

Original Article

A Survey of Anticancer Effect of Some Five- and Six-Membered Palladium (II) Complexes (Containing Bidentate Phosphorus Ligands) on Caco-2 Colon Cancer Cell Line

Sepideh Samiee¹, Maryam Kolahi²

¹Department of Chemistry,
Faculty of Science, Shahid
Chamran University of
Ahvaz, Ahvaz, Iran.

²Department of Biology,
Faculty of Science, Shahid
Chamran University of
Ahvaz, Ahvaz, Iran.

***Corresponding Author:**
Maryam Kolahi;
Department of Biology,
Faculty of Science, Shahid
Chamran University of
Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Email:
m.kolahi@scu.ac.ir

Received: 12 Dec, 2017
Accepted: 22 Nov, 2018

Abstract

Background and Objectives: Transition metal complexes possess a variety of biological and pharmacological activities, such as antitumor, antimicrobial, anti-inflammatory, anti-diabetic, and free radical scavenging. Many studies have been carried out on platinum-based chemotherapy agents, however, most attention has been paid to non-platinum metal-based agents in order to find different metal complexes with less side effects and similar cytotoxicity. This study was conducted with the objective of investigating the anticancer effect of various five- and six-membered palladium (II) complexes on colon cancer cell line.

Methods: In this study, in order to investigate the anticancer effect of 8 five- and six-membered palladium (II) complexes containing bidentate phosphorus ligands, the colon cancer cell line was treated for 24 h. Cell viability was studied using MTT assay. Also, in order to further study on the mechanism of action of these compounds, lipid peroxidation index was evaluated by TBA (thiobarbituric acid) test.

Results: In this study, the results were indicative of anticancer properties of five- and six-membered ring palladium complexes compared to the control group. Maximum cytotoxicity was shown in treatment of cells with C6 complex and the minimum cytotoxicity was found in treatment of the cells with C5 complex. Also, the results of TBA test indicated the anticancer property of five- and six-membered ring palladium complexes in comparison with the control group.

Conclusion: The comparison of inhibitory effect between five-membered palladium complexes (C1–C4) showed that the chlorine substituted complex (C1) had the highest effect on cell growth, while between six-membered palladium complexes (C5–C8), the bromine substituted complex (C6) had the highest effect on cell growth.

Keywords: Palladium, MTT assay, Colon cancer, Metal complex.

DOI: 10.29252/qums.13.2.1

بررسی خواص ضد سرطانی تعدادی از کمپلکس‌های پنج و شش عضوی پالادیوم II (حاوی لیگاند دودندانه فسفردار) بر روی رده سلولی سرطان روده

سپیده سمیعی^۱، مریم کلاهی^{۲*}

چکیده

زمینه و هدف: کمپلکس‌های فلزات واسطه، دارای انواع مختلفی از فعالیت‌های زیست‌شناختی و دارویی مانند فعالیت ضد تومور، ضد میکروبی، ضد انعقادی، ضد دیابتی و فعالیت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد هستند. مطالعات بسیاری در زمینه عوامل شیمی‌درمانی برپایه فلز پلاتین انجام شده، ولی با هدف یافتن کمپلکس‌های فلزات مختلف با عوارض جانبی کمتر و سمیت سلولی مشابه، بیشترین توجه به ترکیبات غیرفلز پلاتین معطوف شده است. این مطالعه با هدف بررسی خواص ضد سرطانی تعدادی از کمپلکس‌های پنج و شش عضوی پالادیوم (II) بر روی رده سلولی سرطان روده انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، به‌منظور بررسی اثر ضد سرطانی هشت کمپلکس پنج و شش عضوی پالادیوم (II) حاوی لیگاند دودندانه فسفردار، سلول‌های سرطان روده به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. زنده‌مانی سلول‌ها با استفاده از روش MTT بررسی گردید. همچنین به‌منظور بررسی بیشتر مکانیسم عمل این ترکیبات، شاخص پراکسیداسیون لیپیدی با استفاده از آزمون TBA ارزیابی شد.

یافته‌ها: در این مطالعه، نتایج بیانگر ویژگی‌های ضد سرطانی کمپلکس حلقه‌های پنج و شش عضوی پالادیوم موردبررسی نسبت به گروه کنترل بود. حداکثر سمیت سلولی در تیمار با کمپلکس C6 و کمترین میزان سمیت سلولی در تیمار با کمپلکس C5 مشاهده گردید. نتایج پراکسیداسیون لیپیدی نیز نشان‌دهنده ویژگی‌های ضد سرطانی کمپلکس حلقه‌های پنج و شش عضوی پالادیوم مورد استفاده نسبت به گروه کنترل بود.

نتیجه‌گیری: مقایسه اثر ممانعت‌کنندگی بین کمپلکس‌های پالادیوم با حلقه پنج عضوی (C1-C4) نشان داد کمپلکس با استخلاف کلرید (C1) دارای بیشترین تأثیر بر رشد سلول‌ها بوده، درحالی‌که در بین کمپلکس‌های پالادیوم با حلقه شش عضوی (C5-C8)، ترکیب با استخلاف برمید (C6)، بیشترین اثر را از خود نشان داد.

