# اثر ضدسرطانی کمپلکس‌های جدید پالادیوم بر روی رده سلولی سرطان معده(AGS)

دکترمحمد ماذنی (PhD)[1]- شهرام هادی‌زاده (MSc Stu)[1]- *دکتر نوروز نجف‌زاده (PhD) [2]- دکتر مجتبی امانی (PhD)[3]- دکتر حسن منصوری ترشیزی (PhD)[4]

*نویسنده مسئول: گروه علوم تشریحی و پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

پست الکترونیک: n.najafzade@arums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله:۹۲/۰۳/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۲۸

## چکیده

**مقدمه: داروهای شیمی درمانی در درمان بیشتر بدخیمی‌ها بکار می‌روند، اما استفاده از داروهای شیمی درمانی آثار جانبی فراوانی به همراه دارد. بنابراین، امروزه ساخت و استفاده از داروهای جدید که نسبت به سلول‌های طبیعی کمتر سمی بوده و نسبت به سلول‌های بدخیم توان ویران کردن بالا داشته باشد دلخواه است که از آن میان می‌توان به داروهایی بر پایه پلاتین یا پالادیوم اشاره کرد.**

**هدف: بررسی اثر ضدسرطان کمپلکس‌های جدید پالادیوم بر رده سلولی سرطان معده.**

**مواد و روش‌ها: کمپلکس‌های جدید پالادیوم به نام‌های μ- ۱،۳- الکیلن بیس (دی تیوکربامات) بیس(۱،۱۰- فنانترولین پالادیوم(II) ) نیترات [که الکیلن می‌تواند پروپیلن (کمپلکس۱)، بوتیلن(کمپلکس۲) و یا اکتیلن (کمپلکس۳) باشد] در آزمایشگاه شیمی دانشگاه سیستان و بلوچستان ساخته شد و برای بررسی اثر سمی سلولی و ضدسرطانی آن بر رده سلول سرطانی معده (AGS) از روش‌های ارزیابی کلونی و بررسی مرگ سلولی(آپوپتوز و نکروز) با رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج/ اتیدیوم بروماید استفاده شد.**

**نتایج: کمپلکس‌های جدید نسبت به همدیگر تاثیر گوناگون وابسته به غلظت دارند به‌طوری‌که کمپلکس ۱ در غلظت بیش از ۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر، کمپلکس ۲ در بیش از۰/۰۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و کمپلکس۳ هم در بیش از ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر باعث مرگ سلولی به صورت آپوپتوز و نکروز شدند و سنجش تعداد کلونی‌های شکل گرفته پس از تیمار با غلظت‌های نامبرده کمپلکس‌های پالادیوم، اختلاف معنی‌دار در مقایسه با کنترل نشان داد (P<۰/۰۰۱).**

**نتیجه‌گیری: غلظت پایین کمپلکس‌های پالادیوم با مشتق دی‌تیوکربومات می‌تواند باعث مرگ سلولی از نوع آپوپتوز و نکروز شده، تعداد کلونی سلولی را کاهش دهد و به‌عنوان داروی جایگزین در درمان سرطان معده بکار رود.**

**کلید واژه‌ها: آپوپتوزیس/پالادیوم/ سرطان معده/ سلول‌های ساقه تومور/ نکروز**

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و سوم شماره ۹۰، صفحات: ۷۹-۷۲

## مقدمه

بدخیمی در نتیجه تکثیر و رشد بدون کنترل سلول‌ها ایجاد می‌شود. سلول‌های بدخیم می‌توانند به سایر قسمت‌های بدن متاستاز پیدا کنند. برای درمان سرطان از روش‌های جراحی، پرتودرمانی دارو درمانی و یا ترکیبی از این روش‌ها می‌توان استفاده کرد(۱). شیمی درمانی روش خوبی برای درمان نئوپلاسم‌های خونی است ولی برای درمان بدخیمی‌هایی که به صورت تومور(توده) رشد می‌کنند بیشتر از روش‌های ترکیبی استفاده می‌شود. در این روش‌ها تلاش می‌شود تمام سلول‌های بدخیم از بین رفته یا دست کم تعداد آنها به صورت چشمگیری کاهش یابد که البته در این بین تعدادی از سلول‌های سالم نیز آسیب می‌بینند(۱و۲).

کمپلکس‌هایی که بر پایه پلاتینیوم ساخته شده‌اند از داروهای مهم درمان سرطان‌ها به‌شمار می‌روند. ویژگی ضدسرطانی سیس‌پلاتین در موش در دهه ۱۹۶۰ کشف شد. به دنبال مطالعات و آزمایش‌های بالینی گسترده، سیس‌پلاتین(به اختصار CDDP) (*cis*-diamminedichloroplatinum(II) به عنوان داروی ضدسرطان توسط سازمان دارو و غذای آمریکا پذیرفته شد(۳). در حال حاضر از سیس‌پلاتین به‌عنوان داروی ضدسرطان در درمان چندین سرطان انسانی از جمله سرطان‌های بیضه، تخمدان، مثانه، سر و گردن، آندومتر

۱. گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۲. گروه علوم تشریحی و پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۳. گروه بیوفیزیک، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

٤. گروه شیمی، دانشکده علوم- دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

سرویکس، ریه و کارسینومای استخوان استفاده می‌شود. با وجود این، کمپلکس‌های دیگر پلاتینیوم نظیر کربوپلات cis-diamine(1,1-cyclobutane dicarboxyato) platinum (II) به‌علت تأثیر جانبی کمتری که نسبت به سیس‌پلاتین دارند بیشتر در درمان سرطان‌ها استفاده می‌شوند(۱). از سال ۱۹۹۹، آنالوگ دیگر سیس‌پلاتین یعنی اگزالی‌پلاتین Oxalato1,2-diaminocyclhexane platinum (II) (به‌اختصار L-OHP) همراه ۵- فلوئورواوراسیل (5-Flurouracil) و لوکوورین (Leucovorin) در درمان سرطان کولورکتال استفاده می‌شود(٤).

