JARC

علمی-پژوهشی

سنتز و شناسایی کمپلکس نقره (I) شامل '۴-(۴-کوینولین)-۲،۲':۶'،۲''-ترپیریدین: رفتار گرمایی، مطالعه لومینسانس و ویژگی‌های سمی‌بودن سلولی

بدری زمان مؤمنی [۱و*]، ساناز کاظم‌زاده‌اناری [۲] و زهرا شهسواری [۳]

۱. دانشیار شیمی معدنی، گروه شیمی معدنی، دانشکده شیمی، دانشگاه صنعتی خواجه نصیرالدین طوسی، تهران، ایران.
۲. دانشجوی دکتری شیمی معدنی، گروه شیمی معدنی، دانشکده شیمی، دانشگاه صنعتی خواجه نصیرالدین طوسی، تهران، ایران.
۳. استادیار بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

دریافت: بهمن ۱۴۰۱ بازنگری: اسفند ۱۴۰۱ پذیرش: فروردین ۱۴۰۲

10.30495/JACR.2023.1978483.2090 20.1001.1.27835324.2023.17.1.2.0

چکیده

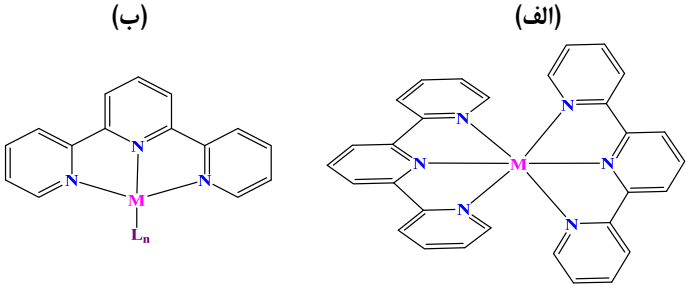
از واکنش نمک نیترات نقره با '۴-(۴-کوینولین)-۲،۲':۶'،۲''-ترپیریدین (qtpy) با نسبت ۱:۱ کمپلکس نقره (I) با عدد هم‌آرایی چهار و فرمول کلی (۱) $[Ag(qtpy)(NO_3)]$ سنتز شد. کمپلکس به‌دست‌آمده با تجزیه عنصری، طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR)، رسانندگی مولی و طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته ($^{1}H, ^{13}C$ NMR) شناسایی شد. در طیف نشری کمپلکس ۱، جابه‌جایی نوار مربوط به انتقال درون لیگاند $\pi \rightarrow \pi^*$ به سمت طول موج‌های بلندتر نسبت به qtpy، نشان‌دهنده کوئوردینه‌شدن لیگاند به نقره است. بررسی پایداری گرمایی کمپلکس ۱ با TGA نشان داد که کمپلکس تا دمای ۳۲۰ °C پایدار است. همچنین، سمی‌بودن سلولی کمپلکس ۱ به‌منظور ارزیابی فعالیت پادتکثیر آن روی رده‌های سلولی گلیوبلاستوما انسانی (U-87MG)، سرطان پستان انسان (MCF-7)، سرطان تخمدان (SCOV-3)، سرطان کولون انسانی (HT-29) و فیبروبلاست‌های پوستی انسانی (AGO1522) با آزمون سمی-بودن سلولی MTT بررسی شد که برای مقایسه از پاکلی‌تاکسول به‌عنوان مرجع استفاده شد. اثر پادسرطانی این کمپلکس بر رده سلولی گلیوبلاستوما اولیه انسانی با IC_{50}: ۶٫۹۳ µM بیشتر از داروی پاکلی تاکسول با IC_{50}: ۲۷٫۳۸µM است و حتی استفاده از غلظت‌های پایین کمپلکس موجب مرگ سلولی شد.

واژه‌های کلیدی: نقره (I)، ترپیریدین، ویژگی‌های گرمایی، لومینسانس، سمی‌بودن سلولی.

* عهده‌دار مکاتبات: momeni@kntu.ac.ir

مقدمه

یکی از پژوهش‌های جدید موردعلاقه شیمیدانان، طراحی و سنتز کمپلکس‌های ترپیریدین در شیمی مدرن هم‌آرایی است. ترپیریدین‌ها ترکیب‌های ناجورحلقه شامل سه حلقه پیریدین هستند [۱ و ۲]. پیوند لیگاندهای ترپیریدین به یون‌های فلزی موجب سنتز کمپلکس‌های متنوع و گسترده با خواص ویژه‌ای شده است [۳ تا ۶]. دو حالت اصلی هم‌آرایی کمپلکس‌های مونو و بیس‌ترپیریدین در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱ کمپلکس بیس‌ترپیریدین (الف) و کمپلکس مونوترپیریدین (ب)

۲،۲':۶'،۲''-ترپیریدین (tpy) به‌طور معمول به‌عنوان یک دهنده N_3 عمل می‌کند، با این حال مثال‌های کمی از رفتار این لیگاند به‌عنوان دهنده تک‌دندانه‌ای، دودندانه‌ای و یا لیگاند پل گزارش شده است. برای مثال، پیوند تک‌دندانه‌ای لیگاند ۲،۲':۶'،۲''-ترپیریدین در کمپلکس $[Au(N_3)_3(tpy\text{-}\kappa^{1}\text{-}N^{1})]$ گزارش شده است [۷]. کمپلکس‌های $[M(C_6F_5)_2(tpy)]$ (M =Pd,Pt) نیز دارای پیوند دودندانه‌ای ترپیریدین هستند [۸] ترپیریدین‌ها همچنین، قادر به پیوند دو فلز به یکدیگر به وسیله پل هستند. برای مثال، نقره در کمپلکس دو هسته‌ای $[Ag_2(4'\text{-}(2\text{-pyridyl})\text{-tpy})_2](PF_6)_2$ به‌وسیله لیگاند ۴'-(۲-پیریدیل) ترپیریدین با یکدیگر پیوند دارند [۹]. کمپلکس‌های ترپیریدین با انواع متنوعی از فلزها مانند Sn، Mn، Co، Ni، Cu، Zn و Cd گزارش شده است [۱۰ تا ۱۶]. به دلیل قابلیت تغییرپذیری ساختاری واحدهای ترپیریدین، کاربردهای زیادی مانند حسگرهای الکتروشیمیایی یا لومینسانس برای آن‌ها گزارش شده است [۱۷ و ۱۸]. به تازگی کمپلکس جدید $[Cr(qtpy)Cl_2]$ از واکنش نمک کروم و لیگاند ۴'-(۴-کوینولین)-۲،۲':۶'،۲''-ترپیریدین در حضور فلز روی سنتز شده است [۱۹]. جالب توجه است که کمپلکس $[CrCl_3(tpyOH)]$ {tpyOH =۴'-هیدروکسی-۲،۲':۶'،۲''-ترپیریدین} به عنوان پیش‌ماده برای تهیه نانواکسید فلزی استفاده شده است[۲۰]. ازکاربردهای دیگر کمپلکس‌های فلزی شامل لیگاند ترپیریدین، واکنش کاهش الکتروکاتالیستی پروتون است که برای مثال، از کمپلکس $[Ni(QCl\text{-}tpy)_2]Cl_2$ {QCl-tpy=۴'-(۲-کلرو-۳-کوینولین)۲،۲':۶'،۲''-ترپیریدین} استفاده شده است [۲۱ و ۲۲]. لازم به ذکر است که یون‌های فلزهای واسطه‌ای مانند Pt(II)، Au(III) و Ag(I) از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند، زیرا دارای هسته‌های با اسپین فعال در NMR هستند که به شناسایی کمپلکس‌های آن‌ها کمک می‌کنند [۲۳ و ۲۴]. نمک‌های Ag(I) اعداد هم‌آرایی متنوعی را نشان می‌دهند که منجر به شکل‌های هندسی هم‌آرایی متفاوتی می‌شود [۲۵ تا ۲۷]. بنابراین، طراحی ساختارهای بسپارهای هم‌آرا به‌دست‌آمده از نقره (I) و لیگاندهای دهنده نیتروژن بسیار موردتوجه است [۲۳ و ۲۸]. در سال‌های اخیر، بررسی ویژگی‌های پادسرطانی بسیاری از داروهای جدید سنتزشده از عناصر فلزی توجه بسیاری از زیست‌شیمیدان‌های معدنی را به خود جذب کرده