کلیدواژه‌ها: سرطان روده؛ کمپکس پالادیوم؛ فسفر ایلید.

^۱گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

^۲گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

مریم کلاهی؛ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:

m.kolahi@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۲۱

تاریخ پذیرش: ۹۷/۹/۱

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Samiee S, Kolahi M. A survey of anticancer effect of some five- and Six-membered palladium (II) complexes (containing bidentate phosphorus ligands) on Caco-2 Colon cancer cell line.

Qom Univ Med Sci J 2019;13(2):1-10. [Full Text in Persian]

مقدمه

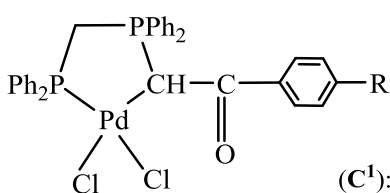
سرطان، نوعی بیماری است که در آن سلول‌ها توانایی تقسیم و رشد عادی خود را از دست می‌دهند که این تغییر منجر به تسخیر، تخریب و فاسدشدن بافت‌های سالم می‌گردد. از اجتماع این سلول‌های سرطانی و تخریب سلول‌های بافت سالم، توده‌ای به نام تومور تشکیل می‌شود. تاکنون برای درمان این بیماری مهلک روش‌هایی همچون جراحی، پرتودرمانی، دارودرمانی و یا ترکیبی از این روش‌ها ارائه شده، اما هیچ‌یک باعث درمان کامل سرطان نشده است. ازجمله ترکیباتی که به‌عنوان دارو در شیمی‌درمانی علیه سلول‌های سرطانی مورد استفاده قرار می‌گیرد، کمپلکس‌های فلزی و مشتقات حاصل از آن‌ها بوده که فعالیت‌های بیولوژیکی متعددی از قبیل فعالیت‌های ضد توموری، ضد باکتریایی و ضد میکروبی و غیره را از خود نشان می‌دهند (۱). کمپلکس‌های فلزات سنگین در شیمی معدنی مانند پلاتین (II) و پالادیوم (II) نیز می‌توانند در درمان برخی سرطان‌ها مفید باشند. بر این اساس، کاملاً مشخص شده است این دسته از ترکیبات، فعالیت شکافتگی مناسب DNA را از خود نشان می‌دهند. این ترکیبات به‌صورت غیرکووالانسی و با حداقل شیار با DNA پیوند تشکیل داده تا گونه‌های فعالی ایجاد کنند که منجر به برش رشته DNA و در نتیجه ایجاد مرگ سلولی و خواص ضد سرطانی می‌شود (۱). در سال ۱۹۶۰ برای اولین بار کمپلکس معدنی با فرمول عمومی $[PtCl_2(NH_3)_2]$ و به نام سیس‌دی‌آمین کلروپلاتینیوم (II) (معروف به سیس‌پلاتین) سنتز شد که تا به امروز به‌عنوان یک داروی ضدسرطان به فروش می‌رسد؛ اما عموماً مصرف این دسته از داروها با عوارض جانبی از قبیل عوارض گوارشی همراه بوده و از هزینه‌های درمانی بالایی نیز برخوردار است. همچنین به‌علت تأثیرات جانبی ترکیبات دارویی رایج مورد استفاده در شیمی‌درمانی، تحقیقات زیادی برای یافتن کمپلکس‌هایی با قدرت بالا و تأثیر جانبی کمتر نسبت به داروهای موجود انجام شده است. یکی از راهکارهای کاهش اثر جانبی سیس‌پلاتین، استفاده از عناصر دیگر گروه پلاتین، مانند پالادیوم بوده که از لحاظ شیمیایی بسیار شبیه پلاتین است، همچنین لیگاندهای کیلیت‌کننده با عوارض جانبی کمتر و حتی مؤثرتر از آن‌ها در مبارزه با سرطان به کار می‌روند (۲).

تازه‌ترین تحقیقات نشان می‌دهد لیگاندهای فسفردار مانند فسفرایلیدها، یک موضوع برجسته در شیمی قرن بیستم و سالیان اخیر است که این خود نشان‌دهنده اهمیت فوق‌العاده زیاد این ترکیبات می‌باشد و از این ترکیبات می‌توان به‌صورت مؤثر در ساخت داروها ازجمله داروهای ضد سرطان استفاده کرد. لیگاندهای فسفردار، آنزیم‌های مهم درگیر در سرطان را هدف قرار می‌دهند که این ترکیبات از طریق مکانیسم‌های کاملاً متمایز از دیگر داروهای مبتنی بر فلز، با آسیب‌رسانی به DNA، طراحی منطقی دارو را تسهیل می‌کنند. برخی از این ترکیبات برای تهیه فرومون‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیبات فعال بیولوژیکی و بعضی دیگر برای تولید محصولات دارویی مانند پروستاگلاندین‌ها، جاذب‌های جنسی حشرات، انواع هورمون‌ها، ویتامین‌ها، افزودنی‌های غذایی و رنگ‌دانه‌ها به کار می‌روند (۲،۳). مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات کمپلکس‌های جدیدی از پالادیوم II (حاوی لیگاندهای فسفردار ایلید) بر روی رشد و میزان زنده‌مانی رده سلولی سرطان روده انجام شد.