از داروهای شیمی درمانی مشتق پلاتینیوم و پالادیوم بیشتر بر مکانیسم و عملکرد سیس‌پلاتین مطالعه شده‌است(۵و٦). سیس‌پلاتین پس از ورود به داخل سلول با یک مولکول آب یا یون هیدروکسیل واکنش داده و فرم هیدراته آن بوجود می‌آید و به خاطر خاصیت نوکلئوفیلی که پیدا می‌کند این شکل سیس‌پلاتین با پیوند کووالانس می‌تواند با DNA یا دیگر ترکیب‌های داخل سلولی مانند مولکول‌های تیول‌دار ترکیب شود. گزارش‌ها حاکی از آن است که اتصال کمپلکس‌های پلاتینیوم با نیتروژن شماره ۷ دو باز گوانوزین مجاور باعث اختلال در دو رشته DNA می‌شود که سرانجام به مرگ سلول می‌انجامد(۷). اختلال همانندسازی DNA مهم‌ترین تأثیری است که سیس پلاتین در سلول تومور ایجاد می‌کند. کمپلکس‌های سنتزشده در این مطالعه دو ویژگی مهم دارند اولا پیوندی که این کمپلکس‌ها با DNA برقرار می‌کنند از نوع اینترکالیشن است، دوم این‌که در ساختار مولکولی کمپلکس‌ها ۱،۱۰- فنانترولین به جای ۲،۲'- بای پیریدین قرار گرفته که در پیوند اینترکالیشن یک قسمت مسطح از مولکول بین بازهای موجود در DNA قرارمی‌گیرد و در نتیجه مانع از رونویسی و همانندسازی DNA می‌شود(۱و۸). به علت تأثیر جانبی ترکیب‌های دارویی رایج مورد استفاده در شیمی درمانی، تلاش‌های زیادی برای پیداکردن کمپلکس‌هایی که قدرت بالا و تأثیر جانبی کمتری نسبت به داروهای موجود دارند انجام شده است. یکی از راهبردهای کاهش اثر جانبی سیس‌پلاتین استفاده از کمپلکس‌های حاوی لیگاند سولفور مانند سیستئین، پنسیل‌آمین، متیونین، تیوره، تیوسولفات و بخصوص لیگاند شلاته‌کننده دی‌اتیل‌دی‌تیوکاربامات (DDTC) (۹و۱۰). برتری استفاده از کمپلکس‌های جدید، وجود ریشه‌های کربامات و گروه‌های تیول است که عوارض جانبی کمی داشته و به‌هر حال داده‌های کمی درباره تاثیر کمپلکس‌های ضدسرطانی پالادیوم جدید موجود است. در این مطالعه، برای اولین بار تاثیر ضدسرطانی این کمپلکس‌ها بر سلول‌های سرطان معده بررسی می‌شود.

## مواد و روش‌ها

**داروها**:

کمپلکس‌های پالادیوم مورد مطالعه که فرمول شیمیایی آنها در زیر آمده است.

کمپلکس۱: μ- ۱،۳- پروپیلن بیس(دی تیوکربامات) بیس (۱،۱۰- فنانترولین پالادیوم(II) ) نیترات

(μ-1, 3- propylene bis (dithiocarbamate)bis(1,10-Phenanthroline Palladium(II)) nitrate)

کمپلکس۲: μ- ۱،٤- بوتیلن بیس(دی تیوکربامات) بیس (۱،۱۰- فنانترولین پالادیوم(II)) نیترات

(μ-1,4- butylene bis (dithiocarbamate)bis(1,10-Phenanthroline Palladium(II)) nitrate)

کمپلکس۳: μ- ۱،۸- اوکتیلن بیس(دی تیوکربامات) بیس (۱،۱۰- فنانترولین پالادیوم(II)) نیترات

(μ-1,8- octylene bis (dithiocarbamate)bis(1,10-Phenanthroline Palladium(II)) nitrate)

**گروه‌ها:**

گروه‌های مورد ارزیابی کلونی و بررسی مرگ سلولی به شرح زیر بود:

الف) گروه کنترل که به مدت هفت روز هیچ دارویی دریافت نمی‌کرد.

ب) گروه تیمارTreatment 18 که در این گروه، سلول‌ها تحت تاثیر غلظت‌های ٦٤-۰ میکروگرم در میلی‌لیتر کمپلکس‌های جدید پالادیوم قرار گرفتند.

