

ارزیابی فعالیت سمیت سلولی، مطالعات بر همکنش با DNA و آنزیم تیوردوکسینردوکتاز کمپلکس های ناجورهسته دوفلزی پلاتین (II)-طلا (I) به عنوان عوامل بالقوه ضدسرطان

مسعود فریدون نژاد^{۱*}، فروغ کلانتری^۲

چکیده

زمینه و هدف: داروهای شیمی درمانی بر پایه ی فلزات پلاتین مانند داروی سیسپلاتین امروزه بطور وسیع در درمان سرطان مورد استفاده قرار می گیرند. اما به دلیل عوارض جانبی زیاد استفاده از این ترکیبات محدود شده است. تمام تلاشهای امروزه برای طراحی داروهای جدید پلاتینی و همچنین داروهای هیبریدی از طلا و پلاتین می باشد که پایه عملکرد آنها مشابه سیسپلاتین است ولی دارای عوارض جانبی کمتر و طیف اثر بیشتر روی انواع سرطان باشند.

روش بررسی: در این مطالعه، فعالیت سمیت سلولی کمپلکس های ناجورهسته دو فلزی پلاتین (II)-طلا (I) بر روی رده های سلولی سرطانی دهانه رحم (Hela)، کولون (SW1116)، پستان (MDA-MB-231) و همچنین سالم پستان (MCF-12A) به روش MTT مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات داکینگ مولکولی این ترکیبات با DNA و تیوردوکسینردوکتاز (TrxR) به عنوان اهداف ترکیبات پلاتین و طلا توسط نرم افزار AutoDock 4.2 انجام گردید. با استفاده از روش ستاره دنباله دار فعالیت ژنوتوکسیستی بهترین ترکیب سیتوتوکسیک نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: در ارزیابی فعالیت سیتوتوکسیک، کمپلکس های **1b** و **2b** اثرات سمیت سلولی بهتری نسبت به سیسپلاتین از خود نشان دادند. تمامی ترکیبات اثر سمیت پایین تری نسبت به سیسپلاتین روی رده سالم پستان (MCF-12A) نشان دادند. برهم کنش ترکیبات با DNA و TrxR توسط داکینگ نیز بررسی گردید و نحوه و چگونگی اتصال ترکیبات به آنها مشخص گردید. همچنین اثر این ترکیبات بر واپاشی DNA با روش ستاره دنباله دار مورد تایید قرار گرفت.

نتیجه گیری: کمپلکس های **1b** و **2b** این قابلیت را دارند تا با بررسی های بیولوژیک بیشتر، در درمان سرطان نقش موثری را ایفا کنند.

واژگان کلیدی: کمپلکس های هترو دوفلزی پلاتین (II)-طلا (I)، داکینگ مولکولی، سمیت سلولی، ژنوتوکسیستی.

۱- استادیار گروه شیمی دارویی.

۲- دانشجوی دکتری حرفه ای داروسازی.

۱- گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه

علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

۲- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی

جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

* نویسنده مسئول:

مسعود فریدون نژاد، گروه شیمی دارویی، دانشکده

داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز،

اهواز، ایران.

تلفن: ۰۰۹۸۹۱۷۳۳۹۴۸۹۴

Email: Fereidoonnezhad-m@ajums.ac.ir

مقدمه

این رو گونه‌های طلا دسترسی خوبی به دسته‌ای از ترکیبات فلزی غیر پلاتینی با خصوصیات فارماکودینامیک و فارماکوکنتیک مشابه سیس پلاتین دارند، که هدف اصلی پژوهش‌های شیمی دارویی بیوارگانیک و بیوارگانومتالیک می‌باشند (۹).

با توجه به اینکه ۵۰ درصد بیماران سرطانی بخصوص بیماران دارای تومورهای جامد در پروتوکول درمانی خود یکی از داروهای پلاتینی را مصرف می‌کنند (۱۰) و از سویی همانطور که ذکر شد، این داروها عوارض جانبی وسیعی برخوردار هستند. بنابراین معرفی و توسعه کمپلکس های جدید هیبریدی پلاتین (II)-طلا (I) در درمان سرطان، در خور توجه بسیار می‌باشد.

در ادامه کارهای تحقیقاتی تیم ما در معرفی و توسعه کمپلکس‌های پلاتین (II) و طلا (I) با خواص ضد سرطانی، به منظور بررسی فعالیت بیولوژیک بیشتر کمپلکس‌های ناجورهسته دو فلزی پلاتین (II)-طلا (I)، که اخیراً سنتز و همچنین فعالیت سمیت سلولی آنها را روی رده های سلولی سرطان ریه انسانی (A549)، تخمدان (SKOV3) و پستان (MCF-7) گزارش نمودیم (۱۱)، در این مطالعه، فعالیت سمیت سلولی این کمپلکس‌ها روی رده‌های سلولی سرطانی دهانه رحم (Hela)، کولون (SW1116)، پستان (MDA-MB-231) و همچنین سالم پستان (MCF-12A) به روش MTT مورد بررسی قرار می‌گیرد. همچنین به منظور بررسی مکانیسم عمل ضدسرطانی آنها، مطالعه نوع برهمکنش آنها با DNA و TrxR توسط روش داکینگ مولکولی و همچنین روش آزمایشگاهی ژنوتوکسیسیتی بررسی می‌گردند تا گامی هرچند کوچک اما بسیار ارزشمند در معرفی ترکیبات جدید دارویی در درمان سرطان ارائه دهیم.

بعد از کشف تاریخی فعالیت ضد توموری سیس پلاتین (سیس-دی آمین دی کلرو پلاتین (II))، تعداد زیادی از کمپلکس‌های پلاتین طراحی، سنتز و تست های زیادی بر روی مقاومت تومورها به سیس پلاتین، عوارض جانبی، سمیت و حلالیت کم آن در آب به منظور افزایش اثر بخشی این دارو انجام شده است (۱، ۲). این رنسانس پرشتاب در شیمی دارویی منجر به سنتز و ارزیابی بیولوژیکی هزاران مشتق سیس پلاتین و تحقیق درمورد عناصر مجاور پلاتین مانند پالادیوم و طلا شد (۳، ۴). از هر ۳۰۰۰ ترکیب پلاتین سنتز شده تنها حدود ۳۵ عدد محاسن داروی مرتبط با سیس پلاتین را جهت تایید آزمایش‌های بالینی نشان داده اند (۵). از این تعداد، کربوپلاتین و اکسالی پلاتین در سطح جهانی تایید شده‌اند و موفقیت بزرگی در عرصه بالینی به بار آورده‌اند. کربوپلاتین یک آنالوگ نسل دوم پلاتین است که اثراتش همانند سیس پلاتین بوده و در درمان تومورهای جامد موثر است. سمیت کلیوی و گوارشی آن کمتر از سیس پلاتین است ولی به دلیل سرکوب مغز استخوان دارای محدودیت مصرف است (۶). اکسالی پلاتین یک آنالوگ نسل سوم است که دارای مکانیسم اثر شبیه سیس پلاتین و کاربوپلاتین است. این دارو بر سلول‌های سرطانی که به سیس پلاتین و کربوپلاتین مقاومند موثر است. امروزه اکسالی پلاتین به عنوان خط اول درمان در سرطان پیشرفته کولورکتال و درمان کمکی سرطان کولون به طور گسترده به کار می‌رود، اما سمیت عصبی، محدود کننده دوز دارو است (۷).

