

Preparation of a Novel Polymer-Complex Supported Iron (III) and Study of Its Anti-Cancer Properties

Siavash Hasanvandi, Ebrahim Mehdipour*, Parvaneh Shafieyoon

Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Lorestan University, Khorramabad, Lorestan

Received: 25 March 2023, accepted: 26 July 2023

ABSTRACT

Hypothesis: Due to the alternating hydroxyl and secondary amine groups, the polymer poly(1-(2-((3-amino-2-hydroxypropyl)amino)ethyl)-1'-ethyl-[4,4'-bipyridine]-1,1'-dium) (poly(AHAEBD)), is highly prone to complex formation. In this case, iron (III) was selected for complexation with poly(AHAEBD) due to its effective role in metabolic activities in the body then, anticancer effects of the synthesized compounds were evaluated on human breast cancer cells (MCF-7).

Methods: 1,1'-Bis(2-aminoethyl)-[4,4'-bipyridine]-1,1'-dium (BABD) was prepared from the reaction of 4,4'-bipyridine and 2-aminoethyl bromide. The polymer, poly(AHAEBD), was synthesized from the reaction of BABD and epichlorohydrin (ECH) then complexed with iron (III) to prepare $[\text{Fe}(\text{poly}(\text{AHAEBD})_2)]_2.\text{Na}_3$. The structure of the synthesized compounds was confirmed using Fourier transfer infrared spectroscopy (FTIR), proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR) spectroscopy, field emission scanning electron microscopy (FE-SEM), energy-dispersive spectroscopy (EDS), and gel permeation chromatography (GPC). The effects of $[\text{Fe}(\text{poly}(\text{AHAEBD})_2)]_2.\text{Na}_3$, poly(AHAEBD), and cisplatin as a reference were evaluated on the MCF-7 cell line using the MTT assay.

Findings: The IC_{50} values for the polymer complex $[\text{Fe}(\text{poly}(\text{AHAEBD})_2)]_2.\text{Na}_3$ (0.53 $\mu\text{g}/\text{mL}$), cisplatin (2.68 $\mu\text{g}/\text{mL}$), and poly(AHAEBD) (1.14 $\mu\text{g}/\text{mL}$) were obtained, indicating the superior performance of this polymer complex in inhibiting cancer cell growth compared to cisplatin as well as displaying the effect of complex formation with iron in increase the cytotoxicity compared to poly(AHAEBD). The impact of the synthesized polymer on the MCF-7 cancer cell line, on one hand, as well as the effect of increased iron levels in stopping the growth of cancer cells, on the other hand, it has resulted in the effective performance of this complex polymer in stopping the growth of cancer cells in in vitro tests. Based on the results obtained, this polymer complex can be considered as a potential candidate for further investigation as an anticancer drug.

Keywords:

iron polymer-complex,
anticancer,
support,
breast cancer,
cisplatin

(*To whom correspondence should be addressed.

E-mail: e_mehdipour@yahoo.com

Please cite this article using:

Hasanvandi S., Mehdipour E., Shafieyoon P., Preparation of a Novel Polymer-Complex Supported Iron (III) and Study of Its Anti-Cancer Properties, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **36**, 167-176, 2023.

تهیه پلیمر-کمپلکس جدید با نگهدارنده آهن (III) و بررسی خواص ضدسرطانی آن

سیاوش حسونندی، ابراهیم مهدی پور^{*}، پروانه شفیعپور

گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، لرستان

دریافت: ۱۴۰۲/۱/۵، پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۴

چکیده

فرضیه: پلی(۱-۲-((۳-آمینو-۲-هیدروکسی پروپیل)آمینو)اتیل)-۱-اتیل-۴-بی پیریدین]-۱،۱-۱-دی ایوم (Poly(AHAEBD))، به دلیل داشتن گروه‌های عاملی متناوب هیدرکسی و آمین نوع دوم، بسیار مستعد واکنش‌های تشکیل کمپلکس است. در کار حاضر فلز آهن (III) به دلیل نقش مؤثر در فعالیت‌های متابولیکی بدن، برای کمپلکس شدن با Poly(AHAEBD) انتخاب و آثار ضدسرطانی آن بر رده یاخته‌ای سرطان پستان انسانی (MCF-7) بررسی شد.

روش‌ها: ابتدا، ترکیب ۱،۱-بیس-۲-آمینواتیل)-۴-بی پیریدین]-۱،۱-دی ایوم (BABD) از واکنش ۴،۴-بی پیریدین و ۲-آمینواتیل برمید تهیه شد. سپس، پلیمر Poly(AHAEBD) از واکنش BABD و اپی کلروهیدرین (EHC) سنتز و با آهن (III) برای تشکیل $[Fe(Poly(AHAEBD)_2)_2]Na_3$ کمپلکس شد. ساختار ترکیبات سنتز شده با استفاده از طیف‌نمایی زیرقرمز تبدیل فوری (FTIR)، طیف‌نمایی رزونانس مغناطیسی هسته (1H NMR)، میکروسکوپی الکترونی پویشی گسیل میدانی (FE-SEM)، طیف‌نمایی پاشنده انرژی (EDS) و سوانگاری ژل تراوشی (GPC) تأیید شد. اثر ترکیبات $[Fe(Poly(AHAEBD)_2)_2]Na_3$ و Poly(AHAEBD) و سیس پلاتین به‌عنوان مرجع، روی رده یاخته‌ای MCF-7 با آزمون MTT بررسی شد.

یافته‌ها: مقدار IC_{50} پلیمر کمپلکس $[Fe(Poly(AHAEBD)_2)_2]Na_3$ ($0/53 \mu g/mL$)، سیس پلاتین ($2/68 \mu g/mL$) و Poly(AHAEBD) ($1/14 \mu g/mL$) به دست آمد که نشان‌دهنده عملکرد بهتر این پلیمر کمپلکس نسبت به سیس پلاتین و نیز اثر تشکیل کمپلکس با آهن در افزایش مقدار سمیت نسبت به ترکیب Poly(AHAEBD) است. اثر پلیمر سنتز شده بر رده یاخته سرطانی MCF-7 از یک طرف و اثر افزایش مقدار آهن در توقف رشد یاخته‌های سرطانی، از طرف دیگر باعث عملکرد مؤثر این پلیمر کمپلکس در توقف رشد یاخته‌های سرطانی در آزمون‌های برون‌تنی شده است. براساس نتایج، از این پلیمر کمپلکس می‌توان به‌عنوان انتخابی بالقوه در بررسی‌های بیشتر برای داروی ضدسرطان استفاده کرد.

