



دانشکده شیمی

رساله دکتری شیمی معدنی

سنتز، شناسایی و اثرات سیتوتوکسی خانواده جدیدی از اگزالی پالادیوم و پلاتین و بررسی برهمکنش آنها با DNA

نگارنده: سارا هادیان رسنانی

اساتید راهنما دکتر اسماعیل سلیمانی دکتر محبوبه اسلامی مقدم **استاد مشاور** دکتر علی اکبر طرلانی

بهمن ۹۶

شماره: ۱۸ ۷۷ رمی تاریخ: ۲۰ (۱۱ راب ویرایش:	باسمه تعالى	پی این ایس مدیریت تحصیلات تکمیلی
می دنی ددیم و پلاتین و بررسی برهمکنش آنها با DNA	دانشکده : شید گروه : شیمی مع بانواده جدیدی از اگزالی یا!	یوست شماره ۲ یان نامه رساله دکتری خانم سارا هادیان رسنانی حت عنوان: سنتز، شناسایی و اثرات سیتوتوکسی خ
اید و با درجه معالی مورد پذیرش قرار گرفت. اساتید مشاور امضاء کتر علی اکبر طرلائی م خانوادگی:	رک رساله دکتری ارزیابی گره امضاء آقای د تام و نا بام و نا	ر تاریخ ۹۶/۱۱/۱ توسط کمیته تخصصی زیر جهت اخذ مد اساتید راهنما استاد راهنمای اول: آقای دکتر اسماعیل سلیمانی استاد راهنمای دوم: خانم دکتر محبوبه اسلامی مقدم
ده تحصیلات تکمیلی امضاء خانوادگی: آقای دکتر علی	اعضاء نماین نام و نام کیوانلو	اساتید داور نام و نام خانوادگی: آقای دکتر رضا طیبی نام و نام خانوادگی: آقای <u>دکتر</u> فرخزاد محمدی زنوز نام و نام خانوادگی: آقای دکتر مهدی بهزاد

う

يدرومادر عزيزم په وبه تام آزاد مردانی که نیک می اندیشد و عقل و منطق را پیثه خود نموده و جز رضای الهی و پیشرفت و سعادت جامعه، مدفی ندارند. دانشمندان، بزرگان، وجوانمردانی که جان ومال خود را در حفظ و اعتلای این مرز و بوم فدانموده و می نمایند.

••• بھارتم بە • • • • •

م سكر وقدرداني:

يروردكارا زبان وذہنم از حدوسایں درگاہت قاصراست ونمی دانم حکونہ سکرکزار رحمت باشم کہ توفیق اندیثیدن رابہ من عطافر مودی تار ثدواعلای علم ناچنرم راکه به برکت الطاف بیکران توعاید م شده، عرضه دارم. برخودلازم می دانم از کلیه افرادی که در انجام این تحقیق مرایاری داده اند قدر دانی نایم . از اساًد کرامی و فرزانه، حانم دکتر محبوبه اسلامی مقدم عزیز که راہنایی ؛ و تلاش بی وقصه و مادرانه ایثان در طی به انحام رسیدن این رساله سودنی بود بسار سایسکزارم واز خداوند منان آ رزوی پیشرفت روزافزون ایثان را در عام مراحل زندگی خواسارم . ازآقای دکتر سلیانی به دلیل یاری دمی ایثان که بساری از سختها را برایم آسانتر نمودند و آقای دکتر طرلانی که را بهایی دی ارز شمند ثان بمیشه راهکشای این پرو ژه بوده است، تسکر فراوان می نمایم . ، همچنین از مساعدت بای بی دیغ سرکار خانم دکتر دیوسالار و آقای دکتر عاجلو که در انجام این پروژه مرا یاری نموده اند، ساسكزارم. از اساتید محترم آقای دکتر بهزاد، آقای دکتر طیبی و آقای دکتر محدی که داوری این رساله را بر حهده داشتند، کحال تسکر را دارم.

و درانتها از لطف و عنایت مئولین، کار شناسان و دانشجویان پژو، شکاه شیمی و مهندسی شیمی و دانشگاه صنعتی شاهرود صمانه تسکر می نایم .

تعهد نامه

اینجانب سارا هادیان رسنانی دانشجوی دوره دکتری رشته شیمی معدنی دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده رساله سنتز، شناسایی و اثرات سیتوتوکسی خانواده جدیدی از اگزالی پالادیم و پلاتین و بررسی برهمکنش آنها با DNA تحت راهنمائی آقای دکتر اسماعیل سلیمانی و خانم دکتر محبوبه اسلامی مقدم متعهد میشوم.

- تحقیقات در این پایاننامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایاننامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج
 با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا «Shahrood University of Technology »
 به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایح اصلی پایاننامه تأثیر گذار بوده اند
 در مقالات مستخرج از پایاننامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایاننامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها)
 استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایاننامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ ۹۶/۱۱/۱

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود میباشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود .

چکیدہ

از آنجایی که کمیلکسهای پالادیم و پلاتین مؤثرتر از سایر داروهای ضد سرطان میباشند، ما تصمیم گرفتیم کمپلکسهای جدید و محلول در آب پلاتین (II) و پالادیم (II) را تهیه کنیم. ابتدا دو كميلكس با فرمول كلى M = Pt (II), Pd (II) تهيه شد كه در آنها (M(DACH)(FIP)](NO₃)2] تهيه شد كه در ۲،۱R =DACH، ۱۲ - ۲۰۱ - دی آمین سیکلوهگزان و (L) = ۲-(فوران۲-ایل) ایمیدازو[f-۱۰،۱][۵،۴] فتانترولین می باشند. دسته دوم و سوم کمپلکسها با فرمول کلی NO3[(M(DACH)(L)] (که در آن Pd یا M=Pt و (L)= متیل، بوتیل، ایزوپنتیل و ترشیو پنتیل گلایسین می باشند) نیز تهیه شدند. این كميلكسها توسط روشهاي طيف سنجي H-NMR ،IR ،UV-Vis، رسانايي سنجي و آناليز عنصري شناسایی شدند. خواص ضدسرطانی این ترکیبات علیه سلولهای سرطانی روده بزرگ از نوع HCT116 آزمایش شدند. برهم کنش این کمپلکسها با ct-DNA توسط روشهای UV-Vis، فلوئورسانس، CD و همچنین شبیهسازی مولکولی (MD) و شبیه سازی اتصال مولکولی بررسی شدند. با استفاده از دادههای غیرطبیعی شدن، غلظت ترکیبات در نیمه راه انتقال و پارامترهای ترمودینامیکی در تریس بافر حاوی کلرید سدیم (۱۰ میلی مولار) و pH = ۷/۴ در دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد تعیین گردیدند. نحوه اتصال این ترکیبات به DNA نیز به کمک طیف سنجی فلوئورسانس و دورنگ نمایی دورانی بررسی شد، که اتصال به صورت غیر کووالانس برای کمپلکسهای سنتز شده به DNA را تأیید میشود. نتایج نشان می دهد کمیلکس Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ در غلظت کمتری نسبت به دیگر کمیلکس ها قادر به غيرطبيعي كردن DNA است. همچنين محاسبات شبيه سازي اتصال مولكولي نشان ميدهند انرژي یپوندی برای این کمپلکس (۱۳/۰۲ kcal/mol-) منفی تر از کمپلکس های دیگر است که نشان دهنده برهم کنش مؤثر آن با DNA می باشد.

کلمات کلیدی: اگزالی پلاتین، کمپلکسهای پلاتین و پالادیوم، سمیت سلولی، غیرطبیعی شدن ct-DNA، مشتقات گلایسینی و ایمیدازولی، شبیه سازی دینامیک مولکولی و اتصال مولکولی.

لیست مقالات مستخرج از پایاننامه

- S. Hadian Rasanani, M. Eslami Moghadam, E. Soleimani, A. Divsalar, D. Ajloo, A-A. Tarlani and M. Amiri (2017) "Anticancer Activity of New Imidazole Derivative of 1R,2R-diaminocyclohexane Palladium and Platinum Complexes as DNA Fluorescent Probes" *J. Biomol. Struct. Dyn.*, pp.1-19.
- S. Hadian Rasanani, M. Eslami Moghadam, E. Soleimani, A. Divsalar and A- A. Tarlani (2017) " Improving activity of anticancer oxalipalladium analog by the modification of oxalate group with isopentyl glycine" *J. Coord. Chem.*, pp. 3769-3789.
- S. Hadian Rasanani, M. Eslami Moghadam, E. Soleimani, A. Divsalar and A- A. Tarlani " Molecular docking and biological activities of some anticancer platinum complexes of glycine derivatives against colon cancer cell line" in edit process

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه
۱-۱- سرطان۲
۲-۱- مراحل پیشرفت سرطان۲
۱-۳- مراحل چرخه سلولی۳
۱-۴- روشهای درمان سرطان۳
۲-۴-۱- جراحی۳
۲-۴-۲- پرتو درمانی۴
۵ – ۴ – ۳ – ایمونو تراپی۵
۵-۱-۴-۴ شیمیدرمانی۵
۱–۵– مرگ سلولی۷
۱-۶- ساختار دیوکسی ریبونوکلئیک اسید۹
۱-۷- انواع برهم کنش دارو باDNA
۱-۷-۱ برهم کنش کووالانسی ۱۲
۱–۷–۲– برهم کنشهای غیر کووالانسی ۱۳
۱-۸- داروهای ضدسرطان ۱۵
۱-۸-۱ داروهای ضد سرطان آلی۱۵
۱-۸-۲- داروهای ضد سرطان حاوی فلز۱۶
۱۹-۹- داروهای ضدسرطان پلاتین۱۹
۱–۹–۱– مکانیسم عملکرد سیسپلاتین
۱-۹-۲- معایب داروی سیس پلاتین
۱-۱۰- ارتباط ساختار و واکنش پذیری۲۲
۱–۱۱– اگزالی پلاتین۲۳
۱-۱۱-۱ مکانیسم عملکرد اگزالیپلاتین۲۴
۱–۱۲– ترکیبات جدید ضد سرطان بر پایه پالادیوم و پلاتین
۱–۱۲–۱ کمپلکسهای پالادیوم ۲۶
۱–۱۲–۲– کمپلکسهای فلزات واسطه با لیگاندهای فنانترولینی۲۷
۱–۱۲–۳– کمپلکسهای فلزات واسطه با لیگاند اسیدهایآمینه

۱-۱۳- روشهای طیف سنجی جهت بررسی برهم کنش دارو با DNA۳۳
۱-۱۳-۱ طیف سنجی مرئی-فرابنفش۳۳
۱–۱۳–۲ طيف سنجي فلوئورسانس ۳۶
۱–۱۳–۱–۱ فلوروفور۳۷
۱–۱۳–۲–۲– خاموش شدن
۱-۱۳-۲ طیف سنجی دورنگ نمایی دورانی۴۳
۱۹-۱۴ - اهداف طرح ۴۶
فصل دوم: بخش تجربی
۵۰ - ۱- مواد و دستگاهها
۲-۲- سنتز لیگاندها و کمپلکسها۵۱
۲-۲-۱ سنتز کمپلکسهای پلاتین و پالادیوم با لیگاند مشتق ایمیدازول-فنانترولینی
۵۱
۲-۲-۱-۱-۱ سنتز لیگاند FIP (۲-(فوران-۲-ایل)-H۱ ایمیدازو-[۴و۵-f][۱و۱۰] فنانترولین)
Δ \ (M.W=Y λ F/Y q g/mol)
۲-۱-۲-۲ سنتز کمپلکس M.W=۶۳۰/۷۱ g/mol) [Pd(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂ سنتز کمپلکس
۵۳(M.W=۲۱۹/۲ g/mol) [Pt(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂ سنتز کمپلکس –۳-۱-۲-۲
۲-۲-۲ سنتز کمپلکس اگزالی پالادیوم و کمپلکس پالادیوم با لیگاند گلایسین۵۴
۲-۲-۲-۱ سنتز کمپلکس اگزالیپالادیوم۵۴
۲-۲-۲ - سنتز ليگاند ايزوپنتيل گلايسين
(M.W=۴۲۶/۵ g/mol) [Pd(DACH)(isopentylgly)](NO3) سنتز کمپلکس –۳-۲-۲
۵۵.
۲-۲-۳- سنتز اگزالیپلاتین وکمپلکسهای پلاتین با با مشتقهای اسیدآمینه گلایسین ۵۶
۲-۲-۳-۱ سنتز اگزالی پلاتین
۲-۲-۳-۲ سنتز مشتقهای اسیدآمینه گلایسین
۲-۲-۳-۳ سنتز کمپلکسهای پلاتین با مشتقهای اسید آمینه گلایسین۵۸
۲-۳- روش تهیه محلولهای مورد استفاده در برهم کنش کمپلکسهای فلزی با DNA ۲
۲–۳–۱– روش تهیه بافر۶۱
۲-۳-۲ روش تهیه محلول مادر DNA و تعیین غلظت آن

۲-۳-۳- روش تهیه محلول مادر کمپلکسها
۲-۴- برهمکنش کمپلکسهای فلزی با DNA
۲-۴-۲- روش تعیین زمان نگهداری
UV- غیر طبیعی شدن DNA درحضور کمپلکسهای فلزی به کمک طیف سنجی UV- ۶۳ Vis
۲-۴-۳- تیتراسیون کمپلکس فلزی توسط DNA یا برعکس
P-۴-۴-۲ مطالعه دمای انتقال DNA
۲-۴-۲- مطالعه سینتیک برهم کنش کمپلکس-DNA
۲–۴–۶– مطالعه قدرت یونی۶۸
۲-۴-۲- تغییرات شدت فلوئورسانس DNA-EB با افزایش کمپلکس فلزی ۶۸
۲-۴-۴ تغییرات شدت فلوئورسانس کمپلکس فلزی-DNA با افزایش EB و رسم نمودار اسکاچارد
۲-۴-۴- بررسی فلوئورسانس سه بعدی کمپلکسهای ایمیدازول-فنانترولین به عنوان حسگر در پیوند با DNA
۲–۴–۱۰– مطالعه طیف دورنگ نمایی دورانی و بررسی تغییر ساختار DNA در حضور کمپلکس
۲-۴-۱۱- روش شبیه سازی اتصال مولکولی۷۲
فصل سوم: بحث و نتیجه گیری ۷۵
بخش اول ۷۶
۲–۱– شناسایی، مطالعات اثرسمیت و برهم کنش کمپلکسهای ایمیدازول-فنانترولینی با DNA
Pt(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂ و [Pt(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂ و ۶ [Pd(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂
۳-۱-۲- مطالعات اثر سمیت کمپلکسهای فلزی بر سلولهای سرطان روده HCT116
٨۴
ct- ۱-۳- مطالعات برهم کنش کمپلکسهای پالادیوم و پلاتین ایمیدازول-فنانترولینی با ۸۵DNA
۳–۱–۴– مطالعه برهمکنش کمپلکسهای فلزی با ct-DNA به کمک طیف سنجی فلوئورسانس
ر رو سی ۳-۱-۵- مطالعه طیف CD و بررسی تغییر ساختار DNA در حضور کمپلکس

۳-۱-۶- نتایج حاصل از روش شبیه سازی اتصال مولکولی
۳-۱-۷- نتایج حاصل از شبیه سازی دینامیک مولکولی
بخش دوم
۲-۳- شناسایی، مطالعات اثر سمیت و برهم کنش کمپلکس های پالادیوم با DNA
۲-۳-۱-۲-۳ شناسایی کمپلکس (NO ₃)[Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO ₃)
۳-۲-۲- مطالعه اثر سمیت علیه سلولهای سرطان روده HCT116 و تعیین میزان سمیت
کمپلکس فلزی
۳-۲-۳- مطالعات برهم کنش کمپلکس های پالادیوم با ct-DNA
۳-۲-۴- مطالعه برهمکنش کمپلکسهای فلزی با ct-DNA به کمک طیف سنجی فلوئورسانس
۲-۳-۵- مطالعه طیف CD و بررسی تغییر ساختار DNA در حضور کمپلکس
۳-۲-۶- نتایج حاصل از روش شبیه سازی اتصال مولکولی
بخش سوم
۳-۳- شناسایی، مطالعات اثر سمیت و برهم کنش کمپلکسهای پلاتین با DNA
۳-۳-۱- شناسایی لیگاند ترشیوپنتیل گلایسین هیدروکلرید و کمپلکسهای پلاتین متیل،
بوتیل، ایزوپنتیل و ترشیو پنتیل گلایسین
۳-۳-۲- تعیین سمیت کمپلکسها علیه سلولهای سرطان روده HCT116
۳-۳-۳- مطالعات برهم کنش کمپلکسهای پلاتین با ct-DNA
۳-۳-۴- مطالعه برهمکنش کمپلکسهای فلزی با ct-DNA به کمک طیفسنجی
فلوئورسانس
۳-۳-۵- مطالعه طیف CD و بررسی تغییر ساختار DNA در حضور کمپلکس
۳-۳-۶- نتایج حاصل از روش شبیه سازی اتصال مولکولی۳
فصل چهارم: جمع بندی و پیشنهادات
۴-۱-۴ جمعبندی
۲-۴- پیشنهادات

فهرست جدولها

جدول ۱-۱: موارد استفاده بالینی سیسپلاتین، کربوپلاتین و اگزالیپلاتین و عوارض جانبی آنها ۲۴
جدول ۳-۱: دامنه کلی رسانایی محلول الکترولیت ترکیبات یونی
جدول ۳-۲: داده های مربوط به رسانایی الکتریکی کمپلکسهای ایمیدازول-فنانترولینی۷۷
جدول ۳-۳: دادههای طیف جذبی کمپلکسهای الف) Pt(DACH)(FIP)](NO3)2 و ب) Pd(DACH)(FIP)](NO3)2
جدول ۳-۴: فرکانسهای مهم گروههای عاملی در طیف زیر قرمز کمپلکس 2(NO3)[(Pt(DACH)(FIP)] و 2(NO3)[(Pd(DACH)(FIP)] برحسب ¹⁻ cm
جدول ۳-۵: دادههای طیفی H-NMR ¹ کمپلکس Pd(DACH)(FIP)](NO ₃)2
جدول ۳-۶: دادههای طیفی H-NMR ¹ کمپلکس Pt(DACH)(FIP)](NO ₃)2]
جدول ۳-۷: مقادیر (Cc50) کمپلکسهای 2(NO3)[Pd(DACH)(FIP]، 2(NO3)]، [Pd(DACH)(FIP)] و اگزالیپلاتین
جدول ۳-۸: طول موج بیشینه کمپلکسهای پالادیوم و پلاتین ایمیدازوفنانترولین
جدول ۳–۹: پارامترهای ترمودینامیکی غیر طبیعی شدن DNA توسط کمپلکس های پالادیوم و پلاتین در دمای ۲۷ و C° ۳۷
جدول ۳–۱۰: مقادیر Tm و ∆Tm برای ترکیب افزایشی کمپلکس پلاتین و پالادیوم با DNA و DNA آزاد
جدول ۳–۱۱: انرژی شبیه سازی اتصال مولکولی (kcal/mol) برای دو کمپلکس فلزی پالادیوم و پلاتین ۱۰۱
جدول ۳–۱۲: داده های مربوط به رسانایی الکتریکی کمپلکس (NO ₃)[(NO ₃)[Pd(DACH)(Isopentylgly)] ۱۰۶
جدول ۳–۱۳: داده های طیف جذبی (NO ₃)[Pd(DACH)(Isopentylgly)]
جدول ۳–۱۴: فرکانسهای مهم گروههای عاملی در طیف زیر قرمز کمپلکس (NO3)[Pd(DACH)(Isopentylgly) برحسب ^{۱-} cm
جدول ۳–۱۵: دادههای طیف H-NMR ¹ کمپلکس (Isopentylgly)](NO ₃) السنان الا
جدول ۳-۱۶: مقادیر (Cc ₅₀) کمپلکسهای (NO ₃)[NO ₃) و Pd(DACH)(OX)]
جدول ۳–۱۷: طول موج بیشینه کمپلکسهای پالادیوم
جدول ۳-۱۸: پارامترهای ترمودینامیکی غیر طبیعی شدن DNA توسط کمپلکسهای پالادیوم در دمای

۲۷ و ۵° ۳۷.
جدول۳–۱۹: مقادیر Tm و ∆Tm و DNA برای ترکیب افزایشی کمپلکسهای پالادیوم با DNA و DNA تنها ۱۱۷
جدول ۳–۲۰: انرژی شبیه سازی اتصال مولکولی (kcal/mol) برای دو کمپلکس فلزی پالادیوم ۱۲۵
جدول ۳-۲۱: پارامترهای ترمودینامیکی برای دو کمپلکس فلزی پالادیوم
جدول ۳–۲۲: داده های مربوط به رسانایی الکتریکی کمپلکسهای پلاتین سری مشتقات اسیدآمینه ۱۲۸
جدول ۳–۲۳: داده های طیف جذبی کمپلکسهای پلاتین
جدول ۳–۲۴: فرکانسهای کششی گروههای عاملی مهم در طیف زیر قرمز لیگاند ترشیوپنتیل گلایسین هیدروکلرید و ترکیبات مشابه
جدول ۳–۲۵: فرکانس کششی برخی گروههای عاملی مهم در کمپلکسهای پلاتین مشتقات اسید امینه ۱۳۰
جدول ۳–۲۶: دادههای طیف H-NMR ¹ لیگاند Tert-pentylglycine.HCl
جدول ۳–۲۷: دادههای طیف H-NMR ¹ کمپلکس NO ₃ [(methylgly] (methylgly]
جدول ۳–۲۸: دادههای طیف H-NMR ¹ کمپلکس NO ₃ [(butylgly)]NO3]
جدول ۳–۲۹: دادههای طیف H-NMR ¹ کمپلکس NO ₃ [(isopentylgly]]NO3]
جدول ۳–۳۰: دادههای طیف H-NMR ¹ کمپلکس Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO ₃
جدول ۳–۳۱: مقادیر (Cc50) کمپلکسهای پلاتین
جدول ۳-۳۲: پارامترهای ترمودینامیکی غیر طبیعی شدن DNA توسط کمپلکسهای پلاتین در دو دمای ۲۷ و C° ۳۷
جدول۳–۳۳: مقادیر Tm و ΔTm برای ترکیب افزایشی کمپلکسهای پلاتین با DNA و DNA تنها ۱۴۶
جدول۳–۳۴: مقادیر ثابت پیوندی برای ترکیب افزایشی کمپلکسهای پلاتین با DNA
جدول۳–۳۵: ثابت استرن-ولمر (Ksv)، ثابت پیوندی (Kb)، ثابت خاموشی (kq) و تعداد مکانهای تصال کمپلکسهای پلاتین(n)
جدول ۳-۳۶: انرژی شبیه سازی اتصال مولکولی (kcal/mol) برای کمپلکسهای فلزی پلاتین ۱۵۵
جدول ۳-۳۷: پارامترهای ترمودینامیکی برای کمپلکسهای فلزی پلاتین

فهرست شكلها

شكل ۱-۱: چرخه سلولی
شکل ۱-۲: مراحل حساس به پرتودرمانی در چرخه سلولی۴
شکل ۱-۳: مرگ سلولی الف) تاکسول (داروی اختصاصی چرخه سلولی) و ب) اگزالی پلاتین (داروی غیر
اختصاصی چرخه سلولی)
شکل۱-۴: مرگ برنامه ریزی شده سلول۸
شکل ۱-۵: (الف) پیوند بین بازها در رشته DNA، (ب) شیار بزرگ و کوچک در ساختار مولکولی DNA،
(ج) مکانهای پذیرنده و دهنده پیوند هیدوروژنی در بازهای DNA
شکل ۱-۶: ساختارهای C ،B ،A و Z مولکول DNA
شکل ۱-۲: پیوند کووالانسی سیسپلاتین روی یک رشته یا دو رشته مارپیچ DNA با نیتروژن شماره
۷ بازهای گوانین روی یک زنجیره و زنجیره مقابل DNA DNA گوانین روی یک زنجیره و زنجیره مقابل
شکل ۱-۸: برهم کنش اینتر کلیشن و اینتر کلیشن شیاری ۱۳
شکل ۱-۹: برهم کنش دارو با شیار بزرگ و کوچک DNA
شکل ۱-۱۰: برهم کنش الکترواستاتیکی بین کمپلکس کاتیونی با DNA
شکل۱–۱۱: ساختارمولکولی الف) تکسول و ب) دوکسورابیسین
trans-[tetrachlorobis(1 H- (ساختار كمپلكسهاى كلينيكى روتنيم الف) (MAMI-A) [H ₂ im][trans-RuCl4(dmso-S)(Him)] ب)
۵۸ شکل ۱–۱۳: الف)کمپلکس طلای(I)، ب)کمپلکس طلای(III)
۱۸ ۱۵ شکل ۱–۱۳: الف)کمپلکس طلای(I)، ب)کمپلکس طلای(III) شکل ۱–۱۴: واکنش سیسپلاتین با DNA
۱۸ شکل ۱–۱۳: الف) کمپلکس طلای(I)، ب) کمپلکس طلای(III)۱۸ شکل ۱–۱۴: واکنش سیسپلاتین با DNA شکل ۱–۱6: مقاومت بافت سرطانی به سیسپلاتین
۱۸ شکل ۱–۱۳: الف)کمپلکس طلای(I)، ب)کمپلکس طلای(III)۱۸ شکل ۱–۱۴: واکنش سیسپلاتین با DNA شکل ۱–۱۵: مقاومت بافت سرطانی به سیسپلاتین۲۱ شکل ۱–۱۶: ارتباط بین ساختار و واکنش پذیری دارو بر پایه پلاتین۲۲
۱۸ شکل ۱–۱۳: الف)کمپلکس طلای(I)، ب)کمپلکس طلای(III)۱۸ شکل ۱–۱۴: واکنش سیسپلاتین با DNA شکل ۱–۱۵: مقاومت بافت سرطانی به سیسپلاتین ۲۱ شکل ۱–۱۵: مقاومت بافت سرطانی به سیسپلاتین ۲۲ شکل ۱–۱۶: ارتباط بین ساختار و واکنش پذیری دارو بر پایه پلاتین
۱۸ شکل ۱–۱۳: الف)کمپلکس طلای(I)، ب)کمپلکس طلای(III)
۱۸ شکل ۱–۱۳: الف)کمپلکس طلای(I)، ب)کمپلکس طلای(III)
۱۸ شکل ۱–۱۳: الف) کمپلکس طلای(I)، ب) کمپلکس طلای(III)
۱۸ شکل ۱–۱۳: الف)کمپلکس طلای(I)، ب)کمپلکس طلای(III)
۱۸ شکل ۱–۱۳: الف)کمپلکس طلای(I)، ب)کمپلکس طلای(III)

شکل ۱-۲۴: نقش گلایسین در واکنشهای حیاتی در بدن۳۰
شکل ۱-۲۵: حالتهای کوئوردیناسیونی ممکن بین اسیدآمینه و کاتیون فلزی۳۱
شكل ۱-۲۶: تمايل پيوند پالاديوم با گلايسين از طريق تشكيل حلقه كىليت (O,N)
شکل ۱-۲۷: کمپلکسهای پلاتین و پالادیوم با لیگاند گلایسین۳۳
شکل ۱–۲۸: انتقالات الکترونی در مولکولها
شکل ۱-۲۹: شکل کلی تغییرات جذب و طول موج بیشینه۳۵
شکل ۱-۳۰: نمودار جابلونسکی
شکل ۱–۳۱: نحوه اینترکلیشن اتیدیوم برومید در بین رشته های DNA۳۸
شکل ۱-۳۲: نمایی از خاموشی استاتیک و دینامیک۳۹
شکل ۱-۳۳: نمودار همزمانی مکانیسم خاموشی استاتیک و دینامیک
شکل ۱–۳۴: انواع نمودارهای فلوئورسانس اسکاچارد در برهمکنش اتیدیوم برومید با DNA در عدم
حضور (0) و حضور (•) غلظت های مختلفی از کمپلکس های فلزی۴۲
شکل ۱-۳۵: نور پلاریزه بیضوی به رنگ بنفش۴۴
شکل ۱-۳۶: طرح کلی طیف دو رنگ نمایی دورانی فرم B-DNA، B-DNA و A-DNA و A-DNA
توسط طیف سنجی دو رنگ نمایی دورانی۴۵
شکل۲-۱: سنتز لیگاند FIP در حضور امونیوم استات
شكل ۲-۱: سنتز ليگاند FIP در حضور امونيوم استات۵۲ منتز ليگاند FIP در حضور امونيوم استات۵۲ و ۲۵ (NO3)[Pd(DACH)(FIP]]
شكل ۲–۱: سنتز لیگاند FIP در حضور امونیوم استات۵۲ (NO3) و Pt(DACH)(FIP)]۵۳ (Pd(DACH)(FIP)]
شكل ۲-۱: سنتز لیگاند FIP در حضور امونیوم استات۵۲ (NO3) و Pt(DACH)(FIP)[(NO3)]۵۳ (NO3)]۵۳ شكل ۲-۲: روش كلى سنتز Pd(DACH)(FIP)]۵۴ شكل ۲-۳: روش كلى سنتز اگزالىپالاديوم۵۹ شكل ۲-۴: روش كلى سنتز تركيب (NO3)[(NO3)]۵۶ شكل ۲-۴: روش كلى سنتز تركيب (NO3)[(NO3)]
شكل ۲-۱: سنتز لیگاند FIP در حضور امونیوم استات۵۲ (NO3) Pd(DACH)(FIP)] و Pt(DACH)(FIP)]۵۳۵۳۵۴۵۴۵۴۵۴۵۴۵۴۵۴۵۴۵۴۵۴۵۴۵۴۵۴
شکل ۲-۱: سنتز لیگاند FIP در حضور امونیوم استات۵۲ شکل ۲-۲: روش کلی سنتز Pt(DACH)(FIP)[(NO ₃)2] و Pt(DACH)(FIP)]۵۴ شکل ۲-۳: روش کلی سنتز اگزالیپالادیوم. شکل ۲-۴: روش کلی سنتز ترکیب (NO ₃)[(NO ₃)](NO ₄)]۵۶ شکل ۲-8: روش کلی سنتز کمپلکسهای پلاتین با لیگاندهای گلایسین۵۲
شکل ۲–۱: سنتز لیگاند FIP در حضور امونیوم استات۵۲ شکل ۲–۲: روش کلی سنتز Pt(DACH)(FIP)[(NO ₃)2] و Pt(DACH)(FIP)]۵۴ شکل ۲–۳: روش کلی سنتز اگزالیپالادیوم. شکل ۲–۴: روش کلی سنتز ترکیب (NO ₃)(NO ₃)[(NO ₄)]۵۴ شکل ۲–8: سنتز لیگاند Tert-pentylglycine۵۹ شکل ۲–8: روش کلی برای سنتز کمپلکسهای پلاتین با لیگاندهای گلایسین۵۹ شکل ۲–9: نمودار دمای انتقال DNA
شکل۲-۱: سنتز لیگاند FIP در حضور امونیوم استات۵۲ شکل ۲-۲: روش کلی سنتز Pd(DACH)(FIP)]و Pt(DACH)(FIP)]۵۴ شکل ۲-۲: روش کلی سنتز اگزالیپالادیوم. شکل ۲-۴: روش کلی سنتز ترکیب (NO3)[(NO3)(NO2)]۵۴ شکل ۲-۴: روش کلی سنتز ترکیب (Tert-pentylglycine)]۵۶ شکل ۲-۶: روش کلی برای سنتز کمپلکسهای پلاتین با لیگاندهای گلایسین۵۲ شکل ۲-۶: نمودار دمای انتقال DNA شکل ۲-۱: طیف جذبی کمپلکسهای الف) 2(NO3)[(NO3)[(NO3)] و ب) شکل ۲-۱: طیف جذبی کمپلکسهای الف) 2(NO3)[(NO3)[(NO3)]
شکل ۲-۱: سنتز لیگاند FIP در حضور امونیوم استات۵۲ شکل ۲-۲: روش کلی سنتز Pd(DACH)(FIP)]و Pt(DACH)(FIP)] ۵۴ شکل ۲-۳: روش کلی سنتز اگزالیپالادیوم۵۹ شکل ۲-۴: روش کلی سنتز ترکیب (NO ₃)[(NO ₃)] شکل ۲-۵: سنتز لیگاند Tert-pentylglycine ۵۶ شکل ۲-۶: روش کلی برای سنتز کمپلکسهای پلاتین با لیگاندهای گلایسین ۶۷ شکل ۲-۲: نمودار دمای انتقال DNA شکل ۲-۱: طیف جذبی کمپلکسهای الف) Pt(DACH)(FIP)] و ب) (NO ₃)2 (NO ₃)2 (Pd(DACH)(FIP)]
شکل ۲–۱: سنتز لیگاند FIP در حضور امونیوم استات۵۲ شکل ۲–۲: روش کلی سنتز Pd(DACH)(FIP)]و Pt(DACH)(FIP)]۵۵ شکل ۲–۳: روش کلی سنتز اگزالیپالادیوم۵۹ شکل ۲–۴: روش کلی سنتز ترکیب (NO ₃)[(NO ₃)]۵۹ شکل ۲–۵: سنتز لیگاند Tert-pentylglycine۵۹ شکل ۲–۶ روش کلی برای سنتز کمپلکسهای پلاتین با لیگاندهای گلایسین۵۹ شکل ۲–۷: نمودار دمای انتقال DNA شکل ۲–۱: طیف جذبی کمپلکسهای پلاتین با ایگاندهای گلایسین۵۹ شکل ۳–۱: طیف جذبی کمپلکسهای پلاتین با ایگاندهای گلایسین۵۹ شکل ۳–1: طیف جذبی کمپلکسهای الف) 2(NO ₃)[(NO ₃)] و ب) (NO ₃) ₂ شکل ۳–1: طیف زیر قرمز الف) 2(NO ₃)[(NO ₃)] و ب) 2(NO ₃)[(NO ₃)]
شکل ۲–۱: سنتز لیگاند FIP در حضور امونیوم استات۵۲ شکل ۲–1: سنتز لیگاند FIP در حضور امونیوم استات۵۸ شکل ۲–۲: روش کلی سنتز اگزالیپالادیوم۹۵ شکل ۲–۳: روش کلی سنتز اگزالیپالادیوم۹۵ شکل ۲–۴: روش کلی برای سنتز کمپلکسهای پلاتین با لیگاندهای گلایسین۹۵ شکل ۲–۶: روش کلی برای سنتز کمپلکسهای پلاتین با لیگاندهای گلایسین۹۵ شکل ۲–۶: موفار دمای انتقال DNA۹۵ شکل ۲–۴: میف جذبی کمپلکسهای الف) 20(NO3) و ب) شکل ۳–۱: طیف زیر قرمز الف) [Pt(DACH)(FIP] و ب) [NO3)2 و ب) شکل ۳–1: طیف زیر قرمز الف) 20(DACH)(FIP] و ب) [Pt(DACH)(FIP)](NO3)2 شکل ۳–7: طیف زیر قرمز الف) 20(DACH)(FIP)] و ب) [Pt(DACH)(FIP)] (NO3)2 شکل ۳–7: طیف زیر قرمز الف) 20(DACH)(FIP)] و ب) 20(DACH)(FIP)][NO3) و ب) آمکل ۳–7: طیف زیر قرمز الف) 20(DACH)(FIP)] و ب) 20(DACH)(FIP)][NO3) و ب) 20(DACH)(FIP)] و ب) 20(DACH)(FIP)][NO3)]

λδ.....(•) [Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂, (°) [Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂ شكل ۳-۶: نمودار غيرطبيعي شدن DNA در حضوركميلكس هاي الف) [Pt(DACH)(FIP)] و ب) Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂ (در دو دمای ۲۷ و ۳۷[°]C) در دو دمای ۲۷ شکل، ۳-۷: نمودار تغییرات انرژی آزاد گیبس (ΔGٌ) در برابر L] مربوط به برهمکنش DNA با كمپلكسهاى الف) Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂ (و ب) Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂ (در دو دماى ۲۷ ۸۸۳۷ °C شکل ۳-۸: نمودار تغییرات آنتالیی صورتبندی DNA در برابر [L] مربوط به غیر طبیعی شدن DNA در حضور كميلكس هاى الف) Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ (و ب) Pd(DACH)(FIP)] در محدوده دمای ۲۷ تا °C تا °C محدوده دمای ۲۷ تا شكل ۳-۹: منحنى ذوب ct-DNA در غياب و حضور كميلكس هاى الف) 2(NO3) [Pt(DACH)(FIP)] و ب)2(NO3) ، شكل ضميمه نمودار تغييرات جذب به تغييرات دما بر عليه دما شكل ۲-۱۰: طيف UV محلول كميلكسهاى الف) [Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ وب) Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂] ضمن افزایش مقادیر معینی DNA [صمن افزایش مقادیر معینی Pd(DACH)(FIP)] شکل ۳–۱۱: نمودار DNA]/٤a-٤f] برحسب غلطت [DNA] برای کمپلکسهای الف) ٩٢ [Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂ (ب [Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ شکل ۳-۱۲: نمودار سینتیک برهمکنش DNA در حضور کمیلکسهای الف) r = [com]/[DNA] و ب [Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂ (ب نسبتهاى r = [com]/[DNA] با نسبتهاى (NO₃)₂ ترتيب ٢ /١ و ١/٣..... ٩٣ شكل ٣-١٣: نمودار تغييرات جذب سيستم كميلكس-DNA براي الف) 2(NO3) [Pd(DACH)(FIP)] و ب) 2(NO3)2[Pt(DACH)(FIP)] با افزایش غلظت سدیم کلرید. ۹۴ شکل ۳-۱۴: طیفهای نشر فلوئورسانس برای برهم کنش EB-DNA در عدم حضور (نقطه چین) و حضور غلظتهای متفاوت کمپلکس الف) Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ و ب) ۹۵[Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂ شكل ۳–۱۵: منحنى استرن-ولمر كمپلكسهاى الف) pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ و ب) شکل ۳-۱۶: منحنی تغییرات log (F₀ - F/F) در برابر log[Com] کمپلکس ۹۶[Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ شکل ۳–۱۷: منحنی تغییرات (F₀/F₀ - F) در برابر [Com] کمپلکس شکل ۳–۱۸: نمودارهای اسکاچارد پیوند اتیدیوم برمید (۲، ۴ تا ۱۴ میکرومولار) به DNA (۶۰ میکرومولار) در حضور غلظتهای متفاوت از کمیلکسهای الف) [Pt(DACH)(FIP)] و ب) ٩٨ [Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂

شکل ۳-۱۹: طیف فلوئورسانس سه بعدی کمپلکسهای الف) [Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ و ب) (ار محیط بافر و دمای°C ۲۵ (Pd(DACH)(FIP)] در محیط بافر و دمای°C ۲۵ (Pd(DACH)(FIP)] در محیط بافر و دمای°C ۱۹۰

شکل ۳-۲۰: طیف فلوئورسانس کمپلکسهای الف) 2(NO3)2 و ب) Pd(DACH)(FIP)](NO3)2 در عدم حضور (نقطه چین) و حضور غلظتهای متفاوت DNA ۹۹ شکل ۳-۲۱: طیف DNA CD و DNA-com در حضور و عدم حضور کمپلکسهای الف) Pt(DACH)(FIP)](NO3)2 و ب) 2(DACH)(FIP)]......

شكل ۳-۲۲: جایگاه اتصال دارای منفی ترین انرژی اتصال كمپلكس ها با (DNA(453 D الف) Pd(DACH)(FIP)] و ب) [Pd(DACH)(FIP)] و شمای دیگر از محل اتصال كمپلكس ها با DNA ج) Pd(DACH)(FIP)] و د) [Pd(DACH)(FIP)].....

شکل ۳–۲۳: (الف و ب) موقعیت کمپلکسهای فلزی قبل از ۸۰ns و (ج و د) بعد از ۸۰ شبیه سازی دینامیک مولکولی برای کمپلکسهای (الف و ج) Pd(DACH)(FIP)]، (ب و د) ۱۰۵.....

شكل ۳-۲۴: نمودارهاى محاسبه شده بين DNA و كمپلكسهاى 2(NO3)[(Pt(DACH)(FIP)] و Pd(DACH)(FIP)]، الف) RMSD محاسبه شده براى DNA، ب) MSD ، ج) فاصله بين DNA-DNA، د) تابع توزيع شعاعى، ه) پيوند هيدروژنى و د) پيوند هيدروژنى NO3، ١٠٥....

شكل ٣-٢٥: طيف جذب الكتروني كميلكس (NO₃)(NO₃): شكل ٣-٢٥: طيف جذب الكتروني كميلكس

شکل ۳- ۲۶: طیف زیر قرمز کمپلکس (NO₃)[NO₃) [Pd(DACH)(Isopentylgly)]

شکل ۳–۲۷: طیف H NMR¹ کمپلکس (Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO₃) کمپلکس (NO₃) (NO₄) (Isopentylgly)](NO₅) شکل ۳–۲۸: ساختار پیشنهادی برای کمپلکس (NO₃) (NO₅) (NO₇: ساختار پیشنهادی برای کمپلکس (NO₅) (NO₇) (NO₇) شکل ۳–۲۹: مهار رشد و تکثیر سلولهای سرطان روده انسانی توسط کمپلکسهای (Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO₅) و (Pd(DACH)(OX)] (•).

شکل ۳-۲۰: نمودار غیرطبیعی شدن DNA در حضورکمپلکسهای الف) (NO3)[Pd(DACH)(Isopentylgly] و ب) Pd(DACH)(OX)] در دو دمای ۲۷ و ۳۵'۳. ۱۱۲ شکل ۳-۳۱: نمودار تغییرات انرژی آزاد گیبس (ΔG°) در برابر L]] مربوط به برهمکنش DNA با کمیلکسهای الف) (NO3)[Pd(DACH)(OX)] و ب) Pd(DACH)(OX)] در دو دمای ۲۷

و ℃ ۳۷

شكل ۳-۳۲: نمودار تغييرات آنتالپی صورتبندی DNA در برابر ا[L] مربوط به غيرطبيعی شدن DNA در حضور كمپلكسهای الف) (Pd(DACH)(OX)] و ب) [Pd(DACH)(OX)] در محدوده دمايی ۲۷ تا ℃ ۳۷.....

شکل ۳-۳۳: منحنی ذوب ct-DNA در ۲۶۰ نانومتر در غیاب و حضور کمپلکسهای الف)

Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO₃) و ب) Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO₃) شکل ۳-۳۴: طیف UV محلول DNA ضمن افزایش مقادیر معینی از کمپلکسهای الف) Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO₃) وب [Pd(DACH)(Isopentylgly)] شکل ۳–۳۵: نمودار (A -A₀) برحسب غلطت [com]/1 برای کمیلکسهای الف) Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO₃) وب [Pd(DACH)(Isopentylgly)] شکل ۳-۳۶: نمودار سینتیک برهمکنش DNA در حضور کمیلکسهای الف) Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO₃) و ب) [Pd(DACH)(OX)] با نسبتهای r = [com]/[DNA] به ترتيب ۵/۵ و ۴/۶۱. شکل ۳-۳۷: طیفهای نشر فلوئورسانس برای برهمکنش EB-DNA در عدم حضور (نقطه چین) و حضور غلظتهای متفاوت کمیلکسهای الف) (NO₃)[Pd(DACH)(Isopentylgly)] و ب) شکل ۳–۳۸: منحنی استرن-ولمر کمپلکسهای الف) (NO₃)[(Pd(DACH)(Isopentylgly] و ب) 171.....[Pd(DACH)(OX)] شکل ۳-۳۹: منحنی تغییرات log (F₀ - F/F) در برابر log[Com] کمپلکس .[Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO₃) شكل ٣-۴٠: منحنى تغييرات log (F₀/F₀ - F) در برابر [Com]/1 كميلكس [Pd(DACH)(OX) ١٢٣ شکل ۳-۴۱: طیفهای DNA ،CD (μM) در غیاب و حضور کمپلکسهای الف) r=[com]/[DNA] ، [Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO₃) برابر ۰۰ ۲/۱، ۲/۱ و ب) Pd(DACH)(OX)] با نسبتهای [Pd(DACH)(OX) به ترتیب ۰۰ ۵/۴، ۱۰/۸ و ۱۶/۲ و ۱۶/۲ شکل ۳-۴۲: جایگاه اتصال دارای منفی ترین انرژی اتصال کمیلکس ها با (DNA(453 D) کمیلکس های الف) ⁺[Pd(DACH)(Isopentylgly)]، ب) Pd(DACH)(OH₂)₂]²⁺ (الف) شکل ۳-۴۳: شمای دیگر از محل اتصال کمیلکس ها با DNA الف) ⁺[Pd(DACH)(Isopentylgly)، ۲۶ [Pd(DACH)(OH₂)₂]²⁺(ب شكل ٣-۴۴: طيف جذب الكتروني كمپلكسهاى الف) [Pt(DACH)(methylgly]، ب) Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (ج ،[Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ د) ۱۲۸ [Pt(DACH)(tertiopentylgly)]NO₃ شکل۳–۴۵: طیفهای زیر قرمز الف) لیگاند Tert-pentylglycine.HCl، کمپلکسهای ب) .[Pt(DACH)(butylgly)]NO3 .[Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (১ ج) Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (و ه) [Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ شکل ۳–۴۶: طیف H NMR¹ لیگاند Tert-pentylglycine.HCl...... شکل ۳-۴۷: ساختار پیشنهادی برای لیگاند Tert-pentylglycine.HCl.....

شکل ۳–۴۸: طیف H NMR¹ کمیلکس Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ شکل ۲۰ شکل ۳-۴۹: ساختار پیشنهادی کمیلکس NO₃[Pt(DACH)(methylgly]. شكل ٣-٥٠: طيف H NMR¹ كميلكس [Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ شكل. شکل ۳–۵۱: ساختار پیشنهادی برای کمیلکس NO₃ [Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ شكل ٣-٥٢: طيف H NMR¹ كميلكس [Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ شكل شکل ۳-۵۳: ساختار پیشنهادی برای کمیلکس NO₃[Pt(DACH)(isopentylgly)] شكل ٣-٥۴: طيف H NMR¹ كميلكس [Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ شكل شکل، ۳-۵۵: ساختار پیشنهادی برای کمپلکس NO₃[Pt(DACH)(tertiopentylgly) شکل ۳-۵۶: مهار رشد و تکثیر سلولهای سرطان روده انسانی توسط کمپلکسهای پلاتین. ۱۳۹ شكل ۳-۵۷: نمودار غيرطبيعي شدن DNA در حضور كمپلكسهاى الف) [(Pt(DACH)(OX]، ب) ،[Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ (ج (Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (১ Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ (و د) و Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ و NO₃ ٣٧..... شکل ۳-۵۸: نمودار تغییرات انرژی آزاد گیبس (۵G°) در برابر L] مربوط به برهم کنش DNA با ر Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (ب ،[Pt(DACH)(OX)] کمیلکس های الف) (Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (ج) [Pt(DACH)(tert- (o , [Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (o , [Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ pentylgly)]NO₃ در دو دمای ۲۷ و ۳۵ ۳۷. شکل ۳–۵۹: نمودار تغییرات آنتالیی کانفورماسیون DNA در برابر [L] مربوط به غیرطبیعی شدن DNA در حضور كميلكس هاى الف) [Pt(DACH)(OX)، ب) NO₃ (اPt(DACH)(methylgly)، ج) ج) [Pt(DACH)(tert- () , [Pt(DACH)(isopentylgly)]NO3 () .[Pt(DACH)(butylgly)]NO3 pentylgly)]NO₃ در محدوده دمای ۲۷ تا ۲۰ ۳۷..... شکل ۳-۶۰: منحنی ذوب ct-DNA در ۲۶۰ نانومتر در غیاب و حضور کمپلکسهای الف) (المدال (DACH) (butylgly)]NO3 (ج، [Pt(DACH) (methylgly)]NO3 (ب Pt(DACH) (OX)]، ر) Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ (ه) [Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ شکل ۳-۶۱: طیف جذبی محلول DNA با افزایش مقادیر معینی از کمپلکسهای الف) (Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ (ج، [Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (ب) (Pt(DACH)(OX)]، ر) Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ (ه) [Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ شكل ٣-٤٢: نمودار (A - A_0) برحسب غلطت [com] براي كميلكس هاي الف) [Pt(DACH)(OX)]، [Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ ج) [Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ ر) د) Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ (ه) [Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ شکل ۳-۶۳: تغییرات جذب بر حسب زمان در برهم کنش DNA در حضور کمپلکسهای الف) Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ (ب .[Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (ب .[Pt(DACH)(OX)])، د)

Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ (و در دمای محیط Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ (در دمای محیط Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ شکل ۳-۶۴: طیفهای نشری برای برهم کنش EB-DNA در عدم حضور (نقطه چین) و حضور غلظت های متفاوت کمیلکس های الف) [Pt(DACH)(OX]، ب) NO₃ (Pt(DACH)(methylgly]، ج) [Pt(DACH)(tert- (o , [Pt(DACH)(isopentylgly)]NO3 (o ,[Pt(DACH)(butylgly)]NO3 pentylgly)]NO₃ در دمای محیط. ۳-۶۵: منحنی استرن-ولمر کمیلکسهای [Pt(DACH)(OX)] الف) ب) شكل (ϵ .[Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ [Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ د) Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (ه) [Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ شکل ۳–۶۶: نمودار تغییرات log (F₀ - F/F) در برابر log[Com] کمیلکسهای الف) [Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ (ب [Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (ب [Pt(DACH)(OX)]، ج) Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (ه) [Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ شکل ۳-۶۷: طیفهای DNA ،CD (μM) در غیاب و حضور کمپلکسهای الف) [Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ (ب .[Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (ب .[Pt(DACH)(OX)] Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO3 (و ه) Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO3 (در دمای محیط. شكل ٣-۶٨: جايگاه اتصال با منفى رين انرژى اتصال كميلكس الف) [Pt(DACH)(OX)، ب) [Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ ج) [Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (১ Pt(DACH)(isopentylgly)]NO3 (و المكال المحافية) و المكال المحافية (المحافية) [Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO3 (الم شکل ۳-۶۹: شمای دیگر از محل اتصال کمپلکسها با DNA الف) [Pt(DACH)(OX)، ب) [Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ .[Pt(DACH)(butylgly)]NO3 ج) د) Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (ه Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂) کمپلکسهای [Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂) شکل شکل ۴-۲: ساختار پیشنهادی برای کمپلکس NO₃[Pd(DACH)(isopentylgly]]NO₃ شکل شکل ۴-۳: ساختار پیشنهادی برای کمیلکسهای الف) Pt(DACH)(methylgly)]، ب) [Pt(DACH)(tert- (م , [Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (ج , [Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ ۱۷۱pentylgly)]NO₃

فهرست علائم اختصارى

CT-DNA: calf tymus DNA

EB: ethidium bromide

FIP: 2-(furan-2-yl)-1H-imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline

(DACH): (1R,2R)-(-)-1,2-Diaminocyclohexane

CD: circular dichroism

Gly: Glycine

MD: Molecular Dynamic

tert-Pentylgly: 1,1-Dimethylpropylglycine

RMSD: Root-mean-squar deviation

MSD: Mean square displacement

RDF: Radial distribution function

فصل اول

مقدمه

۱

۱- مقدمه

۱–۱– سرطان

سرطان دومین عامل مرگ و میر در جهان است [۱]. سرطان بیماریی است که در آن سلولها به طور غیرعادی رشد و گسترش مییابند و اگر رشد این سلولها کنترل نشود، مرگ سلولی رخ می دهد [۲]. در میان انواع سرطانها، سرطان روده بزرگ^۱ سومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در کشورهای غربی و سومین نوع سرطان رایج در ایران است [۳].

۲-۱- مراحل پیشرفت سرطان

مرحلهبندی پیشرفت سرطان شدت بیماری را در زمان درمان مشخص میکند. این مراحل با توجه به رشد، اندازه بافت سرطانی و گسترش آن به بافتهای مجاور، غدد لنفاوی و یا اعضای دورتر تعریف میشود. دانستن مرحله پیشرفت سرطان در تعیین درمان مؤثر آن ضروری است.

مرحله صفر: بافت سرطانی هنوز نزدیک به مکان اولیه است.

