*Original Article*

# The effect of new palladium (II) complexes of dithiocarbamate derivatives on the morphology and clonogenicity of liver cancer cell line

**Hadizadeh Sh[1], Mazani M[1*], Najafzadeh N[2], Mansouri-Torshizi H[3], Pourheydar B[4], Mirzanejad-Asl H[5]**

1- Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, I. R. Iran.
2- Department of Anatomy and Pathology, Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, I. R. Iran.
3- Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, University of Sistan and Baluchistan, Zahedan, I. R. Iran.
4- Department of Anatomy and Pathology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, I. R. Iran.
5- Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, I. R. Iran.

Received April 8, 2014; Accepted October 29, 2014

## Abstract:

**Background:** While today different drugs have been used to treat cancer, none of them have proved to be effective. Heavy metal complexes (e.g., platinum and palladium) can be useful in the treatment of cancer. The purpose of this study was to evaluate the effects of newly synthetized palladium complexes on the morphology and clonogenicity of liver cancer cell line (HepG2).

**Materials and Methods:** New palladium complexes were synthesized in the chemistry lab, University of Sistan and Baluchesta. The cytotoxicity and anti-cancer effects of newly synthesized complexes were evaluated using the clonogenic and cell death assay (apoptosis and necrosis) using acridine orange/ ethidium bromide double staining.

**Results:** The results of this study showed that the new complexes had potential concentration-dependent effects on HepG2 cell line. There was a significant difference between the number of colonies formed after treatment with different concentrations of palladium complexes (0.5, 1, 2, 4 and 8 µg/ml) compared to those in the control group ($P$<0.01). Furthermore, the cells stained with acridine orange/ethidium bromide indicated the occurrence of apoptosis in cancer cells after the treatment with various concentrations of palladium complexes.

**Conclusion:** The results of this study show the anti-cancer effect of palladium complexes on HepG2 cell lines. Also, the palladium complexes can reduce the number of cell colonies and cause cell death by apoptosis.

**Keywords:** HepG2, DNA, Apoptosis, Necrosis

* **Corresponding Author.**
**Email:** m.mazani@arums.ac.ir
**Tel:** 0098 914 454 7394
**Fax:** 0098 453 351 3776

Conflict of Interests: ***No***

***Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, February, 2015; Vol. 18, No 6, Pages 506-514***

***Please cite this article as:*** Hadizadeh Sh, Mazani M, Najafzadeh N, Mansouri-Torshizi H, Pourheydar B, Mirzanejad-Asl H. The effect of new palladium (II) complexes of dithiocarbamate derivatives on the morphology and clonogenicity of liver cancer cell line. ***Feyz*** 2014; 18(6): 506-14.

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-14 ]

# اثر کمپلکس‌های جدید پالادیوم دی‌تیوکارباماتی بر مورفولوژی و کلونی‌زایی سلول‌های سرطان کبد

شهرام هادی زاده [۱]، محمد ماذنی [۲*]، نوروز نجف زاده [۳]، حسن منصوری ترشیزی [۴]، باقر پورحیدر [۵]، حافظ میرزانژاد اصل [۶]

**خلاصه:**

**سابقه و هدف:** تاکنون داروهای متفاوتی برای درمان سرطان‌ها ارائه شده است، اما هیچ‌یک باعث درمان کامل سرطان نشده است. کمپلکس‌های فلزات سنگین مانند پلاتین و پالادیوم می‌توانند در درمان برخی سرطان‌ها مفید باشند. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات کمپلکس‌های جدید پالادیوم بر مورفولوژی و کلونی‌زایی رده سلولی سرطان کبد انجام شده است.

**مواد و روش‌ها:** کمپلکس‌های جدید پالادیوم در آزمایشگاه شیمی دانشگاه سیستان و بلوچستان سنتز شد و به‌منظور بررسی اثرات سمیت سلولی و ضد سرطانی آن روی رده سلول سرطانی کبد از روش‌های ارزیابی کلونی و بررسی مرگ سلولی (آپوپتوز و نکروز) توسط رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج/اتدیوم بروماید استفاده گردید.

**نتایج:** بررسی نتایج نشان داد که کمپلکس‌های جدید تاثیر بالقوه‌ای به‌صورت وابسته به غلظت بر رده سلولی سرطان کبد دارد. تعداد کلونی‌های شکل گرفته بعد از تیمار با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر کمپلکس‌های پالادیوم، اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با کنترل نشان داد ($P<0/01$). هم‌چنین، رنگ‌آمیزی سلول‌ها با رنگ آکریدین اورنج/اتیدیوم بروماید نشان‌دهنده وقوع آپوپتوز پس از تیمار سلول‌های سرطانی با غلظت‌های مختلف سه کمپلکس پالادیوم بود.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های این مطالعه نشان داد که استفاده از کمپلکس‌های پالادیوم تاثیر ضد سرطانی بالایی در برابر رده سلولی سرطان کبد داشته و می‌تواند تعداد کلونی سلولی را کاهش دهد و باعث آپوپتوز شود.

**واژگان کلیدی:** رده سلولی HepG2، DNA، آپوپتوز، نکروز

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره هجدهم، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۳، صفحات ۵۱۴-۵۰۶

**مقدمه**

هپاتوسلولار کارسینوما (HCC) از شایع‌ترین سرطان‌های اولیه کبد است و سومین سرطان منجر به مرگ در دنیا می‌باشد [۱]. این سرطان هفتمین سرطان شایع در مردان و نهمین سرطان در زنان می‌باشد [۲]. این سرطان از هپاتوسیست‌ها که از سلول‌های اصلی کبد می‌باشند، منشا می‌گیرد. از عوامل اصلی در ایجاد HCC می‌توان به سیروز کبدی و هپاتیت ویروسی (هپاتیت B و C) اشاره کرد [۱]. از هر چهار مورد سرطانی که از کبد منشا می‌گیرد سه مورد مربوط به این نوع سرطان می‌باشد.