^{*} مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:

e_mehdipour@yahoo.com

واژه‌های کلیدی

پلیمر کمپلکس آهن،
سرطان سینه،
ضدسرطان،
سیس پلاتین،
نگهدارنده

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در بین زنان است [۱] و پیش‌بینی می‌شود تا ۲۰۳۰ میلادی تعداد مبتلایان به سرطان سینه ۵۰٪، از ۲/۱ میلیون بیمار در ۲۰۱۸ میلادی به ۳/۲ میلیون بیمار در ۲۰۳۰ میلادی افزایش یابد [۲]. شیمی‌درمانی یکی از رایج‌ترین روش‌های درمان سرطان سینه است. ترکیبات پایه‌فلزی سال‌هاست که در شیمی‌درمانی مورد توجه قرار گرفته‌اند [۳]. در این میان، کمپلکس‌های آهن به‌دلیل طیف گسترده‌ای از واکنش‌ها و هدف قراردادن سامانه‌های مختلف زیستی، جایگزین‌های کارآمدی برای شیمی‌درمانی‌های مرسوم بر پایه پلاتین هستند [۴]. آهن نقش مهمی در مرگ برنامه‌ریزی‌شده یاخته‌ای دارد و مطالعات زیادی برای توسعه راهکارهای بالقوه برای درمان تومور روی ترکیبات آهن انجام شده است [۵]. رشد و تکثیر یاخته‌های سرطانی بدخیم ارتباط زیادی با برهم‌زدن خون‌ایستایی (homeostasis) آهن از راه بیان ژن‌های مسئول جذب آن در یاخته دارد که به‌دلیل مصرف زیاد آهن توسط این یاخته‌ها، در مراحل رشد و تکثیر رخ می‌دهد. از این‌رو، ترکیبات آهن‌دار می‌توانند به‌نحو مؤثری برای توقف رشد تومور سرطانی وارد یاخته شده و در نهایت به مرگ یاخته سرطانی منجر شوند [۶،۷]. همچنین، افزایش دژ آهن در یاخته باعث افزایش گونه‌های رادیکالی مانند رادیکال هیدروکسیل می‌شود که با حمله به توالی نوکلئیک اسید در DNA می‌توانند به توقف چرخه حیات یاخته سرطانی منجر شوند [۸،۹]. کمپلکس‌های پلیمر-فلز، ساختارهای ترکیبی متشکل از یک پیکره پلیمری و یک یون فلزی یا نانوذرات فلزی هستند که با پیوندهای هم‌آرای (کوئوردیناسیونی) قوی به آن متصل شده‌اند. کمپلکس‌های پلیمر-فلز به‌دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی منحصربه‌فرد خود به‌طور گسترده در صنایع مختلف مانند داروسازی، زیست‌پزشکی و پژوهش‌های زیستی استفاده شده‌اند [۱۰-۱۲]. در صنعت داروسازی، کمپلکس‌های پلیمر-فلز به‌عنوان راهکار مهمی برای توسعه داروهای جدید مطرح شده‌اند. با استفاده از شیمی کوئوردیناسیون فلزات، کمپلکس‌های پلیمر-فلز را می‌توان برای به‌طور ویژه هدف قراردادن مولکول‌های زیستی عامل بیماری طراحی کرد و نتایج درمانی شایان توجهی را به‌دست آورد [۱۳]. افزون بر این، کمپلکس‌های پلیمر-فلز کاربردهای متنوعی در سایر زمینه‌های زیست‌پزشکی پیدا کرده‌اند. به‌عنوان مثال، استفاده از کمپلکس‌های پلیمر-طلا به‌عنوان نانوحامل در دارورسانی هدفمند به‌دلیل قابلیت آن‌ها در تجمع‌گزینی درون بافت‌های تومور بررسی شده است [۱۴]. همچنین در تصویربرداری پزشکی، پلیمر کمپلکس‌های آهن به‌عنوان ماده تولیدکننده تابین (contrast) در تصویربرداری رزونانس مغناطیسی (MRI) استفاده

می‌شوند [۱۵]. اخیراً پژوهش‌های زیادی درباره بررسی اثر ضدسرطانی پلیمر-کمپلکس‌های فلزات مختلف انجام شده است [۱۶،۱۷] از آن جمله می‌توان به بررسی خاصیت ضدسرطانی پلیمر-کمپلکس‌های آهن روی رده‌های یاخته‌های سرطانی اشاره کرد [۱۸]. در سال‌های اخیر توجه زیادی به ترکیبات ویولوژن (viologen) (بی‌پیریدینیوم) به‌دلیل چگالی بار زیاد و شرکت در واکنش‌های اکسایش شده است [۱۹]. سنتز پلیمرهای خطی بر پایه ترکیبات یونی مانند ویولوژن و داشتن گروه‌های عاملی متناوب مانند گروه‌های آمین و هیدروکسی، می‌تواند در ساخت پلیمر کمپلکس با بسیاری از فلزات استفاده شود. ترکیبات پلی‌کاتیونی به‌دلیل داشتن بار مثبت که امکان اتصال مؤثر به مولکول‌های زیستی مختلف، غشای یاخته هسته‌دار (eukaryotes) و باکتری را فراهم می‌کند، در سامانه‌های زیستی مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند [۲۰]. ترکیباتی مانند پلی‌اتیلن ایمین در حالت خطی و پلی‌(وینیل الکل) نیز می‌تواند از چند موقعیت با آهن هم‌آرا (کوئوردینه) شوند، اما با توجه به تفاوت ساختاری و بار پلیمرهای نام‌برده با $Na_3 \cdot Poly(AHAEBD)_2 \cdot [Fe(Poly(AHAEBD)_2)]$ ساختار و آثار زیستی (مانند آثار ضدسرطانی) متفاوتی خواهد داشت [۲۱،۲۲].

در کار حاضر پلی (۱-۲-آمینواتیل) -۱'-(۲-۲-هیدروکسی پروپیل) آمینواتیل) -۴،۴-بی‌پیریدین] -۱،۱-دی‌ایوم، $Poly(AHAEBD)$ ، سنتز و از پلیمر کمپلکس آهن آن برای بررسی اثر بر رده یاخته سرطانی MCF-7 استفاده شد. طراحی نو در ساختار $Poly(AHAEBD)$ ، حل‌پذیری زیاد، قابلیت تشکیل کمپلکس با یون‌هایی نظیر آهن و سمیت زیاد برای یاخته‌های سرطانی از ویژگی‌های کار حاضر است.

تجربی

مواد

DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium)، دی‌متیل تیازول دی‌فنیل تترازولیم برمید (MTT) و سیس‌پلاتین از شرکت Sigma و رده یاخته سرطانی MCF-7 از مؤسسه پاستور تهیه شد. سایر حلال‌ها و مواد از شرکت Merck تهیه شده و بدون خالص‌سازی بیشتر استفاده شدند.