**کشت سلولی**

رده سلولی AGS از شرکت انیستیتو پاستور ایران خریداری شد و در محیط RPMI-1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی و محلول آنتی‌بیوتیک پنی سیلین/ استرپتومایسین ۱٪ کشت داده شد و سپس در انکوباتور، در دمای ۳۷°C و ۵٪ $CO_2$

نگه‌داری شد.

**ارزیابی مورفولوژی سلولی**

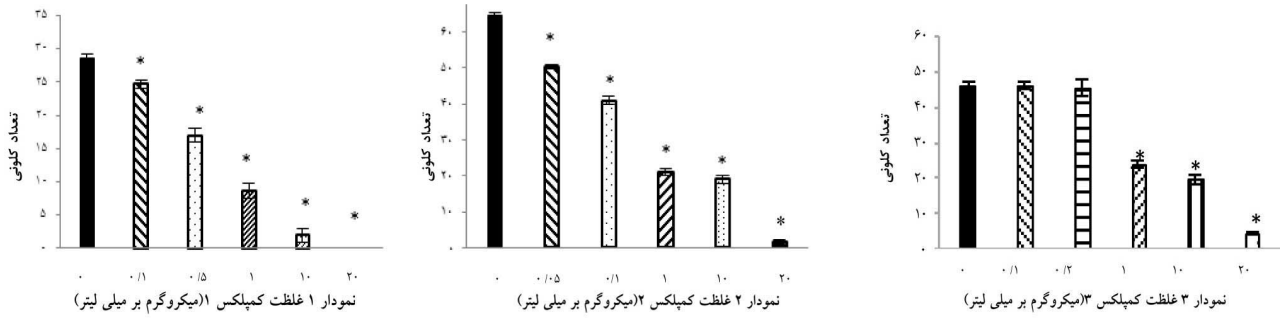
رده سلولی سرطان معده (AGS)، در بشقاب فلاسک T25 کشت داده شدند و پس از یک هفته آنها را با تریپسین جدا کرده و با سانتریفوژ، ۱۲ هزار سلول در هر پلیت شش خانه به مدت هفت روز کشت داده شد. روز اول محیط کشت سلول‌ها با دوزهای مختلف از سه نوع کمپلکس پالادیومی تعویض شد. پس از هفت روز، سلول‌ها با آمیزه رنگ آکریدین اورنج(۱۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر) و اتدیوم بروماید (۱۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر)(۱۱) رنگ‌آمیزی شدند و ۵ دقیقه بعد با میکروسکوپ فلوئورسنت مدل المپیوس، تصویرهایی تهیه شد. هسته سلول‌های آپوپتوتیک متراکم و قطعه‌قطعه شده و براحتی از سلول‌های طبیعی متمایزند. علاوه بر آن در این روش، سلول‌های آپوپتوتیک اولیه با هسته‌ی متراکم سبز کم رنگ و غشای سیتوپلاسمی سالم از سلول‌های آپوپتوتیک تاخیری با هسته متراکم قرمز و قطعه‌قطعه قابل تفکیک هستند. سلول‌های نکروتیک نیز به رنگ زرد متمایل به قرمز و یک دست و بدون قطعه‌قطعه شدن هسته مشخص و سلول‌های سالم نیز به رنگ سبز پررنگ هستند.

**ارزیابی تعداد کلونی**

برای ارزیابی کلونی سلولی، ابتدا سلول‌ها را تریپسینه کرده و۱۲۰۰۰ سلول را در ۲ میلی‌لیتر محیط کشت ریخته و آن را در پلیت شش خانه به تعداد ۲۰۰۰ سلول در هرخانه کشت داده و سپس سلول‌ها را به مدت یک شب انکوبه کرده تا سلول‌ها به کف پلیت بچسبند. سپس، سلول‌ها را در معرض غلظت‌های مختلف سه کمپلکس پالادیومی قرار داده بعد از ۱۰ روز از کلونی‌های سلولی تصاویری با میکروسکوپ فاز کنتراست تهیه و اندازه کلونی‌ها مورد بررسی قرار گرفت و بعد از آن سلول‌ها با رنگ کریستال ویوله (۰/۵٪ کریستال ویوله در متانول ۰/۲٪) رنگ‌آمیزی شدند و تصاویری از هر خانه پلیت شش خانه تهیه شد و کلونی‌ها بیش از ۵۰ سلول با برنامه ایمیج جی شمارش شدند.

**آنالیز آماری**

کلونی و سلول‌های رنگ‌آمیزی شده با آکریدین و اتدیوم بروماید با برنامه ایمیج جی-ImageJ شمارش شدند و اطلاعات بدست آمده از شمارش کلونی با نرم‌افزار آماری SPSS (ویرایش ۱۶) و آزمون آماری ANOVA و تکمیلی (Tukey) تجزیه و تحلیل شد.




