



Semnan University

Journal of Applied Chemistry

Journal homepage: <https://chemistry.semnan.ac.ir/>



Research Article

Synthesis, characterization and study of interactions of Platinum complexed containing Ferrocenyl imine with DNA

Behnam Habibi, Mohsen Golbon Haghghi*

Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry and petroleum sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

PAPER INFO

Article history:

Received: 10/Nov/2021

Revised: 20/Apr/2022

Accepted: 26/May/2022

Keywords:

Ferrocene, Platinum(II) Organometallic Complexes, DNA Molecular Docking, Cancer

ABSTRACT

In order to investigate anti-cancer activity of novel platinum complexes, two new ferrocene containing complexes were designed, Pt(Me)(dmsO)(Imine) and Pt(Cl)₂(dmsO)(Imine), which have single and double coordination of ferrocenyl imine ligand to metallic center respectively. These compounds were characterized via NMR spectroscopy. The potential inhibition of cancerous cell growth of these complexes were studied via interaction of DNA molecules with synthesized complexes via UV-Vis titration. Also, the coordination details of DNA-complex were investigated with Schrödinger suite. Results showed improved interactions of cyclometalated Pt(Cl)(dmsO)(Imine) complex with DNA molecule.

DOI: <https://doi.org/10.22075/CHEM.2022.25045.2021>

© 2023 Semnan University.

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

*.Corresponding author: Assistant Professor of Inorganic Chemistry. E-mail address: m_golbon@sbu.ac.ir

How to cite this article: Habibi, B., & Golbon Haghghi, M. (2023). Synthesis, Characterization and DNA binding studies of Platinum Complexes with Imine Ferrocene Ligand. *Applied Chemistry*, 18(66), 225-240. (in Persian)

سنتز، شناسایی و مطالعات برهمکنش با DNA کمپلکس‌های پلاتینی با لیگاند ایمینی

فروسن

بهنام حبیبی شبستری، محسن گلبن حقیقی*

دانشکده علوم شیمی و نفت، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۰۰/۰۸/۱۹

تاریخ تصحیح: ۰۱/۰۱/۳۱

تاریخ پذیرش: ۰۱/۰۳/۰۵

چکیده

در این مقاله به منظور بررسی اثرگذاری خواص ضد سرطانی کمپلکس‌های پلاتینی، دو ترکیب جدید حاوی لیگاند فروسنیل ایمین به نمایندگی از دو نوع اتصال این لیگاند به مرکز پلاتینی، ترکیبات (1) $(Pt(Cl)_2(dmsO)(Imine)$ و (2) $(Pt(Me)(dmsO)(Imine)$ که به ترتیب با نحوه اتصال تک کتوردینه به فلز و سیکلومتاله به فلز متصل هستند، سنتز و با استفاده از طیف بینی NMR شناسایی شدند. ترکیبات پلاتینی سنتز شده با توجه به موارد گزارش شده پیشین، توانایی بالقوه مهار رشد سلول‌های سرطانی از طریق ایجاد برهمکنش با DNA این سلول‌ها را دارا هستند. به منظور بررسی این خاصیت از دیدگاه مولکولی، با استفاده از تیتراسیون $UV-Vis$ برهمکنش کمپلکس تک کتوردینه با مولکول DNA مورد بررسی قرار گرفت. همچنین شبیه سازی داکینگ مولکولی با استفاده از مجموعه نرم افزاری $Schrödinger$ برای چهار کمپلکس با نحوه اتصال متفاوت انجام شد و بر اساس داده های شبیه سازی، کمپلکس سیکلومتاله $Pt(Cl)(dmsO)(Imine)$ بالاترین برهمکنش را با مولکول DNA داراست.

کلمات کلیدی: کمپلکس‌های آلی فلزی پلاتین(II)، فروسن، سرطان، داکینگ مولکولی، DNA.

۱- مقدمه

سرطان به مجموعه‌ای از بیماری‌ها گفته می‌شود که شامل رشد غیر طبیعی سلول‌ها هستند، این رشد غیر طبیعی توانایی تهاجم و گسترش به سایر بافت‌های بدن را نیز دارد. به منظور اینکه سلول‌های سالم بدن به سلول‌های سرطانی تبدیل شوند، باید ژن‌های این سلول‌ها دستخوش تغییراتی شوند تا در نتیجه تنظیمات رشد و تمایز سلول‌ها دچار اشکالاتی شود. ژن‌های آسیب دیده به دو دسته کلی تقسیم می‌شوند، دسته اول آنکوژن‌ها هستند که منجر به افزایش رشد و تقسیمات سلولی می‌شوند و دسته دوم ژن‌های مهارکننده تومور هستند، اختلال در عملکرد این ژن‌ها باعث رشد و تقسیم کنترل نشده سلول‌ها و در نتیجه ایجاد تومور می‌شود. [۱] یکی از راهکارهای مهار سرطان و سلول‌های سرطانی ایجاد سازوکار مرگ برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) این سلول‌ها است. [۲] بدین صورت که در طی مراحل دارو رسانی، بافت سرطانی شناسایی شده و مورد هجوم داروهای ایجاد کننده مرگ سلولی قرار می‌گیرد، در مرحله بعد این داروها با نفوذ به هسته سلولی و ایجاد برهمکنش با مولکول DNA، باعث ایجاد تغییرات برگشت ناپذیر در ساختار سه بعدی این مولکول‌ها می‌شود. مولکول‌های DNA تغییر شکل یافته توانایی انجام

وظایف زیستی (رونویسی، تکثیر و بیان ژن‌ها) را ندارند و در نتیجه رشد و گسترش این نوع سلول‌های سرطانی به طور موفقیت آمیزی کنترل می‌شود. [۳]

از داروهای موثر در ایجاد برهمکنش‌ها با مولکول DNA می‌توان به داروهای پلاتینی اشاره کرد. در سال ۱۹۶۵، روزنبرگ در حین بررسی فرایند الکترولیز، متوجه شد الکترودهای پلاتینی در شرایط الکترولیز، ترکیبی محلول در آب تولید کردند که توانایی مهار رشد باکتری‌های اشرشیا کولی را داشتند. [۴] در نهایت در سال ۱۹۷۸ به طور رسمی سازمان غذا و دارو ایالات متحده استفاده از این دارو را مورد تایید قرار داد. نتایج خیره کننده استفاده از این دارو در درمان انواع سرطان (در برخی موارد تا ۱۰۰ درصد کنترل رشد غده سرطانی) امید بخش سنتر ترکیبات بیشتر از این قبیل برای مبارزه با بیماری سرطان بود. [۵] در حال حاضر ترکیبات متعددی با سازوکار ضد رشد سلولی مشابه با سیس - پلاتین در بازار موجود هستند، از این قبیل داروها می‌توان به داروهایی مانند کربوپلاتین، ساتراپاتین، اگزالی پلاتین و... اشاره کرد.