دستگاه‌ها

طیف‌های زیرقرمز تبدیل فوریه (FTIR) با طیف‌سنج SHIMADZU 8400 و قرص KBr در محدوده $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ ثبت شد. طیف‌های

سنتز Poly(AHAEBD)

به ۱۰ mL از DMSO، مقدار (۲ mmol) از ۱/۱۳ g از BABD و (حدود ۴/۲ mmol) (۳/۵ mL) از ECH اضافه شد و در دمای ۷۰°C با چگالنده به مدت ۴ h گرما داده شد. سپس، ۵ mL اتیل استات به محلول اضافه شد تا ترکیب Poly(AHAEBD) رسوب داده شود. در پایان ترکیب سنتز شده چند مرتبه با اتیل استات شست و شو داده شد (بازده واکنش ۸۶٪). نتیجه تجزیه عنصری EDS ترکیب $C_{17}N_4OCl_2$ با مقدارهای ۷۰/۱۳٪ کربن، ۱۵/۹۰٪ نیتروژن، ۹/۰۳٪ کلر و ۴/۹۴٪ اکسیژن به دست آمد.

سنتز پلیمر کمپلکس $[Fe(Poly(AHAEBD)_2)]_2 \cdot Na_3$

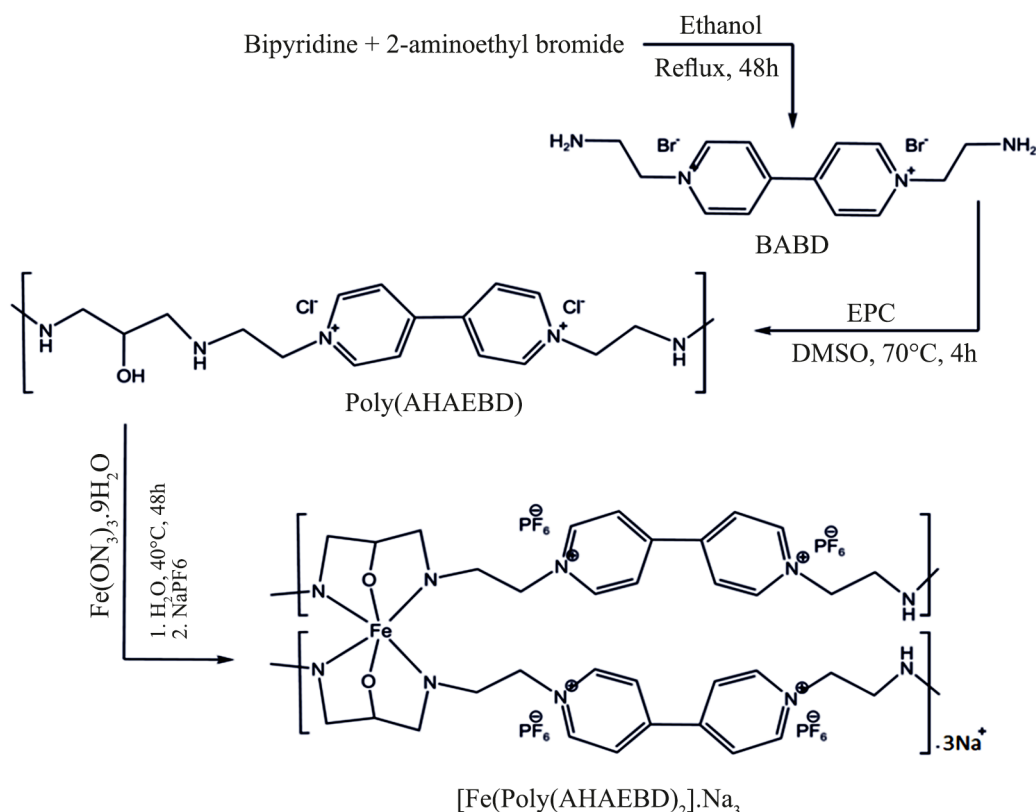
به ۱۵ mL آب، (۲ mmol) از ۰/۷۵ g Poly(AHAEBD) و (۱ mmol) از ۰/۴۱ g $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ اضافه شده و به مدت ۴۸ h در دمای ۴۰°C با همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس، (۴ mmol) از ۰/۶۷ g $NaPF_6$ به محلول اضافه شد و رسوب حاصل با کاغذ صافی صاف و چند مرتبه با آب و استون شست و شو داده شد (بازده واکنش ۷۹٪). نتیجه تجزیه عنصری EDS ترکیب $C_{34}N_8O_2P_4F_{24}Na_3Fe$ با مقدارهای ۴۲/۰۸٪

1H NMR با طیف سنج Inova 500MHz VARIAN در حلال DMSO دوتریم دار گرفته شد. طیف‌نمایی پاشنده انرژی (EDS) با پراش سنج SAMx ساخت فرانسه انجام شد. شکل‌شناسی مواد تهیه شده با میکروسکوپ الکترونی پویشی گسیل میدانی (TESCAN, MIRA III (FE-SEM)، ساخت جمهوری چک و جرم مولکولی پلیمر با سوانگار ژل تراوشی (Agilent Instrument, GPC) تعیین شد.

روش‌ها

سنتز BABD

درون بالنی با گنجایش ۵۰ mL، مقدار ۱۰ mL اتانول بی‌آب، ۰/۲ g (۱/۲۸ mol) از ۴،۴-بی‌پیریدین و (۲/۵۶ mmol) ۰/۵۲۵ g از ۲-آمینواتیل برمید ریخته و در دمای ۸۰°C به مدت ۴۸ h بازروانی شد. سپس، با کاغذ صافی صاف شده و با اتانول و استون چند مرتبه شست و شو داده شد (بازده واکنش ۸۰٪). نتیجه تجزیه عنصری EDS برای $C_{14}N_4Br_4H_{20}$ با مقادیر ۶۳/۴٪ کربن، ۱۸/۴٪ نیتروژن و ۱۸/۴٪ برم به دست آمد.



شکل ۱- مسیر سنتز ترکیبات BABD، Poly(AHAEBD) و $[Fe(Poly(AHAEBD)_2)]_2 \cdot Na_3$.

Fig. 1. Synthesis route of BABD, Poly(AHAEBD), and $[Fe(Poly(AHAEBD)_2)]_2 \cdot Na_3$.

