مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره ششم ، شماره بیست و یکم - زمستان ۱۳۹۴

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی خاصیت آنتی توموری ایندولوکینازولین بر روی رده سلولی سرطانی MCF-7

مریم بی خوف تربتی*[۱]، مسعود شعبانزاده[۲]، سمیه آزادیان[۱]

۱.گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

چکیده :

سابقه و هدف: شیمی درمانی یکی از روش های درمان سرطان است که در آن از داروهای شیمیایی استفاده می شود. رایج ترین اثرات جانبی شیمی درمانی اثر آن بر سلول های سالم و کشتن آن ها می باشد. شناخت و انتخاب داروهای شیمی درمانی جدید که کم ترین اثرات جانبی را داشته باشند دارای اهمیت است. ایندولوکینازولین دارای ویژگی های بیولوژیکی متعدد نظیر خواص ضد میکروبی و سایتوتوکسیک می باشد. در این مطالعه اثرات آنتی توموری ترکیبات ایندولوکینازولین سنتز شده بر روی رده سلولی سرطان پستان در مقایسه با سیس پلاتین بررسی گردید.

مواد و روش ها: فعالیت ضد توموری ترکیب ایندولوکینازولین و سیس پلاتین بر روی رده سلولی سرطانی پستانMCF-7 به روش MTT بررسی گردید.

یافته ها: IC50 به دست آمده از اثر ایندولوکینازولین سنتز شده و سیس پلاتین به عنوان یک داروی استاندارد در شیمی درمانی سرطان بر روی رده سلولی MCF-7 به ترتیب ۶/۸۳ µg/ml و ۳۹/ ۱۳ µg/mlمی باشد.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد ترکیب ایندولوکینازولین سایتوتوکسیک تر از سیس پلاتین بر روی رده سلولی MCF-7 می باشد.

کلمات کلیدی: ایندولوکینازولین، سیس پلاتین، ضد سرطانی، رده سلولی MCF-7

مقدمه

سرطان یک بیماری پیش رونده بوده و همه انواع تومورهای بدخیم که در پزشکی به آن ها نئوپلاسم می گویند را شامل می شود.سرطان سومین عامل مرگ و میر در ایران می باشد. عوامل ایجاد کننده سرطان به طور کلی به ۴ دسته عوامل محیطی، عوامل ارثی، عوامل ایمونولوژیکی و سن تقسیم می شوند. سرطان از طریق بافت، لنف و خون در بدن گسترش یافته و طی فرایند متاستاز می تواند در نقاط دیگر بدن نیز ایجاد تومور کند. بر طبق آمار انجمن سرطان ایران سالانه حدود ۸۵ هزار مورد سرطان در کشور شناسایی می شود که از این بین بیش از ۳۰ هزار مورد به مرگ بیمار می انجامد. احتمال بروز سرطان در سنین مختلف وجود دارد و با افزایش سن احتمال بروز آن افزایش می یابد (۹).

روش های درمان سرطان با توجه به نوع سرطان، میزان پیشرفت بیماری و سن ابتلا به این بیماری متفاوت است اما در بین روش های درمانی موجود، شیمی درمانی، پرتو درمانی و جراحی از روش های اصلی درمان سرطان به شمار می روند که از این میان شیمی درمانی به طور گسترده در درمان سرطان به کار می رود. شیمی درمانی استفاده از داروهای گوناگون با هدف درمان، کنترل و یا تسکین نشانه های ناشی از سرطان است که با توجه به نوع سرطان و درجه پیشرفت آن انجام می شود. چندین دهه از ساخت اولین داروی شیمیایی برای درمان سرطان در سال ۱۳۳۴ می گذرد و در طی این مدت انواع متنوعی از داروهای شیمی درمانی ساخته شده است. بیش تر داروهای مورد استفاده در شیمی درمانی از طریق مهار میتوز، همانندسازی و رونویسی DNA بر تقسیم، تکثیر و تمایز سلولی اثر می گذارند. برخی داروهای جدید مانند پادتنهای مونوکلونال و مهارکننده های تیروزین کیناز جدید به DNA متصل نشده و سلول های غیر طبیعی مربوط به انواع خاصی از سرطان ها را مورد حمله قرار می دهند (۳). استفاده از آنتی بادی های مونوکلونال این امکان را فراهم می سازد تا داروها در بافت توموری تجمع پیدا کنند، لذا از پیدایش اثرات غیر اختصاصی آن ها جلوگیری شود. (۱۵) برخی از داروهای هورمونی نیز به طور غیر مستقیم برای کنترل و تعدیل رفتار تومورها به کار می روند. دو هدفی که در سنتز داروهای شیمی درمانی در نظر می گیرند این است که دارو علاوه بر اینکه جنبه سایتوتوکسیکی داشته و سلول های سرطانی را از بین ببرد بر سلول های سالم فرد بیمار نیز کم ترین تأثیر را داشته باشد. یکی از متداول ترین داروهایی که به طور گسترده در شیمی درمانی استفاده می