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

[۲] دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

[۳] استادیار، گروه علوم تشریحی و پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

[۴] استاد، گروه شیمی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان

[۵] استادیار، گروه آناتومی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

[۶] استادیار، گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

* **نشانی نویسنده مسئول:**
اردبیل، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، دانشکده‌ی پزشکی، گروه بیوشیمی بالینی

**تلفن:** ۰۹۱۴ ۴۵۴۷۳۹۴ **دورنویس:** ۰۴۵۳۳۵۱۳۷۷۶

**پست الکترونیک:** m.mazani@arums.ac.ir

**تاریخ دریافت:** ۹۳/۱/۱۹ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۳/۸/۷

HCC می‌تواند الگوی رشد متفاوتی داشته باشد؛ گاهی به‌صورت یک تومور منفرد رشد کرده و در اواخر بیماری به بخش‌های دیگر کبد پخش می‌شود و در بعضی مواقع هم یک تومور واحد نمی‌باشد، بلکه به صورت تعداد زیادی لکه (Spots) در سراسر کبد ایجاد می‌شود. این نوع از سرطان بیشتر در افراد مبتلا به آسیب‌های پایدار کبد (سیروز) به‌وجود می‌آید [۷-۳]. مطالعات انجام شده توسط Rosenberg و همکارانش نشان داد که کمپلکس‌های فلزی دارای پلاتین (II) و پلاتین (IV) هر دو خاصیت ضد سرطانی از خود نشان می‌دهند [۸]. به‌دنبال مطالعات و آزمایشات کلینیکی وسیع، سیس پلاتین به‌عنوان یک داروی ضد سرطان توسط اداره دارو و غذای آمریکا مورد قبول قرار گرفت [۹]. در حال حاضر نیز از سیس پلاتین به‌عنوان یک داروی ضد سرطان در درمان سرطان‌های بیضه، تخمدان، مثانه، سرویکس، سر و گردن، و مری استفاده می‌شود [۱۴-۱۰]. مکانیسم بیوشیمیایی ضد سرطانی سیس پلاتین مربوط به اتصال این دارو با DNA از طریق پیوند کووالانسی با اتم N7 حلقه ایمیدازول موجود در باز گوانوزین یا آدنوزین می‌باشد [۱۷-۱۵]. این اتصال به‌صورت‌های پیوند بین رشته‌ای، پیوند داخل رشته‌ای و پیوند بین مولکولی می‌باشد [۱۸]. هم‌چنین، سیس پلاتین علاوه بر DNA با بسیاری از ترکیبات داخل سلولی نظیر گلوتاتیون، سیستئین، میتونین و دیگر



[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-14 ]

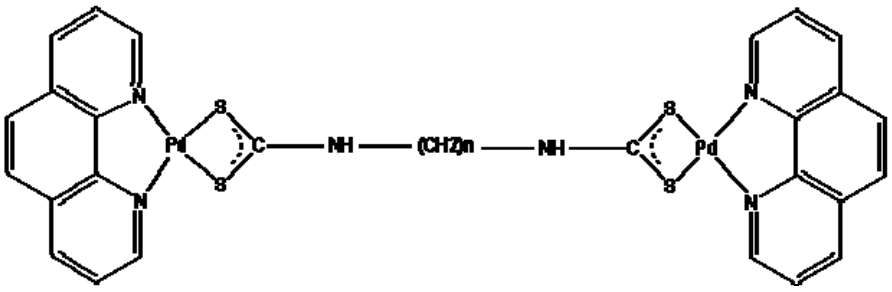
بیومولکول‌های حاوی اتم S می‌تواند پیوند برقرار کند که باعث غیر فعال شدن آن می‌گردند [۲۰،۱۹]. از مکانیسم‌های ایجاد مقاومت در سلول‌های سرطانی نسبت به سیس پلاتین می‌توان به غیرفعال شدن آن در داخل سلول توسط مولکول‌های تیول‌دار، وجود مکانیسم‌هایی برای خارج کردن آن از سلول، افزایش مکانیسم‌های ترمیمی DNA و ایجاد تحمل نسبت به آن اشاره کرد [۲۲،۲۱،۱۱]. به‌علت وجود اثرات جانبی سیس پلاتین مانند توکسیسیته، اتوتوکسیسیته، نفروتوکسیسیته، آسیب‌های دستگاه گوارش و آسیب‌های مغز استخوان، همواره تلاش‌های زیادی برای پیدا کردن داروها و کمپلکس‌هایی با قدرت ضد سرطانی بالا و اثرات جانبی کمتر صورت گرفته است [۲۵-۲۳]. یکی از استراتژی‌های کاهش اثرات جانبی ترکیبات حاوی فلزات سنگین، استفاده از فلزاتی است که خاصیت سمی کمتری نسبت به پلاتین دارند؛ به همین علت استفاده از دیگر فلزات گروه پلاتین نظیر پالادیوم، روتنیوم، رودیم، اسمیوم و ایریدیوم در تحقیقات مورد توجه قرار گرفته است [۱۰]. رویکرد دیگر استفاده از کمپلکس‌های حاوی لیگاند سولفوردار مانند سیستئین، پنسیل آمین، میتونین، تیوره، تیوسولفات و به‌خصوص لیگاند شلاته کننده دی اتیل دی تیوکاربامات (DDTC) می‌باشد که این لیگاندها باعث کاهش سمیت فلزات سنگین بر کلیه و دیگر بافت‌های بدن می‌شوند [۲۶،۱۰] و این به‌علت خاصیت عناصر S و N می‌باشد که باعث کاهش اثرات جانبی فلزات سنگین می‌گردد [۲۷،۱۰]. کمپلکس‌های مورد مطالعه در این تحقیق با مکانیسم متفاوت از سیس پلاتین با DNA پیوند برقرار می‌کنند. به‌علت ساختمان مسطح ۱ و ۱۰ فنانترولین که در ساختمان این سه کمپلکس جدید حضور دارد، این سه کمپلکس می‌توانند از طریق پیوند اینترکالیشن با DNA اتصال برقرار کنند. این کمپلکس‌های جدید در مقایسه با سیس پلاتین انتظار می‌رود که اثرات سمی کمی بر روی سلول‌های کلیوی داشته باشند؛ زیرا آنها با گروه‌های سولفیدریل سلول‌های توبول‌های کلیه واکنش نشان نمی‌دهند [۲۸]. لذا، با توجه به گزارشاتی که بیانگر پایین بودن اثرات سمی کمپلکس‌های پالادیوم حاوی گروه‌های دی‌تیول بر روی سلول‌های کلیه بوده و هم‌چنین بالا بودن میزان بروز و مرگ و میر ناشی از سرطان کبد بر آن شدیم که اثر این سه کمپلکس را بر رده سلولی مربوط به سرطان کبد مورد بررسی قرار دهیم.