از سویی دیگر، استفاده از روش‌های درمانی برپایه مرگ سلولی همواره با بروز عوارض جانبی همراه است. در برخی موارد این اثرات جانبی فقط محدود به ریزش مو و مشکلات گوارشی است، اما از سویی دیگر در برخی موارد می‌تواند این مشکل در قالب بروز بیماری‌های ناخواسته دیگر بروز کند. همچنین با گذشت زمان و در استفاده‌های طولانی مدت از این داروها مشکلی دیگر به صورت ایجاد مقاومت دارویی بروز می‌کند. این مشکلات در مجموع باعث محدود شدن استفاده از این داروها می‌شود. به این ترتیب پژوهشگران همواره به دنبال ایجاد تغییرات روی داروهای موجود و یا طراحی داروهای جدید به منظور کاهش و یا حذف این مشکلات هستند. [۶]

در پژوهش حاضر توجه ما بر روی خواص جالب توجه فروسن متمرکز است. [۷] ساختار ساندویچی شکل آن ابتدا در سال ۱۹۵۱ تعیین شد. این ترکیب به عنوان نماینده‌ای از دسته بزرگ ترکیبات آلی فلزی به نام متالوسن‌ها، توانایی منحصر به فردی در ایجاد خواص الکتروشیمیایی، خواص چربی دوستی، پایداری حرارتی و زیست پذیری دارد. مثال‌های متعددی از استفاده از این جزء مولکولی در کاتالیزورها، ترکیبات بیوشیمیایی و ... در منابع موجود است. [۸] ترکیب فروسن می‌تواند فرایند ردوکس تک الکترونی را بدون ایجاد تغییر در ساختار خود انجام دهد. این فرایند برگشت پذیر، یکی از مهم‌ترین مراحل در کاربردهای زیستی است. به عنوان مثال، یون فروسن یک بار مثبت توانایی ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را دارد. به این ترتیب وجود جزء فروسنی در داروهای ایجاد کننده سمیت سلولی، توانایی مضاعفی در مهار رشد سلولی به این داروها می‌دهد. [۹] ژرارد ژائونن از پیشگامان استفاده از اجزاء فروسنی در ساخت داروهای جدید است. گروه تحقیقاتی ژائونن با دستکاری داروهای ضد سرطان و ضد مالاریا موجود مانند هیدروکسیفن و کلروکوین، داروهای جدیدی را به بازار معرفی نموده که بر اساس نتایج منتشر شده توانایی سمیت سلولی بالاتر و موثرتری را دارند. به خصوص در مورد داروی کلروکوین که اخیراً در گزارش‌هایی توانایی منحصر

به فردی در مهار کرونا ویروس جدید نشان داده است. امید است اضافه کردن اجزا مولکولی فروسنی باعث ارتقا خواص دارویی و زیستی ترکیبات سنتزی شود. [۱۰]

با توجه به موارد ذکر شده در پژوهش حاضر دسته‌ای از ترکیبات پلاتینی حاوی لیگاند فروسنی سنتز شده و به منظور بررسی خواص سمیت سلولی و ضد سرطانی این ترکیبات، مطالعات برهمکنش با مولکول ct-DNA به صورت تیتراسیون طیف سنجی جذب مرئی - ماوراءبنفش و همچنین شبیه سازی برهمکنش با این مولکول با استفاده از نرم‌افزار داکینگ مولکولی شرودینگر انجام شد.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد شیمیایی و دستگاه‌های مورد استفاده

طیف‌های $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz) توسط دستگاه Bruker DRX-300 Avance Spectrometer و در دمای اتاق ثبت شدند. TMS به عنوان مرجع استاندارد خارجی استفاده شد. جابجایی شیمیایی (δ) بر حسب ppm و ثابت‌های جفت شدگی (J) بر حسب هرتز Hz بیان شدند. حلال‌های NMR از شرکت مصباح انرژی و سایر حلال‌ها و مواد واکنش دهنده عمدتاً از منابع تجاری معتبر تهیه شدند. طیف سنجی UV-Vis نیز توسط دستگاه Shimadzu-2100 و با استفاده از کووت کوارتز با ابعاد 1 cm انجام شد. همچنین از دستگاه ATR-FTIR مدل Thermo Nicolet 5700 نیز برای بررسی ارتعاشات مولکولی استفاده شده است. در تمامی مراحل سنتز، حلال‌های کلروفرم و تولوئن با استفاده از روش‌های خشک سازی حلال به طور کامل خشک شدند. کمپلکس‌های پلاتینی $[\text{Pt}(\text{Cl})_2(\text{dmsO})_2]$ و $[\text{Pt}(\text{Me})_2(\text{dmsO})_2]$ مطابق روش‌های پیشین سنتز شدند. [۱۱] همچنین ترکیب فروسن کربوکسالد‌هاید (کمپلکس A) نیز با استفاده از روش‌های موجود سنتز شد. [۱۲]

۲-۲- سنتز کمپلکس‌ها

برای سنتز لیگاند ایمینی $(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=NC}_6\text{H}_4\text{CH}_3\text{-3})\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)$ (کمپلکس B)، ابتدا به محلول کمپلکس A، ۳۰۰ میلی‌گرم، ۱،۱ اکی‌والان) در حلال خشک تولوئن (۵۰ میلی‌لیتر) آمین آروماتیک *p*-toluidine (۱۳۶ میلی‌گرم، ۱ اکی‌والان) اضافه شده و در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ساعت در اتمسفر گاز آرگون قرار گرفته است. در انتهای واکنش، حلال با کمک خلأ خارج شد. محصول جامد تیره رنگ بدست آمده بدون خالص سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفت. (بازده: ۳۸۶ میلی‌گرم، ۹۵٪)

Melting Point: 75 - 77 °C

$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{FeN}$ (303.2): calcd: C, 71.3; H, 5.65; N, 4.62; found: C, 71.0; H, 5.4; N, 4.8.

$^1\text{H-NMR}$: $\delta=2.36$ ppm (s, 3H, Me group on tolyl ring), $\delta=4.24$ ppm (s, 5H, unsubstituted Cp ring), $\delta=4.48$ ppm (d, 2H, substituted Cp ring), $\delta=4.79$ ppm (d, 2H, substituted Cp ring), $\delta=7.08 - 7.16$ ppm (ab quartet, 4H, tolyl ring), $\delta=8.33$ ppm (s, 1H, Imine group).

ATR-FTIR (cm^{-1}): 1619 (C=N)

سنتز کمپلکس پلاتینی $\text{trans-PtCl}_2(\text{dmsO})((\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=NC}_6\text{H}_4\text{CH}_3\text{-4})\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5))$ (کمپلکس 1) از انحلال کامل لیگاند فروسنیل ایمین (کمپلکس B) (۸۶ میلی‌گرم، ۱،۲ اکی‌والان) در ۵۰ میلی‌لیتر حلال تولوئن خشک حاوی کمپلکس Pt(Cl)- dmsO_2 (۱۰۰ میلی‌گرم، ۱ اکی‌والان) بدست آمد. دمای واکنش در ۹۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده و واکنش به مدت ۳۰ ساعت در اتمسفر گاز آرگون ادامه پیدا کرد. پس از اتمام زمان واکنش، دمای محلول تا دمای محیط پایین آمده و با استفاده از کاغذ صافی محلول واکنش به منظور حذف ترکیبات جانبی تشکیل شده صاف شد. بلورهای قرمز رنگ 1 بدون خالص سازی بیشتری مورد استفاده قرار گرفت.

Melting Point: 230 - 231 °C (decomp.)

$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{FeNPt}$ (569.2): calcd: C, 38.0; H, 3.01; N, 2.46; found: C, 38.7; H, 3.5; N, 2.1.

$^1\text{H-NMR}$: $\delta=2.41$ ppm (s, 3H, Me group on imine's tolyl ring), $\delta=3.36$ ppm (t, $^3J_{\text{Pt-H}}=67$ Hz, 6H, Me groups on coordinated DMSO), $\delta=3.82$ ppm (d, 2H, substituted Cp ring), $\delta=4.36$ ppm (s, 5H, unsubstituted Cp ring), $\delta=4.47$ ppm (d, 2H, substituted Cp ring), $\delta=7.22$ ppm (m, 4H, protons of tolyl on imine's ring), $\delta=8.44$ ppm (s, $^3J_{\text{Pt-H}}=20$ Hz, 1H, proton of the imine bond).