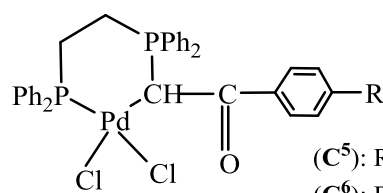
روش بررسی

در این مطالعه تجربی، به‌منظور بررسی اثر ضد سرطانی هشت کمپلکس پنج و شش عضوی پالادیوم (II) حاوی لیگاند دودندانه فسفردار، سلول‌های سرطان روده به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. زنده‌مانی سلول‌ها با استفاده از روش MTT بررسی گردید. همچنین به‌منظور بررسی بیشتر مکانیسم عمل این ترکیبات، شاخص پراکسیداسیون لیپیدی با استفاده از آزمون TBA ارزیابی شد.

ساختار شیمیایی هشت کمپلکس پالادیوم (II) مورد بررسی (C^1-C^8) در شکل شماره ۱ آمده است. لازم به ذکر است سنتز این ترکیبات براساس روش‌های منتشرشده (۴) در آزمایشگاه تحقیقاتی شیمی معدنی دانشگاه شهید چمران انجام شد.



- (C¹): R = Cl
(C²): R = Br
(C³): R = NO₂
(C⁴): R = OCH₃



- (C⁵): R = Cl
(C⁶): R = Br
(C⁷): R = NO₂
(C⁸): R = OCH₃

شکل شماره ۱: ساختار شیمیایی ترکیبات مورد مطالعه

تری کلرواستیک اسید ۲۰٪ و ۱۰ میکرولیتر تیوباریتوریک اسید ۰/۶ افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در آب ۱۰۰ درجه جوشانده شد، سپس جذب آن در ۵۳۵ نانومتر قرائت گردید. مقدار مالون‌دی‌آلدئید (MDA) براساس منحنی استاندارد غلظت‌های مختلف تتراتوکسی پروپان در آب محاسبه شد؛ بدین ترتیب که ۲۵ میکرولیتر از ۱، ۳، ۳، ۳ تتراتوکسی پروپان ۹۹٪ (سیگما، آلمان) به منظور تهیه غلظت اولیه ۱ میلی‌مولار، در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. سپس یک میلی‌لیتر از **محلول فوق جهت** تولید مالون‌دی‌آلدئید در ۵۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۱٪ مخلوط و به مدت ۲ ساعت انکوبه گردید. با توجه به اینکه در استاندارد تهیه‌شده، ۲۰ نانومول بر میلی‌لیتر از MDA وجود داشت؛ رقت‌سازی جهت تهیه استانداردهای ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ نانومول بر میلی‌لیتر با استفاده از اسیدسولفوریک ۱٪ انجام شد. منحنی استاندارد MDA براساس قرائت جذب نمونه‌های استاندارد در طول موج ۵۳۵ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر (Bio-Tek, Winooski, VT, USA) رسم گردید. به منظور محاسبه مقادیر MDA در نمونه‌های سلولی، پس از آماده‌سازی نمونه‌ها و قرائت جذب آن‌ها در طول موج ۵۳۵ نانومتر، مقدار MDA برحسب نانومول بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. مقدار MDA اسید به صورت نانومول بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد (۸). داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS، آزمون واریانس (برای مقایسه میانگین‌ها) و آزمون دانکن در سطح معنی‌داری، $p < 0.05$ تجزیه و تحلیل شدند. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

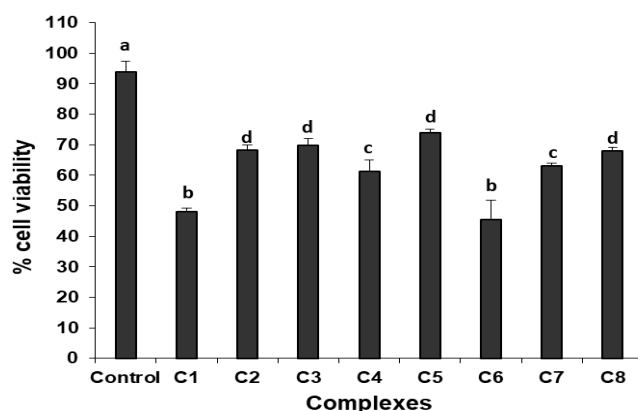
یافته‌ها

نتایج ارزیابی میزان زنده‌مانی سلول‌ها براساس آزمون MTT در سلول‌های تحت تیمار با کمپلکس‌های مختلف پالادیوم در نمودار