## مواد و روش‌ها

### داروها

کمپلکس‌های پالادیوم ذیل در آزمایشگاه شیمی دانشگاه سیستان و بلوچستان مشابه پروتکل گزارش شده توسط منصوری ترشیزی و همکاران ساخته شد [۲۹].

کمپلکس۱: μ-۱،۳- پروپیلن بیس (دی تیوکربامات) بیس (۱،۱۰- فنانترولین پالادیوم (II)) نیترات؛ کمپلکس۲: μ-۴،۱۱- بوتیلن بیس (دی تیوکربامات) بیس (۱،۱۰- فنانترولین پالادیوم (II)) نیترات؛ و کمپلکس۳: μ- ۱،۸- اوکتیلن بیس (دی تیوکربامات) بیس (۱،۱۰- فنانترولین پالادیوم (II)) نیترات. ساختار مولکولی این سه ترکیب در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.




شکل شماره ۱- ساختار مولکولی کمپلکس‌های جدید پالادیوم که n می‌تواند اعداد ۳ (کمپلکس۱)، ۴ (کمپلکس۲) و یا ۸ (کمپلکس۳) باشد.

### گروه‌ها

گروه‌هایی که در ارزیابی کلونی و بررسی مرگ سلولی استفاده شد به شرح ذیل است: الف) گروه کنترل که به‌مدت هفت روز تحت تاثیرهیچ‌گونه دارویی قرار نمی‌گرفت؛ و ب) گروه تیمار که در این گروه سلول‌ها تحت تاثیر غلظت‌های صفر تا ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر (۰،۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸) از کمپلکس‌های جدید پالادیوم برای ارزیابی کلونی و رنگ آمیزی آکریدین اورنج و اتدیوم بروماید قرار گرفتند.

### کشت سلولی

رده سلولی (Human Liver Hepato- HepG2 cellular Carcinoma cell line) از شرکت انستیتو پاستور

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-14 ]

ایران خریداری شد و در محیط RPMI-1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و محلول آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین/ استرپتومایسین ۱ درصد کشت داده شد و سپس در انکوباتور، در دمای ۳۷°C و ۵ درصد CO2 نگهداری شد.

ارزیابی مورفولوژی سلولی

رده سلولی سرطان کبد (HepG2) در پلیت فلاسک T25 کشت داده شد. بعد از گذشت یک هفته آنها را با تریپسین جدا کرده و پس از سانتریفوژ کردن، تعداد ۱۲ هزار سلول در هر پلیت شش خانه به‌مدت هفت روز کشت داده شدند. روز اول محیط کشت سلول‌ها با دوزهای مختلف از سه نوع کمپلکس پالادیومی تعویض شد. بعد از هفت روز، سلول‌ها با مخلوط رنگ آکریدین اورنج (۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و اتدیوم بروماید (۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) رنگ‌آمیزی شدند و ۵ دقیقه بعد با میکروسکوپ فلوئورسنت مدل المپیوس تصاویر تهیه گردید. هسته سلول‌های آپوپتوتیک متراکم و قطعه قطعه شده و به راحتی از سلول‌های طبیعی قابل تمایز هستند، 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 قطعه قطعه قابل تفکیک می‌باشند. سلول‌های نکروتیک نیز به رنگ زرد متمایل به قرمز و یک‌دست و بدون قطعه قطعه شدن هسته مشخص می‌باشند و سلول‌های سالم نیز به رنگ سبز پر رنگ هستند [۳۰].

ارزیابی تعداد کلونی

برای ارزیابی کلونی سلولی، ابتدا سلول‌ها را ترپسینه و از کف پلیت جدا کرده و تعداد ۱۲۰۰۰ سلول را در ۲ میلی‌لیتر محیط کشت ریخته و آن را در پلیت شش خانه به تعداد ۲۰۰۰ سلول در هر خانه کشت داده و سپس سلول‌ها را به‌مدت 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 سلول‌ها با رنگ کریستال ویوله (۰/۵ درصد کریستال ویوله در متانول ۰/۲ درصد) رنگ آمیزی شدند و تصاویری از هر خانه از پلیت شش خانه تهیه شد و کلونی‌ها بیش از ۵۰ سلول با برنامه ImageJ شمارش شدند و اندازه کلونی‌ها به‌صورت ماکروسکوپی از روی این تصاویر مورد بررسی قرار گرفت (کلونی‌هایی که دارای تعداد سلول‌های بیشتری هستند در رنگ آمیزی کریستال ویوله پر رنگ‌تر و بزرگتر دیده می‌شوند) [۳۱].

آنالیز آماری

در تمامی مراحل، هر آزمون سه بار تکرار شده و داده‌های به‌دست آمده به‌صورت انحراف معیار ± میانگین بیان شدند. کلونی‌ها و هم‌چنین سلول‌های رنگ آمیزی شده با آکریدین اورنج و اتدیوم بروماید با برنامه ImageJ شمارش شدند و برای تجزیه و تحلیل اطلاعات به‌دست آمده از شمارش کلونی، از نرم افزار آماری SPSS (ویرایش ۱۶) و روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و پس آزمون توکی استفاده گردید. در تمام بررسی‌ها سطح معنی‌دار آزمون‌ها $P<0/05$ در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