در بین داروهای غیر پلاتینی جدید به طور خاص گونه‌های طلا توجه زیادی را به دلیل اثرات مهارکننده‌ی رشد تومور به خود جلب نموده و نشان داده‌اند که بسیاری از این ترکیبات سبب مهار آنزیم تیوردوکسین ردوکتاز (TrxR) با قدرت و گزینش پذیری بالا می‌شوند. TrxR برای اثرات ضد تکثیر بافت‌های تومور حائز اهمیت است و مهار آن با تحریک اثرات ضد میتوکندریایی در ارتباط می‌باشد (۸). از

روش بررسی

شدند. بعد از ۲۴ ساعت نهفتگی (رشد و تکثیر) هر سلول با ۵ غلظت متفاوت از ترکیبات در محدوده ۱ تا ۱۰۰ میکرومولار مورد عمل قرار گرفتند. بعد از ۷۲ ساعت، محیط کشت با ۱۵۰ میکرولیتر محیط کشت محتوی ۰/۵ (mg/ml) محلول MTT جایگزین شد. سپس محیط کشت حاوی محلول MTT دور ریخته شده و به هر کدام از چاهک‌ها ۱۵۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) افزوده شد تا کریستال‌های تشکیل شده را حل کند. محلول‌ها در طول شب در محفظه رشد قرار گرفته بودند. جذب هر چاهک بطور جداگانه در طول موج ۵۷۰ نانومتر و طول موج فرانس Bio-Rad ۶۳۰ نانومتر با استفاده از میکروپلیت خوان (مدل ۶۸۰) اندازه‌گیری شد. برای تعیین IC₅₀، ابتدا نمودار درصد مهار کنندگی بر حسب غلظت (غلظت‌های ۱، ۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) توسط نرم افزار CurveExpert professional رسم شد (۱۳). بوسیله آن غلظتی از دارو را که در آن فقط ۵۰٪ سلول‌ها زنده می‌ماند (Inhibitory Concentration 50:IC₅₀)، بدست آمد. این کار سه بار برای هر کمپلکس مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف استاندارد گزارش شده است.

داکینگ مولکولی: مطالعات داکینگ مولکولی این ترکیبات با DNA و آنزیم تیوردوکسین‌ردوکتاز (TrxR) توسط نرم افزار AutoDock 4.2 (ADT) انجام گردید (۱۴، ۱۵، ۱۷). به منظور انجام مطالعات داکینگ، بهترین ساختار کریستالوگرافی اشعه ایکس مربوط به DNA، ساختار با PDB کد 1BNA، و از آنزیم TrxR کد 4CBQ از بانک داده‌های پروتئینی (www.rscb.org) استخراج گردیدند. با استفاده از نرم افزار modelface تمام تصحیح‌های اسید آمینه‌ای یا بازهای DNA انجام می‌گردد و لیگاند کوکریستاله و آب حذف می‌گردند. سپس با استفاده از نرم افزار ADT اتم‌های هیدروژن غیرقطبی در اتم کربن مربوطه ادغام شده و بارالکتریکی کُلْمَن (Kollman)

در این مطالعه چهار کمپلکس پلاتین(II) (شکل ۱) جهت ارزیابی بیولوژیک بررسی گردیدند (۱۱). کمپلکس‌های $\{Pt(p\text{-}1b (C^{\wedge}N = ppy) [Pt(p\text{-}MeC_6H_4)(C^{\wedge}N)(dppm)]AuCl\}$, $2b (C^{\wedge}N = bzq)$ کمپلکس‌های ناجورهسته دو فلزی پلاتین(II)-طلا(I) هستند، که ppy لیگاند ۲-فنیل پیریدین، bzq لیگاند بنزو [اچ] کینولین و dppm لیگاند دو دندان فسفینی او-۱ بیس (دی فنیل فسفینو) متان می‌باشند. کمپلکس‌های $1a (C^{\wedge}N = bzq) [Pt(p\text{-}2a (C^{\wedge}N = ppy) [Pt(p\text{-}MeC_6H_4)(C^{\wedge}N)(dppm)]$ ، پلاتینی (II) در ساختار خود می‌باشند نیز به منظور بررسی تاثیر هسته طلا (I) بر روی فعالیت بیولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفته اند.

سمیت سلولی به روش MTT: رده‌های سلولی سرطانی دهانه رحم (Hela)، کولون (SW1116)، پستان (MDA-MB-231) و همچنین سالم پستان (MCF-12A) در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند، این سلول‌ها از بانک سلولی ملی ایران تهیه شدند. (موسسه پاستور، تهران، ایران). همه‌ی سلول‌ها در RPMI 1640 به همراه ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) و پنی سیلین-استرپتومایسین در محفظه رشد CO₂ مرطوب در دمای ۳۷°C کشت داده شدند. درخصوص رده نرمال پستان محیط کشت مخلوط به نسبت ۱:۱ از DMEM و Ham's F12 (PAA Laboratories GmbH) بود. میزان سمیت سلولی کمپلکس‌های ناجورهسته دو فلزی پلاتین(II)-طلا(I) (شکل ۱) با آزمایش استاندارد ۳- (۴، ۵) دی‌متیل تیازولیل (۲-۵، ۲-دی‌فنیل-تترازولیوم برمید (MTT) مورد بررسی قرار گرفت. این سنجش طبق روش شناخته شده انجام شده است (۱۲-۱۶). سلول‌ها جمع‌آوری شده و در میکرو پلیت ۹۶-چاهکی با دانسیته سلولی 1×10^4 در هر چاهک، در محیط کشت کلی ۱۸۰ میکرولیتری قرار داده

از تکرار در محاسبه Autogrid برای هر یک از لیگاندهای بانک ساختاری، نقشه تمام اتم‌هایی که توسط نرم‌افزار AutoDock پوشش داده می‌شود محاسبه و از این فایل‌ها در تمام محاسبات استفاده شد. در مرحله بعد باید فایل‌های اجرایی برنامه تعریف شده و همچنین پارامترهای مختلف داکینگ نیز تنظیم گردد. این اطلاعات به صورت فایل خروجی پارامتر داکینگ (dpf) و توسط نرم‌افزار ADT ذخیره می‌گردند. از آنجا که ترکیبات مورد مطالعه فلزدار هستند لازم است که در خروجی های داکینگ (dpf و gpf) پارامتر فلز پلاتین و طلا در فایل های مذکور کپی شود (۱۳). رتبه بندی تنها بر اساس داده‌های انرژی آزاد اتصال لیگاند-رستپور از فایل خروجی نهایی داکینگ (dlg) انجام گرفته است. جهت نشان داده نحوه برهمکنش ترکیبات با گیرنده از نرم افزارهای MOE 2014 (۲۱) و همچنین ADT استفاده شد. در این مطالعه از یک روش متداول برای معتبرسازی محاسبات داکینگ استفاده شده است. در این روش اختلاف مجذورمربع میانگین (RMSD) مختصات اتم‌های مربوط به کنفورماسیون لیگاند اصلی مستخرج از ساختار کریستالوگرافی و برترین کنفورماسیون محاسبه شده این لیگاند توسط محاسبات داکینگ به عنوان معیاری از صحت بهترین کنفورمر پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار استفاده شده است.