نویسنده مسئول :
گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
پست الکترونیکی : maryam.bikhof@gmail.com

تاریخ دریافت :۱۳۹۳/۷/۲۳
تاریخ پذیرش : ۱۳۹۳/۹/۱۵

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.10.9]

شود سیس پلاتین است ولی برای سلول های سالم فرد بیمار به ویژه کلیه ها سمیت ایجاد می کند. کاهش اثرات سمی داروهای شیمیایی بر سلول های سالم یکی از اهداف دانشمندان برای سنتز داروهای جدید و جایگزین کردن آن ها با داروهای قبلی است تا ضمن حفظ و افزایش اثر سایتوتوکسیتی بر سلول های سرطانی، کم ترین تأثیر را نیز بر دیگر بخش های سالم فرد بیمار گذاشته و روند بهبود را تسریع نماید. (۱۳، ۱۰).

درسال های اخیر ترکیبات آنالوگ و مشتقات هتروسیکل به دلیل دارا بودن خصوصیات بیولوژیکی و دارویی مورد توجه محققان قرار گرفته اند.

هتروسیکل ها، ترکیبات حلقوی هستند که در آن ها یک یا چند کربن با اتم یا اتم هایی مانند نیتروژن، اکسیژن، گوگرد یا اتم های فلزی و ... جایگزین شده است. متداول ترین ترکیبات هتروسیکل، دارای نیتروژن یا اکسیژن یا هر دوی آن ها هستند. امروزه حجم بالایی از کارهای تحقیقاتی به روش های سنتز و شناسایی خصوصیات ترکیبات حلقوی یا هتروسیکل اختصاص یافته است زیرا بسیاری از ترکیبات طبیعی و هم چنین ترکیبات دارویی مهم جزو هتروسیکل ها هستند. به عنوان مثال فلاونوئیدها گروهی از ترکیبات حلقوی اکسیژن دار بوده که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی توموری می باشند (۱،۲).

از جمله ترکیبات حلقوی نیتروژن دار مشتقات کینازولین ها هستند که به عنوان مهارکننده های آنزیمی آنزیم های مختلف مانند فاکتور رشد اپیدرمال، گیرنده های تیروزین کیناز، مونو آمین اکسیداز، فاکتور α نکروز دهنده تومور، تیمیدیلات سنتاز و مهار کننده های فسفریلاسیون سلولی عمل می کنند (۱۱،۱۸).

به علاوه این ترکیبات فعالیت های فارماکولوژیکی و بیولوژیکی مختلفی مانند ضد سرطانی، ضد افسردگی، ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد مالاریایی از خود نشان داده اند(۱۶).

به دلیل این که این ترکیبات طبیعی به مقدار اندک وجود دارند و استخراج آن ها نیز مشکل است بسیاری از این داروها و بیش تر ترکیبات هتروسیکل که دارای کاربرد عملی هستند به طور مصنوعی سنتز می شوند(۶).

یکی از این ترکیبات آلکالوئید ایندولوکینازولین می باشد که با روش تصعید ایندیگو یا از کشت قارچ های کاندیدا لیپولیتیکا و یک سری منابع طبیعی دیگر به دست می آید(۷). ایندولوکینازولین را می توان به میزان بیش تر و با خلوص بالاتر در شرایط آزمایشگاهی و به روش های شیمیایی سنتز نمود.