است [۲۹ تا ۳۳]. در این میان، ترپیریدین‌ها و کمپلکس‌های آن‌ها به‌دلیل دامنه گسترده فعالیت خود در برابر سلول‌های سرطانی شناخته شده‌اند [۳۴].

کمپلکس‌های فلزی مبتنی بر لیگاندهای ترپیریدین شناخته شده‌اند که قابلیت فعالیت پادتوموری دارند و می‌توانند به DNA متصل شوند [۳۵]. برای مثال، کمپلکس پلاتین (II) با لیگاند ۲،۲':۶',۲''-ترپیریدین استخلاف‌شده با پیریدیل در موقعیت'۴، اثر سمی‌بودن سلولی بالاتری نسبت به سیس پلاتین دارد [۳۶]. علاقه به فعالیت‌های کمپلکس‌های مبتنی بر نقره و ترپیریدین به‌ویژه به‌عنوان معرف‌های پادسرطان به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافته است. اثرات پادسرطانی کمپلکس ۶,۶''-دی متیل- ۲،۲':۶',۲''-ترپیریدین نقره، کمپلکس‌های نقره ترپیریدین که در موقعیت '۴ خود استخلاف فوریل و تاینیل دارند و یا لیگاند ناپروکسن دارند نیز ثابت شده است [۳۷ تا ۳۹]. همچنین، ویژگی‌های پادمالاریا، پادباکتریایی، پادسرطان و پادویروسی خوبی پیش‌ازاین برای کوینولین‌ها و هم خانواده‌های آن ارائه شده است [۴۰ تا ۴۲]. کمپلکس‌های طلا، مس و پلاتین ترپیریدین که در موقعیت '۴ خود استخلاف کوینولین دارند، اثرات پادسرطانی بالاتری را نسبت به سیس پلاتین نشان داده‌اند [۴۳]. همچنین، کمپلکس‌های مس با ترپیریدین و هم خانواده‌های آن از جمله ترپیریدین شامل لیگاند کوینولین ویژگی‌های پادسرطانی روده بزرگ و تخمدان را نشان داده‌اند [۴۴ و ۴۵]. در این مقاله، کمپلکس جدید $[Ag(qtpy)(NO_3)]$ با عدد هم‌آرایی چهار سنتز و شناسایی شد. همچنین، ویژگی‌های گرمایی، لومینسانس و پادتوموری آن بر پنج رده سلول‌سرطانی بررسی شد.

بخش تجربی

مواد و تجهیزات

تمامی حلال‌های تجارتی متانول، اتانول، دی‌متیل سولفوکسید، دی‌کلرومتان از شرکت مرک تهیه شدند و بدون خالص‌سازی بیشتر، استفاده شدند. طیف FTIR کمپلکس با ساخت قرص KBr و دستگاه ABB Bomem FT LA 2000 در گستره ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ cm^{-1} ثبت شد. رسانندگی محلول ۰/۰۰۱ مولارکمپلکس در حلال DMSO با دستگاه ZAG CHEMIE Co.ثبت شد. ثابت سل دستگاه با محلول پتاسیم کلرید ۰/۰۱ مولار محاسبه شد. تجزیه عنصری نمونه با دستگاه Thermo Finnigan Flash Ea 1112 انجام شد. طیف‌های ^{13}C NMR و ^{1}H با دستگاه Bruker Bio Spin GmbH 400 و Bruker Analytik GmbH 300 ثبت شدند. تعیین بیشترین جذب UV-Visبا دستگاه PerkinElmer Lambda 2S فراهم شد. طیف فلوئورسانس با طیف‌سنج لومینسانس Perkin-Elmer LS55در دمای اتاق به‌دست آمد. عرض عبور نوارهای جذب و نشر (Slit)، ۱۰ nm و سرعت عبور ۴۰۰ $nm.min^{-1}$ بود. تجزیه گرمایی با دستگاه Rheometric Scientific STA 1500 در هوا با سرعت $10°C.min^{-1}$ در گستره گرمایی ۲۵ تا ۸۰۰ ºC انجام شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ nm با دستگاه خوانش میکروپلیت (Tecan, Austria) اندازه‌گیری شد. تعیین IC_{50} و بررسی بقای رده‌های سلولی، نتیجه‌های به‌دست آمده از آزمون MTT با به‌کارگیری نرم افزار (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) Graph Pad prism6 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

تهیه لیگاند ۴'-(۴-کوینولین)-۲،۲':۶',۲''-ترپیریدین

۲-استیل پیریدین (۵ mmol، ۰/۵۶ ml) به محلولی از ۴-کوینولین بنزآلدئید (۲/۵ mmol، ۳۹۲mg) در حلال اتانول (۲۵ ml) افزوده شده و پس از چند دقیقه محلولی از آمونیاک (۰/۱۵ ml، ۰/۵mmol) و پتاسیم هیدروکسید (۲۸۰ mg ,۵ mmol) به آن افزوده شد. مخلوط واکنش تحت بازروانی در دمای °C ۸۰ به‌مدت ۳ ساعت گرمادهی شد. پس از سردکردن مخلوط واکنش در دمای صفر درجه سانتی‌گراد جامد سفید رنگی به‌دست آمد. جامد سفید با محلول ۵۰ درصد حجمی آب مقطر و ۵۰ درصد حجمی اتانول شسته شد. سپس، رسوب سفید در

دمای محیط خشک شد. بازده واکنش ۷۸٪ و نقطه ذوب ۱۱۵ C° بود [۴۶].

تهیه کمپلکس [$Ag(qtpy)(NO_3)$]

به محلول نمک نقره نیترات (۰/۱۴mmol، ۲۳ mg) در متانول (۱۰ml)، '۴-(۴-کوینولین)-۲،۲':۶'،۲''-ترپیریدین (۱۴mmol ۰/، ۵۰mg) در دی‌کلرومتان (۱۰ml) در دمای محیط افزوده شد که بلافاصله جامد زرد کم‌رنگی تشکیل شد. سپس، محلول واکنش به مدت ۴ ساعت در دمای محیط هم‌زده شد. جامد زرد رنگ با گریزانه جداسازی، با اتر شسته و در هوا خشک شد. بازده ۹۰ ٪ و نقطه ذوب در گستره ۳۲۴ تا ۳۲۸ °C بود. نتیجه‌های تجزیه عنصری برای کمپلکس $C_{24}H_{16}AgN_5O_3.1.5H_2O$ بر حسب درصد گزارش شده است (جدول ۱).

جدول ۱ درصد C، H و N در کمپلکس $C_{24}H_{16}AgN_5O_3.1.5H_2O$

C		H		N	
نظری	تجربی	نظری	تجربی	نظری	تجربی
۵۱/۷۲	۵۱/۹۳	۳/۴۴	۳/۲۵	۱۲/۵۷	۱۱/۷۶

طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش (UV-Vis) در حلال DMSO یک نوار جذبی در ۳۵۰ nm مربوط به انتقال درون لیگاند $\pi\rightarrow\pi^*$ را نشان می‌دهد که از این بالاترین جذب برای بررسی نشر فلورسانس استفاده شد.

برخی از داده‌های طیفی:

FTIR (KBr, cm^{-1}): 3449 (O-H), 3058 (=C-H), 1583 (C=N), 1472 (C=C), 1336 (N-O, NO_3), 498(Ag-N); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6, δ): 9.12 (d, ^3J = 4.4 Hz, 1H, H^{C3}), 8.72 (s, 2H, $H^{B3',5'}$), 8.67 (d, ^3J = 4.4 Hz, 2H, $H^{A3,3''}$), 8.62 (d, ^3J = 8.0 Hz, 2H, $H^{A6,6''}$), 8.23 (d, ^3J = 8.4 Hz, 1H, H^{C8}), 8.10 (td, $^{3,4}J$ = 7.7, 1.8 Hz, 2H, $H^{A4,4''}$), 7.98 (d, ^3J = 8.4 Hz, 1H, H^{C5}), 7.91 (t, ^3J = 7.6, 1H, H^{C6}), 7.80 (d, ^3J = 4.4 Hz, 1H, H^{C2}), 7.71 (t, ^3J = 7.7 Hz, 1H, H^{C7}), 7.64-7.62 (dd, ^3J = 6Hz, 2H, $H^{A5,5''}$) ppm; ^{13}C NMR{^{1}H} (75 MHz, DMSO-d_6, δ): 122.20 ($C^{C2,7}$), 122.26 ($C^{B3',5'}$), 123.53 ($C^{A3,3''}$), 123.63 ($C^{A5,5''}$), 125.65 (C^{C8}), 126.12 (C^{C1}), 128.25 ($C^{C2,7}$), 130.17 (C^{C5}), 130.49 (C^{C6}), 139.14 ($C^{A4,4''}$), 144.94 ($C^{B4'}$), 148.43 (C^{C9}), 149.23 (C^{C4}), 150.95 (C^{C3}),152.24 ($C^{A6,6''}$), 152.36 ($C^{B2',6'}$), 153.17 ($C^{A2,2''}$) ppm.

روش‌های آزمایشگاهی

کشت سلولی

رده سلولی U-87MG گلیوبلاستومای انسانی، رده سلولی MCF-7 سرطان پستان انسانی، رده سلولی SCOV-3 سرطان تخمدان، رده سلولی HT-29 سرطان کولون انسانی و رده سلولی AGO1522 فیبروبلاست پوست انسان از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. برای تهیه محیط کشت رده MCF-7، محیط کشت DMEM/Ham's-F12 حاوی گلوتامین و ۱۰۰ mg/ml استرپتومایسین (۱٪) صاف‌شده و FBS به میزان ۱۰٪ حجم کل، به آن، افزوده شد. برای کشت رده‌های سلولی U-87MG،AGO1522 ، HT-29 و SCOV-3، محیط کشت DMEM و ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین و ۱۰۰ mg/ml استرپتومایسین (۱٪) صاف‌شده و FBS به میزان ۱۰ حجم کل، افزوده شد. سلول‌ها به گرم‌خانه ۵٪ گاز کربن دی‌اکسید، ۹۵٪ رطوبت و دمای ۳۷°C منتقل شدند. پس از خروج سلول‌ها از فریزر ۷۰ °C- هر ۲۴ ساعت یک‌بار سلول‌ها از نظر رشد و تراکم سلولی، ریخت‌شناسی و عدم آلودگی باکتریایی و قارچی بررسی شدند. محیط کشت فلاسک‌ها هر دو الی سه روز یکبار تعویض شد و این فرایند تا زمان رسیدن تراکم سلول‌ها به ۸۰٪ انجام شد.

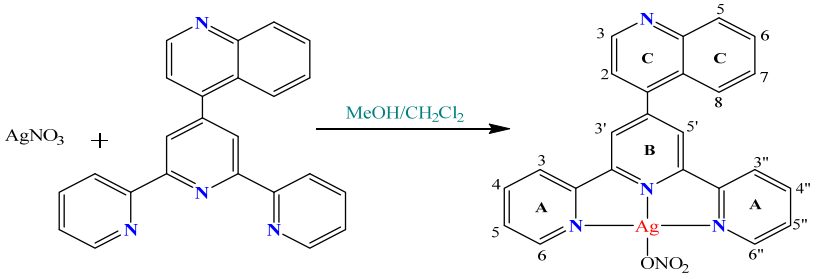
بررسی مرگ سلولی

برای اندازه‌گیری زیست‌پذیری و پاسخ سلول‌ها به کمپلکس تهیه‌شده، از روش MTT استفاده شد. MTT، نمک زرد رنگ تترازولیم محلول در آب است که با آنزیم سوکسینات دهیدروژناز موجود در میتوکندری‌های سلول‌های زنده و فعال، احیاء و به فورمازان نامحلول آبی- بنفش رنگ تبدیل می‌شود. این رنگ در حلال آلی دی‌متیل‌سولفوکسید حل شد که شدت

رنگ آن در طول موج ۵۷۰ nm متناسب با مقدار سلول‌های زنده است. ابتدا سلول‌های MCF-7،U-87MG ، SCOV-3،HT-29 و AGO1522 موجود در فلاسک‌ها، تریپسینه شده و پس از شمارش سلولی، سلول‌ها با تراکم مشخص ($۷/۵\times۱۰^{۳}$ سلول) به پلیت ۹۶ تایی منتقل شدند. سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت دراین شرایط انکوبه شدند تا به‌طورکامل به کف ظرف چسبیده و در فاز رشد لگاریتمی قرار گیرند. پس از آن، محیط کشت چاهک‌ها تخلیه شد و سپس، محیط کشت تازه به همراه غلظت‌های مورد نظر از ترکیب (۱۰۰،۵۰ µM، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳) به آن‌ها افزوده شدند. پس از گذشت زمان مورد نظر (۲۴ ساعت)، به هرچاهک ۱۰µl محلول MTT (غلظت ۵mg/ml در PBS) افزوده و به مدت ۴ ساعت در دمای °C ۳۷، در گرم‌خانه قرار داده شدند. سپس، محیط رویی سلول‌ها حذف و به هر چاهک ۱۰۰ µl دی‌متیل‌سولفوکسید افزوده شد و پس از ۱۰ دقیقه قرارگرفتن در گرم‌خانه در تاریکی، جذب نمونه‌ها درطول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه خوانش میکروپلیت اندازه‌گیری شد. مقدار جذب به‌طور مستقیم با تعداد سلول‌های زنده متناسب است.

نتیجه‌ها و بحث

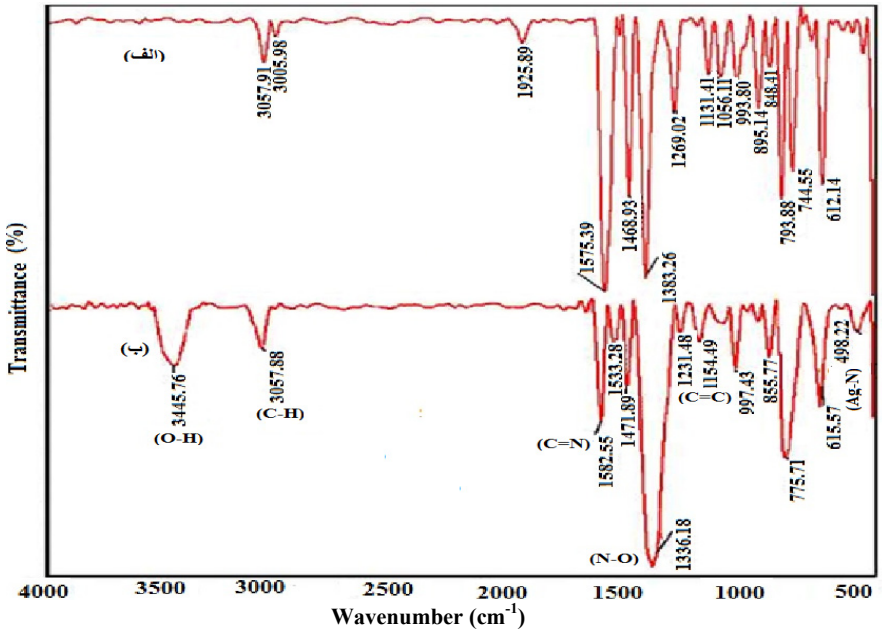
محلولی از '۴-(۴-کوینولین)-۲،۲':۶'،۲''-ترپیریدین در دی‌کلرومتان به محلولی از نمک نقره (I) نیترات در متانول تحت محافظت از نور افزوده شد که کمپلکس (۱) [Ag(qtpy)(NO_3)] تشکیل شد. بررسی حلالیت کمپلکس نشان داد که در حلال‌های متانول، اتانول، دی‌کلرومتان، استونیتریل و نیترومتان حل نمی‌شود، ولی در حلال آلی دی‌متیل‌سولفوکسید به خوبی حل می‌شود. شناسایی فراورده با طیف‌سنجی فروسرخ، تجزیه عنصری و طیف‌سنجی ^{۱}H NMR و ^{۱۳}C NMR انجام گرفت. با اندازه‌گیری رسانندگی مولی کمپلکس در محلول می‌توان تعداد یون‌های موجود در محلول را تعیین کرد. بنابراین، ابتدا مقدار ثابت سل (C) با اندازه‌گیری رسانندگی محلولی از KCl (۰/۰۱ M) محاسبه شد که برابر با $۱/۳۸\ \Omega^{-1}cm^{2}.mol^{-1}$ بود. رسانندگی محلول ۰/۰۰۱M کمپلکس نیز اندازه‌گیری شد. سپس رسانندگی ویژه آن از رابطه k = (1/C)محاسبه شد و در پایان رسانندگی مولی کمپلکس از رابطه λ_M = (1000k/M) تعیین شد. رسانندگی مولی محلول کمپلکس ۱ در دی‌متیل‌سولفوکسید، ۶ $\Omega^{-1}.cm^{2}.mol^{-1}$ به‌دست آمد که در گستره محلول‌های غیر الکترولیت است و خنثی‌بودن کمپلکس در محلول را نشان می‌دهد [۴۷]. بنابراین، فرمول [Ag(qtpy)(NO_3)] برای کمپلکس ۱ پیشنهاد می‌شود. طرحواره ساختار پیشنهادی کمپلکس (۱) [Ag(qtpy)(NO_3)] در شکل ۲ ارائه شده است.



شکل ۲ طرحواره تهیه کمپلکس ۱ همراه با برچسب گذاری '۴-(۴-کوینولین)-۲،۲':۶'،۲''-ترپیریدین

بررسی طیف‌سنجی فروسرخ (FTIR)

طیـف فروسرخ کمـپلکس ۱ در شـکل ۳ ارائه شده اسـت.



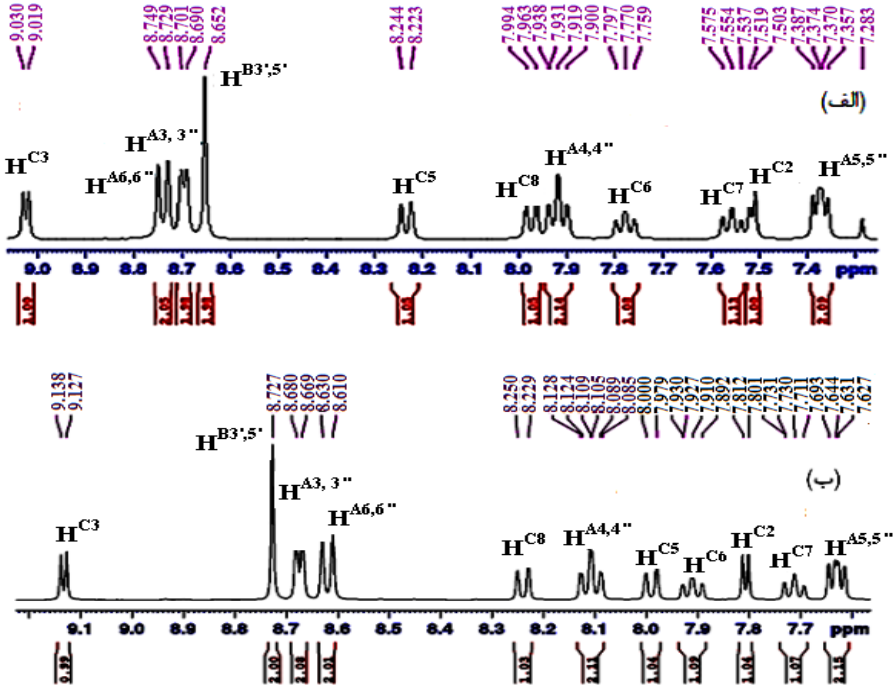
شکل ۳ طیف‌های فروسرخ qtpy (الف) و کمپلکس ۱ (ب)

نوارهای جذبی ظاهر شده در ناحیه $۳۴۴۹\ cm^{-۱}$ مربوط به ارتعاش کششی گروه هیدروکسی (O-H) و در $۳۰۵۸\ cm^{-۱}$ به پیوندهای کربن–هیدروژن حلقـه آروماتیک نسبت داده می‌شود. حضور یک نوار جذبی قوی در ناحیه $۱۵۸۳\ cm^{-۱}$ را می‌توان به فرکانس کششی پیوند C=N نسبت داد. نوارهای جذبی مربوط به ارتعاش‌های کشـشی پیوندهـای C=C، N-O (مربوط به NO_3) و Ag-N به ترتیـب در ۱۳۳۶، ۱۴۷۲ و $۴۹۸\ cm^{-۱}$ ظاهر شده است [۴۸]. ارتعاش کششی نوارهای جذبی ν(C=N) در کمـپلکس نسبت به لیگاند qtpy ($۱۵۷۵\ cm^{-۱}$) به سمت انرژی پایین‌تر در حدود $۸\ cm^{-۱}$ جابه‌جا شده است که به پیوند اتم نیتروژن به یون فلزی Ag(I) نسبت داده می‌شود [۱۱ و ۴۹].

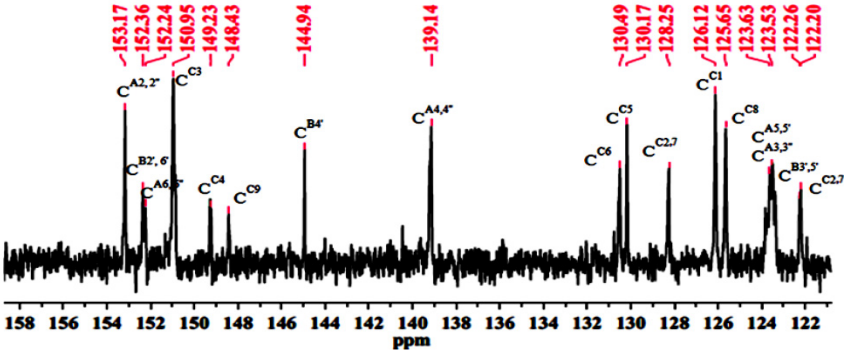
بررسی طیف رزنانس مغناطیسی هسته

طیف ^{۱}H NMR لیگاند آزاد qtpy در حلال $CDCl_3$ [۴۶ و ۵۰] و طیف کمپلکس ۱ در حلال DMSO-d_6 به‌دست آمد (شکل ۴). مقایسه داده‌های ^{۱}H NMR کمپلکس ۱ با لیگاند آزاد qtpy نشان‌دهنده جابه‌جایی برخی مکان‌های شیمیایی هیدروژن‌های qtpy در اثر کوئوردینه‌شدن به فلز است. در این میان هیدروژن‌های موقعیت‌های"۶،۶ به دلیل نزدیکی به اتم فلز، تغییر قابل‌توجهی در جابه‌جایی شیمیایی نشان می‌دهند. $H^{A6,6''}$ با جابه‌جایی شیمیایی در گستره ۸٫۶۱ تا ppm ۸٫۶۳ در مقایسه با لیگاند آزاد، به سمت میدان قوی‌تر جابه‌جا شده است. پیک $H^{B3',5'}$ به صورت یک تک‌شاخه تیز از ppm ۸٫۴۵ به ppm ۸٫۷۲ به سمت میدان ضعیف جابه‌جا شده است. چنین جابه‌جایی شیمیایی، در سایر کمپلکس‌های ترپیریدین شامل

یون فلزی Ag(I) مشاهده شده است [۲۳]. همچنین، طیف ^{13}C NMR در DMSO-d_6، حضور هفده پیک را نشان می‌دهد که به کربن‌های بخش‌های ترپیریدین و کوینولین نسبت داده می‌شوند (شکل ۵).



شکل ۴ طیف‌های ^{1}H NMR لیگاند qtpy در حلال $CDCl_3$ (الف) و کمپلکس ۱ در حلال DMSO-d_6 (ب)

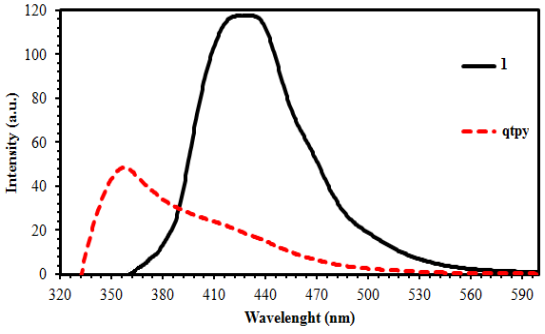


شکل ۵ طیف ^{13}C NMR{^{1}H} کمپلکس ۱ در حلال DMSO-d_6

بررسی طیف نشری

ویژگی فلورسانس کمپلکس ۱ با تهیه محلولی از کمپلکس با غلظت 1×10^{-5} M در DMSO و در دمای اتاق بررسی شد. با برانگیخته‌کردن کمپلکس در طول موج ۳۵۰ nm یک نوار نشری پهن در ۴۳۲ nm مشاهده شد. مطابق با طیف نشری کمپلکس‌های ترپیریدین، نوار نشری در ناحیه پر انرژی می‌تواند

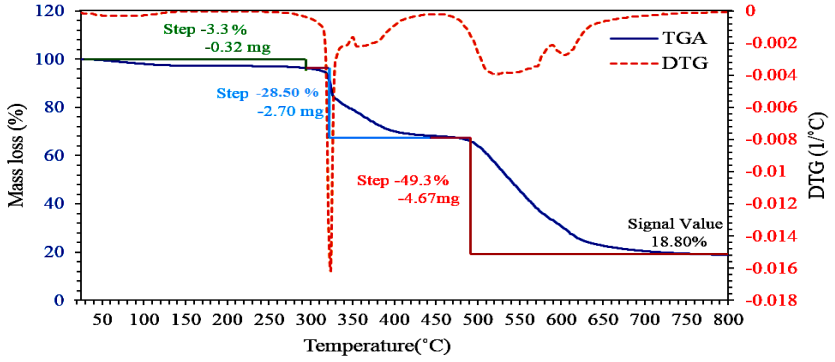
مربوط به انتقال درون لیگاند $\pi \rightarrow \pi^*$ باشد [۵۱]. بررسی طیف نشری qtpy در غلظت 1×10^{-5} M در DMSO و در دمای اتاق حضور یک نوار نشری در ناحیه ۳۵۷ nm را با برانگیختگی محلول لیگاند در ۳۲۵ nm نشان می‌دهد (شکل ۶). مقایسه طیف نشری لیگاند و کمپلکس ۱ نشان می‌دهد که نشر کمپلکس به سمت طول موج‌های بلندتر (انرژی و فرکانس‌های کمتر) انتقال پیدا کرده و این انتقال قرمز به کوئوردینه‌شدن لیگاند به یون فلزی نسبت داده می‌شود. این ویژگی موجب شده که از لیگاند ترپیریدین و مشتق‌های استخلاف‌دار آن برای طراحی شناساگرهای متفاوت برای تشخیص انواع یون‌های فلزی استفاده شود [۵۲].



شکل ۶ طیف‌های نشری qtpy و کمپلکس ۱ در حلال DMSO

بررسی تجزیه گرمایی

بررسی تجزیه گرمایی کمپلکس ۱ تا دمای ۸۰۰ °C تحت جو هوا انجام شد که نمودار آن در شکل ۷ نشان داده شده است.



شکل ۷ نمودارهای تجزیه گرمایی کمپلکس ۱

نخستین مرحله از کاهش جرم در گستره دمایی ۲۵ تا ۲۸۰°C صورت گرفت که کاهش جرم آن ۳٫۴٪ از جرم نمونه است. این کاهش جرم را می‌توان به تبخیر مولکول آب تبلور نسبت داد که درصد کاهش جرم محاسبه شده برای این مرحله ۳٫۲% است. کمپلکس بی‌آب تا دمای ۳۲۰ °C پایدار بود و با افزایش دما، تجزیه گرمایی کمپلکس در دو مرحله اصلی صورت گرفت که تا دمای ۷۳۰ °C ادامه یافت. کاهش وزن در گستره دمایی ۳۲۰ تا ۴۵۰ °C برابر با ۲۸٫۵٪ بود که این کاهش را می‌توان به از دست‌رفتن قسمت کوینولین نسبت داد. مرحله آخر با بیشترین جرم از دست رفته ۴۹٫۳٪ را می‌توان مربوط به تجزیه باقی‌مانده لیگاند سه دندانه‌ای ترپیریدین و آنیون نیترات با مقدار محاسبه‌شده ۵۲٫۸٪ نسبت داد. جرم باقی‌مانده در گستره دمایی ۷۵۰ تا ۸۰۰ °C با درصد وزنی ۱۸٫۸٪ را می‌توان به نقره (مقدار محاسبه‌شده ۱۹٫۲٪) نسبت داد.

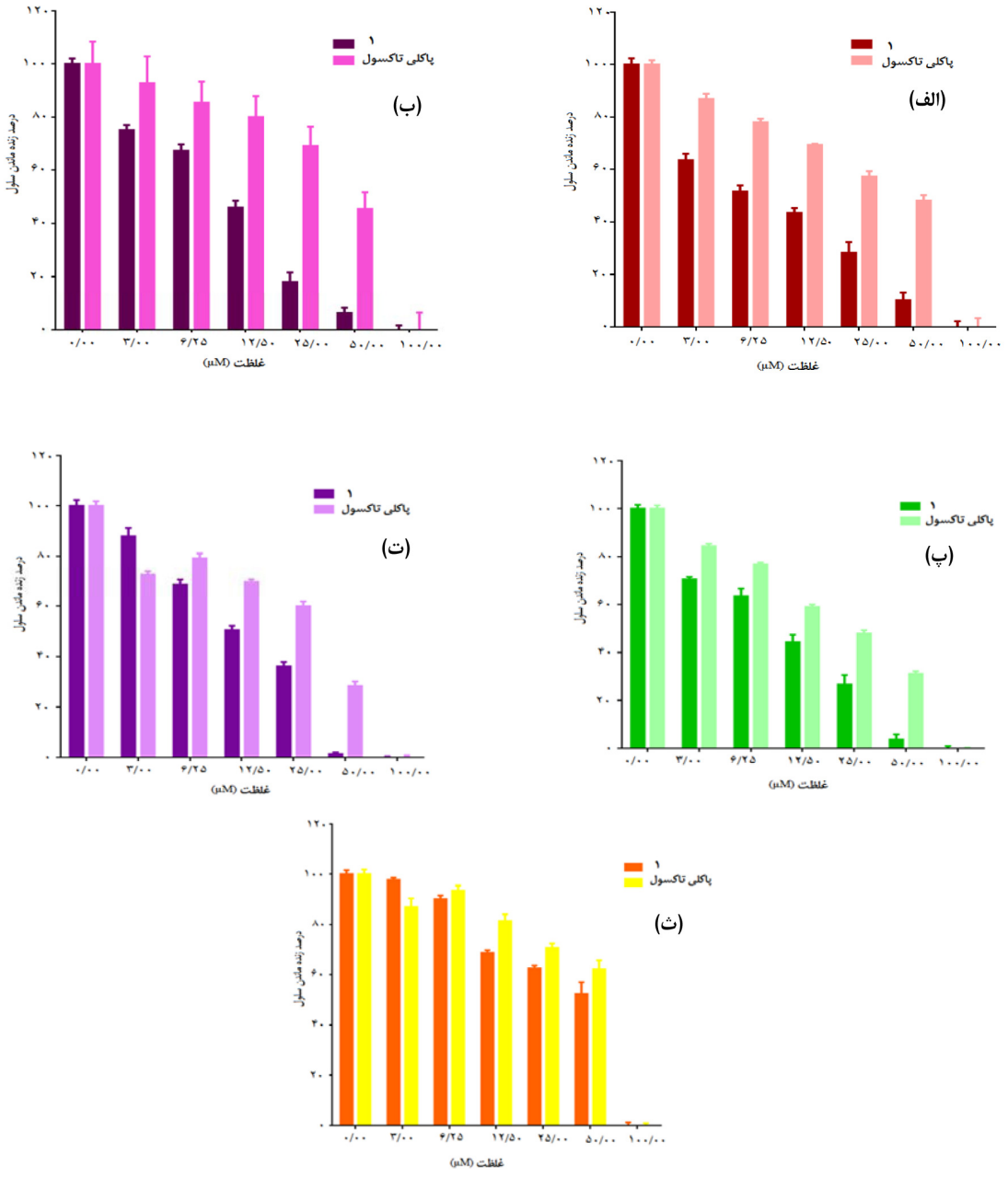
نتیجه آزمون MTT

برخی از لیگاندها به‌عنوان داروی پادسرطان به کار می‌روند و فعالیت پادسرطانی آن‌ها در نتیجه تشکیل کمپلکس با فلزها افزایش می‌یابد. سازوکار دقیق فعالیت پادسرطانی یک لیگاند به‌طور دقیق مشخص نیست. به‌طور کلی، فرض بر این است که این لیگاندها با غیرفعال‌کردن فلزهای سرطان‌زا و یا غیرفعال‌کردن آنزیم‌های لازم برای رشد سریع، منجر به ویژگی پادسرطانی می‌شوند [۵۳]. به نظر می‌رسد که ترپیریدین به‌عنوان لیگاند نیتروژن‌دهنده، سازوکار مشابه در مهار سلول‌های سرطانی داشته باشند. نتیجه مطالعه سمی‌بودن سلولی با کمیت IC50 نمایش داده می‌شود. این کمیت غلظت ماده سمی (دارو) موردنیاز برای کاهش رشد جمعیتی از سلول‌ها تا به حد ۵۰ درصد نسبت به همان جمعیت در محیط کشت بدون ماده سمی تعریف شده است. مقدار IC_{50} وابسته به تغییر غلظت ماده سمی در محیط کشت و مدت زمان تماس سلول با ماده سمی است. نتیجه سمی‌بودن سلولی با کمیت IC_{50}برای کمپلکس مورد نظر بر پنج رده سلولی در جدول ۲ ارائه شده است.

تأثیر غلظت‌های متفاوت کمپلکس $[Ag(qtpy)(NO_3)]$ بر مرگ سلولی پنج رده سلولی در شکل ۸ نشان داده شده است. با افزایش غلظت کمپلکس ۱، میزان سمی‌بودن سلولی آن بر رده‌های سلولی سرطانی نسبت به کنترل تیمارنشده و رده نرمال AGO1522، افزایش یافت. مقایسه غلظت‌های متفاوت دارو با داروی شیمی درمانی پاکلی‌تاکسول هم نشان‌دهنده پاسخ مؤثرتر سلول‌ها به کمپلکس ۱ در غلظت‌های پایین‌تر نسبت به پاکلی‌تاکسول در ۲۴ ساعت، است. در میان رده‌های سلولی سرطانی، رده U-87MG گلیوبلاستومای اولیه انسانی بیشترین حساسیت نسبت به کمپلکس را داشت و میزان IC_{50} آن کمترین در مقایسه با رده‌های سلولی سرطانی دیگر و رده نرمال AGO1522، بود. این نتیجه‌ها نشان‌دهنده عملکرد مناسب کمپلکس ۱ در مقایسه با پاکلی‌تاکسول در مهار رشد سلولی رده‌های سرطانی گلیوبلاستوما، پستان، تخمدان و کولون است.

جدول ۲ فعالیت پادسرطان کمپلکس ۱ در مقابل رده‌های سلولی سرطانی انسان و سلول‌های فیبروبلاست پوست انسان پس از ۲۴ ساعت تیمار پیوسته

رده‌های سلولی	IC_{50} (µM)	
	کمپلکس ۱	پاکلی‌تاکسول
گلیوبلاستوما اولیه انسانی (U-87MG)	۶٫۹۳	۲۷٫۳۸
سرطان سینه انسان (MCF-7)	۹٫۵۰	۳۵٫۷۱
سرطان تخمدان (SCOV-3)	۸٫۹۱	۱۸٫۷۸
سرطان کولون انسانی (HT-29)	۱۲٫۳۲	۲۲٫۵۰
فیبروبلاست‌های پوستی انسانی (AGO1522)	۳۳٫۰۵	۴۴٫۱۰



شکل ۸ نمودارهای تأثیر غلظت‌های متفاوت کمپلکس ۱ بر مرگ سلولی پنج رده سلولی U87-MG (الف) MCF-7(ب)، SCOV-3 (پ)، HT-29 (ت) و AGO1522 (ث)

نتیجه‌گیری

از واکنش نمک نقره نیترات با '۴-(۴-کوینولین)-۲،۲':۶'،۲''-ترپیریدین، کمپلکس مونو-ترپیریدین (۱) $[Ag(qtpy)(NO_3)]$ سنتز شد. فراورده واکنش با تجزیه عنصری، طیف‌سنجی فروسرخ و طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته ^{13}C NMR و ^{1}H شناسایی شد.

بررسی پایداری گرمایی این کمپلکس نشان می‌دهد که لیگاند ترپیریدین در مراحل پایانی تجزیه گرمایی از کمپلکس جدا شده که به انرژی بالای تفکیک پیوند فلز-نیتروژن نسبت داده می‌شود. بررسی ویژگی‌های فلورسانس کمپلکس نشان می‌دهد که با برانگیخته‌شدن این مولکول، پیک نشری در ناحیه‌ای با انرژی بالا ظاهر می‌شود که مربوط به انتقال‌های π-π^* است. نشر کمپلکس نسبت به لیگاند آزاد به سمت طول موج‌های بلندتر جابه‌جا شده و این انتقال قرمز به کوئوردینه-شدن لیگاند به یون فلزی نسبت داده می‌شود. نتیجه‌های درصد سمی‌بودن سلولی بر حسب غلظت کمپلکس (۰ تا ۱۰۰ میکرو مولار) نشان می‌دهد که تعداد

سلول‌های زنده سرطانی با افزایش غلظت کمپلکس به شدت کاهش می‌یابد.

کمپلکس ۱ بیشترین اثر سمی‌بودن را بر رده سلولی گلیوبلاستوما انسانی دارد که نشان‌دهنده بالابودن ویژگی پادسرطانی کمپلکس ۱ نسبت به پاکلی تاکسول است.

سپاسگزاری

نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از دانشگاه صنعتی خواجه نصیرالدین طوسی بابت حمایت مالی این پژوهش اعلام می‌کنند.

مراجع

[1] Yu, X.; Guo, C.; Lu, S.; Chen, Z.; Wang, H.; Li, X.; Macromol. Rapid Commun. 43(14), 2200004, 2022.

[2] Shi, J.; Wang, M.; Chem. Asian J. 16, 4037-4048, 2021.

[3] Panicker, R.R.; Sivaramakrishna, A.; Coord. Chem. Rev. 459, 214426, 2022.

[4] Uflyand, I.E.; Tkachev, V.V.; Zhinzhilo, V.A.; Drogan, E.G.; Burlakova, V.E.; Sokolov, M.E.; Panyushkin, V.T.; Baimuratova, R.K.; Dzhardimalieva, G.I.; J. Mol. Struct. 1250, 131909, 2022.

[5] Yu, X.; Gao, F.; Zhao, W.; Lai, H.; Wei, L.; Yang, C.; Wu, W.; Dalton Trans. 51, 9314-9322, 2022.

[6] McGhie, B.S.; Aldrich-Wright, J.R.; Biomedicines 10(3), 578, 2022.

[7] Peng, K.; Friedrich, A.; Schatzschneider, U.; Chem. Commun. 55, 8142-8145, 2019.

[8] Abel, E.W.; Orrell, K.G.; Osborne, A.G.; Pain, H.M.; Šik, V.; Hursthouse, M.B.; Malik, K.A.; J. Chem. Soc., Dalton Trans. 23, 3441-3449, 1994.

[9] Hou, L.; Li, D.; Ng, S.W.; Acta Cryst. E61, m404–m406, 2005.

[10] Momeni, B.Z.; Kazemzade Anari, S.; Janczak, J.; Fallahpour, R.; J. Inorg. Organomet. Polym. Mater. 32, 2279-2297, 2022.

[11] Momeni, B.Z.; Kazemzade Anari, S.; Torrei, M.; Janczak, J.; Appl. Organomet. Chem. 35, e6179, 2021.

[12] Momeni, B.Z.; Jebraeil, S.M.; Patrick, B.O.; Abd-El-Aziz, A.S.; Polyhedron, 55, 184-191, 2013.

[13] Momeni, B.Z.; Rahimi, F.; Jebraeil, S.M.; Janczak, J.; J. Mol. Struct. 1150, 196-205, 2017.

[14] Momeni, B.Z.; Rahimi, F.; Torrei, M.; Rominger, F.; Appl. Organomet. Chem. 34, e5613, 2020.

[15] Momeni, B.Z.; Rahimi, F.; Rominger, F.; J. Inorg. Organomet. Polym. Mater. 28, 235-250, 2018.

[16] Huang, T.-H.; Zhang, M.-H.; Gao, C.-Y.; Wang, L.-T.; Inorg. Chim. Acta 408, 91-95, 2013.

[17] Deb, S.; Sahoo, A.; Pal, P.; Baitalik, S.; Inorg. Chem. 60, 6836-6851, 2021.
[18] Liu, P.; Chi, Z.; Shi, G.; Dong, H.; Ma, C.; Chen, X.A.; Eur. Polym. 159, 110716, 2021.
[19] Momeni, B. Z.; Karimi, S.; Janczak, J.; J. Mol. Struct. 1273, 134245, 2023.
[20] Momeni, B.Z.; Rahimi, F.; J. Nanostruct. 8, 242, 2018.
[21] Ahmad, E.; Rai, S.; Padhi, S.K.; Inter. J. Hydrog. Energy. 44, 16467-16477, 2019.
[22] Majee K.; Padhi, S. K.; New. J. Chem. 43, 3856-3865, 2019.
[23] Momeni, B.Z.; Doustkhahvajari, F; Inorg. Chim. Acta 487, 145-152, 2019.
[24] Maroń, A.; Czerwińska, K.; Machura, B.; Raposo, L.; Roma-Rodrigues, C.; Fernandes, A.R.; Małecki, J.G.; Szlapa-Kula, A.; Kula, S.; Krompiec, S.; Dalton Trans. 47, 6444-6463, 2018.
[25] Keller, S.; Camenzind, T.N.; Abraham, J.; Prescimone, A.; Häussinger, D.; Constable, E.C.; Housecroft, C.E.; Dalton Trans. 47, 946-957, 2018.
[26] Hannon, M.J.; Painting, C.L.; Plummer, E.A.; Childs, L.J.; Alcock, N.W.; Chem. Eur. J. 8, 2225-2238, 2002.
[27] Luong, L.M.; Lowe, C.D.; Olmstead, M.M.; Balch, A.L.; Polyhedron, 226, 116051, 2022.
[28] Heine, J.; Westemeier, H.; Dehnen, S.; Z. Anorg. Allg. Chem. 636, 996-1001, 2010.
[29] Bruijnincx, P.C.; Sadler, P.J.; Curr. Opin. Chem. Biol. 12, 197-206, 2008.
[30] Raju, S.K.; Karunakaran, A.; Kumar, S.; Sekar, P.; Murugesan, M.; Karthikeyan, M.; Ger. J. Pharm. Biomater. 1, 6-28, 2022.
[31] Gu, Y.-Q.; Zhong, Y.-J; Hu, M.-Q.; Li, H.-Q.; Yang, K.;Dong, Q.; Liang, H.; Chen, Z.-F.; Dalton Trans. 51, 1968-1978, 2022.
[32] Fnfoon, D.Y.; Al-Adilee, K.J.; J. Mol. Struct. 1271, 134089, 2023.
[33] Elkanzi, N.A.A; Hrichi, H.; Salah, H.; Albqmi, M.; Ali, A.M.; Abdou, A.; Polyhedron 230, 116219, 2023.
[34] Malarz, K.; Zych, D.; Gawecki, R.; Kuczak, M.; Musioł, R.; Mrozek-Wilczkiewicz, A.; Eur. J. Med. Chem. 212, 113032, 2021.
[35] Cummings, S.D.; Coord. Chem. Rev. 253, 1495-1516, 2009.
[36] Altmann, S.; Choroba, K.; Skonieczna, M.; Zygadło, D.; Raczyńska-Szajgin, M.; Maroń, A.; Małecki, J.G.; Szłapa-Kula, A.; Tomczyk, M.; Ratuszna, A.; Machura, B.; Szurko, A.; J. Inorg. Biochem. 201, 110809, 2019.
[37] Fik, M.A.; Gorczyński, A.; Kubicki, M.; Hnatejko, Z.; Fedoruk-Wyszomirska, A.; Wyszko, E.; Giel-Pietraszuk, M.; Patroniak, V.; Eur. J. Med. Chem. 86, 456-468, 2014.
[38] Njogu, E.M.; Martincigh, B.S.; Omondi, B.; Nyamori, V.O.; Appl. Organomet. Chem. 32, e4554, 2018.
[39] Mahendiran, D.; Kumar, R.S.; Rahiman, A.K.; Mater. Sci. Eng. C, 76, 601-615, 2017.
[40] Panebianco, R.; Viale, M.; Bertola, N.; Bellia, F.; Vecchio, G.; Dalton Trans. 51, 5000-5003, 2022.
[41] Matada, B.S.; Pattanashettar, R.; Yernale, N.G.; Bioorg. Med. Chem. 32, 115973, 2021.
[42] Yadav, P.; Shah, K.; Bioorganic Chem. 109, 104639, 2021.
[43] Choroba, K.; Machura, B.; Szlapa-Kula, A.; Malecki, J.G.; Raposo, L.; Roma-Rodrigues, C.; Cordeiro, S.; Baptista, P.V.; Fernandes, A.R.; Eur. J. Med. Chem. 218, 113404, 2021.
[44] Grau, J.; Caubet, A.; Roubeau, O.; Montpeyo, D.; Lorenzo, J.; Gamez, P.; Chem. Bio. Chem. 21, 2348-2355, 2020.
[45] Choroba, K.; Machura, B.; Kula, S.; Raposo, L.R.; Fernandes, A.R.; Kruszynksi, R.; Erfurt, K.; Shulpina, L.S.; Kozlov, Y.N.; Shulpin, G.B.; Dalton. Trans. 48, 12656-12673, 2019.
[46] Njogu, E.M.; Nyamori, V.O.; Omondi, B.; J. Mol. Struct. 1153, 202-211, 2018.
[47] Geary, W.J.; Coord. Chem. Rev. 7, 81-122, 1971.
[48] Santos, A.F.; Ferreira, I.P.; Pinheiro, C.B.; Santos, V.G.; Lopes, M.T.; Teixeira, L.R.; Rocha, W.R.; Rodrigues, G.L.; Beraldo, H.; ACS Omega 3, 7027-7035, 2018.
[49] Mughal, E.U.; Mirzaei, M.; Sadiq, A.; Fatima, S.; Naseem, A.; Naeem, N.; Fatima, N.; Kausar, S.; Altaf, A.A.; Zafar, M.N.; Khan, B.A.; R.; Soc. Open Sci. 7, 201208, 2020.

[50] Toledo, D.; Brovelli, F.; Soto-Delgado, J.; Peña, O.; Pivan, J.Y.; Moreno, Y.; J. Mol. Struct. 1153, 282-291, 2018.
[51] Hau, F.K.-W.; Lo, H.-S.; Yam, V.W.-W.; Chem. Eur. J. 22, 3738-3749, 2016.
[52] Sil, A.; Maity, A.; Giri, D.; Patra, S.K.; Sens. Actuators B Chem. 226, 403-411, 2016.
[53] Taghavi, F.; Gholizadeh, M.; Saljooghi, A.S; New J. Chem. 40, 2696-2703, 2016.