ATR-FTIR: 1611 (C=N)

کمپلکس $\text{Pt}(\text{Me})(\text{dmsO})((\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=NC}_6\text{H}_4\text{CH}_3\text{-4})\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5))$ (کمپلکس 2) طبق روشی مشابه با تهیه کمپلکس 1، اما با استفاده از پیش ماده پلاتینی $\text{Pt}(\text{Me})_2(\text{dmsO})_2$ (۱۰ میلی‌گرم، ۱ اکی‌والان) و لیگاند فروسنیل ایمین (کمپلکس B) (۸ میلی‌گرم، ۱ اکی‌والان) در مدت زمان ۱۲ ساعت و دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. این ترکیب بدون خالص سازی بیشتر برای مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

Melting Point: 245 - 249 °C (decomp.)

$\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{FeNOPtS}$ (590.43): calcd: C, 42.7; H, 4.27; N, 2.37; found: C, 38.2; H, 3.1; N, 2.0.

$^1\text{H-NMR}$: $\delta=1.04$ ppm (t, $^3J_{\text{Pt-H}}=44$ Hz, 3H, Me group on Pt metal), $\delta=2.35$ ppm (s, 3H, Me group of *p*-toluidine), $\delta=2.88$ ppm (s, 6H, $^3J_{\text{Pt-H}}=8$ Hz, coordinated dmsO), $\delta=4.27$ ppm (s, 5H, unsubstituted Cp ring), $\delta=4.61$ ppm (d, 2H, substituted Cp ring), $\delta=4.79$ ppm (d, 2H, substituted Cp ring), $\delta=7.12 - 7.18$ ppm (m, 4H, protons of tolyl on imine's ring), $\delta=8.47$ ppm (s, $^3J_{\text{Pt-H}}=23$ Hz, 1H, proton of the imine bond).

ATR-FTIR: 1551 (C=N)

۳-۲- روش‌های محاسباتی

جهت انجام روش‌های محاسباتی ساختار لیگاند ایمینی فروسن با استفاده از نرم‌افزار Gaussian09 و روش DFT در سطح LANL2DZ برای فلز پلاتین، و 6-31G(d) برای سایر اتم‌ها، استفاده شد. [۱۳-۱۴] ساختار کمپلکس‌ها به منظور انجام شبیه

سازی‌های اتصال مولکولی^۱ با استفاده از روش DFT و بدون محدودیت‌های تقارنی بهینه شد. اثر حلال کلروفرم برای تمامی محاسبات در نظر گرفته شد.

شبیه سازی‌های اتصال مولکولی به DNA با استفاده از مجموعه نرم افزار Schrödinger انجام شد. به منظور بررسی نحوه برهمکنش ترکیب ساخته شده با DNA از روش داکینگ مولکولی استفاده شد. [۱۵] داکینگ با استفاده از مجموعه نرم افزاری شرودینگر و برنامه گلاید با بروز رسانی دوم سال ۲۰۱۵ انجام شد. [۱۶] ترکیب DNA با کد شناسایی 8BNA از بانک داده پروتئین^۲ انتخاب شد.

ساختار DNA با استفاده از نرم‌افزار Protein Preparation بهینه شد. [۱۷] به منظور بررسی پتانسیل ایجاد برهمکنش با ترکیب DNA، چهار کمپلکس پلاتینی با لیگاند فروسنی به صورت تک کئوردینه شده و همچنین سیکلومتاله معرفی شد (شکل ۳ و جدول ۲). با توجه به مشکلات ذاتی نرم‌افزار در نبود میدان‌های نیرو^۳ مناسب برای اتم پلاتین و آهن، بهینه سازی ساختار کمپلکس پلاتینی نیز با استفاده از همین نرم‌افزار Protein Preparation انجام شد. در ادامه برای تعیین سایت فعال و آماده سازی Grid box از نرم افزار Receptor Grid Generation استفاده شد. [۱۸] برای تعیین سایت فعال مولفه های X، Y و Z به ترتیب: 7، 25 و 5 انتخاب شد و همچنین اندازه سایت فعال نیز 10X تعیین شد. پس از شناساندن لیگاند، پروتئین و جایگاه اتصال به نرم افزار فرایند داکینگ انجام شد و با استفاده از خروجی گرافیکی نرم افزار نوع اتصال ترکیب پلاتینی به DNA مشخص شد. همچنین در ادامه شبیه سازی ها، انرژی آزاد گیبس نیز با استفاده از نرم‌افزار MMGBSA مورد محاسبه قرار گرفت. برای اجرا محاسبه MMGBSA از افزونه MM-GBSA در مجموعه Schrödinger استفاده شده است. [۱۹]

۴-۲- مطالعات حجم سنجی با مولکول DNA

DNA تیموس گاوی (ct-DNA) و قرص بافر فسفات (PBS) از شرکت سیگما خریداری شد و بدون هیچ خالص سازی مورد استفاده قرار گرفت. بافر فسفات از حل کردن یک قرص PBS در آب مقطر و با پی اچ بیولوژیک ۷/۴ بدست آمد. آماده سازی محلول مادر DNA و انجام تیتراسیون کمپلکس پلاتینی و DNA داخل همین بافر انجام شد. محلول مادر DNA از حل کردن ۱/۳ میلی‌گرم جامد DNA در حجم ۱۰ میلی لیتر بافر فسفات آماده شد. سپس این محلول به مدت یک شبانه روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. حداکثر ۴ روز پس از آماده سازی محلول DNA تیتراسیون انجام شد. غلظت محلول DNA با استفاده از ضریب جذب مولی در $\epsilon=6600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ بدست آمد. ارزیابی خلوص DNA نیز با استفاده از طیف سنجی UV-Vis و با اندازه گیری شدت جذب محلول بافری در دو طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر انجام شد. این مقدار برای DNA موجود ۱/۸۱

¹ Molecular Docking

² Protein Data Band (PDB)

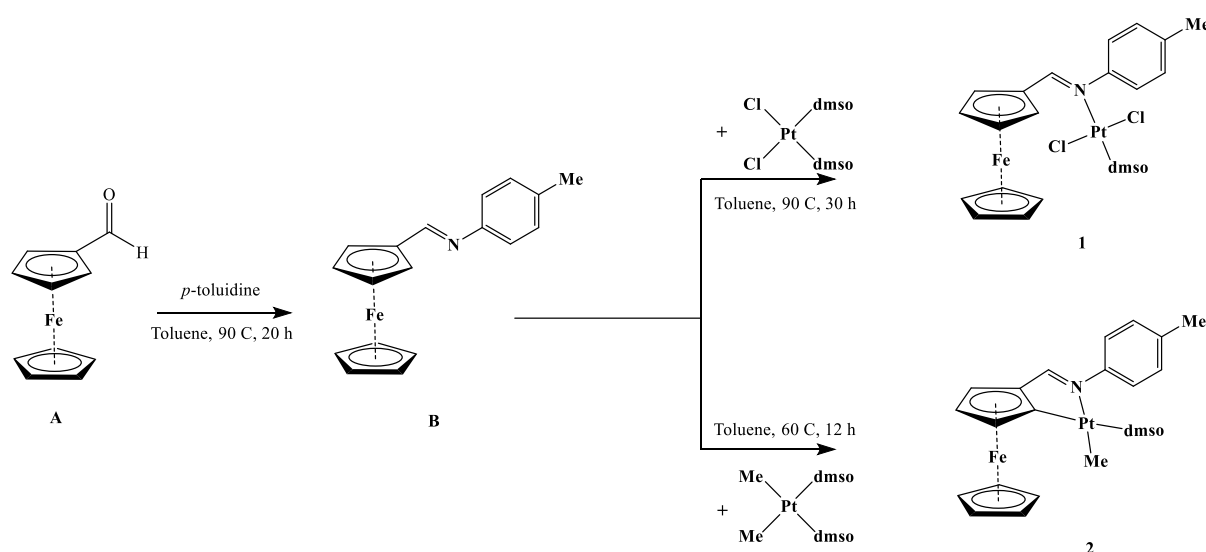
³ Force Field

بود که نشان دهنده آن است که محلول به اندازه کافی فاقد پروتئین می باشد. برای تهیه محلول کمپلکس از حل کردن مقدار مشخصی از کمپلکس در حداقل حلال استونیتریل و در ادامه به حجم رساندن با محلول بافری PBS استفاده شد. در هنگام به حجم رساندن محلول‌های ترکیب کمپلکس در استونیتریل به وسیله محلول بافری، به علت ماهیت آبی بافر، پس زدن ماده حل شده درون محلول رخ می دهد. برای حصول دقت کافی بهتر است از حرارت دادن ملایم و همزدن استفاده کرد.