مرحله یک: در این مرحله بافت سرطانی بسیار کوچک بوده و نفوذ زیادی در بافتها، غدد لنفاوی و دیگر قسمتهای بدن نکرده است.

مرحله دو و سه: در این مرحله بافت سرطانی نمایان شده و نسبت به مرحله یک بزرگ تر و در بافتهای اطراف و غدد لنفاوی نفوذ کرده ولی در قسمت های دیگر بدن گسترش نیافته است.

مرحله چهار: سرطان در قسمت دیگر بدن گسترش یافته است؛ این مرحله را مرحله پیشرفته یا انتشار یافته^۲ هم می گویند [۴].

[\] Colorectal cancer (CRC)

^r Metastasis

۱-۳- مراحل چرخه سلولی

چرخه سلولی (شکل ۱–۱)، پنج مرحله دارد و تمام مراحل منجر به فاز استراحت در نقطه آغاز چرخه میشوند.



شکل ۱-۱: چرخه سلولی [۵].

مرحله G₀: در این مرحله تقسیم سلولی آغاز نشده و سلول بیشتر زمان خود را در این مرحله می گذراند و به محض دریافت علایم تکثیر به مرحله G₁ میرود. مرحله G₁: سلول شروع به ساخت پروتئین کرده و با بزرگتر شدن به اندازه طبیعی می رسد.

مرحله S: کروموزومها که حاوی اطلاعات ژنتیکی هستند، کپی میشوند.

مرحله G2: سلول، DNA را بررسی و آماده تقسیم سلولی میشود.

مرحله M: مرحله تقسیم هسته (میتوز) انجام گرفته و در پی آن دو سلول جدید بوجود میآید [9].

۱-۴- روشهای درمان سرطان

1-۴-۱ جراحی

جراحی یک روش قدیمی برای درمان سرطان بوده و برای از بین بردن بسیاری از انواع سرطانها که در مراحل اولیه هستند و به غدد لنفاوی و دیگر بخشهای بدن انتشار پیدا نکردهاند، به کار می رود. جراحی برای سرطانهایی که در بدن انتشار یافتهاند درمان اصلی محسوب نمی شود. چون پیدا کردن تمام غده های سرطانی بسیار مشکل است. با این حال جراحی جهت کاهش اندازه غده به همراه پرتودرمانی و شیمی درمانی به کار می رود [۲].

۱-۴-۲ پر تو درمانی

در پرتو درمانی با استفاده از ذرات یا امواج پر انرژی مانند پرتو ایکس، گاما، ذرات الکترون یا پروتون، سلولهای سرطانی را از بین میبرند. بهطورکلی دو روش برای اعمال تابش به تومورها وجود دارد. در روش اول، تابش به شکل پرتوی خارجی اشعه ایکس، پرتوی گاما یا الکترون به سمت تومور هدایت میشود. در روش دوم، مواد پرتوزا که پرتو گاما یا بتا را منتشر میکنند، در سطح یا داخل بافت سرطانی کاشته شده و یا به بیمار تزریق میشوند. غدههای سرطانی کوچک که نسبت به غدههای بزرگ از سرعت رشد بیشتری برخوردارند، بهتر به پرتو درمانی پاسخ میدهند. اشعه مورد استفاده، انرژی را در سلولهای بافتی که از آن عبور میکند، ذخیره مینماید. این انرژی ذخیره شده میتواند باعث یک شکست جزیی در ساختار DNA شود.



شکل ۱-۲: مراحل حساس به پرتودرمانی در چرخه سلولی [۸].

همان طور که در (شکل ۱-۲) نشان داده شده است، آسیب به DNA وقتی آشکار می شود که سلول آسیب دیده در چرخه سلولی به مرحله میتوز رسیده ولی قادر به تقسیم سلولی نیست و به این ترتیب سلول میمیرد. این روش برای کوچک کردن تومور قبل از عمل جراحی و برای از بین بردن درد و انسداد روده در سرطانهای پیشرفته روده بزرگ مورد استفاده قرار می گیرد. متاسفانه پرتو درمانی میتواند به بافتهای طبیعی و سالم که در نزدیکی بافت سرطانی هستند هم آسیب برساند. در این بافتها سرعت تقسیم سلولی به طور طبیعی بالا است؛ از جمله میتوان سلولهای پوست، مغز استخوان، مو، مری، روده و سلولهای بافت پوششی دهان را نام برد [۸].

۱-۴-۳ ایمونو تراپی

ایمونوتراپی یکی از روشهای درمان سرطان است که با استفاده از قسمتهای خاصی از سیستم ایمنی با بیماری سرطان مبارزه میکند. ایمونوتراپی به چندین روش آنتی بادیها، واکسن های سرطان و ایمونوتراپی غیر اختصاصی انجام میشود [۷].

۱-۴-۴ شیمی در مانی

در شیمی درمانی داروهای ضد سرطان جهت درمان به کار گرفته می شوند. این روش همراه با جراحی و رادیوتراپی از مهم ترین روش های درمان سرطان است. چرخه سلولی در این روش بسیار مهم است؛ چون بسیاری از داروهای شیمی درمانی فقط بر روی سلول هایی تأثیر می گذارند که در حال تکثیر هستند. داروهایی که روی مرحله ویژه ای در چرخه سلولی تأثیر می گذارند، داروهای اختصاصی چرخه سلولی^۲ و داروهایی که در تمام چرخه سلولی فعال هستند را داروهای غیر اختصاصی چرخه سلولی^۳ می نامند [۹]. برای مثال تکسول^۴ داروی اختصاصی چرخه سلولی است که با اختلال در مرحله M باعث مرگ سلول سرطانی می شود؛ اما اگزالی پلاتین^۵ در دسته داروی غیر اختصاصی چرخه سلولی

- ۴Taxol
- ^a Oxaliplatin

¹ Immunotherapy

^r Cell cycle- specific drugs

[°]Cell cycle- nonspecific drugs

طبقه بندی میشود که با اختلال در مراحل G2/M و G1/M چرخه سلولی منجر به توقف رشد و مرگ سلول سرطانی میشود (شکل ۱-۳) [۱۰]. (الف)



شکل ۱-۳: مرگ سلولی الف) تاکسول (داروی اختصاصی چرخه سلولی) و ب) اگزالی پلاتین (داروی غیر اختصاصی چرخه سلولی) [۱۰].

مطالعات سینتیکی در حیوانات و انسان نشان دادهاند که بافتهای سرطانی که کسر بزرگی از سلولها در آنها در مرحله تکثیر باشند به وسیله شیمی درمانی بهبود مییابند. در شیمی درمانی حجم کلی غده سرطانی بسیار مهم است. داروهای غیراختصاصی چرخه سلولی بر غدههای حجیم با رشد آرام تأثیر می گذارند.

تمام سرطانها نسبت به داروها به یک میزان حساسیت نشان نمیدهند. چگونگی توزیع دارو در بافت سرطانی، انتقال دارو به سلولها، حساسیت دارو به مسیر بیوشیمیایی موجود در سلولهای سرطانی و سرعت نسبی فعالسازی درون سلولی دارو از جمله عوامل تعیین کننده در اثربخشی یک دارو نسبت به یک بافت سرطانی خاص میباشند.

به دلیل سمیت داروهای ضد سرطان و انتخاب پذیری آنها بر علیه رشد سریع سلولها، بافت های سالم نیز در معرض خطر بوده و عوارض ناخوشایندی از جمله حالت تهوع، ریزش مو، کم خونی و سمیت گوارشی را به دنبال دارند. البته پس از شیمی درمانی سیستم ترمیم بدن این آثار را به مرور برطرف می کند. مشکل بعدی، مقاومت سلول های سرطانی در برابر دارو است که موجب پایین آمدن ظرفیت و کارایی دارو می شود. البته سایر مکانیسم های بیوشیمیایی مانند کاهش انتقال دارو، گسترش مکانیسم های ترمیم DNA و تخریب فعالیت دارو نیز می توانند دخالت داشته باشند. این دو عامل (سمیت و مقاومت)، دلایل اصلی تحقیقات وسیع بر روی داروهای ضد سرطان و بررسی اثرات درمانی آن ها می باشند.

داروهای شیمی درمانی با هدف قرار دادن DNA که یکی از مهم ترین و حساس ترین مولکول ها در نظام زیستی به شمار می آید، ساختار DNA را دستخوش تغییرات نموده و سیستمهای موجود در سلول جهت خواندن دقیق نوکلئوتیدهای^۱ یک ژن در DNA برای نسخه برداری، یا به اصطلاح کد کردن DNA را دچار اشتباه می کنند؛ این فرایند منجر به متوقف شدن تقسیم سلولی و یا مرگ سلولی می شود. بنابراین مطالعه بر هم کنش دارو و ترکیبات هم خانواده آن ها با DNA برای فهم مکانیسم و طراحی داروهای جدید مهم می باشد. طراحی ترکیبات جدید می تواند منجر به ساخت داروهایی با عوارض جانبی کمتر شود. با توجه به اینکه قسمتی از عوارض جانبی داروهایی مثل سیس پلاتین^۲ اسیس دی آمین دی کلرو پلاتین (II)] و اگزالی پلاتین به دلیل آبکافت رخ می دهد، می توان با قرار دادن لیگاندهای حلقه ساز، مسیر آبکافت را تغییر داده و عوارض جانبی دارو را به میزان قابل توجهی کاهش داد [۹].

1-۵- مرگ سلولی^۳

مرگ سلولی قسمتی از چرخه بلوغ و تکامل است که میتواند در جواب بافت ها به تغییرات درونزا از قبیل التهاب و اختلال در سیستم خون رسانی باشد. مرگ سلولی گاهی نتیجه آسیب جدی

[\]Nucleotides

^r Cisplatin

[°] Death cell

سلول از نظر فیزیکی و شیمیایی است؛ چنین مرگی را در اصطلاح مرگ نکروز ^۱ سلولی مینامند. در عوض مرگ یک سلول با یک برنامه درون سلولی را مرگ برنامه ریزی شده سلول^۲ مینامند. این مرگ طی پروسه منظم، با تکامل چرخه زندگی یک ارگانیسم همراه است که مخالف مرگ سلولی نکروز ناشی از آسیب شدید یا التهاب بافت میباشد. با اینکه مرگ برنامه ریزی شده سلول به ذهن یک دید منفی میدهد ولی یکی از فرایندهای مهم و حیاتی است که بقای موجود زنده به نحوه عملکرد آن وابسته است. حذف سلول های آلوده به ویروس و حذف سلول هایی که بخش عمده ADD آنها آسیب دیده همگی از طریق مرگ برنامه ریزی شده سلول انجام شده و باعث تخریب غشاء سلول میشود. در نتیجه سلول پیچ خورده و با بزرگتر شدن هسته به طور غیر طبیعی، دانه دانه میشود (شکل ۱–۴). این مرگ برنامه ریزی شده میتواند با افزایش داروی ضد سرطان و محروم کردن سلول از یک عامل رشد نیز رخ



در صورت اختلال در فرآیند القاء آپوپتوسیس سلولها، کل حیات موجود زنده با خطر جدی مواجه خواهد شد. مرگ یک سلول را میتوان به عنوان یک روش برای درمان سرطان بکار گرفت؛ به

[\]Necrosis

^r Apoptosis

این ترتیب که داروهای ضد سرطان باعث صدمه به DNA و سلولهای سرطانی شده و مرگ سلولی در سلولهای سرطانی میدهد و در پی آن سلول های سرطانی از بین میروند [۱۱و۱۲]. **۱–۶– ساختار دیوکسی ریبونوکلئیک اسید^۱**

دیوکسی ریبونوکلئیک اسید یا DNA یکی از ترکیبات مهم سلولی در بدن و دارای اطلاعات ژنتیکی، یعنی اجزای ساختاری همه پروتئینها و ریبونوکلئیک اسیدها (RNA) است. این درشت مولکولها مسئول ذخیره و انتقال اطلاعات ژنتیکی بوده و کارکرد تمام سلولها از جمله رشد و تولید مثل را کنترل میکنند.

ساختار DNA در سال ۱۹۵۳ توسط واتسون^۲ و کریک^۳ کشف شد. آنها ساختار سه بعدی برای اسیدهای نوکلئیک پیشنهاد دادند که شامل دو زنجیر پلیمری غیر موازی: یکی هسته آبگریز و دیگری اسکلت آبدوست قند فسفوناتی است. هر رشته از ترکیب چهار نوکلئوتید آدنین^۴ (A)، تیمین^۵ (T)، گوانین^۶ (G) و سیتوزین^۷ (C) تشکیل شده است. این نوکلئوتیدها از طریق پیوند فسفو دی استری درون رشته ای به هم متصل شدهاند و دو زنجیر پلیمری اسیدهای نوکلئیک از طریق پیوند هیدروژنی به هم متصل میگردند. به این ترتیب که آدنین از طریق دو پیوند هیدروژنی به تیمین و سیتوزین توسط سه پیوند هیدروژنی به گوانین متصل شده اند. این جفت بازها دارای گروههای دهنده و پذیرنده پیوند هیدروژنی هستند.

وقتی اسکلت قند فسفوناتی به دور جفت بازهای مرکزی می پیچد، دو شیار در سطح DNA ایجاد می شود که عمق این دو با هم متفاوت است. شیار با عمق بیشتر را شیار بزرگ^۸ و شیار دیگر با عمق

- " Crick
- ^{*} Adenine
- ^a Thymine
- ' Guanine
- ^v Cytosine
- [^] Major Groove

¹ Deoxyribonucleic acid

۲ Watson

کمتر را شیار کوچک^۱ مینامند. علت به وجود آمدن شیارها در این است که پیوندهای گلیکوزیدی که سبب اتصال جفت بازهای آلی به قندهای مربوط به آنها میشوند به طور کامل در مقابل هم قرار ندارند (شکل ۵–۱) [۱۳]. مولکول DNA هدف اصلی بسیاری از داروهایی است که به صورت بالینی مورد استفاده قرار گرفته و یا درحال طی مراحل آزمایشات بالینی میباشند؛ زیرا برهمکنش این داروها با DNA میتواند در سنتز و رونویسی DNA و در نتیجه حیات سلول اثرگذار باشد.



شکل ۱-۵: (الف) پیوند بین بازها در رشته DNA، (ب) شیار بزرگ و کوچک در ساختار مولکولی DNA، (ج) مکانهای پذیرنده و دهنده پیوند هیدوروژنی در بازهای DNA [۱۳].

DNA ساختار انعطاف پذیری است و تحت شرایط مختلف از قبیل ترکیب جفت بازها، میزان آب محیط و غلظت نمک به ساختارهای A، B، A و Z که در (شکل ۱-۶) نمایش داده شده تبدیل می شود [۱۴]. متداول ترین ساختار DNA در سلول های زنده، مارپیچ راست گرد B-DNA است. جفت بازها در این ساختار عمود بر محور مارپیچ هستند. چنانچه جفت بازهای موجود در B-DNA کوتاه و قطورتر است. شوند، مارپیچ راست گرد A-DNA به وجود می آید که در مقایسه با B-DNA کوتاه تر و قطورتر است.

[\] Minor Groove

جفت بازها در A-DNA از محور مارپیچ بیرون رانده شده و شیار بزرگ، باریکتر و عمیقتر می شود در حالی که شیار کوچک بزرگتر و با عمق کمتر خواهد شد. در انتقال ساختار A-DNA به ساختار راست گرد C-DNA محور مارپیچ به سمت مخالف لبه شیار کوچک جفت بازها تمایل پیدا کرده و شیار اصلی کم عمق تر می شود. در این ساختار تعداد جفت بازها در هر چرخش کمتر از ساختارهای دیگر DNA است [۵۵]. در ساختار چپ گرد DNA-Z قند و فسفات نسبت به هم حالت زیگزاگ دارند. این ساختار طویل تر و باریک تر از A-DNA است. در سطح مولکول یک شیار عمیق که معادل شیار کوچک تر B-DNA است خارج مارپیچ قرار گیرند [۱۶].



DNA انواع برهم کنش دارو با DNA

برهم کنش داروها با DNA به روشهای مختلف انجام می شود. این برهم کنش ها شامل برهم کنش قوی کووالانسی و برهم کنش ضعیف غیر کووالانسی است.

۱-۷-۱ برهم كنش كووالانسى

بسیاری از داروهای ضد سرطان که مورد استفاده بالینی قرار می گیرند بعد از آبکافت شدن، با DNA پیوند کووالانسی می دهند. این برهم کنشها از طریق پیوند کوالانسی کوئوردینه دو دندانهای با بازهای نوکلوتید روی یک زنجیره DNA^۱ یا پیوند کوالانسی کوئوردینه دو دندانهای بین بازهای روی دو زنجیره متقابلDNA^۲ انجام می گیرد. مزیت بزرگ پیوندهای کوالانسی دارو به DNA، قدرت بالای پیوند آنها است که موجب واپیچش ساختار DNA و بازداری کامل فرآیندهای سلولی می شود که در پیوند آن مرگ سلولی اتفاق می افتد.

سیس پلاتین یک پیوند دهنده کووالانسی معروف در نقش داروی ضدسرطان است که از طریق پیوند با نیتروژن بازهای DNA که روی یک زنجیره یا دو زنجیره متقابل DNA قرار دارند موجب غیر طبیعی شدن ساختار DNA می شود. بیشترین نوع اتصال از طریق پیوند کوالانسی با نیتروژن شماره ۷ باز گوانین روی یک زنجیره DNA است (شکل ۱–۷).

به ترکیباتی که از طریق پیوند کووالانسی برهمکنش میدهند، معرف^{های} آلکیله کننده^۳ نیز میگویند [۱۷].



شکل ۱-۷: پیوند کووالانسی سیسپلاتین روی یک رشته یا دو رشته مارپیچ DNA با نیتروژن شماره ۷ بازهای گوانین روی یک زنجیره و زنجیره مقابل DNA [۱۷].

^{&#}x27;Intrastand Crosslink

^YInterstrand Crosslink

[&]quot; Alkylating agents

۱-۷-۲ برهم کنشهای غیر کووالانسی

پیوندهای غیر کووالانسی داروها با DNA شامل جایگیری بین بازهای هتروسیکلDNA (برهم کنش اینتر کلیشن)، برهم کنش شیاری و برهم کنش الکترواستاتیک میباشد. اتصالات غیر کووالانسی بر گشت پذیر بوده و نسبت به پیوند کووالانسی ارجحیت دارند؛ چون اثرات جانبی نداشته و سمیت کمتری دارند [۱۸].

الف) جایگیری بین بازهای هتروسیکل DNA (برهم کنش اینترکلیشن)

ترکیب حاصل با همپوشانی ابر الکترونی جفت بازهای DNA و اینترکلیتور، برهم کنش π - π ایجاد کرده ترکیب حاصل با همپوشانی ابر الکترونی جفت بازهای DNA و اینترکلیتور، برهم کنش π - π ایجاد کرده و باعث پایداری پیوند کمپلکس–DNA میشود. لیگاندهای چند حلقهای آروماتیک و مسطح مانند اتیدیوم بروماید این نوع برهم کنش را تسهیل می کنند. نوع دیگری از اینترکلیشن، اینترکلیشن شیاری است و در ترکیباتی دیده میشود که علاوه بر حلقه آروماتیکی، دارای زنجیره جانبی هستند. این ترکیبات و مستند. این



'Intercalation

اتصال اینترکلیتور به DNA باعث تغییرات ساختاری در DNA می شود؛ از جمله این تغییرات افزایش فاصله بین جفت بازها، افزایش طول DNA و واپیچش مارپیچ دورشتهای DNA است. این تغییرات باعث اختلال در فرایند رونویسی، تکثیر و بازسازی DNA می شوند. این ویژگیها اینترکلیتورها را به یکی از موثرترین داروهای ضد سرطان تبدیل کرده اند [۱۸]. **– اتصال شیاری**^۱

داروهایی که توانایی اتصال شیاری به DNA را دارند به طور معمول منحنی شکل بوده و پیچش یکسانی با منحنی شیاری DNA دارند. این ترکیبات میتوانند با بازهای DNA، به طور معمول ^R آدنین و O2 تیمین پیوند هیدروژنی تشکیل دهند. وجود مانع فضایی در سیتوزین– گوانین به علت گروه آمینوی متصل به C2 در باز گوانین میباشد؛ و به همین دلیل شیار ناحیه آدنین-تیمین باریک تر از شیار سیتوزین-گوانین است؛ هر چند تعدادی از پلی آمیدهای سنتز شده از ایمیدازول-پیرول تمایل به پیوند در ناحیه شیاری سیتوزین- گوانین دارند. در (شکل ۱-۹) پیوند دارو با شیار بزرگ و کوچک DNA نشان داده شده است. داروهای با اتصال شیاری، بر خلاف اینتر کلیتورها تغییرات کمی در ساختار DNA



[\]Groove binding
ج- پيوند الكترواستاتيكى

در این نوع پیوند، برهم کنش یونی (الکترواستاتیکی) بین لیگاند کاتیونی با پلی فسفات آنیونی DNA انجام می گیرد. لیگاند با یک کاتیون ⁺Na و یا ⁺²Mg که اطراف DNA برای موازنه بار وجود دارند، جایگزین شده و شکلهای ضعیف پیوندی الکترواستاتیک را در سطح DNA ایجاد می کند (شکل ۱–۱۰) [۱۸].



۱-۸- داروهای ضدسرطان

داروهایی که در شیمی درمانی جهت معالجه سرطان به کار گرفته میشوند را میتوان به دو دسته بزرگ تقسیم کرد:

الف) داروهای ضد سرطان که در برگیرنده عناصر فلزی نبوده و بیشتر از نوع ترکیبات آلی هستند. ب) داروهای ضد سرطان که در آنها یونهای فلزی قرار دارند [۲۰].

۱-۸-۱- داروهای ضد سرطان آلی

در مسیر مبارزه با سرطان، فرآوردههای طبیعی نقش مهمی در پیشرفت درمان سرطان داشتهاند. دسته مهمی از این ترکیبات، آنتی اکسیدانهای موجود در طبیعت هستند. در میان این داروها میتوان به تکسول و دوکسورابیسین اشاره کرد (شکل ۱–۱۱).

^{&#}x27;Electrostatic binding



با توجه به اینکه فرآوردههای طبیعی نظیر تکسول و سایر ترکیباب آلی منابع محدودی دارند و سنتز آنها در آزمایشگاه سخت و دشوار است، طراحی ترکیبات جدید آلی و یا معدنی میتواند مورد توجه محققان در درمان برخی بیماریها از جمله درمان سرطان باشد.

۱-۸-۲ داروهای ضد سرطان حاوی فلز

بیش از پانصد سال است که فلزات در پزشکی با هدفهای تشخیصی و درمانی مورد استفاده قرار میگیرند. در قرن بیستم کاربرد بسیار مهم کمپلکسهای فلزی برای درمان سرطان کشف شد. بهطور کلی، فلزات ترکیباتی ضروری برای سلولها هستند. آنها اغلب در فرایندهای مختلف بیولوژیکی، تبادل الکترون و فعالیت کاتالیزی مشارکت دارند. فلزاتی مانند گالیم، روی، کبالت، نقره، وانادیم، منگنز و مس در مقدار کم برای فعالیت کاتالیزی مشارکت دارند. فلزاتی مانند گالیم، روی، کبالت، نقره، وانادیم، منگنز و مس مقدار فلز مورد نیاز سلول و مقدار آن که در بدن موجود است، مهم می باشد. فلزاتی مثل نیکل، کادمیوم، کروم و آرسنیک میتوانند منجر به بروز سرطان شوند و کمتر برای بدن مفید هستند. این محدودیتها باعث شد تحقیق درباره ترکیبات بر پایه پلاتین گسترش یابد؛ چون این ترکیبات سمیت کمتر، گزینش پذیری بالاتر و کاربردهای بیشتری را نشان دادهاند. علاوه بر این جایگزینی لیگاند باعث سنتز طیف گستردهای از ترکیبات بر پایه فلز میشود که در آنها ساختار کمپلکس اصلاح شده و اثر دارویی بهبود فلزات واسطه دارای ویژگیهای منحصر به فردی هستند از جمله:

الف) **تنوع بار**: در محیط آبی، یونهای فلزی به صورت گونههای دارای بار مثبت هستند که میتوانند به مولکولهای بیولوژیکی با بار منفی متصل شوند [۲۲]. ترکیبات کوئوردیناسیونی سیستمهای کوچک منحصر به فردی هستند که به آسانی به رشتههای DNA متصل شوند. این ترکیبات دارای بار مثبت بوده که میتوانند بار منفی در اسکلت DNA را خنثی کنند. این امر یک پیش نیاز برای غیر طبیعی شدن ساختار DNA است و دیگر اینکه مرکز فلزی کمپلکس در نفش یک تکیه گاه عمل کرده و باعث حفظ ساختار سه بعدی لیگاند متصل به DNA میشود [۲۳].

ب) **ساختار و پیوند**: در مقایسه با مولکولهای آلی، کمپلکسهای فلزی میتوانند آرایشهای مختلف کوردیناسیونی داشته باشند. طول پیوند، زاویه پیوند و آرایش فضایی با توجه به نوع فلز و حالت اکسایش آن تغییر میکند که این تنوع در شکل هندسی و ساختار را در ترکیبات آلی نمیتوان فراهم کرد [۲۲]. قابل ذکر است که در درمان تومورهای سرطانی بدخیم، ترکیبات کئوردیناسیونی بسیار مؤثرتر هستند [۲۲و۲۴].

ج) **برهم کنش فلز –لیگاند:** خواص سینتیکی و ترمودینامیکی برهم کنشهای فلز-لیگاند روی واکنشهای تعویض لیگاند تاثیر می گذارد و در واکنش کوئوردینه شدن فلزات به مولکولهای زیستی اهمیت زیادی دارد.

این ویژگیها باعث میشود کمپلکسهای فلزی به طور گزینشی به مولکولهای زیستی هدف متصل شوند که نتیجه آن تغییر در مکانیسم تکثیر سلولی میباشد [۲۲].

در میان ترکیبات کوئوردیناسیونی، ترکیبات پلاتین(II)، پلاتین(IV)، روتنیم(II)، روتنیم(III)، طلای(I) و طلای(III) بیشتر مورد مطالعه قرار گرفتهاند.

کمپلکسهای کلینیکی روتنیم در شکل (۱–۱۲) نشان داده شده اند. کمپلکسهای روتنیم در مقایسه با کمپلکس پلاتین پیوند ضعیفتری با درشت مولکول DNA دارند و به علت پیوند قوی آنها با پروتئینهای پلاسما مانند آلبومین و ترانسفرین^۱، فعالیت ضدسرطانی کمتری نشان میدهند [۲۵و۲۶].



trans-[tetrachlorobis(1 H- شکل ۱۱–۱۲: ساختار کمپلکسهای کلینیکی روتنیم الف) -۱۲ (MAMI-A) [H₂im][*trans*-RuCl4(dmso-S)(Him)] (۲۶].

کمپلکسهای طلا برای درمان ورم مفاصل و روماتیسم مناسب شناخته شدهاند و به طور شگفت انگیزی دارای خواص ضدسرطانی نیز هستند. مکانیسم عمل طلای(I) با سیسپلاتین متفاوت بوده و هدف اصلی آن DNA نیست؛ بلکه کمپلکسهای طلای (I) توسط تغییر فعالیت میتوکندری (اندامکی که وظیفه آن تنفس سلولی و انتقال انرژی است) موجب سمیت و مرگ سلول سرطانی میشوند. کمپلکسهای طلای(III) با شکل هندسی مربع مسطح همانند سیسپلاتین بر اثر اتصال با درشت مولکول DNA خواص ضدسرطانی خود را نشان میدهند در شکل (۳۰–۱) مثالی از کمپلکسهای طلای(I) و طلای(III) آورده شده است [۲۶و۲۲].



[\] Transferin

۱-۹- داروهای ضدسرطان پلاتین

بدیهی است که داروهای ضد سرطان بر اساس ترکیبات کوئوردیناسیونی پلاتین بهتر از سایر داروها بر پایه فلزی عمل میکنند چرا که طول عمر ترکیبات پلاتین در بدن بیشتر است. همچنین داروهایی بر پایه ترکیبات پلاتین، جزء داروهای غیر اختصاصی چرخه سلولی بوده و تمام چرخه سلولی را درگیر میکنند. سینتیک کند ترکیبات پلاتین(II) باعث شده داروهایی بر پایه پلاتین نقش عمده در درمان سرطان داشته باشد. بهطور تقریبی ۵۰ الی ۷۰ درصد از بیماران تحت شیمی درمانی، داروی بر پایه پلاتین دریافت میکنند. استفاده گسترده از داروهایی ضدسرطان با کشف فعالیت سیس پلاتین بایه پلاتین دریافت میکنند. استفاده گسترده از داروهایی ضدسرطان با کشف فعالیت سیس پلاتین برق بر روی رشد باکتری اشرشیاکلی مشاهده کردند که تقسیم و رشد سلول متوقف شده است. این اتفاق بر اثر واکنش مقدار کم پلاتین بر روی الکترود با کلرید آمونیوم موجود در محیط کشت و بوجود آمدن کمپلکسهای سیس [2]20(NH3) و [2]10(NH3) بوده است. این کمپلکسها مانع از رشد آمدن کمپلکسهای سیس [2]20(NH3) و [2]20(NH3) بوده است. این کمپلکسها مانع از رشد آمدن کمپلکسهای باکتری میشدند. امروزه سیسپلاتین به طور گسترده جهت درمان سرطان سر و

۱–۹–۱ مکانیسم عملکرد سیس پلاتین

سیس پلاتین به دلیل حلالیت کم به صورت وریدی تجویز می شود و توسط نفوذ غیر فعال و یا از طریق انتقال فعال^۲ توسط انتقال دهندههای مس^۳ وارد بافت سلول می شود. به دلیل غلظت پایین یون کلرید درون سلول در مقایسه با محیط خارج سلول آبکافت رخ داده و سیس پلاتین به

[\]Passive diffusion

^r Active Diffusion

^r Copper transporter(CTR)

DNA این ترکیب کاتیوتی تمایل زیادی به کوئوردینه شدن با T((NH₃)₂Cl(H₂O)]⁺ دارای بار منفی دارد.

مراکز هسته دوست در DNA عبارتند از: N-گوانین، N₁ وN-آدنین و N₃-سیتوزین. اتم نیتروژن N7-گوانین، مکانی غنی از الکترون است که به طور عمده در پیوندها حضور پیدا می کند. سیس پلاتین در یک واکنش جانشینی سریع بوسیله یک مولکول آب به N7 گوانین متصل میشود. سپس دومین کلر آبکافت شده و منجر به تشکیل دومین پیوند با DNA میشود. بیشترین محصول افزایشی DNA و سیس پلاتین از طریق پیوند با دو گوانین که روی یک زنجیره DNA قرار دارند، تشکیل میشود (شکل ۱۹۰۰-۱۰). بر اثر تشکیل این محصول چندین فرایند درون سلولی فعال شده و باعث خمش و باز شدن زنجیره DNA میشود. در نتیجه رونویسی از DNA انجام نشده و سلول بر اثر مرگ برنامه ریزی شده



شكل ۱-۱۴: واكنش سيس پلاتين با DNA [۳۰].

۱-۹-۲ معایب داروی سیس پلاتین

با وجود موفقیت بالینی سیس پلاتین، این دارو موجب اثرات جانبی شدید نظیر نارسایی کلیوی، عصبی، آسیب شنوایی و تهوع می شود. همچنین این دارو نسبت به بعضی از بافتهای سرطانی مثل

[\]Cis-(Pt(NH3){1,2-intrastrand(dGpG)}

سرطان سینه و روده بزرگ (روده بزرگ) ناکارآمد است. از دیگر محدودیتهای سیس پلاتین، مقاومت بافت های سرطانی نسبت به این دارو می باشد [۳۲].

پلاتین (II) جزء اسیدهای نرم بوده و ترکیبات پایداری با مولکولهای دارای اتم دهنده گوگرد (باز نرم) تشکیل میدهد. از سوی دیگر، پپتیدها، پروتئینها و آنزیمها مولکولهای زیستی هستند که حاوی اتم دهنده گوگرد میباشند. اتصال کمپلکسهای فلزی به این مولکولهای زیستی باعث به وجود آمدن عوارض جانبی در طول مصرف داروهای ضد سرطان پلاتین می گردد [۳۳].

مقاومت بافت سرطانی به سیس پلاتین توسط چند مکانیسم به وجود می آید که عبار تند از: اتصال سیس پلاتین به اتم گوگرد پروتئین گلوتاتیون^۱ و متالوتیونین^۲ موجود در سیتو پلاسم که در اثر این واکنش سیس پلاتین قبل از رسیدن به DNA به خارج از سلول پمپ می شود. مسیر دیگر اینکه سیس پلاتین به DNA متصل می شود اما توسط پروتئین ترمیم کننده شناسایی شده و DNA ترمیم می شود (شکل ۱–۱۵) [۳۴و۳۴].



این محدودیتها موجب سنتز هزاران کمپلکس پلاتین شد که کمترین عوارض جانبی و بیشترین خواص ضدسرطانی را داشته باشند.

' Glutatione

^r Metallothionein

۱--۱۰ ارتباط ساختار و واکنش پذیری

مطالعات ضدسرطانی زیادی بر روی ترکیبات کوئوردیناسیونی پلاتین انجام گرفته است. نتایج نشان میدهند که فعالیت بیولوژیکی آنها وابستگی شدیدی به صورتبندی و ساختارشان دارد. بهطوری که تغییر کوچک در ساختار باعث تغییر زیادی در جذب، واکنش پذیری، حلالیت، نحوه پیوند به DNA، متابولیسم، دفع و سمیت دارو می گردد. در نتیجه طراحی کمپلکسهای جدید توسط روشهای زیر برای افزایش خواص ضد سرطانی و کاهش عوارض جانبی صورت می پذیرد، این روشها عبارتند از:

۲) تغییر لیگاند ترک کننده، ۲) تغییر لیگاند دهنده نیتروژن، ۳) طراحی و سنتز کمپلکسهایی

بدون لیگاند ترک کننده و ۴) تعویض فلز مرکزی (شکل ۱-۱۶) [۲۴و۳].



شكل ۱-۱۶: ارتباط بين ساختار و واكنش پذيرى دارو بر پايه پلاتين [۳۵].

کمپلکسهای زیادی با تغییر لیگاندهای نیتروژن دهنده و ترک کننده سیسپلاتین، سنتز و شناسایی شده اند و از بین هزاران کمپلکس سنتز شده تنها دو نوع کمپلکس کربوپلاتین و اگزالیپلاتین به طور بالینی استفاده و مورد تأیید قرار گرفتهاند (شکل ۱–۱۷) [۳۶].



اگزالیپلاتین با فرمول: (IR, 2R-cyclohexane-1,2-diamine)oxalateplatinum(II) در سال ۲۰۰۲ مورد قبول سازمان غذا و دارو آمریکا^۱ قرار گرفت. این کمپلکس دارای لیگاند دو دندانه ترانس ۱۳، ۲۲-دی آمینو سیکلوهگزان (DACH) به جای دو لیگاند تک دندانه آمین و گروه ترک کننده اگزالات دودندانه به جای دو لیگاند کلر در ساختار سیسپلاتین است. در این کمپلکس، لیگاند اگزالات باعث حلالیت بیشتر و پایداری آن در آب میشود. در نتیجه سمیت و عوارض جانبی اگزالیپلاتین نسبت باعث حلالیت بیشتر و پایداری آن در آب میشود. در نتیجه سمیت و عوارض جانبی اگزالیپلاتین نسبت به سیسپلاتین کاهش مییابد. از طرفی، وجود لیگاند دیآمینوسیکلوهگزان باعث افزایش خواص ضد سرطانی دارو میگردد [۲۴]. دی آمینو سیکلو هگزان به صورت سه ایزومر ترانس ۱۳، ۲۳، ترانس ۲۵، ۱۶ و سیس ۲۵–۱۳ وجود دارند. در اتصال اگزالی پلاتین با ایزومر ترانس ۱۳، ۲۸- دی آمینو سیکلوهگزان به مرام ایگاند سیکلوهگزان به صورت عمود با مارپیچ دورشتهای AND قرار میگیرد و فضای زیادی از شیار اصلی را پر میکند [۳۷]. اتم هیدروژن گروه ۱۹۷ لیگاند ترانس ۲۵، ۲۸- دی آمینو سیکلو هگزان می تواند با اتم ۲۵ باز گوانین برهم کنش داشته باشد. این برهم کنش تنها در فر

¹ Food and Drug Administration

R, R مشاهد می شود و ایزومر S, S این ویژگی را ندارد و باعث می شود پروتئین ترمیم کننده به خاطر حجیم بودن گروه دی آمینو سیکلو هگزان قادر به شناسایی DNA تغییر شکل یافته نباشد [۴۰-۳۸]. ایزومر سیس TS-۱R دی آمینو سیکلوهگزان به صورت موازی با مارپیچ دورشتهای DNA جهت گیری کرده و نمی تواند به درستی در شیار DNA قرار بگیرد. این بررسی ها نشان می دهد اگزالی پلاتین با ایزومر ترانس TR، ۱R دی آمینو سیکلوهگزان مؤثر ترین بر هم کنش با DNA را دارد [۳۷].

اگزالی پلاتین نسبت به بافتهای سرطانی مقاوم در برابر سیس پلاتین مؤثر تر عمل می کند. فعالیت اگزالی پلاتین، کربو پلاتین و سیس پلاتین در جدول ۱-۱ با یکدیگر مقایسه شدهاند [۹].

اثرات جانبي	سمیت	موارد عمده مصرف	دارو
تهوع شديد	آسیب کلیوی، نارسایی مغز استخوان	سرطان تخمدان، رحم، ریه، مثانه، سرو	سيسپلاتين
	و آسیب خفیف به سیستم عصبی	گردن و خون	
تهوع خفيف	نارسایی مغز استخوان و کاهش	سرطان ریه ، خون، تخمدان و معده	كربوپلاتين
	پلاکت های خون		
تهوع خفيف	نارسایی خفیف مغز استخوان و آسیب	سرطان روده، پانکراس، کبد، معده، تخمدان،	اگزالىپلاتين
	به سیستم عصبی	لوزالمعده و (به همراه ۵-فلورواوراسیل و	
		فولیک اسید برای درمان سرطان روده	
		بزرگ)	

جدول ۱-۱: موارد استفاده بالینی سیس پلاتین، کربو پلاتین و اگزالی پلاتین و عوارض جانبی آنها [۹].

1-11-1 مكانيسم عملكرد اگزالي پلاتين

نفوذ کمپلکسهای پلاتین توسط نفوذ غیر فعال، نفوذ تسهیل شده از طریق کانالها و پروتئینهای انتقال دهنده صورت می گیرد. از میان این پروتئینها، پروتئین انتقال دهنده مس (CTR1) و پروتئین انتقال دهنده کاتیون آلی (OCT) بسیار مورد بحث قرار گرفتهاند. پروتئین انتقال دهنده کاتیون آلی (OCT) نقش عمدهای در فعالیت ضد سرطانی اگزالیپلاتین دارد [۴۱]. این پروتئین در بسیاری از بافتهای بدن مانند روده کوچک، کبد، کلیه، مغز و قلب قرار دارد [۴۲]. وجود گروههای حامل معدنی مانند آمین در سیسپلاتین و کربوپلاتین باعث میشود آنها به سختی توسط این پروتئین شناسایی شوند ولی وجود گروههای حامل دارای ترکیبات آلی مانند دی آمینو سیکلو هگزان باعث افزایش برهم کنش اگزالی پلاتین با پروتئین OCT و نفوذ پذیری دارو به سلولهای سرطانی روده بزرگ و اختصاصی بودن تأثیر آن میشود [۴۳].

مکانیسم عملکرد اگزالیپلاتین همانند سیسپلاتین است (شکل ۱–۱۸)؛ با این تفاوت که به دلیل وجود گروه بزرگ و حجیم ۱۳، ۲۲–دی آمینو سیکلو هگزان در اگزالی پلاتین، اتصال پروتئینهای دارای گوگرد موجود در سیستوپلاسم به پلاتین کمتر رخ میدهد [۳۸]. اگزالیپلاتین نیز مانند سیسپلاتین بیشتر از طریق پیوند با دو گوانین که روی یک زنجیره DNA^۱ قرار دارند، به DNA متصل میشود. علت بیشتر از طریق پیوند با دو گوانین که روی یک زنجیره DNA^۱ قرار دارند، به DNA متصل میشود. علت بیشتر از طریق پیوند با دو گوانین که روی یک زنجیره DNA قرار دارند، به DNA متصل میشود. علت بیشتر بودن این نوع پیوند این است که ۲۸ گوانین که در شیار بزرگ مارپیچ دو رشتهای DNA قرار دارد برای پیوند با پلاتین بسیار در دسترس است. حلقه گوانین طوری جهت گیری می کند که لیگاند آمین به عنوان دهنده پیوند هیدروژنی با گروه اکسو ۲۵ برهم کنش داشته باشد؛ در حالی که گروه آمینو ۲۵ حلقه آدنین یک پذیرنده ضعیف پیوند هیدروژنی است و موجب میشود پیوند تشکیل شده بلندتر و ضعیفتر باشد. در شکل ۱–۱۹ نمودار انرژی آزاد برای پیوند دی هیدروکسو اگزالی پلاتین با گوانین و آدنین نشان میدهد سد انرژی کمتری در فرایند پلاتین دار شدن گوانین نسبت به آدنین



شكل ۱-۱۸: مكانيسم عمل داروي اگزالي پلاتين [۴۴].

[\]Cis-(Pt(1R, 2R-DACH){1,2-intrastrand(dGpG)}

دلیل دیگر ارجحیت گوانین به آدنین در این واکنش به ویژگی الکترونی آنها وابسته است. انرژی اوربیتال مولکولی جفت الکترون تنها روی اتم N7 گوانین (۸/۴۷ ev-) کمتر از آدنین (۷/۶۲ ev-) است و در نتیجه واکنش اوربیتال خالی d_{x2-y2} پلاتین با N7 گوانین راحت تر صورت می پذیرد [۴۵].



1-11- ترکیبات جدید ضد سرطان بر پایه پالادیوم و پلاتین

به علت عوارض جانبی مشاهده شده در سه ترکیبی که به صورت بالینی در سراسر جهان مورد استفاده قرار می گیرند و مورد تأیید وزارت غذا و دارو آمریکا قرار دارند، تلاشها برای سنتز کمپلکسهایی با عوارض جانبی کمتر و حداقل سمیت در مقابل سلولهای سرطانی، همچنان مورد توجه قرار دارد.

۱-۱۲-۱ کمپلکسهای پالادیوم

روش دیگر برای کاهش عوارض جانبی کمپلکسهای پلاتین، تغییر فلز مرکزی (Pt) در طراحی داروهای جدید است. به علت شباهت شیمی کوئوردیناسیون پلاتین و پالادیوم، فلز Pd بهترین گزینه طsp² جهت این تغییر محسوب می شود. پالادیوم همانند پلاتین با عدد اکسایش ۲+ و اوربیتال هیبریدی ² ساختار مربع مسطح داشته و در این حالت اکسایش پایدارتر است [۴۶]. کمپلکسهای پالادیوم نسبت به کمپلکسهای پلاتین حلالیت بالاتری داشته و تمایل کمتری به پیوند با گروههای گوگرددار بیومولکولها دارند، در نتیجه مسمومیت کلیوی کمتری در مقایسه با سیس پلاتین نشان میدهند؛ بنابراین برای درمان سرطان دستگاه گوارش مناسب تر هستند [۲۴و۴۷–۴۹]. آبکافت لیگاندهای با ترک کننده کمپلکس پالادیوم ^{۱۰}۰ برابر بیشتر از پلاتین است. برای رفع این مشکل از لیگاندهای با ترک کنندگی کمتر استفاده می شود که موجب پایداری کمپلکس پالادیوم شده و ساختار کمپلکس در بدن تا رسیدن به هدف بیولوژیکی حفظ می شود [۵۰]. با توجه ویژگیهای ذکر شده و ارزان تر بودن نمک پالادیوم، از کمپلکس های پالادیوم برای مدل سازی واکنش کمپلکس های مشابه پلاتین در محیط

۱-۱۲-۲ کمپلکسهای فلزات واسطه با لیگاندهای فنانترولینی

ترکیبات پلاتین و پالادیوم دارای بار مثبت و بدون گروههای ترک کننده که قابلیت آبکافت ندارند، خواص ضد سرطانی خوبی از خود نشان دادهاند [۲۴]. کمپلکسهای آلی فلزی دارای طیف وسیعی از لیگاندهای دارای کربن هستند و کاربرد زیادی در پزشکی دارند. لیگاندهای آروماتیک، آب دوستی و چربیدوستی کمپلکسهای فلزی را کنترل کرده و در نتیجه جذب سلولی و نوع واکنش کمپلکس فلزی با مولکولهای زیستی مورد هدف را تحت تأثیر قرار میدهند [۵۱].

۱۰،۱-فنانترولین لیگاند دودندانه نیتروژن دهنده، مسطح، صلب و دارای حلقه آروماتیک است. این ویژگیها باعث شده این لیگاند توانایی کوئوردینه شدن زیادی با فلزات واسطه داشته باشد [۵۲]. کمپلکسهای فلزات واسطه دارای لیگاند فنانترولین در سلولهای خورشیدی، حسگرها ، فتوکاتالیزگرها و داروهای ضدسرطان استفاده میشوند [۵۳].

دسته ای از کمپلکسهای ضد سرطان پلاتین دارای فرمول ⁺²[Pt(I_L)(A_L)] میباشند که در آن IL یک لیگاند مسطح دودندانه مانند فنانترولین یا مشتقات فنانترولین است که دارای قابلیت جایگیری بین بازهای هتروسیکل DNA (اینترکلیشن) با DNA و AL لیگاندی ۲۰۱-دی آمین سیکو هگزان (DACH) فاقد توانایی اینترکلیت شدن میباشند (شکل۱-۲۰). بار مثبت این کمپلکسها باعث افزایش حلالیت و در نتیجه کاهش عوارض جانبی و مسمومیت نسبت به این دسته از داروها می شود. نتایج سمیت بر روی رده سلول سرطانی خون نشان می دهد این ترکیبات در غلظت کم تری نسبت به سیس پلاتین، سلول های سرطانی را از بین می برند [۵۴].



شکل ۱-۲۰: ساختارهای کمپلکس های پلاتین دارای فرمول ⁺²[Pt(I_L)(A_L)] [۵۴].

مشتقات فنانترولینی لیگاندهای مهمی در شیمی آلی فلزی هستند؛ ایمیدازو-فنانترولین یکی از مهمترین آنها میباشد. حلقه پنج عضوی ایمیدازول بازتابی از بازهای پورین در DNA است و اسکلت متداول برای بسیاری از مولکولهای زیستی مانند بیوتین (ویتامین B7)، هیستیدین (اسیدآمینه) و هیستامین (آمین زیستی) میباشد (شکل۱–۲۱) [۵۲و۵۵]. مشتقات ایمیدازول در حسگرهای نوری و شیمیایی، سلولهای خورشیدی و مواد فلورسنت کاربرد دارند. همچنین فعالیت ضد قارچ، ضد میکروبی و ضد سرطان نشان میدهند [۵۲].



شكل ۱-۲۱: الف) بيوتين، ب) هيستيدين و ج) هيستامين [۵۶].

کمپلکسهای ایمیدازو-فنانترولین با استخلافهای مختلف سنتز شدهاند که به طور مؤثری با DNA واکنش میدهند [۵۵]. در شکل ۱-۲۲ دو کمپلکس پالادیوم با لیگاندهای ایمیدازو-فنانترولینی نمایش داده شده است. این کمپلکسها در مقایسه با سیسپلاتین در غلظت کمتری بر روی رده سلول سرطانی خون اثر می گذارند [۵۷].



FIP: 2-(Furan-2-yl)-111-1midazo|4,5-f]|1,10]phenanthroline) phen: 1,10-phenanthroline

شكل I-1۲: كمپلكس الف) Pd(FIP)_2]Cl_ و ب) NO₃)_2 (۵۷] [Pd(phen)(FIP)].

همچنین مطالعات نشان داده است این کمپلکسها برش دهنده^۱ رشتههای DNA بوده و به

علت دارا بودن خواص لومینسانس و به عنوان حسگر DNA به کار میروند (شکل ۱–۲۳) [۵۸].



$$\label{eq:posterior} \begin{split} & [Ru(bpy)_2(PIP)]^{2+}(Ru1) \\ & \text{bpy} = 2, 2'\text{-bipyridine} \\ & \text{PIP} = 2\text{-phenyl-1Himidazo}[4,5-f]- [1,10]\text{-phenanthroline} \\ & .[\Delta9] \left[Ru(bpy)_2(PIP)\right]^{2+} \cdot \sum_{n=1}^{2} \cdot \sum_{n=1$$

۱–۱۲–۳– کمپلکسهای فلزات واسطه با لیگاند اسیدهای آمینه

اسیدهای آمینه واحدهای ابتدایی برای تشکیل انواع پروتئینها هستند [۶۰]. نقش کمپلکسهای اسید آمینه با فلزات در فرایندهای بیوشیمی معدنی بینهایت اهمیت دارد برای مثال در همه آنزیمهای فلزی حداقل یک اسید آمینه به فلز متصل شده است [۶۱].

' cleavage

گلایسین مهم ترین و ساده ترین اسید آمینه غیر ضروری است و به عنوان پیش ماده برای تشکیل متابولیتهای کلیدی با وزن مولکولی کم مانند کراتین، گلوتاتیون، هِم، پورین و پورفرین استفاده می شود و نقش چندگانهای در بسیاری از واکنش ها دارد (شکل ۱–۲۴) [۶۲].



گلایسین در بهبود سلامت انسان نقش چشم گیری داشته و رژیمهای غذایی با مقدار مناسب گلایسین در درمان اختلالات متابولیک در بیماران مبتلا به سرطان، دیابت و نارسایی قلبی بسیار موثر هستند. اولین بار یک شیمیدان فرانسوی به نام هنری براکونت^۱ در سال ۱۸۲۰ گلایسین را از هیدولیز پروتئین بهدست آورد. نام آن از واژه یونانی گلایکیز^۲ به معنای شیرین اقتباس شده چون طعم و مزه آن همانند گلوکز شیرین است. از کل اسید آمینه های موجود در بدن ۱۱/۵ درصد دارای ساختار گلایسین هستند و ۸۰ درصد از کل گلایسین موجود در بدن برای سنتز پروتئین استفاده می شود [۶۲].

گلایسین عامل اصلی سوخت و ساز در تکثیر سلولهای سرطانی هستند و به سرعت توسط این سلولها که تکثیر بالایی دارند مصرف شده و در بعضی تومورها ازجمله تخمدان، روده بزرگ و پوست

¹ Henri Broconnot

۲ Glykys

به میزان بیشتری مصرف میشود [۶۳و۶۴]. در سرطان روده بزرگ گلایسین باعث رگزایی که یکی از مراحل اصلی در رشد و تکثیر سلول سرطانی است، میشود [۶۵].

سلولهای موجودات زنده توسط یک غشاء نیمه تراوا احاطه شدهاند که این غشاء از پروتئینهای چربی دوست شناخته شده برای سلول و فسفولیپیدها تشکیل شده است. داروهای ضد سرطان باید ساختاری داشته باشند که به آنها این امکان را بدهد که از غشاء سلول نفوذ کرده و به مولکولهای زیستی داخل سلول متصل شوند [۶۶].

در شکل ۱–۲۵ انواع برهم کنشها بین اسید آمینه گلایسین و آلانین با کاتیونهای فلزی نمایش داده شده است. اسیدهای آمینه از طریق اکسیژن یا نیتروژن به صورت تک دندانه، تشکیل کیلیت پنج عضوی (O,N)، کیلیت چهارعضوی (O,O) یا تشکیل پل بین دو یون فلزی از طریق (O,N) یا (O,O) به فلز متصل می شوند [۶۷].



شکل ۱-۲۵: حالتهای کوئوردیناسیونی ممکن بین اسیدآمینه و کاتیون فلزی [۶۱].