در این تحقیق هدف آن است که خاصیت سایتوتوکسیک ترکیب ایندولوکینازولین سنتتیک را نسبت به داروهای رایج شیمی درمانی مانند سیس پلاتین به عنوان یک گزینه مناسب تر دارویی در شیمی درمانی سرطان بررسی نمود. لذا به عنوان یک داروی ضدسرطان برای پی بردن به خاصیت سایتوتوکسیک ترکیب سنتز شده اثر آن در غلظت های مختلف بر روی رده سلولی MCF-7 سرطان پستان انسان و با روش MTT assay بررسی گردید.

مواد و روش ها

آماده سازی محلول های دارو

دارو با غلظت 1000 µg/ml در حلال DMSO (Sigma Aldrich) تهیه شد. سپس به منظور حذف اثر سمیت DMSO مرحله رقیق سازی در محیط کشت DMEM (Gibco) همراه با ۱۰٪ (Gibco) FBS انجام شد و نمونه هایی با غلظت های ۱۰۰، ۱۰، ۱ و۰/۱ µg/ml تهیه شد و هر یک از رقت ها جهت حذف الودگی های باکتریایی و قارچی با فیلتر ۰/ ۲۲ µm Millipore فیلتر شدند. MTT در بافر سالین فسفات با غلظت ۵ mg/ml تهیه و فیلتر شد.

رده سلولی وکشت سلول

سلول های MCF-7 (بانک سلولی ایران، C135) در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰۰ U/ml penicillin، µg/ml Streptomycin ۱۰۰، ۲ mM Glutamine و ۱۰٪ FBS کشت داده شدند. میزان CO_2 انکوباتور کشت سلولی ۵٪ و درجه حرارت آن ۳۷ درجه سانتی گراد تنظیم گردید. سپس سلول های کشت داده شده با رنگ تریپان بلو رنگ آمیزی، شمارش و با میکروسکوپ فاز متضاد مشاهده گردیدند.

سنجش دی متیل تیازول دی فنیل تترازولیم برماید (MTT assay)

پس از بررسی سلول های مورد نظر از لحاظ آلودگی های باکتریایی، قارچی و یا مایکوپلاسمایی، سلول ها توسط رنگ تریپان بلو شمارش شده و تعداد ۵۰۰۰ سلول MCF-7 درون محیط کشت کامل در هر حفره پلیت ۹۶ تایی ریخته شد. پس از ۲ ساعت انکوباسیون، محلول های دارو با غلظت های تهیه شده به هر حفره اضافه گردید. به منظور دقت بیش تر و صحت تکرار پذیری داده ها به هر غلظت حداقل چهار حفره اختصاص داده شد. در تعدادی از حفره ها به عنوان شاهد تنها محیط کشت و در تعدادی دیگر جهت مقایسه، داروی مرجع cisplatin اضافه شد. پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون، رنگ MTT با غلظت۰/۵ mg/ml به هر حفره اضافه شد. ۴ ساعت بعد از انکوباسیون، کریستال های بنفش رنگ فرمازان که حاصل احیای نمک تترازولیوم زرد MTT توسط آنزیم های موجود در میتوکندری می باشد، تشکیل گردید. سپس محلول رویی خارج شد و ۱۰۰ µl DMSO جهت انحلال کریستال های فرمازان به آن اضافه گردید. در نهایت میزان جذب (OD)توسط دستگاه ELISA plate reader(StatFax-2100,USA)در طول موج های ۶۳۰ - ۵۷۰ نانومتر اندازه گیری شد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.10.9]

همه آزمایشات سه بار تکرار شد و درصد سایتوتوکسیتی و درصد Viability(درصد زنده ماندن سلولی) براساس فرمول زیر محاسبه شد:

آنالیز داده های تست MTT

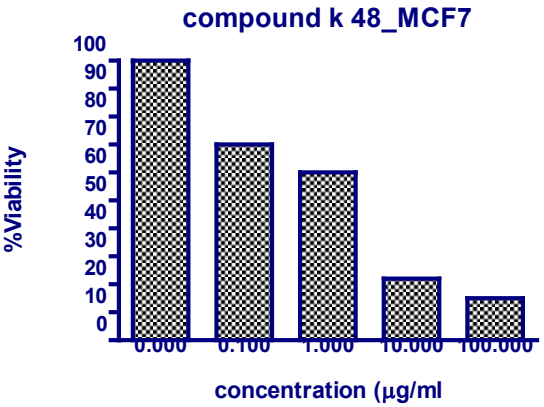
فعالیت ضد سرطانی این ترکیب بر روی رده سلول سرطانی سینه (MCF-7)به روش MTT آزمایش شدند و نتایج تست MTT به صورت IC50 محاسبه گردید.