نمودار۳- ۱.این نمودارها تاثیر رقت‌های مختلف کمپلکس‌های ۲،۱و۳ بر روی تعداد کلونی‌های سلولی را نشان می‌دهد. همان‌طور که دیده می‌شود کمترین تعداد کلونی بعد از تیمار با رقت ۲۰میکروگرم بر میلی‌لیتر دیده می‌شود و در مورد کمپلکس۱ هیچ کلونی بعد از تیمار با غلظت۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده نمی‌شود. همچنین، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل در هر دو کمپلکس ۱و۲دیده می‌شود اما در مورد کمپلکس ۳ اختلاف معنی‌داری فقط در بین تعداد کلونی‌های تشکیل شده بعد از تیمار با رقت‌های ۱، ۱۰و ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با کنترل دیده شد و رقت‌های ۰/۱ و ۰/۲میکروگرم بر میلی‌لیتر کمپلکس ۳ تاثیری در کاهش تعداد کلونی در مقایسه با کنترل نداشت. (۰/۰۰۱ >**P***)

## نتایج

**ارزیابی تعداد کلونی‌ها**

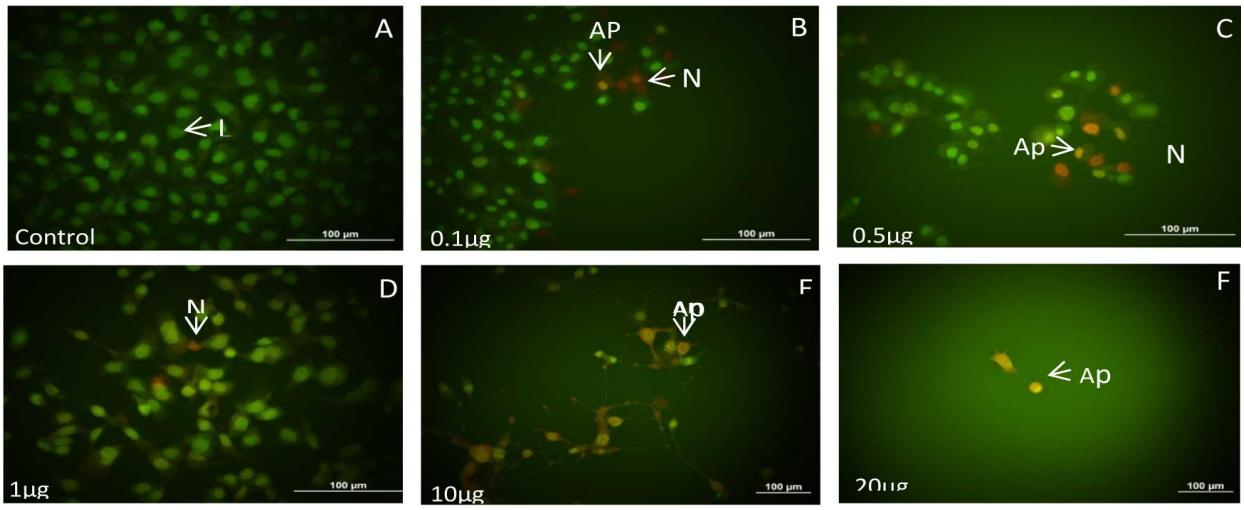
ارزیابی کلونی‌ها با رنگ‌آمیزی کریستال ویوله نشان داد که تعداد کلونی‌هایی با بیش از پنجاه سلول با افزایش غلظت دارو در هر سه کمپلکس پالادیوم کاهش یافت به‌طوری‌که در سلول‌های تیمار شده با کمپلکس ۱، تعداد کلونی‌ها در غلظت‌های بالای ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافت و در غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هیچ کلونی دیده نشد

(نمودار۱) و در کمپلکس ۲و۳، تعدادکلونی‌ها پس از تیمار با غلظت‌های مختلف روند کاهشی از خود نشان داد و کمترین تعداد کلونی در غلظت‌های ۱۰و۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر دیده شد(نمودار۱). نتایج پژوهش نشان داد که بین گروه‌های کنترل و تیمار شده با کمپلکس‌های۱ و ۲ تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( P< ۰۰۱/۰). در مورد کمپلکس۳ نیز در غلظت‌های۲۰و۱۰،۱میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری بدست آمد (P<۰/۰۰۱)