اگر اندازه و بار کاتیون کوچک باشد بهترین حالت پیوند نحوه A است؛ در حالی که با افزایش اندازه یا بار کاتیون فلزی مدل کوئوردیناسیون B محتمل تر است [۶۱].

در کمپلکسهای پالادیوم و پلاتین گلایسین بیشتر تمایل دارد گروه آمین و اکسیژن گروه کربوکسیلات به فلز متصل شود (شکل ۲۶–۱) [۶۸].



اسید آمینه گلایسین NH₂CH₂COOH برای کیلیت شدن با یون فلزی باید پروتون گروه کربوکسیلات را از دست بدهد، پیوند بین یون فلزی و اکسیژن گروه کربوکسیلات پیوند یونی است و پیوند بین نیتروژن گروه NH₂ و فلز کووالانسی است، فلز در این کمپلکس اسید لوئیس و گلایسین باز لوئیس است [۶۹].

کمپلکسهای پلاتین و پالادیوم که به گروههای فعال زیستی نظیر اسیدهای آمینه، پیپتدها و نوکلئوزیدها متصل باشند، فعالیت ضد سرطانی و برهمکنش بهتری با DNA دارند. مطالعات نشان میدهد ترکیبات همرده کمپلکسهای پلاتین و پالادیوم با اسیدهای آمینه به علت حلالیت بالا، اثرات جانبی کم و سرعت عمل دارو از اهمیت خاصی برخوردارند [۶۶]. وجود گروههای N و O دهنده یا پذیرنده پیوند هیدروژنی با DNA در این ترکیبات باعث پایداری محصول افزایشی دارو-DNA شده و اثر ضد سرطانی آنها افزایش مییابد [۶۰] چندین مثال از کمپلکسهای پلاتین و پالادیوم با اسیدهای



1-1۳- روشهای طیف سنجی جهت بررسی برهم کنش دارو با DNA

مطالعات برهم کنش دارو (کمپلکس فلزی) با بیوماکرومولکول DNA برای بررسی غلظت مورد نیاز کمپلکس فلزی برای غیر طبیعی کردن DNA، ثابت پیوند و تعداد جایگاه پیوندی و نحوه برهم کنش ترکیب افزایشی کمپلکس-DNA، تعیین جایگاه پیوندی کمپلکس به DNA و تعیین تغییر در خاصیت بیولوژیکی یا بیوشیمی بیوفیزیکی DNA به کار می رود.

بررسی و برهم کنش کمپلکسهای فلزی سنتز شده با DNA در فاز محلول انجام میپذیرد و می توان از روشهای طیف سنجی جذب الکترونی، فلوئورسانس و دورنگ نمایی دورانی برای این مطالعات بهره برد که اصول و کاربرد هریک از آنها در ادامه شرح داده می شود.

۱-۱۳-۱ طیف سنجی مرئی-فرابنفش^۱

متداولترین روش برای بررسی برهم کنش DNA با کمپلکسهای فلزی طیف سنجی فرابنفش مرئی است. اهمیت این روش این است که می توان در شرایط آبی کار کرد و چون سیستم های زیستی

^vUV-Visible spectroscopy



شكل ۱-۲۸: انتقالات الكتروني در مولكولها [۷۲].

انتقالهای $\sigma \to \sigma = \sigma$ و $\pi \to \pi$ مجاز هستند. تفاوت انرژی بین σ و σ به طور نسبی زیاد است و این انتقال در ناحیه فرابنفش دور قرار می گیرد؛ اما انتقال یا اختلاف انرژی $\pi \to \pi \to \pi$ یا $\pi \to \pi$ در نواحی فرابنفش و مرئی قرار دارد. همچنین انتقال الکترونی، در بر گیرنده انتقال ارتعاشی و چرخشی است که به صورت باندهای نامشخص و یا پهن شدن پیکها نمایان می شود و به طور معمول در طیفهای الکترونی مورد تجزیه و تحلیل قرار نمی گیرد و از طیف سنجی زیرقرمز و یا رزونانس مغناطیسی هسته برای تحلیل و نمایش آنها استفاده می شود [۷۲].

این روش اجازه میدهد غلظت مولی DNA را توسط مقادیر جذب در ۲۶۰nm را توسط معادله بیر-لامبرت بهدست آورد.

 $A = \varepsilon bc \qquad (1-1)$

طیف سنجی جذبی بر پایه دو پارامتر ضریب جذب مولی (٤) و طول موج بیشینه استوار است. رابطه بین ٤، غلظت نمونه (c) و طول مسیری که نور باید از آن عبور کند (b) در طیف سنجی جذبی توسط قانون بیر-لامبرت بیان میشود. ٤ در این معادله در بیشترین طول موج محاسبه میشود، هرچند ممکن است ضریب جذب مولی در هر طول موجی تعیین شود.

طیف جذب فرابنفش-مرئی برای DNA یک نوار پهن در ناحیه ۳۵۰۰m–۲۰۰ با بیشترین جذب در ۲۶۰nm است. بیشترین جذب مشاهده شده، در نتیجه وجود گروههای کروموفور پورین (آدنین

وگوانین) و پیریمیدین (سیتوزین و تیمین) که مسئول انتقالات الکترونی هستند، میباشد [۱۸].

طیف جذبی نمایانگر محیط شیمیایی مولکول است. محیط های گوناگون از قبیل غلظت، pH،

درجه حرارت، قطبیت حلال باعث تغییر طول موج حداکثر و ضریب جذب کروموفورها میشود.

سادهترین روش برای بررسی برهم کنش کمپلکس فلزی و DNA بررسی تغییرات حداکثر جذب برای DNA یا کمپلکس است (شکل ۱–۲۹). با توجه به این تغییرات میتوان نوع پیوند و تغییر ساختاری که در DNA بر اثر پیوند با کمپلکس ایجاد میشود را پیش بینی کرد.



۱-۱۳-۲ طيف سنجي فلوئورسانس

طیف سنجی فلوئورسانس، طیف سنجی بسیار حساسی است و اطلاعاتی را درباره آرایش فضایی، جایگاه پیوندی، برهم کنش حلال، فواصل بین مولکولی و ضریب نفوذ چرخش ماکرومولکول در اختیار قرار میدهد.

پدیده نشر نور از برخی مواد با همان طول موج جذب شده یا بلندتر را فوتولومینسانس مینامند. موادی که خاصیت فوتولومینسانس دارند، معمولا به دو گروه فلوئورسانس و فسفرسانس تقسیم میشوند. برای درک بهتر پدیده فلوئورسانس و پی بردن به علت تفاوت آن با فسفرسانس لازم است تا با نمودار جابلونسکی^۲ آشنا شویم (شکل ۱–۳۰) [۷۳].



همان طور که در شکل مشخص است امواج الکترومغناطیس موجب انتقال الکترون از تراز پایه به یکی از ترازهای الکترونی بالاتر می شود. انرژی فوتون جذب شده تعیین کننده ترازی است که الکترون به آنجا می رود. هنگامی که الکترون انرژی خود را از دست می دهد از تراز برانگیخته یکتایی به یکی از لایه های ارتعاشی تراز پایه باز می گردد (احتیاجی نیست که به انتهایی ترین لایه ارتعاشی تراز پایه منتقل شود) و انرژی خود را به صورت پرتوی نشری آزاد می کند از این رو همواره پرتوی نشری فلوئورسانس نسبت به پرتوی جذبی طول موج بلندتر و انرژی کمتری دارد. غیر فعال سازی تابشی بین حالتهای

¹ Fluorescence Spectroscopy

^r Jablonski Diagram

الکترونی با چندگانگی متفاوت فسفرسانس خوانده می شود. به طور معمول مدت زمان انجام فسفرسانس ۲۰^۴ تا ۲۰^۰ ثانیه می باشد. بیشتر بودن طول عمر فسفرسانس به دلیل غیرمجاز بودن آن به لحاظ اسپینی است.

همان طور که طیف جذبی تحت تأثیر محیط اطراف است، طیف نشری (فلوئورسانس) نیز از محیط تأثیر بیشتری می پذیرد. از جمله این عوامل می توان به برهم کنش فلوروفور ^۱ با مولکول های حلال پیرامون آن، ترکیبات آلی و معدنی حل شده در محیط، دما، pH و غلظت ماده فلوروفور اشاره کرد. عوامل محیطی، مراحل بدون پرتو هستند و با مقابله پرتوی فلوئورسانس موجب کاهش بازده کوانتومی می شوند که به آن خاموشی پرتوی فلوئورسانس می گویند [۷۴].

۱–۱۳–۲–۱– فلوروفور

فلوروفورهای اصلی در بیوشیمی به دو دسته کلی فلوروفور خارجی و ذاتی تقسیم میشوند. فلوروفورهای ذاتی بهطور طبیعی وجود دارند. فلوروفورهای خارجی آنهایی هستند که به نمونههایی که فلوئورسانس ندارند مثل اسیدهای نوکلئیک، افزوده میشوند تا بتوان آنها را مورد مطالعه قرار داد. برای افزودن فلوروفور خارجی به DNA باید به موارد زیر توجه کرد:

- ۱ . فلوروفور باید به یک جایگاه معین درشت مولکول به طور محکم پیوند شود.
- ۲ . فلورسنت این فلوروفور باید به شرایط محیطی حساس باشد، به این معنی که اگر تغییری در شرایط محیطی جایگاه پیوندی بهوجود آید، حساسیت فلورسنت نشان دهد.
 - ۳ . فلوروفور نباید باعث تغییرات فضایی برای ماکرومولکول شود.
- ۴ . فلوروفورهای مرسوم برای اسیدهای نوکلئیک، انواع آکریدینها و اتیدیومبرومید میباشند
 (۷۴]

[\]Fluorophore

اتیدیومبرماید میتواند یک درمیان در بین جفت بازهای DNA قرار گرفته و باعث افزایش شدت فلوئورسانس شود. علت افزایش شدت نشر فلوئورسانس بعد از اضافه شدن اتیدیوم برومید به DNA این است که مولکول اتیدیوم در قسمت آبگریز زنجیر دو رشتهای DNA (بین بازهای آلی) قرار گرفته، جایی که به دلیل عدم وجود مولکولهای آب، نشر فلوئورسانس آن خاموش نمیشود. در شکل ۱–۳۱ نحوه اینترکلیشن اتیدیوم برومید در بین رشته های DNA را مشاهده می کنید [۷۵].



شکل ۱-۳۱: نحوه اینترکلیشن اتیدیوم برومید در بین رشته های DNA [۷۶].

طول عمر و بازده کوانتومی مهم ترین ویژگی فلوروفور است. بازده کوانتومی عبارت است از تعداد فوتونهای نشر داده شده به فوتونهای جذب شده. طول عمر، زمان در دسترس برای فلوروفور است که می تواند با محیط واکنش دهد یا در آن پراکنده شود [۷۳].

۱-۱۳-۲-۲- خاموش شدن

خاموشی فلوئورسانس مربوط به هر فرایندی میشود که شدت فلوئورسانس یک نمونه را کاهش میدهد. این پدیده به طور گستردهای برای مطالعه سیستمهای بیوشمیایی مورد استفاده قرار می گیرد. خاموش شدن فلوئورسانس به دو دسته خاموشی استاتیک (ایستا) و دینامیک (برخوردی) تقسیم میشود و در هر دو فرایند احتیاج به تماس بین مولکولی بین فلوروفور و خاموش کننده وجود دارد.

[\] Quenching

در خاموشی دینامیک برخورد بین خاموش کننده و فلوروفوردر حالت برانگیخته، باعث کم شدن انرژی فلوروفور می شود. طول عمر فلورسنت برای این مولکول ها کمتر از مولکول هایی است که در فرایند دینامیک شرکت نکردهاند؛ در نتیجه در خاموشی دینامیک شدت فلوئورسانس، بازده کوانتومی و طول عمر کاهش می یابد. کاهش در بازده کوانتومی به دلیل کم شدن جمعیت حالت برانگیخته بدون نشر فلوئورسانس است.

$$F_0/F = \tau_0/\tau \tag{(Y-1)}$$

فرمول ۱-۲، توضیح میدهد که در خاموشی دینامیک کاهش شـدت فلوئورسـانس (F) برابر کاهش زمان نیمه عمر(۲) است.

وقتی خاموشی استاتیک رخ میدهد برخی مولکولهای فلوروفور به لیگاند (خاموش کننده) متصل شده و کمپلکسی تشکیل میدهند که فلورسنت نیست؛ بنابراین بر اثر خاموشی استاتیک تعدادی از مولکولها که هنوز فلورسنت دارند در تشکیل کمپلکس شرکت نکردهاند. تمام این مولکولها طول عمر فلوئورسانس یکسان دارند در نتیجه طول عمر فلوئورسانس محاسبه شده در حضور و عدم حضور خاموش کننده برابر میباشد. همان طور که در معادله $1 = \tau_0 / \tau$ نشان داده شده، میتوان گفت در این نوع خاموشی شدت فلوئورسانس تغییر نمی کند.



هر دو خاموشی استاتیک و دینامیک، معادله استرن-ولمر رابطه بین فلوئورسانس فلوروفور و غلظت خاموش کننده را بیان میکند.

$$F_0/F = 1 + k_q \tau_0[Q] = 1 + K_{sv}[Q]$$
(\mathcal{T}-\)

خاموشی استاتیک و دینامیک وابسته به حرارت و گرانروی هستند. دمای بالا باعث برخورد بیشتر شده و خاموشی دینامیک افزلیش مییابد، در حالی که خاموشی استاتیک به دلیل شکستن پیوند کمپلکسها کاهش مییابد.

نمودار خطی استرن-ولمر نشان دهنده یک نوع خاموشی است و اگر دو مکانیسم وجود داشته باشد نمودار استرن-ولمر از حالت خطی منحرف می شود (شکل ۱-۳۳) [۷۷].



شکل ۱-۳۳: نمودار همزمانی مکانیسم خاموشی استاتیک و دینامیک [۷۷].

ماهیت خاموشی استاتیک، جانشینی اتیدیوم توسط خاموش کننده است که توسط واکنش زیر بیان میشود.

$$nQ + B_E \rightarrow nB_M + EtBr$$

Q خاموش کننده، *n* تعداد جایگاه پیوندی DNA که در آن خاموش کننده جایگزین اتیدیم برومید شده است Q خاموش کننده، *n* تعداد می EtBr و DNA *nBM* متصل به *n* مولکول خاموش کننده است. برومید شده است DNA *iBE* متصل به EtBr و DNA *nBM* متصل به *n* مولکول خاموش کننده است. برای محاسبه ثابت ظاهری پیوند خاموش کننده به DNA (*Kapp*)، این طور فرض می شود که جانشینی مولکول EtBr در جایگاه پیوندی DNA ثابت است و تاثیری بر *Kapp خ*اموش کننده ندارد. بنابراین مولکول EtBr در جایگاه پیوندی ANA ثابت است و تاثیری بر *Kapp خ*اموش کننده ندارد. بنابراین مولکول EtBr در جایگاه پیوندی DNA ثابت است و تاثیری بر رول فرایند جانشینی، غلظت اولیه برای جایگاه پیوندی EtBr متصل شده به DNA برابر $_{B_{E_0}}$ است که برابر غلظت کلی DNA متصل به EtBr به DNA متصل به خاموش کننده (nBM) می باشد.

$$\begin{bmatrix} B_{E_0} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} B_E \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} nB_M \end{bmatrix} \tag{(f-1)}$$

نسبت بین غلظت و فلوئورسانس B_{E_0} و B_{E_0} توسط رابطه زیر بیان می شود

$$[B_{E}]/[B_{E0}] = [F]/[F_{0}]$$
 (\(\Delta-1))

با جایگزینی این رابطه در معادله ثابت پیوند به $F = F_0 - F/[Q]^n F$ میرسیم و در نهایت رابطه لگاریتمی زیر جهت تعیین ثابت ظاهری پیوند به دست می آید [54]. $\log(F_0 - F/F) = n \log[Q] + \log K_{app}$ (۶-۱)

اسکاچارد^۱ در این زمینه کارهای فراوانی انجام داده است. یکی از جالبترین کارهای او مطالعه وسیع ترکیباتی که قادرند با کمپلکس اتیدیوم-DNA به طرق مختلف برهم کنش داشته باشند است. او توانست از طریق این مطالعات تئوری و عملی و رسم منحنی های متعدد، نحوه اینترکلیت شدن یا

' Scatchard

برهم کنش ها را از یکدیگر تمیز داده، به طوری که بتوان از روی نوع نمودار تر کیب در حال مطالعه اینتر کلیت شدن آن را اثبات کرد.

شکل ۱-۳۴ نمودارهای فلوئورسانس اسکاچارد برای پیوند شدن اتیدیم برمید با DNA تیموس گوساله را در غیاب (0) و حضور (۰) غلظت های مختلفی از کمپلکسهای فلزی را نشان می دهد.



شکل ۱-۳۴: انواع نمودارهای فلوئورسانس اسکاچارد در برهم کنش اتیدیوم برومید با DNA در عدم حضور (0) و حضور (●) غلظت های مختلفی از کمپلکس های فلزی [۷۸].

همان طوری که در شکل مشاهده می شود، اسکاچارد چهار نوع رفتار در منحنی های این برهم کنش ها مشاهده نمود که آن ها را با C،B،A و D مشخص کرد:

۱. در نوع A، طول از مبدا که با n (تعداد جایگاههای پیوندی به ازاء هر نوکلئوتید) نشان داده می شود، با افزایش غلظت می شود، ثابت ولی شیب منحنی ها که با K (ثابت تجمع پیوندی) نشان داده می شود، با افزایش غلظت کمپلکس فلزی کاهش مییابد. این نوع رفتار در منحنی نشان دهنده اینترکلیت شدن ترکیب در -EtBr DNA به صورت رقابتی^۱ است.

`Competitive

۲ . در نوع K ،B و n هر دو متغیرند. این نوع رفتار در منحنی نشان دهنده این است که ترکیب می تواند به صورت اینترکلیت و کووالانس با DNA برهم کنش داشته باشد. اسکاچارد این نوع برهم کنش را غیر رقابتی تلقی نموده است.

۳. نوع C، در ترکیباتی مشاهده می شود که نمی توانند برای مکانهای پیوندی در DNA با اتیدیوم برومید رقابت داشته باشند زیرا در ساختار آنها بخش آروماتیک و مسطح وجود ندارد. نمودار بهدست آمده برای این ترکیبات به صورت خط راست با شیب خط و طول از مبدا یکسان می باشد.

۴. نوع D، در ترکیباتی مشاهده می شود که قادرند جلوی مکانهای اینترکلیت شدن را برای اتیدیوم برمید ببندند. این مانع شدن ممکن است در شکل برقراری پیوند کوالانس، شیاری و غیره با بازهای آلی DNA دو رشته ای ظاهر شود که منجر به تغییر صورتبندی DNA در ناحیه پیوند شده می گردد. در نتیجه این بی نظمی احتمال میرود نه تنها اتیدیوم از DNA بیرون رانده می شود، بلکه ترکیبی که قادر به اینترکلیت شدن است نمی تواند وارد شود. این برهم کنش را اسکاچارد منطبق بر مدل پیوندی غیر رقابتی خود دانست [۷۹].

۱-۱۳-۳ طیف سنجی دورنگ نمایی دورانی^۱

دورنگ نمایی دورانی یک طیف سنج جذبی است که از نور پلاریزه دایرهای برای مطالعه ترکیبات کایرال استفاده میکند و مهمترین کاربرد آن مطالعه ساختار مولکولهای زیستی بزرگ مانند پروتئین و اسیدهای نوکلئیک و بررسی برهمکنش آنها با فلزات و دیگر مولکولها میباشد [۸۰].

یک گونه کایرال دورنگ نمایی دورانی دارد. وقتی نور پلاریزه دایرهای از درون یک نمونه فعال نوری با جذب متفاوت برای نور چپگرد و راستگرد عبور میکند دامنه نوری که بیشتر جذب شده

¹ Circular Dichroism Spectroscopy

کوچکتر از نوری می شود که کمتر جذب شده و نور پلاریزه بیضوی به وجود می آید (شکل ۱–۳۵). دورنگ نمایی عبارت است از اختلاف در جذب نور قطبیده راست گرد^۱ و چپ گرد^۲

$$\Delta A = A_l - A_R$$
 (۷-۱)
 $\Delta A = (\varepsilon_l - \varepsilon_R)cl$ $A = (\varepsilon_l - \varepsilon_R)cl$ A_l

وراست گرد، E ضریب خاموشی نور پلاریزه، C غلظت مولی و L طول سل است [۸۱].



پارامتری به نام الیپتیسیتی^۳ (
$$\theta$$
)، برای توصیف قطبیت بیضوی به کار میرود. این زاویه تانژانت
قطر کوچک به قطر بزرگ بیضی میباشد:
 $\tan \theta = E_R - E_L / E_R + E_L$
(۸-۱)
(۸-۱)
 $e_R = E_R - E_L / E_R + E_L$
معمولا کوچک است و علامت اغلب با رادیان اندازه گیری می شود:
 $\theta = \frac{2.303}{4} (A_l - A_r)$
(۹-۱)

برای تبدیل رادیان به درجه از رابطه زیر استفاده می شود:
$$\theta = 32.98 \Delta A$$
 (۱۰-۱)

¹ Right-handed circularly polarized light (R-CPL)

^v Left-handed circularly polarized light (L-CPL)

[&]quot; ellipticity

گزارش θ در آزمایش دورنگ نمایی دورانی به صورت الیپتیسیتی مولی [θ] است که در آن وابستگی θ به طول سل و غلظت از بین میرود و واحد آن ¹⁻degrees. cm². dmol میباشد [۸۲]:

$[\theta] = 100 \times \theta_{obs}/C \times l$	(11-1)
$[\theta] = 3298.2 \times \Delta \varepsilon$	(17-1)

در برر سی طیف دورنگ نمایی دورانی نوکلئیک ا سیدها، میدانیم بازهای هترو سیکل نوکلئیک اسید غیر کایرال هستند ولی وقتی در اسکلت کایرال قند-فسفات قرار می گیرند، کایرال می شوند. در سال ۱۹۳۵ کشف شد که فرم B-DNA راست گرد است؛ یافتههای بعدی نشان داد که DNA سال ۱۹۳۵ کشف شد که فرم C-DNA ، A-DNA راست گرد و A-DNA مدل چپ گرد را می پذیرد [۸۰]. در شکل ۱-۳۶ نمای کلی طیف دورنگ نمایی دورانی فرم B، C، Z و A نوکلئیک ا سید نمایش داده شده ا ست [۸۸و]. دو نوار شاخص در طیف دورنگ نمایی دورانی برای فرم B. DNA که متداولترین ساختار می DNA مشخص شده ا ست: نوار مثبت در ۲۶۵ نانومتر که به روی هم قرار گرفتن بازها^۱ و نوار منفی در ۲۴۷ نانومتر به پیچش راست گرد^۲ دو رشته DNA مربوط میباشد.



[\]Base stacking

^r Right-handed helicity

با افزایش دارو به DNA طیف دو رنگ نمایی دورانی DNA در مقایسه با طیف دو رنگ نمایی دورانی DNA طبیعی به دلیل جفت شدن انتقالات لیگاند و DNA یا تغییر در جفت شدن بازهای DNA، دچار تغییر میشود و می توان به میزان تغییر و تخریب ساختاری DNA در اثر اتصال دارو پیبرد [۴۹].

۱-۱۴ اهداف طرح

با توجه به آمار بالای سرطان در سراسر دنیا، تهیه ترکیبات دارویی ضد سرطان با عوارض جانبی کمتر و سمیت مناسب جهت درمان سرطان یکی از مهمترین موارد تحقیق دانشمندان میباشد. اگزالی پلاتین، نسل سوم ترکیبات ضد سرطان بر پایه پلاتین است و در نقش یک ترکیب سمی آلکیل کننده با اتصال به گوانین و یا گوانین- آدنین مجاور نوکلئوتید مانع از تکثیر DNA می گردد. با این وجود، به دلیل آبکافت و امکان اتصال این ترکیب به گروههای عاملی موجود در پروتئینها مانند سولفورها و یا بافتهای سالم بدن، باعث بروز عوارض جانبی مانند تهوع و درد زیاد در بیماران می شود. بعد از آبکافت اگزالی پلاتین، لیگاند اگزالات رها شده مشکلی برای سیستم بدن ایجاد نمی کند. اما برای کمپلکس پلاتین امکان اتصال کووالانسی به بازهای نیتروژن گوانین DNA و سایر گروههای عاملی موجود در پروتئین و دیگر مولکولهای زیستی بوجود میآید. اگر بتوان مسیر آبکافت و عملکرد اگزالی پلاتین را تغییر داد انتظار می رود عوارض مصرف دارو به میزان قابل توجهی کاهش یابد. مطالعات نشان داده تغییر ساختار این ترکیب میتواند به تغییر مسیر عملکرد اگزالی پلاتین منتهی شود. لذا با جایگزینی لیگاند دودندانه حلقه ساز به جای اگزالات، احتمال آزاد شدن لیگاند از حوزه کوئوردیناسیون کم و اتصال کمپلکس به DNA از مسیرهایی مانند اتصال شیاری یا جایگیری در میان بازهای DNA بیشتر می شود. برای رفع مشکل آبکافت ترکیب و امکان اتصالات کووالانسی و نیز با توجه به مطالعات وسيعي كه در سنتز تركيبات با خواص ضد سرطاني بر پايه پالاديوم و پلاتين صورت گرفته است، در این پروژه، تهیه ترکیبات جدید از اگزالی پالادیوم و پلاتین با جایگزینی لیگاندهای دودندانه حاوی

اتمهای (O, N) و (N, N) به جای اگزالات و بررسی خواص ضد سرطانی آنها مطرح گردید. مشتقات متنوعی از لیگاندهای (N,O) دهنده مانند مشتقات اسیدآمینه متیل گلایسین، بوتیل گلایسین، ایزوینتیل گلایسین و ترشیو پنتیل گلایسین ها و لیگاندهای (N, N) دهنده مسطح آروماتیکی نظیر بی پیریدین و یا فنانترولین می توانند لیگاندهای مناسبی در طراحی کمپلکسهای جدید پالادیوم یا پلاتین با خواص ضد سرطانی باشند. در بین لیگاندهای مطرح شده، اسیدهای آمینه ترکیبات شناخته شده در سیستم بدن هستند و حضورشان در ساختار کمپلکسها می تواند نفوذ آنها را به داخل سلول تسهیل کند. از سوی دیگر، لیگاندهایی نظیر مشتقات فنانترولین، با توجه به بخش مسطح بزرگی که در ساختار کمپلکس ایجاد می کنند، امکان اتصال و جایگیری بین بازهای DNA را فراهم می کنند. این پیوندها به مراتب ضعیفتر از پیوند کووالانسی بوده و منجر به تغییر ساختار در نقطه اتصال میشوند و متعاقب آن دیگر DNA برای نسخه برداری شناخته نمی شوند. همچنین اکثر ترکیبات دارویی کلینیکی در آب کم محلولاند و از طریق تزریقی مصرف می شوند. ساخت ترکیبات محلول در آب با خواص ضد سرطانی می تواند کمک بزرگی به حلالیت دارو و پیشرفت درمان بیماری کند. از آنجایی که کمپلکس های طراحی شده در این پروژه باردار میباشد احتمال میرود انحلال پذیری آنها در محیط آبی (بیولوژیکی) امکان استفاده خوراکی آنها را فراهم کند. همچنین در بررسی نحوه اتصال و برهمکنش این ترکیبات با DNA به کمک روشهای طیفسنجی فرابنفش-مرئی، فلوئورسانس و دورنگنمایی دورانی قابل بررسی می باشد و می توان نحوه برهم کنش کمپلکسهای سنتز شده با DNA تحلیل و بررسی شود. همچنین خواص سمیت کمپلکسهای سنتز شده برای مهار رشد سلولهای سرطانی روده انسانی HCT116 قابل بررسی میباشد.

فصل دوم

بخش تجربى

بخش تجربى

۲-۱- مواد و دستگاهها

حلالهای مورد استفاده برای تهیه لیگاندها و کمپلکسها از جمله استون، متانول، اتانول و دی اتیل اتر از شرکت مرک آلمان خریداری شده و در صورت لزوم قبل از مصرف، تقطیر شدهاند. واکنش گرهای مورد استفاده کلرو استیکاسید، دی کلرومتان، فوران کربالدهید، آمونیم استات، تری اتیل آمین، سدیم کلرید، سدیم یی کربنات، ترشیو پنتیل آمین، بوتیل آمین، ایزوپنتیل آمین، متیل آمین، اتیل آمین، سدیم کلرید، سدیم یی کربنات، ترشیو پنتیل آمین، بوتیل آمین، ایزوپنتیل آمین، متیل آمین، مدیم اسید کلریدریک، سدیم سولفات، از شرکت مرک^۱ و دی کلرو (۱، ۲-دی آمینسیکلوهگزان) پالادیوم(II) و دی کلرو (۱، ۲-دی آمینسیکلوهگزان) پلاتین(II)، از شرکت سیگما^۲ خریداری گردید.

در آزمایشهای بررسی برهم کنش کمپلکسها با DNA از تریس هیدروکسی متیل آمینومتان، (OHCH2)3CHN2](Tris-buffer) از نوع پلیمریزه غده تیموس گوساله و اتیدیوم برمید^۴ (C₂₁H₂₀N3Br] M.W=۳۹۴/۳ g/mol)) خریداری شده از شرکت سیگما، استفاده شدند.

برای شناسایی لیگاندها و کمپلکسهای سنتز شده، طیفهای IR توسط دستگاه FT-IR مدل PerkinElmer-10.20.00 به صورت قرص KBr و در محدوده ¹⁻۴۰۰۰ cm ۴۰۰۰ و طیفهای الکترونی FT- ۴۰۰۶ و سیکتروفتومتر PerkinElmer ثبت شده است. طیفهای H-NMR توسط دستگاه -FT توسط دستگاه اسپکتروفتومتر RDX-300MHz ثبت شده است. طیفهای NMR با قدرت RDX-300MHz در محیط آبی با استفاده از کمپلکسهای سنتز شده توسط دستگاه استگاه خوارزمی ثبت شده او ا

[\] Merck

۲ Sigma

^r Highly Polymerized Calf Thymus DNA (ct-DNA)

^{*}2,7-Diamino-10-ethyl-9-phenyl-Phenanthridinium Bromide
آب دو بار تقطیر اندازه گیری گردید. تجزیه عنصری با دستگاه pw-9526 Philips صورت گرفته و نقطه ذوب لیگاند و دمای تجزیه کمپلکسها نیز توسط دستگاه Buchi melting point B-545 تعیین گردیده است. همچنین، pH محلولها توسط دستگاه pH متر Metrohm-780 اندازه گیری شد. طیفهای دورنگ نمایی دورانی توسط دستگاه اسپکتروپلاریمتر Aviv مدل ۲۱۵ در دانشگاه تهران ثبت شد. اندازه گیریهای شدت فلوئورسانس با اسپکتروفتومتر FP- 6500, JASCO انجام شده است.

۲-۲- سنتز لیگاندها و کمپلکسها

۲–۲–۱– سنتز کمپلکسهای پلاتین و پالادیوم با لیگاند مشتق ایمیدازول– فنانترولینی

TIP سنتز لیگاند H۱- (فوران-۲-ایل) H۱ ایمیدازو-[۴و۵-] [۱و۱۰] او۱۰] فنانترولین) (M.W=۲۸۶/۲۹ g/mol)

این لیگاند با نام ایوپاک (FIP-IH-Imidazo[4,5-f][1,10]Phenanthrolin) این لیگاند با نام ایوپاک (شکل ۲–۱) تهیه اختصار در این گزارش FIP نامگذاری شده است، به روش مشابه گزارش شده [۸۵] (شکل ۲–۱) تهیه گردید.

مقدار ۱ میلیمول فن دایون (۲۱/۰ گرم) در ۱۵ میلیلیتر متانول در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد حل گردید. سپس ۱ میلیمول ۲-فوران کربالدهید (۲۹۶/۰ گرم) و ۱/۲ میلیمول آمونیوم استات (۲۹/۰ گرم) و ۲۰/۰۳ میلیلیتر تریاتیل آمین به محلول اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت ۲ ساعت در شرایط رفلاکس قرار داده شد. رسوب حاصله به رنگ قهوه ای تیره (۲/۱۸ گرم) توسط دی اتیل اتر شستشو داده شد. محصول با بازده واکنش ۶۳ درصد و نقطه ذوب ۱۹۵ درجه سانتی گراد به دست آمد. همچنین شناسایی آن توسط طیف سنجی جذبی، مادون قرمز، H-NMR و MR -¹³C صورت پذیرفت.



(M.W=۶۳۰/۷۱ g/mol) [Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂ سنتز كميلكس -۲-۱-۲-۲

مقدار ۱۹۱۷ میلی مول کمپلکس [Pd(DACH)Cl2] (۵۰/۰ گرم) در ۱۸۰ میلی لیتر مخلوط استون و آب با نسبت حجمی ۱:۳ طی ۱۲ ساعت در دمای اتاق همزده تا سوسپانسیون یکنواختی تشکیل شد. سپس ۲۳۴ میلی مول ۸۹۵۵ (۸۰/۰۸ گرم) به آن افزوده و در دمای ۲[°] ۵۰ طی یک شبانه روز تحت رفلاکس قرار گرفت (دقت شود این واکنش به نور حساس بوده و باید در تاریکی انجام گیرد). رسوب AgCl ایجاد شده بهوسیله سانتریفیوژ جدا شد. دمای محلول حاصل حاوی ترکیب راد(NO3)[20(NO4)] به دمای ۴۰ درجه سانتی گراد رسانده شد و به آن ۲۰۴۸ گرم معادل ۱۹۷۰ میلی مول لیگاند ۲–(فوران۲–ایل)ایمیدازو[۲۰۱۰][۵۰۴] فتانترولین (FIP)) محلول در ۱۰ معلی لیتر اتانول به آهستگی اضافه شد. این واکنش گرها طی ۲ ساعت در دمای ۲[°] ۴۰ هم_ازده تا واکنش تکمیل گردید. دمای مخلوط به ۳۰ درجه سانتی گراد کاهش یافته و رسوب حاصل جدا و با آب سرد و سنتن شسته شد. رسوب در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد در آون خشک شد. رسوب بدست آمده در استن شسته شد. رسوب در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد در آون خشک شد. رسوب بدست آمده در مداقل مقدار آب حل شد و با نفوذ استن، نوبلور گردید. مکانیسم پیشنهادی برای واکنش مذکور در

نتایج آنالیز عنصری، رسانایی سنجی و دادههای طیفسنجی FT-IR ،UV و H-NMR در زیر داده شده است: The yield was 0.097 g (71%) and decompose temperature was 180 °C. Analytical calculated for PdC₂₃H₂₄N₈O₇: C, 43.77; H, 3.80; N, 17.76. Analytical found: C, 43.80; H, 3.84; N, 17.79; UV: λ_{max} nm (ϵ_{mM}): 312 (23.4), 288 (27.5), 261 (18.1). FT-IR (KBr), ν (cm⁻¹): 3414 (ν_{NH}), 3200, 3115 (ν_{NH2}), 2933, 2856 (ν_{CH2}), 1602, 1451 ($\nu_{C=C}$), 1508 ($\nu_{C=N}$), 1352 (ν_{NO3}), 718 ($\delta_{=CH}$), 591.3 (ν_{M-L}). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): 1.2 (m, 2H), 1.49 (m, 2H), 1.68 (m, 2H) 1.8 (m, 1H), 2 (m, 1H), 2.2 (m, 1H), 2.7 (m, 1H), 5.1 (m, 2H), 4.5 (m, 2H), 6.8 (m, 1H), 8.02 (m, 1H), 7.1 (s, 1H), 8.19 (m, 2H), 8. 7 (d, *J* 4.35 Hz, 2H), 9.14 (d, *J* 7.71 Hz, 2H), 14 (s, 1H); molar conductance of 0.5 mM: 244 cm²ohm⁻¹mol⁻¹.

(M.W=۷۱۹/۲ g/mol) [Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ سنتز کمپلکس –۳–۱–۲–۲

کمپلکس پلاتین نیز مشابه همرده پالادیوم در بخش ۲-۱-۲-۲ تهیه شد. مکانیسم واکنش در شکل ۲-۲ مشاهده می شود. مقدار محصول ۰/۰۴۵ گرم و بازده واکنش ۶۰٪ بود. دمای تجزیه این ترکیب ۲۰۲ درجه سانتی گراد تعیین گردید.



نتایج آنالیز عنصری، رسانایی سنجی و دادههای طیفسنجی FT-IR ،UV و H-NMR^۱ در زیر داده شده است:

The yield was 0.045 g (60%) and decompose temperature was 202 °C. Analytical calculated for PtC₂₃H₂₄N₈O₇: C, 38.4; H, 3.33; N, 15.57. Analytical found: C, 38.36; H, 3.39; N, 15.60; UV: λ_{max} nm(ϵ mM): 320 (17.5), 285 (23.0). FT-IR (KBr), υ (cm-1): 3420 (υ_{NH}), 3193, 3086 (υ_{NH2}), 2926, 2859 (υ_{CH2}), 1625, ($\upsilon_{C=C}$), 1581 ($\upsilon_{C=N}$), 1359 (υ_{NO3}), 721 ($\delta_{=CH}$), 591.2 (υ_{M-L}). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): 0.94 (m, 1H), 1.16 (m, 2H), 1.48 (m, 2H), 1.72 (m, 2H), 1.92 (m, 2H), 2.18 (m, 1H), 5.46 (m, 2H), 6.24 (m, 2H), 6.78 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 7.34 (m, 1H), 7.99 (m, 1H), 8.27 (m, 1H), 8.29 (m, 1H), 9.07 (m, 2H), 9.36 (m, 1H), 14.38 (d, *J* 4.5 Hz, H); molar conductance of 0.5 mM: 270 cm²ohm⁻¹mol⁻¹.

۲-۲-۲ سنتز كمپلكس اگزالی پالاديوم و كمپلكس پالاديوم با ليگاند گلايسين

۲-۲-۲-۱ سنتز کمپلکس اگزالی پالادیوم

سنتز کمپلکس اگزالی پالادیوم مطابق روش گزارش شده سنتز و مورد استفاده قرار گرفت [۸۶]. روش تهیه اگزالیپالادیم در شکل ۲-۳ نشان داده شده است.



۲-۲-۲ - سنتز لیگاند ایزوپنتیل گلایسین

[Pd(DACH)(isopentylgly)](NO₃) سنتز کمپلکس (M.W=۴۲۶/۵ g/mol)

به سوسپانسیون ۱/۱ میلیمول (۲۹ میلی گرم) ترکیب [Pd(DACH)Cl2] در ۷۳ میلیلیتر مخلوط استون و آب با نسبت حجمی ۱:۳، ۲ میلی مول AgNO3 (۲۰/۳۴ گرم) اضافه شد. سوسپانسیون برای ۵ ساعت در دمای ۵° ۵۰ تحت رفلاکس قرار گرفت (دقت شود این واکنش به نور حساس بوده و باید در تاریکی انجام گیرد). بعد از جدا کردن رسوب AgCl توسط سانتریفیوژ، دمای محلول باید در تاریکی انجام گیرد). بعد از جدا کردن رسوب IQ(NO3) را(NO3)2 (NO3)2)[20(20)(140)(140)] به ۴۰ درجه سانتی گراد رسانده شد و محلول ۲ میلیمول (۱۷ میلی گرم) سدیم بی کربنات اضافه شده به ۱/۱ میلیمول (۱۸۱ میلی گرم) ایزوپنتیل گلایسین حل شده در ۵ میلیلیتر آب دوبار تقطیر به محلول آبی اضافه شد. این واکنش گرها طی ۱ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد هم زده شد تا واکنش تکمیل گردید. واکنش در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد تغلیظ یافت و رسوب به دست آمده جدا و با آب سرد و استن شسته شد. رسوب حاصل در حداقل مقدار آب حل شد و با نفوذ استن، نوبلور گردید. روش سنتز ترکیب در شکل ۴–۲ ارائه شده است. مقدار محصول ۲۹ میلی گرم و بازده واکنش ٪۰۷ می باشد.

نتایج آنالیز عنصری، رسانایی سنجی و دادههای طیفسنجی FT-IR ،UV و ¹H-NMR در زیر داده شده است:

[Pd(DACH)(isopentylgly)](NO₃) (M.W. = 426.5 g/mol): The yield was 70% and decomposing temperature was 198 °C; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆, δ in ppm): 0.9 (m, 8H, CH_{ax}×2, CH₃×2), 1.1 (m, 2H, CH_{ax}×2), 1.2 (m, 2H, CH_{eq}×2), 1.5 (m, CH_{eq}×2, CH), 1.6 (m, 2H, CH₂), 1.8 (m, 2H, CH₂), 2.1 (m, 2H, CH_{ax}×2), 2.2 (m, 2H, CH₂), 4.2 (m, 1H, NH) and 4.9 (m, 4H, NH₂×2); IR (cm⁻¹, KBr disk): 3208 (s, N-H), 2933 (s, C-H), 2857 (w, C-H), 1602 (w, C=O), 1366 (s, (NO₃)), 620 (w, N-Pt-N); UV: λ_{max} nm (ε, M⁻¹cm⁻¹): 205 (8900); molar conductance of 0.01 mM aqueous solution: 116 cm²ohm⁻¹mol⁻¹. Elementary analysis calculated (%) for C₁₃H₂₈N₄O₅Pd: C, 36.57; H, 6.56; N, 13.13. Analytical found: C, 36.53; H, 6.65; N, 13.10.



۲-۲-۳- سنتز اگزالی پلاتین وکمپلکسهای پلاتین با با مشتقهای اسیدآمینه گلایسین

۲-۲-۳-۱ سنتز اگزالی پلاتین

سنتز کمپلکس اگزالی پلاتین مطابق روش گزارش شده سنتز و مورد استفاده قرار گرفت [۸۷]. ۲-۲-۳-۲ سنتز مشتقهای اسیدآمینه گلایسین

لیگاند متیل گلایسین، آمیل گلایسین و ایزوپنتیل گلایسین بر طبق روشهای انتشار یافته سنتز شدند [۸۱و۸۸].

سنتز لیگاند ترشیوپنتیل گلایسین Tert-pentylglycine (M.W=۱۸۱/۵ g/mol)

به ۱۰ میلی مول کلرواستیک اسید (۰/۹۴۵ گرم) حل شده در ۵ میلیلیتر آب دوبار تقطیر ۱۰ میلی مول (۰/۸۴ گرم) سدیم بی کربنات قطره قطره اضافه شد. خروج گاز CO2 نشانگر پیشرفت واکنش است (مکانیسم واکنش در شکل ۲–۵ را ببینید) سپس ۱۰ میلیمول (۱/۱۷ میلیلیتر) ترشیوپنیل آمین رقیق شده در ۵ میلیلیتر آب دوبار تقطیر در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به محلول فوق اضافه شد. بعد از گذشت نیم ساعت از واکنش ۱۰ میلیمول (۸/۴ گرم) سدیم بی کربنات به واکنش افزوده شد. محلول حاصل تا حجم ۵ میلیلیتر تغلیظ شد و اسیدیته آن توسط هیدروکلریک اسید به PH برابر ۲ رسید. بعد از گذشت یک هفته بلورهای مکعبی تشکیل شدند که پس از صاف شدن با آب سرد دوبار تقطیر شستشو داده شدند. مکانیسم واکنش در شکل ۲–۵ ارائه شده است. مقدار محصول ۹۰ میلی گرم و بازده

نتایج آنالیز عنصری، رسانایی سنجی و دادههای طیفسنجی FT-IR ،UV و H-NMR در زیر داده شده است:

Tertiopentylglycine (C₂H₅C(CH₃)₂-NH-CH₂-COOH.HCl), M.W. = 181.5 g/mol): (55% yield) mp:240 °C.; IR (cm⁻¹, KBr disk): 3430 (υ _{OH}), 2982 (υ _{NH}), 1727 (υ _{C=O}), 1635 (δ _{NH}), 1398 (υ _{CO}). ¹H NMR (300 MH, DMSO-d₆, δ in ppm): 1.1 (m, 6H), 1.2 (m, 4H), 2.6 (m, 1H), 2.9 (m, 2H),4.1 (m, 1H, NH); Elementary analysis calculated (found %) for C₇H₁₆NO₂Cl: C, 46.28; H, 8.81; N, 7.71. Analytical found: C, 46.58; H, 8.62; N, 7.69.



۲-۲-۳–۳ سنتز کمپلکسهای پلاتین با مشتقهای اسید آمینه گلایسین

به //۰ میلی مول (/۳۸ گرم) کمپلکس [Pt(DACH)Cl2] در ۱۴۰ میلی لیتر مخلوط استون و آب با نسبت حجمی ۲:۱، ۲/۰ میلی مول (۹/۰۰ گرم) AgNO3 افزوده شد. این سوسپانسیون به مدت ۲۱ ساعت در دمای اتاق با سرعت ثابت همزده شد و سپس ۶ ساعت در دمای C[°] ۵۰ تحت رفلاکس قرار گرفت (دقت شود این واکنش به نور حساس بوده و باید در تاریکی انجام گیرد). رسوب AgCl ایجاد شده به وسیله سانتریفیوژ جدا شد. دمای محلول آبی حاصل به ۴۰ درجه سانتی گراد رسانده شد و به آن ۲/۰ میلی مول (۲۰۱۰ گرم متیل گلایسین یا ۲۰/۰ گرم بوتیل گلایسین یا ۲۰/۰ گرم ایزوپنتیل ۷/۰ میلی مول (۲۰۱۰ گرم متیل گلایسین یا ۲۰/۱ گرم بوتیل گلایسین یا ۲۰/۰ گرم ایزوپنتیل بی کربنات (۲۰/۱۰ گرم ترشیوپنتیل گلایسین) لیگاند مشتق اسید آمینه که با ۲ میلی مول سدیم ساعت در این دما همزده شدند تا واکنش کامل شود. واکنش در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد تغلیظ یافت ماعت در این دما همزده شدند تا واکنش کامل شود. واکنش در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد تغلیظ یافت ماعت در این دما همزده شدند تا واکنش کامل شود. واکنش در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد تغلیظ یافت ماعت در این دما همزده شدند تا واکنش کامل شود. واکنش در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد تغلیظ یافت می شد و با نفوذ استن، نوبلور گردید. مکانیسم واکنش در شکل ۲-۶ ارائه شده است. مقدار آب Pt(DACH)(butylgly))، ۲۰ میلی گرم و بازده واکنش ٪۳۰، (Pt(DACH)(ter-pentylgly)) (۲۹ میلی گرم و بازده واکنش ٪۸۰، (Pt(DACH) ۲۰ میلی گرم و بازده واکنش ٪۸۰ میلی گرم و بازده واکنش ۸۷٪ و در (ازیور ای درید. (Pt(DACH)(ter-pentylgly))

نتایج آنالیز عنصری، رسانایی سنجی و دادههای طیفسنجی FT-IR ،UV و H-NMR^۱ در زیر داده شده است:

[Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (M.W. = 459.27 g/mol): The yield of the complex was 93%, mp:210 °C.; IR (cm⁻¹, KBr disk): 3098 (υ_{N-H}), 1521 (υ_{C=O}), 1368 (υ_{NO3}⁻), 2941 (υ_{C-H}), 572 (υ_{Pt-N});¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆, δ in ppm): 1.1 (m, 6H), 1.4 (m, 4H), 1.8 (m, 3H), 2.0 (m, 2H), 4.3 (m, H), 5.1-6.2 (m, 4H); UV band maxima in nm (ϵ_M in liter mol⁻¹cm⁻¹×10⁻⁴): 205 (15404); molar conductance of 0.1 mM aqueous solution:116 cm²

ohm⁻¹mol⁻¹. Elementary analysis calculated (found %) for $C_9H_{20}N_4O_5Pt$: C, 23.52; H, 4.35; N, 12.19. Analytical found: C, 23.48; H, 5.31; N, 12.24.

[Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ (M.W. = 501g/mol): The yield of the complex was 98%, mp:220 °C.; IR (cm⁻¹, KBr disk): 3194 (υ_{N-H}), 1600 (υ_{C=O}), 1382 (υ_{NO3⁻}), 2935 (υ_{C-H}), 572 (υ_{Pt-N});¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆, δ in ppm): 1 (m, 5H), 1.1 (m, 4H), 1.5 (m, 4H), 1.9 (m, 4H), 2.1 (m, 2H), 3.3 (m, 2H), 3.9 (m, H), 5.0-6.4 (m, 4H); UV band maxima in nm (ε_{M} in liter mol⁻¹cm⁻¹×10⁻⁴): 205 (19340); molar conductance of 0.1 mM aqueous solution:121 cm² ohm⁻¹mol¹. Elementary analysis calculated (found %) for C₁₂H₂₆N₄O₅Pt: C, 28.74; H, 5.18; N, 11.17. Analytical found: C, 28.69; H, 5.24; N, 11.9.

[Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (M.W. = 515.8 g/mol): The yield of the complex was 78%, mp:200 °C.; IR (cm⁻¹, KBr disk): 3199 (ν_{N-H}), 1590 ($\nu_{C=O}$), 1361 (ν_{NO3} ⁻), 2933 (ν_{C-H}), 572 (ν_{Pt-N});¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆, δ in ppm): 1 (m, 6H), 1.1 (m, 3H), 1.4 (m, 4H), 1.6 (m, 4H), 1.8 (m, 4H), 2.2 (m, 4H), 2.8 (m, H), 5.3-6.2 (m, 4H, NH₂); UV band maxima in nm (ϵ_{M} in liter mol⁻¹cm⁻¹ ×10⁻⁴): 205 (11536); molar conductance of 0.1 mM aqueous solution:128 cm² ohm¹mol⁻¹. Elementary analysis calculated (found %) for C₁₃H₂₈N₄O₅Pt: C, 30.28; H, 5.43; N, 10.87. Analytical found: C, 30.39; H, 5.2; N, 10.24.

[Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ (M.W. = 515 g/mol): The yield of the complex was 98%, mp:196 °C.; IR (cm⁻¹, KBr disk): 3200 (ν _{N-H}), 1594 (ν _{C=O}), 1364 (ν _{NO3}⁻), 2935 (ν _{C-H}), 564 (ν _{Pt-N});¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆, δ in ppm): 0.93 (m, 5H), 1.1 (m, 4H), 1.4 (m, 8H), 1.8 (m, 4H), 2 (m, 3H), 5-5.5 (m, 4H); UV band maxima in nm (ϵ _M in liter mol⁻¹cm ⁻¹ ×10⁻⁴): 205 (18255); molar conductance of 0.1 mM aqueous solution:123 cm² ohm¹mol⁻¹. Elementary analysis calculated (found %) for C₁₃H₂₈N₄O₅Pt: C, 30.28; H, 5.43; N, 10.87. Analytical found: C, 30.21; H, 5.58; N, 10.12.





۲–۳– روش تهیه محلولهای مورد استفاده در برهمکنش کمپلکسهای فلزی با DNA

۲-۳-۱ روش تهیه بافر

برای تهیه محلول بافر مادر^۱، ۳/۰۲۵ گرم تریس بافر و ۱/۴۶۲۵ گرم NaCl با آب دو بار تقطیر حل شد و در یک بالن ژوژه ۲۵۰ میلیلیتری به حجم رسید. این محلول باید با درب بسته در یخچال نگهداری شود. برای تهیه بافر کار^۲، ۵۰ میلی لیتر از بافر مادر را با آب دوبار تقطیر به حجم ۲۰۰ میلیلیتر رسانده سپس pH محلول با استفاده از HCl یک مولار در حدود ۷/۴ تنظیم شد. این محلول به بالن ژوژه ۲۵۰ میلی لیتری منتقل و به حجم رسید. شرایط نگهداری این محلول نیز در یخچال میباشد.