یافته ها

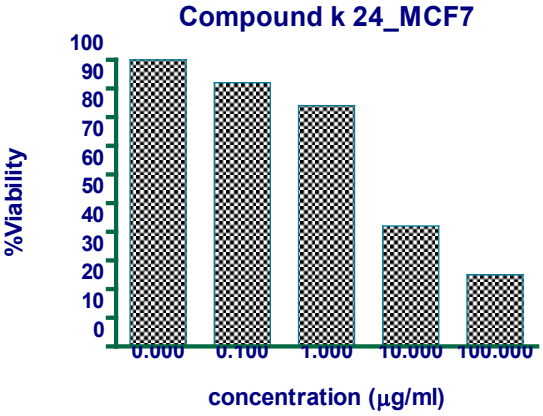
نتایج بررسی های سایتوتوکسیک ترکیب ایندولوکینازولین، بر روی رده سلول سرطانی پستان انسان (MCF-7) در شرایط آزمایشگاهی به صورت IC50در مقایسه با سیس پلاتین به عنوان داروی رایج در درمان سرطان به عنوان کنترل مثبت در جدول ۱ آورده شده است. IC50 غلظتی از دارو بر حسب میکرو گرم در میلی لیتر می باشد که در آن غلظت رشد و تمایز پنجاه درصد سلول های سرطانی در مقایسه با سلول های گروه کنترل که تحت تاثیر دارو قرار نگرفته اند، مهار می شود (۵).

جدول ۱: نتایج IC50به دست آمده از اثر ترکیبات ایندولوکینازولین و سیس پلاتین بر روی رده سلولی MCF-7 بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر

داروی استفاده شده	IC50
ایندولوکینازولین	۶/۸۳
سیس پلاتین(۱۴)	۳۹/۱۳



نمودار۱ درصد سلول های زنده (Viability%)به غلظت های مختلف۱ /۰، ۱، ۱۰و ۱۰۰ بر حسب میکرو گرم در میلی لیتر برای ترکیب ایندولوکینازولین پس از تأثیر ۲۴ ساعته بر روی رده سلولی سرطانی MCF-7



نمودار۲ درصد سلول های زنده (Viability%) در غلظت های مختل۱ /۰، ۱، ۱۰و ۱۰۰ بر حسب میکرو گرم در میلی لیتر برای ترکیب ایندولوکینازولین پس از تأثیر ۴۸ ساعته بر روی رده سلولی سرطانی MCF-7

بحث

سرطان پستان یکی از سرطان های شایع است. طبق محاسبات انستیتو ملی سرطان ایالات متحده آمریکا، از هر هشت زن یک زن در زندگی خود به سرطان پستان مبتلا می شود. این سرطان در صورتی که به موقع تشخیص داده شود به راحتی قابل درمان است. در صورت متمرکز بودن بافت سرطانی معمولاً از درمان های ترکیبی از جمله عمل جراحی (لامپکتومی)، شیمی درمانی، و رادیوتراپی استفاده می گردد. در سال های اخیر یکی از اهداف مهم محققان در تحقیقات گسترده در زمینه درمان سرطان، شناخت داروهای مناسب در فرایند شیمی درمانی بوده است که دارای بیش ترین تأثیر آنتی پرولیفراتیو بر روی سلول های سرطانی و کم ترین عوارض جانبی بر روی سلول های سالم بیمار باشند (۱۷).