Poly(AHAEBD) و $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$ در شکل ۲ نشان داده شده است. نوارهای جذبی در 3464 cm^{-1} و 3526 cm^{-1} در طیف BABD به ارتعاش‌های کششی N-H و نوارهای جذبی 1601 cm^{-1} و 1643 cm^{-1} به ترتیب به ارتعاش‌های کششی C=N و C=C مربوط است [۲۶]. در طیف Poly(AHAEBD) نیز نوارهای جذبی 1601 cm^{-1} و 1643 cm^{-1} دیده می‌شوند. ناحیه C-H آلیفاتیک و آروماتیک برای هر دو ترکیب BABD و Poly(AHAEBD) در $2850-2950 \text{ cm}^{-1}$ و 3020 cm^{-1} ظاهر می‌شود. نوار جذبی پهن در ناحیه 3200 cm^{-1} تا 3400 cm^{-1} به گروه هیدروکسی ترکیب Poly(AHAEBD) مربوط است. نوار جذبی 1558 cm^{-1} در هر دو ترکیب BABD و Poly(AHAEBD) به بسامد خمشی N-H مربوط است [۲۷]. همچنین، نوار جذبی ناحیه 1407 cm^{-1} به بسامد کششی C-O مربوط است [۲۸]. در $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$ کششی C=O نیز بسامد مربوط به ارتعاش‌های کششی C=N و C=C در 1604 cm^{-1} و 1639 cm^{-1} دیده می‌شود [۲۹]. حذف نوار جذبی مربوط به بسامد خمشی N-H و نبود نوار جذبی گروه هیدروکسی نشان‌دهنده حذف هیدروژن از گروه‌های هیدروکسی و آمین ترکیب Poly(AHAEBD) و هم‌آرایی (کوئوردینه شدن) آن به فلز آهن است.

بررسی طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته

طیف رزونانس مغناطیسی هسته ($^1\text{H-NMR}$) ترکیبات BABD، Poly(AHAEBD) و $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$ در شکل ۳ نشان داده شده است. در ترکیب Poly(AHAEBD) سه نوع هیدروژن شامل هیدروژن گروه هیدروکسی ($9/94 \text{ ppm}$)، هیدروژن روی کربن ۱ و هیدروژن متصل به کربن ۵ و ۶ با جابه‌جایی شیمیایی به ترتیب $4/89 \text{ ppm}$ و $4/46 \text{ ppm}$ افزون بر هیدروژن‌های ترکیب BABD، حاصل از واکنش اپی‌کلروهیدرین به سامانه اضافه شده است. حذف هیدروژن گروه هیدروکسی در ترکیب $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$ و نیز تغییر مکان شیمیایی هیدروژن‌ها نشان‌دهنده واکنش یون آهن با ترکیب Poly(AHAEBD) است [۳۰].

سوانگاری ژل تراوشی پلیمر Poly(AHAEBD)

ترکیب Poly(AHAEBD) به دلیل داشتن بار مثبت حل‌پذیری زیادی در آب دارد و می‌تواند برای طراحی بسیاری از واکنش‌ها در محیط آبی استفاده شود. از طرفی با داشتن گروه‌های متناوب آمین و هیدروکسی می‌تواند به‌طور مؤثری با بسیاری از فلزات نظیر آهن (III) هم‌آرا (کوئوردینه) شود. آزمون سوانگاری ژل تراوشی با آماده‌سازی نمونه در آب با غلظت 1 g/L با فاز شویشی آب و شکست‌سنج تفاضلی (differential refractometer, DRI) به‌عنوان آشکارساز انجام شد.

کربن، $10/02\%$ ، نیتروژن، $3/66\%$ ، اکسیژن، $4/94\%$ ، فسفر، $33/23\%$ ، فلئور، $4/12\%$ ، سدیم و $1/95\%$ آهن به دست آمد. شکل ۱ مسیر سنتزی $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$ را نشان می‌دهد.

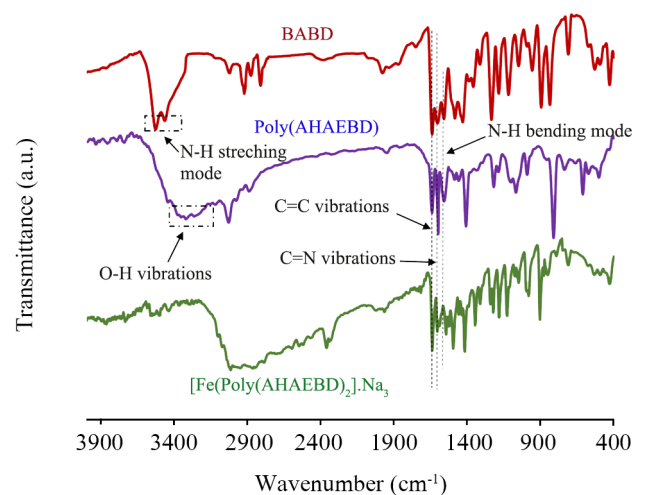
بررسی فعالیت ضدسرطانی پلیمر کمپلکس تهیه‌شده کشت یاخته MCF-7

رده یاخته‌ای MCF7 از مؤسسه پاستور خریداری و در محیط DMEM دارای 10% سرم جنین گاوی (FBS) و محلول آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین درون گرم‌خانه (incubator)، در دمای 37°C و 5% CO_2 ، نگهداری شد. افزایش دارو پس از 4 h گرم‌خانه‌گذاری انجام شد. شمارش یاخته‌های زنده با استفاده از گویچه‌شمار خون (hemocytometer) و رنگ تریپان آبی برای تمایز یاخته‌های زنده از یاخته‌های غیرزنده انجام شد. محلول مادر ($10 \mu\text{g/mL}$) از پلیمر کمپلکس $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$ و Poly(AHAEBD) در DMSO و سیس‌پلاتین ($40 \mu\text{g/mL}$) در آب ساخته شد و با محیط کشت برای تهیه غلظت‌های دلخواه رقیق شد [۲۳-۲۵].