۳- بحث و نتیجه گیری

۳-۱- سنتز و شناسایی ترکیبات

کمپلکس‌های سنتز شده طبق مسیر سنتزی زیر بدست آمدند.



شکل ۱. شمای سنتزی کمپلکس‌های پلاتینی

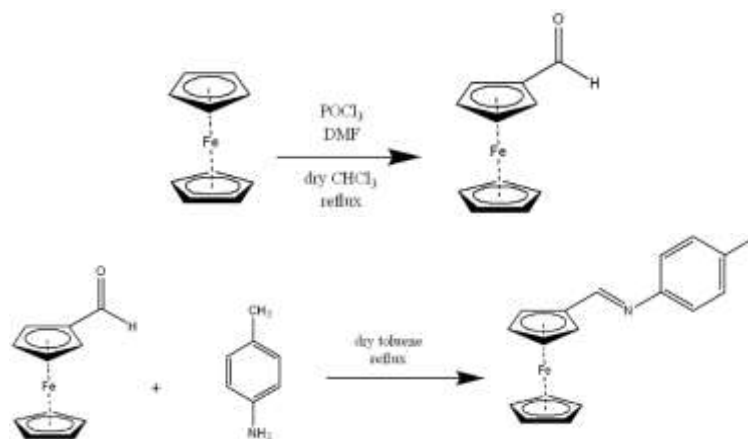
۳-۱-۱- تشکیل و شناسایی ترکیب فروسنیل ایمین $(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=NC}_6\text{H}_4\text{CH}_3)\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)$

از طریق واکنش ویلز مایر - هک، با استفاده از ترکیب POCl_3 و دی متیل فرم‌امید (DMF) در حلال کلروفرم، حد واسطی ایمینی تشکیل می شود. از هیدرولیز این ترکیب در pH خنثی ترکیب آلدهیدی $(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CHO})\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)$ بدست می آید. این ترکیب پیش ماده بسیاری از استخلاف‌های فروسنی می باشد. گروه آلدهید به راحتی به انواع دیگر گروه‌های عاملی تبدیل می شود.

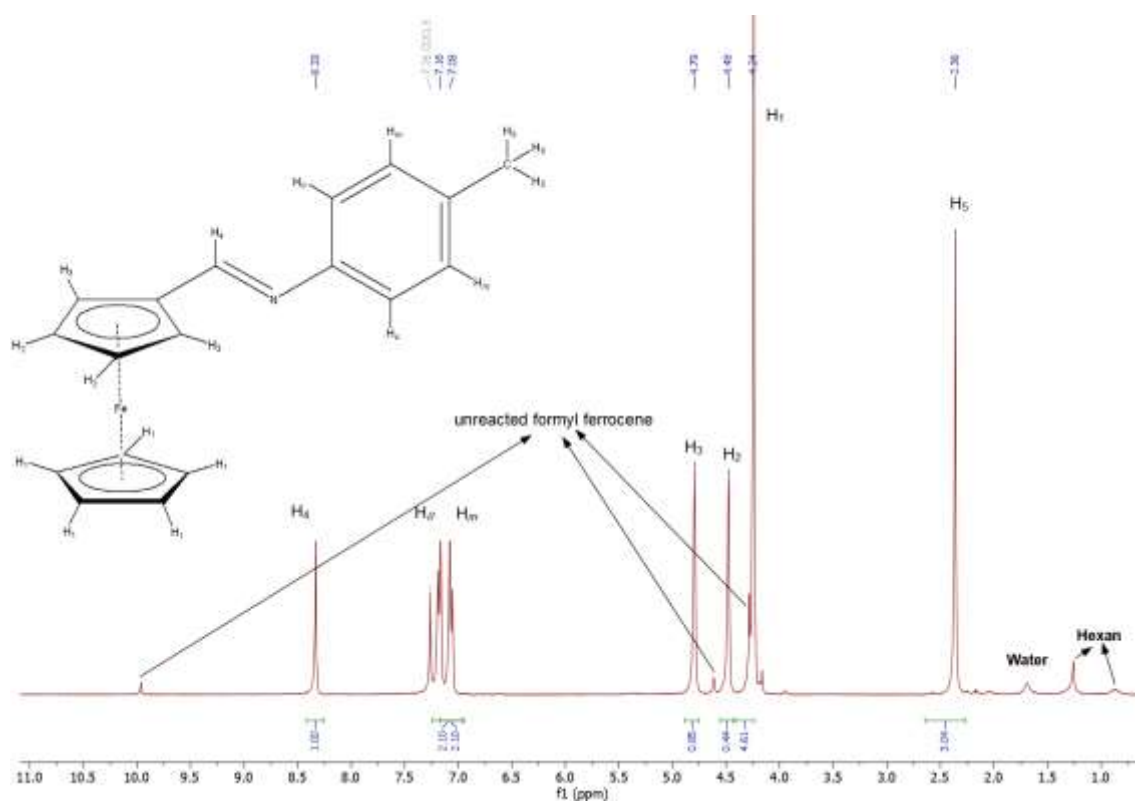
در طیف NMR ترکیب $(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CHO})\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)$ ۴ دسته پیک برای ترکیب فروسنیل ایمین مشاهده می شود. در ناحیه $\delta=9.95$ ppm پیک یکتایی هیدروژن گروه آلدهیدی مشاهده می شود. در ناحیه $\delta=4.80$ ppm و $\delta=4.61$ ppm پیک های دوتایی هیدروژن‌های حلقه سیکلوپنتادی انیل که استخلاف دار شده است و در ناحیه $\delta=4.28$ ppm نیز پیک یکتایی هیدروژن‌های حلقه بدون استخلاف وجود دارد. همچنین در ناحیه $\delta=4.16$ ppm پیک یکتایی جزئی مربوط فروسن واکنش نداده نیز مشاهده

می شود. همچنین پیک ارتعاشی مربوط به پیوند C=O آلهیدی نیز در 1674 cm^{-1} در طیف IR این ترکیب قابل مشاهده می باشد.

همانطور که در منابع نیز ذکر شده است [20]، واکنش تشکیل فروسنیل ایمین بدین صورت می باشد که ترکیب فروسن آلهید سنتز شده مرحله قبلی را با آمین آروماتیک پارا-تولوئیدین واکنش می دهیم. در حین واکنش در نتیجه تراکم گروه آلهید و آمین، یک مولکول آب آزاد می شود.