T-T-T- روش تهیه محلول مادر DNA و تعیین غلظت آن

DNA میلی گرم DNA جامد پلیمری توزین شده و به آن ۱ میلیلیتر بافر افزوده شد. محلول DNA حاصل در داخل یخچال در حالی که درب ظرف بسته بود، به آرامی به مدت ۷۲ ساعت به کمک مگنت میشه ای با سرعت یکنواخت هم زده شد تا به صورت یکنواخت ژلهای شود. غلظت DNA، از رابطه بیر-شیشه ای با سرعت یکنواخت هم زده شد تا به صورت یکنواخت ژله ی شود. غلظت DNA، از رابطه بیر-اسیشه ای با سرعت یکنواخت هم زده شد تا به صورت یکنواخت را مای شود. غلظت DNA، از رابطه بیر-ای بیشه ای با سرعت یکنواخت هم زده شد تا به صورت یکنواخت را مای شود. غلظت ADA، از رابطه بیر-ای بیشه ای با سرعت یکنواخت هم زده شد تا به صورت یکنواخت را مای شود. غلظت ADA، از رابطه بیر-ای بیشه ای با سرعت یکنواخت هم زده شد تا به صورت یکنواخت را مای شود. غلظت ADA، از رابطه بیر-ای بسته و در یخچال نگهداری گردد.

[\] Stock buffer

^r Working buffer

۲-۳-۳ روش تهیه محلول مادر کمپلکسها

برای تهیه محلول مادر کمپلکس با غلظت ۱ یا ۲ میلی مولار، مقدار مورد نیاز از کمپلکسها توزین و با آب دوبار تقطیر حل شد و در بالن ۱۰ میلی لیتری به حجم رسانده شد.

DNA برهم کنش کمپلکسهای فلزی با

۲-۴-۲ روش تعیین زمان نگهداری

زمان نگهداری، زمان لازم برای نگه داری محلول complex + DNA در دمای موردنظر است تا بر هم کنش کامل شود. برای این منظور محلولهای (کمپلکس + بافر) و (کمپلکس + بافر + DNA) در ناحیه ۱/2، ای توجه به رابطه [Com]/[Com] در این نقطه تهیه می شوند.

جذب محلول (کمپلکس + بافر + DNA) در دو طول موج بیشینه ۲۵۸ نانومتر برای DNA و مربوط به کمپلکس در زمان صفر خوانده شده و سپس محلولها در حرارت مورد نظر نگهداری و هر نیم ساعت جذب آنها در دو طول موج ذکر شده یادداشت گردید. این عمل تا زمانی ادامه مییابد که دیگر جذب تغییر نکند و این نشانه تکمیل بر هم کنش بین کمپلکس و DNA است. همچنین برای بررسی پایداری کمپلکس جذب محلول (کمپلکس + بافر) در طول موج بیشینه مربوط به کمپلکس مشابه محلول قبل خوانده میشود که این اعداد به طور تقریبی در یک محدوده هستند و تغییر چندانی ندارند. DNA ^۱ -۲-۴-۲ غیر طبیعی شدن DNA درحضور کمپلکسهای فلزی به کمک طیف سنجی UV-Vis

با اضافه کردن تدریجی کمپلکس به بیوماکرومولکول میکند. با رسم منحنی ΔΔ در برابر غلظت کل درجه سانتی گراد، میزان جذب بیوماکرومولکول تغییر میکند. با رسم منحنی ΔΔ در برابر غلظت کل کمپلکس، ا[1]، یک منحنی سیگموئیدی بهدست میآید که بسته به نحوه برهم کنش ΔNA با کمپلکس، میتواند صعودی یا نزولی باشد. این منحنی دارای سه ناحیه پیش انتقال (ΔA به فرم طبیعی است)، ناحیه انتقال (تغییرات ناگهانی جذب همراه با غیرطبیعی شدن ΔNA میباشد) و ناحیه پس انتقال (وقتی ماکرومولکول کاملا غیرطبیعی شده است) است. غلظت کمپلکس در نقطه میانی ناحیه انتقال (L]] نام دارد. با استفاده از این نمودارها در دو دمای ذکر شده، پارامترهای ترمودینامیکی به روش بوجود آمده، نتایج ارزشمندی ارائه میدهد. برای بدست آوردن پارامترهای ترمودینامیکی به روش زیر عمل میکنیم.

منحنی سیگموئیدی غیر طبیعی شدن بیوماکرومولکول نشان دهنده دو فرم طبیعی و غیرطبیعی شده بیوماکرومولکول است، که برای این سیستم میتوان نوشت:

$N \leftrightarrow D$ K=[D]/[N]

که با تعادل واکنش غیرطبیعی شدن DNA است. مقدار K به ازای هر غلظت خاص از کمپلکس از فرمول A_D (جذب فرم غیرطبیعی $K = A_N - A_{obs}/A_{obs} - A_D$ (جذب فرم غیرطبیعی DNA)، A_N (جذب فرم طبیعی DNA)و (DNA) (تغییرات شدید جذب در منحنی سیگموئیدی) میباشد که با عبور بهترین خط راست و تعیین معادله خط به ترتیب از ناحیه پس انتقال، پیش انتقال و ناحیه انتقال در منحنی سیگموئیدی غیرطبیعی شدن DNA، قابل محاسبه میباشند. پارامتر ترمودینامیکی

[\]Denature

تغییرات انرژی گیبس (مقدار انرژی لازم جهت غیر طبیعی شدن DNA)، با توجه به رابطه ΔG^o بدست میآید که در آن R ثابت گازها میباشد. با رسم منحنی $\Delta G^o = -RTLnK$ کمیلکس، ا $\Delta G^o = \Delta G^o_{(H_2O)} - m[complex]$ کمیلکس، الار نمودار خطی با معادله [L]، نمودار خطی با معادله $\Delta G^o = \Delta G^o_{(H_2O)} - m[complex]$ m از مبدأ این منحنی $\Delta \mathrm{G}^\circ_{(\mathrm{H2O})}$ نشان دهنده پایداری DNA در عدم حضور کمپلکس میباشد و میزان قدرت غیرطبیعی کنندگی کمپلکس است. آنتالپی مولی غیر طبیعی شدن DNA در حضور کمپلکس، کمپلکس، $\Delta H^\circ_{conformation}$ یا $\Delta H^\circ_{denaturation}$ گرمای لازم برای غیرطبیعی شدن بیوماکرومولکول می باشد که در محدوده دمایی ۲۷ تا ۳۷ درجه سانتی گراد با توجه به رابطه گیبس-هلمهولتز قابل محاسبه است. ΔS°_{H2O} انتروپی غیر طبیعی $\Delta H^{\circ} = (\Delta G_{T_1}^0 / T_1 - \Delta G_{T_2}^0 / T_2) / (1/T_1 - 1/T_2)$ شدن DNA نیز با توجه به رابطه $\Delta G^0_{(H_2O)} = \Delta H^0_{(H_2O)} - T\Delta S^0_{(H_2O)}$ در دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد بهدست مي آيد [۵۷]. براي انجام آزمايش غير طبيعي شدن DNA توسط كمپلكس، ابتدا محلول رقيقي از محلول مادر DNA درست می شود که جذب اولیه محلول رقیق DNA در محدوده ۰/۴ تا ۰/۸ باشد. جذب دستگاه توسط دو سل اسپکتروفتومتر حاوی ۱/۸ میلی لیتر محلول بافر جذب صفر گردید. سپس سل نمونه را با ۱/۸ میلی لیتر محلول رقیق DNA ساخته شده، پر شد. تغییرات جذب در طول موج بیشینه DNA، DNA و ۶۴۰ نانومتر (طول موج سنجش کدورت) ثبت می شود. اختلاف جذب در طول موج ۶۴۰ و ۲۵۸ نانومتر با نام ΔA یادداشت می شود. سپس به سل حاوی محلول DNA حجم معینی از محلول مادر کمیلکس اضافه گردید. در هر بار اضافه کردن کمیلکس محتویات سل به آرامی به هم زده شد و پس از گذشت ۱ دقیقه، مقدار جذب محلول کمپلکس-DNA خوانده می شود (در این آزمایشها، افزایش کمپلکس تا ثابت ماندن تغییرات جذب DNA–کمپلکس ادامه می یابد). هدف در این آزمایش بررسی تغییرات جذب DNA در اثر افزایش کمپلکس فلزی است، بنابراین اگر کمپلکس دارای جذب در طول موج بیشینه DNA باشد باید جذب کمپلکس در این طول موج از جذب محلول DNA-کمپلکس کسر گردد. با افزایش حجم کمپلکس به DNA محلول رقیق می شود. برای حذف اثر رقت، تغییرات جذب، در ضریب رقت (حجم فعلی سل به حجم اولیه سل) ضرب می شود. منحنی سیگموئیدی

تغییرات جذب در برابر غلظت های متفاوت کمپلکس در هر دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد بطور جداگانه ترسیم میشود و پارامترهای ترمودینامیکی محاسبه می گردند.

T-۴-۲ تیتراسیون کمپلکس فلزی توسط DNA یا برعکس

این آزمایش برای بررسی نوع و ثابت ظاهری پیوند *K_b* بین کمپلکس–DNA بسیار متداول است. کمپلکسهای فلزی سنتز شده به علت انتقال بار درون لیگاندی و فلز به لیگاند دارای باند جذبی در ناحیه UV هستند. بیوماکرومولکول DNA به دلیل انتقال بار بین بازهای پورین و پیریمیدین دارای نوار جذبی در ناحیه ۲۵۸ نانومتر میباشد. در این روش تغییرات جذب، که متناسب با قدرت برهمکنش بین کمپلکس فلزی و بیوماکرومولکول میباشد، اندازه گیری میشود و پارامترهای پیوندی تعیین می گردد [۷۵].

با ثابت نگه داشتن غلظت کمپلکس فلزی و تیتر آن با غلظتهای مختلف بیوماکرومولکول (و یا برعکس) می توان تغییرات جذب را که به دلیل تشکیل کمپلکس جدید بین بیوماکرومولکول و کمپلکس فلزی ایجاد می شود، با طیف گیری در ناحیه ۲۰۰–۲۰۰ نانومتر مشاهده کرد. در این آزمایش ابتدا جذب توسط بافر صفر شد، سپس با ثابت در نظر گرفتن غلظت کمپلکس فلزی اثر تغییرات افزایشی غلظت DNA را پس از گذشت زمان تعادل تقریبا ۲ دقیقه، توسط اندازه گیری جذب محلول کمپلکس فلزی-ملاD را پس از گذشت زمان تعادل تقریبا ۲ دقیقه، توسط اندازه گیری جذب محلول کمپلکس فلزی-فلزی به طور آزاد وجود دارد و بیشترین غلظت در انتهای منحنی دناتور باشد که کمپلکس فلزی به طور آزاد وجود دارد و بیشترین غلظت در انتهای منحنی دناتور باشد که در آن پیوند بین کمپلکس فلزی و DNA کامل شده است. با جایگزین کردن این دادهها در فرمول ولف-شایمر^۱، ثابت ظاهری پیوند ¹⁻(*M*) *K* محاسبه شد [A].

$$\frac{[DNA]}{[(\varepsilon_a - \varepsilon_f]]} = \frac{[DNA]}{[(\varepsilon_b - \varepsilon_f)]} + \frac{1}{K_b[(\varepsilon_b - \varepsilon_f)]}$$
(1-7)

Wolfe-shimer

در این فرمول [DNA] ، غلظت بیوماکرومولکول DNA، [com]، گر این فرمول [DNA] در این فرمول [DNA] ، غلظت بیوماکرومولکول DNA، آرما ، آرمو عرصی برای کمپلکس آزاد کمپلکس در هر مرحله تیتر با MA ، \mathcal{E}_{f} و \mathcal{E}_{f} به ترتیب ضریب جذب خاموشی برای کمپلکس آزاد (پیوند داده نشده با And) و کمپلکس که به طور کامل به DNA متصل شده، میباشد. با رسم نمودار (پیوند داده نشده با DNA) و کمپلکس که به طور کامل به DNA متصل شده، میباشد. با رسم نمودار (پیوند داده نشده با DNA) و \mathcal{E}_{f} به ترتیب ضریب جذب خاموشی برای کمپلکس آزاد (پیوند داده نشده با DNA) و \mathcal{E}_{f} به طور کامل به DNA متصل شده، میباشد. با رسم نمودار (پیوند داده نشده با DNA) و کمپلکس که به طور کامل به DNA متصل شده، میباشد. با رسم مودار مودار ($\mathcal{E}_{a} - \mathcal{E}_{f}$) از میرا از تقسیم شیب خط از $\mathcal{E}_{b} = \mathcal{E}_{f}$ ($\mathcal{E}_{a} - \mathcal{E}_{f}$) میتوان $\mathcal{E}_{b} = \mathcal{E}_{f}$ ($\mathcal{E}_{a} - \mathcal{E}_{f}$) میتوان از مبداء (مبداء (مبداء ($\mathcal{E}_{a} - \mathcal{E}_{f}$)) میتوان ($\mathcal{E}_{a} - \mathcal{E}_{f}$)

اگر غلظت DNA را ثابت در نظر گرفته و آن را با غلظتهای مختلف کمپلکس تیتر کنیم، میتوان ثابت ظاهری پیوند را با توجه به معادله زیر بهدست آورد [۹۰].

$$\frac{A_0}{A - A_0} = \frac{\varepsilon_{DNA}}{\varepsilon_B} + \frac{\varepsilon_{DNA}}{\left(\varepsilon_B \times K_b\right)} \times \frac{1}{C_{Com}}$$
(Y-Y)

در این فرمول C_{com} غلظت کمپلکس، $A_0 e^A e^A$ به ترتیب جذب DNA در غیاب و حضور کمپلکس درطول موج ۲۶۰ نانومتر میباشد. $E_{DNA} e^B e^B$ ضریب جذب خاموشی DNA و کمپلکس پیوند داده شده در هر مرحله از تیتر میباشد. با رسم نمودار $|(A - A_0)|$ بر حسب $1/C_{Com}$ میتوان $K_b(M)^{-1}$ را از تقسیم عرض از مبداء $\frac{\mathcal{E}_{DNA}}{\mathcal{E}_B}$ به شیب خط $\frac{\mathcal{E}_{DNA}}{(\mathcal{E}_B \times K_b)}$ به دست آورد.

¹ DNA مطالعه دمای انتقال +۴-۴

دمای انتقال DNA، T_m، DNA دمایی است که در آن نصف پیوند بین جفت بازهای DNA باز می شود. می دهد ضریب جذب مولی ٤، در T۶۰ nm برای DNA تک رشته ای^۲ بیشتر از DNA دور شته ای^۳ است بنابراین منحنی دمای انتقال DNA به صورت نموداری سیگموئیدی صعودی می باشد که در (شکل ۲-۷) نمایش داده شده است [۹۱].

¹ Melting Temperature

^r Single strand DNA

^r Double strand DNA



شکل ۲-۷: نمودار دمای انتقال DNA [۷۵].

این آزمایش برای بررسی پیوند کمپلکس بر پایداری رشته دوتایی DNA انجام می شود و با محاسبه اختلاف Tm، کمپلکس-DNA و DNA آزاد، Tm_{DNA+Complex} – T_{mDNA+Complex}، می توان نوع پیوند را مشخص کرد. در این روش شدت جذب محلول ۰/۰۵ میلی مولار ADA و یک محلول -DNA روش به منحنی انتقال و شیب Com با غلظت مشخص از DNA و هر یک از کمپلکسها که با توجه به منحنی انتقال و شیب Com با غلظت مشخص از DNA و هر یک از کمپلکسها که با توجه به منحنی انتقال و شیب Com از DNA این می گردد، در محدودهٔ دمایی ۳۰ تا ۹۰ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات جذب در طول موج ۲۵۸ نانومتر با سرعت دمایی ۲ درجه سانتی گراد بر دقیقه ثبت شد. DNA – ۵–۴–۲ مطالعه سینتیک بر هم کنش کمپلکس

۲-۴-۴ مطالعه قدرت يوني

تاثیر قدرت یونی بر پایداری محصول افزایشی قدرت یونی بر پایداری محصول افزایشی DNA کمپلکس با افزودن یک الکترولیت قوی مانند سدیم کلرید بررسی می شود [۹۲]. به این ترتیب تغییرات جذب در بیشینه طول موج محلول (کمپلکس-بافر) و همچنین در طول موج بیشینه DNA، ۲۵۸ نانومتر در محلول (کمپلکس-بافر-DNA) مورد بررسی قرار گرفت. میزان غلظت مورد نیاز در حجم ثابت ۲ میلی لیتر با توجه به منحنی غیر طبیعی شدن DNA در جایی که برهم کنش DNA و کمپلکس کامل شده با استفاده از رابطه [DNA]

۲-۴-۲- تغییرات شدت فلوئورسانس DNA-EB با افزایش کمپلکس فلزی

در بررسی نشر فلوئورسانس DNA، از اتیدیوم بروماید (EB) به عنوان یک فلوئوروفور استفاده می شود چرا که DNA نشر قابل توجهی ندارد [۲۳]. اتیدیوم یک رنگدانه آروماتیک با ساختار مسطح است که به با برهم کنش اینترکلیت به راحتی بین بازهای DNA قرار می گیرد و به همین علت به طور گسترده برای مطالعه خصوصیت پیوندی دیگر گونهها به DNA مورد استفاده قرار می گیرد. اتیدیوم در محیط آبی و بدون اتصال به DNA، فلورسنت ضعیفی دارد، اما وقتی در ناحیه آبگریز مارپیچ DNA بین محیط آبی و بدون اتصال به DNA، فلورسنت ضعیفی دارد، اما وقتی در ناحیه آبگریز مارپیچ DNA بین محیط آبی و بدون اتصال به DNA، فلورسنت ضعیفی دارد، اما وقتی در ناحیه آبگریز مارپیچ DNA بین و اتیدیوم، نمر قوی از خود نشان می محیط آبی و بدون اتصال به DNA، فلورسنت ضعیفی دارد، اما وقتی در ناحیه آبگریز مارپیچ DNA بین را دارند، شر قوی از خود نشان می دهد. با اضافه کردن مولکولهای دیگر، که توانایی پیوند به DNA را دارند، شدت نشر قوی از خود نشان می دهد. با اضافه کردن مولکولهای دیگر، که توانایی پیوند به DNA را دارند، شدت نشر قوی از خود نشان می دهد. با اضافه کردن مولکولهای دیگر، که توانایی پیوند به DNA را دارند، شدت نشر قوی از خود نشان می دهد. با اضافه کردن مولکولهای دیگر، که توانایی پیوند به DNA را دارند، شدت نشر قوی از خود نشان می دهد. با اضافه کردن مولکولهای دیگر، که توانایی پیوند به DNA را دارند، شدت نشر قوی از خود نشان می دهد. با اضافه کردن مولکولهای دیگر، که توانایی پیوند به DNA را دارند، شدت نشر BB، خاموش می شود. بنابراین از اتیدیوم برومید برای آزمایش خاموشی را دارند، شدت نشر قوی از محود نوع برهم کنش کمپلکس فلزی با DNA استفاده می شود [۹۳]. با توجه به اینکه بیشینه بازده کوانتومی DNA در ۴۷۱ نانومتراست، این طول موج برای پرتوی تهییچ کل نمونه انخوانه انخومتر این از مول مول ول مواد را دار قوی با AD استفاده می شود آوه]. با توجه به اینکه بیشینه بازده کوانتومی ما در ۴۷۱ نانومتراست، این طول موج برای پرتوی ته بیچ کر مونه ها انتخاب شد و اندازه گیریهای نشر، در سلی با طول مسیر عبور نور معادل ۲ سانتی متر، در مونه مونورسانس محلول ۲ میکرومولار تیدوم مودوده ۲۰۰–۵۰ نانومتر انجا گرفت. در ابتدا، شدت فلوئورسانس محلول ۲ میکرومولار ای در دام ما محدوده مره می مردان که مول ۲ می می دو در بای مول مو می در در می مو نور

$$\log (F_0 - F) / F = \log K_b + n \log[Q]_t \tag{(T-T)}$$

همچنین ثابت ظاهری پیوند K_{app} با استفاده از معادله $[EB] = K_{app}[com]$ قابل محاسبه است که در آن ۱۰^۷ ۲۰۱ × (EB=۱۰ K_{EB} و [com] غلظت خاموش کننده که باعث ۵۰ درصد کاهش نشر محلول DNA-اتیدیوم میشود.

EB تغییرات شدت فلوئورسانس کمپلکس فلزی-DNA با افزایش EB و رسم نمودار اسکاچارد

در این آزمایش تعدادی محلول با غلظت ثابتی از DNA (۶۰ میکرومولار، ۱۴۶ میکرولیتر از محلول کار با غلظت mM ۰/۱۵ در حجم کل ۳۶۵ میکرولیتر بافر) در حضور و عدم حضور کمپلکس، تهیه و سپس با غلظتهای متفاوتی از اتیدیوم برمید (۲، ۴، ۶ تا ۱۴ میکرومولار) تیتر شد و شدت نشر در ۵۸۵ نانومتر خوانده شد. برای بهدست آوردن غلظت مناسب کمپلکس، سه نقطه در ناحیه انتقال انتخاب کرده و با استفاده از در نظر گرفتن نسبت [DNA]/[DN] تا محاسبات برای هر نقطه، در حجم کل ۳۶۵ میکرولیتر و غلظت ۶۰ میکرو مولار DNA انجام گرفت. به این ترتیب، دو سری هفتتایی محلول حاوی مقدار ثابت از DNA (۶۰ میکرو مولار) و غلظتهای متفاوت از هر کمپلکس سنتز شده تهیه شد. این محلولها در دمای اتاق به مدت زمان نگهداری (انکوباسیون) برای هر کمپلکس نگهداری شده و سپس توسط غلظتهای مختلف اتیدیوم برمید (۲، ۴، ۶ تا ۱۴ میکرومولار) تیتر گردیدند. بعد از گذشت ۱ ساعت، شدت نشر این محلولها در طول موج متوسط ۸۸۵ نانومتر ثبت شد. (در این طول موج DNA-EB بیشترین شدت نشر فلوئورسانس را دارد). شدت نشر اتیدیوم برمید (هفت محلول اتیدیوم برمید (۲، ۴، ۶ تا۱۴ میکرومولار) تهیه شده در با داشتن این دادهها، میتوان تعداد مولکولهای اتیدیوم برمید پیوند شده به DNA (*I*) نیز ثبت شد. با داشتن این دادهها، میتوان تعداد مولکولهای اتیدیوم برومید پیوند شده به DNA (*G*) را از رابطه زیر بدست آورد:

$$C_b = \frac{I_t - I_o}{(V - 1)K} \tag{F-T}$$

پارامتر *K* شیب نمودار *I*₀ برحسب غلظت اضافه شده اتیدیوم برمید (*C*₀) است. نسبت شدتهای نشر اتیدیوم برمید پیوند شده به اتیدیوم آزاد، V میباشد که این نسبت اعدادی نزدیک به ۵۰ هستند و در بیشتر مقالههای گزارش شده آن را به صورت میانگین، ۵۰ در نظر میگیرند. این شدتها باید بهطور کامل در شرایط یکسان (مانند حلال، دما، غلظت و طول موج تهییج) تعیین گردد. با تعیین م میتوان *r* را محاسبه نمود.

$$r = \frac{C_b}{[DNA]} \tag{(d-T)}$$

پارامتر r، نسبت اتیدیوم برمید پیوند شده به غلظت کل DNA میباشد. وقتی یک مولکول کوچک به طور مستقل به مجموعهای از جایگاههای برابر در یک پلیمر متصل میشود تعادل بین مولکولهای آزاد و مولکولهای پیوند داده شده توسط معادله معروف $r/C_f = nK_a$ - rK_a مشخص میشود. که در آن C_f (غلظت اتیدیوم آزاد میباشد و از رابطه $C_f = C_o$ - C_b بدست میآید)، n، تعداد جایگاه پیوندی در هر نوکلئیک اسید و K ثابت تجمع ذاتی برای هر جایگاه است.

با رسم نمودار اسکاچارد (سکاچارد ترسیم می شود. نوع نمودار اسکاچارد (type-A، با رسم نمودار اسکاچارد (type-A) با رسم نمودار اسکاچارد (type-A) و یا type-C (type-B و یا type-C) نحوه برهم کنش رقابتی یا غیر رقابتی به طریقه اینترکلیشن و یا اتصال شیاری را بین دارو و اتیدیوم برای اشغال جایگاههای DNA اثبات می کند [۷۹].

۴-۴-۴ بررسی فلوئورسانس سه بعدی کمپلکسهای ایمیدازول-فنانترولین به عنوان حسگر در پیوند با DNA

در این آزمایش تغییرات نشر دو کمپلکس [2(NO₃)2(NO₃)2 و Pt(DACH)(FIP)(NO₃)2] در پیوند با DNA بدون فلوروفور خارجی مانند اتیدیوم بروماید مورد (NO₃)2(NO₃)2] در پیوند با DNA بدون فلوروفور خارجی مانند اتیدیوم بروماید مورد بررسی قرار گرفته است. نشر ۵۰ میکرولیتر از هر کمپلکس در حجم کل ۳۵۰ میکرولیتر بافر ثبت شد. طول موج تهییچ ۳۰۰ نانومتر در نظر گرفته شد که مطابق با جذب MLCT درمحلول کمپلکسها میباشد و نشر آنها در محدوده سه بعدی ۵۰۰–۳۶۰ نانومتر اندازه گیری شد. سپس محلول کمپلکس با غلظتهای متفاوتی از DNA از هر تیریق، تغییرات شدت فلوئورسانس هر یک از کمپلکس محلول کمپلکس میباشد و نشر آنها در محدوده سه بعدی ۵۰۰–۳۶۰ نانومتر اندازه گیری شد. سپس محلول کمپلکس کمپلکسها در حضور DNA تیتر شده و پس از هر تزریق، تغییرات شدت فلوئورسانس هر یک از کمپلکسها در حضور DNA از DNA در محدوده سه به دی

T-۴-۲- مطالعه طیف دورنگ نمایی دورانی و بررسی تغییر ساختار DNA در حضور کمپلکس

بازهای ناجورحلقه DNA به واسطه قرار گیری در اسکلت کایرال قند فسفات، خصلت کایرال پیدا می کنند. DNA در سیستم فیزیولوژی به طور عمده به فرم B است و طیف CD آن دارای دو نوار می باشد، نوار مثبت در ۲۵۷ نانومتر به برهم کنش π بین جفت بازهای ناجورحلقه مربوط می شود و نوار منفی در ۲۴۵ نانومتر به پیچش رشته مارپیچ DNA وابسته است. طیف CD اطلاعات بسیار دقیقی در مورد نوع برهم کنش کمپلکس فلزی، میزان پایداری DNA و تغییر ساختار آن ارائه می دهد. تغییرات ساختار DNA در اثر تابش طول موجهای ۳۲۰-۲۰۰ نانومتر (ناحیه فرابنفش دور) مطالعه شد. ابتدا طیف CD محلول ۱۲۰ میکرومولار DNA (۴ میکرولیتر از محلول مادر در ۲۰۰ میکرولیتر بافر) ثبت و نوارهای مربوط به فرم B-DNA شناسایی شد. سپس با افزایش غلظتهای متفاوتی از کمپلکس به آن (که از نسبت [DNA]/[DNA] حدر ناحیه انتقال تعیین شده است) طیف DNA بدست آمد. سپس با استفاده از نرم افزاری Aviv، طیف CD مربوط به DNA و DNA-complex از طیف بافر و کمپلکس فلزی به منظور حذف نویز از طیف کسر می گردد. با ترسیم و تفسیرطیف نهایی CD، می توان تغییرات ساختاری DNA، که بر اثر برهم کنش با کمپلکس فلزی ایجاد می شود، و می تواند ناشی از تغییر فرمهای DNA به هم یا باز شدن دو رشته DNA می باشد، را تعیین نمود.

۲-۴-۱۱ روش شبیه سازی اتصال مولکولی

اتصال مولکولی (Molecular Docking) یک روش رو به رشد در زمینه بیولوژی محاسباتی و همپنین مدلسازی مولکولی است که برای پیشگویی چگونگی برهمکنش یک درشت مولکول مانند پروتئین با سایر مولکولها مثل پروتئینهای دیگر، اسیدهای نوکلئیک یا مولکولهای کوچک شبه دارو استفاده میشود.

ساختار این ترکیبات در نرم افزار گوسین (09W v7.0) رسم شد و در قالب PDB ذخیره شد تا AutoDock قادر به استفاده و انجام عملیات بعدی روی آن باشد. فایل لیگاند در AutoDock توسط جعبه ابزار آن، ADT کامل تر شد، هیدروژنهای قطبی اضافه شدند و بارهای گاستیجر Gasteiger جفت شدند و ساختار نهایی در قالب PDBQ ذخیره شد. DNA را از بانک اطلاعات پروتئین (PDB ID:453D) دانلود و ساختارش در ADT کاملتر شد. جعبهای به ابعاد (۱۰۰×۷۰×۷۰) با فاصله ۸۳۷۵ آنگستروم با استفاده از ADT ساخته شد و DNA در این جعبه قرار گرفت. پس از اجرای الگوریتم ژنتیک بهترین پاسخ بر حسب انرژی آزاد اتصال انتخاب شد و ساختار با کمترین انرژی اتصال به عنوان ساختار ارجح در نظر گرفته شد [۹۴و۹۵].

فصل سوم

بحث و نتيجه گيری

بخش اول

اولین سری از ترکیباتی که در این رساله مورد بحث قرار می گیرد، شامل دو کمپلکس از مشتق ایمیدازولی-فنانترولینی با فرمول کلی 2(NO3)[(NO3)] که در آن (ACH) [FIP]] که در آن (II) = ۱، ۲-۹. (II) دی آمینسیکلوهگزان، FIP = ۲-(فوران۲-ایل)ایمیدازو[۵،۰۱-f][۴۰۱۰]] فنانترولین و M = فلز پلاتین (II) یا پالادیوم (II) است) می باشند.

مطالعات اثر سمیت این ترکیبات علیه سلولهای سرطانی روده HCT116، در دانشکده بیوشیمی دانشگاه خوارزمی انجام شد. همچنین شبیه سازی اتصال مولکولی و دینامیک مولکولی این ترکیبات در دانشگاه دامغان مورد بررسی قرار گرفت. دادههای فوق به همراه شناسایی و برهمکنش دو کمپلکس پلاتین و پالادیوم با DNA غده تیموس گوساله در محیط بافری PH = ۷/۴ در دمای معین در این بخش مورد بحث قرار می گیرد.

۳-۱- شناسایی، مطالعات اثرسمیت و برهم کنش کمپلکسهای
ایمیدازول-فنانترولینی با DNA

e [Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ و [Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ و [Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂

الف) رسانایی سنجی

رسانایی مولی روشی برای تعیین ساختار کمپلکسهای جدید سنتز شده است. با تعیین رسانایی مولی کمپلکس و مقایسه آن با رسانایی مولی ترکیبات گزارش شده که محدوده آنها در (جدول ۳–۱) آورده شده، می توان به تعداد یونهای تشکیل دهنده کمپلکس پی برد [۹۶].

تعداد يون	(cm ² .ohm ⁻¹ .mol ⁻¹) رسانایی مولی
٢	121-118
٣	220-222
۴	429-6•7
۵	۵۶۰

جدول ٣-١: دامنه كلى رسانايي محلول الكتروليت تركيبات يوني

رسانایی الکتریکی این کمپلکسها در محلول مائی و غلظت ^۴-۱۰×۵ مولار اندازه گیری و با جایگزینی در معادله زیر رسانایی مولی (λ) آن نیز محاسبه شد. در این محاسبات ثابت سل ۰/۸ میباشد.

	رسانايى	غلظت كمپلكس	رسانایی آب	رسانایی مولی					
كمپلكس	كمپلكس	(mol/L)	مقطر	$(\text{cm}^2.\text{ohm}^{-1}.\text{mol}^{-1})$					
[Pt(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂	١٧٧	۵×۱۰ ^{-۴}	٧/٩	۲۷۰					
[Pd(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂	18.14	۵×۱۰ ^{-۴}	٧/٩	744					

جدول ۳-۲: داده های مربوط به رسانایی الکتریکی کمپلکسهای ایمیدازول-فنانترولینی.

ب) طيف جذب الكتروني (UV-Vis Spectrum)

کمپلکسهای پلاتین (II) و پالادیوم (II) با آرایش الکترونی ⁸d⁸، به طور عمده دارای ساختار مسطح مربع با تقارن D₄h میباشند. این ساختار توسط طیف الکترونی این ترکیبات نیز قابل تأیید است. در این کمپلکسها انتقالات d-d از نظر قاعده لاپورت^۱ مجاز نبوده در حالی که انتقالات d-p مجاز

\ Laport

هستند؛ به هر حال در کمپلکسهای با تقارن D₄h انرژی انتقالات d-p بسیار بزرگ بوده و تنها نوارهای جذبی ضعیفی مربوط به انتقالات غیر مجاز d-d در ناحیه مرئی مشاهده میشود.

حالت پایه'، Eg بوده و انتقالات الکترونی d-d که از نظر اسپینی مجاز هستند، شامل انتقالات ${}^{1}B_{1}g + {}^{1}B_{2}g$ (21000) ${}^{1}B_{1}g + {}^{1}A_{1}g$ (17500-23100 cm⁻¹), ${}^{1}B_{1}g + {}^{1}B_{2}g$ (21000-16800 cm⁻¹) و ${}^{1}B_{1}g + {}^{1}B_{2}g +$

طیف جذب الکترونی محلول آبی کمپلکسهای 2(NO3)[Pd(DACH)(FIP)] و [Pt(DACH)(FIP)](NO3)2 (با غلظت ^۴-۱۰×۵ مولار) در شکل ۳-۱ نشان داده شده است.



شکل ۳-۱: طیف جذبی کمپلکسهای الف) Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ (ب)

 $[Pd(DACH)(FIP)](NO_3)_2$

در طیف جذبی کمپلکس پلاتین نوار جذبی در ۳۲۰ نانومتر مربوط به انتقال بار فلز به لیگاند فنانترولین است و نوار جذبی در ۲۸۵ نانومتر مربوط به جهشهای $\pi \to \pi$ پیوندهای دوگانه مزدوج در اسکلت لیگاند فنانترولین میباشد. همچنین در طیف جذبی کمپلکس پالادیوم نوار جذبی در ۳۱۲ نانومتر مربوط به انتقال بار فلز به لیگاند فنانترولین است و نوارهای جذبی در ۲۸۸ و۲۶۱ نانومتر مربوط

^{&#}x27; Ground state

^r Charge Transfer

به جهشهای $\pi \to \pi$ پیوندهای دوگانه مزدوج در اسکلت لیگاند فنانترولین میباشد [۹۸]. انتقالات $d \to d$ فلز نیز زیر نوارهای جذبی در طیف پوشیده شده است.

با استفاده از دادههای طیف جذب الکترونی این کمپلکس میتوان ضریب خاموشی را برای آن بدست آورد. λ_{max} (طول موج جذب های بیشینه) و ٤ (ضرایب خاموشی) نوارهای جذبی طیف مربوطه در جدول ۳-۳ ارائه شده است.

جدول ۳-۳: دادههای طیف جذبی کمپلکسهای الف) [Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ و ب) [Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂

Band maxir	na in nm (λ_{max}))					
Compound	Band I	Band II	Band III				
[Pt(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂	$\forall \Upsilon \cdot (1 \Upsilon / \Delta)^{a}$	220 (22)					
[Pd(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂	TIT (TT/F)	TAA (TY/ Δ)	781 (11/1)				
1 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	1110-4	1 1:1 (a)					

شریب خاموشی (٤) در داخل پرانتز بر حسب 10^{-4} cm⁻¹×10 گزارش شده است.

ج) طيف زير قرمز'

طیف زیر قرمز کمپلکسهای سنتز شده در محیط KBr و در ناحیه ^{۱-}۴۰۰۰ دس⁻⁺ ثبت شدند. فرکانسهای ارتعاشی و کششی مهم در طیف این ترکیبات در جدول ۳-۴ گردآوری شده است. با توجه به شکل ۳-۲ فرکانس ارتعاشی کششی پیوند N=C در فنانترولین در ¹⁻۲۹ ۲۵۹ ظاهر می شود، در حالی که این نوار در طیف کمپلکس پالادیوم به ¹⁻۵۰ ۱۵۰۸ و در کمپلکس پلاتین به ¹⁻۱۵۸۱ در جابجا شده است. جابجایی موقعیت این نوار در کمپلکس نسبت به لیگاند آزاد به سمت فرکانس های پایین تر نشان می دهد لیگاند FIP به فلز متصل شده است [۸۵]. نوارهای ۳۰۸۶ و ¹⁻۳۰ ۳۵۹۳ در کمپلکس پلاتین و نوارهای ۲۱۱۵ و ¹⁻۳۰ ۳۰۰۰ در کمپلکس پالادیوم مربوط به فرکانسهای ارتعاشی مشابه نوار جذبی کمپلکس دی کلرو (۱، ۲-دی آمین سیکلوهگزان موجود در ساختار این کمپلکسها است که مشابه نوار جذبی کمپلکس دی کلرو (۱، ۲-دی آمینسیکلو هگزان) پلاتین (II) می باشند [۸۷]. در

'IR Spectrum

N-H ایمیدازولی است [۸۵]. نوار مشاهده شده در محدوده ^۱-۵۹۰ به فرکانس کششی پیوند فلز– نیتروژن نسبت داده می شود [۹۹و ۱۰۰]. همچنین نوار مشاهده شده در محدوده ^۱-۱۳۸۰ در این دو کمیلکس نشان دهنده یون آزاد گروه NO₃ با تقارن D₃h می باشد [۱۰۱].



شكل ٣-٢: طيف زير قرمز الف) [Pt(DACH)(FIP)] و ب) [Pd(DACH)(FIP)] و ب) [Pd(DACH)(FIP)].

rd(DACH)(FIF)](NO ₃) ₂								
نام کمپلکس	$\nu_{\rm NH}$	$\nu_{\rm NH2}$	ν_{CH2}	$\nu_{C=C}$	$\nu_{C=N}$	ν_{NO3}	$\delta_{=CH}$	$\nu_{M\text{-}L}$
[Pt(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂	842.	3018 7197	7809 7978	1885	۱۵۸۱	١٣۵٩	871	691/5
[Pd(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂	8414	۳110 ۳۲۰۰	2937 7865	1807	۱۵۰۸	١٣۵٢	۷۱۸	۵۹۱
ف کانس کششی $^{\delta}$ ف کانس خمش $^{\circ}$								

جدول ۳-۴: فرکانس،های مهم گروه های عاملی در طیف زیر قرمز کمپلکس Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂) و cm⁻¹ بر حسب cm⁻¹ بر حسب

د) طيف رزونانس مغناطيسي هسته

در طیف گیری ¹H-NMR در طیف گیری Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ و Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂)₂ (NO₃)₂)₂ حلال مورد استفاده DMSO-d₆ بوده و TMS به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد. نوارهای ظاهر شده در P/A ppm و آب میباشد.

در طيف كميلكس 2(NO₃)2[Pd(DACH)، بخش آليفاتيك تركيب در ناحيه ۱ تا ppm ۶/۴ مشاهده شده است. هیدوروژن متصل به کربن سیکلوهگزان به صورت نوارهای چندتایی در جابجایی شیمیایی ۲/۱، ۱/۴۹، ۱/۴۸، ۲/۱، ۲، ۲/۲ و ۲/۷ ppm مشاهده شده است و هیدروژنهای استوایی به دلیل اینکه از نظر فضایی به فلز نزدیک هستند در جابجایی شیمیایی بالاتری ظاهر شده اند (شکل ۳-۳) [۵۴]. هیدروژن آمینی حلقه در جابجایی شیمیایی ۴/۵ و ۵/۱ ppm به صورت نوار چندتایی مشاهده می شود. هیدروژن های حلقه آروماتیک در نواحی ۶ تا ۷ ppm ظاهر شدهاند و هیدروژن ایمیدازولی (H_f). در ناحیه ۱۴ ppm ظاهر شده است [۱۰۲]. هیدروژن های ۱ و ۱ یک نوار چندتایی در ناحیه ppm ۹/۱۴ ، هیدروژنهای ۳ و ^۲۳ و هیدروژنهای ۲ و ^۲۲ به ترتیب جابجایی های شیمیایی در ۸/۷ و ppm ۸/۱۹ ظاهر شدهاند، اما به علت جفت شدن با هیدروژنهای مجاور، به صورت دوتایی مشاهده می شوند. هیدروژن _H۵ به صورت یک نوار یکتایی در ناحیه ۸/۰۲ ppm و هیدروژنهای H_۷ و H_۶ به صورت نوار چندتایی به ترتیب در جابجایی شیمیایی ۶/۸ ppm و ۷/۱ ظاهر شده اند. نتایج دادههای طیف رزونانس یروتونهای این ترکیب در (جدول۳–۵) آورده شده است. همچنین تعداد هیدروژنهای کمپلکس در ناحیه آروماتیک و آلیفاتیک با انتگرال سطح زیر پیکها مطابقت داشته و به ترتیب برابر ۱۰ و ۱۴ میباشد. این دادهها با ساختار پیشنهادی کمپلکس مطابقت دارد (شکل ۳-۴ را ببینید). نتایج مشابهی برای کمپلکس 2(NO₃)2 (شکل ۳-۴) مشاهده شد. این نتایج در (جدول ۶-۳) و (شکل ۳-۴) قابل رويت هستند.

^{&#}x27;NMR Spectrum

(الف)



شكل ٣-٣: طيفهاى H NMR الف) [Pd(DACH)(FIP)] و ب) [Pd(DACH)(FIP)] و ب) [Pt(DACH)(FIP)]

				0 *		<u> </u>			0	· ·					
بخش آليفاتيك															
تعداد هيدروژن	2 H	a, a'	2 H _{b,b}	2 H c, c'	H d'	H _d	H	ł e'	Η	e	2 H	[f′	$2 H_{\rm f}$		
δ ppmª	١/١	٢	۱/۴۹	١/۶٨	۱/۸	۲	١	۲/۲	·/۲ ۲/		۵/۱	١	۴/۵		
^b شکافتگی	m	1	m	m	m	m		m	n m		m		m	l	m
$J (Hz)^{c}$	-		-	-	-	-		-		-			-		
	بخش آروماتيک														
داد هيدروژن	تع	Н	6	H_7	H 5	2 H 2	2,2′	2 H	2 H _{3,3'} 2		H 1,1'		H ₄		
δ ppm ^a		۶)	/ A	٧/١	۸/۰۲	٨/١٩		٨/	٨/٧		۸/۷ ۹		/14		14
⁶ شکافتگی		n	n	S	m	m		d		d			S		
J (Hz) ^c		-	-	-	-	-	-		۳۵	٧	/Y1		-		
							(Ch	omio	al ab	ifty S	3 1	4	1 1 a		

جدول ۳-۵: دادههای طیفی H-NMR کمپلکس (NO3)2: دادههای طیفی

ppm بر حسب (Chemical shift)δ بر حسب ^a

^b شکافتگی (doublet), m (multiplet) d

Hz ثابت جفت شدن (Coupling constant) الرحسب (J) (Coupling constant)

			<i>,</i> 0	v	. 0	•	0, .			
	بخش آليفاتيك									
تعداد هيدروژن	$H_{a'}$	2 H	[_{a, b'}	2 H _{b, c} '	2 H d', c	$2~H_{d,e'}$	H _e	$2 H_{f'}$	$2 H_{\rm f}$	
δ ppm ^a	۰/۹۴	١/	18	۱/۴۸	١/٧٢	١/٩٢	۲/۱۸	۵/۴۶	8/24	
^b شکافتگی	m	r	n	m	m	m	m	m	m	
$J (Hz)^{c}$	-	-		-	-	-	-	-	-	
	بخش آروماتيک									
تعداد هيدروژن	H ₆	H 7	H 5	H ₂	H _{2'}	$H_{1'}$	$2 H_{3,3'}$	H 1	H 4	
δ ppm ^a	۶/۷۸	۶/۹۴	۷/۳۴	٧/٩٩	٨/٣٧	٨/٢٩	٩/•٧	۹/۳۶	۱۴/۳	
^b شكافتگى	m	m	m	m	m	m	m	m	d	
$J (Hz)^{c}$	-	-	-	-	-	-	-	-	۴/۵	

جدول ۳-۶: دادههای طیفی H-NMR کمیلکس (NO3)2 (NO3)

ppm جابجایی شیمیایی δ (Chemical shift) ر حسب a

^d شکافتگی (doublet), m (multiplet)

Hz ابت جفت شدن (Coupling constant) الرحسب $^{\rm c}$



شکل ۳-۴: ساختار پیشنهادی برای کمپلکسهای Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂ و

.[Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂

۲-۱-۳ مطالعات اثر سمیت کمپلکسهای فلزی بر سلولهای سرطان روده HCT116

کلمه سیتوتوکسیک به معنی سم سلولی یا دارای اثر سمی روی یاخته است. مواد سیتوتوکسیک فراوانند و با مکانیسمهای متفاوت در سلول ایجاد سمیت میکنند. مثلا اگزالیپلاتین بعد از ورود به سلول و رسیدن به هسته سلول، با بازهای آلی DNA ترکیب و در ساختار طبیعی DNA ایجاد اختلال کرده به طوریکه همانندسازی مختل و در نتیجه منجر به القاء فرایند مرگ سلولی می شود. این ترکیب نیز ممکن است با آنزیمها و یا پروتئینهای حاوی تیول در سلول ترکیب شده و باعث بروز عوارض جانبی شود [۱۰۳]. برای رفع این عارضه جانبی، بهتازگی کمپلکسهای پلاتین و پالادیوم که با ایگاندهای نیتروژن دهنده کیلیت شونده، تهیه و مطالعات اثر سمیت آنها بر سلولهای سرطان روده از نوع HCT116 انجام شده است [۵۴].

در این آزمایش، سلولهای HCT116 به مدت ۲۴ ساعت در حضور و عدم حضور غلظتهای متفاوت (۰ تا ۳۵۰ میکرومولار) هر یک از دو کمپلکس 2(NO3)[(PIP)(FIP)(NO3)] و (AO()(FIP)(PIC)(NO3)] انکوبه شدند. سپس مقادیر Cc50 (غلظتی از ترکیب که قادر است ۵۰۰ سمیت یا مرگ و میر در سلولهای موجود در محیط ایجاد کند) با استفاده از روش رنگ سنجی MTT، محاسبه میشود. در این مطالعات، منحنیهای درصد رشد سلولها برحسب غلظت کمپلکسها در شکل محاسبه میشود. در این مطالعات، منحنیهای درصد رشد سلولها برحسب غلظت کمپلکسها در شکل محاسبه میشود. در این مطالعات، منحنیهای درصد رشد سلولها برحسب غلظت کمپلکسها در شکل محاسبه میشود. در این مطالعات، منحنیهای درصد رشد سلولها برحسب غلظت کمپلکسها در شکل محاسبه میشود. در این مطالعات، منحنیهای درصد رشد سلولها برحسب غلظت کمپلکسها در شکل محاسبه میشود. در این مطالعات، منحنیهای درصد رشد مقادیر ۲۰۵۵ (ترمیشان داده شده است. همچنین مقادیر ۲۰۵۵ (ترمی محاولها برحسب غلظت کمپلکسها در شرایط ۳-۵ نشان داده شده است. همچنین مقادیر ۵۰۵ (ترمی در محیط ایجاد کند) با استفاده از روش رنگ سنجی آزمایشگاهی کاملا یکسان با کمپلکسهای فوق اندازه گیری شد. مقادیر ۵۰۵۰ در جدول ۳-۷ نشان موجب آزمایشگاهی کاملا یکسان با کمپلکسهای فوق اندازه گیری شد. مقادیر ۵۰۵۰ در جدول ۳-۷ نشان موجب محیک میکس پالادیوم و اگزالیپلاتین موجب میدد کمپلکس پلادیوم و اگزالیپلاتین موجب مید معالیت، رشد و تکثیر سلولهای HCT116 میشوند.

اكزالىپلاتىن.							
Complexes	Cc50 (µM) (after 24 h)						
[Pd(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂	18.						
[Pt(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂	٨٠						
Oxaliplatin	184						

جدول ۳-۷: مقادیر (Cc50) کمپلکسهای Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂)، Pd(DACH)(FIP)]، 2



شکل ۳-۵: مهار رشد و تکثیر سلولهای سرطان روده انسانی توسط کمپلکسهای 2(NO3)[Pd(DACH)(FIP] (°)] (°). و 2(Pt(DACH)(FIP)](NO3) (●).

۳-۱-۳- مطالعات برهم کنش کمپلکسهای پالادیوم و پلاتین ایمیدازول-فنانترولینی با ^۱ct-DNA

برهم کنش دو ترکیب در سری ایمیدازوفنانترولین (شکل ۳-۴) با DNA در محیط تریس بافر حاوی ۱۰ میلی مولار سدیم کلرید با PH=۷/۴ در دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد با زمان نگهداری ۱/۵ ساعت برای سیستم های Pt(II)-DNA و Pd(II)-DNA به کمک روشهای مختلف طیفسنجی مطالعه شد. محلولهای مادر کمپلکسهای پالادیوم و پلاتین با غلظت ۱ میلی مولار و محلول مادر DNA با غلظت ۱/۵۸۵ میلیمولار در محیط بافر تهیه شدند. طول موج بیشینه برای کمپلکسها نیز در

^{&#}x27; calf tymus DNA

جدول ۳-۸ گرد آوری شده است.

Complexes	λ_{\max} (nm)
[Pd(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂	۳۱۲
[Pt(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂	۳۲۰

جدول ۳–۸: طول موج بیشینه کمپلکسهای پالادیوم و پلاتین ایمیدازوفنانترولین

الف)غير طبيعي شدن DNA به كمك طيف سنجي UV-Vis

ساختار درشت مولکول DNA میتواند با تغییر دما، تغییر pH و نیز اتصال یونهای فلزی دچار تغییر شود که به این تغییر ساختار DNA، غیر طبیعی شدن یا دناتور شدن گفته می شود. در این آزمایش بررسی غیرطبیعی شدن DNA با افزایش کمپلکسهای فلزی سنتز شده نشان داد که در حضور غلظتهای متفاوت از کمپلکسهای پلاتین و پالادیوم مشتق ایمیدازوفنانترولینی، ساختار DNA غیر طبیعی می شود. در این آزمایش اختلاف جذب در طول موجهای ۲۶۰ (طول موج حداکثر مربوط به DNA) و ۶۴۰ (طول موج کدورت سل) نانومتر که در ضریب رقت، ضرب شده با نام ΔA یادداشت شد. منحنیهای غیرطبیعی شدن DNA در دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد ترسیم شد که در شکل۳-۶ نشان داده می شوند. نمودارهای مربوط به کمپلکس NO₃)2(NO)] سیگموئیدی نزولی و نمودار مربوط به Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂) سیگموئیدی صعودی است. این اختلاف به تفاوت نحوه برهم کنش و غیر طبیعی شدن DNA و قرار گرفتن بازهای پورین و پیریمیدین DNA در سطح یا پوشیده شدن آنها در شیارهای DNA میباشد [۱۰۴]. بازهای آلی DNA کرموفورهای خوبی هستند و در طیف جذبی DNA نوار شاخصی در ۲۶۰ نانومتر ایجاد می کنند. تغییر ساختار DNA در اثر افزایش یونهای کاتیونی به DNA، با بررسی تغییرات جذب ایجاد شده قابل بررسی میباشد. اگر در اثر برهم-کنش بین DNA و کمپلکس، بازها بیشتر در معرض نور قرار بگیرند، جذب افزایش می یابد و اگر بازها ينهان شوند كاهش مي يابند.
غلظت لیگاند در نقطه میانی انتقال (1/2]) مربوط به غیرطبیعی شدن DNA در حضور این کمپلکسها با افزایش دما کاهش مییابد (جدول ۳–۹) زیرا افزایش دما به فرآیند غیرطبیعی شدن DNA در حضور کمپلکس کمک میکند. مقادیر [L]این ترکیبات نشان میدهد که کمپلکس پلاتین نسبت به ترکیب پالادیوم DNA را در غلظت پایین تری غیرطبیعی میکند. این نتایج با مقادیر سمیت کمپلکسها علیه سلولهای سرطانی روده بزرگ همخوانی دارند.



Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂ در دو دمای ۲۷ و ۳۷[°]۲۲.

پارامترهای ترمودینامیکی فرایند غیرطبیعی شدن DNA توسط کمپلکس فلزی، با بکارگیری روش Pace [۵۷] و منحنی غیرطبیعی شدن، در دو دمای مذکور به دست آمد. منحنی ΔG^o در برابر [L]t در هر دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتیگراد در (شکل ۳-۷) نشان داده شده است.

در کلیه نمودارها، با افزایش غلظت کمپلکس، انرژی آزاد گیبس کاهش مییابد. به این دلیل که با افزایش غلظت کمپلکس، تعداد بیشتری از جایگاههای پیوندی DNA توسط دارو اشغال شده و موجب تغییر ساختار DNA و کاهش پایداری آن میشود. با تعیین معادله خط برای هر نمودار عرض از مبدأ این منحنیها که همان (*DNA و کاهش پایداری آن میشود. با تعیین معادله خط برای هر نمودار عرض از مبدأ* هر چه این پارامتر بزرگتر باشد، پایداری بیشتر DNA را نشان میدهد و با افزایش دما این انرژی کاهش مییابد [۱۰۵]. شیب این نمودارها، m، حساسیت فرایند غیر طبیعی شدن به نوع کمپلکس را نشان میدهد. با توجه به مقادیر m ترکیب $(NO_3)_2 = Pt(DACH)(FIP)$ توانایی بیشتری در غیرطبیعی کردن DNA نسبت به $\Delta G'_{(H2O)}$ مربوط به غیر طبیعی شدن DNA در حضور این کمپلکسهای پالادیوم و پلاتین، در (جدول ۳–۹) جمع آوری شده است.



شکل ۳-۷: نمودار تغییرات انرژی آزاد گیبس (ΔG°) در برابر $[L]_1$ مربوط به برهم کنش DNA با کمپلکسهای الف) 2 - 1: نمودار تغییرات انرژی آزاد گیبس (ΔG°) در برابر (1, 1) (NO₃)₂ (الف) (Pd(DACH)(FIP)] در دو دمای ۲۷ و 2° ۳۷.

[\]Exothermic



شکل ۳-۸: نمودار تغییرات آنتالپی صورتبندی DNA در برابر t[L] مربوط به غیر طبیعی شدن DNA در حضور کمپلکس های الف) Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ (و ب) Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂ در محدوده دمای ۲۷ تا C° T



۲۷ و	در دمای	پلاتين	پالاديوم و	، های	كمپلكس	DNA توسط	شدن .	طبيعي	غير	ترموديناميكي	ارامترهای	۹-۳: پ	جدول
						۳V °	C						

Complexes	Temperaure (°C)	^a L _{1/2} (μM)	^b m (kJmol)(mM)	^с ДС° _{H20} (kJ mol ⁻¹)	^d ΔH° (H2O) (kJ mol ⁻¹)	^e ΔS ^o (H2O) (kJ mol ⁻¹ K ⁻¹)	
[Pt(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂	۲۷	٨٢	545/4	49/2	۱۹۷	• /۵	
	۳۷	٨٩	۵۰۹/۷	44/2			
[Pd(DACH)(FIP)](NO ₃) ₂	۲۷	١٠٠	366.4	٣۶/٩	4.1	١/٢	
	٣٧	٨۵	۲۹۹/	۲۴/۷			

^a غلظت لیگاند در نقطه میانی انتقال

^d میزان توانایی کمپلکس فلزی برای غیر طبیعی کردن DNA ^c پایداری ساختار DNA در عدم حضور کمپلکس فلزی ^d گرمای لازم جهت غیر طبیعی شدن DNA در عدم حضور کمپلکس فلزی ^e انتروپی حاصل از غیر طبیعی شدن DNA توسط کمپلکس فلزی

ب) پایداری حرارتی ct-DNA

دمایی که در آن نیمی ازجفت بازهای DNA پیوندشان باز می شود به دمای ذوب DNA معروف است. دو رشته DNA از طریق پیوندهای هیدروژنی بین بازهای آلی به یکدیگر متصل می شوند. به طوری که، دو پیوند هیدروژنی بین بازهای مکمل آدنین و تیمین و سه پیوند هیدروژنی بین جفت بازهای گوانین و سیتوزین وجود دارد. این توالی دورشته ای غیر قطبی و نامحلول در آب می باشد. دو رشته NNA به راحتی در اثر فشار یا گرمای بالا از یکدیگر جدا می شوند. زیرا حرارت باعث شکسته شدن پیوند هیدروژنی بین جفت بازها می شود و شکست یک پیوند هیدرورنی بر اثر افزایش دما باعث شدن پیوند هیدروژنی بین جفت بازها می شود و شکست یک پیوند هیدرورنی بر اثر افزایش دما باعث مدن پیوند هیدروژنی بین جفت بازها می شود و شکست یک پیوند هیدرورنی بر اثر افزایش دما باعث شدن پیوند هیدرورنی بر اثر افزایش دما باعث شدن پیوند هیدروژنی بین جفت بازها می شود و شکست یک پیوند هیدرورنی بر اثر افزایش دما باعث مدن پیوند هیدروژنی بین جفت بازها می شود و شکست یک پیوند هیدرورنی بر اثر افزایش دما باعث مدن پیوند هیدروژنی بین حمل می مود و شکست مورت می پذیرد. با توجه به اینکه ضریب حزب مولی برای NNA تک رشته ای بیشتر از NNA دو رشته ای است، منحنی دمای ذوب NNA به صورت سیگموئیدی است. در صورت وجود برهم کنش بین کمپلکس و NNA، در mT محلول -NNA مورت صورت سیگموئیدی است. در صورت وجود برهم کنش بین کمپلکس و NNA، در mT محلول -NNA مورت مورت وجود برهم کنش بین کمپلکس و NNA، در mT محلول -NNA می می ایش می می باید که این افزایش می ایدا اسبت به mT محلول NA تنها، تغییر ایجاد می شود به طوریکه پایداری حرارتی آن افزایش می ایست [۱۰۹ این افزایش بین ۵ تا ۱۲ درجه سانتی گراد باشد نشانه برهم کنش از نوع اینتر کلیشن است [۱۰۹]. میزان جذب محلول ها در طول موج ۲۶۰ نانومتر و محدوده دمایی ۳۰ تا ۹۰ درجه سانتی گراد انداز گیری شد. همان طور که در شکل ۳–۹ نشان داده شده، مقادیر mT به دست آمده برای سانتی گراد انداز گیری شد. همان طور که در شکل ۳–۹ نشان داده شده، مقادیر mT به دست آمده برای محلول های NNa درجه سانتی گراد انداز گیری شد. همان طور که در شکل ۳–۹ نشان داده شده، مقادیر TM به دست آمده برای ما می درجه مانتی گراد)، به ترتیب ۸۰ و محلول های NNa درجه سانتی گراد به دست آمده برای NNa درجه سانتی گراد به درد که با مقدار به دست آمده برای NA درجه سانتی گراد ودند که با مقدار به دست آمده برای NA درجه سانتی گراد به درد که با مقدار به دست آمده برای NA درجه سانتی گراد)، به ترتیب ۸۰ و ۲۰ درجه سانتی گراد ودند که با مقدار به دست آمده برای NA درجه سانتی گراد)، به ترتی



شکل ۳-۹: منحنی ذوب ct-DNA در غیاب و حضور کمپلکسهای الف) 2(NO3) [Pt(DACH)(FIP) و ب) Pd(DACH)(FIP)]، شکل ضمیمه نمودار تغییرات جذب به تغییرات دما بر علیه دما برای هر کمپلکس.

این دادهها در جدول ۳–۱۰ گردآوری شده است. مقدار ΔTm برای ترکیبات اینترکلیتور آلی مانند اتیدیومبرومید در حدود C° ۱۳ گزارش شده است و میتوان پیشنهاد کرد برهمکنش (NO₃)2[Pd(DACH)(FIP)] با DNA الکترواستاتیک و به صورت جزیی اینترکلیشن است [Pd(DACH). مقدار ΔTm کمتر برای کمیلکس پلاتین، احتمال برهمکنش شیاری با DNA را تقویت میکند.

- 1/7	۷۴ ۸۰	- c
١/٢	٨٠	c
		/
١/٢	٨۴	١.
	[com]/[DN	نسبت مولى [NA
ياب 4	C در حضور و غ	دمای ذوب NA
•	۱/۲ یاب ۱	۱/۲ ۸۴ [com]/[D1] در حضور و غیاب ۲ مدین ترک مافنانش

ج) مطالعه تیتراسیون کمپلکسهای ایمیدازوفنانترولین با ct-DNA به کمک طیف سنجی جذبی

از کاربردهای طیف سنجی جذبی اثبات برهم کنش DNA و کمپلکس، تعیین نوع اتصال و تعیین پارامترهای پیوندی این برهم کنش میباشد. برهم کنش DNA با کمپلکس میتواند میمرو شدت ضریب خاموشی (٤) را تغییر دهد که شامل اثرات باثوکرومیک^۱ یا جابجایی قرمز^۲ (انتقال به سمت طول موجهای بالاتر)، هیپسوکرومیک^۳ یا جابجایی آبی⁴ (انتقال به سمت طول موجهای پایین *تر*)، هایپرکرومیک^۵ (افزایش شدت جذب) و هیپوکرومیک^۹ (کاهش شدت جذب) میباشد. با توجه به اینکه این تغییرات به واسطه تغییر پیچیدگی در مارپیچ DNA و یا تغییر فرم DNA و نحوه قرار گیری بازهای آلی آن صورت میگیرد؛ بنابراین با بررسی این تغییرات امکان تعیین مدل برهم کنش میسر خواهد بود

- ^r Red shift
- " Hypsochromic
- ^{*}Blue shift

^{&#}x27; Bathochromic

^a Hyperchromic

^{*} Hypochromic

[۷۵]. برای تعیین شیوه برهم کنش هر سیستم طیف هر دو کمپلکس در غیاب DNA و ضمن افزایش مقادیر معینی از DNA (۲-۰ میلی مولار) انداز گیری و ترسیم شد (شکل۳-۱۰).



نتایج نشان میدهند که با افزایش غلظت DNA اثر هایپرکرومیک (افزایش شدت جذب) در کمپلکس میشود. این افزایش جذب تأییدی بر برهم کنش کمپلکس با DNA است و پیشنهاد میشود این برهم کنش برای کمپلکس پلاتین با DNA از نوع شیاری و برای کمپلکس پالادیوم اینترکلیت جزئی باشد [۱۰۸]. با استفاده از معادله ولف-شایمر که در فصل دوم معرفی شد، ثابت ظاهری پیوند برای کمپلکس پالادیوم و پلاتین به ترتیب برابر ^{۱-۱} N^2 ۱۰۶ × N/ و N^2 مار کار محاسبه شد (شکل ۳-۱۱). د) مطالعه سینتیک برهمکنش کمپلکسهای ایمیدازول-فنانترولینی با DNA

سرعت واکنش بین DNA و کمپلکس به غلظت هر دو گونه وابسته است. برای بررسی چگونگی برهم کنش بین کمپلکس و DNA، مطالعه سینتیک آنها یکی از روشهای مورد توجه است. در این آزمایش، سینتیک واکنش بین کمپلکس و DNA در طول موج بیشینه (کمپلکس پلاتین-DNA) و (پالادیوم-DNA) که به ترتیب برابر ۳۲۰ و ۳۲۲ نانومتر میباشد، ثبت شد. همان طور که در شکل ۳-ازمایش داده شده جذب ترکیب افزایشی (کمپلکس پلاتین-DNA) به طور کلی با گذشت زمان افزایش مییابد و نشان دهنده پیوند الکترواستاتیک و شیاری بین کمپلکس و DNA میباشد. کمپلکس Pd ابتدا از طریق برهم کنش الکترواستاتیک با DNA برهم کنش دارد چراکه جذب در ابتدا افزایش و سپس به دلیل ایجاد برهم کنش اینترکلیشن جذب به تدریج کاهش مییابد.



ب) (NO₃)2 (با المالي الم

ه) بررسی قدرت یونی بر برهمکنش کمپلکسهای ایمیدازول-فنانترولینی با DNA

در این آزمایش تأثیر قدرت یونی در پایداری محصول افزایشی کمپلکس-DNA توسط یک الکترولیت قوی مانند سدیم کلرید مورد مطالعه قرار گرفته است. DNA به دلیل وجود گروههای فسفات در سطح خارجی آن تبدیل به یک پلی الکترولیت آنیونی شده است. در پیوند الکترواستاتیک کمپلکس فلزی دارای بار مثبت با گروههای فسفات که در سطح بیرونی DNA قرار دارند، برهمکنش دارند ولی پیوند شیاری و اینترکلیت در سطوح داخلی DNA رخ میدهد [۱۰۹]. افزایش غلظت +Na باعث رقابت این یون با کمپلکس فلزی برای پیوند با گروههای فسفات میشود. در برهم کنش الکترواستاتیک با افزایش غلظت +Na پیوند ایجاد شده بین کمپلکس و DNA ضعیف میشود. تغییرات جذب با افزایش غلظت سدیم کلرید در طول موج بیشینه DNA در محلول کمپلکس-DNA ثبت شد. همان طور که در شکل ۳–۱۳ مشاهده میشود میزان جذب کمپلکس پالادیوم–DNA با افزایش غلظت سدیم کلرید کاهش مییابد در حالی که جذب کمپلکس پلاتین–DNA با اولین تزریق سدیم کلرید جذب کاهش و در ادامه افزایش یافت. با توجه به این نتایج میتوان پیشنهاد داد؛ برهم کنش غالب کمپلکس پالادیوم و پلاتین با DNA به ترتیب الکترواستاتیک و شیاری است.



كل ٢١-٢١: لمودار لغييرات جدب سيستم كمپلكس-١٩٢٨ براي الف) ٢٢(١٢٢)[(١٢٢)[ع با افزايش غلظت سديم كلريد.

۲-۱-۴- مطالعه برهم کنش کمپلکسهای فلزی با ct-DNA به کمک طیف سنجی فلوئور سانس

الف) بررسی تغییرات شدت فلوئورسانس EB-DNA با افزایش کمپلکسهای فلزی

به منظور بررسی ویژگی پیوندی کمپلکسهای تهیه شده با DNA از تکنیک فلوئورسانس، استفاده میشود [۱۱۰]. مولکول DNA فاقد نشر میباشد بنابراین از مولکولهایی که فلوئوروفور هستند؛ مانند اتیدیوم برومید استفاده میشود. شدت نشر فلوئورسانس سیستم DNA-EB میتواند بر اثر افزودن خاموش کننده که در اینجا کمپلکس فلزی است؛ کاهش یابد. میزان کاهش شدت نشر نوع برهمکنش

را مشخص میکند.

روند تغییرات شدت فلوئورسانس EB-DNA در حضور غلظتهای متفاوت از هر یک از کمپلکس های فلزی پالادیوم و پلاتین (شکل ۳–۱۴) نشان داده شده است. کاهش تدریجی نشر EB-DNA در اثر افزودن کمپلکس پلاتین احتمال برهم کنش شیاری را تقویت می کند و در مقابل کاهش شدید شدت نشر در اثر افزایش غلظت کمپلکس پالادیوم ممکن است به دلیل پیوند دوگانه الکترواستاتیک و اینتر کلیت جزیی با DNA باشد. چون کمپلکس پالادیوم در رقابت با اتیدیوم برومید برای برهم کنش با EB-DNA باعث میشود اتیدیوم برومید بیشتری از ساختار DNA خارج شود و در نتیجه نشر AM باعث میشود اتیدیوم برومید بیشتری از ساختار DNA خارج شود و در نتیجه نشر AM یاین دو کمپلکس به تفاوت ساختاری کمپلکس پالادیم و پلاتین و سینتیک سریعتر کمپلکس پالادیم این دو کمپلکس به تفاوت ساختاری کمپلکس پالادیم و پلاتین و سینتیک سریعتر کمپلکس پالادیم نسبت به کمپلکس پلاتین مربوط میشود.



شکل ۳-۱۴: طیفهای نشر فلوئورسانس برای برهم کنش EB-DNA در عدم حضور (نقطه چین) و حضور غلظتهای متفاوت کمیلکس الف) 2(NO3)[Pd(DACH)(FIP] و ب) 2(NO3)[(NO3)].

ب) محاسبه ثابت پیوند و تعداد مکانهای اتصال با استفاده از رابطه استرن-ولمر

کمپلکس پلاتین کاملا خطی است و مقدار K_{sv} (ثابت استرن-ولمر) از شیب این منحنی قابل محاسبه است و برابر ^۱-M^{-۱}S^{-۱} M^{-۱}S میباشد. مقدار k_q (ثابت خاموشی بیوماکرومولکول) ^۱-S^{-۱}M^{-۱}S^{-۱} ۱۰۱ × ۹/۳۳ محاسبه شد که چون بزرگتر از ^۱-M^{-۱}S^{-۱} ۲۰^۱ ۲۰ × ۲ است؛ بیانگر خاموشی از نوع استاتیک است. ثابت پیوندی و تعداد محلهای پیوند در بر هم کنش دارو و DNA استفاده از رابطه و تعداد محلهای پیوند در بر هم کنش دارو و N/۶ محاسبه شد (شکل ۳-و میراد محلهای استفاده از رابطه ۱۰۶ محاسبه شد (شکل ۳-۹ میراد میراد) محاسبه شد (شکل ۳-۱۰۶). با توجه به اینکه ثابت پیوند به دست آمده کمتر از پیوندهای اینترکلیت شیاری است، احتمال پیوند شیاری در مورد کمپلکس پلاتین تقویت می شود.



نمودارهای F_0/F در برابر غلظتهای مختلف کمپلکس پالادیوم انحراف از حالت خطی را نشان میدهد و مشخص می کند احتمال دارد هر دو نوع خاموشی استاتیک و دینامیک رخ دهد (شکل ۳–۱۵

ب). در نتیجه برای به دست آوردن K_{sv} (ثابت استرن-ولمر) از رابطه اصلاح شده استرن-ولمر $F_0/\Delta F = (1/f_a K_{sv})(1/[Q]) + 1/f_a$ استفاده می شود [۱۱۱]. که در آن $F_0 q q$ ، به ترتیب شدت فلوئورسانس در غیاب و حضور خاموش کننده (کمپلکس فلزی) است. ΔF تفاوت شدت فلوئورسانس در غیاب و حضور خاموش کننده و f_a کسر قابل دسترس فلوئورسانس می باشد. همچنین [Q] بیانگر غلظت خاموش کننده (کمپلکس فلزی) است [۱۱۱]. از رسم نمودار $F_0/\Delta F$ در مقابل [Q] بیانگر غلظت خاموش کننده (کمپلکس فلزی) است [۱۱۱]. از رسم نمودار $F_0/\Delta F$ در مقابل [Q] مقدار برای کمپلکس پالادیوم برابر I_a از ۲۰ سیب خط (شکل ۳–۱۷).



شكل ٣-١٧: منحنى تغييرات log (F₀/F₀ - F) در برابر [Com] كمپلكس NO₃)2.

ج) رسم نمودارهای اسکاچارد و تعیین نحوه برهمکنش

در این آزمایش، با رسم منحنی اسکاچارد نحوه برهم کنش هر یک از کمپلکسها با DNA تعیین شد. در واقع ما به دنبال تأثیر کمپلکسهای پالادیوم و پلاتین بر شدت نشر فلوئورسانس هستیم. در این آزمایش یک مجموعه هفتتایی از DNA با غلظت ثابت ۶۰ میکرو مولار و دو مجموعه هفتتایی که حاوی ۶۰ میکرومولار DNA و کمپلکسهای فلزی با غلظتهای متفاوت تهیه شد. بعد از گذشت زمان بازداری یک سا عت و نیم برای هر یک از کمپلکسها، غلظتهای متفاوت تهیه شد. بعد از گذشت زمان بازداری یک سا عت و نیم برای هر یک از کمپلکسها، غلظتهای متفاوت تهیه شد. بعد از گذشت زمان بازداری یک از ۲۰ میکرومولار از روش محاسباتی بحث شده در فصل ۲، نمودارهای اسکاچارد برای کمپلکسهای فلزی رسم شد. این منحنیها در شکل ۳–۱۸ نشان داده شدهاند. منحنی اسکاچارد ترکیب 2(NO3)[(Pd(DACH)(FIP)] منحنیها در شکل ۳–۱۸ نشان داده شدهاند. منحنی اسکاچارد ترکیب 2(NO3)[(Pd(DACH)(FIP)] برهم کنش نوع (AB را نشان میدهد. که در آن طول از مبدا (تعداد جایگاههای پیوندی به ازاء هر نوکلئوتید، *n*) تقریبا ثابت و شیب منحنی ها (ثابت تجمع پیوندی، *K*) با افزایش غلظت کمپلکس فلزی کاهش مییابند و نشان دهنده این است اتصال ترکیب مورد نظر با DNA از طریق برهم کنش دوگانه الکترواستاتیک و اینترکلیت با DNA میباشد. اما منحنی اسکاچارد کمپلکس (NO3)₂ ها متغیر میباشد و نشان دهنده اتصال شیاری کمپلکس پلاتین با DNA است (شکل ۳–۱۸-الف) ها متغیر میباشد و نشان دهنده اتصال شیاری کمپلکس پلاتین با DNA است (شکل ۳–۱۸-الف)



شکل ۳–۱۸: نمودارهای اسکاچارد پیوند اتیدیوم برمید (۲، ۴ تا ۱۴ میکرومولار) به DNA (۶۰ میکرومولار) در حضور غلظتهای متفاوت از کمپلکسهای الف) Pt(DACH)(FIP)]((NO3)2 (و ب) Pd(DACH)(FIP)].

د) بررسی فلوئورسانس سه بعدی کمپلکسهای ایمیدازوفنانترولینی به عنوان حسگر در

پیوند با DNA

کمپلکسهای ایمیدازوفنانترولینی دارای خاصیت فوتولومینسانس هستند [۵۸]. محلول ۳۰۴ میکرو مولار تهیه شده از این دو کمپلکس در محیط بافر در طول موج تهییج ۳۰۰ نانومتر دارای نشر حداکثر در ۴۱۰ و ۴۷۰ نانومتر میباشند (شکل ۳–۱۹). با توجه به (شکل ۳–۲۰) با افزایش غلظت DNA

(۲۸۰ μΜ) شدت نشر کمپلکس پلاتین در طول موج ۴۱۰ و ۴۷۰ نانومتر به ترتیب ۳ و ۱۰ برابر

افزایش مییابد. این افزایش نشر برای کمپلکس پالادیوم ۲/۵ و ۲/۱ برابر به دست آمده است. از آنجایی که شدت افزایش نشر بر اثر افزایش غلظت DNA در کمپلکس پلاتین بیشتر از کمپلکس پالادیوم است از ترکیب پلاتین میتوان به عنوان حسگر فلوئورسانس DNA بهره برد.



شکل ۳-۱۹: طیف فلوئورسانس سه بعدی کمپلکسهای الف) [Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ (و ب) (ار (NO₃)₂ در محیط بافر و دمای°° ۲۵ (No₃ + ۳۰۰ nm (المرو) (NO₃)₂) در محیط بافر و دمای



(ب) [Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ (شكل ٣-٢٠: طيف فلوئورسانس كمپلكسهاى الف) [Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ و ب (NO₃)₂ در عدم حضور (نقطه چین) و حضور غلظتهاى متفاوت DNA.

CD - مطالعه طيف CD و بررسی تغيير ساختار DNA در حضور کمپلکس − 1−۳

یکی از روشهای دقیق در بررسی ساختار ماکرومولکولها و همچنین مطالعه برهم کنش آنها با کمپلکسها طیف سنجی دورنگ نمایی دورانی میباشد. طیف دورنگ نمایی روشی مناسب برای تعیین تغییرات ساختار DNA است و به کوچکترین تغییرات ساختاری DNA که بر اثر اتصال مولکولهای کوچک ایجاد میشود حساس است [۱۱۳]. در طیف CD محلول ۱۲۰ میکرومولار DNA، دو نوار در ۲۷۲ و ۲۴۵ نانومتر مشاهده شد که نوار مثبت در ۲۷۲ نانومتر، مربوط به جفت شدن بازهای DNA و نوار منفی در ۲۴۵ نانومتر، ناشی از پیچش دو رشته DNA میباشد [۰۸]. این دو نوار نشان دهنده فرم کول منفی در ۲۵۵ نانومتر، ناشی از پیچش دو رشته DNA میباشد [۰۸]. این دو نوار نشان دهنده فرم کول منفی در ۲۵۵ نانومتر، ناشی از پیچش دو رشته DNA میباشد [۰۸]. این دو نوار نشان دهنده فرم کول منفی در ۲۴۵ نانومتر، ناشی از پیچش دو رشته DNA میباشد [۰۸]. این دو نوار نشان دهنده فرم کوردید (شکل ۳–۲۱).

به طور کلی پیوند اینترکلیت به دلیل برهمکنش * π - π باعث افزایش جذب در نوار مثبت طیف CD می شود در حالی که پیوند شیاری و الکترواستانیک باعث آشفتگی کم و ناچیز در طیف CD می گردد [۱۱۴]. با افزایش کمپلکس Pt به DNA نوار مثبت طیف DNA، CD کاهش یافته و این مشاهده فرضیه وجود پیوند اینترکلیت را نقض کرده و پیوند شیاری برای پیوند کمپلکس پلاتین با DNA پیشنهاد می شود. با افزایش کمپلکس با به DNA نوار مثبت طیف DNA، CD کاهش یافته و این مشاهده فرضیه وجود پیوند اینترکلیت را نقض کرده و پیوند شیاری برای پیوند کمپلکس پلاتین با DNA پیشنهاد وجود پیوند اینترکلیت را نقض کرده و پیوند شیاری برای پیوند کمپلکس پلاتین با DNA می می دهده می شود. با افزایش کمپلکس پلاتین با DNA و پیشنهاد می شود. با افزایش کمپلکس پالادیوم به DNA نوار منفی در ۲۹۴ نانومتر ظاهر می شود که نشان دهنده می شود. با افزایش کمپلکس پالادیوم به DNA نوار منفی در ۲۹۴ نانومتر ظاهر می شود که نشان دهنده و می شود. با افزایش کمپلکس پالادیوم به DNA نوار منفی در ۲۹۴ نانومتر ظاهر می شود که نشان دهنده می شود. با افزایش کمپلکس پالادیوم به DNA نوار منفی در ۲۹۴ نانومتر ظاهر می مود که نشان دهم ده ده می اثر با DNA می تواند به این صورت رخ می می در با افزایش کمپلکس پالادیوم با DNA، ساختار DNA می تواند به این صورت رخ و تغییر ساختار داشته و مکان مناسب برای برهم کنش اینترکلیت جزیی کمپلکس با DNA فراهم می شود. اختلاف طیف های DD این سیستم ها حاکی از متفاوت بودن نحوه عمل تر کیبات پالادیوم می شود. اختلاف طیف های DD این سیستم ها حاکی از متفاوت بودن نحوه عمل تر کیبات پالادیوم نسبت به آنالوگ های پلاتین در برهم کنش با DNA می باشد. این تفاوت در مطالعات فلوئورسانس بین نرم می می نود.





با استفاده از روش شبیه سازی اتصال مولکولی، انرژی اتصال در برخی از درجهبندی خوشهها^۱ در جدول ۳–۱۱ گردآوری شده است.

		Pd	
Cluster rank	Lowest Dock energy	Mean Dock energy	Number of run in a cluster
1	-) ۲/۹)	-) ۲/۸۶	٨٩
2	-17/7•	-17/18	6
3	-12/18	-17/18	۴
4	-11/97	-11/97	١
		Pt	
1	-17/•7	-17/84	٨۶
2	-17/29	-17/78	١.
3	-17/77	-17/77	۴

جدول ۳-۱۱: انرژی شبیه سازی اتصال مولکولی (kcal/mol) برای دو کمپلکس فلزی پالادیوم و پلاتین.

'Cluster rank

اولین درجه بندی منفیترین انرژی را دارد که این مقدار برای کمپلکس پلاتین منفیتر از کمپلکس پالادیوم است و بیانگر برهمکنش بیشتر کمپلکس پلاتین با DNA میباشد. مکان پیوندی اولین درجهبندی خوشه برای هر دو کمپلکس در شکل ۳-۲۲ مشخص شده است.



شكل ٣-٢٢: جايگاه اتصال داراى منفىترين انرژى اتصال كمپلكس،ها با (DNA(453 D الف) (NO₃)₂ و شماى ديگر از محل اتصال كمپلكس،ها با (NO₃)₂ و د) Pd(DACH)(FIP)] و ماى ديگر از محل اتصال كمپلكس،ها با (DACH)(FIP)](NO₃)₂ و د) Pd(DACH)(FIP)].

همان طور که در شکل مشاهده می شود این کمپلکس ها در شیار کوچک DNA قرار می گیرند. پیوند هیدروژنی، هیدروفوبی و برهم کنش π در (شکل ۳-۲۲ الف و ب) نمایش داده شده است. محل اتصال کمپلکس ها در (شکل ۳-۲۲ ج و د) گویای جزییات نحوه برهم کنش کمپلکس های پالادیوم و پلاتین با DNA است. در کمپلکس پالادیوم دو برهم کنش الکترواستاتیک بین N1 کمپلکس و (OP۱، تیمین ۱۹) و(OP۱، گوانین ۱۰) به ترتیب با فاصله پیوندی ۵/۴۰ و ۲/۱۵ آنگستروم رخ داده است. همچنین یک پیوند هیدروژنی بین (O3، سیتوزین ۹) و H2 کمپلکس با فاصله پیوندی ۲ آنگستروم دیده می شود. این در حالی است که در کمپلکس پلاتین چهار برهم کنش وجود دارد. دو برهم کنش الکترواستاتیک بین N1 کمپلکس و (OP، تیمین ۱۹) و (OP، گوانین ۱۰) به ترتیب با فاصله پیوندی ۲/۱۷ و ۲/۶۰ آنگستروم وجود دارد. علاوه بر آن، دو پیوند هیدروژنی یکی بین (O3، سیتوزین ۹) و H2 کمپلکس در فاصله ۲/۶۰ آنگستروم و دیگری بین (OP، گوانین ۱۰) و H3 کمپلکس در فاصله ۲/۲ آنگستروم مشاهده می شود. نتایج فوق نشان می دهد که کمپلکس پلاتین نسبت به کمپلکس پالادیوم پیوند هیدروژنی بیشتری با DNA دارد و برهم کنش موثرتری با DNA خواهد داشت. این مشاهدات با

۳-۱-۷- نتایج حاصل از شبیه سازی دینامیک مولکولی

یک مولکول DNA در جعبه شبیه سازی قرار داده شد و سپس پنج مولکول از هر کمپلکس در جعبه قرار داده شد در مرحله بعدی مولکولهای آب به طور خودکار افزوده شد. سپس شبیه سازی دینامیک مولکولی بر روی DNA در مدت ۸۰ns در حضور کمپلکسها انجام شد. توزیع کمپلکسهای فلزی در اطراف DNA در زمان ابتدایی و انتهایی در شکل ۳-۲۳ نشان میدهد کمپلکسهای فلزی در سطح و شیار کوچک DNA قرار دارند که این مشاهده با دادههای تجربی و شبیه سازی اتصال مولکولی مطابقت دارد.

جذر میانگین مربع انحراف (RMSD^۱) میزان انحراف موقعیت ذرات نسبت به موقعیت مرجع را در هرنقطه از زمان نشان میدهد. هر قدر RMSD برای گروهی از اتمها در طول شبیه سازی بیشتر باشد، میزان تغییرهای ساختاری آنها در طی شبیهسازی بیشتر خواهد بود؛ به عبارت دیگر میزان شیب نمودار RMSD بیان کننده پایداری مدل در طول شبیهسازی است و هر چه شیب به صفر نزدیکتر باشد مدل شبیه سازی شده پایدارتر است. در شکل ۳-۲۴ الف نمودار ریشه دوم میانگین مربع انحراف

¹ Root-mean-squar deviation

از مكان اولیه با گذشت زمان افزایش یافته كه نشان می دهد میزان انحراف مكان اولیه مكان اولیه از حالت اولیه بیشتر می شود. نمودارها پس از مدتی شیب صفر پیدا كردهاند كه نشان دهنده پایداری سیستم اولیه بیشتر می شود. نمودارها پس از مدتی شیب صفر پیدا كردهاند كه نشان دهنده پایداری سیستم است. میانگین مربعات جابجایی (MSD⁽⁾) ؛ مربع فاصله متوسط بین هر موقعیت دو ذره است. با استفاده از رابطه MSD = 6Dt برحسب زمان (t) به از رابطه MSD = 6Dt برحسب زمان (d) را از شیب نمودار MSD برحسب زمان (t) به دست آورد (شكل ۳–۲۴ ب). مقدار MSD برای كمپلكس پلاتین و پالادیوم به ترتیب ۸۰۶۵۸ و دست آورد (شكل ۳–۲۴ ب). مقدار MSD برای كمپلكس پلاتین و پالادیوم به ترتیب ۸۰۶۵۸ و دست آورد (شكل ۳–۲۴ ب). مقدار محل برای پلاتین بیشتر از پالادیوم است؛ یعنی پلاتین تمایل بیشتری به نفوذ مر ساختار ANA دارد. فاصله بین یک مولکول کمپلکس و ANA مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان می دور ساختار MSD دارد. فاصله بین یک مولکول کمپلکس و ANA مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان می دور ساختار می در ساختار می بلاتین نسبت به کمپلکس پالادیوم به مرد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان می دور ساختار عمان زر ای می در ساختار می در این (f) به می در ساختار می دارد. فاصله بین یک مولکول کمپلکس و ANA مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان می دور ساختار می در ای پلاتین نسبت به کمپلکس پالادیوم به مام در در وش معمول، اطراف یک مجموعه از می دور یع نی در این می باشد. روش دیگر، در اطراف مرکز جرم یک مجموعهای از ذرات می باشد. تایع توزیع شیاعی یا تابع همبستگی جفت (r) هرم یین ذرات A و B به روش زیر به دست می آید.

$$RDF = \frac{\langle \rho_{B(r)} \rangle}{\langle \rho_{B(r)} \rangle_{\text{local}}} = \frac{1}{\langle \rho_{B(r)} \rangle_{\text{local}}} \frac{1}{N_A} \sum_{i \in A}^{N_A} \sum_{j \in B}^{N_B} \frac{\delta(r_{ij} - r)}{4\pi r^2}$$
$$\left\langle \rho_{B(r)} \rangle = \frac{\delta(r)}{\rho_{B(r)}} \right\rangle = \frac{\delta(r)}{\rho_{B(r)}} \left\langle \rho_{B(r)} \rangle = \frac{\delta(r)}{\rho_{B(r)}} \right\rangle, \quad \text{galls in } \delta(r) = \frac{\delta(r)}{\rho_{B(r)}} \left\langle \rho_{B(r)} \rangle = \frac{\delta(r)}{\rho_{B(r)}} \right\rangle, \quad \text{galls in } \delta(r) = \frac{\delta(r)}{\rho_{B(r)}} \left\langle \rho_{B(r)} \rangle = \frac{\delta(r)}{\rho_{B(r)}} \left\langle \rho_{B(r)} \rangle = \frac{\delta(r)}{\rho_{B(r)}} \right\rangle$$

¹ Mean square displacement

^r Radial distribution function



شکل ۳-۲۳: (الف و ب) موقعیت کمپلکسهای فلزی قبل از ۸۰ns و (ج و د) بعد از ۸۰ شبیه سازی دینامیک مولکولی برای کمپلکسهای (الف و ج) Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂)، (ب و د) NO₃)₂]).



شکل ۲-۲۰: نمودارهای محاسبه شده بین DNA و گمپلکسهای 2(NO3) [Pt(DACH)(FIP)] و 2(NO3) و 2(NO3) محاسبه شده برای DNA، ب) MSD ، ج) فاصله بین کمپلکسها و Pd(DACH)(FIP)](NO3) محاسبه شده برای DNA، ب) یوند هیدروژنی و د) پیوند هیدروژنی DNA-DNA.

بخش دوم

دومین سری از ترکیباتی که مورد بحث قرار می گیرد، اگزالی پالادیوم با فرمول کلی [Pd(DACH)(OX)] که در آن (Pd(DACH) = N، N - ۲۰ - دی آمین سیکلوهگزان و OX = اگزالات) وکمپلکس پالادیوم (II) از مشتق ایزو پنتیل گلایسین (Isopentylgly) با فرمول کلی NO₃[NO₁(isopentylgly]] میباشند. شناسایی [(OX)(OX)] قبلا در این گروه تحقیقاتی انجام پذیرفته است [۸۶] ولی شناسایی کمپلکس پالادیوم از مشتق ایزو پنتیل گلایسین در این بخش مطرح می شود. مطالعات اثر سمیت این ترکیبات در دانشکده بیوشیمی دانشگاه خوارزمی انجام شده که در این بخش مختصرا به آن اشاره می شود. همچنین در این بخش، مطالعه برهم کنش دو کمپلکس فوق با NNA غده تیموس گوساله به طور مفصل مورد بحث و بررسی قرار می گیرد.

DNA ایی، مطالعات اثر سمیت و برهم کنش کمپلکس های پالادیوم با

[Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO₃) شناسایی کمپلکس (NO₃)

الف) رسانایی سنجی

رسانایی الکتریکی کمپلکس سنتز شده در آب دوبار تقطیر با غلظت مشخص، اندازه گیری و رسانایی مولی (λ) آن محاسبه شد. داده های مربوط به رسانایی الکتریکی این کمپلکس در جدول ۳-۱۲ جمع آوری شده است.

كمپلكس	رسانايى	غلظت كمپلكس	رسانایی آب	رسانايي مولى			
	كمپلكس	(mol/L)	مقطر	$(cm^2.ohm^{-1}.mol^{-1})$			
[Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO ₃)	۱۸/۲۵	1×1+	۳/۷۵	118			

جدول ۳-۱۲: داده های مربوط به رسانایی الکتریکی کمپلکس (NO₃)[Pd(DACH)(Isopentylgly)].

همانطوری که در جدول ۳-۱ مشاهده می شود، رسانایی های مولی این کمپلکس در محدوده

۱۰۱-۱۱۸cm².ohm⁻¹.mol می باشد. این محدوده رسانایی مولی کمپلکسهایی که الکترولیت ۱:۱ هستند را نشان می دهد که با ساختار پیشنهادی کمپلکس فوق مطابقت دارد [۹۶].

ب) طيف جذبي الكتروني (UV-Vis Spectrum)

طیف جذبی کمپلکس پالادیوم سنتز شده (با غلظت ^۳-۱۰ مولار) در شکل ۳–۲۵ نشان داده شده است. در طیف جذبی برای این کمپلکس تنها یک نوار جذبی در ناحیه ۲۰۰ تا ۲۱۰ نانومتر مشاهده میشود که مربوط به انتقال درون لیگاندی میباشد. در این کمپلکس سنتز شده، لیگاند آلیفاتیک به کار رفته است، بنابراین؛ هیچ گونه انتقالات فلز و لیگاند، در ناحیه ۲۵۰ تا ۴۰۰ نانومتر دیده نمیشود [۱۱۶].



شكل ٣-٢٥: طيف جذب الكتروني كمپلكس (NO₃)(Isopentylgly).

با استفاده از دادههای طیف جذب الکترونی این کمپلکس میتوان ضریب خاموشی را برای آن بدست آورد. λ_{max} (طول موج جذب های بیشینه) و ٤ (ضرایب خاموشی) نوارهای جذبی طیف مربوطه در (جدول ۳–۱۳) ارائه شده است.

جدول ۳-۱۳: داده های طیف جذبی (NO₃)[Pd(DACH)(Isopentylgly)].

Band maxima in nm (λ_{max})	
Compound	Band I
[Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO ₃)	$\Upsilon \cdot \Delta (\Lambda/9)^a$
پرانتز بر حسب ¹ -liter mmole گزارش شده است	بب خاموشی (ع) در داخل

ج) طيف زير قرمز

طیف زیر قرمز کمپلکسهای سنتز شده در محیط KBr و در ناحیه ^۱-۴۰۰۰ cm ثبت شدند. فرکانسهای کششی مهم در طیف این ترکیب در جدول ۳-۱۴ گردآوری شده است.

جدول ۳–۱۴: فرکانس های مهم گروه های عاملی در طیف زیر قرمز کمپلکس بر حسب ^۱-cm⁻¹ ار Pd(DACH)(IsopentyIgly)] بر حسب (NO₃)

نام کمپلکس	$\nu_{\rm NH}$	V _{CH}	v _{C=O}	v_{NO3}	V _{N-Pd-N}
[Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO ₃)	۲۹۳۳	7707	1807	1888	۶۲۰
					فرکانس کششی

لیگاند ایزوپنتیل گلایسین دارای نوار مشخص در ناحیه ^۱-۱۷۴۰ است که به ارتعاش کششی گروه غیر کوئوردینه شده ⁻COO نسبت داده میشود (ایزوپنتیل گلایسین به فرم هیدروکلرید جامد است). این نوار در طیف کمپلکس در ^۱-۱۶۰۲ ظاهر میشود که نشانه کوئوردینه شدن گروه کربوکسیل به فلز مرکزی است (شکل ۳–۲۶).



شکل ۳- ۲۶: طیف زیر قرمز کمپلکس (NO₃)[(NO₃]]NO3] (Pd(DACH)(Isopentylgly)] کاهش در فرکانس کششی گروه کربونیل لیگاند به دلیل کوئوردینه شدن لیگاند به فلز است، زیرا در اثر کیلیت شدن دودندانه لیگاند به فلز، مرتبه پیوند کربونیل در گروه ⁻COO کاهش مییابد [۷۱].

نوار مشاهده شده در ^{I-1} ۶۲۰ مربوط به فرکانس کششی N-Pd-N است که نشان دهنده اتصال لیگاند دو دندانه DACH به فلز میباشد [۱۱۷]. همچنین نوار ^{I-1} ۱۳۶۶ در طیف IR این کمپلکس نشانه یون همراه گروه نیترات با تقارن D_{3h} است که مکمل مشاهدات رسانایی سنجی نیز می باشد [I۰۱].

د) طیف رزونانس مغناطیسی هسته

طیف ¹H-NMR کمپلکس (Isopentylgly)[(NO₃) در حلال DMSO-d₆ و با بکارگیری TMS به عنوان استاندارد داخلی ثبت شد. طیف این ترکیب در شکل ۳–۲۷ نشان داده شده است. نوارهای ظاهر شده در ۲/۵ و ۳/۳ ppm به ترتیب مربوط به DMSO-d₆ و آب میباشد.

در طیف کمپلکس (NO₃)[(NO₃)](Isopentylgly)، سه هیدوروژن گروه متیل و دو هیدروژن محوری سیکلو هگزان H_a به صورت نوارهای چندتایی در جابجایی شیمیایی ۹ ppm / •ظاهر شدهاند. هیدروژنهای استوایی به دلیل اینکه از نظر فضایی به فلز نزدیک است در جابجایی شیمیایی بالاتری ظاهر می شوند [۵۴].

نوارهای چندتایی در ۱/۱، ۱/۲، ۱/۵ و ppm ۱/۶ به ترتیب مربوط به هیدروژن های h و H_f می باشند. هیدروژن a و H_f می باشند که در ساختار پیشنهادی در شکل۳–۲۸ نشان داده شده است، می باشند. هیدروژن H و H_f می باشند که در ساختار پیشنهادی در شکل۳–۲۸ نشان داده شده است، می باشند. هیدروژن H و g H و می به ترتیب در نزدیکی گروه NH و NH قرار دارند و در جابجایی شیمیایی ۸/۱ و mpm ا/۱ ظاهر می شوند. هیدروژنهای h به دلیل قرار گرفتن بین گروه های H-۲ و N-۲ و OOO در میدان بالاتر و به صورت می شوند. هیدروژنهای h به دلیل قرار گرفتن بین گروه های H-۲ و NOO در میدان بالاتر و به صورت می شوند. هیدروژنهای h به دلیل قرار گرفتن بین گروه های H-۲ و NOO در میدان بالاتر و به صورت چندتایی در mpm در TY و NP می و PN می مربوط به گروه H در منطقه mp ۲/۶ ظاهر شده است. نوار چندتایی مشاهده می شوند. هیدروژنهای مربوط به گروه H در منطقه np ۲/۶ ظاهر شده است. نوار چندتایی مشاهده می شوند. هیدروژنهای مربوط به گروه H در منطقه np ۲/۶ ظاهر مدو است. نوار چندتایی مشاهده می شوند. هیدروژنهای مربوط به گروه H در منطقه TY ppm در حلقه معره است. نوار چندتایی مشاهده می شوند. هیدروژنهای مربوط به گروه NH در منطقه NH در منطقه np ۲/۶ ظاهر مدو است. نوار چندتایی مشاهده شده در ۲/۶ و ppm ۹/۹ مربوط به هیدروژنهای گروه NL در حلقه مدو است. نوار چندتایی مشاهده شده در ۲/۶ و ppm مربوط به میدروژنهای گروه ۲۸ در مدو شده سیکلوهگزان است. نتایج دادههای طیف رزونانس پروتونهای این ترکیب در جدول۳–۱۵ آورده شده است. همچنین تعداد هیدروژنهای کمپلکس با انتگرال سطح زیر پیکها مطابقت داشته و برابر ۲۸ می باشد. این دادهها با ساختار پیشنهادی کمپلکس مطابقت دارد (شکل ۳–۲۸).



شکل ۳–۲۷: طیف H NMR¹ کمپلکس (NO₃)(NO₃).

E .	, (1 20		*/ U ÿ		•	0	. (0		
تعداد هيدروژن	8 H a	2 H _b	2 H c	3 H _d	2H e	$2 H_{\rm f}$	2 H g	$2 H_h$	H i	4 H j
δ ppmª	٠/٩	١/١	١/٢	١/۵	۱/۶	۱/۸	۲/۱	۲/۲	4/2	۴/۹
^b شکافتگی	m	m	m	m	m	m	m	m	m	m
$J (Hz)^{c}$	-	-	-	-	-	-	-	-		-

جدول ۳-۱۵: دادههای طیف H-NMR^۱ کمپلکس (NO₃)(NO₃).

ppm بر حسب (Chemical shift) δ جابجایی شیمیایی ^a

^b شکافتگی (multiplet) شکافتگ

Hz ابت جفت شدن (J) (Coupling constant) الرحسب $^{\circ}$



شکل ۳-۲۸: ساختار پیشنهادی برای کمپلکس (NO₃)(NO₃).

۳-۲-۲ مطالعه اثر سمیت علیه سلولهای سرطان روده HCT116 و تعیین میزان سمیت کمپلکس فلزی

برای مطالعه سمیت دو کمپلکس (NO₃) (Isopentylgly) (Isopentylgly) و Pd(DACH) و Pd(DACH) و Pd(DACH) ی غلطتهای متفاوتی از این ترکیبات (۰ تا ۷۰۰ میکرومولار) با سلولهای سرطانی روده از نوع HCT116 در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. مقادیر Cc₅₀ یا غلظتی از ترکیبات که ایجاد ٪۵۰ سمیت یا مرگ و میر در سلولها میکنند، با استفاده از روش MTT محاسبه شده و نتایج برای کمپلکس های(II) Pd در (شکل ۳–۲۹) و (جدول ۳–۱۶) ارائه شده است.

جدول ۳–۱۶: مقادیر (Cc₅₀) کمپلکسهای (NO₃)[NO₃) و Pd(DACH)(OX)].

Complexes	Cc ₅₀ (µM) (after 24 h)
[Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO ₃)	١٣٢
[Pd(DACH)(OX)]	٧
Oxaliplatin	104



شکل ۳-۲۹: مهار رشد و تکثیر سلولهای سرطان روده انسانی توسط کمپلکسهای [Pd(DACH)(OX)] (●). (○) و (NO3) (Isopentylgly] (●).

مقادیر جدول ۳-۱۶ نشان می دهد قدرت مهارکنندگی ترکیب پالادیوم سنتز شده با مشتق گلایسین بیشتر از اگزالیپالادیوم و اگزالیپلاتین است.

ct-DNA مطالعات برهم كنش كمپلكس هاى پالاديوم با

برهم کنش کمپلکس اگزالیپالادیوم و با DNA در محیط تریس بافر حاوی ۱۰ میلی مولار سدیم کلرید با PH = ۷/۴ در دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد به کمک روش های مختلف طیفسنجی مطالعه شد. محلول های مادر کمپلکس اگزالیپالادیوم با غلظت ۲ میلیمولار و کمپلکس مطالعه شد. محلول های مادر کمپلکس اگزالیپالادیوم با غلظت ۲ میلیمولار و کمپلکس (NO₃)[(NO₃)] با غلظت ۱ میلی مولار ساخته شد. محلول مادر DNA با غلظت ۱ میلی مولار در محیط بافر تهیه شد. طول موج بیشینه برای کمپلکس ها نیز در جدول ۳–۱۷ گرد آوری شده است.

جدول ۳–۱۷: طول موج بیشینه کمپلکسهای پالادیوم.

Complexes	λ_{\max} (nm)
[Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO ₃)	۲۰۵
[Pd(DACH)(OX)]	۲۱۰

الف) غير طبيعي شدن DNA به كمك طيف سنجي UV-Vis

در این آزمایش بررسی غیرطبیعی شدن DNA با افزایش کمپلکسهای فلزی سنتز شده نشان داد که در حضور غلظتهای متفاوت از کمپلکسهای پالادیوم، ساختار DNA غیر طبیعی می شود.



شکل ۳-۳۰: نمودار غیرطبیعی شدن DNA در حضورکمپلکس های الف) (NO₃)[NO₃) (اPd(DACH)(Isopentylgly) و Pd(DACH)(OX)] و ب) [Pd(DACH)(OX)] در دو دمای ۲۷ و ۳°C.

در این آزمایش اختلاف جذب در طول موجهای ۲۵۸ و ۶۴۰ نانومتر که در ضریب رقت، ضرب شده با نام A ثبت شد. منحنیهای غیرطبیعی شدن DNA در دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد برای هر دو کمپلکس روند صعودی را نشان میدهند (شکل۳-۳۰).

افزایش جذب DNA بر اثر افزایش تدریجی کمپلکس میتواند مربوط به نحوه برهم کنش این ترکیبات با DNA باشد. غلظت کمپلکسها در نقطه میانی ناحیه انتقال (2/1[L])، برای کمپلکس (NO3)(Pd(DACH)(Isopentylgly) در دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد به ترتیب ۳/۰ و ۲۵/۰ میلیمولار است. مقدار 12/2] برای اگزالیپالادیوم در دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد به ترتیب ۵۸/۰ و ۲۵/۰میلیمولار به دست آمده است و نشان میدهد برهم کنش اگزالیپالادیوم با DNA وابستگی دمایی ندارد زیرا افزایش دما باعث کاهش مقدار 2/1[L] نمیشود. مقادیر 2/1[L] این ترکیبات نشان میدهد که کمپلکس (NO3)(DAC)(Isopentylgly) نسبت به اگزالیپالادیوم، DNA را در غلظت پایین تری غیرطبیعی می کند. این نتایج با مقادیر سمیت کمپلکسها علیه سلولهای سرطانی روده هم خوانی دارند.