نتایج و بحث

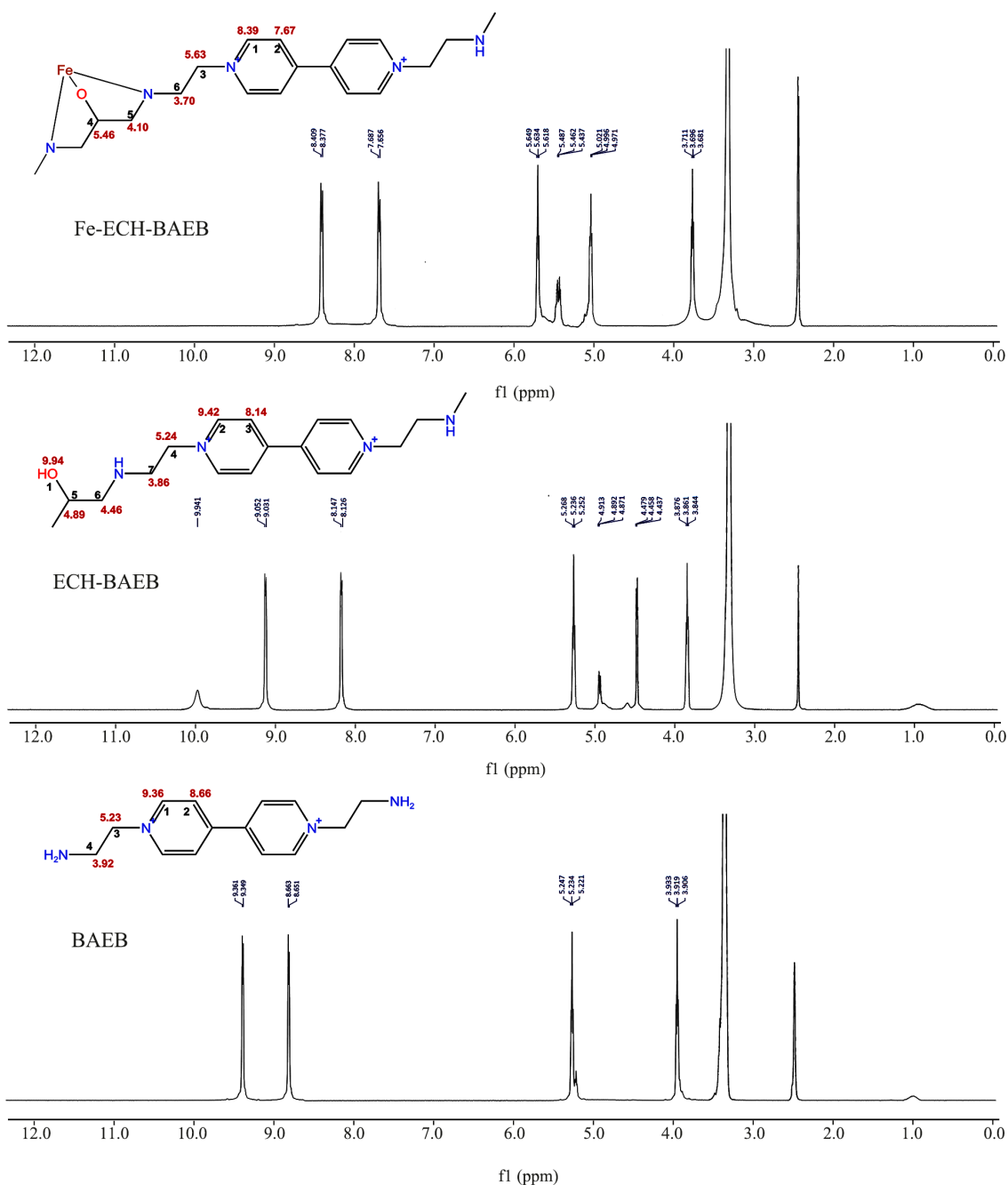
بررسی طیف‌نمایی زیرقرمز تبدیل فوریه

طیف زیرقرمز تبدیل فوریه (FTIR) ترکیبات BABD،



شکل ۲- طیف FTIR ترکیبات BABD، Poly(AHAEBD) و $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$.

Fig. 2. The FTIR spectrum of BABD, Poly(AHAEBD) and $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$.



شکل ۳- طیف ¹H NMR (۵۰۰ MHz) ترکیبات BAEB, Poly(AHAEBD), و [Fe(Poly(AHAEBD)₂)]₂.Na₃ در حلال DMSO-d₆ در دمای ۲۹۸ K.
 Fig. 3. ¹H NMR spectrum (500 MHz) of BAEB, Poly(AHAEBD), and [Fe(Poly(AHAEBD)₂)]₂.Na₃ obtained in DMSO-d₆ at 298 K.

بررسی شکل‌شناسی پلیمر و پلیمر کمپلکس تهیه‌شده
 در شکل ۵ تصاویر FE-SEM مربوط به پلیمر Poly(AHAEBD) و پلیمر کمپلکس [Fe(Poly(AHAEBD)₂)]₂.Na₃ آمده است. آماده‌سازی نمونه‌ها با تهیه تعلیق ۵ mg/mL از [Fe(Poly(AHAEBD)₂)]₂.Na₃ به مدت ۵ min در حمام فراصوتی و محلول ۵ mg/mL از

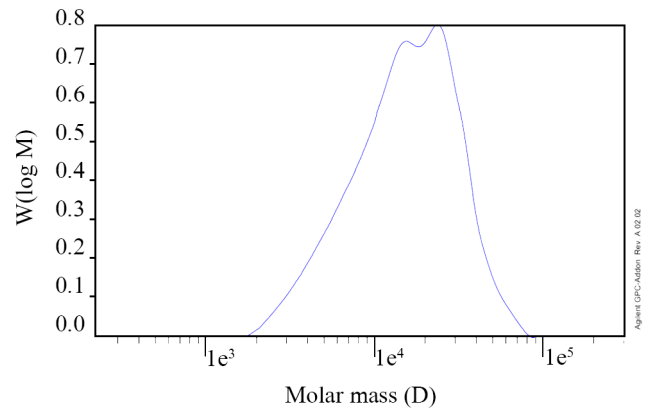
با توجه به سوانگار پلیمر در شکل ۴، در این آزمون وزن مولکولی متوسط وزنی (M_w) ۲۱۲۹۰ g/mol، وزن مولکولی متوسط عددی (M_n) ۱۰۱۳۸ g/mol و شاخص چندپراکنندگی (PDI) ۲/۱ برای پلیمر Poly(AHAEBD) به‌دست آمد.

جدول ۱- مقادیر IC_{50} برای سه ترکیب پلیمر و پلیمر کمپلکس تهیه شده و سیس پلاتین روی رده یاخته ای MCF-7.

Table 1. IC_{50} values of the prepared polymer, complex polymer and cisplatin on MCF-7 cell line.

Compound	$IC_{50} \pm SD$ ($\mu\text{g/mL}$)
$[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$	0.53 ± 0.006
Poly(AHAEBD)	1.14 ± 0.011
Cisplatin	2.68 ± 0.032