شکل ۲: شمای سنتز لیگاند فروسنی



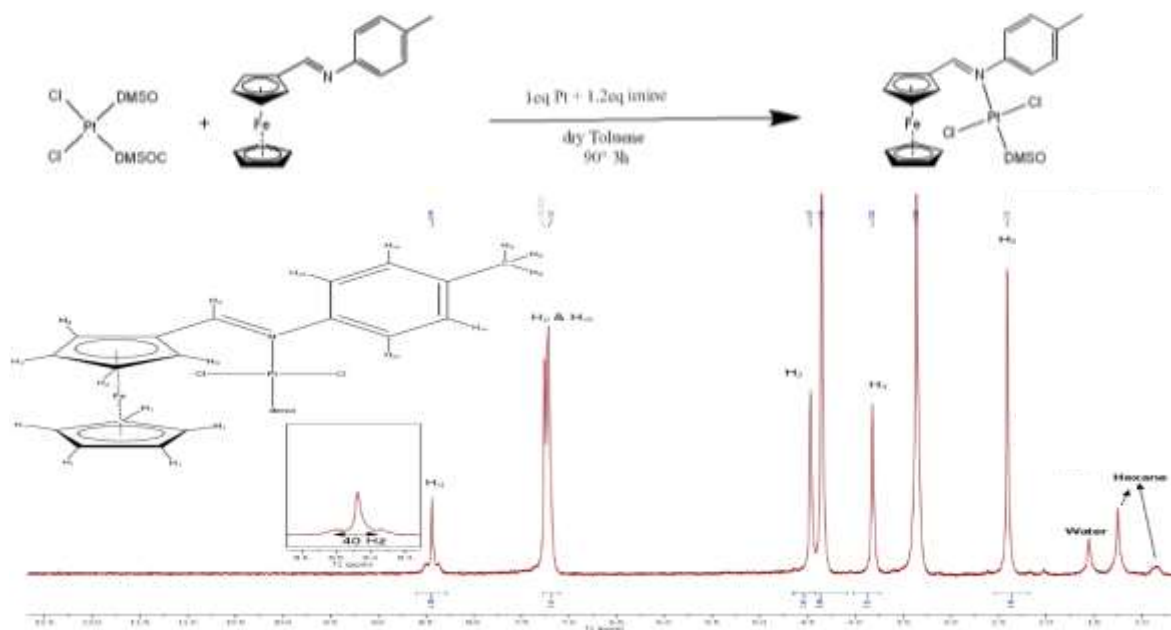
شکل ۳: طیف $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz) ترکیب $(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH}=\text{NC}_6\text{H}_4\text{CH}_3\text{-3})\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)$ در CDCl_3

طیف NMR ترکیب $(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=NC}_6\text{H}_4\text{CH}_3\text{-4})\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)$ در شکل فوق آورده شده است. پیک های این طیف بدین شرح می باشد: در $\delta=8.33$ ppm پیک یکتایی مربوط به هیدروژن موجود در باند ایمینی، در $\delta=7.08$ ppm و $\delta=8.33$ ppm دو پیک دوتایی مربوط به هیدروژن های روی حلقه تولوئیدین، در $\delta=4.79$ ppm و $\delta=4.48$ ppm، پیک‌های دوتایی مربوط به هیدروژن های حلقه فروسن استخلاف دار شده، در $\delta=4.24$ ppm پیک یکتایی مربوط به هیدروژن های حلقه بدون استخلاف فروسن و در آخر نیز در جابجایی شیمیایی $\delta=2.36$ ppm پیک یکتایی مربوط به گروه متیل در استخلاف پارا-تولوئیدین. در این طیف، مقدار جزئی از ترکیب فروسن کربوکسالدئید واکنش نداده نیز مشاهده میشود.

همچنین پیک ارتعاشی مربوط به پیوند (C=O) آلدئیدی در ماده اولیه نیز حذف شده و پیک جدیدی نیز در عدد موج cm^{-1} ۱۶۱۹ مربوط به پیوند ایمینی (C=N) در طیف IR این ترکیب قابل مشاهده می باشد.

۳-۱-۲- تشکیل و شناسایی کمپلکس پلاتینی $\text{trans-PtCl}_2(\text{dmsO})((\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=NC}_6\text{H}_4\text{CH}_3)\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5))$

واکنش تشکیل کمپلکس تک کوئوردینه لیگاند فروسنیل ایمین با کمپلکس $\text{PtCl}_2(\text{dmsO})_2$ بدین صورت می باشد که لیگاند فروسنی در حلال تولوئن خشک حل شده و سپس کمپلکس پلاتینی به محلول فوق اضافه می شود. گروه نیتروژن در لیگاند ایمینی به جای گروه دی متیل سولفوکسید قرار می گیرد. در این حین از طریق انجام واکنش های ایزومری، گروه های کلر که ابتدا به صورت سیس به هم متصل بودند، در محصول به صورت ترانس نسبت به هم قرار می گیرند. به این صورت که ابتدا حد واسط پنج کوئوردینه با حضور لیگاند ایمینی تشکیل می شود و در ادامه به بیرون رفتن گروه تغییر پذیر dmsO ، ترکیب پایدار تر که ایزومر ترانس می باشد، تشکیل می شود.

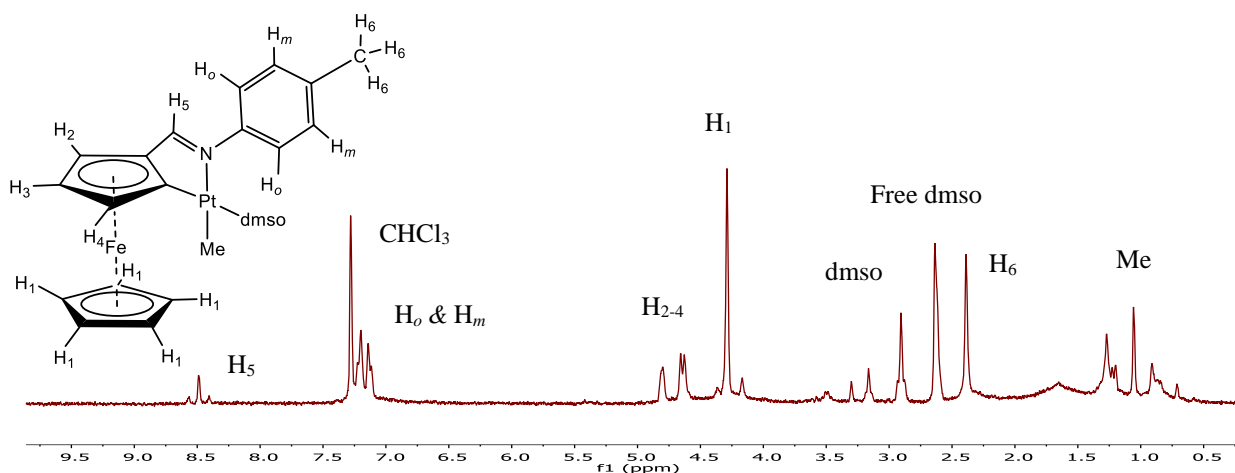


شکل ۴: طیف $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz) ترکیب $\text{trans-PtCl}_2(\text{dmsO})((\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=NC}_6\text{H}_4\text{CH}_3\text{-4})\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5))$ در CDCl_3

در شکل فوق طیف NMR ترکیب $\text{trans-PtCl}_2(\text{dmsO})((\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH=NC}_6\text{H}_4\text{CH}_3)\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5))$ آورده شده است و پیک ها به این شرح می باشند: در جابجایی شیمیایی $\delta=8.33$ ppm پیک یکتایی مربوط به هیدروژن گروه ایمینی قرار دارد. در جابجایی شیمیایی $\delta=7.22$ ppm پیک چندتایی مربوط به هیدروژن های آروماتیک حلقه پارا-تولیل. در جابجایی های شیمیایی $\delta=4.47$ ppm و $\delta=4.36$ ppm و $\delta=3.82$ ppm پیک های هیدروژن های حلقه سیکلوپنتادی انیل. در جابجایی $\delta=3.36$ ppm پیک یکتایی مربوط به هیدروژن های گروه دی متیل سولفوکسید و در جابجایی $\delta=2.41$ ppm پیک یکتایی مربوط به هیدروژن های گروه متیل روی لیگاند پارا-تولیل. همچنین پیک ارتعاشی مربوط به پیوند ایمینی (C=N) نیز در عدد موج 1611 cm^{-1} در طیف IR این ترکیب قابل مشاهده می باشد.