در این مطالعه، ابتدا رده سلولی آدنوکارسینومای اپی‌تلیال روده بزرگ انسانی Caco-2 (NCBI code: C139) از انستیتو پاستور ایران خریداری و سپس سلول‌ها در محیط کشت DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) حاوی ۱۰٪ سرم گاوی (FBS)، در شرایط مناسب (انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد و دی‌اکسیدکربن ۵٪) کشت داده شدند (۵). به منظور بررسی اثر این ترکیبات بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی، از روش رنگ‌سنجی MTT استفاده شد. (این روش براساس توانایی سلول‌های زنده در تبدیل نمک تترازولیوم به فورمازان نامحلول بنا شده است. جهت انجام آزمایش، سلول‌های Caco-2 در پلیت ۹۶ خانه‌ای و در هر خانه 4×10^3 سلول در حجم ۱۵۰ میکرولیتر محیط DMEM کشت داده شدند. در سه چاهک به عنوان شاهد فقط ۱۵۰ میکرولیتر محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ FBS افزوده شد. بعد از انکوباسیون، سلول‌ها با ایلید فسفر و کمپلکس پالادیوم (II) به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد تیمار شدند. از محلول MTT (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ۲۰ میکرولیتر در هر خانه ریخته شد. بعد از ۳/۵ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، محلول رویی حذف و ۱۵۰ میکرولیتر حلال MTT (۱۵ میلی‌لیتر ایزوپروپانول و ۲۰ میکرولیتر اسیدکلریدریک) اضافه گردید. در ادامه، بعد از ۱۵ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق و حل کامل کریستال‌ها، به وسیله دستگاه خوانش ELISA، جذب نوری نمونه‌ها در ۵۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. همه آزمایش‌ها به صورت سه بار تکرار انجام گرفت (۶، ۷). پراکسیداسیون لیپیدی از طریق اندازه‌گیری تشکیل سوبستراهای واکنشی تیوباریتوریک اسید تعیین شد. جهت انجام این آزمون به ۵۰ میکرولیتر از نمونه سلولی لیزشده، ۱۰۰ میکرولیتر فسفات بافر سالین و ۱۰ میکرولیتر

شماره ۱ آمده است. یافته‌ها نشان‌دهنده ویژگی‌های ضد سرطانی کمپلکس حلقه‌های پنج و شش عضوی پالادیوم مورد استفاده نسبت به گروه کنترل بود. میزان زنده‌مانی سلول‌ها در تیمار با کمپلکس‌های C1 و C6، اختلاف معنی‌داری نشان نداد. همچنین میزان سمیت سلولی کمپلکس‌های C2، C3، C5 و C8، تفاوت معنی‌داری نداشتند. کمپلکس‌های C4 و C7 نیز با وجود داشتن اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل نسبت به یکدیگر، اختلاف معنی‌داری نشان ندادند.

حداکثر سمیت سلولی در تیمار با کمپلکس‌های پالادیوم پنج عضوی برای کمپلکس C1 و در کمپلکس پالادیوم شش عضوی برای کمپلکس C6 دیده شد. در مقایسه همه تیمارهای موردنظر، بیشترین و کمترین میزان سمیت سلولی در تیمار به ترتیب متعلق به کمپلکس‌های C5 و C6 بود ($p < 0.05$) (نمودار و جدول شماره ۱).



نمودار شماره ۱: میزان زنده‌مانی سلول‌های Caco2 در گروه‌های کنترل و تیمار با کمپلکس حلقه‌های پنج و شش عضوی پالادیوم. حروف ناهمسان در روی هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ می‌باشد.

جدول شماره ۱: میزان سمیت سلولی سلول‌های Caco2 در گروه‌های کنترل و تیمار با کمپلکس حلقه‌های پنج و شش عضوی پالادیوم،

تیمار سلولی	زنده‌مانی (درصد)
کنترل	43/40.11 ±
C1	51/6434 ± 1/2
C2	31/83714 ± 1/765
C3	30/31457 ± 2/3127
C4	38/61727 ± 3/7302
C5	26/10086 ± 1/1
C6	54/41917 ± 6/2238
C7	36/358 ± 0/814419
C8	32/05589 ± 1/32

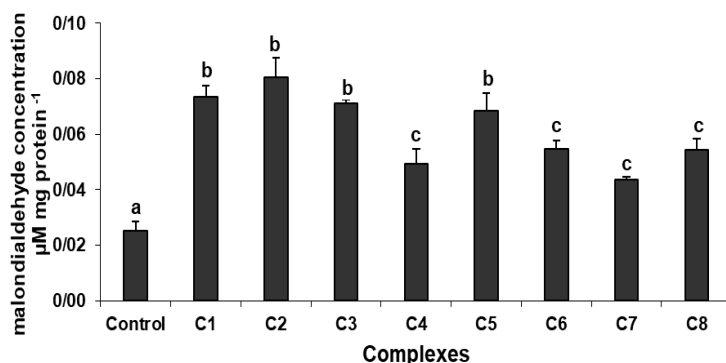
داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

تیمار سلول‌های Caco2 با کمپلکس حلقه‌های پنج و شش عضوی پالادیوم سبب افزایش معنی‌دار میزان مالون‌دی‌آلدئید نسبت به گروه کنترل گردید. همه کمپلکس حلقه‌های پنج و شش عضوی پالادیوم مورد استفاده نسبت به گروه کنترل بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در سلول‌های تیمار شده اثر معنی‌داری داشت.