ترکیبات کینازولین از دو حلقه جوش خورده آروماتیک ساده ۶ عضوی که دارای حلقه بنزن و حلقه پیریمیدین است ساخته شده است. از آن جا که هتروسیکل های نیتروژن دار از جمله مشتقات کینازولین دارای طیف گسترده ای از خواص دارویی هستند بسیار مورد توجه محققان در درمان بیماری های مختلف و حتی درمان همزمان چندین بیماری می باشند برای مثال محققان نشان دادند مشتقات ایندولوکینازولین دارای خواصی چون آنتی باکتریالی، ضد قارچی، ضد پروتوزوئری و ضد انگلی می باشند. (۷) به دلیل وجود خواص بیولوژیکی و دارویی متعدد کینازولین ها اخیراً تحقیقاتی مبتنی بر دارابودن خواص سایتوتوکسیک و ضد توموری نیز در مورد آن ها انجام گرفته است. در این تحقیق ویژگی آنتی توموری کینازولین بر روی رده سلولی MCF-7 بررسی و مطالعه گردید.

همان طور که نمودارهای ۱ و ۲ نشان می دهند خاصیت سایتوتوکسیک ترکیب ایندولوکینازولین بر روی رده سلولی MCF-7 وابسته به دوز بوده و با افزایش غلظت دارو از ۰/۱ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر خاصیت آنتی پرولیفراتیو آن در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت افزایش می یابد. به گونه ای که در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.10.9]

میلی لیتر ، میزان مرگ و میر سلول های رده سرطانی سینه MCF-7 بیش از سایر غلظت های مورد بررسی است و درصد زنده ماندن سلولی به کم ترین میزان خود رسیده است. هم چنین افزایش زمان اثر دارو از ۲۴ به ۴۸ ساعت سبب افزایش تأثیرپذیری داروها و در نتیجه افزایش مرگ و میر سلولی شده است. هم چنین نتایج IC50 در جدول ۱ حاکی از آن است فعالیت آنتی توموری ایندولوکینازولین بر روی رده سلولی MCF-7 ۵/۳ برابر بیش از داروی سیس پلاتین می باشد.

نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد ایندولوکینازولین دارای خاصیت آنتی توموری بر روی رده سلولی سرطان پستان MCF-7 می باشد. در این راستا گزارشاتی از سایر محققان وجود دارد که تأییدکننده نتایج به دست آمده در این تحقیق و وجود خاصیت آنتی توموری کینازولین ها می باشد به عنوان مثال:

Yang در سال ۲۰۱۳ در مقاله ای گزارش کرد کینازولین با اثر مهاری بر بیان ژن 5-LOXدارای خاصیت سایتوتوکسیک می باشد. (۷) Marzaro G در سال ۲۰۱۲ گزارش کرد، ۴- آنیلین کینازولین به عنوان مهارکننده تیروزین کیناز دارای خاصیت ضد سرطانی می باشد (۱۲).

Liang و همکاران در سال۲۰۱۲ طی تحقیقی نشان دادند کینازولین ها علاوه بر خواص متعدد بیولوژیکی مذکور، مهارکننده توپوایزومرازها نیز بوده و دارای خاصیت سایتوتوکسیک بر روی رده سلولی HT-1376 با غلظت ۱۰ میکرومولار می باشد (۸).

هم چنین Danz و همکاران در سال ۲۰۰۱ نشان دادند کینازولین با اثر مهارکنندگی بر روی بیان ژن های COX-2 سلول های Mono Mac 6 دارای خاصیت سایتوتوکسیک می باشند (۴).

نتیجه گیری:

همان طور که نتایج حاصل از این تحقیق نیز نشان می دهد ایندولوکینازولین دارای خاصیت ضد سرطانی بر روی رده سلول های سرطان سینه می باشد. نتایج IC50 در جدول ۱ حاکی از آن است فعالیت آنتی توموری ایندولوکینازولین بر روی رده سلولی MCF7 ۵/۳ برابر بیش از داروی سیس پلاتین می باشد. بنابراین انتظار می رود بتوان با انجام تحقیقات بیش تر در راستای سنتز مشتقات این ترکیب و بررسی خاصیت آنتی پرولیفراتیو آن ها بر روی سایر رده های سلولی سرطانی، از این دسته ترکیبات در شیمی درمانی سرطان استفاده کرد.