۳-۱-۳- تشکیل و شناسایی کمپلکس پلاتینی $\text{PtMe}(\text{dmsO})((\eta^5\text{-C}_5\text{H}_3\text{CH=NC}_6\text{H}_4\text{CH}_3)\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5))$

واکنش تشکیل کمپلکس سیکلومتال لیگاند فروسنیل ایمین با کمپلکس $\text{PtCl}_2(\text{dmsO})_2$ بدین صورت می باشد که لیگاند فروسنی در حلال تولوئن خشک حل شده و سپس کمپلکس پلاتینی به محلول فوق اضافه می شود. گروه نیتروژن در لیگاند ایمینی به جای گروه دی متیل سولفوکسید قرار می گیرد. در این حین با فعالسازی و جدا شدن پیوند کربن-هیدروژن در حلقه پنج ضلعی فروسن و انجام واکنش حذفی کاهشی با یکی از گروه های متیل بر روی پلاتین، ترکیب سیکلومتال تشکیل می شود.



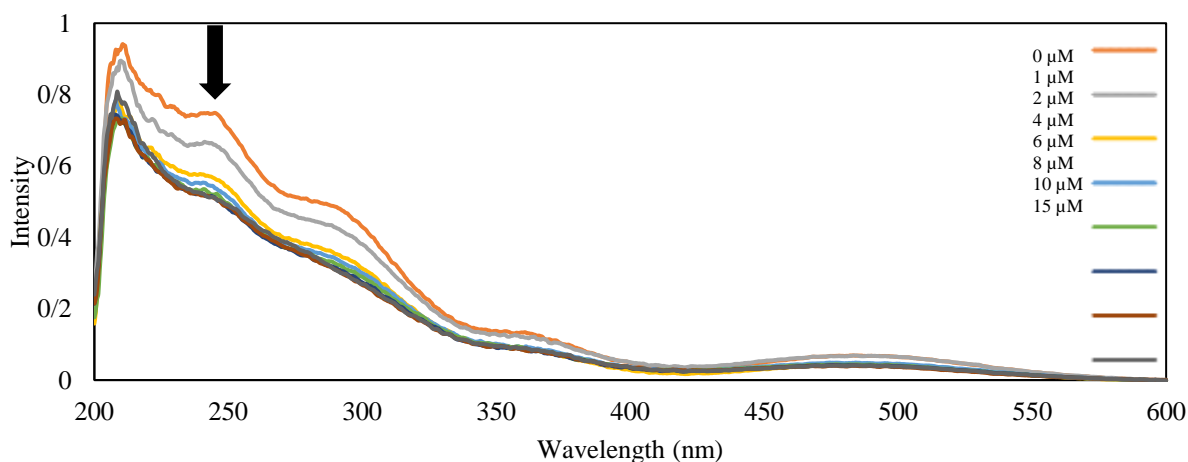
شکل ۵: طیف $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz) ترکیب $\text{PtMe}(\text{dmsO})((\eta^5\text{-C}_5\text{H}_3\text{CH=NC}_6\text{H}_4\text{CH}_3)\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5))$ در CDCl_3

در شکل فوق طیف NMR ترکیب $\text{PtMe}(\text{dmsO})((\eta^5\text{-C}_5\text{H}_3\text{CH=NC}_6\text{H}_4\text{CH}_3)\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5))$ آورده شده است و پیک ها به این شرح می باشند: در جابجایی شیمیایی $\delta=8.47$ ppm پیک یکتایی مربوط به هیدروژن گروه ایمینی قرار دارد. در جابجایی شیمیایی $\delta=7.15$ ppm پیک چندتایی مربوط به هیدروژن های آروماتیک حلقه پارا-تولیل. در جابجایی های شیمیایی $\delta=4.78$ ppm و $\delta=4.64$ ppm و $\delta=4.61$ ppm و $\delta=4.27$ ppm پیک های هیدروژن های حلقه سیکلوپنتادی انیل. در جابجایی $\delta=2.88$ ppm پیک یکتایی مربوط به هیدروژن های گروه دی متیل سولفوکسید و در جابجایی $\delta=2.37$ ppm پیک یکتایی مربوط به هیدروژن های گروه متیل روی لیگاند پارا-تولیل و در جابجایی $\delta=1.04$ ppm پیک یکتایی مربوط به هیدروژن های لیگاند متیل.

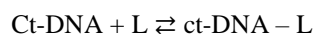
لازم بذکر است که وجود مقادیری ناخالصی در طیف مشخص است که تلاش‌ها برای خالص‌سازی بیشتر آن نتیجه موثرتری ایجاد نکرد.

۳-۲- مطالعات طیف سنجی UV-Vis

طیف جذبی کمپلکس 1 در غلظت‌های مختلف ct-DNA (از صفر تا ۱۲۵ میکرومولار) انجام شد. نتایج این تیتراسیون در نمودار شکل ۶ آورده شده است. مطابق با این نمودار، در سه ناحیه طول موج جذبی مشاهده می‌شود که با بررسی هر سه طول موج، مشخص شد که ناحیه 245 nm بیشترین حساسیت را داشته و برای انجام محاسبات بدست آوردن ضریب اتصال به مولکول DNA مورد استفاده قرار گرفت. مطابق با داده‌های نمودار، در زمانی که غلظت مولکول DNA صفر بوده و تا مقدار مشخصی افزایش می‌یابد، شدت طول موج جذبی در ناحیه ۲۴۵ نانومتر تا حدی کاهش می‌یابد، در ادامه با افزایش DNA و با توجه طول موج جذبی ذاتی مولکول DNA در ناحیه ۲۶۰ نانومتر شدت پیک جذبی افزایش می‌یابد. با توجه به نتایج بدست آمده، تا غلظت ۱۵ میکرومولار از DNA در محاسبات لحاظ شده و از باقی داده‌ها صرفه نظر می‌کنیم. به منظور اندازه‌گیری کمی قدرت اتصال و تعیین نوع برهمکنش کمپلکس پلاتینی با مولکول DNA، به دنبال یافتن ثابت تجمعی حالت پایه^۱ برای کمپلکس DNA با ترکیب پلاتینی هستیم.



شکل ۶: طیف جذبی UV-Vis در دمای محیط از برهمکنش کمپلکس 1 با غلظت‌های افزایشی از ترکیب DNA در محیط آبی واکنش انجام شده بین DNA و ترکیب پلاتینی به صورت زیر می‌باشد.



در این رابطه منظور از L (لیگاند) کمپلکس $\text{trans-Pt}(\text{Cl})_2(\text{dmsO})(\text{Fc-imine})$ می‌باشد. برای بدست آوردن K_a میتوان با استفاده

از معادله Bensi-Hilderbrand تخمین زد. [۲۱]

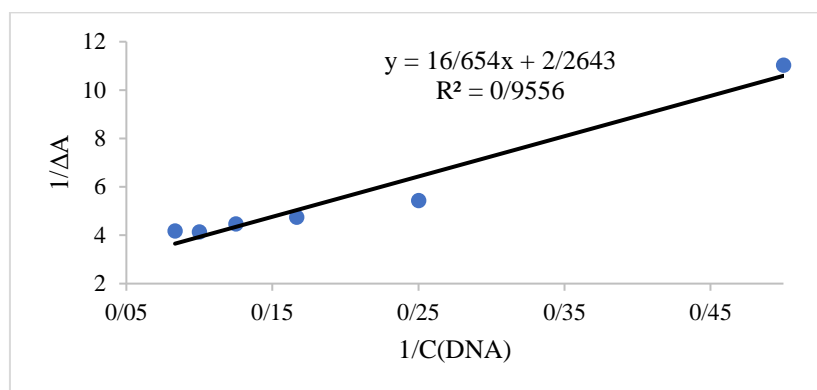
$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{(\epsilon_b - \epsilon_f)L_T} + \frac{1}{(\epsilon_b - \epsilon_f)L_T K_a} \times \frac{1}{M}$$

¹ The ground state association constant

در این رابطه نیز ϵ ضریب خاموشی، زیروند های b ، f و T به ترتیب لیگاند های متصل، آزاد و مجموع آن ها میباشد. L غلظت لیگاند، M غلظت مولکول DNA و ΔA تغییرات در طول موج مورد محاسبه میباشد. با رسم نمودار $\frac{1}{\Delta A}$ بر حسب $\frac{1}{M}$ و بدست آوردن شیب و عرض از مبدا از روی نمودار، ثابت تجمعی برای تشکیل کمپلکس (K_a) را میتوان بدست آورد. برازش داده‌ها برای غلظت‌های تا ۱۵ میکرومولار از ترکیب DNA در جدول و نمودار زیر آورده شده است.