میزان پراکسیداسیون لیپیدی در سلول‌های تیمار شده با کمپلکس‌های C1، C2، C3 و C5، تفاوت معنی‌داری نشان نداد. میزان مالون‌دی‌آلدئید در سلول‌های تیمار شده با کمپلکس‌های C4، C6، C7 و C8 نیز با وجود داشتن اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل نسبت به یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان ندادند.

همچنین کمترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در سلول‌های تیمار شده با کمپلکس‌های پنج عضوی مربوط به کمپلکس C4 و برای کمپلکس‌های پالادیوم شش عضوی مربوط به کمپلکس C7 مشاهده گردید ($p < 0.05$) (نمودار و جدول شماره ۲).

حداکثر میزان مالون‌دی‌آلدئید در سلول‌های تیمار شده با کمپلکس‌های پالادیوم با حلقه پنج عضوی مربوط به کمپلکس C2 و در کمپلکس‌های پالادیوم با حلقه شش عضوی مربوط به کمپلکس C5 بود.



نمودار شماره ۲: میزان مالون‌دی‌آلدئید سلول‌های Caco2 در گروه‌های کنترل و تیمار با کمپلکس حلقه‌های پنج و شش عضوی پالادیوم. حروف ناهمسان در روی هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ می‌باشد.

جدول شماره ۲: میزان مالون‌دی‌آلدئید سلول‌های Caco2 در گروه‌های کنترل و تیمار با کمپلکس حلقه‌های پنج و شش عضوی پالادیوم،

میزان مالون‌دی‌آلدئید (میکرومول بر میلی‌گرم)	تیمار سلولی
۰/۰۲۵۲۲۵±۰/۰۰۳۴۵۴	کنترل
۰/۰۷۳۳۲۳±۰/۰۰۳۹۸۲	C1
۰/۰۸۰۵±۰/۰۰۷۰۷۶	C2
۰/۰۷۰۹۸۸±۰/۰۰۱۳۷۵	C3
۰/۰۴۹۴۱۴±۰/۰۰۵۲۹۶	C4
۰/۰۶۸۵۱۳±۰/۰۰۰۶۱	C5
۰/۰۵۴۶۰۷±۰/۰۰۳۰۸۵	C6
۰/۰۴۳۷۱۹±۰/۰۰۰۷۹۲	C7
۰/۰۵۴۲۹۷±۰/۰۰۴۰۲۳	C8

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

بحث

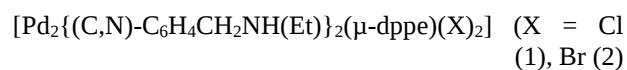
در مطالعه حاضر بین کمپلکس‌های پالادیوم با حلقه پنج عضوی (C1-C4)، ترکیب با استخلاف کلرید (C1)، دارای بیشترین مهار رشد سلولی بر رشد سلول‌ها بود؛ در حالی که در بین کمپلکس‌های پالادیوم با حلقه شش عضوی (C5-C8)، ترکیب با استخلاف برمید (C6)، بیشترین اثر مهار رشد سلولی را نشان داد. این نتایج با پژوهش‌های مشابه در این زمینه همخوانی داشت. به منظور بررسی خاصیت ضد سرطانی این ترکیبات، از دو روش ارزیابی میزان زنده‌مانی سلول‌ها و پراکسیداسیون لیپیدی استفاده شد. بررسی سمیت سلولی، اولین گام در بررسی آپوپتوز است. پدیده آپوپتوز با تغییرات ساختاری در ماکرومولکول‌ها اتفاق می‌افتد (۸).

این پژوهش به منظور بررسی خاصیت ضد سرطانی کمپلکس حلقه‌های پنج و شش عضوی پالادیوم بر سلول‌های Caco2 انجام شد. یافته‌ها بیانگر آن است که تمامی کمپلکس‌های پالادیوم مورد بررسی دارای ویژگی ضد سرطانی هستند. در این مطالعه نتایج آزمون زنده‌مانی به روش MTT نشان داد حداکثر سمیت سلولی در تیمار با کمپلکس C6 بوده است. مطالعه و ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی نیز نشان داد بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در کمپلکس C2 تولید شده است؛ بنابراین مطالعه MTT و ارزیابی پراکسیداسیون به منظور بررسی مکانیسم‌های درگیر در اثر کمپلکس‌های پالادیوم بر سلول‌های سرطانی ضروری است.

هدف سلولی برخی داروهای درمان سرطان، لیپیدها هستند. ترکیباتی که با اسیدهای چرب غیراشباع واکنش داده تا پراکسیداسیون لیپیدها شروع شود (۹،۱۰). اکسیداسیون لیپید، مولکول‌های ژنوتوکسیک متعددی مثل مالون‌دی‌آلدئید، ۲- آلکنال‌ها و ۴- هیدروکسی-۲-آلکنال را تولید می‌کند (۱۱،۱۲). از پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از افزایش ROS می‌توان به عنوان یک نشانگر تومور در مطالعات بالینی استفاده کرد؛ به عنوان مثال، تشخیص مواد فعال واکنش‌دهنده با تیوباربتوریک اسید در سرم بیماران مبتلا به سرطان کولون راست روده، نشان‌دهنده مقادیر بالای پراکسیداسیون لیپیدی است (۱۳).

اسیدهای چرب غیراشباع در غشاهای سلولی، اهداف اولیه ROS هستند که اکسید می‌شوند. محصولات اکسیداسیون لیپیدها شامل متابولیت‌هایی مانند مالون‌دی‌آلدئید، ۴- هیدروکسی - نونال (HNF-۴) و آکروئین بوده که از طریق اتصال به پروتئین‌ها و تغییرات عملکردی آن‌ها، باعث مهار آنزیم‌ها، تغییر ساختار گیرنده‌ها و در نتیجه آسیب سلولی می‌شوند. مطالعات نشان داده‌اند این ترکیبات به عنوان یک نشانگر اکسیداسیون لیپیدها و نشانگر زیستی استرس اکسیداتیو، در سرطان‌های مختلف مانند سرطان سینه به طور مشخصی نسبت به سایر شاخص‌ها افزایش می‌یابد (۱۴-۱۶).

کرمی و همکاران در سال ۱۳۸۹ با بررسی کمپلکس‌های پالادیوم و اثر ضد توموری آن‌ها نشان دادند این ترکیبات بر روی سلول‌های سرطانی مختلف مانند سلول‌های سرطان رحم (Hela)، سرطان روده (HT-29)، سرطان خون (K56) و سرطان پستان (MCF-7) اثرات سیتوتوکسیک متفاوتی دارند. نتایج نشان داد از بین دو ترکیب



ترکیب با استخلاف کلر (۲)، دارای اثر سیتوتوکسی بالاتری نسبت به دیگری است و میزان IC50 نشان می‌دهد اثر سیتوتوکسی این ترکیبات حتی از داروی درمانی سیس‌پلاتین نیز بیشتر است. این بررسی نشان داد هر دو ترکیب مذکور دارای فعالیت تکثیری بالا به مقدار ۲-۹ میکرومولار هستند که این عدد از میزان IC50 برای سیس‌پلاتین در هر رده سلولی کمتر است، به نظر می‌رسد حلالیت مناسب و چربی‌دوستی، به اثر سیتوتوکسی آن‌ها

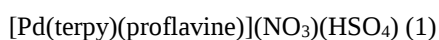
کمک می‌کند. چربی‌دوستی این ترکیبات را می‌توان به حضور گروه‌های حجیم دی فنیل فسفین (PPh₂) نسبت داد که انتقال از غشاهای سلولی را تسهیل می‌کنند. علاوه بر این، حضور لیگاند ۱ و ۲- (بیس‌دیفنیل) فسفینواتان (dppe) به عنوان لیگاند پل‌ساز موجب انعطاف‌پذیری بیشتر در ساختار و برهمکنش با مولکول DNA می‌شود. مقایسه ویژگی ضدسرطانی این ترکیبات با لیگاندهای آزاد، بیانگر فعالیت زیستی بالای این ترکیبات به دلیل حضور عنصر مرکزی پالادیوم می‌باشد. همچنین بررسی‌ها نشان می‌دهد استخلاف کلرید در این ترکیب پالادیوم باعث افزایش خاصیت سیتوتوکسی در رده‌های مختلف سلول شده است (۱۷).

Tusek-Bozic و همکاران در سال ۲۰۰۸ ضمن سنتز کمپلکس‌های پالادیوم (II) با لیگاند منو اتیل ۸-کونولی میتل فسفونات (8-Hmqmp) با بررسی فعالیت ضد توموری آن‌ها، نشان دادند این ترکیبات باعث ممانعت رشد دو رده سلولی سرطانی موش شده و دارای خاصیت ضد توموری هستند. همچنین در مطالعه فوق، فاکتورهای ساختاری مؤثر در فعالیت ضد سرطانی این کمپلکس‌ها مورد بررسی قرار گرفت (۱۸).

Moro و همکاران در سال ۲۰۰۹ با مطالعه کمپلکس‌های سیکلوپالادیت پنج عضوی

$[Pd(C^2,N-dmba)(\mu-X)]_2$ (X = Cl (1), Br (2)) با لیگاندهای N, N- دی میتل بنزیل آمین (dmba) و تیواوره (tu) و فعالیت زیستی آن‌ها بر روی رده‌های سلولی سرطان سینه با استفاده از داروی سیس‌پلاتین برای مقایسه خاصیت ضد سرطانی، نشان دادند نوع لیگاند هالید بر روی خواص ضد سرطانی این کمپلکس‌های پالادیم تأثیر می‌گذارد؛ به طوری که استفاده از لیگاند برمید به جای کلرید باعث بهبود خواص بیولوژیکی ترکیبات اخیر می‌شود (۱۹).