## نتایج

ارزیابی تعداد کلونی‌ها

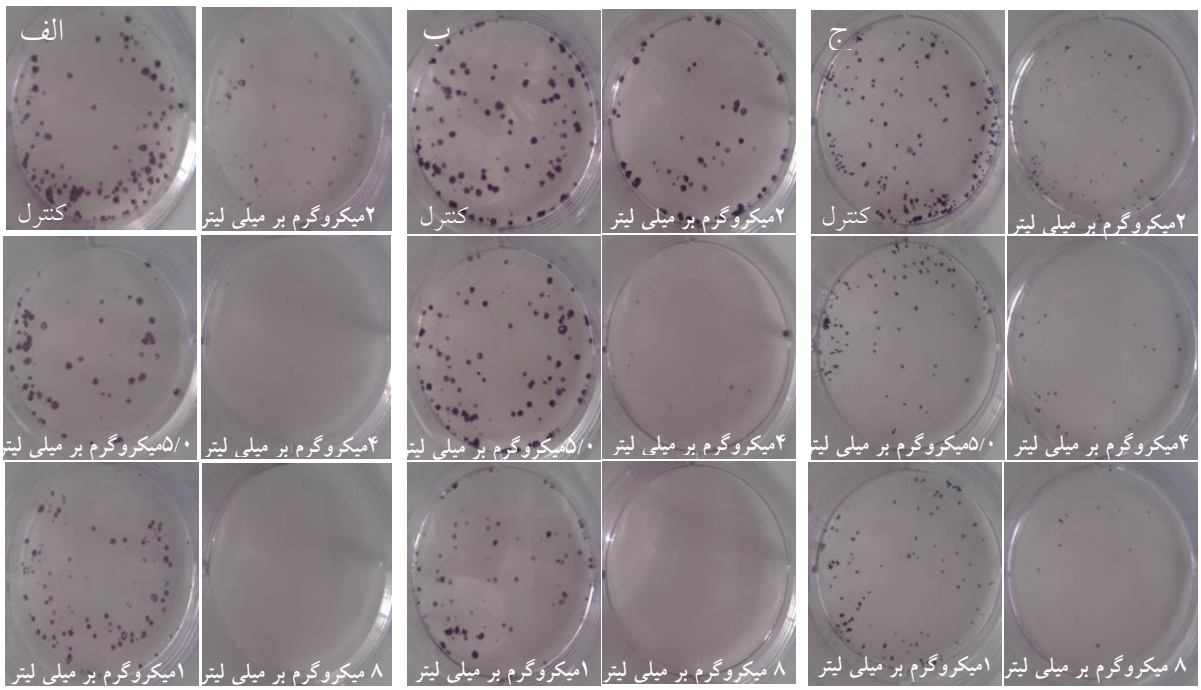
ارزیابی کلونی‌ها با رنگ آمیزی کریستال ویوله نشان داد که تعداد کلونی‌های با بیش از ۵۰ سلول با افزایش غلظت دارو در هر سه کمپلکس پالادیوم کاهش یافته؛ به‌طوری‌که در سلول‌های تیمار شده با کمپلکس یک، تعداد کلونی‌ها در غلظت‌های ۰/۵ تا ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافته تا اینکه در غلظت‌های ۴ و ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر به صفر می‌رسد (نمودار شماره ۱) و در کمپلکس ۲ نیز تعداد کلونی‌ها بعد از تیمار با غلظت‌های مختلف روند کاهشی از خود نشان می‌دهد تا اینکه در غلظت ۸ میکروگرم به صفر می‌رسد. در کمپلکس ۳ نیز روند کاهشی تعداد کلونی‌های تیمار شده از غلظت ۰/۵ تا ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر دیده می‌شود و کمترین تعداد کلونی در غلظت ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده می‌گردد (نمودار شماره ۱). نتایج نشان داد که بین گروه‌های کنترل و تیمار شده با کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳، در تعداد کلونی‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد؛ به‌طوری‌که تعداد کلونی‌ها با افزایش غلظت کمتر شده است (نمودار شماره ۱). همان‌طور که در تصویر شماره ۲ مشخص است، اندازه کلونی‌ها در پلیت‌های تیمار شده با کمپلکس ۱، ۲ و ۳ در مقایسه با پلیت کنترل که هیچ‌گونه تیماری دریافت نکرده‌اند، کوچک‌تر می‌باشد.

بررسی مرگ سلولی

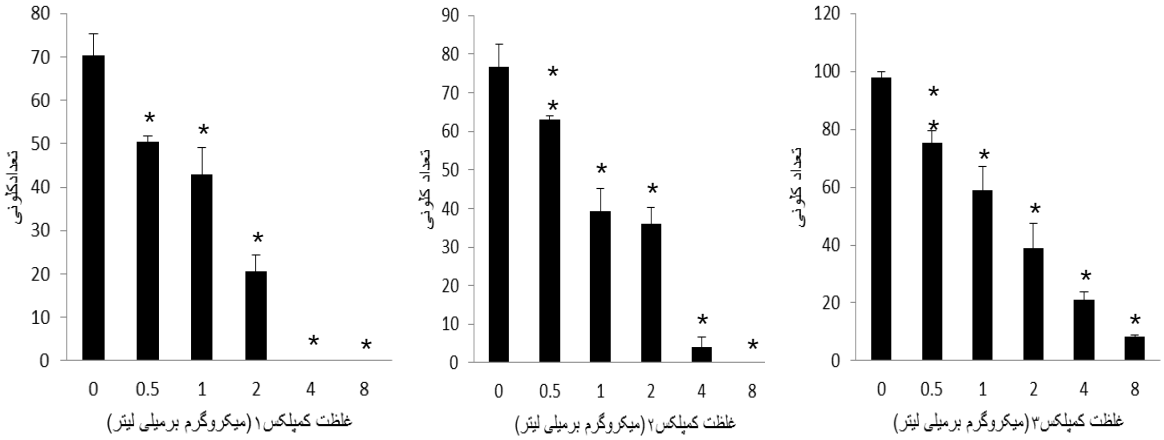
سلول‌ها در پلیت ۶ خانه به‌مدت یک هفته تحت تاثیر دوزهای مختلف کمپلکس‌های پالادیوم قرار گرفتند و بعد از رنگ آمیزی با آکریدین اورنج و اتدیوم بروماید سلول‌های زنده، آپوپتوتیک و نکروتیک مورد بررسی قرار گرفتند (شکل شماره ۳). نتایج این رنگ آمیزی نشان داد که با افزایش غلظت هر سه کمپلکس پالادیوم، درصد سلول‌های آپوپتوتیک و نکروتیک نسبت

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-14 ]

به سلول‌های سالم افزایش می‌یابد و در این بین درصد سلول‌های آپوپتوتیک خیلی بیشتر از درصد سلول‌های نکروتیک افزایش می‌یابد. هم‌چنین، جدول شماره ۱ و نمودار شماره ۲ گویای این مطلب است که با افزایش غلظت هر سه کمپلکس تعداد سلول‌های سرطانی زنده کاهش پیدا می‌کند؛ به‌طوری‌که در غلظت‌های ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر از کمپلکس‌های ۱ و۲ درصد سلول‌های زنده برابر صفر می‌باشد و در سلول‌های تیمار شده با غلظت ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر از کمپلکس ۳ نیز درصد سلول‌های زنده بسیار پایین و برابر ۱/۳ درصد می‌باشد.