جدول ۱. برازش داده‌ها برای تیتراسیون UV-Vis کمپلکس 1 پلاتینی با DNA

C (DNA) /M	1/C(DNA)	A(246 nm)	ΔA	1/ ΔA
0	-	0.7442	0	-
0.000002	0.5	0.6535	0.0907	11.02536
0.000004	0.25	0.5603	0.1839	5.437738
0.000006	0.167	0.5336	0.2106	4.748338
0.000008	0.125	0.5201	0.2241	4.462294
0.00001	0.1	0.5026	0.2416	4.139073
0.000012	0.083	0.5046	0.2396	4.173623



شکل ۷: نمودار برازش داده‌های تیتراسیون کمپلکس پلاتینی با DNA

برای بدست آوردن مقدار K_a نیز کافی است تا عرض از مبدا را تقسیم بر شیب نمودار کنیم:

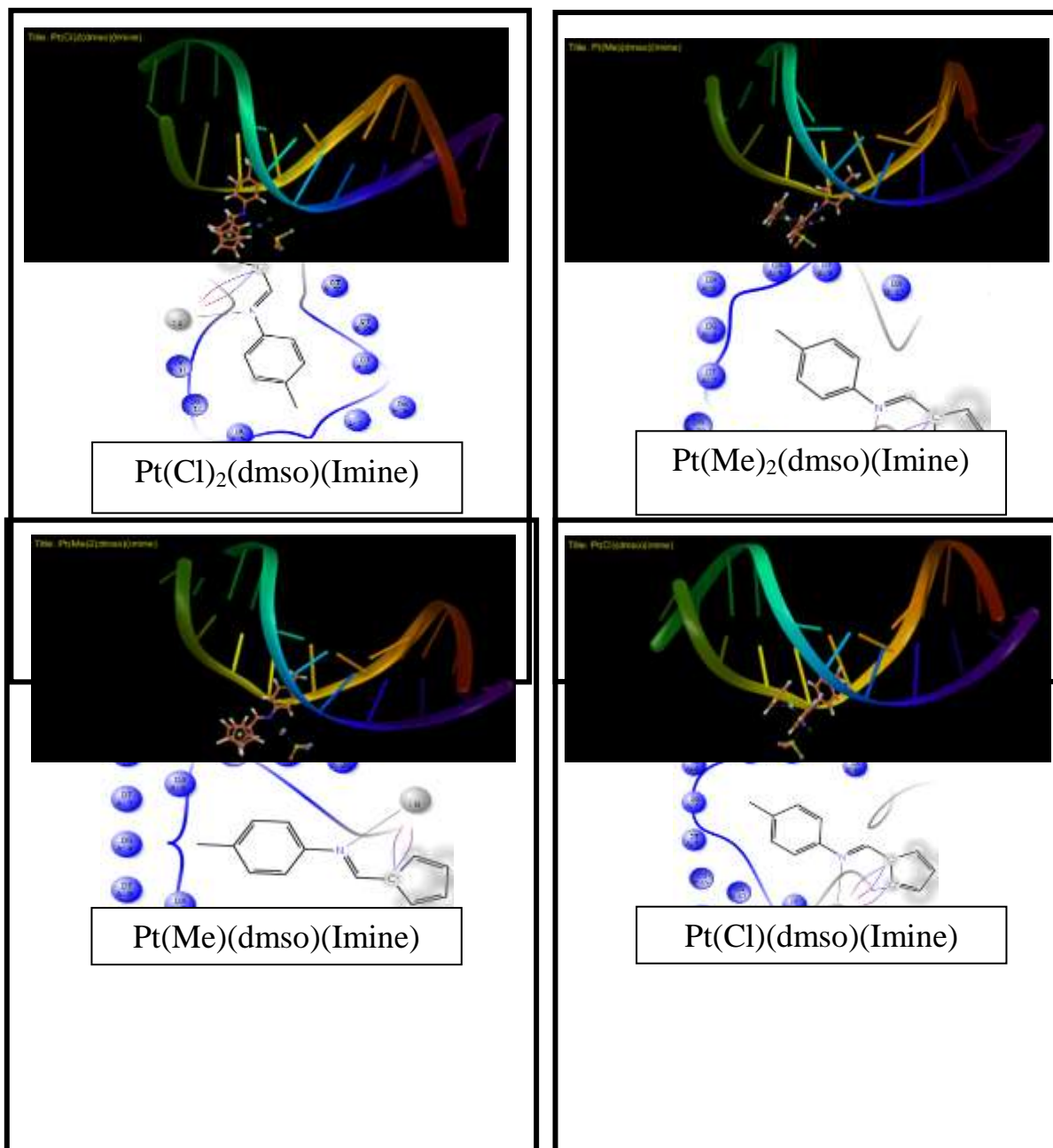
$$K_a = 0.136$$

$$\Delta G = -RT \ln K_a$$

$$\Delta G = -4.27233 \text{ kJ/mol}$$

۳-۳- محاسبات داکینگ

طریقه اتصال هر چهار کمپلکس در شکل زیر آورده شده است



شکل ۸: برهمکنش‌های کمپلکس‌های پلاتینی با مولکول DNA (8BNA)

در ادامه انجام محاسبات و با استفاده از نرم افزار Prime موجود در بسته نرم افزاری Schrödinger میتوان انرژی آزاد گیبس را محاسبه کرد. انرژی آزاد گیبس کمیتی است که بیانگر تمایل سیستم به انجام واکنش است، هر چه این مقدار منفی تر باشد

نشان دهنده آن است که تمایل به انجام واکنش خود به خودی بیشتر است. با استفاده از نرم افزار Prime، این کمیت به روش زیر بدست می‌آید. [۲۲]

جدول ۲. امتیازات اتصال برای کمپلکس‌های پلاتینی و لیگاند فروسنی

Platinum Complex	Glide Docking Score	Potential Energy OPLS2011
Pt(Cl)(dmsO)(imine)	-3.720	57.891
Pt(Me) ₂ (dmsO)(imine)	-3.476	80.430
Pt(Me)(dmsO)(imine)	-3.124	71.817
Pt(Cl) ₂ (dmsO)(imine)	-2.697	53.607

روش مکانیک مولکولی MM/GBSA^۱ که در نرم افزار Prime موجود است با انجام محاسبه فوق مقادیر انرژی آزاد گیبس، با احتساب و بدون احتساب تنش^۲، را به صورت زیر محاسبه کرده است.

جدول ۳. مقادیر انرژی آزاد گیبس برای کمپلکس‌های پلاتینی و لیگاند فروسنی

Platinum Complex	MMGBSA ΔG binding lipophilic energy (kJ/mol)	MMGBSA ΔG binding lipophilic energy (no strain) (kJ/mol)
Pt(Cl)(dmsO)(imine)	-8.252241749	-8.248256744
Pt(Me) ₂ (dmsO)(imine)	-8.27796905	-8.270895957
Pt(Me)(dmsO)(imine)	-8.478542217	-8.472842238
Pt(Cl) ₂ (dmsO)(imine)	-7.767021861	-7.755676179

مقدار انرژی آزاد گیبس بدست آمده برای تنها کمپلکس سنتز شده با مقدار تجربی انجام تیتراسیون DNA-کمپلکس قابل مقایسه است. مقدار بدست آمده طی آزمایش تیتراسیون، مقدار 4.27233 kJ/mol بدست آمد. طبق محاسبات انتظار می‌رود که ترکیب سیکلومتاله Pt(Cl)(dmsO)(imine) در مقایسه با سایر ترکیبات بیشترین تمایل به اتصال به DNA را داشته باشد. همچنین در محاسبات مشخص شده است که ترکیب سنتز شده مونوکوئوردینه Pt(Cl)₂(dmsO)(imine) کمترین تمایل به اتصال به DNA را دارد.

مقدار شبیه سازی شده انرژی آزاد گیبس (MMGBSA) با مقدار بدست آمده از مشاهدات تجربی تیتراسیون الکترونی ترکیب پلاتینی و مولکول ct-DNA قابل مقایسه است.

۴ - نتیجه گیری

در این مقاله دو کمپلکس جدید از پلاتین حاوی لیگاند فروسنیل ایمین 1 و 2 سنتز شدند. در این دو کمپلکس، لیگاند فروسنی به دو طریقه تک کئوردینه و سیکلومتاله به فلز پلاتین متصل شده اند. تشکیل این کمپلکس توسط طیف‌بینی NMR مورد تایید

¹ Molecular mechanics generalized Born and surface area

² Strain

قرار گرفت. ترکیبات پلاتینی سنتز شده با توجه به موارد گزارش شده پیشین، توانایی بالقوه مهار رشد سلول‌های سرطانی از طریق ایجاد برهمکنش با DNA این سلول‌ها را دارا هستند. به منظور بررسی این خاصیت از دیدگاه مولکولی، برهمکنش یکی از این کمپلکس‌ها (1) با مولکول DNA به صورت تجربی (تیتراسیون UV-Vis) و محاسباتی (شبیه سازی داکینگ) مورد ارزیابی قرار گرفت. طبق نتایج بدست آمده از طیف سنجی UV-Vis، پیک‌های جذبی کمپلکس (1) به طور موفقیت آمیزی در حضور غلظت‌های افزایشنده از مولکول DNA خنثی شد که این نتیجه نشان دهنده اتصال موفقیت آمیز این کمپلکس به مولکول DNA است. همچنین در راستای مطالعات محاسباتی، چهار کمپلکس در دو دسته تک کوردینه و سیکلومتاله از ترکیب پلاتینی با مولکول DNA مورد شبیه سازی داکینگ مولکولی قرار گرفت. نتایج بدست آمده تطبیق خوبی با داده‌های تجربی طیف سنجی UV-Vis بدست آمده در مرحله قبل دارد. در نهایت بر اساس داده های شبیه سازی، کمپلکس سیکلومتاله Pt(Cl)(dmsO)(Imine) بالاترین برهمکنش را با مولکول DNA داراست.

۵- منابع

- [1] Skuse, A. (2015). Constructions of cancer in early modern England: ravenous natures (p. 219). Springer Nature.
- [2] Heitzer, E., Auinger, L., & Speicher, M. R. (2020). Cell-free DNA and apoptosis: how dead cells inform about the living. *Trends in molecular medicine*, 26(5), 519-528.
- [3] Brabec, V., & Nováková, O. (2006). DNA binding mode of ruthenium complexes and relationship to tumor cell toxicity. *Drug Resistance Updates*, 9(3), 111-122.
- [4] Tabatabaei Rezaei, S. J., Mashhadi Malekzadeh, A., Sarbaz, L., Niknejad, H., & Ramazani, A. (2020). Hyperbranched polymers functionalized magnetic nanoparticles for targeted delivery and intracellular release of cisplatin. *Applied Chemistry*, 15(54), 55-70. (in persian)
- [5] Roos, W. P., & Kaina, B. (2006). DNA damage-induced cell death by apoptosis. *Trends in molecular medicine*, 12(9), 440-450.
- [6] Wang, D., & Lippard, S. J. (2005). Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature reviews Drug discovery*, 4(4), 307-320.
- [7] Abbasi, P., & Shafaatian, B. (2020). Synthesis, Characterization, Fluorescence and Electrochemical Studies of New Ferrocene Schiff base ligand Containing Nitrogen Donor Atoms and Its Palladium (II), Nickel (II) and Copper (II) Complexes. *Applied Chemistry*, 15(55), 111-124. (in persian)
- [8] Arabali, V. (2016). Electrocatalytic Determination of Captopril using NiO Nanoparticle/Acetylferrocene Modified Electrode in Biological and Pharmaceutical Samples *J. Of Applied Chemistry*. 11 9. (in persian)
- [9] Acevedo-Morantes, C. Y., Meléndez, E., Singh, S. P., & Ramírez-Vick, J. E. (2012). Cytotoxicity and reactive oxygen species generated by ferrocenium and ferrocene on MCF7 and MCF10A cell lines. *J Cancer Sci Ther*, 4(9), 271-275.

- [10] Van Staveren, D. R., & Metzler-Nolte, N. (2004). Bioorganometallic chemistry of ferrocene. *Chemical reviews*, 104(12), 5931-5986.
- [11] Nabavizadeh, S. M., Niroomand Hosseini, F., Niknam, F., Hamidizadeh, P., Hoseini, S. J., Ford, P. C., & Abu-Omar, M. M. (2019). Chelating and Bridging Roles of 2-(2-Pyridyl) benzimidazole and Bis (diphenylphosphino) acetylene in Stabilizing a Cyclic Tetranuclear Platinum (II) Complex. *Inorganic chemistry*, 58(21), 14608-14616.
- [12] Imrie, C., Nyamori, V. O., & Gerber, T. I. (2004). Solvent-free synthesis of ferrocenylimines. *Journal of organometallic chemistry*, 689(9), 1617-1622.
- [13] Frisch, M. J. (2009). Gaussian 09 revision A. 02. (No Title).
- [14] Cossi, M., Scalmani, G., Rega, N., & Barone, V. (2002). New developments in the polarizable continuum model for quantum mechanical and classical calculations on molecules in solution. *The Journal of Chemical Physics*, 117(1), 43-54.
- [15] Pagadala, N. S., Syed, K., & Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: a review. *Biophysical reviews*, 9, 91-102.
- [16] Schrödinger Release 2015-2: *Schrödinger*, (2015).
- [17] Friesner, R. A., Banks, J. L., Murphy, R. B., Halgren, T. A., Klicic, J. J., Mainz, D. T., ... & Shenkin, P. S. (2004). Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *Journal of medicinal chemistry*, 47(7), 1739-1749.
- [18] T. A. Halgren, R. B. Murphy, R. A. Friesner, H. S. Beard, L. L. Frye, W. T. Pollard, J. L. Banks, *Journal of medicinal chemistry*. **47** (2004) 1750.
- [19] Friesner, R. A., Murphy, R. B., Repasky, M. P., Frye, L. L., Greenwood, J. R., Halgren, T. A., ... & Mainz, D. T. (2006). Extra precision glide: Docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein–ligand complexes. *Journal of medicinal chemistry*, 49(21), 6177-6196.
- [20] Stevanović, D., Bertuzzi, G., Mazzanti, A., Fochi, M., & Bernardi, L. (2018). Catalytic Enantioselective Povarov Reactions of Ferrocenecarbaldehyde-Derived Imines–Brønsted Acid Catalysis at Parts-Per-Million Level Loading. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 360(5), 893-900.
- [21] Benesi, H. A., & Hildebrand, J. H. J. (1949). A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons. *Journal of the American Chemical Society*, 71(8), 2703-2707.
- [22] Genheden, S., & Ryde, U. (2015). The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert opinion on drug discovery*, 10(5), 449-461.