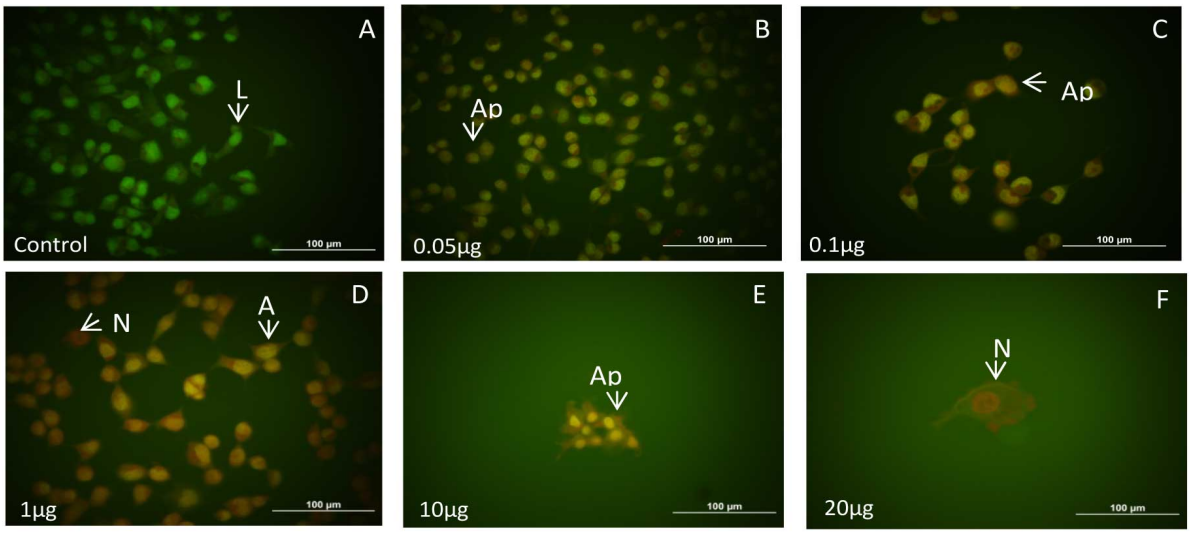
**بررسی مرگ سلولی:** سلول‌ها در پلیت ٦خانه به مدت یک هفته تحت تاثیر دوزهای مختلف کمپلکس‌های پالادیوم قرار گرفتند و بعد از رنگ‌آمیزی با آکریدین اورنج و اتدیوم بروماید سلول‌های زنده، آپوپتوتیک و نکروتیک بررسی شدند (تصاویر۲،۱و۳). نتایج این رنگ‌آمیزی که در جدول۱ آمده، نشان داد که با افزایش غلظت هر سه کمپلکس پالادیوم درصد سلول‌های آپوپتوتیک و نکروتیک نسبت به سلول‌های سالم افزایش یافت و در این بین درصد سلول‌های آپوپتوتیک خیلی بیش از درصد سلول‌های نکروتیک افزایش می‌یابد. همچنین، تصاویر۲،۱و۳ گویای این نکته است که با افزایش غلظت هر سه کمپلکس، تعداد سلول‌های بدخیم زنده کاهش پیدا می‌کند و کمترین غلظت موثر کمپلکس‌های ۱، ۲، ۳ به ترتیب ۰/۰،۰۵/۱و ۱میکروگرم بر میلی‌لیتر است(نمودار۱،۲،۳ و جدول۱).

جدول۱. درصد سلول‌های زنده، آپوپتوتیک و نکروتیک سلول‌های سرطان معده که با دوزهای مختلف کمپلکس‌های ۲،۱و ۳ تیمار شده‌اند.

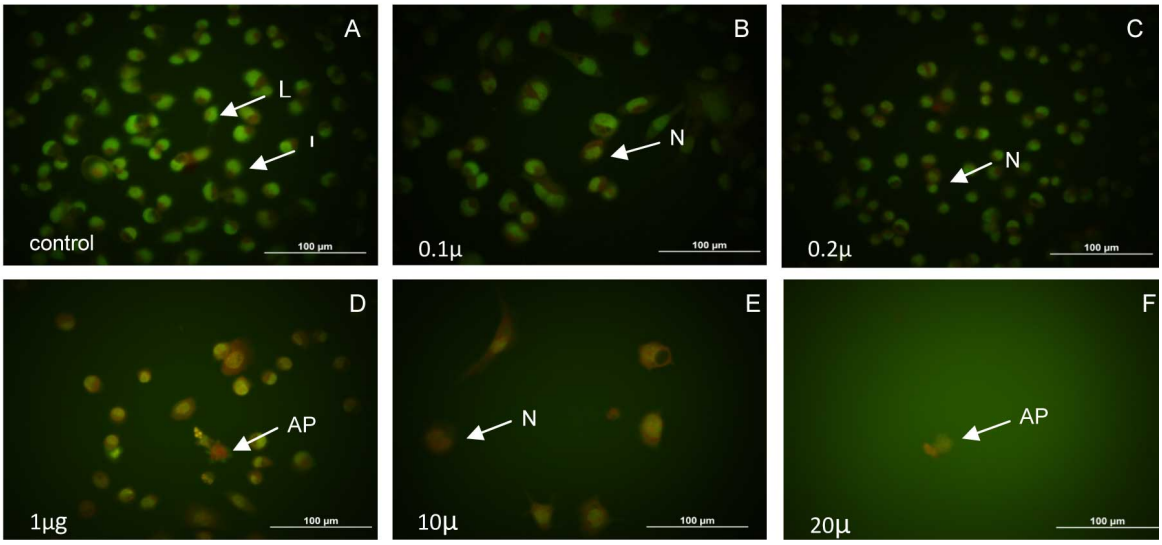
| کمپلکس۳ | | | کمپلکس۲ | | | کمپلکس۱ | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| درصد سلول‌های نکروتیک | درصد سلول‌های آپوپتوتیک | درصد سلول‌های زنده | درصد سلول‌های نکروتیک | درصد سلول‌های آپوپتوتیک | درصد سلول‌های زنده | درصد سلول‌های نکروتیک | درصد سلول‌های آپوپتوتیک | درصد سلول‌های زنده | غلظت (میکروگرم برمیلی‌لیتر) |
| ۰۰/۰ | ۰/۰±۰/۱ | ۰/۰±۰/۹۹ | ۰۰/۰ | ۵/۰±۶۶/۰ | ۵/۰±۳/۹۹ | ۰۰/۰ | ۵/۰±۶۶/۰ | ۵/۰±۳/۹۹ | ۰ |
| – | – | – | ۰/۱±۰/۲ | ۵/۰±۳/۱۰ | ۱/۱±۶/۸۷ | – | – | – | ۰۵/۰ |
| ۰/۱±۰/۲ | ۳/۲±۶/۱۸ | ۵/۱±۳/۷۹ | ۰/۱±۰/۴ | ۵/۰±۶/۲۰ | ۵/۱±۳/۷۵ | ۵/۰±۶/۶ | ۵/۰±۶/۲۹ | ۵/۰±۶/۶۳ | ۱/۰ |
| ۵/۰±۶/۲ | ۱/۴±۶/۳۴ | ۳۷±۶/۶۲ | – | – | – | – | – | – | ۲/۰ |
| – | – | – | – | – | – | ۶/۳±۰/۱۱ | ۷/۳±۳/۳۸ | ۵/۱±۶/۵۰ | ۵/۰ |
| ۱/۱±۶/۵ | ۵/۱±۳/۴۶ | ۰/۱±۰/۴۸ | ۱/۱±۶/۸ | ۰/۱±۰/۴۹ | ۰/۲±۳/۴۲ | ۴/۳±۰/۸ | ۳/۴±۰/۸۲ | ۰/۱±۰/۱۰ | ۱ |
| ۰/۳±۳/۹ | ۲/۳±۳/۷۵ | ۵/۰±۳/۱۵ | ۷/۱±۰/۹ | ۵/۲±۳/۷۴ | ۱/۱±۶/۱۶ | ۷/۱±۰/۸ | ۵/۱±۳/۹۱ | ۵/۰±۶۶/۰ | ۱۰ |
| ۷/۱±۰/۶ | ۰/۲±۰/۸۶ | ۸/۰± ۰/۱ | ۷/۱±۰/۱۱ | ۵/۱±۳/۸۲ | ۵/۰±۶/۶ | ۳/۲±۳/۸ | ۳/۲±۶/۹۱ | ۰۰/۰ | ۲۰ |