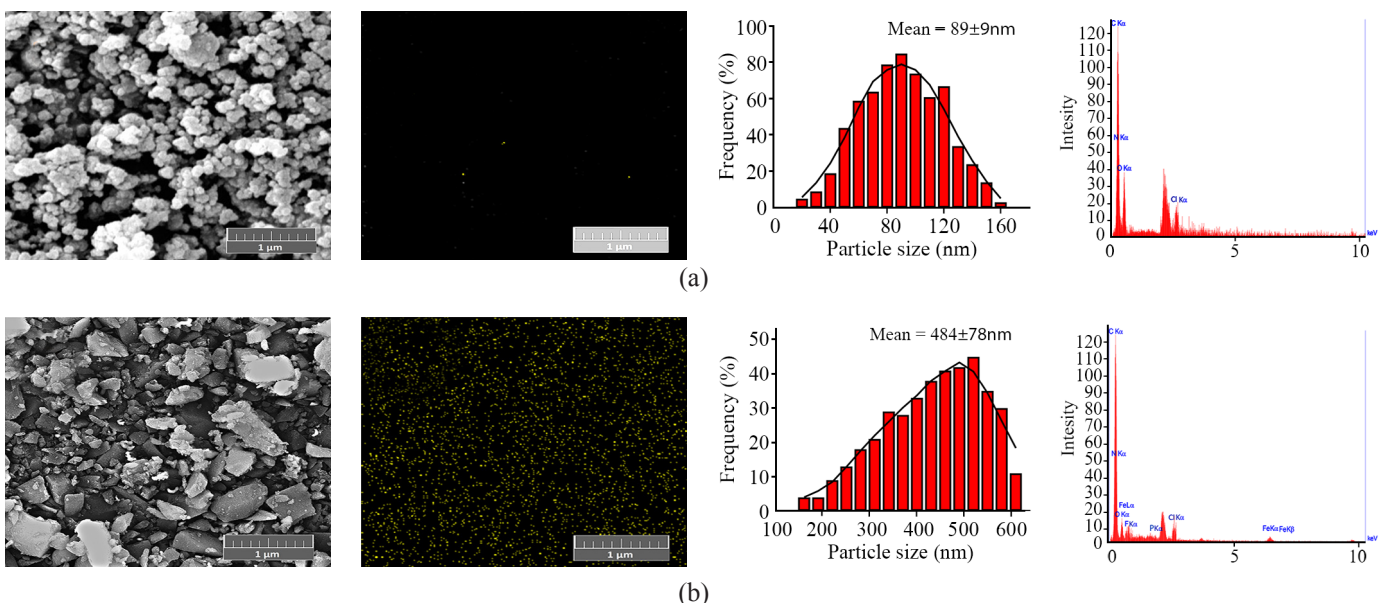
توزیع عنصری آهن Poly(AHAEBD) و $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$ حاکی از نبود آهن در پلیمر و توزیع عنصر آهن در پلیمر کمپلکس بوده که به وضوح مشخص است. براساس نتایج شکل ۵، میانگین اندازه ذرات در Poly(AHAEBD)، 89 ± 9 nm و برای $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$ 484 ± 78 nm است. همچنین، نمودار ستونی توزیع مقارن تری از ذرات را نسبت به پلیمر کمپلکس نشان می دهد. تغییرات شکل شناسی در تصاویر SEM وجود عنصر آهن پس از تشکیل کمپلکس $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$ در کنار طیف های FTIR و $^1\text{H NMR}$ نشان دهنده تغییر ساختاری و هم آرایی (کوئوردینه شدن) ترکیب Poly(AHAEBD) با فلز آهن است.



شکل ۴- توزیع وزن مولکولی پلیمر Poly(AHAEBD) با سوانگاری ژل تراوشی (GPC) (با فاز شویشی آب).

Fig. 4. The molecular weight distribution of Poly(AHAEBD) analyzed by gas permeation chromatography (with eluent phase of water).

Poly(AHAEBD) و سپس خشک کردن نمونه ها روی بستر ویفر سیلیکونی انجام شد. تصویر SEM پلیمر Poly(AHAEBD) تعداد زیادی ساختار کروی شکل انباشته شده را نشان می دهد، در حالی که تصویر SEM مربوط به $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$ ساختارهای کلوخه ای مجزا با زاویه های تیزتر را نشان می دهد. نقشه



شکل ۵- تصاویر FE-SEM، نقشه عنصری EDS، نمودار ستونی اندازه ذره و طیف EDS مربوط به (a) Poly(AHAEBD) و (b) $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$.

Fig. 5. FE-SEM images, EDS mapping, particle size histogram, and EDS spectra of (a) Poly(AHAEBD) and (b) $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2] \cdot \text{Na}_3$.

بررسی اثرهای سمیت یاخته‌ای با روش MTT

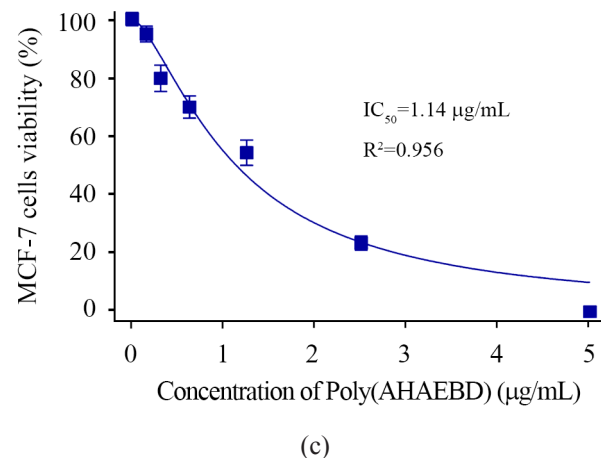
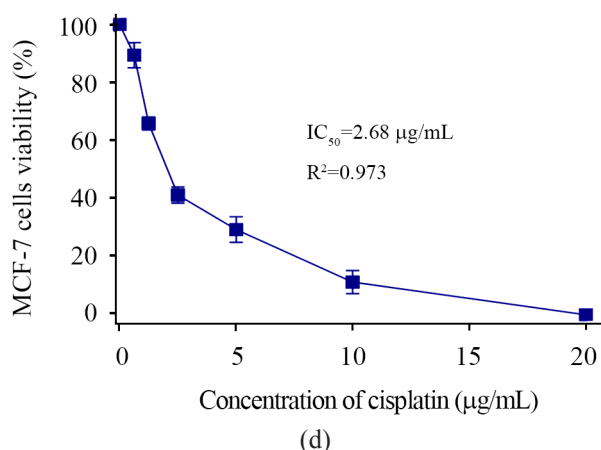
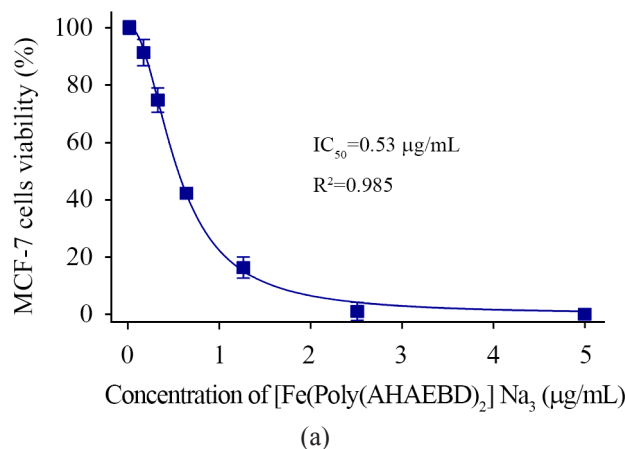
اثر ضدسرطانی پلیمر و پلیمر کمپلکس تهیه شده و سیس پلاتین به‌عنوان مرجع، روی رده یاخته‌های سرطانی MCF-7 با روش MTT ارزیابی شد. مقادیر IC_{50} پس از ۲۴ h عمل‌آوری با این ترکیبات روی محیط کشت یاخته‌های سرطانی، در جدول ۱ آمده است. مقادیر IC_{50} برای سیس پلاتین $2/68 \mu\text{g/mL}$ [۳۱] و برای پلیمر و پلیمر کمپلکس شده به ترتیب $0/53$ و $1/14 \mu\text{g/mL}$ است. جدول ۱ مقادیر IC_{50} برای پلیمر و پلیمر کمپلکس شده و سیس پلاتین روی رده یاخته‌ای MCF-7 را نشان می‌دهد.