پارامترهای ترمودینامیکی پروسه غیر طبیعی شدن DNA توسط کمپلکس فلزی، با به کارگیری روش پارمترهای ترمودینامیکی پروسه غیر طبیعی شدن، در دو دمای ۲۷ و Ω° ۳ به دست آمد. منحنی ΔG° در برابر روش Pace و منحنی غیرطبیعی شدن، در دو دمای ۲۷ و Ω° ۳ به دست آمد. منحنی $\Omega \Delta C$ در برابر 1_1 ایر هر دو دمای مذکور در شکل ۳–۳۱ نشان می دهد با افزایش غلظت کمپلکس، انرژی آزاد گیبس Ω° کاهش می یابد. به این دلیل که با افزایش غلظت کمپلکس، اشغال جایگاههای پیوندی و اتصال Ω° کاهش می یابد. به این دلیل که با افزایش غلظت کمپلکس، اشغال جایگاههای پیوندی و اتصال کمپلکس به DNA می می بد. به این دلیل که با افزایش غلظت کمپلکس، اشغال جایگاههای پیوندی و اتصال کمپلکس به DNA می می بد. به این دلیل که با افزایش علظت کمپلکس، اشغال جایگاههای پیوندی و اتصال با افزایش دما مدی به می یابد. به این دلیل که با افزایش علظت کمپلکس، اشغال جایگاههای پیوندی و اتصال محمپلکس به DNA می می در می شود و موجب تغییر ساختار و کاهش پایداری NA می می می دود. این تغییرات تعییرات کمپلکس به DNA می می در می شود و موجب تغییر ساختار و کاهش پایداری بیوماکرومولکول می شود. با افزایش دما تشدید می فازیش دم موجب کاهش پایداری بیوماکرومولکول می شود. با می نود با افزایش دما موجب کاهش پایداری بیوماکرومولکول می شود. با می می در این در این در می در می از مبدأ این منحنیها که بیانگر پایداری بیشتر DNA در عدم حضور کمپلکس است (DA (DA) به دست آمد. مثبت تر بودن این پارامتر، پایداری بیشتر DNA را نشان می دهد و با افزایش دما این انرژی کاهش می یابد [۱۰۵].



شکل ۳-۳۱: نمودار تغییرات انرژی آزاد گیبس (ΔG[°]) در برابر L]I مربوط به برهم کنش DNA ب کمپلکسهای الف) (Pd(DACH)(Isopentylgly)[Pd(DACH) و ب) [Pd(DACH)(OX)] در دو دمای ۲۷ و C[°] ۳۷. شیب این نمودارها، m، حساسیت فرایند غیر طبیعی شدن به نوع کمپلکس را نشان میدهد که این مقدار برای کمپلکس (NO₃)[(NO₃)[Pd(DACH)(Isopentylgly]] بیشتر از اگزالی پلادیوم است و توانایی بیشتر این ترکیب را در غیر طبیعی کردن ساختار DNA نشان میدهد. مقادیر m و (Ho(DACH) مربوط به غیر طبیعی شدن AN در حضور این کمپلکسهای پالادیوم، در جدول ۳-۱۸ ارائه شده است.

نمودارهای تغییرات آنتالپی غیرطبیعی شدن DNA توسط این ترکیبات در شکل ۳-۳۲ نشان داده شدهاند.



شکل ۳-۳۲: نمودار تغییرات آنتالپی صورتبندی DNA در برابر IL] مربوط به غیرطبیعی شدن DNA در حضور کمپلکسهای الف) (Pd(DACH)(Isopentylgly)[(NO3) و ب) Pd(DACH)(OX)] در محدوده دمایی ۲۷ تا ۲۰ ۲۷.

در این نمودارها تغییرات آنتالپی سیستمهای Complex-DNA برای کمپلکس (Isopentylgly)[(NO₃) (Pd(DACH)(Isopentylgly)] نزولی و گرماده میباشد. فرایند گرماده بودن این برهم کنش میتواند مربوط به نحوه برهم کنش کمپلکس-DNA باشد که منجر به آشفتگی جفت بازهای DNA و از بین رفتن اینترکشن بین جفت بازها میشود. تغییرات آنتالپی برای برهم کنش اگزالی پالادیوم با DNA صعودی و گرماگیر است و میتواند به دلیل پیوند کووالانسی اگزالی پالادیوم با DNA باشد [۱۱۸].

همچنین مقادیر مثبت آنتروپی (ْ۵َS) نشان میدهد کمپلکسهای پالادیوم باعث آشفتگی در سیستم DNA-Complex میشوند (جدول ۳–۱۸).

جدول ۳-۱۸: پارامترهای ترمودینامیکی غیر طبیعی شدن DNA توسط کمپلکسهای پالادیوم در دمای ۲۷ و C° ۳۷.

Complexes	Temperaure (°C)	^a L _{1/2} (mM)	^b m (kJmol)(mM)	^c ΔG°(H2O) (kJ mol ⁻¹)	^d ΔH° _(H2O) (kJ mol ⁻¹)	^e ΔS ^o (H2O) (kJ mol ⁻¹ K ⁻¹)
[Pd(DACH)(Isopentygly)](NO	3) YY	٠/٣١	۹۳/۵۵	۳١/١٩	۱۳۸	۰/۳۵
	۳۷	۰/۲۵	۹۶/۳۳	۲۷/۵۵		
[Pd(DACH)(OX)]	۲۷	•/۵٨	۳۸/۰۹	۲۵/۱۹	118	• /٣
	٣٧	•/۵V	44/94	22/96		

^a غلظت لیگاند در نقطه میانی انتقال ^d میزان توانایی کمپلکس فلزی برای غیرطبیعی کردن DNA ^c پایداری ساختار DNA در عدم حضور کمپلکس فلزی ^b گرمای لازم جهت غیرطبیعی شدن DNA در عدم حضور کمپلکس فلزی ^e انتروپی حاصل از غیرطبیعی شدن DNA توسط کمپلکس فلزی

ب) پایداری حرارتی ct-DNA

آزمایش غیرطبیعی شدن DNA بر اثر دما اطلاعاتی درباره پایداری ساختار مارپیچ DNA در غیاب و حضور کمپلکسها فراهم می کند. نقطه میانی ناحیه انتقال در منحنی غیرطبیعی شدن DNA بر اثر افزایش دما، Tm نام دارد. این مقدار برای DNA در غیاب کمپلکس ۷۶ درجه سانتی گراد است. با اضافه کردن محلول کمپلکس به DNA، مقدار Tm برای کمپلکس اضافه کردن محلول کمپلکس به DNA، مقدار Tm برای کمپلکس درجه سانتی گراد به Pd(DACH)(IsopentyIgly)] به ترتیب ۶۹ و ۵۲ درجه سانتی گراد به دست آمد (شکل ۳–۳۳).



شکل ۳۳-۳۳: منحنی ذوب ct-DNA در ۲۶۰ نانومتر در غیاب و حضور کمپلکسهای الف) (Pd(DACH)(OX)] و ب) [Pd(DACH)(Isopentylgly)].

اختلاف دمای ذوب بین سیستم کمپلکس-DNA و DNA تنها، ΔTm نام دارد. ΔTm برای کمپلکس (NO3)[Pd(DACH)(IsopentyIgly)] و [Pd(DACH)(OX)] به ترتیب ۷- و ۲۴- درجه سانتی گراد میباشد (جدول ۳–۱۹) را ببینید. احتمال میرود به دلیل وجود گروه ایزوپنتیل در کمپلکس (NO3)[NO3)(IsopentyIgly)] پیوند هیدروفوبی در قسمت شیاری DNA به وجود آید و این برهم کنش باعث ناپایداری ساختار DNA و کاهش مقدار Tm نسبت به DNA تنها شود [۱۱۹]. به علت وجود لیگاند O و O دهنده اگزالات در کمپلکس اگزالیپالادیوم؛ احتمال میرود این کمپلکس آبکافت شده و از طریق جایگزینی لیگاند اگزالات با ۲۸ گوانین در ساختار DNA، پیوند کوالانسی بین این کمپلکس و DNA ایجاد میشود [۱۲۰]. پیوند کوالانسی ایجاد شده باعث انحراف ساختاری و ناپایداری مارپیچ DNA شده و در اثر این انحراف ساختاری پیوند بین جفت بازها در قسمتی از ساختار DNA از یون رفته و دمای ذوب به طور قابل توجهی کاهش یابد [۱۲۹].

Compound	^a r	${}^{b}T_{m}({}^{\circ}C)$	^c ΔT _m ±1 °C		
ct-DNA	-	٧۶	_		
[Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO ₃)-DNA	٣/٨	۶٩	-γ		
[Pd(DACH)(OX)]-DNA	٨/٢	۵۲	-74		
	^a نسبت مولی [DNA]/[DNA]				

جدولT-۱۹: مقادیر Tm و ΔTm برای ترکیب افزایشی کمپلکسهای پالادیوم با DNA و DNA تنها.

^b دمای ذوب DNA در حضور و غیاب b

اختلاف دمای ذوب بین ترکیب افزایشی DNA-کمیلکس و DNA تنها $^{
m C}$

ج) مطالعه تيتراسيون ct-DNA با كمپلكسهای پالاديوم به كمک طيف سنجی جذبی

در این آزمایش غلظت ثابتی از DNA (۰/۰۱۸ mM) با غلظتهای متفاوت کمیلکسها (mM Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO₃) و (۰-۰/۲۵ mM) و (۰-۰/۲۵ mM) و [Pd(DACH)(OX)]، تیتر گردید و تغییرات جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر در ناحیه ۴۰۰–۲۰۰ ثبت شد. همان طور که در شکل ۳-۳۴ مشاهده می شود. با افزایش کمپلکس های پالادیوم به محلول DNA شدت جذب افزایش می یابد. میزان افزایش جذب متناسب با قدرت پیوند کمیلکس با DNA می باشد. درصد افزایش جذب با توجه به رابطه (H%=Afree- Abound/Afree) محاسبه می شود [۹۱]، که در آن و Abound به ترتیب جذب محلول DNA تنها و جذب محلول کمپلکس-DNA، در طول موج ۲۶۰ نانومتر است. این شاخص برای اگزالی پالادیوم و کمپلکس ایزوینتیل گلایسین پالادیوم به ترتیب ۹۹ و ٪۵۳ به دست آمد. اگزالی پالادیوم به دلیل برهم کنش کووالانسی با DNA باعث تغییر ساختار دوم DNA می شود و در نتیجه بازهای DNA به سمت خارج از سطح مارپیچ DNA بازآرایی داشته و جذب افزایش می یابد [۱۲۲]. وجود گروههای هیدوژن دهنده NH– و NH₂– در کمیلکس Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO₃)] امکان پیوند هیدوروژنی بین این کمپلکس و گروههای پذیرنده پیوند هیدوژنی در شیار DNA را فراهم میکند [۱۲۳]. این پیوند موجب کشیده شدن و واپیچش مارپیچ DNA شده و بازهای پورین و پیریمیدن بیشتر در معرض نور قرار گرفته که در نتیجه آن جذب افزایش می یابد [۱۲۴].



شکل ۳-۳۴: طیف UV محلول DNA ضمن افزایش مقادیر معینی از کمپلکسهای الف) (Pd(DACH)(OX)] و ب) [Pd(DACH)(Isopentylgly)].

بر اساس این فرضیه که یک نوع برهم کنش بین کمپلکسهای پالادیوم و DNA در محلول آبی وجود داشته باشد، میتوان رابطه DNA \Leftrightarrow Com : DNA \Leftrightarrow Com : DNA را نوشت. ثابت پیوند برای این واکنش با توجه به فرمول [Com][DNA]/[DNA] \Leftrightarrow Com : $DNA \Leftrightarrow$ Com : $DNA \Leftrightarrow$ Com [Dva math cond for the form of the form of



[Pd(DACH)(OX)] (و ب) [Pd(DACH)(Isopentylgly)](NO₃)

د) مطالعه سینتیک برهمکنش کمپلکسهای پالادیوم با DNA

در این آزمایش، سینتیک واکنش بین کمپلکس و DNA در طول موج بیشینه سیستم (کمپلکس پالادیوم-DNA) که ۲۶۰ نانومتر است، بررسی میشود. همان طور که در شکل ۳-۳۶ نمایش داده شده میزان جذب برای هر دو کمپلکس در ابتدا افزایش یافته که میتواند مربوط به تغییرات در ساختار مارپیچ دو رشتهای DNA باشد. کمپلکس (NO₃)[(Isopentylgly)(Isopentylgly) و اگزالیپالادیوم می-توانند از طریق پیوند شیاری و کووالانسی به DNA متصل شوند. به طور معمول پیوندهایی که در خارج از مارپیچ Adv رخ میدهند، مانند پیوند شیاری و کووالانسی باعث افزایش جذب میشوند [۱۲۴].



شکل ۳-۳۶: نمودار سینتیک برهمکنش DNA در حضور کمپلکسهای الف) ۶/۵ (Pd(DACH)(Isopentylgly) و ب) [Pd(DACH)(OX)] با نسبتهای [Pd(DACH)(Isopentylgly] و ۱۶/۴.

بررسی سینتیک این کمپلکسها با گذشت زمان، کاهش جذب را نشان میدهد که پیشنهاد میشود به دلیل انقباض محور مارپیچ DNA و تغییر ساختار آن باشد [۱۲۵]. پس از مدت زمان ۱۰ و Pd(DACH)(Isopentylgly)] و [Pd(DACH)(Isopentylgly]] و [Pd(DACH)(OX)] تغییرات جذب ثابت میشود؛ بنابراین این زمانها را میتوان به عنوان زمان نگهداری برای این سیستمها در نظر گرفت [۵۷].

۲-۲-۴ مطالعه برهمکنش کمپلکسهای فلزی با ct-DNA به کمک طیف سنجی فلوئورسانس

الف) بررسی تغییرات شدت فلوئورسانس EB-DNA با افزایش کمپلکسهای پالادیوم

ابتدا با افزایش اتیدیوم برمید (۲ میکرومولار) به DNA (۶۰ میکرومولار) افزایش شدت فلوئورسانس اتیدیوم مشاهده شد. سپس غلظتهای متفاوتی از هر یک از کمپلکسهای فلزی EtBr-DNA(Isopentylgly] و Pd(DACH)(OX)] و Pd(DACH)(Isopentylgly] به محلول محتوی EtBr-DNA در تریس بافر که دارای ۱۰ میلی مولار NaCl است، افزوده شد. در این مرحله شدت فلوئورسانس NaCl کاهش یافت (شکل ۳–۳۷).



شکل ۳-۳۷: طیفهای نشر فلوئورسانس برای برهم کنش EB-DNA در عدم حضور (نقطه چین) و حضور غلظتهای متفاوت کمپلکسهای الف) (NO3)[Pd(DACH)(OX)] و ب) [Pd(DACH)[OX].

کاهش تدریجی نشر EB-DNA در اثر افزودن کمپلکس NO₃[Pd(DACH)(Isopentylgly)]NO₃ احتمال برهم کنش شیاری را تقویت می کند که می تواند به دلیل وجود گروه هیدرو کربنی ایزو پنتیل در ساختار کمپلکس باشد [۲۶]. با اضافه کردن اگزالی پالادیوم، نشر EB-DNA کاهش چشمگیری می یابد. احتمال دارد این کاهش در شدت نشر به دلیل کوئور دینه شدن اگزالی پالادیوم به اتم N7 گوانین و آدنین DNA باشد که باعث انحراف قابل توجه در ساختار MO شده که به دنبال آن مکان پیوندی و آدنین EB-DNA شده که به دنبال آن مکان پیوندی و آدنین ENA کاهش یافته و تجمع EB آزاد در محیط آبی باعث فرایند خاموشی می شود [۱۲۷].

ب) محاسبه ثابت پیوند و تعداد مکانهای اتصال با استفاده از رابطه استرن-ولمر

با توجه به رابطه استرن-ولمر ([Q] = $1 + K_{g\tau_0}$ [Q] = $1 + K_{g\tau_0}$ (Q] در برابر غلظتهای مختلف کمپلکس های پالادیوم رسم شد. در شکل ۳–۳۸ نشان داده شده که این نمودار برای کمپلکس NO₃ (ثابت و شیب این منحنی برابر K_{sv} (ثابت استرن-ولمر) است و مقدار آن M^{-1} (Isopentylgly) کاملا خطی است و شیب این منحنی برابر رابر استرن-ولمر) است و مقدار آن M^{-1} (آبت خاموشد. نمودار خطی استرن-ولمر نشان میدهد تنها یک فرایند خاموشی باعث کاهش شدت نشر می شود. با محاسبه مقدار k_q (ثابت خاموشی بیوماکرومولکول) $M^{-1}S^{-1}$ (شار $M^{-1}S^{-1}$) می شود که خاموشی استاتیک باعث کاهش شدت نشر فلوئورسانس اتیدیوم-DNA می شود.



شکل ۳–۳۸: منحنی استرن-ولمر کمپلکسهای الف) (NO₃) (Pd(DACH)(Isopentylgly] و ب) [Pd(DACH)(OX].

ثابت پیوندی و تعداد محلهای پیوند در برهم کنش دارو و DNA استفاده از رابطه ثابت پیوندی و تعداد محلهای پیوند در برهم کنش دارو و A محاسبه شد (شکل ۳– – $\log (F_0 - F)/F = \log K_b + n \log[Q]_t$ (شکل ۳– (شکل ۳) را ببینید. با توجه به اینکه ثابت پیوند به دست آمده کمتر از پیوندهای اینترکلیت شیاری است، احتمال پیوند شیاری تقویت می شود.



شکل ۳–۳۹: منحنی تغییرات (F₀ - F/F) در برابر [Com]log کمپلکس [Pd(DACH)(Isopentylgly].
و [com]، غلظتی از کمپلکس است که میتواند شدت نشر تا ۵۰ درصد کاهش دهد μΜ ۵۵ تعیین گردید [۱۲۸]. با جایگزینی این مقدارها درمعادله فوق *K_{app}* برای اگزالیپالادیوم ^{۱۰} ۲/۶×۳/۶ به دست آمد که نشان دهنده پیوند قوی کمپلکس به DNA است.



شكل ۳-۴۰: منحنى تغييرات log (F₀/F₀ - F) در برابر [Od(DACH)(OX) كمپلكس [Pd(DACH)(OX].

CD - ۲-۳- مطالعه طيف CD و بررسی تغيير ساختار DNA در حضور کمپلکس

با بررسی طیف های CD میتوان به تغییرات ساختار DNA با افزایش کمپلکس فلزی پی برد. طیف CD محلول ۱۲۰ میکرومولار Ct-DNA که فرم طبیعی B-DNA را تأیید می کند. به همین محلول DNA، غلظتهای متفاوت کمپلکس اضافه شد و طیف CD آنها در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد ثبت گردید (شکل ۳–۴۱). کاهش در شدت و جابجایی نوار ۲۶۵ نانومتر و کاهش شدت نوار ۲۴۷ نانومتر در این طیف ها نشان دهنده تغییر فرم ساختار B-DNA به CD است [۲۲۹]؛ اما در (شکل ۳–۴۱ الف) که مربوط به ترکیب MO3[(Jopentylgly)] می باشد، کاهش نوار اول بیشتر مشهود الف) که مربوط به ترکیب DN3[(Jopentylgly)] می باشد، کاهش نوار اول بیشتر مشهود است. یعنی با واپیچش زنجیر DNA جفت شدن و زاویه بین جفت بازها و شکل هلیکس DNA دست کوش تغییرات بیشتری شده است. از طرفی، بیشترین گرمای آزاد شده در تغییر صورتبندی DNA دست (1⁻¹) DNA در بر هم کنش با مشاهدات در طیف CD همراستا می باشند و بیانگر تفاوت نوع پیوند این دو کمپلکس با DNA می باشد.



شکل ۳–۴۱: طیفهای DNA ،CD (μM) ۲۰۰ در غیاب و حضور کمپلکسهای الف) (NO₃), r=[com]/[DNA]، [Pd(DACH)(Isopentylgly)] (NO₃) به ترتیب ۰، ۱/۵، ۱/۰/ و ۱۹/۲ و ۲/۲ و ۱۹/۲ و ۲/۲ . (DNA] با نسبتهای Pd(DACH)(OX)]

۳-۲-۶- نتایج حاصل از روش شبیه سازی اتصال مولکولی

با استفاده از روش شبیه سازی اتصال مولکولی، انرژی اتصال در برخی از درجهبندی خوشهها در جدول ۳-۲۰ گردآوری شده است. به علت نزدیک بودن مقادیر انرژی پیوندی درجه خوشه ۴ برای ⁺²[Pd(DACH)(OH₂)₂] و درجه یک برای ⁺[Pd(DACH)(Isopentylgly)] انتخاب شد. همان طور که در شکل ۳-۲۲ مشاهده میشود هر دو کمپلکس در شیار کوچک DNA قرار میگیرند. برای نشان دادن پیوند کوالانسی باید از روش مکانیک کوانتومی مولکولی استفاده کرد و نمایش آن با شبیه سازی اتصال مولکولی امکان پذیر نیست. کمپلکس ⁺[(yd(DACH)(Isopentylgly)] و پیوند هیدروژنی با (OP₂) تیمین ۱۹) و(OP₄) تیمین ۱۷) ایجاد میکند. مکان پیوندی ⁺²[2(2)(OH₂)(OH₂)] توسط پیوند هیدروژنی بین لیگاند HO(DACH) و (۰₆O، سیتوزین ۹) پایدار میشود (شکل ۳–۴۳). مقادیر ترمودینامیکی در جدول ۳-۲۱ نشان میدهد انرژی پیوندی برای کمپلکس ⁺[(Isopentylgly)(Isopentylgly] منفیتر از اگزالیپالادیوم میباشد در نتیجه تمایل پیوندی بیشتری با DNA دارد؛ لازم به ذکر است این دادهها با نتایج تجربی مطابقت دارند.

13123		6, , 9									
[Pd(DACH)(Isopentylgly)] ⁺											
Cluster rank	Lowest Dock energy	Run	Mean Dock energy	Number of run in a cluster							
1	-Y/۶ ۱	١١٩	- <i>۶</i> /۸۷	۳۱							
2	-۶/۹۴)))	- ۶ /۷۸	۱۵							
3	- % / \%	189	- % / %	87							
4	- ۶ /۷۷	١٨٥	- % /۵۸	٩							
5	- % /V۵	۵۰	-8/88	۲۷							
	[]	Pd(DACH)(OH	2)2] ²⁺	•							
1	-ν/۱۵	87	-V/1W	۲۷							
2	_V/ • ₩	۱۹۳	-V/1 Y	٣٢							
3	- % /٩٩	٣٠	- ۶ /۹۷	٢٢							
4	- % /٩٨	۱۹۹	- % /9۵	۵۵							
5	-%/9۲	14.	<i>_</i> ۶/۸۹	٢٢							

جدول ۳-۲۰: انرژی شبیه سازی اتصال مولکولی (kcal/mol) برای دو کمپلکس فلزی پالادیوم.

جدول ۳-۲۱: پارامترهای ترمودینامیکی برای دو کمپلکس فلزی پالادیوم.

Thermodynamic parameters (kcal/mol)	[Pd(DACH)(isopentylgly)] ⁺	[Pd(DACH)(OH ₂) ₂] ²⁺
Estimated Free Binding Energy	-V/ <i>F</i> 1	- % /٩٨
Estimated Inhibition Constant(nM), Ki	۲/۶۳	۷/۶۴
Final Intermolecular Energy	-A/Y 1	-Υ/Δλ
vdW + Hbond + desolv Energy	-V/ \ \ ^w	-7/97
Electrostatic Energy	- \ / • A	-۴/۶۱
Torsional Free Energy	• / • ۶	• / ۶ •
Unbound System's Energy	- • / • Δ	٠/•٩



شکل ۳–۴۲: جایگاه اتصال دارای منفیترین انرژی اتصال کمپلکسها با (DNA(453 D کمپلکسهای الف) [Pd(DACH)(OH₂)₂]²⁺ ب) +[Pd(DACH)(IsopentyIgly].



شکل ۳–۴۳: شمای دیگر از محل اتصال کمپلکسها با DNA الف) ⁺[Pd(DACH)(Isopentylgly)، ب) Pd(DACH)(OH₂)₂]²⁺]

بخش سوم

سومین سری از ترکیباتی که مورد بحث قرار میگیرد، اگزالیپلاتین با فرمول کلی [Pt(DACH)(OX)] (Pt(DACH = N، N – ۲۰، – دی آمین سیکلوهگزان و OX = اگزالات) و چهار کمپلکس با فرمول کلی NO₃[Pt(DACH)(OX)] (Pt(DACH = متیل، بوتیل، ایزوپنتیل و ترشیوپنتیل گلایسین) میباشند. سنتز و شناسایی [Pt(DACH)(OX)] قبلا صورت گرفته [۱۳۰] و مابقی در این بخش بررسی می شوند. مطالعات اثر سمیت این ترکیبات در دانشکده بیوشیمی دانشگاه خوارزمی در آنها نیز در این بخش شرح داده میشوند.

۳-۳- شناسایی، مطالعات اثر سمیت و برهم کنش کمپلکسهای پلاتین ما DNA

۳–۳–۱– شناسایی لیگاند ترشیوپنتیل گلایسین هیدروکلرید و کمپلکسهای پلاتین متیل، بوتیل، ایزوپنتیل و ترشیو پنتیل گلایسین

الف) رسانایی سنجی

رسانایی الکتریکی کمپلکسهای سنتز شده در آب دوبار تقطیر با غلظت مشخص، اندازه گیری و رسانایی مولی (λ) آن محاسبه شد. دادههای مربوط به رسانایی الکتریکی این کمپلکسها در جدول ۳-۲۲ جمع آوری شده است.

كمپلكس	رسانايى	غلظت كمپلكس	رسانایی آب	رسانایی مولی
	كمپلكس	(mol/L)	مقطر	$(cm^2.ohm^{-1}.mol^{-1})$
[Pt(DACH)(methylgly)]NO ₃	۱۸/۲۵	1×1•-4	٣/٧۵	118
[Pt(DACH)(butylgly)]NO ₃	۱۸/۹	1×1• ^{-۴}	۳/۷۵	171
[Pt(DACH)(isopentylgly)]NO ₃	۱۹/۸	۱×۱۰ ^{-۴}	۳/۷۵	١٢٨
[Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO ₃	۱٩/٢	۱×۱۰ ^{-۴}	٣/٧۵	١٢٣

جدول ۳-۲۲: داده های مربوط به رسانایی الکتریکی کمپلکسهای پلاتین سری مشتقات اسیدآمینه.

همانطوری که در جدول ۳-۱ مشاهده می شود، نتایج، نشان می دهد رسانایی مولی کمپلکس های سنتز شده با رسانایی مولی کمپلکس های الکترولیت ۱:۱ هم خوانی دارد [۹۶].

ب) طيف جذب الكتروني (UV-Vis Spectrum)

طیف جذبی کمپلکسهای پلاتین سنتز شده (با غلظت ^۳-۱۰ مولار) در شکل ۳-۴۴ نشان داده شده است.



شكل ٣٤-٣٤؛ طيف جذب الكترونى كمپلكسهاى الف) NO₃(methylgly]، ب) Pt(DACH)(tertiopentylgly)]NO₃(ع د) [Pt(DACH)(butylgly]]NO₃].

در طیف جذبی این کمپلکسها تنها یک نوار جذبی در ناحیه ۲۰۰ تا ۲۱۰ نانومتر مشاهده میشود که مربوط به انتقال درون لیگاندی میباشد. در این کمپلکسها، لیگاند آلیفاتیک به کار رفته است، بنابراین؛ هیچ گونه انتقالات فلز به لیگاند یا لیگاند به فلز، در ناحیه ۲۵۰ تا ۴۰۰ نانومتر مشاهده نمیشود [۱۱۶]. طول موج جذب های بیشینه (λ_{max}) و ضرایب خاموشی مولی (٤٨) نوار جذبی این طیف ها در جدول ۳–۲۲ ارائه شده است.

ل ۱۱-۱۱: داده های طیف جدبی کمپککسهای پلاتین.	جدور
--	------

Band maxima in nm (λ_{max})							
Compound	Band I						
[Pt(DACH)(methylgly)]NO ₃	$7 \cdot \Delta (1\Delta/F)^a$						
[Pt(DACH)(butylgly)]NO ₃	۲۰۵ (۱۹/۳)						
[Pt(DACH)(isopentylgly)]NO ₃	۲۰۵ (۱۱/۵)						
[Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO ₃	۲۰۵ (۱۸/۲)						

شریب خاموشی (3) در داخل پرانتز بر حسب cm^{-1} cm گزارش شده است.

ج) طيف زير قرمز

در طیف IR مشتقات اسیدآمینه به فرکانسهای خاصی توجه می شود که محدوده آنها در جدول ۳-۳۲ برای لیگاند تر شیوپنتیل گلایسین هیدروکلرید و ترکیبات مشابه لیست شده است [۱۳۱]. طیف زیر قرمز مربوط به این لیگاند در شکل ۳-۴۵ الف نشان داده شده است.

گلايسين	ترشيوپنتيل	رمز ليگاند	ں زیر ق	ر طيف	م همهم	عاملى	گروەھاى	كششى	ئانسھاى	۳-۲۴: فرک	جدول
				شابه.	بات م	و ترکي	در و کلرید	ھي			

			3 3 3 3			
تركيب	ν(O-H)	ν(N-H)	v(C=O)	δ(N-H)	ν(C-H)	v(C-O)
_	كششى		كششى	خمشى	آليفاتيک	كششى
Tert-	344.	2972	1777	1880	5900	۱۳۹۸
pentylglycine.						
HCl						
مشتقات اسيد	****-***	۳۰۰۰-۲۷۰۰	14014	18410	۳۰۰۰	14
آمينه	(بسيار پهن)					17
[۸۸، ۱۳۱و۱۳۲]						

طیف IR کمپلکسهای پلاتین این سری نیز در محیط KBr و محدوده ۲۰۰۰-۴۰۰ ثبت

شدند (شکلهای ۳–۴۵، ب-ه را ببینید). فرکانسهای ارتعاشی و کششی مهم در طیف این ترکیبات در جدول ۳–۲۵ گردآوری شده است.

Complex	v(N-H)	v(C-H)	v(C=O)	v(NO ₃) ⁻	v(Pt-N)
[Pt(DACH)(methylgly)]NO ₃	۳۰۹۸	2941	1051	1368	۵۷۲
[Pt(DACH)(butylgly)]NO ₃	8198	۲۹۳۵	18	۱۳۸۲	۵۷۲
[Pt(DACH)(isopentylgly)]NO ₃	۳۱۹۹	۲۹۳۵	109.	1881	۵۷۲
[Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO ₃	87	۲۹۳۵	1094	1886	694

جدول ۳-۲۵: فرکانس کششی برخی گروههای عاملی مهم در کمپلکسهای پلاتین مشتقات اسید آمینه.



شکل۳-۴۵؛ طیفهای زیر قرمز الف) لیگاند Tert-pentylglycine.HCl، کمپلکسهای ب) Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ ; ج) Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ (و ه) Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃].

در طیف IR لیگاند ترشیوپنتیل گلایسین هیدروکلرید، یک نوار تیز در ناحیه ^۱- ۱۷۲۷ مشاهده میشود که به ارتعاش کششی گروه غیر کئوردینه شده ⁻COO نسبت داده میشود (ترشیوپنتیل گلایسین به شکل هیدروکلرید جامد است). همین نوار در طیف کمپلکسهای مربوطه در ناحیه ^۱- cm ۱۵۹۴ ظاهر شده است که نشان دهنده کوئوردینه شدن گروه ⁻COO– به فلز مرکزی میباشد. کاهش در فرکانس کششی گروه کربونیل لیگاند به دلیل کوئوردینه شدن لیگاند به فلز است، زیرا در اثر کیلیت شدن دودندانه لیگاند به فلز، مرتبه پیوند کربونیل در گروه ⁻COO کاهش مییابد [۲۱]. در همگی طیفها نوار ظاهر شده در ناحیه ^۱- ۵۶۰ مربوط به ۲۰۵ کاهش مییابد [۲۱]. همچنین نوار^{۱-} ۱۳۸۲ میارد از میشان در قروم نیترات با تقارن موان این کمپلکسها نشانه یون همراه گروه نیترات با تقارن م

د) طیف رزونانس مغناطیسی هسته

طیف HNMR^۱ نمونهها در حلال DMSO-d₆ و با بکارگیری TMS به عنوان استاندارد داخلی ثبت شد. طیف مربوط به لیگاند ترشیوپنتیلگلایسین در شکل ۳–۴۶ نشان داده شده است. رزونانس پروتون های این ترکیب و دادههای طیفی آن در جدول ۳–۲۶ و به شرح زیر گزارش می شود.

در طیف HNMR^۱ لیگاند ترشیوپنتیل گلایسین (شکل ۳–۴۶) نوارهای چندتایی در ۱/۱، ۱/۱ و ۲/۶ ppm ۲/۶ به ترتیب مربوط به هیدروژنهای a، b و b که در ساختار پیشنهادی، که در شکل ۳–۴۷ نشان داده شده است، میباشند. هیدروژنهای cooH و b که در ساختار پیشنهادی، که در شکل ۳–۴۷ میدان بالاتر و به صورت چندتایی در ۲/۹ ppm و هیدروژنهای مربوط به گروه NH در ناحیه ۲/۹ pm ظاهر شدهاند [۱۳۳] نتایج طیفی لیگاندهایی با طول زنجیر متفاوت متیل، بوتیل و ایزوپنتیل گلایسین) قبلا گزارش شده اند [۱۳۱].

				-	• • • •
تعداد هيدروژن	6 H _a	4 H _b	H _d	2 H _c	H _e
δ ppm ^a	١/١	۱/۲	۲/۶	۲/۹	۴/۱
^b شکافتگی	m	m	m	m	m
$J (Hz)^{c}$	-	-	-	-	-
		(01 .	1 1 1 . 6	S	

جدول ۳-۲۶: دادههای طیف H-NMR^۱ لیگاند Tert-pentylglycine.HCl.

^a جابجایی شیمیایی δ (Chemical shift) بر حسب ppm

^b شکافتگی (multiplet) m

Hz ابت جفت شدن (Coupling constant) الرحسب (J



شکل ۳-۴۶: طیف H NMR^۱ لیگاند Tert-pentylglycine.HCl.



شکل ۳-۴۷: ساختار پیشنهادی برای لیگاند Tert-pentylglycine.HCl.

در طیف H-NMR¹ کمپلکس Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (شکل۳-۴۸)، شش هیدروژن

H_a در حلقه سیکلو هگزان به صورت نوارهای چندتایی در جابجایی شیمیایی ۱/۱ ppm ظاهر شدهاند. نوارهای چندتایی در ۱/۴ و ۱/۸ ppm به ترتیب مربوط به هیدروژنهای d و c میباشند که در ساختار پیشنهادی در شکل۳–۴۹ نشان داده شدهاند. هیدروژنهای مربوط به گروه NH در منطقه ۴/۳ pp هیدروژنهای گروه NH₂ در حلقه سیکلوهگزان در ناحیه ۵/۱ تا ۶/۲ ظاهر شدهاند. نتایج دادههای طیف رزونانس پروتونهای این ترکیب در جدول۳–۲۷ ارائه شده است. همچنین تعداد هیدروژنهای کمپلکس با انتگرال سطح زیر نوارها و ساختار پیشنهادی کمپلکس مطابقت دارد.



شکل ۳–۴۸: طیف H NMR¹ کمپلکس Pt(DACH)(methylgly)]NO₃.

	0	° U «			0	. (0
تعداد هيدروژن	6 H _a	4 H _b	3 H _c	2 H _d	H _e	$4 H_{f}$
δ ppm ^a	١/١	۱/۴	۱/۸	٢	۴/۳	۵/۱-۶/۲
^b شكافتگى	m	m	m	m	m	m
$J (Hz)^{c}$	-	-	-	-	-	-

جدول ۳-۲۷: دادههای طیف H-NMR¹ کمیلکس NO₃[(Pt(DACH)(methylgly].

ppm بر حسب (Chemical shift) δ جابجایی شیمیایی δ

^b شکافتگی (multiplet) m

Hz برحسب (J) (Coupling constant) برحسب $^{\circ}$



شکل ۳-۴۹: ساختار پیشنهادی کمپلکس Pt(DACH)(methylgly)]NO₃.

طیف HNMR¹ کمپلکس NO₃[(butylgly)]NO₃ در شکل ۳–۵۰ نشان داده می شود. سه هیدروژن گروه متیل در لیگاند بوتیل گلایسین و دو هیدروژن محوری حلقه سیکلو هگزان (H_a) به صورت نوار چندتایی در جابجایی شیمیایی ۱ ppm ۱ مشاهده شدهاند.

نوارهای چندتایی در ۱/۵، ۱/۹ و ۱/۹ ppm به ترتیب مربوط به هیدروژن های c ، b و b میباشد که در ساختار پیشنهادی در شکل۳–۵۱ نشان داده شده اند. هیدروژنهای He در نزدیکی گروه NH2 قرار دارد و در جابجایی شیمیایی ۲/۱ ppm ظاهر میشوند. هیدروژنهای f به دلیل قرار گرفتن بین گروههای N-H و NOA در میدان بالاتر و به صورت چندتایی در mpm مشاهده میشوند. هیدروژنهای مربوط به گروه NH در منطقه ۳/۹ ppm و هیدروژنهای گروه NH2 در حلقه سیکلوهگزان در mpd ۵/۵ ظاهر شدهاند. نتایج دادههای طیف رزونانس پروتونهای این ترکیب در جدول۳–۲۸ ارائه شده است. همچنین تعداد هیدروژنهای کمپلکس با انتگرال سطح زیر نوارها مطابقت دارند.







جدول ۳-۲۸: دادههای طیف H-NMR¹ کمپلکس Pt(DACH)(butylgly)]NO₃.

L			» ر		. 0		. (0	
تعداد هيدروژن	5 H a	4 H b	4 H c	4 H d	2 H e	$2 H_{\rm f}$	H g	$4 H_h$
δ ppmª	١	١/١	۱/۵	١/٩	۲/۱	٣/٣	٣/٩	۵/۵
^b شکافتگی	m	m	m	m	m	m	m	m
$J (Hz)^{c}$	-	-	-	-	-	-	-	-

ppm بر حسب (Chemical shift) δ جابجایی شیمیایی a

^b شکافتگی (multiplet) m

Hz ابت جفت شدن (Coupling constant) ابر حسب (J



شکل ۳-۵۱: ساختار پیشنهادی برای کمپلکس NO₃[(butylgly].

طیف HNMR^۱ کمپلکس NO₃[NO₃] (HNMR¹ کمپلکس Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ در شکل ۳-۵۲ نشان داده شده است. شش هیدوروژن (H_a) گروه متیل به صورت نوار چندتایی در جابجایی شیمیای mpm ۱ ظاهر شدهاند. نوارهای چندتایی در ۱/۱، ۱/۴، ۱/۴ و mp ۸/۱ به ترتیب مربوط به هیدروژنهای d، a، b و است که در ساختار پیشنهادی در شکل۳-۵۳ مشخص شدهاند. هیدروژنهای f به دلیل قرار گرفتن بین گروههای H-N و COOH به صورت چندتایی در mpm ۲/۲ مشاهده میشوند. هیدروژن مربوط به گروه NH در منطقه mpm ۲/۹۸ به صورت چندتایی و هیدروژنهای گروه NH₂ در حلقه سیکلوهگزان در ناحیه ۳/۵ تا mpm در جدول۳-۹۲ ارائه شده است. همچنین تعداد هیدروژنهای کمپلکس با انتگرال سطح زیر این ترکیب در جدول۳-۲۹ ارائه شده است. همچنین تعداد هیدروژنهای کمپلکس با انتگرال سطح زیر نوارها مطابقت داشتند.



• • • • • •

	sopency	-8- <u>7</u> /]. (ىچىكىش در	~ 11 1 (1)1	عيت ٢٠	500000	۵,۰۰	-
تعداد هيدروژن	6 H _a	3 H _b	4 H _c	4 H _d	4 H e	$4 H_{\rm f}$	H g	4 H h
δ ppm ^a	١	١/١	۱/۴	۱/۶	١/٨	۲/۲	۲/۸	8/2-2/3
^b شکافتگی	m	m	m	m	m	m	m	m
$J (Hz)^{c}$	-	-	-	-	-	-	-	-
					(01 .	1 1 . C		

جدول ٣-٢٩: دادههاي طيف H-NMR¹ كميلكس [Pt(DACH)(isopentylgly].

ppm بر حسب (Chemical shift) δ جابجایی شیمیایی δ

^b شکافتگی (multiplet) m

Hz برحسب (J) (Coupling constant) برحسب (J) برحسب



شکل ۳-۵۳: ساختار پیشنهادی برای کمپلکس Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃.

طیف ¹HNMR کمپلکس NO₃[(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ در شکل ۳-۵۴ نشان داده شده است. سه هیدروژن گروه متیل و دو هیدروژن محوری حلقه سیکلو هگزان (H_a) به صورت نوارهای چندتایی در جابجایی شیمیایی ۰/۹۳ ppm خاهر شدهاند.

نوارهای چندتایی در ۱/۱، ۱/۴ و ۱/۸ ppm مربوط به هیدروژن های b، c و b است که در ساختار پیشنهادی در شکل۳–۵۵ نشان داده شده اند. همچنین هیدروژنهای H_e و گروه NH در ناحیه ۲ ppm ۲ ظاهر شدهاند. نوار چندتایی مشاهده شده در ppm ۵/۲ مربوط به هیدروژنهای گروه NH₂ در حلقه سیکلوهگزان میباشد. نتایج دادههای طیف رزونانس پروتونهای این ترکیب در جدول۳– ۱۹۰۰ ارائه شده است. همچنین تعداد هیدروژنهای کمپلکس با انتگرال سطح زیر نوارها مطابقت دارند.



شکل ۳-۴۵: طیف H NMR¹ کمپلکس [Pt(DACH)(tert-pentylgly].

جدول ۳-۳۰: دادههای طیف H-NMR¹ کمپلکس Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃.

Ċ	تعداد هيدروژر	5 H a	4 H _b	8 H c	4 H _d		3 H e	$4 H_{\rm f}$
	δ ppmª	۰/۹۳	١/١	۱/۴	١/٨		٢	۵/۲
	^b شکافتگی	m	m	m	m		m	m
	$J (Hz)^{c}$	-	-	-	-		-	-

ppm بر حسب (Chemical shift) δ جابجایی شیمیایی a

m (multiplet) شکافتگی^b

Hz ابت جفت شدن (Coupling constant) الرحسب (J) (Coupling constant) الم



شکل ۳-۵۵: ساختار پیشنهادی برای کمپلکس NO₃[Pt(DACH)(tertiopentylgly].

HCT116 تعیین سمیت کمپلکسها علیه سلولهای سرطان روده

برای مطالعه سمیت کمپلکسهای پلاتین با مشتقات اسیدهای آمینه و [Pt(DACH)(OX)]، غلطتهای متفاوتی از این ترکیبات (۲۰ تا ۱۲۰۰ میکرومولار) با سلولهای سرطانی روده از نوع HCT116 در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. مقادیر Cc₅₀ یا غلظتی از ترکیبات که ایجاد ٪۵۰ سمیت یا مرگ و میر در سلولها میکنند، با استفاده از روش MTT محاسبه شده و نتایج برای کمپلکس های(II) در (شکل ۳–۵۶) و (جدول ۳–۳۱) ارائه شده است. مقادیر Cc50 در جدول ۳۱–۳۳ نشان میدهد کمپلکس (NO3)[Pt(DACH)(Isopentylgly)] در غلظت کمتری نسبت به کمپلکسهای دیگر موجب مهار فعالیت، رشد و تکثیر سلولهای HCT116 می شود.

Complexes	Cc ₅₀ (µM) (after 24 h)				
[Pt(DACH)(Methylgly)](NO ₃)	۹۱۰				
[Pt(DACH)(Butylgly)](NO ₃)	٨٨٠				
[Pt(DACH)(Isopentylgly)](NO ₃)	۶۵۰				
[Pt(DACH)(Tret-pentylgly)](NO ₃)	17				
Oxaliplatin	11				





شکل ۳-۵۶: مهار رشد و تکثیر سلولهای سرطان روده انسانی توسط کمپلکسهای پلاتین.

ct-DNA مطالعات برهم کنش کمپلکسهای پلاتین با

برهم کنش چهار کمپلکس سری مشتقات اسید آمینه و اگزالی پلاتین با DNA در محیط تریس بافر حاوی ۱۰ میلی مولار سدیم کلرید و PH = ۷/۴ در دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد به کمک روشهای مختلف طیف سنجی مطالعه شد. محلول مادر کمپلکس اگزالی پلاتین با غلظت ۲ میلی مولار و کمپلکسهای پلاتین سری مشتقات اسید آمینه با غلظت ۱ میلی مولار تهیه شدند. محلول مادر DNA با غلظت ۰/۰۸ میلی مولار در محیط بافر تهیه و در یخچال نگهداری شد. طول موج بیشینه برای کمپلکسهای سنتز شده ۲۰۵ نانومتر در نظر گرفته شد.

الف) غير طبيعي شدن DNA به كمك طيف سنجي UV-Vis

بررسی غیرطبیعی شدن DNA با افزایش کمپلکسهای فلزی سنتز شده نشان داد در حضور غلظتهای متفاوت از کمپلکسهای پلاتین، ساختار DNA غیرطبیعی میشود. در این آزمایش اختلاف جذب در طول موجهای ۲۵۸ و ۶۴۰ نانومتر، که در ضریب رقت، ضرب شده با نام A یادداشت شد. منحنیهای غیرطبیعی شدن در دو دما ترسیم و در شکل ۳–۵۶ ارائه شده است. همگی آنها سیگموئیدی صعودی هستند. غلظت لیگاند در نقطه میانی انتقال (21[L]) مربوط به غیرطبیعی شدن DNA در حضور این کمپلکسها بجز اگزالیپلاتین با افزایش دما کاهش می یابد (جدول ۳–۳۲) زیرا افزایش دما به فرایند غیر طبیعی شدن AD در حضور کمپلکس کمک می کند؛ علاوه بر آن عدم وابستگی دمایی برهم کنش اگزالیپلاتین با ND در حضور کمپلکس کمک می کند؛ علاوه بر آن عدم مشتق اسید آمینه گلایسین قادرند ADA را نشان میدهد. تمام کمپلکسهای سنتز شده با توان انتظار داشت اگر این کمپلکس به عنوان داروی ضدسرطان استفاده شود، اثرات جانبی کمتری به توان انتظار داشت اگر این کمپلکس به عنوان داروی ضدسرطان استفاده شود، اثرات جانبی کمتری به دنبال خواهد داشت.



شکل ۳-۵۷: نمودار غیرطبیعی شدن DNA در حضور کمپلکسهای الف) [Pt(DACH)(OX)، ب) و Pt(DACH)(isopentylgly)]NO3، د) Pt(DACH)(butylgly)]NO3، (pt(DACH)(methylgly)]NO3، ه) Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO3، در دو دمای ۲۲ و ۵۲ ۳۲.

complexes	Temperaur e (° C)	^a L _{1/2} (mM)	^b m (kJmol)(mM)	^c ΔG°(H2O) (kJ mol ⁻¹)	^d ΔH°(H2O) (kJ mol ⁻ ¹)	$^{e}\Delta S^{o}_{(H2O)}$ (kJ mol ⁻¹ K ⁻¹)
Oxaliplatin	۲۷	۰/۵۴	41/124	٣•/٩	۸۰/۵۳	•/18
	۳۷	۰/۵۴	۴۸/۸۱	۲٩/٣	-	
[Pt(DACH)(methylgly)]	۲۷	٠/۴٧	147/1	۷۰/۳	۳۷۵/۹	۱/• ۱
1103	٣٧	۰/۴۵	۱۲۶/۳	۶۰/۱	-	
[Pt(DACH)(butylgly)]	۲۷	•/47	۱ • ۸/۲	41/2	۲۹۵/۲	•/٨
1103	۳۷	٠/۴	۱۰۰/۴	۴۳/۷	-	
[Pt(DACH)(isopentylgly	۲۷	٠/٢	۱ ۷۶/۸	۴./۷	۳۳۴/۸	٠/٩
)]1403	٣٧	٠/١٩	181/4	366/2	-	
[Pt(DACH)(tert-	۲۷	•/44	٨٣/٣	۳٧/٩	۵۳۵/۹	۱/۶
pentyigiy)jinO3	٣٧	•/47	۳۷/۸	۲ ۱/۲	-	

جدول ۳-۳۲: پارامترهای ترمودینامیکی غیر طبیعی شدن DNA توسط کمپلکسهای پلاتین در دو دمای ۲۷ و C° ۳۷

^a غلظت لیگاند در نقطه میانی انتقال

^bمیزان توانایی کمپلکس فلزی برای غیرطبیعی کردن DNA

ی پایداری ساختار DNA در عدم حضور کمپلکس فلزی $^{\rm c}$

^d گرمای لازم جهت غیرطبیعی شدن DNA در عدم حضور کمپلکس فلزی

^e انتروپی حاصل از غیرطبیعی شدن DNA توسط کمپلکس فلزی

Pace پارامترهای ترمودینامیکی پروسه غیر طبیعی شدن DNA توسط دارو، با بکارگیری روش Pace [۵۷] و منحنی غیر طبیعی شدن، در دو دمای مذکور بدست آمد. منحنی ΔG^ο در برابر t] در هر دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتیگراد در شکل ۳–۵۸ نشان داده شده است.

در تمام این نمودارها، با افزایش غلظت کمپلکس، انرژی آزاد گیبس ΔG° کاهش مییابد. به این دلیل که با افزایش غلظت کمپلکس، اشغال جایگاههای پیوندی و اتصال کمپلکس به DNA بیشتر می شود و موجب تغییر ساختار و کاهش پایداری DNA می گردد. این تغییرات با افزایش دما تشدید می شود چرا که افزایش دما موجب کاهش پایداری بیوماکرومولکول می شود. با تعیین معادله خط برای هر نمودار، عرض از مبدأ این منحنیها که بیانگر پایداری DNA در عدم حضور کمپلکس است هر نمان می درد. این تغییرات با افزایش دما تشدید می شود و موجب تغییر ساختار و کاهش پایداری بیوماکرومولکول می شود. با تعیین معادله خط برای هر نمودار، عرض از مبدأ این منحنیها که بیانگر پایداری بیوماکرومولکول می شود. با تعیین معادله مع برای هر نمودار، عرض از مبدأ این منحنیها که بیانگر پایداری بیشتر DNA در عدم حضور کمپلکس است ($\Delta G^{\circ}_{(H20)}$)، به دست می آید. مثبت تر بودن این پارامتر، پایداری بیشتر DNA را در سیستم نشان می دهد و انتظار می رود با افزایش دما این انرژی کاهش می یابد [۱۰۵].



شکل ۳-۵۸: نمودار تغییرات انرژی آزاد گیبس (ΔG[°]) در برابر ا[L] مربوط به برهم کنش DNA با کمپلکسهای الف) [Pt(DACH)(butylgly]، ب) Pt(DACH)(methylgly]]، ج) [Pt(DACH)(OX)]، د) الف) [Pt(DACH)(isopentylgly] و ۵) Pt(DACH)[tert-pentylgly]] در دو دمای ۲۷ و C[°] ۳۷.

شیب این نمودارها، ۳۸، حساسیت فرایند غیرطبیعی شدن به نوع کمپلکس را نشان میدهد. که مقدار آن برای کمپلکسهای NO₃[Pt(DACH)(isopentylgly]]NO₃، Pt(DACH)(methylgly]]NO₃، Pt(DACH)(methylgly]]NO₃ (Pt(DACH)(butylgly]]NO₃] Pt(DACH)(tert-pentylgly]]NO₃] به ترتیب کاهش می یابد. گرمای لازم جهت غیرطبیعی شدن DNA (enaturation ΔH^{0} یا notaturation یا طلاع معدوده دمایی ۲۷ تا ۳۷ درجه سانتی گراد با برون یابی نمودار ΔH^{0} در مقابل غلظت کل کمپلکس تا غلظت صفر کمپلکس به دست آمد که نتیجه بسیار مهمی در فرایند غیرطبیعی شدن ANA محسوب می شود. نمودارهای تغییرات آنتالپی غیر طبیعی شدن DNA توسط این ترکیبات در شکل ۳–۵۹ نشان داده شده اند.



شکل ۳-۵۹: نمودار تغییرات آنتالپی کانفورماسیون DNA در برابر [L] مربوط به غیرطبیعی شدن DNA در حضور کمپلکسهای الف) [Pt(DACH)(OX)]، ب) NO₃ (Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ ج) Pt(DACH)(tert- د) [Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ و ۱۹۹۵)[Pt(DACH)(tert- و ۲۵)]NO₃ pentylgly]NO₃ در محدوده دمای ۲۷ تا ۲۰ ۳۷.

