



## بررسی اثرات سمیت سلولی ۲- (۴-متوکسی فنیل)-بنزایمیدازول بر روی سلول های سرطان پستان در شرایط *in vitro*

حلیمه حسن زاده<sup>۱\*</sup>، مریم مقدم متین<sup>۱،۲</sup>، احمد رضا بهرامی<sup>۱،۲</sup>، مروارید ساعی نسب<sup>۱</sup>، محمد رحیمی زاده<sup>۲</sup>، حسین عشقی<sup>۳</sup>، علی شیرینی<sup>۲</sup>، پریسا صداقت<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران، [eermia84@yahoo.com](mailto:eermia84@yahoo.com)

<sup>۲</sup> گروه پژوهشی سلولی و مولکولی، پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

<sup>۳</sup> گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

### چکیده:

مقدمه: با وجود روش های درمانی مختلف برای مقابله با سرطان، بزرگترین مانع در راه درمان سرطان های متاستاتیک مثل سرطان پستان، این است که به طور ذاتی به شیمی درمانی مقاوم هستند و یا در طول شیمی درمانی به دارو مقاوم می شوند. بنابراین تمایل فراوانی برای یافتن ترکیبات مؤثر و جدید برای درمان این نوع سرطان ها وجود دارد.

هدف: هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثرات سمی ترکیب سنتزی ۲- (۴-متوکسی فنیل)-بنزایمیدازول، بر روی سلول های سرطان پستان (MCF7) با استفاده از تست MTT می باشد.

روش ها: بدین منظور ترکیب ۲- (۴-متوکسی فنیل)-بنزایمیدازول از واکنش ۱،۲-فنیلن دیامین با ۴-متوکسی بنزالدهید در حضور کاتالیزور فریک هیدروژن سولفات، سنتز شد. برای تعیین  $IC_{50}$  این ترکیب، سلولهای سرطان پستان با غلظت های مختلفی از آن (۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکرو گرم / میلی لیتر) تیمار شده و سپس زنده ماندن سلول ها بوسیله تست MTT در بازه های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته ارزیابی شد.

نتایج: بعد از سنتز ترکیب موردنظر، تست MTT نشان داد که  $IC_{50}$  ترکیب ۲- (۴-متوکسی فنیل)-بنزایمیدازول، بر روی سلول های MCF7، ۱۳۵ و ۴۰ میکروگرم / میلی لیتر، به ترتیب بعد از ۴۸ و ۷۲ ساعت بود. گرانولاسیون های سیتوپلاسمی مخصوصا بعد از تیمار ۷۲ ساعته سلول ها با غلظت ۴۰ میکروگرم / میلی لیتر از این ترکیب، مشاهده شد. ترکیب ۲- (۴-متوکسی فنیل)-بنزایمیدازول، یک ماده ی سنتزی با اثرات سمی بر روی سلول های سرطان پستان است. مطالعات آینده نیاز به بررسی مکانیسم این سمیت سلولی و نیز اثرات احتمالی ضد سرطانی این ترکیب در شرایط *in vitro* و *in vivo* دارد.

**واژه های کلیدی:** ۲- (۴-متوکسی فنیل)-بنزایمیدازول، سمیت سلولی، سلول های سرطان پستان.

### مقدمه:

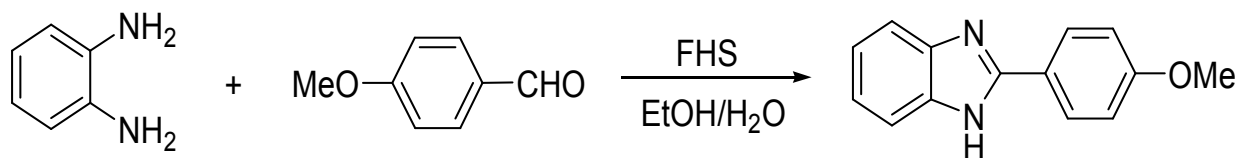
سرطان بیماری است که در نتیجه ی تکثیر و رشد بدون کنترل سلول ها ایجاد می شود. سلول های سرطانی تومور را ایجاد می کنند که در بعضی موارد قابلیت تهاجم و متاستاز به سایر نقاط بدن را بدست می آورد (۱). اکثر انواع تومورها با کمک جراحی، شیمی درمانی و یا پرتو درمانی قابل درمانند اما بیشتر سرطان های متاستاتیک مثل سرطان پستان، با شیمی درمانی و سایر روش ها قابل درمان نیستند. بزرگترین مانع در راه درمان این نوع سرطان ها این است که به طور ذاتی به شیمی درمانی مقاوم هستند و یا در طول درمان به دارو مقاوم می شوند (۲). به همین دلیل محققان سراسر جهان تلاش های زیادی را جهت شناسایی ترکیبات

جدید طبیعی یا سنتزی با خواص ضد سرطانی، به کار گرفته اند. از جمله ترکیباتی که جهت درمان بدخیمی ها مورد توجه قرار گرفت، ترکیبات آلی هتروسایکلیک می باشند که دلیل توجه به این ترکیبات، وجود گروه های واکنش دهنده و خاصیت سیتوتوکسیک آنها می باشد (۳).