Polyanskaya و همکاران در سال ۲۰۱۰ با بررسی واکنش کمپلکس‌ها پالادیوم با پروفلاوین، سه کمپلکس پالادیوم (II) با فرمول:



و $[Pd(proflavineH)Cl_2](SO_4)$ را جداسازی و تهیه کردند. مقایسه ویژگی ضد سرطانی آن‌ها نشان داد از بین این سه ترکیب،

در مطالعه فوق، خاصیت ضدسرطانی این کمپلکس پالادیوم و کمک به القای آپوپتوز از طریق ممانعت تکثیر و فعال کردن فرآیند آپوپتوز با اثری مشابه داروی سیس‌پلاتین و paclitaxel نسبت داده شد (۲۴).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج آزمون زنده‌مانی سلول‌ها، به‌نظر کمپلکس پالادیوم با حلقه شش عضوی و استخلاف برمید (C6) در بین هشت کمپلکس مورد مطالعه دارای بیشترین ممانعت‌کنندگی بر رشد سلول‌های سرطانی می‌باشند. بین کمپلکس‌های پالادیوم با حلقه پنج عضوی (C1-C4)، ترکیب با استخلاف کلرید (C1) دارای بیشترین مهار رشد سلولی بوده، درحالی‌که در بین کمپلکس‌های پالادیوم با حلقه شش عضوی (C5-C8)، ترکیب با استخلاف برمید (C6)، دارای بیشترین مهار رشد سلولی است. این نتایج با پژوهش‌های مشابه در این زمینه همخوانی و مطابقت دارد. نتایج پراکسیداسیون لیپیدی بیانگر این حقیقت است که به‌طورکلی کمپلکس‌های حلقه پنج و شش عضوی با استخلاف کلرید و برمید نسبت به استخلاف نیترو و متوکسی، بیشترین میزان پراکسیداسیون را بر غشای سلول‌های سرطانی اعمال کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به لحاظ تأمین هزینه‌های این پژوهش (گرنه ۱۳۹۶) تشکر و قدردانی می‌کنند.

ترکیب (۱) و (۳) دارای فعالیت ممانعت‌کنندگی معنی‌داری بر روی سلول‌های سرطانی سینه و رحم می‌باشد (۲۰).

Jević و همکاران در سال ۲۰۱۶ بعد از سنتز کمپلکس‌های مختلفی از پلاتین (IV) با فرمول عمومی

[PtBr₄(R₂-S,S-eddv)], لیگاندها و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها با استفاده از دو روش DPPH و

Reducing Power Assay، مشخص کردند این ترکیبات دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی هستند (۲۱).

Kacar و همکاران نیز در سال ۲۰۱۷ در پی بررسی مکانیسم عمل ترکیبات پالادیومی بر روی سلول‌های سرطانی، نشان دادند کمپلکس‌های پالادیوم ساکارینات از طریق تأثیر بر چرخه سلولی باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌شوند (۲۲).

برای اولین بار اثر فعالیت ضدسرگرای کمپلکس‌هایی بر پایه پالادیوم (II) توسط Ikitimur-Armutak و همکاران در سال ۲۰۱۷

گزارش شد. آنها فعالیت ضدسرگرای پالادیوم بر روی کمپلکس [Pd(sac)(terpy)](sac) (sac = saccharinate; terpy = 2,2':6',2''-terpyridine)4H₂O را

موردبررسی قرار دادند. نتایج نشان داد این دسته از کمپلکس‌های پالادیوم علاوه بر خواص ضدسرطانی، ویژگی‌های ضدسرگرای قابل ملاحظه‌ای دارند (۲۳). همچنین در بررسی اثر کمپلکس پالادیوم [PdCl(terpy)](sac).2H₂O بر روی موش‌های سرطانی، کاهش بیان ژن‌های

p53, PCNA, Bcl-2، همچنین افزایش فعالیت کاسپاز - ۳ و Bax در موش‌های تیمارشده مشاهده گردید.

References:

1. Catala A. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chem Phys Lipids* 2009;157(1):1-11. PubMed
2. Garoufis A, Hadjikakou S, Hadjiliadis N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. *Coord Chem Rev* 2009;253(9):1384-97. Link
3. Gönenç A, Tokgöz D, Aslan S, Torun M. Oxidative stress in relation to lipid profiles in different stage of breast cancer. *Indian J Biochem. Biophys* 2005;42(3):190-4. PubMed

4. Sabounchei SJ, Samiee S, Nematollahi D, Naghipour A, Morales-Morales D. Synthesis, characterization and structural studies of new palladium(II) complexes including non-symmetric phosphorus ylides. *Inorg Chim Acta* 2010;363(14):3973-80. Link
5. Präbst K, Engelhardt H, Ringgeler S, Hübner H. Basic colorimetric proliferation assays: MTT, WST, and Resazurin. *Methods Mol Biol* 2017;1601:1-17. PubMed
6. Berridge MV, Herst PM, Tan AS. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. *Biotechnol Annu Rev* 2005;11:127-52. PubMed
7. Hosseini MJ, Jafarian I, Farahani S, Khodadadi R, Tagavi SH, Naserzadeh P, et al. New mechanistic approach of inorganic palladium toxicity: Impairment in mitochondrial electron transfer. *Metallomics* 2016;8(2):252-9. PubMed
8. Esterbauer H and Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990;186:407-21. Link
9. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Chem* 1978;86(1):271-8. PubMed
10. Spiteller G. The relation of lipid peroxidation processes with atherogenesis: A new theory on atherogenesis. *Mol Nutr Food Res* 2005;49(11):999-1013. PubMed
11. Rael LT, Thomas GW, Craun ML, Curtis CG, Bar-Or R, Bar-Or D. Lipid peroxidation and the thiobarbituric acid assay: standardization of the assay when using saturated and unsaturated fatty acids. *J Biochem Mol Biol* 2004;37(6):749-52. PubMed
12. Wilson DW, Metz HN, Graver LM, Rao PS. Direct method for quantification of free malondialdehyde with high-performance capillary electrophoresis in biological samples. *Clin Chem* 1997;43(10):1982-4. PubMed
13. Penning TM, Ohnishi ST, Ohnishi T, Harvey RG. Harvey. Generation of reactive oxygen species during the enzymatic oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbon trans-dihydrodiols catalyzed by dihydrodiol dehydrogenase. *Chem Res Toxicol* 1996;9(1):84-92. PubMed
14. Tullberg C, Larsson K, Carlsson NG, Comi I, Scheers N, Vegarud G, et al. Formation of reactive aldehydes (MDA, HHE, HNE) during the digestion of cod liver oil: comparison of human and porcine in vitro digestion models. *Food Funct* 2016;7(3):1401-12. PubMed
15. Larsson K, Harrysson H, Havenaar R, Alminger M, Undeland I. Formation of malondialdehyde (MDA), 4-hydroxy-2-hexenal (HHE) and 4-hydroxy-2-nonenal (HNE) in fish and fish oil during dynamic gastrointestinal in vitro digestion. *Food Funct* 2016;7(2):1176-87. PubMed
16. Almroth BC, Sturve J, Berglund Å, Förlin L. Oxidative damage in eelpout (*Zoarces viviparus*), measured as protein carbonyls and TBARS, as biomarkers. *Aquat Toxicol* 2005;73(2):171-80. PubMed
17. Karami K, Hosseini-Kharat M, Sadeghi-Aliabadi H, Lipkowski J, Mirian M. In vitro cytotoxicity studies of palladacyclic complexes containing the symmetric diphosphine bridging ligand. Studies of their interactions with DNA and BSA. *Eur J Med Chem* 2014;73:8-17. PubMed
18. Tusek-Božić L, Juribasic M, Traldi P, Scarcia V, Furlani A. Synthesis, characterization and antitumor activity of palladium(II) complexes of monoethyl 8-quinolylmethylphosphonate. *Polyhedron* 2008;27(4):1317-28. Link
19. Moro AC, Mauro AE, Netto AV, Ananias SR, Quilles MB, Carlos IZ, et al. Antitumor and antimycobacterial activities of cyclopalladated complexes: X-ray structure of [Pd(C2,N-dmba)(Br)(tu)] (dmba=N,N-dimethylbenzylamine, tu=thiourea). *Eur J Med Chem* 2009;44(11):4611-5. PubMed
20. Polyanskaya TV, Kazhdan I, Motley DM, Walmsley JA. Synthesis, characterization and cytotoxicity studies of palladium(II)-proflavine complexes. *J Inorg. Biochem* 2010;104(11):1205-13. Link

21. Jevic VV, Radic GP, Stefanovic OD, Radojevic ID, Vasic S, Comić LR, et al. Part XXIII. Synthesis and characterization of platinum(IV) complexes with O,O'-dialkyl esters of (S,S)-ethylenediamine-N,N'-di-2-(3-methyl)butanoic acid and bromido ligands. Antimicrobial, antibiofilm and antioxidant screening. *Inorg. Chim Acta* 2016;442:105-10. Link
22. Kacar O, Cevatemre B, Hatipoglu I, Arda N, Ulukaya E, Yilmaz VT, et al. Role of cell cycle progression for the apoptosis of cancer cells induced by palladium(II)-saccharinate complexes of terpyridine. *Bioorg Med Chem* 2017;25(6):1770-7. Link
23. Ikitimur-Armutak EI, Gurel-Gurevin E, Kiyan HT, Aydinlik S, Yilmaz VT, Dimas K, et al. Anti-angiogenic effect of a Palladium(II)-Saccharinate complex of Terpyridine in vitro and in vivo. *Microvasc Res* 2017;109:26-33. Link
24. Ikitimur-Armutak EI, Ulukaya E, Gurel-Gurevin E, Yaylim I, Isbilen-Basok B, Sennazli G, et al. Apoptosis-inducing Effect of a Palladium(II) Complex-[PdCl(terpy)](sac).2H₂O on Ehrlich Ascites Carcinoma (EAC) in Mice. *In vivo* 2016;30(4):457-64. Link