در شکل ۶ زنده‌مانی یاخته‌ها در ۶ دُز عمل‌آوری از پلیمر و پلیمر کمپلکس شده و سیس پلاتین نشان داده شده است. همان‌طور که مشخص است، پلیمر کمپلکس شده در مقایسه با سیس پلاتین و پلیمر مقدار IC_{50} کمتری دارد. کم‌تر بودن IC_{50} در پلیمر کمپلکس شده در مقایسه با سیس پلاتین به معنی سمیت بیشتر این ترکیب برای یاخته‌های سرطانی رده MCF-7 و در نتیجه اثرگذاری بیشتر این ترکیب در آزمایش برون‌تنی MTT است. همچنین در مقایسه با Poly(AHAEBD)، پلیمر کمپلکس $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2]_n\text{Na}_3$ دارای سمیت بیشتری است که نشان‌دهنده اثر تشکیل پلیمر کمپلکس شده روی یاخته سرطانی رده MCF-7 است.

ترکیبات کمپلکس‌های آهن دار می‌توانند به روش‌های مختلفی از جمله تثبیت یا مهار جذب آهن، مداخله در مسیرهای پیام‌رسانی یاخته‌ای آهن یا تحریک تولید رادیکال‌های آزاد آهن موجود در یاخته‌های سرطانی روی چرخه حیات یاخته‌ای اثر بگذارند [۳۲]. افزایش دُز آهن در یاخته باعث افزایش گونه‌های رادیکالی مانند رادیکال هیدروکسیل شده که در نهایت موجب شکسته شدن توالی نوکلئوتیدی DNA و مرگ یاخته سرطانی می‌شود [۳۳]. اثر پلیمر-کمپلکس سنتز شده در مقایسه با سیس پلاتین ($2/68 \mu\text{g/mL}$) به‌عنوان مرجع و سایر کمپلکس‌های آهن شایان توجه است. به‌عنوان مثال، مقدار IC_{50} برای ترکیب تیوسمی‌کاربازون-آهن (III) و دوکسوروبیسین-آهن (III) روی رده یاخته سرطانی MCF-7 به ترتیب حدود $5/21 \mu\text{g/mL}$ و $5/56 \mu\text{g/mL}$ است [۳۴، ۳۵]. کم بودن مقدار IC_{50} و $0/53 \mu\text{g/mL}$ پلیمر-کمپلکس سنتز شده و جدید بودن ساختار می‌تواند از برتری‌های کار حاضر باشد.

نتیجه‌گیری

پلیمر کمپلکس $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2]_n\text{Na}_3$ از واکنش پلیمر



شکل ۶- زنده‌مانی یاخته روی رده یاخته‌ای MCF-7 پس از ۲۴ h عمل‌آوری با ۶ دُز متفاوت: (a) $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2]_n\text{Na}_3$ ، (b) سیس پلاتین و (c) Poly(AHAEBD).

Fig. 6. Cell viability of MCF-7 cell line after 24 h treatment with six doses of (a) $[\text{Fe}(\text{Poly}(\text{AHAEBD})_2)_2]_n\text{Na}_3$, (b) cisplatin, and (c) Poly(AHAEBD).

بدین معنی که تشکیل پلیمر کمپلکس موجب افزایش سمیت و اثر ضدسرطانی ترکیب شده است. پلیمر سنتز شده به دلیل داشتن گروه‌های متناوب آمین و هیدروکسی، بسیار مستعد پیوندهای هم‌آرا (کوئوردیناسیونی) بوده و به دلیل حل‌پذیری زیاد در آب می‌تواند با بسیاری از فلزات واکنش دهد. ترکیب $[Fe(Poly(AHAEBD)_2)]_3Na_3$ به صورت خاص مسیر جدیدی را برای پلیمر کمپلکس‌های ضدسرطان با کارایی زیاد در آزمایش‌های برون‌تنی پیشنهاد می‌کند و می‌تواند به عنوان انتخابی بالقوه برای آزمایش‌های درون‌تنی استفاده شود.

مراجع

- Harbeck N., Penault-Llorca F., and Cortes J., Breast Cancer, *Nat. Rev. Dis. Primers*, **5**, 66, 2019.
- Vojtek M., Marques M.P.M., and Ferreira I.M.P., Anticancer Activity of Palladium-Based Complexes Against Triple-Negative Breast Cancer, *Drug Discov. Today*, **24**, 1044, 2019.
- Gamberi T. and Hanif M., Metal-Based Complexes in Cancer Treatment, *Biomedicines*, **10**, 2573, 2022.
- Bouché M., Hognon C., and Grandemange S., Recent Advances in Iron-Complexes as Drug Candidates for Cancer Therapy: Reactivity, Mechanism of Action and Metabolites, *Dalton Trans.*, **49**, 11451-11466, 2020.
- Guo Q., Li L., and Hou S., The Role of Iron in Cancer Progression, *Front. Oncol.*, **11**, 778492, 2021.
- Kwok J.C. and Richardson D.R., The Iron Metabolism of Neoplastic Cells: Alterations that Facilitate Proliferation? *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **42**, 65-78, 2002.
- Bauckman K., Haller E., and Taran N., Iron Alters Cell Survival in a Mitochondria-Dependent Pathway in Ovarian Cancer Cells, *Biochem. J.*, **466**, 401-413, 2015.
- Filipovic M.R. and Koppenol W.H., The Haber-Weiss Reaction-The Latest Revival, *Free Radical Biol. Med.*, **145**, 221-222, 2019.
- Lipinski B., Hydroxyl Radical and Its Scavengers in Health and Disease, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 809696, 2011.
- Khoshmanzar M., Ghanbarzadeh B., Hamishehkar H., Sowti M., and Hoseini M., Sodium Caseinate-Carrageenan Biopolymeric Nanocomplexes as a Carrier of Vitamin D: Study of Complex Formation, Particles Size and Encapsulation Efficiency, *Iran. J. Polym. Sci. Technology. (Persian)*, **27**, 37-49, 2014.
- Bahrani S., Ghanbarzadeh B., Hamishehkar H., and Hoseini M., Study of Thermal Properties, Turbidity, Effective Factors on Particle Size and Oscillatory Rheology of Pectin-Caseinate Biopolymer Nanocomplexes, *Iran. J. Polym. Sci. Technology. (Persian)*, **25**, 433-447, 2013.
- Sriwidodo A., Umar K., and Wathoni N., Liposome-Polymer Complex for Drug Delivery System and Vaccine Stabilization, *Heliyon*, **8**, e08934, 2022.
- Soares D.C.F., Domingues S.C., and Viana D.B., Polymer-Hybrid Nanoparticles: Current Advances in Biomedical Applications, *Biomed. Pharmacother.*, **131**, 110695, 2020.
- Siddique S. and Chow J.C.L., Gold Nanoparticles for Drug Delivery and Cancer, *Therapy. Appl. Sci.*, **10**, 3824, 2020.
- Salehipour M., Rezaei S., and Mosafer J., Recent Advances in Polymer-Coated Iron Oxide Nanoparticles as Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents, *J. Nanopart. Res.*, **23**, 48, 2021.
- Machado J.F., Correia J.D.G., and Morais T.S., Emerging Molecular Receptors for the Specific-Target Delivery of Ruthenium and Gold Complexes into Cancer Cells, *Molecules*, **26**, 3153, 2021.
- Kuikun Y., Zhiqing Y., Guocan Y., Zhihong N., Ruibing W., and Xiaoyuan C., Polyprodrug Nanomedicines: An Emerging Paradigm for Cancer Therapy, *Adv. Mat.*, **34**, 2022.
- Inamura I., Inamura K., Jinbo Y., Miharad T., and Sasaoka Y., Preparation of Metal Phthalocyanine (MPC)-Polymer Complexes: The Possible Anti-Cancer Properties of FePc-Polymer Complexes, *Heliyon*, **5**, e01383, 2019.