در میان ترکیبات هتروسایکلیک می توان به ایمیدازول ها اشاره کرد. مهمترین ویژگی درمانی ایمیدازول ها در ارتباط با داروهای است که جهت سنتز داروهای شیمی درمانی به کار می روند (۴). یکی از مهم ترین گروه های ایمیدازول ها، بنزایمیدازول ها می باشند. مشتقات بنزایمیدازول کاربردهای مختلفی از جمله خواص ضد توموری (میل ترکیبی با DNA دارد و باعث مهار غیر اختصاصی تعدادی از آنزیم های درگیر در سنتز DNA مثل DNA پلی مرز می شود) (۵)، و فعالیت های ضد سرطانی دارند. در این مطالعه اثر یکی از مشتقات سنتز شده بنزایمیدازول به نام ۲-(۴-متوکسی فنیل)-بنزایمیدازول، بر روی سلول های سرطانی MCF7 بررسی شده است.

### مواد و روش ها:

ترکیب ۲ و ۴-متوکسی فنیل-بنزایمیدازول از واکنش ارتوفنیلن دی آمین با ۴-متوکسی بنزآلدئید در حضور کاتالیزور فریک هیدروژن سولفات (FHS) در دمای اتاق، سنتز شد. این واکنش در مخلوطی از حلال های آب و اتانول انجام گرفت. شمای واکنش مورد نظر به صورت زیر می باشد:

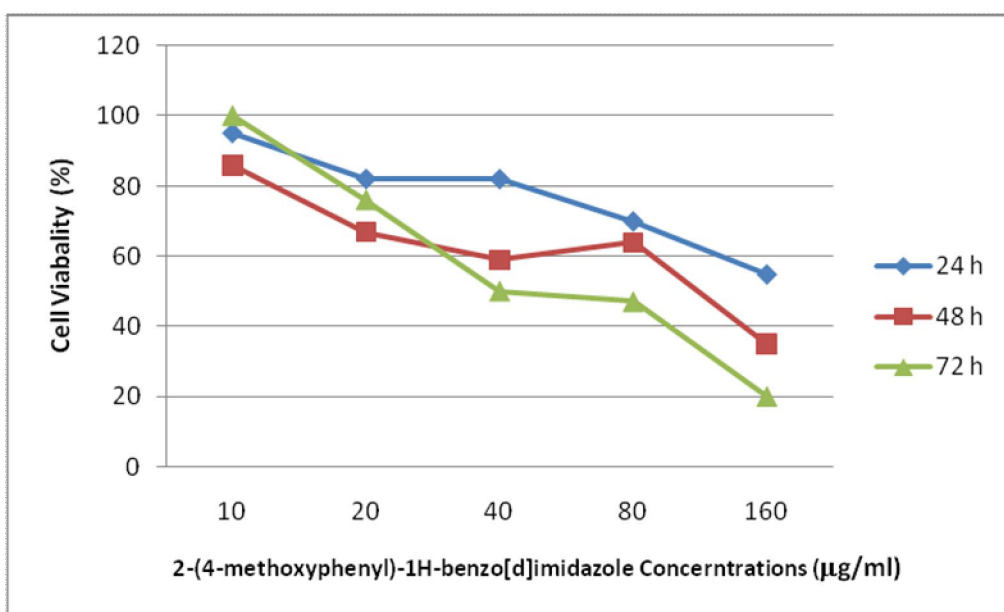


به منظور بررسی سمیت سلولی ترکیب فوق، تعداد ۸۰۰۰ سلول MCF7 در هر خانه فلاسک ۹۶ خانه ای در محیط کشت سلولی DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنینی گاو کشت داده شدند و ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و ۱۰ درصد CO<sub>2</sub> انکوبه شدند. برای تعیین غلظتی از ۲-(۴-متوکسی فنیل)-بنزایمیدازول که باعث مرگ نیمی از سلول ها می شود (IC<sub>50</sub>)، سلول های MCF7 با غلظت های متفاوتی از ۲-(۴-متوکسی فنیل)-بنزایمیدازول (۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکرو گرم میکروگرم بر میلی لیتر) تیمار شده و همچنین با میزان مشابهی از DMSO، که جهت حل نمودن ترکیب مورد نظر استفاده شده بود، به عنوان کنترل تیمار شدند. سپس زنده ماندن سلول ها بوسیله تست MTT در بازه های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای انجام تست MTT ابتدا محلول تترازولیوم با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه و پس از فیلتره کردن به هر خانه از فلاسک ۹۶ خانه ای حجم ۲۰ میکرو لیتر از آن اضافه و ۴ ساعت در تاریکی و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. پس از گذشت مدت زمان مذکور، که طی آن از متابولیته شدن ماده تترازولیوم در سلول های زنده بلورهای بنفش رنگ فورمازان تشکیل شدند، محتویات هر خانه با ۱۵۰ میکرو لیتر DMSO جایگزین و به دنبال آن محلول های بنفش رنگی با شدت های رنگ گوناگون ایجاد شدند. میزان جذب نوری هر خانه، که معیاری از زنده ماندن سلول ها می باشند، با دستگاه ELISA reader در طول موج ۵۴۵ نانومتر ثبت گردید.