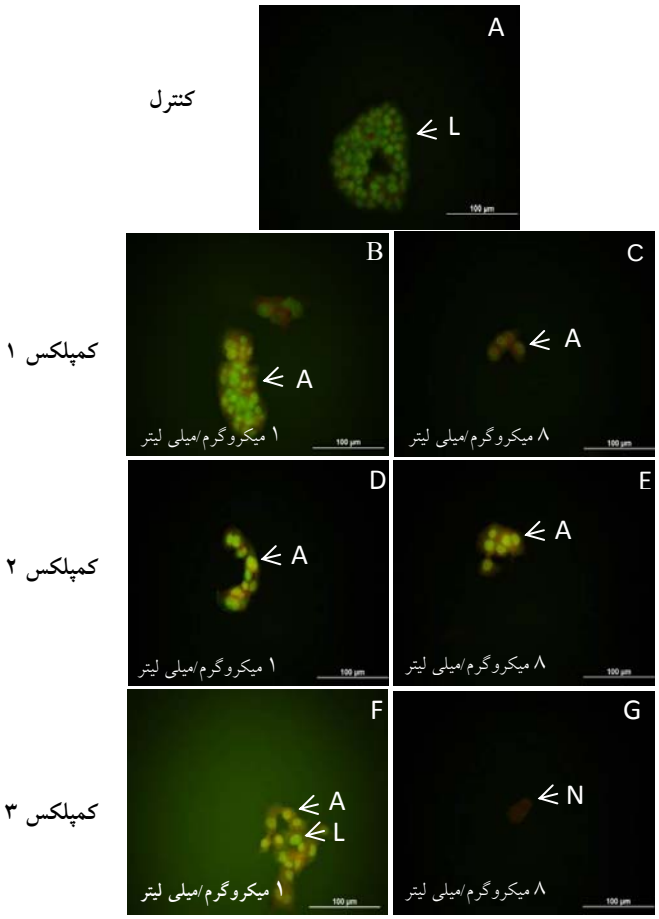



شکل شماره ۲- تصویر کلونی‌های ایجاد شده رده سلولی سرطان کبد (HepG2) بعد از تیمار با غلظت‌های مختلف کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳
الف: سلول‌های تیمار شده با کمپلکس ۱، ب: سلول‌های تیمار شده با کمپلکس ۲، ج: سلول‌های تیمار شده با کمپلکس ۳




نمودار شماره ۱- این نمودار تاثیر رقت‌های مختلف کمپلکس‌های ۱، ۲ و۳ بر تعداد کلونی‌های رده سلولی HepG2 را نشان می‌دهد. اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌های تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل در هر سه کمپلکس ۱، ۲ و۳ مشاهده می‌گردد. (*$P$<۰/۰۰۱) و (**$P$<۰/۰۱)

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-14 ]

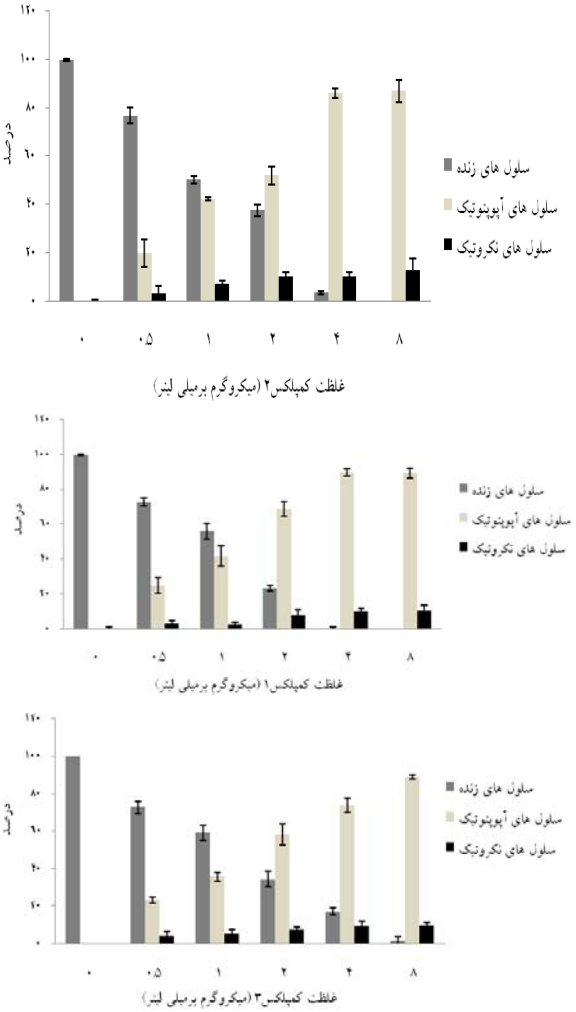



شکل شماره ۳- رنگ آمیزی سلول‌ها با آکریدین اورنج/ اتدیوم بروماید بعد از هفت روز کشت در حضور غلظت‌های مختلف کمپلکس‌های ۱، ۲ و۳. بعد از تاثیر غلظت‌های مختلف کمپلکس‌های فوق، درصد سلول‌های آپوپتوتیک و نکروتیک از دوزهای کمتر به دوزهای بیشتر افزایش یافت. همان‌گونه که در این تصویر دیده می‌شود سلول‌های زنده با هسته‌ای سبز رنگ از سلول‌های آپوپتوتیک که دارای هسته‌ای زرد رنگ و قطعه قطعه هستند قابل تفکیک می‌باشند. سلول‌های نکروتیک نیز با هسته‌ای قرمز رنگ در شکل مشخص می‌باشد. L : Live، N: Necrosis و Ap: Apoptosis.

جدول شماره ۱- درصد سلول‌های زنده، آپوپتوتیک و نکروتیک سلول‌های سرطان کبد که با دوزهای مختلف کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳ تیمار شده‌اند. هر آزمون سه بار تکرار شده و داده‌های به‌دست آمده به‌صورت انحراف معیار ± میانگین بیان شده‌اند.

| کمپلکس۳ | | | کمپلکس۲ | | | کمپلکس۱ | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| درصد سلول-های نکروتیک | درصد سلول-های آپوپتوتیک | درصد سلول-های زنده | درصد سلول-های نکروتیک | درصد سلول-های آپوپتوتیک | درصد سلول-های زنده | درصد سلول-های نکروتیک | درصد سلول-های آپوپتوتیک | درصد سلول-های زنده | غلظت (میکروگرم بر میلی لیتر) |
| ۰/۰±۰/۰ | ۰/۰±۰/۰ | ۱۰۰/۰±۰/۰ | ۰/۳±۰/۶ | ۰/۰±۰/۰ | ۹۹/۷±۰/۶ | ۰/۳±۰/۶ | ۰/۰±۰/۰ | ۹۹/۷±۰/۶ | ۰ |
| ۴/۰±۲/۶ | ۲۳/۳±۱/۵ | ۷۲/۷±۳/۰ | ۳/۳±۳/۲ | ۲۰/۰±۵/۶ | ۷۶/۷±۳/۲ | ۲/۷±۲/۱ | ۲۴/۷±۴/۵ | ۷۲/۷±۲/۵ | ۰/۵ |
| ۵/۳±۲/۳ | ۳۵/۷±۲/۳ | ۵۹/۰±۴/۰ | ۷/۳±۱/۱ | ۴۲/۳±۰/۶ | ۵۰/۳±۱/۵ | ۲/۳±۱/۵ | ۴۱/۷±۵/۷ | ۵۶/۰±۴/۴ | ۱ |
| ۷/۳±۱/۵ | ۵۸/۳±۵/۵ | ۳۴/۳±۴/۰ | ۱۰/۳±۱/۵ | ۵۲/۰±۳/۶ | ۳۷/۷±۲/۳ | ۸/۰±۳/۰ | ۶۸/۷±۴/۲ | ۲۳/۳±۱/۵ | ۲ |
| ۹/۳±۲/۵ | ۷۳/۷±۳/۸ | ۱۷/۰±۲/۰ | ۱۰/۳±۱/۵ | ۸۶/۰±۲/۰ | ۳/۷±۰/۶ | ۱۰/۰±۲/۰ | ۸۹/۷±۲/۱ | ۰/۳±۰/۶ | ۴ |
| ۹/۷±۱/۵ | ۸۹/۰±۱/۰ | ۱/۳±۲/۳ | ۱۳/۰±۴/۶ | ۸۷/۰±۴/۶ | ۰/۰±۰/۰ | ۱۰/۷±۲/۹ | ۸۹/۳±۲/۹ | ۰/۰±۰/۰ | ۸ |

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-14 ]




نمودار شماره ۲- مقایسه تعداد سلول‌های زنده، آپوپتوتیک و نکروتیک در رده سلولی HepG2 تیمار شده با غلظت‌های مختلف کمپلکس‌های ۱، ۲ و ۳.

## بحث

در دهه ۱۹۶۰ با مطالعات گسترده‌ای که روی موش‌های آزمایشگاهی صورت گرفت مشخص گردید که سیس پلاتین -*cis*] diamminedichloroplatinum (II) ] or *cis*-DDP دارای خاصیت ضد سرطانی بوده و ایزومر ترانس آن فاقد این اثر بوده و عملا غیرفعال می‌باشد. با این‌حال استفاده از این دارو به‌لحاظ اینکه به بسیاری از بافت‌های سالم بدن آسیب می‌زند، محدودیت-های قابل توجهی دارد. این محدودیت‌ها باعث شده است تا تلاش‌هایی جهت ساخت داروهایی بر پایه پلاتین یا پلادیوم انجام شود که نسبت به سلول‌های طبیعی دارای سمیت کم و نسبت به سلول‌های سرطانی قدرت تخریبی بالا داشته باشد. بنابراین، استفاده از دیگر فلزات گروه پلاتین نظیر پالادیوم، روتنیوم، رودیم، اسمیوم و ایریدیوم در تحقیقات مورد توجه قرار گرفته است [۱۰]. هم‌چنین، استفاده از کمپلکس‌های حاوی لیگاند سولفوردار مانند سیستئین، پنسیل آمین، میتونین، تیوره، تیوسولفات و به‌خصوص لیگاند شلاته کننده دی‌اتیل‌دی‌تیوکاربامات (DDTC) مورد توجه قرار گرفته است؛ به‌خاطر اینکه این لیگاندها باعث کاهش سمیت فلزات سنگین بر کلیه و دیگر بافت‌های بدن می‌شوند [۲۶،۱۰] و این به علت خاصیت عناصر S و N می‌باشد که باعث کاهش اثرات جانبی فلزات سنگین می‌گردد [۲۷،۱۰]. انتظار می‌رود کمپلکس‌های مورد استفاده در این تحقیق به‌علت وجود فلز پالادیوم به‌جای فلز پلاتین و هم‌چنین حضور دی‌اتیل‌دی‌تیو-کاربامات در ساختار خود اثر سمی کمتری بر سلول‌های کلیه داشته باشند. نتایج این تحقیق نشان داد که این کمپلکس‌های پالادیوم اثرات سمی بالقوه‌ای بر روی سلول‌های سرطانی کبد دارند؛ به‌طوری‌که حتی غلظت‌های پایین این کمپلکس‌ها (۰/۵ و ۱ میکروگرم) باعث کاهش تعداد کلونی‌های سلول‌های سرطانی کبد می‌شود و در بین این سه کمپلکس اثر سمی کمپلکس ۱ بر روی سلول‌های سرطانی از دو کمپلکس دیگر بیشتر بوده؛ به‌طوری‌که غلظت های ۴ و ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر از این کمپلکس باعث عدم تشکیل هرگونه کلونی از سلول‌های سرطانی کبد شده است. با توجه به اینکه این سه کمپلکس از لحاظ وزن و اندازه مولکولی باهم اختلاف دارند، لذا می‌توان استنباط کرد که کمپلکس ۱ به-خاطر اندازه کوچک‌تری که دارد، دارای قابلیت بهتری برای تشکیل پیوند اینترکالیشن با DNA می‌باشد. رنگ آمیزی آکریدین اورنج/ اتدیوم بروماید نشان داد که هر سه کمپلکس در غلظت‌های پایین باعث آپوپتوز و نکروز سلول‌ها می‌شوند؛ به‌طوری‌که این کمپلکس‌ها در غلظت ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر باعث القا آپوپتوز در سلول‌های زنده گردیدند و هرچه غلظت دوزها افزایش پیدا می‌کرد بر درصد سلول‌های آپوپتوتیک افزوده می‌شد، به‌نظر می-رسد جایگزینی۱،۱۰ -فنانترولین به جای '۲،۲- بای پیریدین که در بعضی از کمپلکس‌های فلزی وجود دارد باعث افزایش فعالیت ضد سرطانی این کمپلکس‌ها می‌شود [۲۹]. موقعیت جانشینی گروه‌ها بر روی لیگاندهای فلزی، نقش مهمی در تعیین فعالیت‌های ضد سرطانی این کمپلکس‌های سنتز شده ایفا می‌کند [۳۲]. در مطالعه مشابهی ترشیزی و همکاران تاثیر دو کمپلکس جدید پلاتینیوم و پالادیوم را بر رده سلولی K562 بررسی کرده و آن را با سیس پلاتین مقایسه کردند. آنها به این نتیجه رسیدند که این دو ترکیب اثرات ضد سرطانی بیشتری نسبت به سیس پلاتین دارند. چرا که سلول‌های این رده حساسیت متفاوتی را در مقابل این دو کمپلکس سنتز شده نشان دادند [۳۳]. در مطالعه‌ی آریان پور و همکاران سه کمپلکس پالادیوم جدید روی سه رده سلولی کبد، ریه و تخمدان مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه با سیس پلاتین



[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-14 ]

مقایسه گردید. در این مطالعه رده سلولی سرطان ریه (A549) بیشترین حساسیت را در مقابل کمپلکس [Pd(bpy)(Bu-]Cl dtc) و رده سلولی سرطان کبد (HepG2) بیشترین حساسیت را در مقابل کمپلکس [Pd(bpy)(hex-dtc)]Cl از خود نشان داد، هم‌چنین، رده سلولی سرطان تخمدان (OV2008) بیشترین حساسیت را در مقابل کمپلکس [Pd(bpy)(Bu-dtc)]Cl از خود نشان داد [۱۰]. با توجه به تفاوت ساختاری و اندازه مولکولی کمپلکس‌های جدید پالادیوم مورد مطالعه در این تحقیق با سه کمپلکس پالادیوم جدید مورد مطالعه در تحقیق آریان‌پور و همکاران این امکان وجود دارد که این کمپلکس‌ها اثرات متفاوتی را بر سلول‌های سرطانی اعمال نمایند. Kontek و همکاران نشان دادند که کمپلکس جدید سنتز شده پالادیوم با فرمول عمومی trans-[PdCl2(2-pmOpe)2] که دارای diethyl(pyridin-2-ylmethyl)phosphates در ساختمان خود می‌باشد، باعث تغییرات مورفولوژیک رده‌های سلولی سرطانی A549 و HT29 می‌گردد. در این رده‌های سلولی این کمپلکس قادر به القاء آپوپتوز و نکروز در سلول‌ها بود [۳۴].

## نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که کمپلکس‌های دی-تیوکرباماتی پالادیوم بر روی مورفولوژی سلول‌های سرطانی تاثیر بالایی داشته و قادر به القای آپوپتوز بوده و هم‌چنین، از کلونی-زایی سلول‌های رده سلولی سرطان کبد می‌کاهد. این کمپلکس‌ها می‌توانند بعد از انجام مطالعات تکمیلی در شرایط درون‌تنی به-عنوان داروی جایگزین مناسب برای درمان سرطان کبد محسوب شوند.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از کمیته تحقیقات دانشجویی و مدیریت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل و مدیریت محترم گروه علوم تشریحی و فیزیولوژی و فارماکولوژی به‌خاطر مساعدت و همکاری در این مطالعه قدردانی نماید. مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه ثبت شده در شورای پژوهشی دانشکده پزشکی اردبیل می‌باشد.

## References:

[1] Colombo M, de Franchis R, Del Ninno E, Sangiovanni A, De Fazio C, Tommasini M, et al. Hepatocellular carcinoma in Italian patients with cirrhosis. ***N Engl J Med*** 1991; 325(10): 675-80.
[2] Bosch FX, Ribes J, Borràs J. Epidemiology of primary liver cancer. ***Semin Liver Dis*** 1999; 19(3): 271-285
[3] Nishiguchi S, Kuroki T, Nakatani S, Morimoto H, Takeda T, Nakajima S, et al. Randomised trial of effects of interferon-α on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic active hepatitis C with cirrhosis. ***Lancet*** 1995; 346(8982): 1051-5.
[4] Saito I, Miyamura T, Ohbayashi A, Harada H, Katayama T, Kikuchi S, et al. Hepatitis C virus infection is associated with the development of hepatocellular carcinoma. ***Proc Natl Acad Sci U S A*** 1990; 87(17): 6547-9.
[5] Benvegnù L, Fattovich G, Noventa F, Tremolada F, Chemello L, Cecchetto A, et al. Concurrent hepatitis B and C virus infection and risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis. A prospective study. ***Cancer*** 1994; 74(9): 2442-8.
[6] Thorgeirsson SS, Grisham JW. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. ***Nat Genet*** 2002; 31(4): 339-46.
[7] Talamo TS, Dekker A, Gurecki J, Singh G. Primary hepatic malignant lymphoma: its occurrence in a patient with chronic active hepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma associated with hepatitis B viral infection. ***Cancer*** 1980; 46(2): 336-9.
[8] Rosenberg B, Van Camp L, Grimley EB, Thomson AJ. The inhibition of growth or cell division in Escherichia coli by different ionic species of platinum (IV) complexes. ***J Biol Chem*** 1967; 242(6): 1347-52.
[9] Turánek J, Kašná A, Záluská D, Neca J, Kvardová V, Knötigová P, et al. New platinum (IV) complex with adamantylamine ligand as a promising anti-cancer drug: comparison of in vitro cytotoxic potential towards A2780/cisR cisplatin-resistant cell line within homologous series of platinum (IV) complexes. ***Anticancer Drugs*** 2004; 15(5): 537-43.
[10] 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. ***Iran J Pharm Res*** 2012; 11(2): 689-95.
[11] Cepeda V, Fuertes MA, Castilla J, Alonso C, Quevedo C, Perez JM. Biochemical mechanisms of cisplatin cytotoxicity. ***Anticancer Agents Med Chem*** 2007; 7(1): 3-18.
[12] Go RS, Adjei AA. Review of the comparative pharmacology and clinical activity of cisplatin and carboplatin. ***J Clin Oncol*** 1999; 17(1): 409-22.
[13] Desoize B, Madoulet C. Particular aspects of platinum compounds used at present in cancer

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-14 ]

treatment. ***Crit Rev Oncol Hematol*** 2002; 42(3): 317-25.
[14] Lebwohl D, Canetta R. Clinical development of platinum complexes in cancer therapy: an historical perspective and an update. ***Eur J Cancer*** 1998; 34(10): 1522-34.
[15] Fuertes MA, Alonso C, Pérez JM. Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance. ***Chem Rev*** 2003; 103(3): 645-62.
[16] Baik MH, Friesner RA, Lippard SJ. Theoretical study of cisplatin binding to purine bases: why does cisplatin prefer guanine over adenine? ***J Am Chem Soc*** 2003; 125(46): 14082-92.
[17] Reedijk J, Lohman PH. Cisplatin: synthesis, antitumour activity and mechanism of action. ***Pharm Weekbl*** 1985; 7(5): 173-80.
[18] Jamieson ER, Lippard SJ. Structure, recognition, and processing of cisplatin-DNA adducts. ***Chem Rev*** 1999; 99(9): 2467-98.
[19] Divsalar A, Saboury AA, Ahadi L, Zemanatiyar E, Mansouri-Torshizi H. Investigation of effects of newly synthesized Pt (2) complex against human serum albumin and Leukemia cell line of K562. ***BMB Rep*** 2010; 43(11): 766-71.
[20] Reedijk J. The mechanism of action of platinum anti-tumor drugs. ***Pure Appl Chem*** 1987; 59(2): 181-92.
[21] Lempefis EL, Reedijk J. Interactions Of Platinum Amin Compounds With Sulfur-containing Biomolecules and DNA Fragments. ***Adv Inorg Chem*** 1992; 37: 175.
[22] To KK, Au-Yeung SC, Ho YP. Differential nephrotoxicity of cisplatin and a novel series of traditional Chinese medicine-platinum anticancer agents correlates with their chemical reactivity towards sulfur-containing nucleophiles. ***Anticancer Drug*** 2006; 17(6): 673-83.
[23] Berry JM, Jacobs C, Sikic B, Halsey J, Borch RF. Modification of cisplatin toxicity with diethyldithiocarbamate. ***J Clin Oncol*** 1990; 8(9): 1585-90.
[24] Lokich J, Anderson N. Carboplatin versus cisplatin in solid tumors: an analysis of the literature. ***Ann Oncol*** 1998; 9(1): 13-21.
[25] Markman M. Toxicities of the platinum antineoplastic agents. ***Expert Opin Drug Saf*** 2003; 2(6): 597-607.
[26] Ho YP, Au-Yeung SC, To KK. Platinum-based anticancer agents: Innovative design strategies and biological perspectives. ***Med Res Rev*** 2003; 23(5): 633-55.
[27] Mansouri-Torshizi H. 2,2′-Bipyridinebutyldithiocarbamatoplatinum (II) and palladium (II) complexes: synthesis, characterization, cytotoxicity, and rich DNA-binding studies. ***Bioorg Med Chem*** 2008; 16(21): 9616-25.
[28] Zhao G, Sun H, Lin H, Zhu S, Su X, Chen Y. Palladium (II) complexes with N, N′-Dialkyl-1, 10-phenanthroline-2, 9-dimathanamine: synthesis, characterization and cytotoxic activity. ***J Inorg Biochem*** 1998; 72(3): 173-7.
[29] 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. ***Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*** 2010; 77(1): 312-8.
[30] Hadizadeh S, Najafzadeh N, Mazani M, Amani M, Mansouri-Torshizi H, Niapour A. Research Article Cytotoxic Effects of Newly Synthesized Palladium (II) Complexes of Diethyldithiocarbamate on Gastrointestinal Cancer Cell Lines. ***Biochem Res Int*** 2014; 2014 (2014): 9.
[31] Mahdavirad M, Najafzadeh N, Ali Niapour A, Jafari A. Cytotoxicity of Zno and Ag/Zno nano-composites on malignant melanoma cell line (A375). ***Arak Med Univ J*** 2014; 17(6): 74-83. [in Persian]
[32] Bowen RJ, Caddy J, Fernandes MA, Layh M, Mamo MA, Meijboom R. Synthesis and characterisation of dialkyltin 2, 3-bis (diphenylphosphino) maleic acid adducts. ***J Organomet Chem*** 2006; 691(4): 717-25.
[33] Mansouri-Torshizi H, I-Moghaddam M, Divsalar A, Saboury AA. 2,2'-Bipyridinebutyldithiocarbamatoplatinum(II) and palladium(II) complexes: synthesis, characterization, cytotoxicity, and rich DNA-binding studies. ***Bioorg Med Chem*** 2008; 16(21): 9616-25.
[34] Kontek R, Matawska-Wasowska K, Kalinowska-Lis U, Kontek B, Ochocki J. Evaluation of cytotoxicity of new trans-palladium (II) complex in human cells in vitro. ***Acta Pol Pharm*** 2011; 68(1): 127-36.

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-14 ]