در این نمودارها تغییرات آنتالپی سیستمهای complex-DNA برای کمپلکسهای پلاتین از مشتقات اسید آمینه نزولی و تنها برای اگزالیپلاتین صعودی مشاهده شد. گرماده بودن برهم کنش کمپلکسهای سنتز شده با DNA حاکی از تغییر ساختار DNA و یا شاید تکه شدن قطعات DNA از محمل اتصال کمپلکس میباشد. این در حالی است که اتصال اگزالیپلاتین که به صورت کووالانس همراه با تشکیل پیوند صورت می گیرد گرماگیر مشاهده شده است. همچنین مقادیر مثبت آنتروپی (۵۲) کمپلکسهای پلاتین از مشتقات گلایسین نسبت به اگزالیپلاتین این نتایج را تأیید می کند.

ب) پایداری حرارتی ct-DNA

تغییرات جذب DNA بر اثر دما اطلاعاتی درباره چگونگی پیوند DNA با یک ترکیب مشخص را فراهم می کند. با افزایش دما پیوندهای هیدروژنی و برهم کنش بین جفت بازها در رشته DNA ناپایدار می شوند. نقطه میانی ناحیه انتقال در منحنی غیرطبیعی شدن DNA بر اثر افزایش دما، T_m نام دارد. این مقدار برای DNA درغیاب کمپلکس ۷۶ درجه سانتی گراد است. با اضافه کردن محلول کمپلکسهای پلاتین به DNA، مقدار T_m کاهش می یابد. این تغییرات در شکل ۳-۵۹ نماش داده شده و مقادیر به دست آمده در جدول ۳-۳۳ گردآوری شدهاند. اگزالی پلاتین با ایجاد پیوند کوالانسی باعث انحراف ساختاری و ناپایداری مارپیچ DNA شده و در اثر این انحراف ساختاری پیوند بین جفت بازها در قسمتی از ساختار DNA از بین رفته و دمای ذوب به طور قابل توجهی کاهش یابد [۱۲۱و۱۲۱]. همان طور که در شکل ۳–۵۹ مشاهده می شود، منحنی دمای انتقال ترکیب افزایشی اگزالی پلاتین-DNA پس از غیرطبیعی شدن، کاهش جذب را نشان میدهد. این پدیده می تواند به دلیل متراکم شدن DNA تک رشتهای بر اثر پیوند اگزالی پلاتین با تک رشته DNA رخ دهد [۱۳۴]. کمپلکسهای پلاتین سنتز شده از خانواده گلایسین باعث می شوند دمای ذوب DNA به طور چشمگیری کاهش یابد. این کمپلکس ها دارای بار مثبت هستند و می توانند از طریق پیوند الکترواستاتیک باعث آشفتگی ساختار DNA شوند، همچنین به دلیل وجود گروههای آبگریز در بخش هیدروکربنی در ساختار این کمپلکسها، برهمکنش

هیدروفوبی بین شیارهای DNA و کمپلکسها افزایش مییابد که نتیجه آن تغییر پایداری جفت بازهای گوانین-سیتوزین و آدنین-تیمین و کاهش دمای ذوب DNA میباشد [۱۳۵]. ساختار کمپلکس، اندازه و ممانعت فضایی زنجیرههای هیدروکربنی باعث تفاوت در ناپایداری ایجاد شده در ساختار DNA میشوند.



شکل ۳-۶۰ منحنی ذوب ct-DNA در ۲۶۰ نانومتر در غیاب و حضور کمپلکس های الف) [Pt(DACH)(OX)]، ب) Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (ی) Pt(DACH)(butylgly]، د) Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (و م) Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ (و م) Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ (

Compound	^a r	^b T _m (°C)	$^{c}\Delta T_{m}\pm 1 \ ^{\circ}C$
ct-DNA	-	٧۶	-
[Pt(DACH)(OX)]-DNA	۱۰/۶	۶۷	_٩
[Pt(DACH)(methylgly)]NO3-DNA	١٢	۵٨	- \ \
[Pt(DACH)(butylgly)]NO3-DNA	९/९٣	۶۲	-14
[Pt(DACH)(isopentylgly)]NO ₃ -DNA	۴/۶	54	-17
[Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO ₃ -DNA	٩	۶۵	-11

جدولT–۳۳: مقادیر $T_{
m m}$ و $\Delta T_{
m m}$ برای ترکیب افزایشی کمپلکسهای پلاتین با DNA و DNA تنها.

^a نسبت مولی [DNA]/[com]

^b دمای ذوب DNA در حضور و غیاب DNA ^b

اختلاف دمای ذوب بین ترکیب افزایشی DNA-کمپلکس و DNA تنها $^{
m C}$

ج) مطالعه تیتراسیون ct-DNA با کمپلکسهای پلاتین به کمک طیف سنجی جذبی

در این آزمایش با ثابت نگه داشتن غلظت ANA و تغییر غلظت کمپلکس ها در ناحیه انتقال منحنی غیرطبیعی شدن باشد، تغییرات جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر در ناحیه ۴۰۰-۲۰۰ مورد بررسی قرار گرفت. همان طور که در شکل ۳–۶۱ مشاهده می شود با افزایش کمپلکس های پلاتین به محلول ANA شدت جذب افزایش می یابد. اگزالی پلاتین به دلیل برهم کنش کووالانسی با ANA باعث محلول ANA شدت جذب افزایش می یابد. اگزالی پلاتین به دلیل برهم کنش کووالانسی با ANA باعث بغییر فرم ANA شدت جذب افزایش می یابد. اگزالی پلاتین به دلیل برهم کنش کووالانسی با ANA باعث بغییر فرم ANA شدت جذب افزایش می یابد. اگزالی پلاتین به دلیل برهم کنش کووالانسی با ANA باعث بغییر فرم ANA می شود و در نتیجه بازهای ANA به سمت خارج از سطح مار پیچ ANA بازآرایی کرده و جذب افزایش می یابد [۲۲۱]. وجود گروههای هیدوژن دهنده ANA و و جذب افزایش می یابد [۲۲۱]. وجود گروههای هیدوژن دهنده ANA و و جذب افزایش می یابد [۲۲۱]. وجود گروههای هیدوژن دهنده ANA و و جذب افزایش می ای ANA را فراهم می کند و جذب افزایش می یابد [۲۲۱]. اتصالاتی که در سطح بیرونی ANA مانند شیارها رخ می دهد موجب می شود بازهای نیتروژنی کمپلکس های پلاتین امکان پیوند هیدوژنی با گروههای پذیرنده پیوند هیدوژنی در شیار ANA را فراهم می کند [۲۲۲]. اتصالاتی که در سطح بیرونی ANA ماند شیارها رخ می دهد موجب می شود بازهای نیتروژنی کمپلکس های پلاتین از طریق معادله 100 - 1/2 (K × a)/2 (K ×



شکل ۳-۶۱۰ طیف جذبی محلول DNA با افزایش مقادیر معینی از کمپلکسهای الف) [Pt(DACH)(OX)، ب) Pt(DACH)(butylgly]، ج) Pt(DACH)(methylgly]، د) (Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ (و ه) Pt(DACH)(tert-pentylgly]]NO₃



شكل ٣-۶٢: نمودار (A -A₀) برحسب غلطت [com]/ براى كمپلكس هاى الف) [Pt(DACH)(OX)] و Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (ی Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ (ه)[Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (ه)

Compound	$K(M^{-1})$
[Pt(DACH)(OX)]	۳/٩×۱۰
[Pt(DACH)(methylgly)]NO ₃	۲/۷×۱۰ ^۳
[Pt(DACH)(butylgly)]NO ₃	۰/۴۳×۱۰ ^۳
[Pt(DACH)(isopentylgly)]NO ₃	۳/۴×۱۰۳
[Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO ₃	۲/ ۸ ×۱۰ ^۳

جدول۳–۳۴: مقادیر ثابت پیوندی برای ترکیب افزایشی کمپلکسهای پلاتین با DNA.

د) مطالعه سینتیک برهم کنش کمپلکسهای پلاتین با DNA

در این آزمایش، سینتیک واکنش DNA با کمپلکس فلزی در طول موج ۲۶۰ نانومتر بررسی شد. غلظت کمپلکس و DNA به گونهای انتخاب شد که مقدار [DNA]/[DN3]/[DN4]، r=[com]/[DN2])، [Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ (Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (Pt(DACH)(OX)]، [Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ و ۱۱ در نظر گرفته شد.



شکل ۳-۶۳: تغییرات جذب بر حسب زمان در برهم کنش DNA در حضور کمپلکسهای الف) Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ (ب) [Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (), د) Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ () و ه) [Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃

همانطور که در شکل ۳–۶۳ نمایش داده شده میزان جذب برای هر دو کمپلکس در ابتدا افزایش یافته که میتواند مربوط به پیوند شیاری و کووالانسی کمپلکسها به DNA باشد [۱۲۴]. بررسی سینتیک این کمپلکسها با گذشت زمان، کاهش جذب را نشان میدهد که میتواند به تغییر ساختار DNA مربوط باشد [۱۲۵] و با افزایش طول گروه هیدروکربنی و برهمکنش هیدروفوبی کمپلکس با DNA میزان جذب بیشتر کاهش مییابد.

۳-۳-۴- مطالعه برهمکنش کمپلکسهای فلزی با ct-DNA به کمک طیفسنجی فلوئورسانس

الف) بررسی تغییرات شدت فلوئورسانس EB-DNA با افزایش کمپلکسهای پلاتین

ابتدا با افزایش اتیدیوم برومید (۲ میکرومولار) به DNA (۶۰ میکرومولار) افزایش شدت فلوئورسانس اتیدیوم مشاهده شد. سپس غلظتهای متفاوتی از هر یک از کمپلکسهای فلزی به محلول محتوی EtBr-DNA در تریس بافر افزوده شد. در این مرحله شدت فلوئورسانس EtBr-DNA به طور تدریجی کاهش یافت که احتمال برهمکنش شیاری را تقویت میکند [۱۲۶]. روند تغییرات شدت فلوئورسانس اتیدیوم-DNA با افزایش هر یک از کمپلکس ها فوق در شکل ۳–۶۴ نشان داده شده است. باید اشاره کرد که آبکافت اکزالیپلاتین در محیط آزمایشگاهی^۱ به کندی صورت گرفته و احتمال پیوند شیاری با DNA بیشتر از برهمکنش کوالانسی شده در نتیجه کاهش شدت نشر فلوئورسانس ناچیز میباشد (شکل ۳–۶۴ الف را ببینید) [۱۳۶].



شکل ۳-۶۴: طیفهای نشری برای برهم کنش EB-DNA در عدم حضور (نقطه چین) و حضور غلظتهای متفاوت کمپلکسهای الف) [Pt(DACH)(OX)]، ب) NO₃[Pt(DACH)(methylgly]]، ج) [Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ د) Pt(DACH)(tert- و ه) [Pt(DACH)(tert-و ه) pentylgly]]NO₃ ای Putylgly]]NO₃

ب) محاسبه ثابت پیوند و تعداد مکانهای اتصال با استفاده از رابطه استرن-ولمر

Fo/F با توجه به رابطه استرن-ولمر ($[Q] = 1 + K_{g}\tau_0 [Q] = 1 + K_{sv}[Q]$) و رسم نمودارهای Fo/F با توجه به رابط استرن-ولمر این برهم کنشها و k_q به دست آمد (شکل در برابر غلظتهای مختلف کمپلکس K_{sv} یا ثابت استرن-ولمر این برهم کنشها و k_q به دست آمد (شکل $-\infty$ -70). با توجه به نتایج در جدول ۳–۳۵ هر ینج کمپلکس خاموشی استاتیک دارند.



شکل ۳-۶۵: منحنی استرن-ولمر کمپلکسهای الف) [Pt(DACH)(OX)]، ب) و Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (ی Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ (ه) ه) Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃].

از کمپلکسهای دیگر مشاهده شد که با سایر نتایج همخوانی دارد.





جدول۳-۳۵: ثابت استرن-ولمر (Ksv)، ثابت پیوندی (Kb)، ثابت خاموشی (kq) و تعداد مکانهای اتصال

دمپلکسهای پلایین(n).								
complex	K _{sv} ×10 ³ (M ⁻¹)	$k_q \times 10^{11}$ (M ⁻¹ S ⁻¹)	R ²	n	<i>K_b</i> ×10 ³ (M ⁻¹)	R ²		
Oxaliplatin	١/٧	١/٧	•/٩٩	١	٣/٣	•/٩٩		
[Pt(DACH)(methylgly)]NO ₃	٢	٢	•/٩٩	١/١	Δ/Λ	٠/٩٩		
[Pt(DACH)(butylgly)]NO3	١/٩	١/٩	•/٩٩	١	٢	•/९९		
[Pt(DACH)(isopentylgly)]NO ₃	۲/٣	۲/٣	•/٩٩	١	4/4	•/९९		
[Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO ₃	١/٨	١/٨	•/९९	١	٣/١	•/९९		

CD -۵-۳-۳ مطالعه طیف CD و بررسی تغییر ساختار DNA در حضور کمپلکس

طیف دورنگ نمایی دورانی روشی مناسب برای تعیین تغییرات ساختار DNA است و به کوچکترین تغییرات ساختاری DNA که بر اثر اتصال مولکول های کوچک ایجاد می شود حساس می باشد. به محلول ۱۲۰ میکرومولار DNA غلظتهای مختلف از هر یک از کمیلکس ها اضافه شد و طیف دورنگ نمایی دورانی آنها در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد ثبت گردید (شکل ۳–۶۷). در اثر افزایش اگزالی پلاتین به DNA، کاهش در نوار مثبت و منفی DNA مشاهده می شود (شکل ۳–۶۷ الف). این تغییرات به علت پیوند کوالانسی اگزالی پلاتین به DNA است که باعث واییچش و خم شدن مارییچ DNA به سمت شیار اصلی می شود [۱۳۷]. کمپلکس های سنتز شده با مشتقات اسید آمینه گلایسین دارای بار مثبت هستند و می توانند با DNA برهم کنش الکترواستاتیک داشته باشند و به دنبال آن پیوند شیاری رخ دهد. این برهم کنش ها باعث آشفتگی در جفت بازها و تغییر زاویه پیچش DNA می شود. این تغییرات ارتباط نزدیکی با ساختار کمپلکس دارد. وجود گروه کوچک متیل گلایسین در کمپلکس Pt(DACH)(methylgly)]NO3]، ممانعت فضایی کمی را ایجاد کرده و برهم کنش موثر این کمپلکس با DNA و تبديل فرم B-DNA به C-DNA سبب مى شود. اين پديده در افزايش كمپلكس Pt(DACH)(isopentylgly)]NO3 نيز مشاهده شد. با افزايش طول زنجيره هيدروكربني، خصلت هیدروفوبی کمپلکس افزایش یافته و با افزایش برهم کنش هیدروفوبی با DNA پایداری جفت بازهای DNA دستخوش تغییر می شود. به طوری که برهم کنش کمپلکس Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ با DNA موجب بهوجود آمدن فرم Z-DNA می شود و با افزایش غلظت کمپلکس شدت نوار منفی و مثبت فرم B-DNA تغییر جهت می کند. در مورد کمیلکس Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ مشاهده می شود که در غلظت یا پین تغییر فرم B-DNA به C-DNA رخ داده و با افزایش غلظت به دلیل تشکیل شکل رسوبی و یا کیسوله شدن کمپلکس در کلوئید DNA تغییرات قابل توجه و متفاوتی در شدت نوارها مشاهده می شود؛ این آشفتگی در ساختار DNA با بزرگتر بودن مقدار آنتروپی این کمپلکس هماهنگی دارد. به طور کلی مشاهده میشود که طول، ممانعت فضایی و ساختار هندسی زنجیره هیدروکربنی بر نحوه پیوند کمپلکس با DNA بسیار تأثیرگذار است.



شکل ۳-۶۷: طیفهای DNA ،CD (MM) (OX) در غیاب و حضور کمپلکسهای الف) [Pt(DACH)(OX)، ب) و Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ د) Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ (ه) ه) Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ در دمای محیط.

۳-۳-۶- نتایج حاصل از روش شبیه سازی اتصال مولکولی

با استفاده از روش شبیه سازی اتصال مولکولی، انرژی اتصال در برخی از درجهبندی خوشهها در جدول ۳-۳۶ گردآوری شده است. همانطور که در شکل ۳-۶۸ مشاهده میشود همگی کمپلکسها در شیار کوچک DNA قرار می گیرند. اگزالیپلاتین ۲ پیوند هیدروژنی با تیمن۷ و ۱۹ برقرار می کند. کمپلکس پلاتین با مشتق متیل گلایسین، بوتیل، ایزوپنتیل و ترشیو پنتیل به ترتیب ۴، ۳، ۲و ۴ پیوند هیدروژنی با بازهای DNA دارد (شکل ۳–۶۹). مقادیر ترمودینامیکی در جدول ۳–۳۷ نشان میدهد انرژی پیوندی برای کمپلکسهای پلاتین به ترتیب زیر کاهش مییابند.

$[Pt(DACH)(isopentylgly)]NO_{3} > [Pt(DACH)(tert - pentylgly)]NO_{3} > [Pt(DACH)(butylgly)]NO_{3} > [Pt(DACH)(methylgly)]NO_{3} > [Pt(DACH)(OX)]$

كمپلكس كاتيوني +[Pt(DACH)(Isopentylgly)] منفى ترين انرژى پيوند را دارد در نتيجه تمايل

پیوندی بیشتری با DNA دارد؛ لازم به ذکر است این دادهها با نتایج تجربی مطابقت خوبی دارند.

[Pt(DACH)(OX)]									
Cluster rank	Lowest Dock energy	Run	Mean Dock energy	Number of run in a cluster					
1	-9/11	180	-٩/١ •	۱۵۵					
2	- ٩/ • ٣	٧٧	_٩/•٣	۴۵					
	[P	rt(DACH)(methyl	gly)]+						
1	- \ • /۶Y	٧٧	- \ • / ۶ Y	٩۴					
2	-1 • /88	٩٧	- \ • /۶۶	١٠۵					
3	-٨/۵٩	٣۴	_λ/Δ٩	١					
	[Pt(DACH)(Buthylgly)] ⁺								
1	-11/88	١٨٩	-11/84	174					
2	- \ \/ \.	٩١	-11/84	۴۸					
3	-11/79	۵۳	-11/84	۶					
4	-11/84	۶٩	-11/84	١					
	[Pt	(DACH)(Isopenty	vlgly)] ⁺						
1	-17/77	٨٢	$-1T/\Delta V$	۴۸					
2	- <i>\</i> ۲/۶λ	176	-18/20	۶۱					
3	-17/88	١٧١	-17/49	١٣					
4	-17/8•	٨	-17/80	١					
[Pt(DACH)(Tert-pentylgly)] ⁺									
1	-11/98	١١٩	-۱۱/۸۹	١٣٧					
2	- 1 1/YA	١٩٨	- \ \/Y •	۵۷					
3	_٩/•۵	۵	-9/•۴	٣					
4	$-\lambda/\lambda T$	104	_λ/λ۶	١					

جدول ۳-۳۶: انرژی شبیه سازی اتصال مولکولی (kcal/mol) برای کمپلکسهای فلزی پلاتین.

Thermodynamic parameters (kcal/mol)					
[Pt(DACH)(O)	X)]				
Estimated Free Binding Energy	-9/11				
Estimated Inhibition Constant(nM), Ki	۲۲۱۰/۳۵				
Final Intermolecular Energy	-) • /• •				
vdW + Hbond + desolv Energy	-V/T I				
Electrostatic Energy	-T/۶٩				
Torsional Free Energy	+ • / Å ٩				
Unbound System's Energy	+ • / • •				
[Pt(DACH)(methy	vlgly)] ⁺				
Estimated Free Binding Energy	- \ • /&V				
Estimated Inhibition Constant(nM), Ki	۱۵/۰۸				
Final Intermolecular Energy	- 1 1/ΔΥ				
vdW + Hbond + desolv Energy	_V/۴۹				
Electrostatic Energy	Ψ/·λ				
Torsional Free Energy	+•/ \ ٩				
Unbound System's Energy	•/••				
[Pt(DACH)(Buthy	'lgly)] ⁺				
Estimated Free Binding Energy	- 1 1/AA				
Estimated Inhibition Constant(nM), Ki	١/٩۶				
Final Intermolecular Energy	- 17/77				
vdW + Hbond + desolv Energy	$-\lambda/\lambda\Delta$				
Electrostatic Energy	- ٣ /٩٣				
Torsional Free Energy	•//				
Unbound System's Energy	-•/۲۴				
[Pt(DACH)(Isopen	ylgly)]+				
Estimated Free Binding Energy	-) ۲/۷۲				
Estimated Inhibition Constant(nM), Ki	411/18				
Final Intermolecular Energy	- 1 ٣/۶٢				
vdW + Hbond + desolv Energy	- Y/Y ٩				
Electrostatic Energy	- \ • /\\\"				
Torsional Free Energy	+ • / Å ٩				
Unbound System's Energy	+•/• ۴				
[Pt(DACH)(Tert-pentylgly)] ⁺					
Estimated Free Binding Energy	-11/98				
Estimated Inhibition Constant(nM), Ki	1/88				
Final Intermolecular Energy	- 1 Y/XY				
vdW + Hbond + desolv Energy	-λ/Υ۶				
Electrostatic Energy	-۴/۱۱				
Torsional Free Energy	+ • / Å ٩				
Unbound System's Energy	- • / Y •				

	فلزى پلاتين.	كمپلكسهاى	امیکی برای آ	ی ترمودین	۳: پارامترها	جدول ۳-۷
--	--------------	-----------	--------------	-----------	--------------	----------



شکل ۳-۶۸: جایگاه اتصال با منفیترین انرژی اتصال کمپلکس الف) [Pt(DACH)(OX)، ب) (pt(DACH)(butylgly)]NO₃ ج) Pt(DACH)(butylgly)]NO₃)، د) (DNA(453 D) و ۵) Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃ با (DNA(453 D))







شكل ٣-۶٩: شماى ديگر از محل اتصال كمپلكس ها با DNA الف) [Pt(DACH)(OX)]، ب) و Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (ی Pt(DACH)(butylgly)]NO₃ (ه) ه) Pt(DACH)(tert-pentylgly)]NO₃].
فصل چهارم

جمعبندی و پیشنهادات

۴-۱- جمع بندی

علم داروشناسی جدید در زمینه درمان سرطان بر میزان فهم عملکرد داروهایی که با پروتئین یا DNA پیوند میشوند، استوار بوده و فعالیت این داروها را در ابعاد ژنی نیز بررسی میکند. تعدادی از داروهای ضدسرطان، از طریق برهم کنشهای مستقیم با DNA از گسترش سرطان جلوگیری می کنند. بنابراین مطالعات و تحقیقات وسیعی در زمینه برهم کنش دارو و DNA انجام شده است. در واقع داروهای ضد سرطان با DNA برهم کنش داده بطوری که DNA را از ساختار عادی خود خارج ساخته و در نتیجه فعالیت طبیعی آن مختل میشود. از انواع مختلفی داروهای آلی فلزی، آلی، معدنی و گیاهی در مبارزه با سرطان استفاده می شود. این داروها از طریق گروههای عاملی خود با DNA برهم کنش داشته و خواص ضد سرطانی را ظاهر میسازد. سردسته داروهای ضد سرطان معدنی، سیس پلاتین می باشد که در سال ۱۹۶۹ میلادی، توسط روزنبرگ و همکارانش کشف شد. از سیس پلاتین در درمان سرطانهای تخمدان، بیضه و سرو گردن استفاده می شود. این دارو دارای عوارض جانبی شدیدی از جمله مسمومیتهای کلیوی، تهوع و استفراغ است، که نتیجه حمله گروههای سولفیدریل موجود در پروتئينهاي جدار لولههاي نفرون كليهها به سيس پلاتين است. براي رفع اين مشكل سيس پلاتين، می توان کلرهای آن را با لیگاندهای دیگری جایگزین کرد تا کمپلکس در بدن آبکافت نشود. لیکن در بيست سال اخير تحقيقات وسيعى در زمينه مكانيسم مسموميت سيس پلاتين و رابطه بين ساختار و فعالیت دارو انجام شده است. این تحقیقات منجر به تهیه کمپلکسهایی با خواص ضد سرطانی بیشتر و سمیت کمتر شده است. کمپلکسهای زیادی با تغییر لیگاندهای نیتروژن دهنده و ترک کننده سیس پلاتین، سنتز و شناسایی شدهاند و از بین هزاران کمپلکس سنتز شده تنها دو نوع کمپلکس کربوپلاتین و اگزالی پلاتین به طور بالینی استفاده و تأیید قرار گرفتهاند. اگزالی پلاتین نسبت به تومورهای سرطانی مقاوم در برابر سیس پلاتین مانند بافت سرطانی روده بزرگ، مؤثر تر عمل می کند. با این وجود، به دلیل آبکافت گروه اگزالات در اگزالیپلاتین امکان اتصال این ترکیب به گروههای عاملی موجود در

پروتئینها مانند سولفورها و یا بافتهای سالم بدن، باعث بروز عوارض جانبی مانند تهوع و درد زیاد در بيماران می شود. اگر بتوان مسير آبکافت و عملکرد اگزالی پلاتين را تغيير داد انتظار می رود عوارض مصرف دارو به میزان قابل توجهی کاهش یابد. لذا با جایگزینی لیگاند دودندانه حلقه ساز به جای اگزالات، احتمال آزاد شدن لیگاند از حوزه کوئوردیناسیون کم و اتصال کمپلکس به DNA از مسیرهایی مانند اتصال شیاری یا جایگیری در میان بازهای DNA (اینترکلیشن) بیشتر می شود. بنابراین ما این امكان را با اتصال ليگاند ايميدازول-فنانتروليني به فلز فراهم كرديم. به تازگي، توسعه داروهاي جديد در مشتقات ایمیدازول اثر بهتر و سمیت کمتر را نشان میدهند. همچنین، ایمیدازول در ساختار بسیاری از مولکولهای زیستی مهم شرکت دارد که مهمترین آنها اسیدآمینه هیستیدین با یک زنجیره جانبی ایمیدازول است. بنابراین مشتقات ایمیدازولی برای بدن شناخته شده هستند و نکته مهم دیگر اینکه به دلیل تشکیل کیلیت با فلز مرکزی امکان آبکافت کاهش یافته و عوارض جانبی کمتری نیز خواهند داشت. اسیدهای آمینه از دیگر ترکیبات مهم بیولوژیکی هستند که میتوانند در این خصوص به کمک كمپلكس هاى فلزى با خواص ضد سرطاني بيايند. كوئوردينه شدن اين سرى ليگاندها يا مشتقات آنها به یون های پالادیوم و پلاتین، باعث افزایش نفوذ آنها از غشاء سلول و در نتیجه افزایش فعالیت بیولوژیکی آنها در درون سلول می شود چرا که اسیدهای آمینه برای غشاء سلولها شناخته شده اند بنابراین؛ با کوئوردینه شدن اسیدهای آمینه به یونهای فلزی عبور آنها از غشاء سلول تسهیل شده در نتیجه غلظت کمپلکس فلزی در درون سلول افزایش یافته و در نتیجه فعالیت دارویی آن نیز افزایش می یابد. نکته مهم دیگر اینکه به دلیل کیلیت شدن اسیدهای آمینه به مرکز فلزی، استخلاف آن با مولکول های بیولوژی کاهش مییابد و احتمال دارد به کاهش عوارض جانبی شود. نکته دیگر در طراحی دارو توجه به این موضوع میباشد که کلیه کمپلکسهای سنتز شده باردار بوده و حلالیت خوبی در آب دارند و می توانند مصرف خوراکی دارو را تسهیل بخشد، به خصوص اگر دارو جهت درمان بیماری های ناحیه گوارش باشد.

با اتخاذ تدابیر فوق، ما دو سری کمپلکس پالادیوم و پلاتین از مشتقات (IR =DACH، ۱۳، ۲۳، ۲۳-

۲،۱- دی آمین سیکلوهگزان) با لیگاندهای ایمیدازول-فنانترولینی و مشتقات اسید آمینه که دارای بخش هیدروکربنی متفاوتند، سنتز و شناسایی کردیم. این دو سری ترکیب، شامل دو کمپلکس ایمیدازول-فنانترولینی با یون مرکزی Pt(II) یا Pt(II)، یک کمپلکس مشتق گلایسین با یون مرکزی Pd(II) و چهار کمپلکس مشتق گلایسین با یون مرکزی Pd(II) و چهار کمپلکس مشتق گلایسین با یون مرکزی DNA و تایز سلولی (مطالعات اثر سمیت) و مولکولی (پیوند به DNA) و محاسبات نظری بررسی شدند و نتایج به دست آمده با ایرای و مولکولی (پیوند به می باشد. برهم کنش این ترکیبات با و نتایج به دست آمده با اگزالیپلاتین و اگزالیپالادیوم، که سنتز و شناسایی آنها در قبل انجام شده و نتایج به دست آمده با اگرالیپلاتین و اگرالیپالادیوم، که سنتز و شناسایی آنها در قبل انجام شده بود، مقایسه شد.

ابتدا میزان سمیت کمپلکسها در جهت مهار رشد سلول های سرطانی روده انسانی HCT116، بررسی شد و در مرحله بعد، نحوه بر هم کنش کمپلکسهای تهیه شده با DNA به طور وسیع به کمک روشهای مختلف طیف سنجی مورد مطالعه قرار گرفت.

شناسایی اولین دسته از ترکیبات 2(NO3) [(NO3) که در آن (H(DACH)(FIP) [(NO3) فانترولین و M= فلز (۲۰۱۰ - دی آمین سیکلوهگزان ، FIP=۲–(فوران ۲–ایل) ایمیدازو[(۲۰۱۰-][۵۰۴] فنانترولین و M= فلز پلاتین (II) یا پالادیوم (II) است) توسط آزمایشات تجزیه عنصری، رسانایی سنجی، طیف سنجی -UV پلاتین (II) یا پالادیوم (II) است) توسط آزمایشات تجزیه عنصری، رسانایی سنجی، طیف سنجی -UV تا R NMR و TR NMR و TR NMR ا انجام شد. نتایج آنالیز عنصری CHN این ترکیبات به مقادیر محاسباتی نزدیک pr IR Nis و TR NMR و TR NMR ا انجام شد. نتایج آنالیز عنصری CHN این ترکیبات به مقادیر محاسباتی نزدیک pr IR Nis و TR NMR و TN NMR ا انجام شد. نتایج آنالیز عنصری CHN این ترکیبات به مقادیر محاسباتی نزدیک بوده که خلوص بالای این کمپلکسها را نشان میدهد. نتایج رسانایی سنجی نیز مشخص کرد که میلکسها با رسانایی مولی (¹-Imo) مار د نشان میدهد. نتایج رسانایی سنجی نیز مشخص کرد که میپلکس ها با رسانایی مولی (¹-Imo) این ترکیب وجود دارد. طیف الکترونی کمپلکس پالادیوم با سه نوار در طول موجهای ۲۲۳، ۸۸۸ و ۲۹۱ نانومتر و طیف الکترونی کمپلکس پلاتین دو نوار در طول موجهای ۲۲۰ و ترکیب وجود دارد. طیف الکترونی کمپلکس پالادیوم با سه نوار در طول موجهای ۲۰۱۰ و ۲۹۲ نانومتر و طیف الکترونی کمپلکس پلاتین دو نوار در طول موجهای ۲۰۱۰ و ۲۸۵ می مربوط به انتقال بار فلز به لیگاند فنانترولین در هر دو کمپلکس میاشد. طیف زیر قرمز کمپلکسها در محیط KB و در ناحیه ۲۰۰۰ – ۴۰۰۰ شد. میشود. هر دو کمپلکس می باشد که در ناحیه ۲۵۰ – ۲۰۰ می شود.

به کمک این ارتعاش میتوان به کیلیت شدن لیگاند ایمیدازول-فنانترولین به فلز پی برد زیرا این نوار ^۱H-در کمپلکس نسبت به لیگاند آزاد به سمت فرکانسهای پایین تر جابجا شده است. طیف گیری -۱۹ NMR این کمپلکسها در حلال DMSO-d₆ بوده و TMS به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد که ساختار پیشنهادی را تأیید میکند.



M=Pt(II) or Pd(II)

شکل ۴-۱: ساختار پیشنهادی برای کمپلکسهای Pd(DACH)(FIP)](NO₃)₂ و [Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂]

با توجه به خواص ضد توموری کمپلکسهای مشابه اگزالیپلاتین بر علیه سرطان روده بزرگ، خواص ضد توموری این دو کمپلکس (شکل ۴–۱) روی سلولهای سرطان روده انسانی HCT116 انجام گردید. نتایج بیانگر کاهش قابل توجه رشد سلولهای سرطانی در اثر انکوبه شدن با کمپلکسهای فوق پس از ۲۴ ساعت بود. مقادیر (Cc50) یا غلظتی از ترکیبات که ایجاد ٪۵۰ سمیت یا مرگ ومیر در سلولها میکنند، نشان داد قدرت مهار کنندگی کمپلکس پلاتین (۸۰ میکرومولار) بیشتر از اگزالیپلاتین (۱۵۴ میکرومولار) میباشد. برهمکنش دو ترکیب فوق با Ct-DNA در محیط تریس بافر حاوی ۱۰ میلی مولار سدیم کلرید با ۲۴=۷۲ در دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتیگراد با زمان نگهداری

آزمایش **غیر طبیعی شدن DNA** در حضور کمپلکس ها نشان داد که کمپلکس های پلاتین و پالادیوم سری ایمیدازول-فنانترولینی میتوانند DNA را در غلظت های پایین (۸۰~ میلی مولار) غیرطبیعی کنند. مشاهده شد غلظت کمپلکس در نقطه میانی انتقال (1/2]) در فرایند غیرطبیعی شدن DNA با افزایش دما کاهش می یابند، زیرا افزایش دما به فرایند غیر طبیعی شدن DNA در آزمایش **پایداری حرارتی**، پیوند بین جفت بازهای مکمل در DNA از طریق پیوند هیدروژنی حاصل میشود. افزایش دما باعث از بین رفتن نیروهای پیوندی DNA و باز شدن دو رشته DNA میشود. در صورت وجود برهم کنش بین کمپلکس و DNA، Tm محلول complex-DNA نسبت به محلول DNA تنها دچار تغییر میشود. با توجه به بزرگی تغییر ایجاد شده میتوان نوع برهم کنش را پیش بینی کرد. مقدار ΔT_m برای کمپلکس $2(NO_3)[(NO_3)]$ و $2(NO_3)[(NO_3)]$ و Pt(DACH)(FIP)] و Pt(DACH)(FIP) و Pt(DACH) Pt(DACH) و Pt(DACH) Pt(D

با انجام آزمایش **تیتراسیون** (تیتراسیون کمپلکس با DNA) K (ثابت ظاهری پیوند کمپلکس با

DNA) تعیین شد. که این مقدار برای کمپلکس پلاتین (^۱-۱۰^۴ ۱۰^۸) بیشتر از کمپلکس پالادیم DNA) تعیین شد. که این مقدار برای کمپلکس پلاتین و DNA شدت جذب کمپلکس افزایش مییابد و (۱^{-۱} ۷۰^۴ ۱۰^۴) است. همچنین، با افزایش غلظت DNA شدت جذب کمپلکس افزایش مییابد و پیشنهاد میشود کمپلکس پلاتین از طریق اتصال شیاری و کمپلکس پالادیوم اتصال الکترواستاتیک و اینترکلیت جزیی با DNA دارد.

مطالعه سینتیک، چگونگی برهم کنش بین کمپلکس و DNA را با گذشت زمان بررسی می کند. در این آزمایش، سینتیک واکنش بین کمپلکس و DNA در طول موج بیشینه (complex-DNA) ثبت شد. در جذب ترکیب افزایشی (کمپلکس پلاتین-DNA) به طور کلی با گذشت زمان افزایش می یابد و نشان دهنده پیوند الکترواستاتیک و شیاری بین کمپلکس و DNA می باشد. کمپلکس Pd ابتدا از طریق برهمکنش الکترواستاتیک با DNA برهم کنش دارد چراکه جذب در ابتدا افزایش و سپس به دلیل ایجاد برهمکنش اینتر کلیشن جذب به تدریج کاهش می یابد.

آزمایش قدرت یونی، تأثیر قدرت یونی در پایداری محصول افزایشی کمپلکس-DNA توسط یک الکترولیت قوی مانند سدیم کلرید مورد مطالعه قرار می گیرد. افزایش غلظت +Na باعث رقابت این یون با کمپلکس فلزی برای پیوند با گروههای فسفات DNA می شود. تغییرات جذب با افزایش غلظت سدیم کلرید در طول موج بیشینه DNA در محلول کمپلکس-DNA ثبت شد. میزان جذب کمپلکس پالادیوم-DNA با افزایش غلظت سدیم کلرید کاهش می یابد در حالی که جذب کمپلکس پلاتین-DNA تغییر قابل توجهی نشان نمی دهد. با توجه به این نتایج می توان پیشنهاد داد؛ کمپلکس پالادیوم با DNA

فلوئورسانس یک روش بسیار قوی برای مطالعه ساختار و خصوصیات اتصالی مولکولهای پروتئین، DNA و RNA می باشد. شدت نشر فلوئورسانس یک ترکیب میتواند تحت تاثیر انواع برهم کنشها کاهش یابد. در این میان کاهش شدت فلوئورسانس EB-DNA از اهمیت خاصی برخوردار میباشد. روند تغییرات شدت فلوئورسانس EB-DNA در حضور غلظتهای متفاوت از هر یک از کمپلکس های فلزی پالادیوم و پلاتین نشان داد که این کمپلکس پالادیم نسبت به کمپلکس پلاتین قادر به کاهش شدت نشر بیشتر فلوئورسانس EB-DNA بوده و میتوانند اتصال اینترکلیت جزیی با DNA داشته باشند همچنین این کاهش نشر برای کمپلکس پالادیوم از طریق خاموشی استاتیک و دینامیک رخ میدهد و در کمپلکس پلاتین تنها خاموشی استاتیک منجر به کاهش نشر میشود. مقدار لایت استرن-ولمر) برای کمپلکس پلاتین (^۲-M⁻¹) بزرگتر از کمپلکس پالادیوم (^{۲-N} ۲۰⁺) میباشد و نشان دهنده برهم کنش مؤثرتر آن با DNA است. نمودار اسکاچارد کمپلکس پلاتین از نوع منحنی B-dy میباشد و اتصال شیاری کمپلکس با DNA را تایید میکند و کمپلکس پالادیوم نمودار اسکاچارد نوع (B)A را نشان میدهد که دلیلی بر برهم کنش دوگانه الکترواستاتیک و اینترکلیت جزیی با DNA میباشد.بررسی فلوئورسانس سه بعدی این کمپلکسها نشان میدهد شدت افزایش نشر کمپلکس پلاتین بر اثر افزایش غلظت DNA بیشتر از پالادیوم میباشد.

روش دورنگ نمایی دورانی (CD)، یک روش ایده آل برای مطالعه تغییر صورتبندی پروتئین، DNA و RNA ناشی از تغییر عواملی مثل pH، دما، اتصال و غیره می باشد. در طیف CD مربوط به -ct DNA دو نوار مثبت در ۲۵۵ نانومتر و منفی در ۲۴۷ نانومتر که به ترتیب مربوط به جفت شدن بازها و پیچش دو رشته در ساختار طبیعی CD در Ct- می باشند، مشخص شده است. با افزایش غلظتهای متفاوتی از کمپلکسهای پلاتین و پالادیوم، طیفهای CD ثبت و تغییرات ساختار مولکول DNA بررسی شد. نتایج نشان داد که اتصال کمپلکس پالادیوم به DNA باعث به وجود آمدن فرم ZD-DN بررسی حالی که کمپلکس پلاتین موجب تغییرات ناچیز در ساختار AD باعث به وجود آمدن فرم ZD-DN شده در این ترکیب می باشد. اختلاف طیف های CD این سیستم ها حاکی از متفاوت بودن نحوه عمل ترکیبات پالادیم نسبت به کمپلکس مشابه پلاتین در برهم کنش با DNA می باشد. این اختلاف در مطالعات فلوئورسانس برهم کنش های فوق نیز مشاهده شده بود.

شبیه سازی اتصال مولکولی و دینامیک مولکولی نشان میدهند کمپلکس پلاتین نسبت به

کمپلکس پالادیوم پیوند هیدروژنی بیشتری با DNA دارد و در نتیجه برهم کنش مؤثر تری نشان میدهد.

دومین سری از ترکیبات مورد مطالعه، کمپلکس پالادیوم از مشتقات اسیدآمینه گلایسین و اگزالیپالادیم است. شناسایی و سنتز اگزالیپالادیوم پیشتر توسط این گروه تحقیقاتی انجام شده است. کمپلکس پالادیوم (II) از مشتق ایزوپنتیل گلایسین (Isopentylgly) با فرمول کلی کمپلکس پالادیوم (II) از مشتق ایزوپنتیل گلایسین (Isopentylgly) با فرمول کلی NO₃ (مین سیکلوهگزان) NO₃ میباشد. سنتز و شناسایی، مطالعات اثر سمیت و برهم کنش این کمپلکس با NA در این رساله ارائه میباشد. سنتز و شناسایی مطالعات اثر سمیت و برهم کنش این کمپلکس با NA در این رساله ارائه میباشد. سنتز و شناسایی مطالعات اثر سمیت و برهم کنش این کمپلکس با NA در این رساله ارائه میباشد.

شناسایی ترکیب فوق توسط آزمایشات تجزیه عنصری، رسانایی سنجی، طیف سنجی Vis، UV-Vis، شناسایی ترکیبات به مقادیر محاسباتی آنها FT-IR و HNMR انجام شد. نتایج آنالیز عنصری CHN این ترکیبات به مقادیر محاسباتی آنها نزدیک بوده که خلوص بالای این کمپلکس را نشان میدهد. نتایج رسانایی سنجی نیز مشخص کرد که کمپلکس با رسانایی مولی (¹-Inon⁻¹-mol) ۹۶۲، برطبق جدول ۳-۱ الکترولیت ۱۰۱ هستند و گروه کمپلکس با رسانایی مولی (¹-Inon⁻¹-mol) ۹۶۲، برطبق جدول ۳-۱ الکترولیت ۱۰۱ هستند و گروه نیترات به صورت یون همراه در این ترکیب وجود دارد. طیف الکترونی این ترکیب تنها با یک نوار جذبی در ۵۰۲ نانومتر ثبت شد که مربوط به انتقالات درون لیگاندی می باشد. در این ترکیب تنها با یک نوار جذبی به کار رفته است، بنابراین هیچ گونه انتقالات درون لیگاند در ناحیه ۲۵۰۰ تا ۲۰۰۰ نانومتر دیده نمیشود. طیف زیر قرمز کمپلکس نیز در محیط Brom ۲۰۰۲ میاند در ناحیه ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۰ نانومتر دیده نمیشود. در این طیف زیر قرمز کمپلکس نیز در محیط Brom ۲۰۰۲ مایک در ناحیه ۲۵۰۰ تا ۲۰۰۰ نانومتر دیده نمیشود. در این طیف زیر قرمز کمپلکس نیز در محیط Brom ۲۰۰۲ مایک در ناحیه ۲۵۰۰ تا ۲۰۰۰ نانومتر دیده نمیشود. در این طیف زیر قرمز کمپلکس نیز در محیط Brom ۶۰۰ مایک در ناحیه ۲۵۰۰ مای ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۰ نانومتر دیده نمیشود. در این طیف زیر قرمز کمپلکس نیز در محیط Brom ۶۰۰ مایک ۲۰۰۰ مایک ۴۰۰۰ تا ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۰ نانومتر دیده نمیشود. در این طیف زیر قرمز کمپلکس نیز در محیط Brom ۶۰۰ مایک ۶۰۰۰ مایز این طیف (Ce-O) می باشد که در ناحیه ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ میره می شود این فرکانس نسبت به لیگاند در این طیف (Ce-O) می باشد که در ناحیه ۱۰۰۰ مایز در این طیف (Ce-O) می باشد که در ناحیه ۱۰۰۰ مایز در این قرمز کمپلکسی نیز در محیط Brom ۶۰۰۰ ماین ایز در ۲۰۰۰ ۲۰۰۰ مرد ۲۰۰۰ می می مرد در در در در در در در در در می شود این فرکانس نسبت به لیگاند در این طیف کریس نسبت به لیگاند در این طیف کری کاریس نسبت به می کند. طیف گیری DNG-۱۰۰ این کمپلکسها در حلال سیکوهگزان به مرکز پالادیوم را تایید میکند. طیف گیری DNSO-6۰ این در حال Brom ۲۰۰ میند. میکند. طیف گیری DMSO-۱۰۰ ماین کامیساز این در حلال



شکل ۴-۲: ساختار پیشنهادی برای کمپلکس NO₃[(Pd(DACH)(isopentylgly)]NO₃ با توجه به خواص ضد توموری کمپلکسهای مشابه اگزالیپلاتین بر علیه سرطان روده بزرگ، خواص ضد توموری این کمپلکس (شکل ۴-۲) روی سلولهای سرطان روده انسانی HCT116 انجام گردید. مقادیر (Cc₅₀) نشان داد قدرت مهار کنندگی کمپلکس پالادیوم ایزوپنتیل گلایسین (۱۳۲ میکرومولار) بیشتر از اگزالیپلاتین (۱۵۴ میکرومولار) و اگزالیپالادیوم (۷۰۰ میکرومولار)میباشد. برهم کنش دو ترکیب فوق با ct-DNA در محیط تریس بافر حاوی ۱۰ میلی مولار سدیم کلرید با pH=V/۴ در دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد به کمک روشهای مختلف طیفسنجی مطالعه شد.

آزمایش **غیر طبیعی شدن DNA** در حضور کمپلکسها نشان داد که کمپلکس [Pd(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (NO⁴) میلی مولار) میتواند Pd(DACH) در غلظت پایینتری (۳۰۰۰ میلی مولار) نسبت به اگزالیپالادیم (۱/۵۰۰ میلی مولار) میتواند DNA را غیرطبیعی کنند. مشاهده شد غلظت کمپلکس در نقطه میانی انتقال (1/2]) در فرایند غیرطبیعی شدن DNA رای اگزالیپالادیم با افزایش دما تغییر چندانی ندارد، یعنی برهم کنش اگزالیپالادیم با DNA وابستگی دمایی ندارد. پارامترهای ترمودینامیکی طی فرآیند غیر طبیعی شدن DNA توسط روش Pace و منحنی غیرطبیعی شدن به دست آمد. نتایج نشان می دهد با افزایش غلظت کمپلکس، انرژی ⁶ ΔG کاهش مییابد که این به دلیل کاهش پایداری DNA در حضور با افزایش فلظت کمپلکس، انرژی ⁶ ΔG کاهش مییابد که این به دلیل کاهش پایداری DNA در حضور کمپلکس و افزایش دما می باشد. (س⁶_{(H2}) کارمای لازم جهت غیر طبیعی شدن AM در عدم حضور میابشد. همچنین مقدار m (میزان توانایی کمپلکس فلزی برای غیر طبیعی کردن DNA و میرا (انتروپی حاصل از غیر طبیعی شدن DNA توسط کمپلکس فلزی) برای کمپلکس پالادیوم ایزوپنتیل گلایسین بیشتر از اگزالیپالادیم است که نشان دهنده قدرت بالای کمپلکس سنتزی جدید در غیرطبیعی کردن ساختار DNA میباشد.

آزمایش پایداری حرارتی، مقدار *T_m* برای کمپلکس [Pd(DACH)(isopentylgly)]NO3 و اگزالیپالادیوم به ترتیب ۷- و ۲۴- درجه سانتی گراد کمتر از DNA تنها میباشد که نشان می دهد کمپلکس پالادیوم ایزوپنتیل گلایسین به صورت شیاری و اگزالیپالادیوم از طریق برهم کنش کووالانس با DNA برهم کنش دارند و پیوند کووالانس باعث انحراف ساختاری و ناپایداری بیشتر مارپیچ DNA می شود.

با انجام آزمایش **تیتراسیون** (تیتراسیون کمپلکس با DNA) *K* (ثابت ظاهری پیوند کمپلکس با (ثابت غیین شد. با افزایش غلظت کمپلکس شدت جذب DNA افزایش مییابد و دلیلی بر برهم کنش شیاری و کووالانسی کمپلکسها با DNA میباشد. مقدار ثابت پیوند برای (Pd(DACH)(Isopentylgly) (۱۰۶ ×۱۰۴ (۱۰۹۰) بزرگتر از [Pd(DACH)(OX)] (NO₃) به دست آمد.

مطالعه سینتیک، چگونگی برهم کنش بین کمپلکس و DNA را با گذشت زمان بررسی می کند. در این آزمایش، جذب ترکیب افزایشی (کمپلکس پالادیوم-DNA) در ابتدا افزایش یافته که مربوط به پیوندهای شیاری و کووالانس میباشد که در سطح DNA رخ میدهد، با گذشت زمان جذب به دلیل فشردگی ساختار DNA و تغییر صورتبندی آن کاهش مییابد.

در آزمایش فلوئورسانس، روند تغییرات شدت فلوئورسانس EB-DNA در حضور غلظتهای متفاوت کمپلکسهای پالادیوم نشان داد که به دلیل آبکافتکمپلکس اگزالیپالادیم شدت نشر فلوئورسانس EB-DNA نسبت به (NO₃)(Isopentylgly)]کاهش بیشتری مییابد زیرا پیوند کووالانسی باعث انحراف شدید در ساختار DNA و رهایش EB آزاد در محیط می شود. کاهش نشر برای کمپلکس اگزالی پالادیوم از طریق خاموشی استاتیک و دینامیک رخ می دهد در حالی در کمپلکس پالادیوم ایزو پنتیل گلایسین خاموشی استاتیک مشاهده می شود.

در روش **دورنگ نمایی دورانی** (CD) با افزایش غلظتهای متفاوتی از کمپلکسهای پالادیوم، طیفهای CD ثبت و تغییرات ساختار مولکول DNA بررسی شد. نتایج نشان داد که اتصال کمپلکسهای پالادیوم به DNA باعث بهوجود آمدن فرم C-DNA میشود. با این وجود کمپلکس (NO₃)[(NO₃)[(Isopentylgly)] باعث آشفتگی بیشتر در طیف CD میشود. اختلاف طیفهای CD این سیستم ها حاکی از متفاوت بودن نحوه عمل ترکیبات پالادیم در برهم کنش با DNA می باشد. این اختلاف در مطالعات فلوئورسانس برهم کنش های فوق نیز مشاهده شده بود.

شبیه سازی اتصال مولکولی نشان میدهند انرژی پیوندی برای کمپلکس +[Pd(DACH)(IsopentyIgIy)] (۷/۶۱ Kcal/mol) منفی تر از اگزالی پالادیوم (۶/۹۸ Kcal/mol-) می باشد در نتیجه تمایل پیوندی بیشتری با DNA دارد؛ لازم به ذکر است این داده ها با نتایج تجربی مطابقت دارند.

سومین سری از ترکیبات مورد مطالعه کمپلکسهای پلاتین از مشتقات اسیدآمینه گلایسین و اگزالیپلاتین است. سنتز و شناسایی اگزالیپلاتین در قبل توسط گروه این تحقیقاتی انجام پذیرفته است. کمپلکسهای پلاتین (II) از مشتقات اسیدآمینه گلایسین با فرمول کلی -L)(Pt(DACH) است. کمپلکسهای پلاتین (II) از مشتقات اسیدآمینه گلایسین با فرمول کلی -L)(Pt(DACH) ایزوپنتیل و ترشیوپنتیل گلایسین) میباشد. سنتز، شناسایی، مطالعات اثر سمیت و برهمکنش این کمپلکس با NOA در این پایان نامه ارائه شد. شناسایی ترکیب فوق توسط آزمایشات تجزیه عنصری، رسانایی سنجی، طیف سنجی ST-IR و TM NMR انجام شد. نتایج آنالیز عنصری این ترکیبات به مقادیر محاسباتی آنها نزدیک بوده که خلوص بالای این کمپلکس را نشان میدهد. نتایج رسانایی سنجی نیز مشخص کرد که کمپلکسها با رسانایی مولی (^۱-mol⁻¹.mol) (cm².ohm) ۱۱۳ تا ۱۲۸ الکترونی الکترولیت ۱:۱ هستند و گروه نیترات به صورت یون همراه در این ترکیبات وجود دارد. طیف الکترونی این ترکیبات تنها با یک نوار جذبی در ۲۰۵ نانومتر ثبت شد که مربوط به انتقالات درون لیگاندی میباشد. در این ترکیب لیگاند آلیفاتیک به کار رفته است، بنابراین هیچ گونه انتقالات فلز به لیگاند در ناحیه ۲۵۰ تا ۲۰۰ نانومتر دیده نمیشود. طیف زیر قرمز کمپلکسها نیز در محیط KBr و در ناحیه ¹⁻ ۲۰۰۰ ۴۰۰۰ ثبت شد. مهمترین ارتعاش در این طیف (C=O) می باشد که در ناحیه ۱۵۲۱ تا میتوان به پیوند شدن مشتقات لیگاند آمینواسیدگلایسین به فلز پی برد. طیف گیری ۱۹۸۳ این میتوان به پیوند شدن مشتقات لیگاند آمینواسیدگلایسین به فلز پی برد. طیف گیری H-۱۹۸۳ این کمپلکسها در حلال ۵-bNO بوده و TMS به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد که ساختار پیشنهادی را تایید میکند. ساختار ترکیبات در شکل ۴–۳ نشان داده شدهاند.



شکل ۴-۳: ساختار پیشنهادی برای کمپلکسهای الف) Pt(DACH)(methylgly)]NO₃ (مکل ۴-۳: ساختار پیشنهادی برای کمپلکسهای الف) Pt(DACH)(isopentylgly)]NO₃ (pt(DACH)(butylgly)]NO₃ . pentylgly)]NO₃ مقادیر (Cc₅₀) نشان داد قدرت مهار کنندگی کمپلکس (NO₃)[(Pt(DACH)(Isopentylgly)[(NO₃) (۶۵۰ میکرومولار) بیشتر از اگزالیپلاتین و دیگر کمپلکسهای پلاتین در دسته سوم میباشد.

آزمایش **غیر طبیعی شدن DNA** در حضور کمپلکسها نشان داد تمام کمپلکسهای سنتز شده با مشتق اسیدآمینه قادرند DNA را در غلظتهای پایین *ت*ری نسبت به اگزالیپلاتین غیرطبیعی کنند و از میان آنها کمپلکس NO₃ (NO₃ (Pt(DACH)(isopentylgly)) در غلظت پایین *ت*ری (۲۰۰ - میلی مولار) DNA را غیرطبیعی کند. مشاهده شد غلظت اگزالیپلاتین برخلاف باقی کمپلکسها در نقطه میانی انتقال (12]) در فرآیند غیرطبیعی شدن ANA با افزایش دما تغییری ندارد. پارامترهای ترمودینامیکی طی فرآیند غیر طبیعی شدن DNA توسط روش Pace و منحنی غیرطبیعی شدن به دست آمد. نتایج نشان میدهد با افزایش غلظت کمپلکس، انرژی ΔG کاهش مییابد که این به دلیل کاهش پایداری DNA در حضور کمپلکس و افزایش دما می باشد. ($_{(\mu_2 H)}$ (گرمای لازم جهت غیر طبیعی شدن مدن میراد میم میداد می میداد میباشد. همچنین مقدار m (میزان توانایی کمپلکس فلزی برای غیر طبیعی کردن AM) برای میباشد. همچنین مقدار m (میزان توانایی کمپلکس فلزی برای غیر طبیعی کردن DNA) برای

آزمایش **پایداری حرارتی**، مقدار *T_m* برای کمپلکسهای دسته سوم کمتر از DNA تنها میباشد. که نشان میدهد کمپلکسهای پلاتین با مشتقات اسیدآمینه گلایسین به صورت شیاری با DNA برهم کنش دارند. به علت وجود زنجیرههای هیدرو کربنی در ساختار این کمپلکسها برهم کنش هیدروفوبی بین شیارهای DNA و کمپلکسها پایداری بین جفت بازهای DNA از بین رفته و دمای ذوب کاهش مییابد.

با انجام آزمایش **تیتراسیون** (تیتراسیون کمپلکس با DNA) K (ثابت ظاهری پیوند کمپلکس با DNA) تعیین شد. با افزایش غلظت کمپلکس شدت جذب DNA افزایش می یابد و دلیلی بر برهم کنش شیاری و کووالانسی کمپلکسها با DNA می باشد. مقدار ثابت پیوند برای

(NO₃) (۳/۴×۱۰^۳ M^{-۱}) (Pt(DACH)(Isopentylgly)) بزرگتر از کمپلکس های دیگر است.

مطالعه سینتیک، چگونگی برهم کنش بین کمپلکس و DNA را با گذشت زمان بررسی می کند. در این آزمایش، جذب ترکیب افزایشی (کمپلکس پلاتین-DNA) در ابتدا افزایش یافته که مربوط به پیوندهای شیاری و کووالانس میباشد که در سطح DNA رخ میدهد، با گذشت زمان جذب به دلیل فشردگی ساختار DNA و تغییر صورتبندی آن کاهش مییابد.

در آزمایش **فلوئورسانس**، روند تغییرات شدت فلوئورسانس EB-DNA در حضور غلظتهای متفاوت از هر یک از کمپلکس های پلاتین کاهش تدریجی در شدت نشر فلوئورسانس EB-DNA متفاوت از هر یک از کمپلکس های پلاتین کاهش تدریجی در شدت نشر فلوئورسانس A می می می می می دهد که نشان دهنده اتصال شیاری کمپلکس به DNA می اشد. کاهش نشر برای این کمپلکس از طریق خاموشی استاتیک رخ می دهد. مقدار K_{sv} (ثابت استرن-ولمر) برای کمپلکس حمری می می است و نشان دهنده برهم کنش مؤثر تر آن با DNA است.

در روش **دورنگ نمایی دورانی** (CD) با افزایش غلظت های متفاوتی از کمپلکس های پلاتین، طیف های CD ثبت و تغییرات ساختار مولکول DNA بررسی شد. نتایج نشان داد که اتصال کمپلکسهای پلاتین به DNA باعث بهوجود آمدن آشفتگی و تغییر فرم در ساختار DNA میشود. این تغییرات با توجه به ممانعت فضایی و ساختار هندسی زنجیره هیدروکربنی در ساختار کمپلکسهای پلاتین متفاوت است که نشان دهنده متفاوت بودن نحوه عمل ترکیبات پلاتین در برهم کنش با DNA

شبیه سازی اتصال مولکولی نشان می دهند انرژی پیوندی برای کمپلکس +[Pt(DACH)(IsopentyIgIy)] (۱۲/۷۲ Kcal/mol) (از کمپلکسهای پلاتین با مشتق اسید آمینه گلایسین و اگزالی پلاتین می باشد در نتیجه تمایل پیوندی بیشتری با DNA دارد؛ لازم به

ذکر است این دادهها با نتایج تجربی مطابقت دارند.

به طور کلی می توان گفت در بین سه دسته کمپلکس سنتز شده:

آزمایش غیر طبیعی شدن DNA در حضور کمپلکسها نشان داد که کمپلکس Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂) در غلظت پایین تری (۸۰~ میکرومولار) نسبت به کمپلکسهای دیگر می تواند DNA را غیرطبیعی کنند. همچنین مقدار m (میزان توانایی کمپلکس فلزی برای غیر طبیعی کردن DNA برای کمپلکس پلاتین ایمیدازول-فنانترولینی (۵۰۰~) بیشتر از کمپلکسهای دیگر میباشد. می اشد از کم از کم از مجهت غیر مدی مدن DNA در عدم حضور کمپلکس فلزی) برای $\Delta H^{\circ}_{(H_{O})}$ اگزالی پالادیوم و اگزالی پلاتین که از طریق برهم کنش کووالانسی به DNA متصل می شوند گرماگیر بوده و برای کمپلکسهای دیگر که امکان آبکافت شدن ندارند، گرماده میباشد. بزرگترین مقدار ثابت پیوندی به دست آمده از تیتراسیون جذبی متعلق به کمپلکس 2(NO₃)2(NO^{*} M⁻¹) [Pt(DACH)(FIP)] (۱/۸×۱۰۶ می باشد. در مقایسه کمپلکس های پلاتین و پالادیم با مشتق اسید آمینه گلایسین بزرگترین مقدار ثابت ییوندی برای کمیلکس (NO₃) (Pt(DACH)(Isopentylgly)) به دست آمد. مطالعات فلوئورسانس نشان میدهد تعداد مکان اتصال برای تمامی کمپلکسها (۱~) میباشد که نشان میدهد به ازاء هر ۱۰۰۰ نوکلئوتید یک دارو به DNA متصل می شود. مقدار *Ksv* (ثابت استرن–ولمر) برای کمیلکس، 2(NO3)2 (NO3) (Pt(DACH)(FIP)) بزرگتر از کمپلکسهای دیگر است و نشان دهنده برهم کنش مؤثر تر آن با DNA است. بزر گترین ثابت پیوندی به دست آمده از روابط استرن-ولمر $[Pt(DACH)(FIP)](NO_3)_2$ و (۱/۹×۱۰^۴ M⁻¹) $[Pt(DACH)(Isopentylgly)](NO_3)$ مربوط به (۸/۶×۱۰^۳M^{-۱}) میباشد. بیشتر بودن این مقدار برای کمپلکس پالادیم میتواند مربوط به سینتیک سريعتر آن نسبت به کمپلکس پلاتين باشد. شبيهسازي اتصال مولکولي نشان ميدهند انرژي پيوندي برای کمیلکس 2(NO3)2 [Pt(DACH)(FIP)] منفی تر از کمپلکسهای دیگر است در نتیجه تمایل پیوندی بیشتری با DNA دارد؛ لازم به ذکر است این دادهها با نتایج تجربی مطابقت

در اینجا ارتباط بین ساختار و واکنش پذیری کمپلکسها به خوبی مشهود است. ویژگی فضایی، الکترونی، واکنش پذیری، حلالیت و شکل هندسی کمپلکسهای فلزی با تغییر دادن لیگاندها قابل کنترل است. کمپلکس 2(NO3)[(NO3)[Pt(DACH)[FIP] نسبت به کمپلکسهای دیگر واکنش پذیری بیشتری از خود نشان داد، چون این کمپلکس نسبت به دیگر کمپلکسهای سنتز شده از مشتقات گلایسین بخش مسطح وسیعتری دارد و در نتیجه در غلظت کمتری ساختار AND را از طریق اتصال شیاری غیرطبیعی می کند. کیلیتهای پلاتین از نظر سینتیکی بسیار بی اثر هستند و احتمال دارد به عوارض جانبی کمتری منجر شود. در مورد واکنش پذیری بیشتر کمپلکس (NO3)[(VO3)] باید اشاره کرد وجود گروههای الکترون دهنده در زنجیره جانبی لیگاند گلایسین باعث می شود نفوذ پذیری کمپلکس فلزی به سلول تسهیل شود و جهت گیری لیگاند ایزو پنتیل گلایسین به گونهای است که در نتایج با دادههای سنتز شده مذکور در این خانواده بهترین برهم کنش با AND را داشته باشد. این نتایج با دادههای سمیت سلولی به خوبی مطابقت دارد.

۲-۴ پیشنهادات

با توجه به مطالعات انجام شده در این رساله، موارد زیر پیشنهاد می شود:

- ۱ یکی از مهمترین پروتئینهای خون آلبومین سرم (HSA) است. این پروتئین به دلیل غنی بودن از سیستئین به عنوان یک منبع مهم برای تولید گلوتاتیون در کبد محسوب می شود. انتقال دارو در بدن نیز توسط پروتئین آلبومین سرم خون صورت می گیرد. بنابراین، برهم کنش این ترکیبات با پروتئین های مهم بدن از جمله آلبومین سرم از اهمیت خاصی برخوردار است. زیرا عوارض جانبی یک دارو ممکن است بدلیل برهم کنش با پروتئین ها باشد.
- ۲ ویروس ها عوامل ایجاد بسیاری از بیماریهای عفونی اند. بررسی خواص ضد ویروسی این کمپلکس ها پیشنهاد می شود.
- ۳ مطالعات میزان مقاومت کمپلکس های تهیه شده، جهت بررسی وضعیت مقاومت آنها پیشنهاد میشود.
- ۴ با انجام مطالعات اثر سمیت خواص ضد سرطانی این ترکیبات اثبات شد. مطالعات درون تن این ترکیبات
 نیز پیشنهاد می شود.
- ۵ پیشنهاد می شود مطالعات انجام شده در این پایان نامه به کمک تکنیک میکروکالریمتری نیز بررسی شود.
 - ۶ پیشنهاد می شود به کمک نرم افزارهای جدید، مطالعات این پایان نامه گسترش یابد.

۷ - بررسی توانایی ترکیبات به عنوان برش دهندههای DNA.

- W. A. Wani, U. Baig, S. Shreaz, R. A. Shiekh, P. F. Iqbal, E. Jameel, A. Ahmad, S. H. Mohd-Setapar and L. T. Hun, (2015) "Recent Advances in Iron Complexes as Potential Anticancer Agents" *New J. Chem.*, 40, 2, pp. 1063.
- [2] R.-A. Wang, Q.-L. Li, Z.-S. Li, P.-J. Zheng, H.-Z. Zhang, X.-F. Huang, S.-M. Chi, A.-G. Yang and R. Cui, (2013) "Apoptosis drives cancer cells proliferate and metastasize" *J Cell Mol Med.*, 17, 1, pp. 205.
- [3] R. Dolatkhah, M. H. Somi, I. Asvadi Kermani, M. Ghojazadeh, M. Asghari Jafarabadi, F. Farassati and S. Dastgiri, (2015) "Increased colorectal cancer incidence in Iran: a systematic review and meta-analysis" *BMC Public Health.*, 15, 1, pp. 997.
- [4] F. L. Greene, D. L. Page, I. D. Fleming, A. G. Fritz, C. M. Balch, D. G. Haller and M. Morrow, (2002) "purposes and principles of staging" in AJCC Cancer Staging Manual, 6th ed., New York, Springer, pp. 1-16.
- [5] A. Nakamura-Ishizu, H. Takizawa and T. Suda, (**2014**) "The analysis, roles and regulation of quiescence in hematopoietic stem cells" *Development.*, **141**, **24**, pp. **4656**.
- [6] M. J. O'Connor, (**2015**) "Targeting the DNA Damage Response in Cancer" *Mol. Cell.*, **60**, **4**, pp. **547**.
- [7] A. Sudhakar, (2009) "History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods" *J. Cancer Res. Ther.*, 1, 2, pp. 1.
- [8] J. Dobson, "Radiation therapy, (2014) "Feline Soft Tissue and General Surgery" 1 St ed., S. J. Langley-Hobbs, J. Demetriou and J. Ladlow, Eds., Elsevier, China, , pp. 151-159.
- [9] C. S. Chu and S. C. Rubin, (2012) "*Clinical Gynecologic Oncology*" 8 th., Elsevier, Philadelphia, pp. 515-538.
- [10] M. C. Eisenberg and H. V. Jain, (2017) "A confidence building exercise in data and identifiability: Modeling cancer chemotherapy as a case study" *J. Theor. Biol.*, 431, pp. 63.
- [11] M. Abou-Ghali and J. Stiban, (2015) "Regulation of ceramide channel formation and disassembly: Insights on the initiation of apoptosis" *Saudi J Biol Sci.*, 22, 6, pp. 760.
- [12] W. O. Pereira and G. P. Amarante-Mendes, (2011) "Apoptosis: A Programme of Cell Death or Cell Disposal?" *Scand J Immunol.*, 73, 5, pp. 401.
- J. D. Watson, T. A. Baker, S. P. Bell, G. Alexander, M. Levine and R. Losick, (2003) " *Molecular Biology of the Gene*" 5th., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, , pp. 98-122.

- [14] B. R. Wood, (2016) "The importance of hydration and DNA conformation in interpreting infrared spectra of cells and tissues" *Chem. Soc. Rev.*, 45, 7, pp. 1980.
- [15] X.-J. Lu and W. K. Olson, (2003) "3DNA: a software package for the analysis, rebuilding and visualization of three-dimensional nucleic acid structures" *Nucleic Acids Res.*, 31, 17, pp. 5108.
- [16] "olympiad.roshd.ir/biology/content/pdf/0077.pdf," [Online].
- [17] H. A. Fahmy and O. A. Gharib, (2014) "Effect of Low Radiation Dose on Cisplatin Induced Hepato- Testicular Damage in Male Rats" *Br J Pharm Res.*, 4, 9, pp. 1053.
- [18] M. Sirajuddin, S. Ali and A. Badshah, (2013) "Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry" J. *Photochem. Photobiol. B.*, 124, pp. 1.
- [19] Y. Gilad and H. Senderowitz, (2014) "Docking Studies on DNA Intercalators" *J. Chem. Inf. Model.*, 54, 1, pp. 96.
- [20] N. J. Wheate, C. R. Brodie, J. G. Collins, S. Kemp and J. R. Aldrich-Wright, (2007) "DNA Intercalators in Cancer Therapy: Organic and Inorganic Drugs and Their Spectroscopic Tools of Analysis" *Mini-Rev. Med. Chem.*, 7, 6, pp. 627.
- [21] J. Zhang, T. Sun, L. Liang, T. Wu and Q. Wang, (2014) "Drug promiscuity of P-glycoprotein and its mechanism of interaction with paclitaxel and doxorubicin" *Soft Matter.*, 10, 3, pp. 438.
- [22] U. Ndagi, N. Mhlongo and M. E. Soliman, (2017) "Metal complexes in cancer therapy an update from drug design perspective" *Drug Design, Development and Therapy*, 11, pp. 559.
- [23] G.-Y. Li, R.-L. Guan, L.-N. Ji and H. Chao, (2014) "DNA condensation induced by metal complexes" *Coord. Chem. Rev.*, 281, pp. 100.
- [24] M. P. M. Marques, (2013) "Platinum and Palladium Polyamine Complexes as Anticancer Agents: The Structural Factor" *Isrn spectrosc.*, 2013, pp. 1-29.
- [25] A. Sharma, D. M. Gangrade, S. D. Bakshi and J. John, (2014) "Ruthenium Complexes: Potential candidate for Anti-Tumour Activity" *Int J Chemtech Res.*, 6, 1, pp. 828.
- [26] M. B. Baile, N. S. Kolhe, P. P. Deotarse, A. S. Jain and A. A. Kulkarni, (2015)
 "Metal Ion Complex -Potential Anticancer Drug- A Review" *Int J Pharma Res Rev.*, 4, 8, pp. 59.
- [27] N. Muhammad and Z. Guo, (2014) "Metal-based anticancer chemotherapeutic agents" *Curr Opin Chem Biol.*, 19, pp. 144.
- [28] M. J. Hannon, (2007) "Metal-based anticancer drugs: From a past anchored in platinum chemistry to a post-genomic future of diverse chemistry and biology"

Pure Appl. Chem., 79, 12, pp. 2243.

- [29] Z. Hang, M. A. Cooper and Z. M. Ziora, (2016) "Platinum-based anticancer drugs encapsulated liposome and polymeric micelle formulation in clinical trials" *Biochemical Compounds*, 4, 1, pp. 1.
- [30] J. P. Cero'n-Carrasco, D. Jacquemin and E. Cauët, (2012) "Cisplatin cytotoxicity: a theoretical study of induced mutations," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 12, 36, pp. 12457.
- [31] F. Trudu, F. Amato, P. Vaňhara, T. Pivetta, E. Peña-Méndez and J. Havel, (2015) "Coordination compounds in cancer: Past, present and perspectives" J. Appl. Biomed., 13, 2, pp. 79.
- [32] L. Kelland, (2007) "The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy" *Nat. Rev. Cancer*, 7, 8, pp. 573.
- [33] Ž. D. Bugarčić, J. Bogojeski, B. Petrović, S. Hochreuther and R. van Eldik, (2012) "Mechanistic studies on the reactions of platinum(II) complexes with nitrogen and sulfur-donor biomolecules" *Dalton Trans.*, 41, 40, pp. 12329.
- [34] P. Ma, H. Xiao, C. Li, Y. Dai, Z. Cheng, Z. Hou and J. Lin, (2015) "Inorganic nanocarriers for platinum drug delivery" *Mater. Today*, 18, 10, pp. 554.
- [35] J. J. Wilson and S. J. Lippard, (2014) "Synthetic Methods for the Preparation of Platinum Anticancer Complexes" *Chem. Rev.*, 114, 8, pp. 4470.
- [36] U. Basu, B. Banik, R. Wen, R. K. Pathak and S. Dhar, (2016) "The Platin-X Series: Activation, Targeting, and Delivery" *Dalton Trans.*, 45, 13, pp. 12992.
- [37] S. G. Chaney, (1995) "The chemistry and biology of platinum complexes with the 1,2-diaminocyclohexane carrier ligand " *Int. J. Oncol.*, 6, 6, pp. 1291.
- [38] I. Ali, W. A. Wani, K. Saleem and A. Haque, (2013) "Platinum Compounds: A Hope for Future Cancer Chemotherapy" *Anti-Cancer Agents Med. Chem.*, 13, 2, pp. 296.
- [39] R. C. Todd and S. J. Lippard, (2009) "Inhibition of transcription by platinum antitumor compounds" *Metallomics*, 1, 4, pp. 280.
- [40] C. L. B. Kline and W. S. El-Deiry, (2013) "Personalizing Colon Cancer Therapeutics: Targeting Old and New Mechanisms of Action" *Pharmaceuticals*, 6, 8, pp. 988.
- [41] I. Buß, D. Garmann, M. Galanski, G. Weber, G. V. Kalayda, B. K. Keppler and U. Jaehde, (2011) "Enhancing lipophilicity as a strategy to overcome resistance against platinum complexes?" *J. Inorg. Biochem.*, 105, 5, pp. 709.
- [42] H. Koepsell, (2015) "Role of organic cation transporters in drug-drug interaction" *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, 11, 10, pp. 1619.
- [43] S. Zhang, K. S. Lovejoy, J. E. Shima, L. L. Lagpacan, Y. Shu, A. Lapuk, Y. Chen, T. Komori, J. W. Gray, X. Chen, S. J. Lippard and K. M. Giacomini,

(2006) "Organic Cation Transporters Are Determinants of Oxaliplatin Cytotoxicity" *Cancer research*, 66, 17, pp. 8847

- [44] X. Li, Z. Lin, B. Zhang, L. Guo, S. Liu, H. Li, J. Zhang and Q. Ye, (2016) "βelemene sensitizes hepatocellular carcinoma cells to oxaliplatin by preventing oxaliplatin-induced degradation of copper transporter 1" Sci. Rep., 6, pp. 1.
- [45] M. E. Alberto, V. Butera and N. Russo, (2011) "Which One among the Pt-Containing Anticancer Drugs More Easily Forms Monoadducts with G and A DNA Bases? A Comparative Study among Oxaliplatin, Nedaplatin, and Carboplatin" *Inorg. Chem.*, 50, 15, pp. 6665.
- [46] M. Zhu, X. Cui, S. Zhang, L. Liu, Z. Han and E. Gao, (2016) "The structures, cytotoxicity, apoptosis and molecular docking controlled by the aliphatic chain of palladium(II) complexes" *J. Inorg. Biochem.*, 157, pp. 34.
- [47] M. Moradi, A. Divsalar, A. Saboury, B. Ghalandari and A. Harifi, (2015)
 "Inhibitory effects of deferasirox on the structure and function of bovine liver catalase: a spectroscopic and theoretical study" *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 33, 10, pp. 2255.
- [48] M. Antunovic, B. Kriznik, E. Ulukaya, V. T. Yilmaz, K. C. Mihalic, J. Madunic and I. Marijanovic, (2015) "Cytotoxic activity of novel palladium-based compounds on leukemia cell lines" *Anti-cancer drugs*, 26, 2, pp. 180.
- [49] N. C. Garbett, P. A. Ragazzon and J. B. Chaires, (2007) "Circular dichroism to determine binding mode and affinity of ligand–DNA interactions" *Nat. Protoc.*, 2, 12, pp. 3166.
- [50] A. S. Abu-Surrah and M. Kettunen, (2006) "Platinum Group Antitumor Chemistry: Design and development of New Anticancer Drugs Complementary to Cisplatin" *Current medicinal chemistry*, 13, 11, pp. 1337.
- [51] P. Zhang and P. J. Sadler, (2017) "Advances in the design of organometallic anticancer complexes" *J. Organomet. Chem.*, 839, pp. 5.
- [52] P. Alreja and N. Kaur, (2017) "Modulation in Photophysical Properties of Fluorescent Imidazole Possessing 1,10-Phenanthroline on Introduction of Ru(bipy)₂²⁺ towards Cation Sensing" *ChemistrySelect*, 2, 27, pp. 8638.
- [53] R. Zhong, S. Xu, J. Wang, F. Zhao, H. Xia and Y. Wang, (**2016**) "Experimental and theoretical investigation on spectroscopic properties of the imidazole-fused phenanthroline and its derivatives" *Spectrochim. Acta A*, **161**, pp. **27**.
- [54] B. J. Pages, F. Li, P. Wormell, D. L. Ang, J. K. Clegg, C. J. Kepert, L. K. Spare, S. Danchaiwijit and J. R. Aldrich-Wright, (2014) "Synthesis and analysis of the anticancer activity of platinum(II) complexes incorporating dipyridoquinoxaline variants" *Dalton Trans.*, 43, 41, pp. 15566.
- [55] B. S. Rajebhosale, S. N. Dongre, S. S. Deshpande, A. N. Kate and A. A. Kumbhar, (**2017**) "Aryl-1H-imidazole[4,5f][1,10]phenanthroline Cu(II) complexes: Electrochemical and DNA Interaction studies" *J. Inorg. Biochem.*,

175, pp. 129.

- [56] A. Chawla, A. Sharma and A. kumar Sharma, (2012) "Review: A convenient approach for the synthesis of imidazole derivatives using microwaves" *Synthesis*, 4, 1, pp. 116.
- [57] M. Heydari, M. Eslami Moghadam, A. Tarlani and H. Farhangian, (2017) "DNA as a Target for Anticancer Phen-Imidazole Pd(II) Complexes" *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 182, 1, pp. 110.
- [58] B. Sun, Y.-C. Wang, C. Qian, J. Chu, S.-M. Liang, H. Chao and L.-N. Ji, (2010)
 "Synthesis, characterization and DNA-binding studies of chiral ruthenium(II)
 complexes with 2-(5-nitrofuran-2-yl)-1H-imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline"
 J. Mol. Struct., 963, 2, pp. 153.
- [59] Z. Zhu, M. Peng, J. Zhang and L. Tan, (2017) "Interaction of octahedral ruthenium(II) polypyridyl complex [Ru(bpy)₂(PIP)]2+ with poly(U)·poly(A)*poly(U) triplex: Increasing third-strand stabilization of the triplex without affecting the stability of the duplex" *J. Inorg. Biochem.*, 169, pp. 44.
- [60] C. Gao, T. Wang, J. Chen, Y. Zhang, B. Yang and S. Gou, (**2014**) "Preparation and in vitro cytotoxicity of oxaliplatin derivatives with chiral amino acid as the carrier group" *J. Coord. Chem.*, **67**, **13**, pp. **2195**.
- [61] J. Jover, R. Bosque and J. Sales, (2008) "A comparison of the binding affinity of the common amino acids with different metal cations" *Dalton Trans.*, 45, pp. 6441.
- [62] M. A. Razak, P. S. Begum, B. Viswanath and S. Rajagopal, (2017) "Multifarious Beneficial Effect of Nonessential Amino Acid, Glycine: A Review" Oxid Med Cell Longev, 2017, pp. 1.
- [63] I. Amelio, G. Melino and C. Frezza, (**2017**) "Exploiting tumour addiction with a serine and glycine-free diet" *Cell Death Differ.*, **24**, **8**, pp. **1311**.
- [64] M. Jain, R. Nilsson, S. Sharma, N. Madhusudhan, T. Kitami, A. L. Souza, R. Kafri, M. W. Kirschner, C. B. Clish and V. K. Mootha, (2012) "Metabolite Profiling Identifies a Key Role for Glycine in Rapid Cancer Cell Proliferation" *Science*, 336, 6084, pp. 1040.
- [65] H. Bruns, D. Kazanavicius, D. Schultze, M. A. Saeedi1, K. Yamanaka, K. Strupas and P. Schemmer, (**2016**) "Glycine inhibits angiogenesis in colorectal cancer: role of endothelial cells" *J Amino Acids*, **48**, **11**, pp. **2549**.
- [66] S. Mylonas, A. Valavanidis and V. Voukouvalidis, (1981) "Platinum(II) and Palladium(II) Complexes with Amino Acid Derivatives. Synthesis, Interpretation of IR and 'H NMR Spectra and Conformational Implications" *Inorganica Chim. Acta*, 55, pp. 125.
- [67] S. R. Chaudhuri, G. N. Kalud-erovic, M. Bette, J. Schmidt, H. Schmidt, R. Paschke and D. Steinborn, (2013) "Synthesis, characterization and cytotoxicity

studies of platinum(II) complexes with amino acid ligands in various coordination modes" *Inorganica Chim. Acta*, **394**, pp. **472**.

- [68] R. A. Ammar, N. A. Alarfaj and M. F. El-Tohamy, (2012) "Potentiometric Study of 1, 2-Diphenylethylenediamine Palladium (II) Complex with Some Selected Amino Acids" Int. J. Electrochem. Sci., 7, pp. 1512.
- [69] H. D. Ashmead, (2012) " Amino Acid Chelation in Human and Animal Nutrition" 10th, CRC press, USA, pp. 19-34.
- [70] B. Petrovic, Z. i. D. Bugarc'ic and R. v. Eldik, (2008) "Kinetic studies on the reactions of [Pd(dach)(X-Y)] complexes with some DNA constituents" *Dalton Trans.*, 6, pp. 807.
- [71] M. Kantoury, M. Eslami Moghadam, A. A. Tarlani and A. Divsalar, (2016) "Structure Effect of Some New Anticancer Pt(II) Complexes of Amino Acid Derivatives with Small Branched or Linear Hydrocarbon Chains on Their DNA Interaction" *Chem Biol Drug Des*, 88, 1, pp. 76.
- [72] A. Hafman, (2010) " *Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*" 7th , Wiley, Oxford, UK, pp. 477-521.
- [73] J. R. Lakowicz, (2006) "Principles of Fluorescence Spectroscopy" 3th, Springer, Maryland, USA, pp. 1-26.
- موسوی موحدی، ع. ۱.، صبوری ، ع. ۱. و خان چمنی، ج. (۱۳۹۳) "روش های بیوشیمی و ^[74] بیوفیزیک" انتشارات دانشگاه تهران, ص ۵۶.
- [75] T. Topala, A. Bodoki, L. Oprean and R. Oprean, (2014) "Experimental techniques employed in the study of metal complexes-DNA-interactions" *FARMACIA*, 62, 6, pp. 1049.
- [76] L.-M. Tumir, M. R. Stojković and I. Piantanida, (2014) "Come-back of phenanthridine and phenanthridinium derivatives in the 21st century" *Beilstein J. Org. Chem.*, 10, pp. 2930.
- [77] J. R. Lakowicz, (2006) "*principles of fluorescence spectroscopy*" 3rd, Springer, Maryland, USA, pp. 277-330.
- [78] M. Howe-Grant, K. C. Wu, W. R. Bauer and S. J. Lippard, (1976) "Binding of Platinum and Palladium Metallointercalation Reagents and Antitumor Drugs to Closed and Open DNAs" *Biochem.*, 15, 19, pp. 4339.
- [79] A. Alonso, M. Almendral, Y. Curto, J. Criado, E. Rodri'guez and J. Manzano, (2006) "Determination of the DNA-binding characteristics of ethidium bromide, proflavine, and cisplatin by flow injection analysis: Usefulness in studies on antitumor drugs" *Anal. Biochem.*,355, 2, pp. 157.
- [80] J. Kypr, I. Kejnovska, D. Renc'iuk ₉ M. Vorlı'c' kova, (**2009**) "Survey and summary Circular dichroism and conformational polymorphism of DNA"

Nucleic Acids Res., 37, 6, pp. 1713.

- [81] V. I. Dodero, Z. B. Quirolo and M. A. Sequeira, (2011) "Biomolecular studies by circular dichroism" *Front. Biosci.*, 16, 1, pp. 61.
- [82] "https://www.chem.uci.edu/~dmitryf/manuals/Fundamentals/CD%20spectrosc opy.pdf," [Online].
- [83] Y. J. Jang, C. Lee and S. K. Kim, (**2015**) "Formation of Poly[d(A-T)2] Specific Z-DNA by a Cationic Porphyrin" *Sci. Rep.*, **5**, pp. **9943**.
- [84] w. saenger, (**1984**) "*Principles of Nucleic Acid Structure*" 1 st, Springer, Verlag New York, pp. **371**.
- [85] M. Eslami Moghadam, A. Divsalar, A. Abolhosseini Shahrnoy and A. A. Saboury, (2015) "Synthesis, Cytotoxicity Assessment, and Interaction and Docking of Novel Palladium(II) Complexes of Imidazole Derivatives with Human Serum Albumin" J. Biomol. Struct. Dyn., 34, 8, pp. 1751.
- [86] B. Ghalandari, A. Divsalar, A. A. Saboury, T. Haertlé, K. Parivar, R. Bazl, M. Eslami-Moghadam and M. Amanlou, (2014) "Spectroscopic and theoretical investigation of oxali-palladium interactions with β-lactoglobulin" *Spectrochim. Acta A*, 11, pp. 1038.
- [87] Y. Kidani, K. Inagaki, M. Iigo, A. Hoshi and K. Kuretani, (**1978**) "Antitumor activity of 1,2-diaminocyclohexane-platinum complexes against sarcoma-180 ascites form," *J. Med. Chem.*, **21**, **12**, pp. **1315**.
- [88] D. Ajloo, M. Eslami Moghadam, K. Ghadimi, M. Ghadamgahi, A. A. Saboury, A. Divsalar, M. SheikhMohammadi and K. Yousefi, (2015) "Synthesis, characterization, spectroscopy, cytotoxic activity and molecular dynamic study on the interaction of three palladium complexes of phenanthroline and glycine derivatives with calf thymus DNA" *Inorganica Chim. Acta*, 430, pp. 144.
- [89] F. Arjmand and A. Jamsheera, (2011) "DNA binding studies of new valine derived chiral complexes of tin(IV) and zirconium(IV)" *Spectrochim. Acta A*, 78, 1, pp. 45.
- [90] D. K. Jangir, S. Charak, R. Mehrotra and S. Kundu, (2011) "FTIR and circular dichroism spectroscopic study of interaction of 5-fluorouracil with DNA" J. *Photochem. Photobiol.*, 105, 2, pp. 143.
- [91] P. Liu, J. Liu, Y.-Q. Zhang, B.-Y. Wu and K.-Z. Wang, (2015) "Synthesis, DNA binding and photocleavage, and cellular uptake of an alkyl chain-linked dinuclear ruthenium(II) complex" J. *Photochem. Photobiol. B, Biol.*, 143, pp. 89.
- [92] Z. Aramesh-Boroujeni, M. Khorasani-Motlagh and M. Noroozifar, (2015) "Multispectroscopic DNA-binding studies of a terbium(III) complex containing 2,2'-bipyridine ligand" J. Biomol. Struct. Dyn., 34, 2, pp. 414.
- [93] C. Y. Zhou, J. Zhao, Y. B. Wu, C. X. Yin and Y. Pin , (2007) "Synthesis, characterization and studies on DNA-binding of a new Cu(II) complex with

N1,N8-bis(l-methyl-4-nitropyrrole-2-carbonyl)triethylenetetramine" J. Inorg. Biochem., 101, 1, pp. 10.

- [94] B. D. Bursulaya, M. Totrov, R. Abagyan and C. L. Brooks, (2003) "Comparative study of several algorithms for flexible ligand docking" *J. Comput. Aided Mol. Des.*, 17, 11, pp. 755.
- [95] G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M. F. Sanner, R. K. Belew, D. S. Goodsell and A. J. Olson, (2009) "AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility" *J. Comput. Chem.*, 30, 16, pp. 2785.
- [96] I. Ali, W. A. Wani and K. Saleem, (2013) "Empirical Formulae to Molecular Structures of Metal Complexes by Molar Conductance" Synth. React. Inorg. Me.t- Org. Chem., 43, 9, pp. 1162.
- [97] H. D. Takagi, K. Noda and S. Itoh, (2004) "Piezochromism and Related Phenomena Exhibited by Palladium Complexes" *Platin. Met. Rev.*, 48, 3, pp. 117.
- [98] H. Mansouri-Torshizi, M. Eslami Moghaddam, A. Divsalar and A.-A. Saboury, (2008) "2,20-Bipyridinebutyldithiocarbamatoplatinum(II) and palladium(II) complexes: Synthesis, characterization, cytotoxicity, and rich DNA-binding studies" *Bioorganic Med. Chem.*, 16, 21, pp. 9616.
- [99] R. Wysokin´ski, J. Kuduk-Jaworska and D. Michalska, (2006) "Electronic structure, Raman and infrared spectra, and vibrational assignment of carboplatin. Density functional theory studies" *J. Mol. Struct. (Theochem.)*, 758, 2-3, pp. 169.
- [100] J. R. Durig and B. R. Mitchell, (1967) "Infrared Studies of the Isomerization of cls-Pd(NH)2 X2" Appl. *Spectrosc.*, 21, 4, pp. 221.
- [101] S. Shahraki, H. Mansouri-Torshizi, M. Sadeghi, A. Divsalar and A. Saboury, (2015) "Novel Pt(II) Complex and Its Pd(II) Aanalogue. Synthesis, Characterization, Cytotoxicity and DNA-interaction" *Biomacromolecules*, 1, 2, pp. 242.
- [102] F. Xu, Y.-X. Peng, B. Hu, T. Tao and W. Huang, (2012) "Comparative structural and spectral analyses for mononuclear and dinuclear metal complexes of 2thiophen and 2-(5-bromothiophen) imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline" *CrystEngComm*, 14, 23, pp. 8023.
- [103] T. Alcindor and N. Beauger, (2011) "Oxaliplatin: a review in the era of molecularly targeted therapy" *Curr Oncol*, 18, 1, pp. 18.
- [104] H. Mansouri-Torshizi, M. Saeidifar, F. Khosravi, A. Divsalar, A. A. Saboury and F. Hassani, (2011) "DNA Binding and Antitumor Activity of α-Diimineplatinum(II) and Palladium(II) Dithiocarbamate Complexes" *Bioinorg Chem Appl*, 2011, pp. 1.
- [105] F. S. Shams Abyaneh, M. Eslami Moghadam, M. Hoseini Sadr and A. Divsalar,

(2017) "Effect of lipophilicity of amylamine and amylglycine ligands on biological activity of new anticancer cisplatin analog" *J. Biomol. Struct. Dyn.*, pp. 1.

- [106] A. A. Shoukry and R. M. Alghanmi, (2015) "Synthesis, DNA binding and complex formation reactions of 3-amino-5,6-dimethyl-1,2,4-triazine with Pd(II) and some selected biorelevant ligands," *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 138, pp. 932.
- [107] M. Cory, D. D. McKee, J. Kagan, D. W. Henry and J. A. Miller, (1985) "Design, synthesis, and DNA binding properties of bifunctional intercalators. Comparison of polymethylene and diphenyl ether chains connecting phenanthridine" J. Am. Chem. Soc., 107, 8, pp. 2528.
- [108] S. Tabassum, A. Asim, R. A. Khan, F. Arjmand, R. Divya, P. Balaji and M. A. Akbarsha, (2015) "A multifunctional molecular entity Cu II –Sn IV heterobimetallic complex as a potential cancer chemotherapeutic agent: DNA binding/cleavage, SOD mimetic, topoisomerase Iα inhibitory and in vitro cytotoxic activities" *RSC Adv.*, 5, 59, pp. 47439.
- [109] Y. Sun, S. Bi, D. Song, C. Qiao, D. Mu and H. Zhang, (2008) "Study on the interaction mechanism between DNA and the main active components in Scutellaria baicalensis Georgi" *Sens. Actuator B-Chem.*, 129, 2, pp. 799.
- [110] E. Gao, L. Lin, M. Zhu, B. Wang and X. Gao, (2012) "Two new palladium(II) complexes: synthesis, characterization and their interaction with HeLa cells" *Dalton Trans.*, 41, 36, pp. 11187.
- [111] K. Abbasi-Tajarag, A. Divsalar, A. A. Saboury, B. Ghalandari and H. Ghourchian, (2016) "Destructive effect of anticancer oxali-palladium on heme degradation through the generation of endogenous hydrogen peroxide" *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 34, 11, pp. 2493.
- [112] Y.-R. Zheng, K. Suntharalingam, P. M. Bruno, W. Lin, W. Wang, M. T. Hemann and S. J. Lippard, (2016) "Mechanistic studies of the anticancer activity of an octahedral hexanuclear Pt(II) cage" *Inorganica Chim. Acta*, 452, pp. 125.
- [113] E. Grueso, G. López-Pérez, M. Castellano and R. Prado-Gotor, (2012)
 "Thermodynamic and structural study of phenanthroline derivative ruthenium complex/DNA interactions: Probing partial intercalation and binding properties" *J. Inorg. Biochem.*, 106, 1, pp. 1.
- [114] E. K. Efthimiadou, N. Katsaros, A. Karaliota and G. Psomas, (2007) "Mononuclear copper(II) complexes with quinolones and nitrogen-donor heterocyclic ligands: Synthesis, characterization, biological activity and interaction with DNA" *Inorganica Chim. Acta*, 360, 15, pp. 4093.
- [115] N. M. Robertson, M. Salih Hizir, M. Balcioglu, R. Wang, M. S. Yavuz, H. Yumak, B. Ozturk, J. Sheng and M. V. Yigit, (2015) "Discriminating a Single Nucleotide Difference for Enhanced miRNA Detection Using Tunable Graphene and Oligonucleotide Nanodevices" *Langmuir*, 31, 36, pp. 9943.

- [116] S. J. J. Titinchi, G. Von Willingh, H. S. Abbo and R. Prasad, (2015) "Tri- and tetradentate copper complexes: a comparative study on homogeneous and heterogeneous catalysis over oxidation reactions" *Catal. Sci. Technol.*, 5, 1, pp. 325.
- [117] A. L. M. B. de Carvalho, S. M. Fiuza, J. Tomkinson, L. A. E. B. de Carvalho and M. P. M. Marques, (2012) "Pt(II) Complexes with Linear Diamines-Part I: Vibrational Study of Pt-Diaminopropane" *j. spectrosc.*, 27, 5-6, pp. 403.
- [118] J. Malina, O. Novakova, M. Vojtiskova, G. Natile and V. Brabec, (2007) "Conformation of DNA GG Intrastrand Cross-Link of Antitumor Oxaliplatin and Its Enantiomeric Analog" *Biophys. J.*, 93, 11, pp. 3950.
- [119] B. Mavroidi, M. Sagnou, K. Stamatakis, M. Paravatou-Petsotas, M. Pelecanou and C. Methenitis, (2016) "Palladium(II) and platinum(II) complexes of derivatives of 2-(4' aminophenyl)benzothiazole as potential anticancer agents" *Inorganica Chim. Acta*, 444, pp. 63.
- [120] N. Shahabadi, S. Hadidi and A. Taherpour, (2014) "Synthesis, Characterization, and DNA Binding Studies of a New Pt(II) Complex Containing the Drug Levetiracetam: Combining Experimental and Computational Methods" Appl. *Biochem. Biotechnol.*, 172, 5, pp. 2436.
- [121] N. R. Filipović, S. Bjelogrlić, T. R. Todorović, V. A. Blagojević, D. Muller, A. Marinković, M. Vujčić, B. Janović, A. S. Malešević, N. Begović, M. Senćanski and D. M. Minić, (2016) "Ni (II) complex with bishydrazone ligand: synthesis, characterization, DNA binding studies and pro-apoptotic and pro-differentiation induction in human cancerous cell lines" *RSC Adv.*, 6, 110, pp. 108726.
- [122] J. D. Raja, G. S. Senthilkumar, C. Vedhi and M. Vadivel, (2015) "Synthesis, structural characterization, electrochemical, biological, antioxidant and nuclease activities of 3-morpholinopropyl amine mixed ligand complexes" *J. chem. pharm. res.*, **7**, **10s**, pp. **1**.
- [123] T. Hirohama, Y. Kuranuki, E. Ebina, T. Sugizaki, H. Arii, M. Chikira, P. T. Selvi and M. Palaniandavar, (2005) "Copper(II) complexes of 1,10-phenanthroline-derived ligands: Studies on DNA binding properties and nuclease activity" *J. Inorg. Biochem.*, 99, 5, pp. 1205.
- [124] X.-B. Fu, D.-D. Liu, Y. Lin, W. Hu, Z.-W. Mao and X.-Y. Le, (2014) "Watersoluble DNA minor groove binders as potential chemotherapeutic agents: Synthesis, characterization, DNA binding and cleavage, antioxidation, cytotoxicity and HSA interactions" *Dalton Trans.*, 43, 23, pp. 8721.
- [125] N. Shahabadi, M. Pourfoulad and N. Hosseinpour Moghadam, (2017) "Experimental and computational studies on the effects of valganciclovir as an antiviral drug on calf thymus DNA" *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 36, 1, pp. 31.
- [126] R. Esteghamat-Panah, H. Farrokhpour, H. Hadadzadeh, F. Abyar and H. Amiri Rudbari, (2016) "An Experimental and Quantum Chemical Study on the Noncovalent Interactions of a Cyclometallated Rh(III) Complex with DNA and

BSA" RSC Adv., 6, 28, pp. 23913.

- [127] S. Mukhopadhyay, R. Kumar Gupta, R. Prasad Paitandi, N. Kumar Rana, G. Sharma, B. Koch, L. Karan Rana, M. Singh Hundal and D. Shankar Pandey, (2015) "Synthesis, Structure, DNA/Protein Binding, and Anticancer Activity of Some Half-Sandwich Cyclometalated Rh(III) and Ir(III) Complexes" *Organometallics*, 34, 18, pp. 4491.
- [128] C. Icsel, V. T. Yilmaz, Y. Kaya, H. Samli, W. T. A. Harrison and O. Buyukgungor, (2015) " New palladium (II) and platinum (II) 5, 5-diethylbarbiturate complexes with 2-phenylpyridine, 2, 2'-bipyridine and 2, 2'-dipyridylamine: synthesis, structures, DNA binding, molecular docking, cellular uptake, antioxidant activity and cytotoxicity" *Dalton Trans.*, 44, 15, pp. 6880.
- [129] Y.-X. Meng, H. Yang, D.-C. Li, S.-Y. Zeng, G.-F. Cheng, S.-L. Li and J.-M. Dou, (2016) "Synthesis, Crystal Structure, DNA-Binding and Magnetism of Copper 15-Metallacrown-5 Complexes Based on Glycinehydroxamic Acid Ligand" *RSC Adv.*, 6, 53, pp. 47196.
- [130] B. Ghalandari, A. Divsalar, M. Eslami-Moghadam, A. A. Saboury, T. Haertlé, M. Amanlou and K. Parivar, (2015) "Probing of the Interaction Between β-Lactoglobulin and the Anticancer Drug Oxaliplatin" *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 175, 2, pp. 974.
- [131] M. Eslami Moghadam, M. Saidifar, A. Divsalar, H. Mansouri-Torshizi, A.-A. Saboury, H. Farhangian and M. Ghadamgahi, (2015) "Rich Spectroscopic and Molecular Dynamic Studies on the Interaction of Cytotoxic Pt(II) and Pd(II) Complexes of Glycine derivatives with Calf Thymus DNA" *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 34, 1, pp. 206.
- [132] A. Marcu, A. StanilA, D. Rusu, M. Rusu, O. Cozar and L. David, (2007)
 "Spectroscopic studies of copper (II) complexes with some amino acids" J. Optoelectron. Adv. M., 9, 3, pp. 741.
- [133] W. H. Mahmoud, G. G. Mohamed and M. M. El-Dessouky, (2015) "Synthesis, structural characterization, in vitro antimicrobial and anticancer activity studies of ternary metal complexes containing glycine amino acid and the antiinflammatory drug lornoxicam" *J. Mol. Struct.*, 1082, pp. 12.
- [134] J. HaiPeng, Z. HongYan, L. Wei and W. PengYe, (2014) "Effects of oxaliplatin on DNA condensation" *Sci. China. Phys. Mech.*, 57, 11, pp. 2114.
- [135] J. M. Orosz and J. G. Wetmur, (1977) "DNA Melting Temperatures and Renaturation Rates in Concentrated Alkylammonium Salt Solutions" *Biopolymers*, 16, 6, pp. 1183.
- [136] E. Jerremalm, I. Wallin and H. Ehrsson, (2009) "New Insights Into the Biotransformation and Pharmacokinetics of Oxaliplatin" J. Pharm. Sci., 98, 11, pp. 3879.

[137] E. Robles-Escajeda, A. Martínez, A. Varela-Ramirez, R. A. Sánchez-Delgado and R. J. Aguilera, (**2013**) "Analysis of the cytotoxic effects of ruthenium-ketoconazole and ruthenium-clotrimazole complexes on cancer cells" *Cell Biol. Toxicol.*, **29**, **6**, pp. **431**.

Abstract:

Since the Pd and Pt complexes are suggested to be more effective than the other anticancer drugs, we decided to prepare some new water soluble platinum(II) and palladium(II) complexes. First we prepared two complexes with general formula $[M(DACH)(FIP)](NO_3)_2$ in which M=Pd(II) or Pt(II), DACH=(1R,2R)-(-)-1,2-Diaminocyclohexane, and FIP: 2-(furan-2-yl)-1H-imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline). The second and third series of the complexes with general formula [M(DACH)(L)]NO₃ (where, M=Pd(II) or Pt(II), L= methyl-, butyl-, Isopentyl- and tert-pentyl glycine) were also prepared. These complexes have been characterized by spectroscopic methods such as ultraviolet-visible, infarared and ¹H-NMR as well as conductivity measurements and chemical analysis. Anticancer activity of these compounds were tested against cancer colon cells of HCT116. The interaction of these complexes with calf thymus DNA (ct-DNA) was studied by using different techniques such as UV-Vis, fluorescence and circular dichroism as well as molecular dynamics (MD) simulation and molecular docking. By using denaturation data, the midpoint of titration, $[L]_{1/2}$, and thermodynamic parameters have been determineded in tris buffer containing 10 mM sodium chloride (pH=7.4) at 27 and 37 °C. Moreover, the modes of binding of all complexes to ct-DNA were investigated by fluorescence spectroscopy and circular dichroism, which confirmed these synthesized complexes interact with DNA through non-covalent bonding modes. Data indicated [Pt(DACH)(FIP)](NO₃)₂ can denature DNA at the low concentration than the other synthesized complexes. Besides, Molecular docking results showed binding energy for this complex was more negative than other complexes (-13.2 kcal/mol) which revealed more effective DNA-binding affinity of this compound.

Keywords: oxaliplatin, palladium and platinum complexes, cytotoxicity, denaturation of DNA, glycine and imidazole derivatives, Molecular dynamic and docking.



Shahrood University of Technology

Faculty of Chemistry

PhD Dissertation in Inorganic Chemistry

Synthesis, characterization and cytotoxic effects of new analogous of oxali palladium and platin and investigation of their interaction with DNA

^{By:} Sara Hadian Rasanani

Supervisors: Dr. Esmaeil Soleimani Dr. Mahboube Eslami Moghadam

> Advisor: Dr. Aliakbar Tarlani

> > January 2018