تصویر۱. رنگ‌آمیزی سلول‌ها با روش رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج/اتدیوم بروماید. بعد از هفت روز کشت در حضور غلظت‌های مختلف کمپلکس۱. بعد از تاثیر غلظت‌های ۰/۵،۰/۱و ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر این کمپلکس، سلول‌های زنده هم در پلیت دیده می‌شود و برخی سلول‌های دچار مرگ آپوپتوتیک و نکروتیک شده‌اند(فلش) در حالی‌که غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تاثیر بیشتری داشتند و تعداد سلول کمی درپلیت کشت سلولی دیده می‌شود. L مخففLiveوN مخففNecrosisو Ap مخففApoptosis می‌باشد.




تصویر۲. رنگ‌آمیزی سلول‌ها با روش رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج/ اتیدیوم بروماید بعد از هفت روز کشت در حضور رقت‌های مختلف کمپلکس۲. پس از تاثیر غلظت‌های مختلف، غلظت‌های۱۰ و۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشتر باعث مرگ سلولی شده به‌طوری‌که سلول‌های کمی در کف پلیت دیده می‌شود و غلظتهای،۰/۱،۰۵و ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر هم باعث آپوپتوز و نکروز برخی از سلول‌ها شده‌است. L مخفف Live وNمخفف Necrosis و Ap مخفف Apoptosis می‌باشد.




تصویر۳. رنگ‌آمیزی سلول‌ها با روش رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج/ اتیدیوم بروماید بعد از هفت روز کشت در حضور غلظت‌های مختلف **کمپلکس۳**. بعد از تاثیر غلظت‌های مختلف، رقتهای ۱، ۱۰و ۲۰ میکروگرم، سلول‌های زنده کمی در پلیت دیده می‌شود و اغلب سلول‌ها با مرگ سلولی آپوپتوتیک و نکروتیک از بین رفته‌اند و غلظت‌های ۰/۱ ، ۰/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر تاثیر کمتری روی مرگ سلولی داشته‌اند. L مخفف Live و N مخفف Necrosis و Ap مخفف Apoptosis می‌باشد.

## بحث و نتیجه‌گیری

در طی ۲۵ سال گذشته، سیس‌پلاتین در درمان انواع نئوپلاسم‌ها استفاده شده‌است، با این حال استفاده از این دارو، محدودیت‌های چشمگیری دارد به علت این‌که به بسیاری از بافت‌های سالم بدن آسیب می‌زند. این محدودیت‌ها باعث شده تا تلاش‌هایی برای ساخت داروهایی بر پایه پلاتین یا پلادیوم انجام شود که نسبت به سلول‌های طبیعی کمتر سمی بوده و نسبت به سلول‌های بدخیم توان تخریبی بالا داشته باشد. بنابراین، از سال ۱۹۷۱ چندین آنالوگ سیس پلاتین وارد فاز آزمایش‌های بالینی شده‌است(۳). به‌طوری‌که در اروپا از اگزالی پلاتین به عنوان اولین خط درمان در سرطان متاستاز دهنده کلورکتال به همراه ۵- فلوئواوراسیل و فولینیک‌اسید

استفاده شد و کربوپلاتینیوم نیز بیشتر برای درمان سرطان تخمدان مورداستفاده قرارگرفت(۱۲).

