد نظر بر روی دو رده‌ی سلولی در جدول۱ آورده شده است.

جدول ۱: فعالیت ضدسرطانی کمپلکس $[Co(mal)_2(phen)].5H_2O$ در مقابل رده‌های سلولی NALM-6 (لوسمی لنفوبلاستیک با گونه‌ی پیش ساز لنفوسیت B) و HL-60 (سرطان حاد پرومیلوسیتی) پس از ٤٨ ساعت تیمار پیوسته

رده‌ی سلولی	$IC_{50} \pm SD$ (μM)	
	$[Co(mal)_2(phen)].5H_2O$	سیس‌پلاتین
رده‌ی سلولی NALM-6 (لوسمی لنفوبلاستیک با گونه‌ی پیش ساز لنفوسیت B)	۰/۳۹ ± ۰/۱۰	۰/۵۵ ± ۰/۱۷
رده‌ی سلولی HL-60 (سرطان حاد پرومیلوسیتی)	٤/۸۰ ± ۱/٦۹	۵/٤۵ ± ۲/۱۹

نتایج به‌دست آمده نشان داد که مقادیر IC_{50} برای کمپلکس مورد نظر در گستره‌ی ۰/۳۹ تا ٤/۸۰ تغییر می‌کنند در حالی که مقادیر این پارامتر در سیس‌پلاتین به‌عنوان داروی مرجع، بین ۰/۵۵ تا ۵/٤۵ تغییر می‌کنند. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که میزان بقاء سلول‌های سرطانی HL-60 (سرطان حاد پرومیلوسیتی) و نیز سلول‌های سرطانی NALM-6 (لوسمی لنفوبلاستیک با گونه‌ی پیش ساز لنفوسیت B) در گستره‌ی غلظتی ۲۰ nM–۲۰۰μM از کمپلکس مورد نظر پس از ٤۸ ساعت انکوباسیون تاثیر قابل‌ملاحظه‌ای 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 (۷۸/۸۷٪) و ۱/۱ برابر بیشتر از سیس پلاتین (٦۸/۷۸٪) 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 ۲٤ ساعت تیمار پیوسته

تیمار	سلول‌های زنده ٪	سلول‌های آپوپتیک ٪	سلول‌های آپوپتیک-نکروتیک ٪	سلول‌های نکروتیک ٪
کنترل	۷۸/۲۵	۹/۵۷	۱۱/۲۳	۰/۹۵
سیس پلاتین	۳۰/۱۷	۳۶/۴۴	۳۲/۳۴	۱/۰۵
کمپلکس (۱)	۲۰/۰۱	۴۱/۶۷	۳۷/۲۰	۱/۱۲

٤. 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.
5. Lewis. J. A, Tran. B. L, Puetreta. D. T, et al., Dalton Trans. 2005, 2588-2569.