### نتایج و بحث:

بررسی میزان زنده ماندن سلول ها نشان داد که  $IC_{50}$  ۲-(۴-متوکسی فنیل)-بنزایمیدازول بر روی سلول های MCF7 پس از گذشت ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۱۳۵ و ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود (شکل ۱). هم چنین مشاهدات مورفولوژیک نیز اثبات کردند که این ماده قادر است اثرات سمی خود را، به صورت گرآنولاسیون های سیتوپلاسمی مخصوصا بعد از ۷۲ ساعت نشان دهد. با توجه به نتایج بدست آمده می توان ۲-(۴-متوکسی فنیل)-بنزایمیدازول را به عنوان ماده ای در نظر گرفت که دارای خاصیت کشندگی سلول های سرطانی بوده و با توجه به اینکه اثر خود را در مدت طولانی نیز حفظ می کند با مطالعات بیشتر احتمالا می توان از آن به عنوان یک ترکیب ضد سرطانی استفاده نمود.



شکل ۱: منحنی دوز پاسخ حاصل از تیمار سلول های MCF7 با غلظت های گوناگون ۲-(۴-متوکسی فنیل)-بنزایمیدازول طی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت.



منابع:

1. Anand P., Kunnumakkara A.B., Kunnumakara A.B., Sundaram C., Harikumar K.B., Tharakan Sh.T., et al., 2008. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharmaceutical Research* 25: 2097–2116.
2. Gottesman M.M., 1993. How cancer cells evade chemotherapy. *Cancer Research* 53: 747-754.
3. Kidwai M., Venktaramanan R., Mohan R., Sapra P., 2002. Cancer chemotherapy and heterocyclic compounds. *Current Medicinal Chemistry* 9: 1209-1228.
4. Shalini K., Sharma P.K., Kumar N., 2010. Imidazole and its biological activities. *Der Chemica Sinica* 1: 36-47.
5. White A.W., Curtin N.J., Eastman B.W., Golding B.T., Hostomsky Z., Kyle S., Li J., et al., 2004. Potentiation of cytotoxic drug activity in human tumour cell lines, by amine-substituted 2-arylbenzimidazole-4-carboxamide PARP-1 inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 14: 2433–2437.



## Evaluating the *in vitro* toxicity of 2-(4-methoxyphenyl)-1H-benzo[d]imidazole on MCF7 cells

Halimeh Hassanzadeh<sup>a</sup>, Maryam M. Matin<sup>a,b</sup>, Ahmad Reza Bahrami<sup>a,b</sup>, Morvarid Saeinasab<sup>a</sup>,  
Mohammad Rahimizadeh<sup>c</sup>, Hossein Eshghi<sup>c</sup>, Ali Shiri<sup>c</sup>, Parisa Sedaghat<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

<sup>b</sup>Cell and Molecular Research Group, Institute of Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

<sup>c</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Although various therapeutic options are available for breast cancer management, this malignancy often shows resistance to common chemotherapy regimes. Therefore, there is a great tendency to find new and effective compounds with antitumour properties to treat this cancer. The aim of present study was to evaluate the toxicity of 2-(4-methoxyphenyl)-1H-benzo[d]imidazole on MCF7 cells (human breast adenocarcinoma cell line), by MTT assay.

2-(4-methoxyphenyl)-1H-benzo[d]imidazole was obtained by the condensation reaction of orthophenylenediamine with 4-methoxybenzaldehyde at room temperature. To determine the IC<sub>50</sub> of the compound, MCF7 cells were treated with various concentrations (10, 20, 40, 80 and 160 µg/ml) of 2-(4-methoxyphenyl)-1H-benzo[d]imidazole and examined for 24, 48 and 72 hours. The results of MTT test revealed that the IC<sub>50</sub> values of 2-(4-methoxyphenyl)-1H-benzo[d]imidazole on MCF7 cells were 135 and 40 µg/ml after 48 and 72 h of its administration, respectively. Morphological observations have also showed that prominent cytoplasmic granulations were common in treated cells, specially 72 hours after treatment with 40 µg/ml of the compound. 2-(4-methoxyphenyl)-1H-benzo[d]imidazole is a synthetic compound that showed cytotoxic effects on MCF7 cells. Further studies are required to investigate the



7<sup>th</sup> National Biotechnology  
Congress of I.R. Iran  
12-14 Sep. 2011, Niroo Research Institute, Tehran, Iran

هفتمین همایش ملی بیو تکنولوژی  
جمهوری اسلامی ایران  
زمان: ۲۱ تا ۲۳ شهریورماه ۱۳۹۰  
مکان: تهران- پژوهشگاه نیرو



mechanism of this toxicity and also to check possible anti-cancer effects of this compound both *in vitro* and *in vivo*.

**Key words:** 2-(4-methoxyphenyl)-1H-benzo[d]imidazole, Cytotoxicity, MCF7 cells.