سپاسگزاری

تحقیق فوق برگرفته از طرح پژوهشی با عنوان سنتز و بررسی خاصیت آنتی توموری مشتقات ایندولوکینازولین و مطالعه اثر آن ها بر DNA می باشد که با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی(ره) شهرری به اجرا درآمده است، بدین وسیله از آن واحد دانشگاهی، تقدیر و تشکر به عمل می آید.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.10.9]

منابع:

1. Bandele O.J, Clawson S.J, Osheroff N. Dietary polyphenols as topoisomerase II poisons: B-ring substituents determine the mechanism of enzyme-mediated DNA cleavage enhancement.Chemical Research in Toxicology, (2008); 21 (6): 1253–1260.
2. Calderon-Montaño JM, Burgos-Moron E, Perez-Guerrero C, Lopez-Lazaro M. A review on the dietary flavonoid kaempferol..Mini Rev Med Chem, (2011); 11 (4): 298–344.
3. Damia G, Garattini S.The pharmacological point of view of resistance to therapy in tumors. Cancer Treatment Reviews, 2014; 40 (8): 909–916
4. Danz H, Stoyanova S, Wippich P, Brattström A, Hamburger M. Identification and Isolation of the Cyclooxygenase-2 Inhibitory Principle in *Isatis tinctoria.* Planta Med, 2001; 67(5): 411-416.
5. Gómez-Ruiz S & et al. Cytotoxic studies of substituted titanocene and ansa-titanocene anticancer drugs. J Inorg Biochem, 2008; 8(102): 1558-70 .
6. Havrylyuk D, Kovach N, Zimenkovsky B, Vasylenko O, Lesyk R. Synthesis and anticancer activity of isatin-based pyrazolines and thiazolidines conjugates. Arch Pharm, 2011; 344:1–9
7. Jahng Y. Progress in the studies on tryptanthrin, an alkaloid of history. Arch Pharm Res, 2013 May; 36(5):517-35.
8. J. L. Liang et al. Synthesis of benzo-annulated tryptanthrins and their biological properties. Bioorg. Med. Chem., (2012); 20: 4962–4967.
9. Kolahdoozan S, Sadjadi A, Radmard A, Khademi H. Five Common Cancers in Iran. Arch Iran Med, 2010; 13 (2): 143 – 146
10. Levi JA, Aroney RS, Dalley DN. Haemolytic anaemia after cisplatin treatment. Br Med J (Clin Res Ed), 2003–4; 282 (6281).
11. Liverton N. J, Armstrong D.J, Claremon D.A, Remy D.C, Baldwin J.J, Lynch R.J, Zhang G, Gould R.J. Bioorg. Med. Chem. Lett, 1998; 8: 483.
12. Marzaro G1, Guiotto A, Chilin A. Quinazoline derivatives as potential anticancer agents: a patent review (2007 - 2010). Expert Opinion on Therapeutic Patents, 2012; 22 (3): 223-252.
13. Milosavlievic N, Duranton C, Djerbi N, Puech P, Gounon P, Lagadic-Gossmann D, Poet, M. Nongenomic effects of cisplatin: Acute inhibition of mechanosensitive transporters and channels without actin remodeling. Molecular and Cellular Pathobiology, (2010);70(19), 7514-7522.
14. Mohd-Hafifi Jamal, Wei-Choong Chng, Khatijah Yusoff and Norazizah Shafee.Reduced Newcastle disease virus-induced oncolysis in a subpopulation of cisplatin-resistant MCF7 cells is associated with survivin stabilization. Cancer Cell International 2012, 12:35
15. Seimetz D. Novel Monoclonal Antibodies for Cancer Treatment:TheTrifunctional AntibodyCatumaxomab(Removab®). Cancer ,2011; 2:309-316.
16. Sharma M and Chauhana Prem M S. Facile three-component reaction for the synthesis of biologically active 2,3- dihydroquinazolin-4(1H)-ones. Chemistry & Biology Interface, 2013; 116-122
17. Suzanne A Eccles & et al. Critical research gaps and translational priorities for the successful prevention and treatment of breast cancer. *Breast Cancer Research*, 2013; **15**:R92
18. Zhang W, Mayer J. P, Hall S. E, Weigel J. A. J. Comb. Chem, 2001; 3: 255

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.10.9]