کمپلکس‌های مورد مطالعه در این پژوهش محلول در آب هستند و تأثیر ضدسرطانی نهفته‌ای دارند و می‌توان از آنها در برابر سلول‌های توموری در حال تکثیر استفاده کرد. همچنین، این کمپلکس‌ها نسبت به آنالوگ‌های دیگر(۱۳, ۱٤) مرگ سلولی بیشتری ایجاد کردند به‌طوری‌که هر سه کمپلکس در غلظت‌های پایین باعث آپوپتوز و نکروز سلول‌ها شد و به ترتیب کمپلکس ۱ ،۲و۳ در غلظت‌های بیش از ۰/۱، ۰/۰۵، ۱میکروگرم بر میلی‌لیتر منجر به آپوپتوز و نکروز شد، با غلظت‌های نامبرده تعداد کلونی‌ها در هر سه کمپلکس پالادیوم کاهش یافت به‌طوری‌که دوزهای بالاتر این کمپلکس‌ها مانع تشکیل کلونی سلولی شد. به نظر می‌رسد جایگزینی۱۰،۱ – فنانترولین با '۲،۲– بای پیریدین باعث افزایش فعالیت ضدسرطانی این کمپلکس‌ها شده‌است(۱۵). موقعیت جانشینی گروه‌ها بر لیگاندهای فلزی، نقش مهمی در تعیین فعالیت‌های ضدسرطانی این کمپلکس‌های سنتز شده ایفا می‌کند(۱٦).

در مطالعه مشابهی ترشیزی و همکاران، تاثیر دو کمپلکس جدید پلاتینیوم و پالادیوم بر رده سلولی K562 بررسی و با سیس‌پلاتین مقایسه شد و به این نتیجه رسیدند که این دو ترکیب اثرات ضدسرطانی بیشتری نسبت به سیس‌پلاتین دارند. سلول‌های این رده حساسیت متفاوتی در برابر این دوکمپلکس سنتز شده نشان دادند(۱۳).

در مطالعه نرگس آریان پور و همکاران، سه کمپلکس پالادیوم جدید بر سه لاین سلولی کبد، ریه و تخمدان بررسی و نتیجه با سیس‌پلاتین مقایسه شد. رده سلولیA549 بیشترین حساسیت را در برابر [Pd(bpy)(Bu-dtc)]Cl و رده سلولی سرطان کبد(HepG2) بیشترین حساسیت را در مقابل کمپلکس [Pd(bpy)(hex-dtc] Cl]، همچنین رده سلولی سرطان تخمدان(OV2008) بیشترین حساسیت را در مقابل [Pd(bpy)(Bu-dtc)] ازخود نشان داد(۱۷).

کمپلکس‌های پالادیوم اثر سیتوتوکسیک بالقوه‌ای بر سلول‌های سرطانی داشته و باعث مرگ سلولی سلول‌های سرطانی معده می‌شوند و می‌توانند پس از بررسی و مطالعه بر نمونه‌های حیوانی در شرایط آزمایشگاه و انجام پژوهش‌های تکمیلی به‌عنوان داروی جایگزین در درمان سرطان معده محسوب شوند.

**تشکر و قدردانی:** نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از کمیته تحقیقات دانشجویی و مدیریت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل و مدیریت گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی به خاطر همکاری در این مطالعه قدردانی نماید.

این مقاله بر گرفته از پایان‌نامه ثبت شده در شورای پژوهشی دانشکده پزشکی اردبیل است و نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

## منابع

1. Foltinová V, Švihálková Šindlerová L, Horváth V, Sova P, Hofmanova J, Janisch R, et al. Mechanisms of Effects ofP latinum (II) and (IV) Complexes. Comparison of Cisplatin and Oxaliplatin with Satraplatin and LA-12, New Pt (IV)-Based Drugs. A Minireview. Scripta Medica (BRNO). 2008;81:105-16.

2. Anand P, Kunnumakara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Tharakan ST, Lai OS, et al. Cancer is a Preventable Disease that Requires Major Lifestyle Changes. Pharmaceutical Research 2008;25(9 ):2097-116.

3. Lippard SJ. Chemistry and Molecular Biology of Platinum Anticancer Drugs. Pure Appl Chem1987; 59 (6):731- 42.

4. Levi F, Metzger G, Massari C, Milano G. Oxaliplatin: Pharmacokinetics and Chronopharmacological Aspects. Clinical Pharmacokinetics 2000; 38 (1):1-21.

5.Barnes KR, Kutikov A, Lippard SJ. Synthesis, Characterization, and Cytotoxicity of a Series of Estrogen-tethered Platinum(IV) Complexes. Chemistry & Biology. 2004;11(4):557-64.

6.Katano K, Kondo A, Safaei R, Holzer A, Samimi G, Mishima M, et al. Acquisition of Resistance to Cisplatin is Accompanied by Changes in the Cellular Pharmacology of Copper. Cancer Research 2002;62( 22):6559-65.

7. Komatsu M, Sumizawa T, Mutoh M, Chen Z-S, Terada K, Furukawa T, et al. Copper-transporting P-Type Adenosine Triphosphatase (ATP7B) is Associated with Cisplatin Resistance. Cancer Research. 2000;60(5 ):1312-6.

8. Cepeda V, Fuertes MA, Castilla J, Alonso C, Quevedo C, Perez JM. Biochemical Mechanisms of Cisplatin Cytotoxicity. Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry 2007;7(1):3-18.