ژنوتوکسیسیتی ترکیب **2b**: با استفاده از تست comet assay فعالیت ژنوتوکسیسیتی ترکیب **2b** مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۲، ۱۳، ۲۲). برای انجام این کار سلول‌های MDA-MB-231 در محیط کشت آماده و با غلظت‌های نزدیک IC₅₀ از این ترکیب (۴ و ۸ میکرومولار) تحت تیمار قرار گرفتند. سلول‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور رطوبت دار با ۵٪ CO₂ انکوبه شدند. سپس سلول‌ها به صورت معلق در ۱۰۰ میکرولیتر PBS ۱×، مخلوط با آگارزا نقطه ذوب پایین (LMPA) (low melting point agarose) و در ادامه بر روی

(Charge) و پارامترهای حلال‌پوشی ماکرومولکول محاسبه و در نهایت فایل ماکرومولکول به صورت pdbqt ذخیره گردید. از سوی دیگر، ساختار دو بعدی کمپلکس‌های ناجورهسته دو فلزی پلاتین (II)-طلا (I) با استفاده از نرم‌افزار ChemBioDraw 2D ترسیم شده و سپس به محیط نرم‌افزار گرافیکی Hyperchem 8 منتقل گردید. در این حالت بهینه‌سازی کنفورماسیون لیگاند از نظر انرژی با روش مولکولار مکانیک (MM⁺) انجام گرفت. در ادامه با برنامه Gaussian 09 و تحت روش Hartree-Fock بهینه شدن انرژی انجام گردید. این فایل به صورت pdb ذخیره گردید. پس از بهینه‌سازی انرژی لیگاند، بارالکتریکی گستیگر (Gastiger)، بارهای الکتریکی اتم که به صورت تجربی محاسبه می‌گردد) و تعداد درجات آزادی زوایای پیچشی (Torsional degree of freedom) لیگاند با استفاده از نرم‌افزار ADT محاسبه شد. در نهایت فایل لیگاند به صورت pdbqt ذخیره گردید.

پس از آماده‌سازی فایل‌های ورودی مورد نیاز داکینگ (ماکرومولکول، لیگاند و نقشه اتصال)، مطالعات داکینگ به منظور مدل‌سازی برهم‌کنش‌های لیگاند-DNA و آنزیم، با استفاده از الگوریتمی تحت عنوان ژنتیک لامارکین (Lamarckian Genetic Algorithm (LGA)) انجام شد (۱۸-۲۰). در مطالعه حاضر، بر اساس حجم مولکولی لیگاندهای طراحی شده، شبکه‌ای با ابعاد ۴۰×۷۴×۶۰ آنگستروم برای IBNA و با ابعاد ۴۰×۴۰×۴۰ آنگستروم برای 4CBQ در راستای محورهای سه‌گانه مختصات و فاصله نقاط شبکه ۰/۳۷۵ آنگستروم (یک چهارم طول پیوند ساده کربن-کربن) که دربرگیرنده جایگاه فعال DNA و آنزیم بود، در نظر گرفته شد. مختصات مرکز جعبه برای رستپور IBNA عبارتند از (۹/۸۸، ۲۱/۳۱، ۱۵/۸۱) و برای رستپور 4CBQ عبارتند از (۴/۹۲، -۷/۱۱، -۲۲/۲۵). محاسبه Autogrid با پارامترهای تخصیص یافته منجر به تولید فایل نقشه اتم‌های مختلف می‌شود. به منظور اجتناب

ارزیابی اثرات سیتوتوکسیک بر روی رده‌های سرطانی بیشترین سمیت مشاهده شده در بین ترکیبات، در مجموع مربوط به ترکیب **2b** بود. این ترکیب دارای IC_{50} های ۹/۴۸، ۱۳/۶۸ و ۴/۳۹ میکرومولار به ترتیب بر روی رده‌های سرطانی دهانه رحم، کولون و پستان بود، درحالی که سیس‌پلاتین دارای IC_{50} های ۱۷/۵۹، ۳۸/۴۵ و ۱۷/۵۰ میکرومولار به ترتیب بر روی همین رده‌های سرطانی بود. کمپلکس های **1b** نیز اثرات سیتوتوکسیک بهتری نسبت به سیس‌پلاتین از خود نشان داد. این ترکیب دارای IC_{50} های ۱۳/۶۶، ۱۸/۷۴ و ۶/۶۲ میکرومولار به ترتیب بر روی رده‌های سرطانی دهانه رحم، کولون و پستان بود. دو ترکیب **1b** و **2b** از سیس‌پلاتین بر روی تمام رده‌های مورد بررسی قدرتمندتر عمل کرده‌اند. در ارزیابی اثرات سیتوتوکسیک بر روی رده سالم پستان (MCF-12A)، تمامی ترکیبات اثر سمیت پایین تری نسبت به سیس‌پلاتین از خود نشان دادند.

داکینگ مولکولی: کمپلکس های مورد مطالعه روی جایگاه فعال آنزیم تیوردوکسین‌ردوکتاز (TrxR) و DNA داک شدند. در این مرحله ترکیبات بر اساس امتیاز تخصیص یافته رتبه‌بندی شدند. این رتبه بندی تنها بر اساس داده‌های انرژی آزاد اتصال لیگاند-رسپتور انجام گرفته است. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، ترکیبات **1b** و **2b** دارای بهترین (منفی ترین) انرژی اتصال به DNA می‌باشند. و از ساختارهایی که اتم طلا در ساختار خود ندارند اتصال بهتری به DNA نشان داده اند. همچنین این دو ترکیب دارای بهترین (منفی ترین) انرژی اتصال به TrxR می‌باشند. از نظر آماری هیچ تفاوت معناداری بین انرژی آزاد اتصال این دو ترکیب وجود ندارد.

در بررسی نحوه اتصال ترکیب **2b** به DNA با کد 1BNA، همانطور که مشاهده می‌شود این ترکیب در شیار کوچک (minor groove) DNA قرار گرفته، به شکلی که حلقه بنزو[اچ]کنولین (bzq) به سمت شیار قرار گرفته

صفحه های لغزنده (لام) پوشش داده شده با آگارز با نقطه ذوب نرمال (NMPA) قرار گرفتند. سپس یک روکش (جلد پوششی، coverslip) بر روی ژل قرار داده شد و در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه گذاشته شدند. و پس از آن روکش برداشته شد و ۱۰۰ میکرولیتر از (LMPA) به لایه مخلوط ژل آگارز اضافه شد، و با پوشش (روکش) جدیدی پوشیده شد و در دمای ۴ درجه سانتیگراد و به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. در ادامه روکش-ها برداشته شده و صفحه‌ها را به داخل محلول لیز سرد غوطه‌ور گشته و به مدت یک شب در حالت سرد نگه داشته شد و در بافر الکتروفورز قلیایی سرد تازه به مدت ۴۰ دقیقه قرار داده شد. صفحات با ولتاژ تنظیم شده (۲۴ ولت) و جریان (۳۰۰ میلی آمپر) الکتروفورز شدند. سپس صفحه‌ها در معرض بافر خنثی (Tris (pH=7.4) و آب مقطر به مدت ۵ دقیقه و سپس به ترتیب در اتانول ۷۰٪، ۹۰٪ و ۱۰۰٪ (مرک آلمان) قرار گرفتند. صفحه‌ها با ۱۰۰ میکرولیتر پروپیدیم دیدیم (PI) (۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ فلورسنت با وضوح بالا (BX61, Olympus) مشاهده شدند. تصاویر با بزرگنمایی $\times 20$ گرفته شده و با استفاده از نرم افزار تصویر برداری میکروالمپوس (cellSens (Olympus micro imaging software cellSens, Japan) آنالیز و بررسی شدند (۲۳).

یافته‌ها

سمیت سلولی: در این مطالعه، فعالیت سمیت سلولی کمپلکس‌های ناجور هسته دو فلزی پلاتین (II)-طلا (I) بر روی رده‌های سلولی سرطانی دهانه رحم (Hela)، کولون (SW1116)، پستان (MDA-MB-231) و همچنین سالم پستان (MCF-12A) به روش MTT مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در جدول ۱ آورده شده است، در

ژنوتوکسیسیته: در این مطالعه سمیت نسبی ترکیبات **2b** بالا بوده و از طریق روش ستاره دنباله دار (comet assay) نیز مورد ارزیابی قرار گرفته است. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می شود، تیمار سلول های رده MDA-MB-231 با غلظت های نزدیک IC_{50} (۴ میکرومولار) و غلظت دو برابر IC_{50} (۸ میکرومولار) ترکیب مذکور باعث ایجاد دنباله نسبتاً طولانی به دنبال سلول ها می شود که نشان دهنده توانایی ژنوتوکسیسیته قوی این ترکیب است، این نتایج مشخص می کند که ترکیب **2b** به خوبی ژنوم سلول-های سرطانی را مورد هدف قرار م دهد و برهمکنش مستقیم ترکیبات با DNA را تأیید می کند.

است و عمدتاً از طریق این حلقه خود با بازهای C11, G10, G4 و C2 برهم کنش می دهد (شکل ۲). اتصال این ترکیبات با اسیدهای آمینه جایگاه فعال آنزیم TrxR نیز بررسی شده است. در شکل ۳ نحوه برهم کنش **1b** با آنزیم TrxR نشان داده شده است. مهمترین اتصال این ترکیب که باید دیده شود، اتصال اتم طلا به اسید آمینه Cys286 می باشد که همانطور که مشخص است این نوع برهمکنش دیده می شود. این ترکیب از طریق حلقه پیریدین خود نیز با اسید آمینه Gly271 پیوند برقرار کرده است.

جدول ۱: نتایج ارزیابی فعالیت سمیت سلولی روی رده های سرطانی و نرمال بصورت IC_{50}

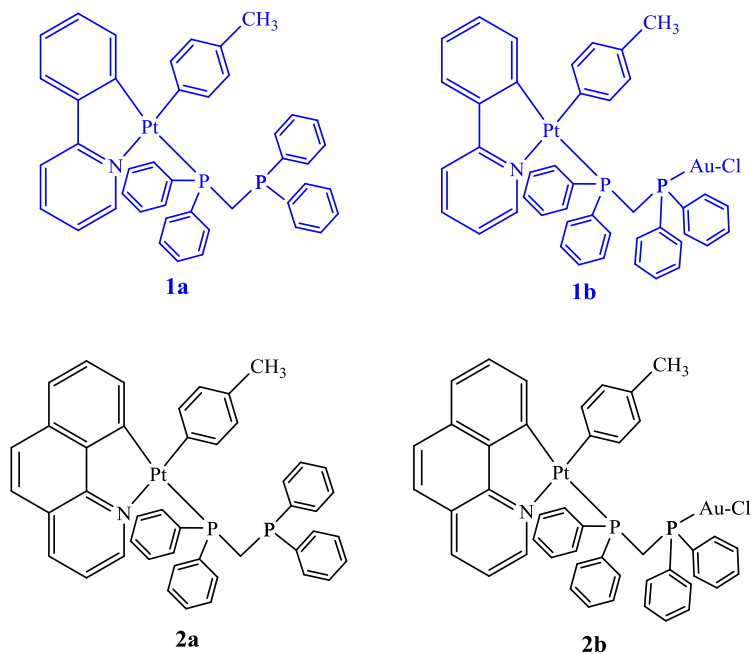
$(IC_{50} \pm SD) \mu M$				کد ترکیب
MCF-12A	MDA-MB-231	SW1116	Hela	
>100	>100	>100	$98/31 \pm 1/09$	1a
$34/62 \pm 1/44$	$6/62 \pm 0/89$	$18/74 \pm 1/22$	$13/66 \pm 0/73$	1b
>100	>100	$96/54 \pm 2/47$	$85/68 \pm 1/34$	2a
$32/54 \pm 1/27$	$4/39 \pm 0/33$	$13/68 \pm 1/43$	$9/48 \pm 1/55$	2b
$27/21 \pm 1/66$	$17/50 \pm 1/30$	$38/45 \pm 0/86$	$17/59 \pm 0/71$	سیس پلاتین

جدول ۲: نتایج داکینگ ترکیبات با DNA و آنزیم تیوردوکسین ردوکتاز (TrxR)

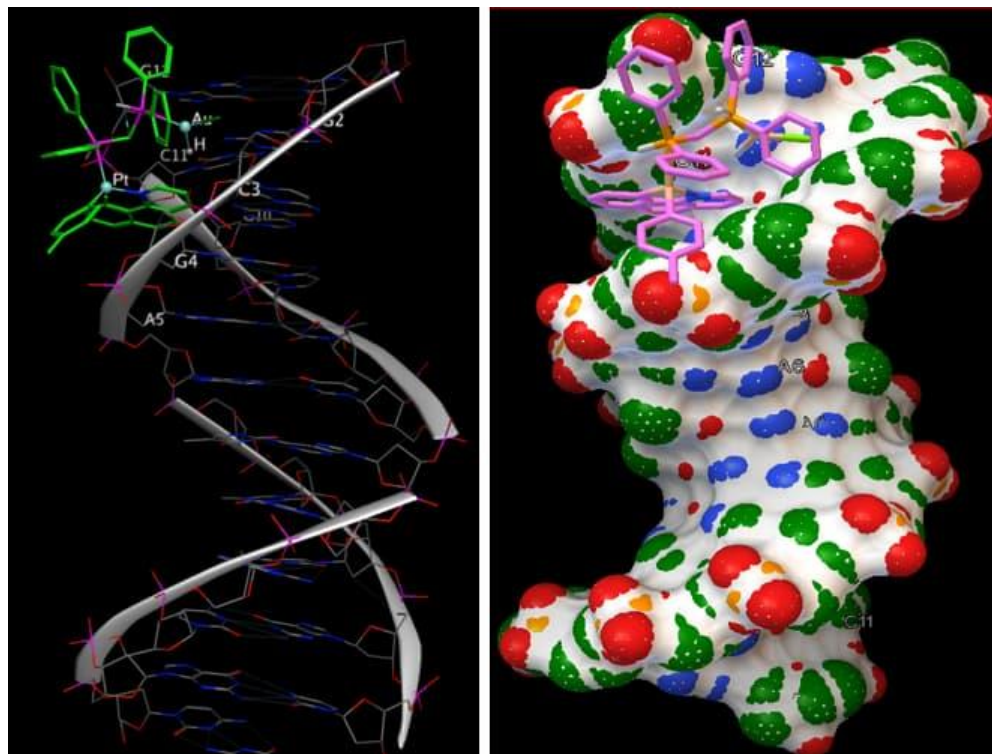
انرژی اتصال داکینگ (Kcal/mol)		
β -1BNA	4CBQ ^{الف}	کد ترکیب
-7.39	-5.74	1a
-8.77	-6.80	1b
-7.48	-5.61	2a
-8.28	-6.69	2b

^{الف} ساختار دودکامر B-DNA

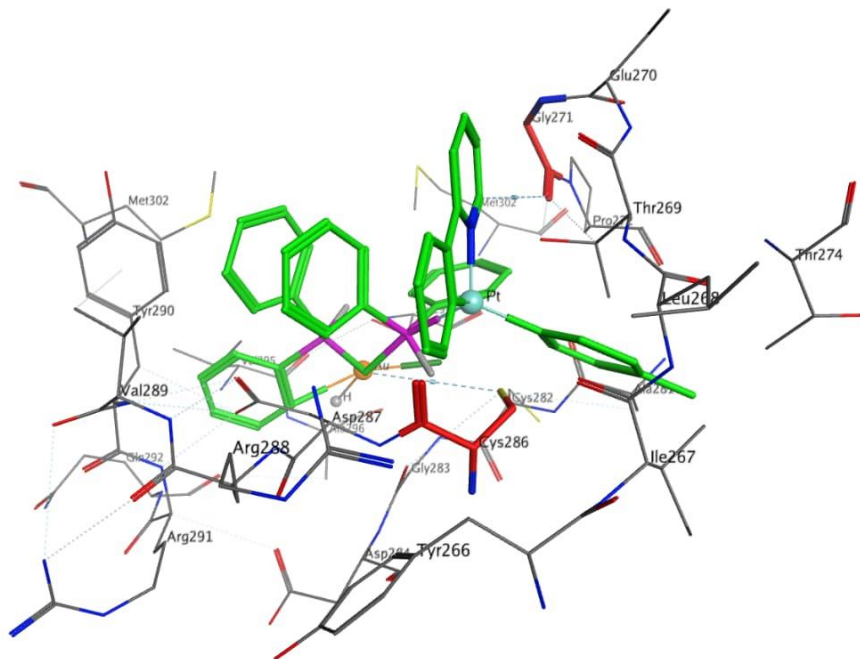
^ب ساختار کریستالی تیوردوکسین ردوکتاز با داروی آرانوفین (auranofin) متصل به Cys286



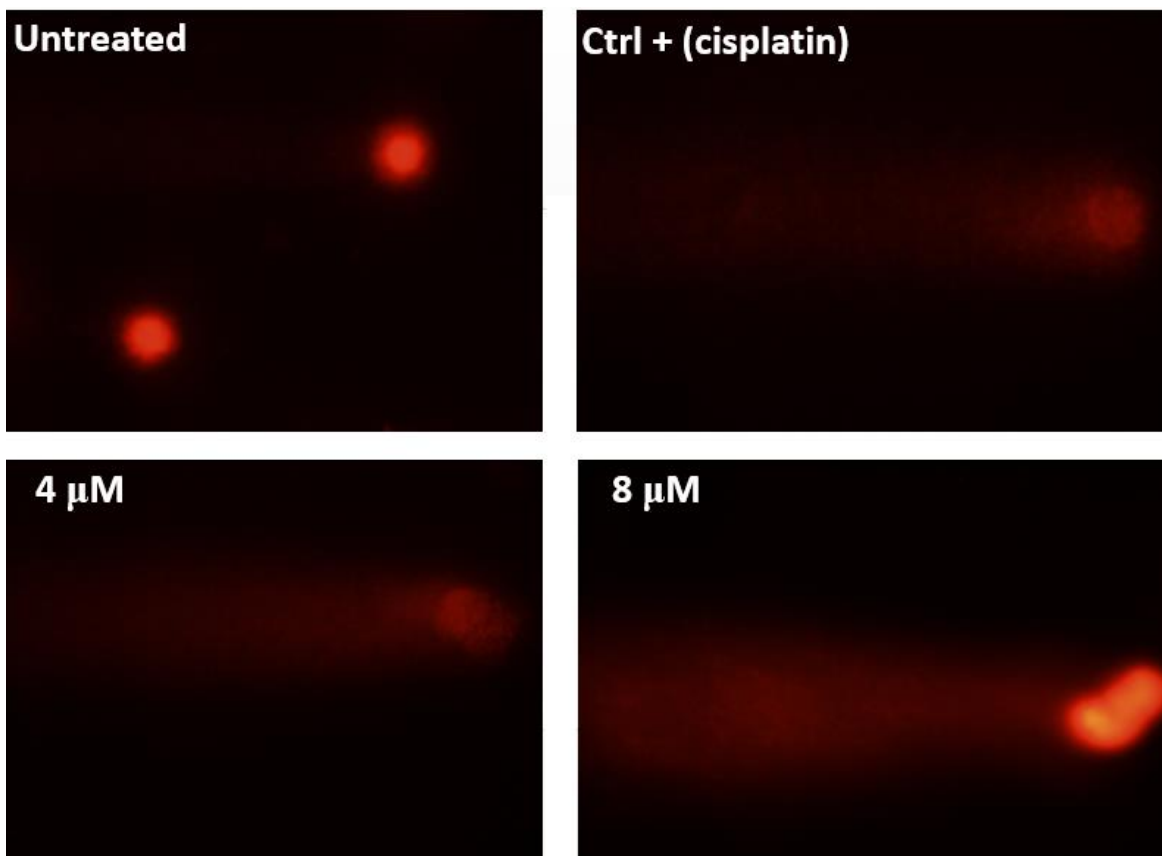
شکل ۱: ساختار کمپلکس‌های هترودفلزی پلاتین (II) - طلا (I) مورد استفاده در ارزیابی بیولوژیک (۱۱)



شکل ۲: نمایش ۳-بعدی نحوه برهم‌کنش ترکیب 2b با جایگاه فعال 1BNA



شکل ۳: نمایش ۳-بعدی نحوه برهم کنش ترکیب 1b با جایگاه فعال آنزیم تیوردوکسین ردوکتاز (4CBQ)



شکل ۴: اثر ژنوتوکسیک بر روی سلول های MDA-MB-231. درصد تخریب DNA به صورت دنباله قابل مشاهده است.

بحث

بررسی مکانیسم عمل ترکیبات مورد مطالعه، داکینگ مولکولی آنها در جایگاه فعال آنزیم تیوردوکسین ردوکتاز (TrxR) و DNA بررسی گردید. نحوه و چگونگی اتصال آنها مهار آنزیم TrxR نقش کلیدی در درمان سرطان از طریق کاهش رشد تومور، افزایش ROS (گونه‌های اکسیژن فعال)، مدولاسیون نسخه برداری، افزایش پیری، افزایش توقف چرخه سلولی، افزایش مرگ سلولی و کاهش برگشت تومور دارد. از آنجایی که لیگاند کوکریستاله آنزیم TrxR یعنی داروی آرانوفین (Auranofin) در اتصال به رسپتور خود دارای انرژی آزاد اتصال ۴/۸۱- کیلوکالری بر مول می‌باشد و همانطور که در جدول ۱ آورده شده است، کمپلکس‌های **1b** و **2b** دارای انرژی اتصال به مراتب بهتری هستند، بنابراین در فاز مولکولار مدلینگ اثر این ترکیبات بر آنزیم TrxR قابل اثبات می‌باشد. هرچند که برای اثبات آن در عمل نیاز به بررسی کیت آنزیمی آن می‌باشد.

مطالعات داکینگ مولکولی در صورتی موفقیت‌آمیز خواهد بود که روش‌های به کار رفته در آن اعتبارسنجی شده باشند. در اعتبارسنجی فرایند داکینگ محقق شیمی دارویی به دنبال پاسخ به این پرسش است که منابع نرم‌افزاری و روش انتخاب شده تا چه میزان توانایی تمیز دادن بین ترکیبات فعال و غیرفعال را دارند. روش‌های مختلفی برای اعتبارسنجی فرایند داکینگ و تابع امتیازدهی آن وجود دارد (۲۴). یک روش متداول، بررسی کانفورماسیون پیش‌بینی شده در فرایند داکینگ است. در این روش یک ترکیب با ساختار و جهت‌گیری مشخص در جایگاه فعال آنزیم (معمولاً ساختار کریستالوگرافی دارای لیگاند)، با استفاده از نرم‌افزار داکینگ دوباره در جایگاه فعال آنزیم داک می‌شود. نرم‌افزاری که کانفورمر پیش‌بینی شده توسط آن نسبت به ساختار کریستالوگرافی دارای RMSD کمتری باشد (معمولاً بین ۱/۵ تا ۲Å بسته به اندازه لیگاند) فرایند داکینگ را با موفقیت بیشتری انجام داده است. بدین منظور

کمپلکس‌های **1a** و **1b** دربردارنده لیگاند ۲-فنیل پیریدین (ppy) و کمپلکس‌های **2a** و **2b** دربردارنده لیگاند بنزو {اچ} کینولین (bzq) می‌باشند. کمپلکس‌های **1b** و **2b** کمپلکس‌های ناجورهسته دو فلزی پلاتین (II) - طلا (I) هستند. تمامی این کمپلکس‌ها دربردارنده لیگاند دو دندانه فسفینی او-۱-بیس (دی فنیل فسفینو) متان (dppm) هستند. در نتیجه کلی ترکیبات هترو دو فلزی که در بردارنده هم پلاتین و هم طلا (ترکیبات **1b** و **2b**) در ساختار خود می‌باشند در مقایسه با ترکیباتی که تنها دربردارنده پلاتین بودند، اثرات سیتوتوکسیک به مراتب قویتری بر روی رده‌های مختلف سرطانی از خود نشان دادند. از میان لیگاندهای سیکلومتاله C^N آروماتیک، ترکیبات **2b** که در بردارنده بنزو {اچ} کینولین (bzq) بود، بالاترین فعالیت ضد توموری را نشان داد. آنالیز آماری به روش one-way ANOVA بر روی نتایج IC₅₀ ترکیبات روی رده‌های مورد بررسی نشان داد که بطور کلی اختلاف معناداری بین IC₅₀ ترکیبات وجود دارد و تنها روی رده سرطانی MDA-MB-231 دو ترکیب **1b** و **2b** با یکدیگر اختلاف معناداری ندارند. ولی این دو ترکیب اختلاف معناداری با سیس پلاتین دارند و هر دو از سیس پلاتین بر روی تمام رده‌های مورد بررسی قدرتمندتر عمل کرده‌اند. در ارزیابی اثرات سیتوتوکسیک بر روی رده سالم پستان (MCF-12A)، تمامی ترکیبات اثر سمیت پایین تری نسبت به سیس پلاتین از خود نشان دادند. دو ترکیب **1b** و **2b** روی رده نرمال پستان نیز با یکدیگر اختلاف معناداری ندارند. بنابراین این ترکیبات دارای پروفایل ایمنی و پنجره درمانی مناسب تری نسبت به سیس پلاتین هستند.

از آنجایی که مکانیسم عمل ضد سرطانی کمپلکس‌های پلاتینی عمدتاً از طریق برهمکنش با DNA می‌باشد و همچنین ترکیبات طلا سبب مهار آنزیم تیوردوکسین ردوکتاز (TrxR) با قدرت و گزینش پذیری بالا می‌شوند. جهت

در سال ۲۰۱۲ عبدالغنی و همکاران (۲۶)، ترکیبات پلاتین (II) کمپلکس شده با 2-IH-benzimidazol-ylmethyl-N-(4-bromo-phenyl)-amine را سنتز و فعالیت سمیت سلولی آن را روی رده سرطان پستان مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاکی از این بود که این ترکیب دارای IC₅₀ برابر با ۱۰/۲ میکرومولار بود. این در حالی است که بهترین ترکیب مورد مطالعه حاضر (2b) دارای IC₅₀ برابر با ۴/۳۹ میکرومولار بر روی همین رده ی سرطانی بود که نشان دهنده قدرت سمیت سلولی بیشتر ترکیب مطالعه حاضر می باشد (۲۶).

در مطالعه ای دیگر که در سال ۲۰۱۶ انجام پذیرفت، Aifeng Lyu و همکاران (۲۷) کمپلکس های دی آمینو سیکلوهگزان پلاتین (II) سنتز نمودند. نتایج حاصل از تست MTT نشان داد که این ترکیبات دارای سمیت به نسبت مناسبی بر روی سلول های مورد مطالعه بوده در مقایسه با سیس پلاتین و اکسالی پلاتین بودند. در ادامه این مطالعه بررسی های انجام شده با فلوسایتمتری نشان داد که این نوع ترکیبات باعث توقف چرخه سلولی در فاز S و القا آپوپتوز در آنها می گردد. علاوه بر این، مطالعات الکتروفورزی، داکینگ و ژنوتوکسیسیتی نشان داد که نحوه تعامل این ترکیبات با DNA مشابه با ترکیبات مورد مطالعه حاضر می باشد (۲۷).

در سال ۲۰۱۷ محمد یعقوب جوما و همکاران (۲۸) هفت کمپلکس جدید Pt(II) را سنتز و فعالیت سمیت سلولی این ترکیبات را با یکسری لیگاندهای thione در حضور triethylphosphine با فرمول عمومی cis-[Pt(Et₃P)₂(L)₂]Cl₂ روی چهار رده ی سلولی Hela ، CCF-7، HTC 15، A549 بررسی کردند. از مقایسه فعالیت سمیت سلولی بهترین ترکیب سیتوتوکسیک در آن مطالعه با ترکیب 2b مطالعه حاضر روی رده سلولی Hela مشخص شد ترکیب مطالعه حاضر فعالیت ضعیف تری روی این رده از خود نشان داده است (۲۸).

ری داکینگ (redocking) آرانوفین طبق پارامترهای اعمال شده بر ترکیبات مورد مطالعه خود، با 4CBQ بررسی گردید. این ترکیب در ساختار آنزیم در جایگاهی بسیار یکسان با حالت کوکریستاله خود قرار گرفت و RMSD بدست آمده کمتر از ۲ Å بوده است.

در مطالعه حاضر، به منظور ارزیابی اثر ژنوتوکسیک ترکیب 2b در سلول های سرطانی MDA-MB-231، به عنوان یک روش قابل اعتماد، از روش ستاره دنباله دار استفاده شد. در این روش الکتروفورز میکروژل تک سلولی، پس از آسیب به DNA، باعث افزایش مهاجرت یا دور شدن DNA کروموزومی از هسته می شود که شبیه دم ستاره دنباله دار است. خط های طولانی نشانگر سمیت بیشتر هستند، در حالی که سلول هایی که در معرض دارو قرار نگرفته اند سلول های بدون دنباله هستند، و یا دنباله خیلی کمی دارند. اگر چه اثر ژنوتوکسیسیتی در روش ستاره دنباله دار و همچنین داکینگ مولکولی به وضوح نشان می دهد که مکانیسم های موثر ترکیب 2b بیشتر مربوط به برهمکنش مستقیم با DNA است (شکل ۴) ولی احتمالاً مسیرهای دیگر نیز در این فرآیند دخیل هستند. این نتایج در مجموع مطالعات قبلی را تایید می کند که ترکیبات پلاتینه ترکیبات هدفمندی به عنوان داروهای ضد سرطان پر قدرت هستند، و برپایه اثر فلز بر DNA اثر ضد سرطانی مناسبی دارند.

در سال ۲۰۱۱ رشیدی و همکاران (۲۵)، کمپلکس دی پلاتینیوم سیکلومتاله شده جدیدی که حاوی لیگاندهای فروسنی بود، معرفی نمودند. بررسی فعالیت سلولی این کمپلکس بر علیه رده سرطان تخمدان (CH1) و سرطان کولون (SW1116) نشان داد که دارای IC₅₀ برابر با ۷۷/۸ میکرومولار بود. این در حالی است که بهترین ترکیب مورد مطالعه حاضر (2b) دارای IC₅₀ برابر با ۱۳/۶۸ میکرومولار بر روی همین رده ی سرطانی بود که نشان دهنده قدرت سمیت سلولی بیشتر ترکیب مطالعه حاضر می باشد (۲۵).

پستان (MDA-MB-231) و همچنین سالم پستان (MCF-12A) به روش MTT مورد بررسی قرار گرفت. کمپلکس‌های **1b** و **2b** اثرات سیتوتوکسیک بهتری نسبت به سیس‌پلاتین بر روی تمامی رده‌های سرطانی مورد مطالعه از خود نشان دادند. همچنین تمامی ترکیبات اثر سمیت پایین‌تری نسبت به سیس‌پلاتین روی رده سالم پستان (MCF-12A) نشان دادند. برهم‌کنش ترکیبات با DNA و TrxR توسط داکینگ نیز بررسی گردید و نحوه و چگونگی اتصال آنها به این دو هدف کمپلکس‌های فلزی مشخص گردید. همچنین اثر این ترکیبات بر واپاشی DNA با روش ستاره دنباله دار مورد تایید قرار گرفت. کمپلکس‌های **1b** و **2b** این قابلیت را دارند تا با بررسی‌های بیولوژیک بیشتر در محیط‌های برون تنی (*in vitro*) و درون تنی (*in vivo*)، نقش مهمی در آینده بیماری سرطان ایفا کنند.

قدردانی

مقاله حاضر حاصل بخشی از پایان نامه دکترای حرفه‌ای در رشته داروسازی عمومی خانم فروغ کلانتری می‌باشد که در حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز با کد GP96075 تصویب شده است. کد اخلاق این کار IR.AJUMS.REC.1396.775 می‌باشد. نویسندگان از کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز که بودجه این کار را فراهم نموده و همچنین گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی که امکانات لازم را تهیه نمودند، کمال تشکر را دارند.

از مقایسه فعالیت‌های سمیت سلولی بهترین ترکیب مورد مطالعه حاضر با کمپلکس‌های سیکلوپلاتینی (II) معرفی شده توسط فریدون نژاد و همکاران (۱۲)، مشخص شد که بهترین ترکیب آن مطالعه (از نظر فعالیت سمیت سلولی) دارای IC₅₀ های برابر با ۱۴/۹ و ۵/۳ میکرومولار به ترتیب بر روی رده‌های سرطانی پستان تهاجمی و کولون می‌باشد، در حالی که بهترین ترکیب مورد مطالعه حاضر دارای IC₅₀ های ۴/۳۹ و ۱۳/۶۸ میکرومولار به ترتیب روی همین رده‌های سرطانی می‌باشد.

در سال ۲۰۱۸ فریدون نژاد و همکاران (۲۹)، پنج عدد کمپلکس‌های تیولاتی (I)-بنزیل ایزوسیانیید سنتز نمودند. این ترکیبات فعالیت ضدسرطانی مطلوبی از خود نشان می‌دادند و دارای قدرت بالایی در مهار تکثیر سلول‌های سرطانی بودند. بهترین ترکیب آن مجموعه دارای IC₅₀ برابر با ۶/۱۳، ۱۳/۳۹ و ۷/۸۴ میکرومولار به ترتیب بر روی رده‌های A549، SKOV3 و MDA-MB-231 نشان می‌دادند (۲۹). از مقایسه فعالیت سمیت سلولی بهترین ترکیب سیتوتوکسیک در آن مطالعه با ترکیب **2b** مطالعه حاضر روی رده سلولی MDA-MB-231 مشخص شد ترکیب مطالعه حاضر فعالیت ضعیف‌تری روی این رده از خود نشان داده است.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، فعالیت سمیت سلولی کمپلکس‌های ناجورهسته دو فلزی پلاتین (II)-طلا (I) بر روی رده‌های سلولی سرطانی دهانه رحم (Hela)، کولون (SW1116)،

منابع

- 1-Wang X, Guo Z. Targeting and delivery of platinum-based anticancer drugs. Chemical Society Reviews. 2013;42(1):202-24.
- 2-Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. Nature reviews Cancer. 2007;7(8):573-84.
- 3-Zou T, Lok CN, Wan PK, Zhang ZF, Fung SK, Che CM. Anticancer metal-N-heterocyclic carbene complexes of gold, platinum and palladium. Current opinion in chemical biology. 2018;43:30-6.

- 4-Lazarevic T, Rilak A, Bugarcic ZD. Platinum, palladium, gold and ruthenium complexes as anticancer agents: Current clinical uses, cytotoxicity studies and future perspectives. *European journal of medicinal chemistry*. 2017;142:8-31.
- 5-Liu D, He C, Wang AZ, Lin W. Application of liposomal technologies for delivery of platinum analogs in oncology. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:3309-19.
- 6-Lokich J. What is the "best" platinum: cisplatin, carboplatin, or oxaliplatin? *Cancer investigation*. 2001;19(7):756-60.
- 7-Monneret C, editor *Platinum anticancer drugs. From serendipity to rational design. Annales pharmaceutiques françaises*; 2011: Elsevier.
- 8-Zhang X, Selvaraju K, Saei AA, D'Arcy P, Zubarev RA, Arner ES, et al. Repurposing of auranofin: Thioredoxin reductase remains a primary target of the drug. *Biochimie*. 2019;162:46-54.
- 9-Ott I. On the medicinal chemistry of gold complexes as anticancer drugs. *Coordination Chemistry Reviews*. 2009;253(11):1670-81.
- 10-Kozubik A, Vaculová A, Souček K, Vondráček J, Turánek J, Hofmanová J. Novel anticancer platinum (IV) complexes with adamantylamine: their efficiency and innovative chemotherapy strategies modifying lipid metabolism. *Metal-based drugs*. 2008;2008.
- 11-Shahsavari HR, Giménez N, Lalinde E, Moreno MT, Fereidoonzhad M, Babadi Aghakhanpour R, et al. Heterobimetallic PtII-AuI Complexes Comprising Unsymmetrical 1,1-Bis(diphenylphosphanyl)methane Bridges: Synthesis, Photophysical, and Cytotoxic Studies. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2019;2019(10):1360-73.
- 12-Fereidoonzhad M, Ramezani Z, Nikravesh M, Zangeneh J, Haghghi MG, Faghhi Z, et al. Cycloplatinated (II) complexes bearing an O, S-heterocyclic ligand: search for anticancer drugs. *New Journal of Chemistry*. 2018;42(9):7177-87.
- 13-Fereidoonzhad M, Shahsavari HR, Abedanzadeh S, Behchenari B, Hossein-Abadi M, Faghhi Z, et al. Cycloplatinated(ii) complexes bearing 1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene ligand: biological evaluation and molecular docking studies. *New Journal of Chemistry*. 2018;42(4):2385-92.
- 14-Fereidoonzhad M, Niazi M, Shahmohammadi Beni M, Mohammadi S, Faghhi Z, Faghhi Z, et al. Synthesis, biological evaluation, and molecular docking studies on the DNA binding interactions of platinum (II) rollover complexes containing phosphorus donor ligands. *ChemMedChem*. 2017;12(6):456-65.
- 15-Fereidoonzhad M, Kaboudin B, Mirzaee T, Babadi Aghakhanpour R, Golbon Haghghi M, Faghhi Z, et al. Cyclometalated Platinum (II) Complexes Bearing Bidentate O, O'-Di (alkyl) dithiophosphate Ligands: Photoluminescence and Cytotoxic Properties. *Organometallics*. 2017;36(9):1707-17.
- 16-Blechinger J, Varzackii OA, Kovalska V, Zelinskii GE, Voloshin YZ, Kinski E, et al. Cytotoxicity of electrophilic iron (II)-clathrochelates in human promyelocytic leukemia cell line. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2016;26(2):626-9.
- 17-Fereidoonzhad M, Niazi M, Ahmadipour Z, Mirzaee T, Faghhi Z, Faghhi Z, et al. Cyclometalated Platinum (II) Complexes Comprising 2-(Diphenylphosphino) pyridine and Various Thiolate Ligands: Synthesis, Spectroscopic Characterization, and Biological Activity. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2017;2017(15):2247-54.
- 18-Fereidoonzhad M, Mostoufi A, Zali S, Eskandari M, Afshar D, Aliyan F. Molecular Docking and PLIF Studies of Novel Tacrine-Naphtoquinone Hybrids Based on Multi-Target-Directed Ligand Approach for Alzheimer's Disease. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 2018;13(2).
- 19-Bai X, Yang Z, Zhu M, Dong B, Zhou L, Zhang G, et al. Design and synthesis of potent HIV-1 protease inhibitors with (S)-tetrahydrofuran-tertiary amine-acetamide as P₁-ligand: Structure-activity studies and biological evaluation. *European journal of medicinal chemistry*. 2017;137:30-44.
- 20-Alzheimer's A. 2015 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association*. 2015;11(3):332.
- 21-Ray GB, Cook JW. Molecular modeling of heme proteins using MOE: Bio-inorganic and structure-function activity for undergraduates* S. *Biochemistry and Molecular Biology Education*. 2005;33(3):194-201.
- 22-Cetraz M, Sen V, Schoch S, Streule K, Golubev V, Hartwig A, et al. Platinum (IV)-nitroxyl complexes as possible candidates to circumvent cisplatin resistance in RT112 bladder cancer cells. *Archives of toxicology*. 2017;91(2):785-97.
- 23-Pu X, Wang Z, Klaunig JJC. Alkaline comet assay for assessing DNA damage in individual cells. 2015;65(1):3.12. 1-3.. 1.

- 24-Zare S, Fereidoonzhad M, Afshar D, Ramezani Z. A comparative QSAR analysis and molecular docking studies of phenyl piperidine derivatives as potent dual NK1R antagonists/serotonin transporter (SERT) inhibitors. *Computational biology and chemistry*. 2017;67:22-37.
- 25-Samouei H, Rashidi M, Heinemann FW. A cyclometalated diplatinum complex containing 1, 1'-bis (diphenylphosphino) ferrocene as spacer ligand: Antitumor study. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2011;696(23):3764-71.
- 26-Ghani NTA, Mansour AM. Novel palladium (II) and platinum (II) complexes with 1H-benzimidazol-2-ylmethyl-N-(4-bromo-phenyl)-amine: Structural studies and anticancer activity. *European journal of medicinal chemistry*. 2012;47:399-411.
- 27-Lyu A, Qin X, Fang L, Gou S. Synthesis, cytotoxicity, and interaction with DNA of platinum (II) complexes of (1 R, 2 R)-N1-2-amyl-1, 2-diaminocyclohexane. *Journal of Coordination Chemistry*. 2016;69(10):1653-62.
- 28-Jomaa MY, Altaf M, Ahmad S, Bhatia G, Singh J, Altuwajri S, et al. Synthesis, spectroscopic characterization and in vitro anticancer activity of new platinum (II) complexes with some thione ligands in the presence of triethylphosphine. *Biometals*. 2017;30(5):787-95.
- 29-Fereidoonzhad M, Shahsavari HR, Lotfi E, Babaghasabha M, Fakhri M, Faghih Z, et al. (Benzyl isocyanide)gold(I) pyrimidine-2-thiolate complex: Synthesis and biological activity. *Applied Organometallic Chemistry*. 2018;32(3):e4200-n/a.

Cytotoxic Activity Evaluation, DNA and Thioredoxin Reductase Enzyme Interaction Studies of Heterobimetallic Pt(II)-Au(I) Complexes as Potential Anticancer Agents

Masood Fereidoonzhad^{1*}, Foroogh Kalantari²

1-Assistant Professor of Medicinal Chemistry.

2-PharmD Student.

1-Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

2-Student Research Committee, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author:

Masood Fereidoonzhad; Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

Tel: +9891773394894

Email: Fereidoonzhad-m@ajums.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Platinum-based chemotherapy drugs like cisplatin are widely used in the treatment of cancer. However, because of its high side effects, the use of these compounds is limited. All of today's efforts are to design new platinum drugs, as well as hybrid of gold and platinum, which have a similar profile with cisplatin but have less side effects and wide spectrum on different cancer types.

Material and Method: In this study, the cytotoxic activity of heterobimetallic Pt(II)-Au(I) complexes on the cancer cell lines such as cervix (Hela), colon (SW1116), breast (MDA-MB-231) as well as normal breast (MCF-12A) cell line was evaluated using MTT method. Molecular docking studies of these compounds with DNA and thioredoxin reductase (TrxR), as targets for platinum and gold compounds, were conducted using AutoDock 4.2 software. Using the comet assay, genotoxicity of the best cytotoxic compound was also evaluated.

Results: In evaluating the cytotoxic activity, 1b and 2b complexes exhibited greater cytotoxicity than cisplatin. All compounds exhibited lower toxicity than cisplatin on normal breast cell line (MCF-12A). The interaction of complexes with DNA and TrxR using molecular docking showed their binding mode and binding site to these targets. The genotoxicity effect of these compounds was also confirmed by the comet assay.

Conclusion: The results showed that these complexes have the ability to play a more effective role in the treatment of cancer by further biological studies.

Keyword: Heterobimetallic platinum (II)-gold(I) complexes, Molecular docking, Cytotoxic activity, Genotoxicity.

►Please cite this paper as:

Fereidoonzhad M, Kalantari F. Cytotoxic Activity Evaluation, DNA and Thioredoxin Reductase Enzyme Interaction Studies of Heterobimetallic Pt(II)-Au(I) Complexes as Potential Anticancer Agents. *Jundishapur Sci Med J* 2020; 18(5):519-532

Received: July 25, 2019

Revised: Dec 4, 2019

Accepted: Dec 22, 2019