19. Corra S., Curcio M., and Baroncini M., Photoactivated Artificial Molecular Machines that Can Perform Tasks, *Adv. Mater.* **32**, 1906064, 2020.
20. Satan A.B., Patsula V., Dydowiczová A., Gunár K., Velychkivska N., Hromádková J., Petrovský E., and Horák D., Cationic Polymer-Coated Magnetic Nanoparticles with Antibacterial Properties: Synthesis and In Vitro Characterization, *Antibiotics*, **10**, 1077, 2022.
21. Gröning A., Ahrens H., Ortmann T., Lawrenz F., and Helm C.A., Polyetylenimine (PEI) Adsorption to a DMPG Lipid-Monolayer in the Presence of Iron Salts and EDTA, *Polymer*, **102**, 386-395, 2016.
22. Sari N., Kahraman E., Sari B., and Özgün A., Synthesis of Some Polymer-Metal Complexes and Elucidation of Their Structures, *J. Macrom. Sci. Part A*, **43**, 1227-1235, 2006.
23. Wanga Z. and Tsarevsk N.V., Well-Defined Polymers Containing a Single Mid-Chain Viologen Group: Synthesis, Environment-Sensitive Fluorescence, and Redox Activity, *Polym. Chem.*, **7**, 4402-4410, 2016.
24. Garkusha-Bozhko V.S. and Shvaika O.P., Reaction of Pyridines with Epichlorohydrin, *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, **26**, 434-437, 1990.
25. Mehdipour E., Hasanvandi S., Shafieyoon P., Synthesis, Characterization and Cytotoxicity Investigation of Juglone Palladium Complex; Theoretical and Biological Properties of Juglone as an Employed Ligand, *J. Iran. Chem. Soc.*, **19**, 3387-3395, 2022.
26. Zhu D., Li W., and Wen H.M., Self-Assembled Mn-Doped ZnSe Quantum Dot-Methyl Viologen Nanohybrids as an OFF-ON Fluorescent Probe for Time-Resolved Fluorescence Detection of Tiopronin, *Anal. Methods*, **5**, 4321-4324, 2013.
27. Ju H., Duan J., and Lu H., Cross-Linking with Diamine Monomers to Prepare Composite, A Single Rapid Route for the Synthesis of Reduced Graphene Oxide with Antibacterial Activities, *Chem. Mater.*, **26**, 2983-2990, 2014.
28. Hayami R., Nakamoto W., and Sato Y., Organic-Inorganic Hybrids Based on Poly(bisphenol A-co-epichlorohydrin) Containing Titanium Phosphonate Clusters, *Polym. J.*, **51**, 1265-1271, 2019.
29. Oliveira T.D., Cabeza N.A., and Silva G.T.S.T., Coordination of the Natural Ligand Lapachol to Iron(II): Synthesis, Theoretical Study and Antiproliferative Activity, *Transit. Met. Chem.*, **46**, 111-120, 2021.
30. Garbutcheon-Singh K.B., Galanski M., and Keppler B.K., Synthesis, Characterisation and Cytotoxicity of [(1,10-phenanthroline)(1R,2R,4R/1S,2S,4S)-4-methyl-1,2-cyclohexanediamine) Platinum(II)]²⁺ (PHEN-4-MeDACH), *Inorg. Chim. Acta*, 152-156, 2016.
31. Mirmalek S.A., Azizi M.A., Jangholi E., Damavandi S.Y., Javidi M.A., Parsa Y., Parsa T., Salimi Tabatabaee S.A., Ghasemzadeh Kolagar H., and Alizadeh Navae R., Cytotoxic and Apoptogenic Effect of Hypericin, the Bioactive Component of Hypericum Perforatum on the MCF-7 Human Breast Cancer Cell Line, *Cancer Cell Int.*, **16**, 3, 2016.
32. Jung M., Mertens C., Tomat E., and Brüne B., Iron as a Central Player and Promising Target in Cancer Progression, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 273, 2019.
33. Tifoun M., De Las Heras J.M., Guillaume A., Bouleau S., Mignotte B., and Le Floch N., Insights Into the Roles of the Sideroflexins/SLC56 Family in Iron Homeostasis and Iron-Sulfur Biogenesis, *Biomedicines*, **9**, 103, 2021.
34. Fathy A., Ibrahim A.B.M., Abd Elkhaliq S., Villinger A., and Abbas S.M., New Iron(III) Complexes with 2-Formylpyridine Thiosemicarbazones: Synthetic Aspects, Structural and Spectral Analyses and Cytotoxicity Screening Against MCF-7 Human Cancer Cells, *Heliyon*, **9**, e13008, 2023.
35. Jabłońska-Trypuć A., Świdorski G., Krętowski R., and Lewandowski W., Newly Synthesized Doxorubicin Complexes with Selected Metals-Synthesis, Structure and Anti-Breast Cancer Activity, *Molecules*, **22**, 1106, 2017.