9.Bruijnincx PC, Sadler PJ. Controlling Platinum, Ruthenium and Osmium Reactivity for Anticancer Drug Design. Advances in Inorganic Chemistry 2009;61:1-62.

10.Sobrero A, Guglielmi A, Aschele C, Rosso R. Current Strategies to Reduce Cisplatin Toxicity. Journal of Chemotherapy 1990;2(1):3-7.

11.Azoulay-Zohar H, Israelson A, Abu-Hamad S, Shoshan-Barmatz V. In Self-defence: Hexokinase Promotes Voltage-dependent Anion Channel Closure and Prevents Mitochondria-Mediated Apoptotic Cell Death. Biochem J 2004;377:347-55.

12.Eriguchi M, Nonaka Y, Yanagie H, Yoshizaki I, Takeda Y, Sekiguchi M. A Molecular Biological Study of Anti-tumor Mechanisms of an Anti-cancer Agent Oxaliplatin Against Established Human Gastric Cancer Cell Lines. Biomedicine & Pharmacotherapy= Biomedecine & Pharmacotherapie. 2003;57(9 ):412-5.

13. Mansouri-Torshizi H, M IM, Divsalar A, Saboury AA. 2,2'-Bipyridinebutyldithiocarbamatoplatinum(II) and Palladium(II) Complexes: Synthesis, Characterization, Cytotoxicity, and Rich DNA-binding Studies. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2008; 16(21): 9616-25.

14.Mansouri-Torshizi H, Moghaddam MI, Divsalar A, Saboury AA. Diimine Platinum(II) and palladium(II) Complexes of Dithiocarbamate derivative as potential Antitumor Agents: Synthesis, Characterization, Cytotoxicity, and Detail dna-binding Studies. Journal of Biomolecular Structure & Dynamics 2009; 26(5):575-86.

15.Mansouri-Torshizi H, Saeidifar M, Divsalar A, Saboury AA. Interaction Studies Between a 1,10-Phenanthroline Adduct of Palladium(II) Dithiocarbamate Anti-tumor Complex and Calf Thymus DNA. A synthesis Spectral and in-vitro Study. Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy 2010;77(1 ):312-8.

16. Bowen RJ, Caddy J, Fernandes MA, Layh M, Mamo MA, Meijboom R. Synthesis and Characterisation of Dialkyltin 2, 3-bis (Diphenylphosphino) Maleic acid Adducts. Journal of Organometallic Chemistry 2006;691(4):717-25.

17. Aryanpour N, Mansouri-Torshizi H, Nakhjavan M, H Shirazi F. Cytotoxicity of Diimine Palladium (II) Complexes of Alkyldithiocarbamate Derivatives on Human Lung, Ovary and Liver Cells. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 2012;11(2 ):689-95.

# Anti-cancer Effects of Palladium Complexes on Gastric Cancer Cell Line (AGS)

Mazani M.(PhD)[1]-Hadizadeh Sh.(MSc)[1]-[*]Najafzadeh N.(PhD)[2]-Amani M.(PhD)[3]-Mansouri Torshizi H.(PhD)[4]

[*]**Corresponding Address:** Department of Anatomy and Pathology, Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

**Email: n.najafzade@arums.ac.ir**

**Received: 18 Jan/2013 Accepted : 28 Jan/2014**

## Abstract

**Introduction:** Chemotherapy drugs are used to treat various types of neoplasms. In dong so, such drugs leave many side effects. Furthermore, in recent years, several attempts have been made to develop drugs based on platinum or palladium which have low toxicity and is more sensitive to the drug-resistant diseases.

**Objective:** To evaluate the effects of newly synthetized palladium complexes, as anticancer drugs, on gastric cancer cell line (AGS).

**Materials & Methods:** In this study, gastric cancer cell line (AGS) was purchased from Pasteur Institute, Iran and cultivated in RPMI 1640 and then, the cytotoxic effects of various concentrations of newly synthesized complexes were evaluated by clonogenic assay and acridine orange/ ethedium bromide staining.

**Results:** The results showed that the new complexes have different effects in concentration-dependent manner so that complexe1 $\geq$ 0.1 µg /ml, complexe2 $\geq$ 0.05 µg /ml and complexe3 $\geq$ 1 µg /ml lead to cell death by apoptosis and necrosis. Comparison of the number of colonies formed after treatment with concentrations of palladium complexes showed significant differences, compared with controls ($P<0.001$).

**Conclusion:** In this study, it was demonstrated that the use of low concentrations of palladium complexes of dithiocarbamate derivative increases apoptosis and necrosis, also, reduces the number of cell colonies, thus, it can be considered as an alternative drug for the treatment of gastric cancer**.**

**Conflict of interest: non declared**

**Keywords:** Apoptosis/ Necrosis/ Palladium/ Stomach Neoplasms/ Tumor Stem Cell

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 90, Pages: 72-79

**Please cite this article as:** Mazani M, Hadizadeh Sh, Najafzadeh N, Amani M, Mansouri Torshizi H. Anti-cancer Effects of Palladium Complexes on Gastric Cancer Cell Line (AGS). J of Guilan University of Med Sci 2014; 23(90):72-79. [Text in Persian]

1. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
2. Department of Anatomy and Pathology,Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
3. Department of Biophysics,Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
4. Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran