

تحضير وتشخيص معقد اميني لنترات الفضة (I) ودراسة سميته الخلوية في خط خلايا سرطان الغدة اللبئية الفأري AMN-3

احمد زكي لفته¹، شلال مراد حسين²، صفاء عبدالرحمن احمد³

1 كلية التربية-قسم الكيمياء-جامعة سامراء
2 كلية الصيدلة-الجامعة المستنصرية
3 كلية العلوم التطبيقية-جامعة سامراء

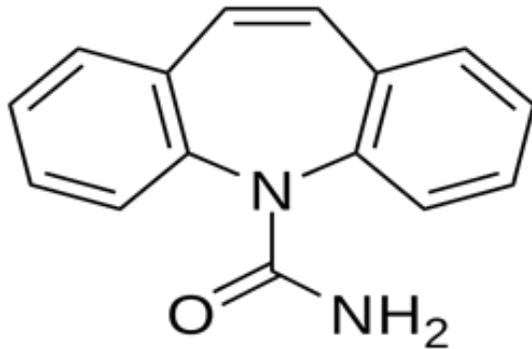
الخلاصة:

تضمنت هذه الدراسة تحضير معقد أميني لأيون الفضة (I) وتشخيصه، والصيغة الجزيئية للمعقد هي: $\{Ag(CMZ) NO_3.H_2O\}$ حيث تمثل CMZ=Carbamazepine: شخص المعقد المحضر بواسطة طيف الأشعة تحت الحمراء FT-IR، طيف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية UV-Vis، الامتصاص الذري، التحليل العنصري الدقيق (C,H,N)، التوصيلية الكهربائية المولارية فضلاً عن قياس درجة الانصهار. أظهرت الدراسة ان الهيئة الهندسية للمعقد المحضر هي رباعية السطوح. وقد درس تأثير هذا المعقد خارج جسم الكائن الحي على خلايا سرطانية للغدة اللبئية AMN-3 تم اخذ تراكيز عشرية تبدأ من (1,10,100,1000) مكغم/مل، ف لوحظ عدم وجود تثبيط عند التراكيز (1,10,100) مكغم/مل اي اقل من 50% لكن توجد فروق معنوية بين التراكيز، اما التراكيز (1000,1000) مكغم/مل فكانت نسبة تثبيط اكثر من 50%. توصلت الدراسة الى وجود تأثير سمي قاتل للمعقد عند التراكيز المعتمدة وهي (1000,1000) مكغم/مل، اما المقارنات الافقية الاحصائية بين التراكيز للأوقات التعرضية الثلاث فقد اظهرت النتائج الخاصة بالمعقد ان الوقت التعرضي 24 ساعة كان اكثر الاوقات تأثيراً بالتثبيط حيث ان التراكيز (1000,1000) مكغم/مل ارتفعت معنوياً بنسب تثبيط على الترتيب (56.0,57.9)% مقارنة بالتراكيز المقابلة لها في الاوقات الاخرى.

الكلمات المفتاحية: المعقدات الامينية للفضة (I). كاربامازيبين. دراسة خارج الجسم.

المقدمة:

مرة سنة 1953 من قبل Walter Schindler في شركة نوفارتيس في بازل، سويسرا وتم اكتشاف خصائصه سنة 1960. وبحلول أوائل 1970 استخدم الكاربامازيبين لعلاج الصرع عن طريق أخذه بالفم (9). ويعمل الكاربامازيبين على استقرار اغشية الاعصاب ويثبط السيالات العصبية المتكررة.



المخطط (I) يوضح الصيغة التركيبية لمركب Carbamazepine

في السنوات الأخيرة اجتذب تصميم معقدات الفضة (I) اهتماما كبيرا نظرا لهيكلها، وخصائصها البيولوجية، والأنشطة الدوائية المضادة للسرطان و الجراثيم و للفطريات(1,2). وتعتبر هذه المعقدات عامل فعال مع سمية منخفضة، وهو عقار مهم خصوصا في علاج موضعي مضاد للجراثيم في الجروح والحروق(3,4). وقد اجتذبت تحضير وتشخيص معقدات الفضة (I) اهتماما هائلا نظرا لبراعة هندستها التناسقية فيما بينها(5).

أيونات الفضة ومركبات الفضة سامة لبعض أنواع البكتيريا والفيروسات والطحالب والفطريات، لقد استخدمت على نطاق واسع الأدوية القائمة على الفضة لعدة قرون. وخلافا لغيره من المعادن الثقيلة، والفضة غير ضارة للبشر، الا أنه قد يسبب تصبغ للبشرة بسبب الفضة عند استخدامها بشكل مفرط. بعد اكتشاف المضادات الحيوية، انخفض استخدام مركبات الفضة كمبيدات الجراثيم. بعد ذلك تم تجديد الاهتمام بالفضة كعامل مضاد للميكروبات في السنوات الأخيرة(6). ثبت أن معقدات الفضة أكثر فعالية من أملاح الفضة. ان هذا المعدن نشط في تراكيز منخفضة وله سمية منخفضة. وقد أظهرت التجارب المضادة للبكتيريا نشاط مضادات الميكروبات لمعقدات الفضة مع ليكاندات (O,N) (اوسع من استخدامها مع P,S)) ويرجع السبب في هذا النشاط إلى الاصرة الضعيفة المميزة Ag-O و Ag-N في بنيتها(7).

الليكاندات هي ذرات مانحة للإلكترونات مثل N، O، S، P وترتبط مع الفلز باصرة تناسقية، وهناك بعض الليكاندات لها خصائص بيولوجية فعند ارتباطها مع فلز نشط بيولوجيا في كثير من الحالات يكون التأثير متناغما بين أيونات المعادن والليكاند فيزداد التأثير الحيوي لهما(8).

الكاربامازيبين (Carbamazepine (CBZ) وصيغته التركيبية في المخطط(1)، وتسميته العلمية هي 5H-dibenzo [b,f]azepine-5-car-) تم تصنيع هذا المركب لأول (boxamide) وصيغته الجزيئية C7H7NO2 تم تصنيع هذا المركب لأول

Corresponding Address:

Shallal M. Hussein

Department of pharmacology and toxicology, College of pharmacy, Al mustansiriya university

Email: Dr_Shallal@yahoo.com

الهدف من العمل

تحضير معقد لأيون الفضة Ag^+ مع ليكند اميني وتشخيصه بعدة تقنيات وتحديد شكله الهندسي ومعرفة تأثيره السمي الخلوي في خط خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري AMN-3 المجهز من المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية/ جامعة المستنصرية التمريرة (206).

طريقة العمل:

المواد المستخدمة:

تم الحصول على نترات الفضة و Carbamazepine من الشركة العامة لصناعة الأدوية سامراء، وتم تجهيز الخلايا السرطانية AMN-3 من المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية / الجامعة المستنصرية.

الاجهزة المستخدمة

تم تحديد درجة الانصهار بجهاز Büchi، ودرجة الذوبان بجهاز M-565 والتوصيلية المولارية بجهاز HI 9811-5 في معمل أدوية سامراء SDI، طيف الأشعة فوق البنفسجية بجهاز Shimadzu-1650 في قسم الكيمياء كلية التربية/ جامعة سامراء، طيف الأشعة تحت الحمراء في جهاز Shimadzu FT-IR 8300 استعمل قرص بروميد البوتاسيوم، طيف الامتصاص الذري للمواد الصلبة ابن سينا مركز البحوث / بغداد، قياس ال C.H.N و قياس ال-NMR الاردن جامعة أربد، جهاز الأليزا استخدم لتحديد الخلايا الحية والميتة بعد تعرضها للمعقد بعد مرور أوقات التعرضية الثلاث 72,48,24 ساعة في المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية / الجامعة المستنصرية.

تحضير معقد $\{Ag(CMZ)NO_3.H_2O\}$

حضر المعقد من اذابة 1مل مول (0.17 gm) من نترات الفضة $AgNO_3$ في 10 ml من الماء الخالي من الايونات، واذابة 1مل مول (0.2363 gm) من Carbamazepine في 10 ml من الايثانول تركيزه 96% وضعت نترات الفضة في قنينة حجمية سعة 50ml مظلمة ثم مزج معها Carbamazepine بالتدريج في درجة حرارة 25 °C مع التحريك المستمر لمدة نصف ساعة ثم ترك لمدة اسبوعين ومن ثم رشح الرايب المتكون وجفف في درجة حرارة 50 °C ووزن (10).

الدراسة خارج جسم الكائن الحي

الخط الخلوي السرطاني (Ahmed-Mohammed-Nahi-2003 AMN-) تم تجهيز هذا الخط من قبل المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية / الجامعة المستنصرية عند التمريرة رقم (206) وهو سرطان الغدة اللبنية Mammory adenocarcinoma لانث فنان نوع Balb/c المصابة بسرطان الغدة اللبنية التلقائي (-In vivo spontaneous mammary adenocarcinoma) تم استحداث هذا الخط في وسط RPMI-1640 مجهز بـ 10% من مصّل العجل البقري، وعند تكون الطبقة الاحادية الكاملة (-Con-fluent monolayer) عولمت الخلايا بمحلول التريسين - فيرسين لتقسيمها على مزرعة ثانوية اخرى.

تحضير الوسط الزرع لخط خلايا AMN-3

تمت تهيئة الوسط الزرع وفقاً لطريقة (Freshney) (11) بخلط مكوناته مع بعضها البعض لتحضير 1 لتر منه، ومن ثم عقرت باستعمال مرشح ذي ثقب 0.22 مايكرون، ثم وزع الوسط الزرع في قناني زجاجية ذات غطاء محكم سعة 200 مل وحفظت في عبوات معقمة بدرجة حرارة 20-م ° الى حين الاستعمال.

حيث تم اجراء الخطوات الخاصة بالزرع النسيجي تحت ظروف معقمة كالآتي:

1 - اضيف 2 مل من محلول التريسين-فيرسين الى قنينة الزرع النسيجي بحجم 253مل الحاوية على الخلايا بعد تفريغها من الوسط الزرع القديم ثم حركت القنينة برفق وحضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 م ° مدة 15 دقيقة لتفكيك الخلايا الملتصقة وكذلك خلخله لتصاقها بجدار القنينة للحصول قدر الامكان على خلايا احادية مفردة.

2 - اضيفت الى القنينة الحاوية على الخلايا المفككة ما يقارب 15 مل من وسط نمو جديد (RPMI-1640) وتم تحريك القنينة جيداً وبعدها افرغت محتويات القنينة الحاوية على الوسط الزرع الجديد مع الخلايا الى قنينة اخرى جديدة

بحيث يكون مستوى الوسط الزرع مع الخلايا متساو بين القنيتين اي كل قنينة وضع فيها نفس الحجم تقريبا من الوسط الزرع مع الخلايا وتسمى هذه العملية بالمزرعة الثانوية (Subculture).

3 - حضنت القناني بدرجة 37 م ° مدة خمسة ايام (الطبيعة اللوغاريمية لنمو الخلايا) (فريق عمل المركز العراقي لأبحاث السرطان والوراثة الطبية) بعد ان كتب عليها معلومات كاملة عن نوع الخلايا ونوع التمريرة الجديدة (New passage) وتم اجراء المزرعة الثانوية، وتمت متابعة القناني يوميا للتأكد من خلوها من اي تلوث وان الخلايا بحالة جيدة وذلك بفحصها بواسطة المجهر المقلوب Inverted microscope /Olympus / Japan. وعندما يصبح النمو داخل القنينة جيداً فان الخلايا تكون جاهزة للاستعمال.

حُضرت الاوساط والمحاليل المستعملة بحسب الطرائق المتبعة في المركز العراقي لأبحاث السرطان والوراثة الطبية وكالاتي:

الوسط الزرع الخالي من المصل (SFM) Serum Free Medium

حُضر بالطريقة نفسها لتحضير (RPMI) لكن دون اضافة المصل. يُستعمل هذا الوسط في تحضير التراكيز المختلفة للمعقد $\{Ag(CMZ)NO_3.H_2O\}$.

تحضير صبغة (MTT) Methyl Thiazolyl Tetrazolium

حُضر المحلول بحسب طريقة (12) (Betancur-Galvis) وذلك بإذابة 0.005 غم من مسحوق الصبغة في (1 مل) من المحلول الدائري (PBS) الدافئ في دورق. وضع الدورق على صفيحة مغناطيسية هزازة، ومن ثم رُشحت الصبغة عبر امرارها في المرشح الغشائي (نوع Syringe filter 0.2 µm) لإزالة البلورات المتشكلة عنها. ثم حُفظت في ظروف معقمة وفي مكان مظلم لتجنب تأكسدها في الضوء. (تم تحضير الصبغة بشكل آني للحصول على نتائج أفضل).

تحضير تراكيز المعقد $\{Ag(CMZ)NO_3.H_2O\}$

حُضر المعقد وفق طريقة (14, 13) بإذابة (0.1 غم) من راسب المعقد في (1 مل) من الايزوبروبيل ثم في الوسط الخالي من المصل (SFM) المحضر سابقاً والمعقم باستعمال مرشح ذي ثقب بقطر 0.22 مايكرون. وحُضر منها التركيز الاصل stock، و عُقم باستعمال مرشح. حُضر بعد ذلك من كل مستخلص خمسة تراكيز باستعمال الوسط الخالي من المصل RPMI-free media 1640 وهي (1، 10، 100، 1000، 10000) مكغم/مل تحت ظروف معقمة. واستخدمت هذه التراكيز جميعها مباشرة وعند تحضير التراكيز المستعملة لاختبارات السمية الخلوية Cytotoxic assay.

قياس السمية الخلوية بدلالة MTT

جُهرز عالق الخلايا بوساطة معاملة طبقة الخلايا المزروعة في قنينة الزرع النسيجي حجم 50 مل بمحلول التريسين- فرسين، ثم اضيف اليه 20 مل من الوسط الزرع الحاوي على المصل بنسبة 10%. تم مزج عالق الخلايا جيداً ونقل 0.2 مل بعد كل مزج جيد إلى حفر طبق معايرة الزرع النسيجي ذي القعر المسطح باستعمال ماصة أوتوماتيكية دقيقة Micropipette.

تُرك الطبق في الحاضنة بدرجة حرارة 37 م ° لمدة تتراوح بين (12-18) ساعة إلى حين التصاق الخلايا في الحفرة وبعدها تم التخلص من الوسط الزرع القديم في الحفر وإضافة 0.2 مل من التراكيز المحضرة سابقاً لكل من المعقدات وواقع أربعة مكررات لكل تركيز. كما تم عمل أربعة مكررات للسيطرة Control وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م °.

بعد مرور مدة التعريض Exposure time المحددة للحضن، تم اخراج الطبق من الحاضنة وأزيل الوسط الزرع وغسلت الخلايا بمحلول دارئ الفوسفات المحضر (PBS)، بعدها تمت إضافة لكل حفرة (0.1 مل) من صبغة MTT stain وتركت لمدة 3 ساعات، ثم تم اهمال محتويات الصفيحة من الصبغة بعد انتهاء الوقت في الحاضنة حيث تصطبغ الخلايا الملتصقة بقاع الحفرة باللون الاصفر بعدها يتم اضافة (0.1 مل) من محلول DMSO، ليتم قراءة النتائج باستخدام جهاز الإليزا Microplate Reader عند طول موجي 550 نانومتر.

أجريت الخطوات السابقة على الخط الخلوي السرطاني AMN-3 بثلاث مبد تعريض وهي 24 و 48 و 72 ساعة.

تم حساب النسبة المئوية لتثبيط نمو الخلايا Growth inhibition percentage لكل تركيز من تراكيز معقد الفضة بحسب ما جاء في طريقة (15) (Gao) عن طريق المعادلة الآتية:

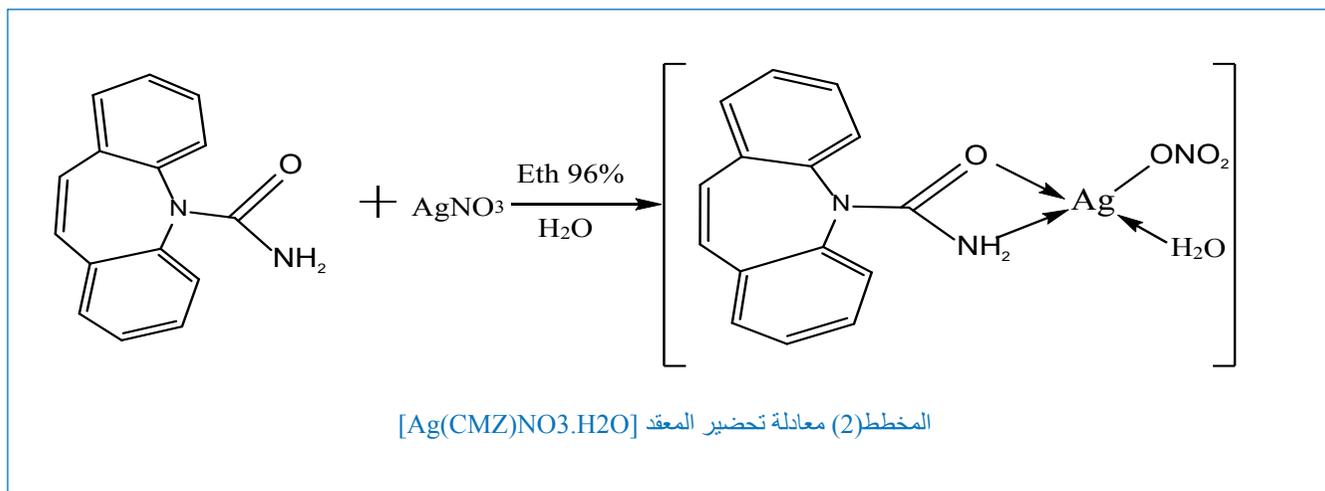
المعاملات ، استعمل اختبار دنكن متعدد الحدود (Duncun multiple test) من خلال البرنامج الاحصائي الجاهز (SPSS 17).

النتائج والمناقشة:

تشخيص المعقد $\{Ag(CMZ)NO_3.H_2O\}$
حضر المعقد من تفاعل نترات الفضة مع Carbamazepine كما في المخطط(2).

نسبة التثبيت % = [قراءة السيطرة - قراءة المعاملة لكل تركيز / قراءة السيطرة] x 100%
كما تم حساب معدل تحفيز النمو وفقاً ل(16) وكالاتي:
 $Proliferation\ Rate\ (PR)\% = (B/A) \times 100$
حيث ان: PR: النسبة المئوية لمعدل التحفيز ، B: قراءة المعاملة لكل تركيز ، A: قراءة السيطرة.

التحليل الاحصائي :
للت نتائج احصائياً باتباع التصميم العشوائي الكامل - Complete Ran- (domize Design (CRD) ولمعرفة فيما اذا كانت الفروقات معنوية بين

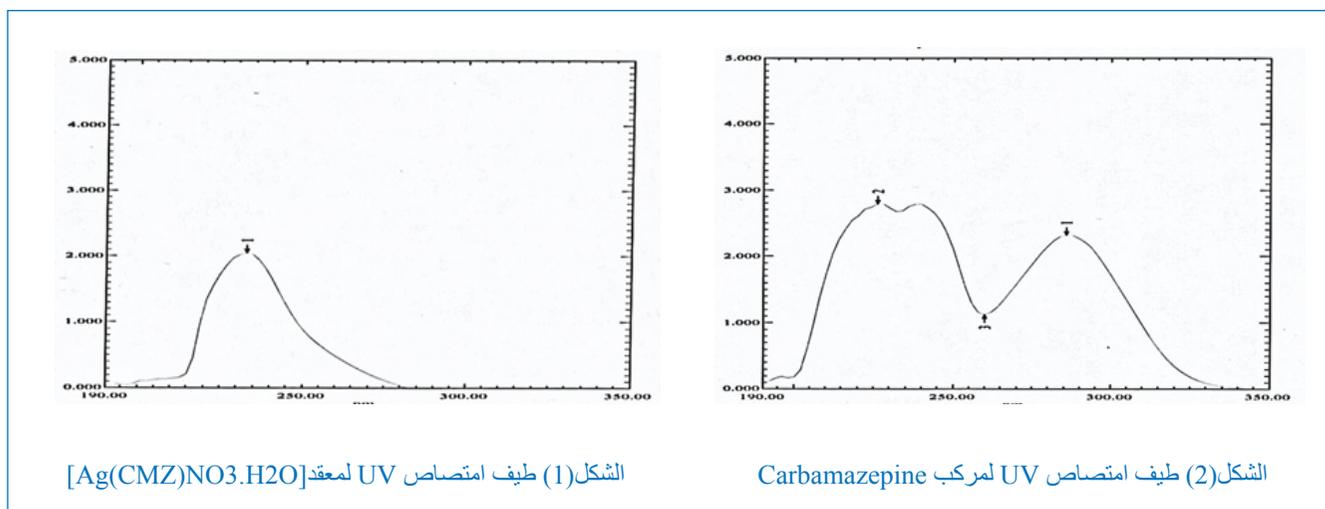


1 وفي الجدول ظهرت قيم طيف الامتصاص U.V والمستخرجة من الشكل(1) و(2) للمعقد والليكاند على التوالي(18,19,20,21,22).

وفي الجدول(1) ظهرت قيم بعض الخواص الفيزيائية لليكاند والمعقد، والتوصيلية المولارية Am للمعقد وتم قياسها بوحدة -Ohm-1Cm-1mole-

الجدول (1) الخواص الفيزيائية وطيف u.v لكل من الليكاند والمعقد

Compound	M.wt	Colour	M.P C°	Solvent	Λ_m	*U.V- $n \rightarrow \pi$	
						λ_{max}	ϵ
$\{Ag(CMZ)NO_3.H_2O\}$	424	برتقالي	254	DMSO	0,01	234	2020
Carbamazepine	236	ابيض	236	ايثانول	-	286	2300



فقد ظهرت القيم في الجدول(2).

اما التحليل الدقيق للعناصر C.H.N وقياس طيف الامتصاص الذري للفضة

الجدول(2) التحليل الدقيق لعناصر المعقد ونسبة الفضة في الناتج

Compound	Found(cal.)%					
	Yield	C	H	N	O	Ag
Complex	75%	(42.47)	(3.32)	(9.9)	(18.86)	(25.43)
		42.20	3.12	9.51	18.12	25.40

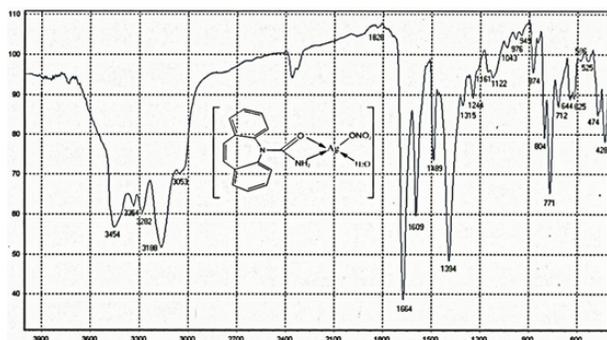
في الجدول(3) ظهرت قيم طيف FT-IR منها للمعقد والليكاند وان وحدة القياس cm^{-1} وكان مدى القياس 400-4000 وان هذه القيم مستخرجة من

الجدول (3) قيم امتصاص طيف FT-IR لكل من المعقد والليكاند

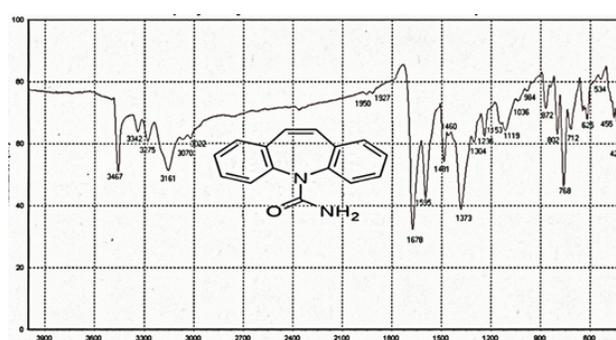
المركب	$\nu(-NH_2)$ sy.asy	$\delta(-NH_2)$	$\nu(C=O)$	$\nu(-OH)$ $\delta(OH)$	$\nu(NO_3^-)$ sy.asy $\delta(NO_3^-)$	$\nu(Ag-N)$	$\nu(Ag-O)$
Cpx	3282-3354	1609	1664	945 3454	976 1315-1394	586	474
lgd	3275-3342	1595	1678	-	-	-	-

على ضوء قيم الامتصاص في طيف IR هناك مقارنة بين المعقد والليكاند وكما يلي:
1 - انزياح الحزمة الامتصاصية $\nu(-NH_2)$ للمعقد التي كانت عند الموقع 3282 و 3354 وقد كانت قبل الارتباط تظهر عند 3275 و 3342، وكذلك ظهور حزمة انحنائية عند 1609 للمعقد $\delta(-NH_2)$ التي كانت قبل الارتباط

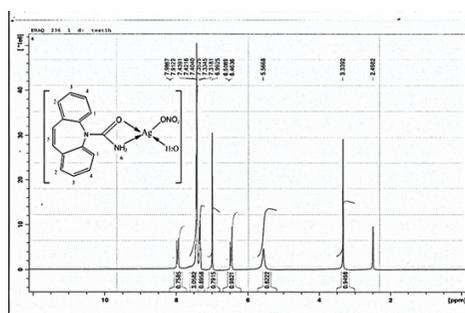
1595 لنفس المجموعة.
2 - ظهور حزمة مط عريضة في المعقد لم تكن موجودة قبل التناسق عند 3454 فهي تدل على $\nu(OH)$ المتناسقة و حزمة انحنائية عند 945.
3 - الانزياح الذي حصل لمجموعة $\nu(C=O)$ حيث كانت في المعقد 1664 اما في الليكاند 1678.



الشكل(3) طيف IR للمعقد [Ag(CMZ)NO3.H2O]



الشكل(4) طيف IR للمركب Carbamazepine



الشكل(5) طيف ^1H-NMR للمعقد [Ag(CMZ)NO3.H2O]

الشكل(5) يمثل طيف ^1H-NMR حيث ظهرت اشارة منفردة عند بروتون لمجموعة (5,6,DMSO) على التوالي، وقد ظهرت اشارة ثنائية في الطيف النووي عند 6.5089-6.4636 PPM) وعند 7.9123-7.9867 PPM) فهي تدل على (12)، وقد ظهر في طيف الرنين للبروتون اشارة ثلاثية الذي مداه من والى (7.3181-7.3525 PPM) و (7.4040-7.4391 PPM) التي تدل على (3,4)،(18,20).

الى أكثر من 50% عند التركيز (1000, 10000) مكغم/مل، وبنسب تثبيط (56.0% و 57.9%) على التوالي وظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين التراكيز المستخدمة والسيطرة بمستوى معنوي ($P < 0.05$) للتراكيز (10, 100, 1000) مكغم/مل، ولا يوجد فرق معنوي بين التراكيز (10, 1) مكغم/مل.

بينما اظهرت النتائج لوقت التعريض 48 ساعة انه لا يوجد تأثير تثبيطي للمعقد عند 50%، كذلك اظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين التراكيز المستخدمة والسيطرة بمستوى معنوي ($P < 0.05$) للتراكيز (1, 10, 100, 1000) مكغم/مل وبنسب تثبيط (42 و 22.6 و 18,3 و 14.1)% على التوالي، بينما لا يوجد فرق معنوي بين تراكيز (1000, 1000) مكغم/مل وبين تراكيز (10, 1) مكغم/مل.

واظهرت النتائج لوقت التعريض 72 ساعة انه لا يوجد تأثير تثبيطي للمعقد عند 50%، وقد اظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية والسيطرة بمستوى معنوي ($P < 0.05$) بين جميع التراكيز و التركيز (1) مكغم/مل، ولا يوجد فروق معنوية بين التراكيز الاخرى.

التأثير السمي للمعقد {Ag(CMZ)NO3.H2O} في نمو خلايا الخط الخلوي السرطاني AMN-3:

تم اختبار قدرة المعقد على تثبيط نمو الخلايا السرطانية خارج جسم الكائن الحي وقد عولمت هذه الخلايا بتراكيز مختلفة من المعقد بدءاً من التركيز 1 مكغم/مل الى التركيز 10000 مكغم/مل وقد تم اعتماد التراكيز (1000, 1000) مكغم/مل لنسبة القتل العالية، اما التراكيز القليلة فكانت نسب التثبيط اقل من 50%. وقد اخذ التراكيز الاعلى والتي كانت تمتاز بنسبة قتل من 56.0 و 56.9% ووقت التعريض 24 ساعة واعتمد اختبار السمية الخلوية - Cytotoxicity as say لتقويم تأثير تراكيز المعقد في نمو الخلايا بدلالة النسبة المئوية.

الخط الخلوي السرطاني AMN-3:

عند معاملة الخط الخلوي السرطاني AMN-3 عند التمريرة (206) بتراكيز مختلفة من المعقد {Ag(CMZ)NO3.H2O} ولفترة تعرض 24 و 48 و 72 ساعة اشارت النتائج الى وجود تثبيط في تكاثر الخلايا عند التراكيز الست المأخوذة ويزداد هذا التثبيط بزيادة التركيز وفترة التعرض.

اظهرت النتائج في الجدول (4) للوقت التعريض 24 ساعة الذي اعتمد على التركيز المستخدم ووقت التعريض. فقد لوحظ بدء التأثير التثبيطي للمعقد

الجدول (4) يوضح نسب التثبيط للمعقد {Ag(CMZ)NO3.H2O} على خلايا AMN-3

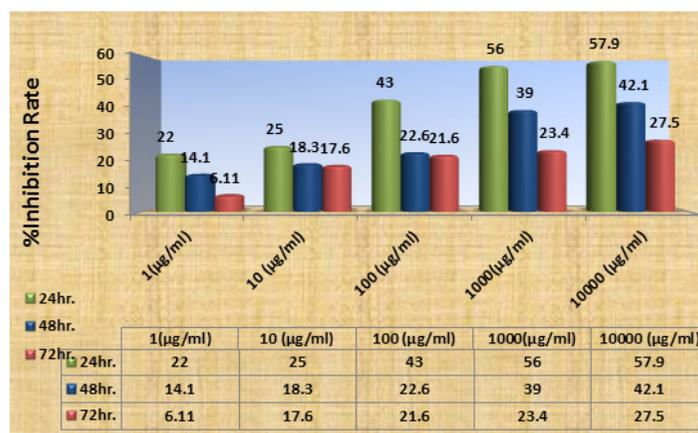
Conc. (µg/ml)	النسبة المئوية للتثبيط بعد فترة التعريض		
	24 hr.	48hr.	72hr.
1	C 22% a	C 14.1% b	A 6.11% c
10	C 25% a	C 18.3% b	A 17.6% b
100	B 43% a	B 22.6% b	A 21.6% b
1000	A 56% a	A 39% b	A 23.4% c
10000	A 57.9% a	A 42.1% b	A 27.5% c

- الاحرف المختلفة افقياً تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P \leq 0,05$ بين معدل الصف الواحد بحسب اختبار دنكن.

- الاحرف المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P \leq 0,05$ بين معدل العمود الواحد بحسب اختبار دنكن.

72 ساعة، اما تراكيز (10, 100) مكغم/مل لم تكن الفروق بينها معنوية. اظهرت النتائج سابقة الذكر للخط الخلوي السرطاني المدروس (AMN-3) ان تأثير المعقد استمر عند اعلى مدة تعريض خلال وقت (24 ساعة)، وأظهرت النتائج نسب تثبيط مختلفة وتحفيزاً لبعض التراكيز أيضاً، وقد وجد أن التأثير السمي للمعقد يعتمد على نوع الخلايا السرطانية، وتركيز المعقد، والمدة الزمنية للتعريض.

اما المقارنات الافقية الاحصائية بين التراكيز للأوقات التعرضية الثلاث فقد اظهرت النتائج ان الوقت التعرضي 24 ساعة كان اكثر الاوقات تأثيراً بالتثبيط حيث ان التراكيز (1000, 1000) مكغم/مل ارتفعت معنوياً بنسب تثبيط على الترتيب (56.0 و 57.9)% مقارنة بالتراكيز المقابلة لها في الاوقات الاخرى، كذلك كان الفرق معنوي عند الوقت 24 ساعة لجميع التراكيز مقارنة بالأوقات الاخرى لنفس التراكيز، ايضا هناك فروق معنوية عند الوقت 48 ساعة لتراكيز (1, 1000, 1000) مكغم/مل بالمقارنة مع نفس التراكيز للوقت



الشكل(6) يوضح تأثير المعقد {Ag(CMZ)NO3.H2O} في خط خلايا سرطان الغدة البنائية الفأري AMN-3

الحمض النووي مباشرة في نواة الخلية مثل (cisplatin, doxorubicin) او ايقاف عامل التحضير أو انهيار للانقسامية المغزلية مثل (vinblastine, paclitaxel).

الا ان معقدات الفضة تعمل بطرق عديدة ضد الخلايا السرطانية(26), فهي تتميز على سطح غشاء الخلية وبالتالي يعيق عملها ويمنعها من اداء وظيفتها, كما انها قادرة على اختراق داخل الخلية وتسبب بأضرار لها عن طريق التفاعل مع كبريت الذي يدخل في بناء الـ DNA, بالإضافة الى انها تحرر أيونات الفضة فيؤدي الى تحلل الخلية البكتيرية, والتي لها مساهمة إضافية في تأثيرها كمبيد للجراثيم.

تكون معقدات الفضة أكثر فائدة من المواد العضوية وحدها لأنها تتسم بدرجة ثبات حراري أعلى, سميتها أقل للكائنات الحية, ومستوى مقاومة أعلى للأشعة فوق البنفسجية (UV).

اظهرت النتائج سابقة الذكر للخطوط الخلوية السرطانية ان استعمال الفضة (I) في علاج السرطان لم يكن محدودا, وهناك بحوث عديدة تتحرى نشاط معقدات الفضة (I) ضد السرطان والنتائج التي تم الحصول عليها مشجعة. حيث درس معقد الفضة [H₂O]. Ag₂(phen)₃(mal). فتبين من خلال الدراسة أنه أكثر نشاط من السس بلاتين بثلاث مرات في تثبيط الكلى البشري وخلايا الكبد السرطانية خارج الجسم (23) (In Vitro). بينما معقد الفضة (I) كومارين وجد انها تكون 2.5 الى 5.5 مرة أكثر سمية من السس بلاتين كان هناك أيضا اتجاه لمعقدات الكومارين على ان تكون السمية للخلايا أكثر انتقائية لخطوط الخلايا المشتقة من السرطان نسبة الى خلايا الكبد والكلى الطبيعية. وان هناك فعالية اتجاه سرطان الثدي والمبيض كما تم الإبلاغ عنها مع أولوية في أنه تبين عدم وجود اثار جانبية في الدراسات المجرة على الفئران(24). وبما ان العلاج الكيميائي يؤثر على الخلايا السرطانية باليات مختلفة(25), اما بوقف تحضير الحمض النووي مثل (methotrexate, fluorouracil), أو اتلاف

References:

1. U. Kalinowska-Lis, A. Felczak, L. Checinska, K. Lisowska, J. Ochocki, J. Organom. Chem. 749 (2014) 394–399.
2. A. N. Kharat, A. Bakhoda, S. Foroutannejad, C. Foroutannejad, Z. Anorg. Allg. Chem. 637 (2011) 1–6.
3. M. A. M. Abu-Youssef, R. Dey, Y. Gohar, A. A. Massoud, L. Ohrstrom, V. Langer, Inorg. Chem. 46 (2007) 5893–5903.
4. L. Balogh, D. R. Swanson, D. A. Tomalia, G. L. Hagnauer, A. T. McManus, Nano Lett. 1 (2001) 18–21.
5. O. Z. Yesilel, G. Gunay, F. Semerci, D. Erkmen, Z. Kristallogr. 227 (2012) 694–701.
6. R. Czoika, A. Heintzb, E. Johna, W. Marczak, Acta Physica. Polonica A 114 (2008) 51–56.
7. M. I. Azócar, H. Muñoz, P. Levin, N. Dinamarca, G. Gómez, A. Ibañez, M.T. Garland, M. A. Paez, Commun. Inorg. Synth. 1 (2013) 19–21.
8. S. K. Bharti, S. K. Singh, Der Pharmacia Lettre 1 (2009) 39–51.
9. Dalby M.A., Antiepileptic and psychotropic effect of carbamazepine (Tegretol) in the treatment of psychomotor epilepsy. Epilepsio, (1971). 12: p. 325–334.
10. Morsy A. M. Abu-Youssef a, Saied M. Solimana, et al. Synthesis, crystal structure, quantum chemical calculations, DNA interactions and antimicrobial activity of [Ag(2-amino-3-methylpyridine)₂]NO₃ and [Ag(pyridine-2-carboxaldoxime)NO₃], Alexandria University, (2010) 4-5.
11. Freshney, R. I. Culture of Animal Cell. A Manual of Basic Technique; 4th ed, New York, NY, USA: Wiley-Liss. (2000). Pp:486.
12. Betancur-Galvis, L. A.; Morales, G. E.; Forero, J. E. and Roldan, J. Cytotoxic and Antiviral Activity of Colombian Medicinal Plant Extract of the Euphorbia Genus. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. (2002), 97(4): 541-546.
13. Abdul-Majeed, M.R. Induction and characterization of SU-99 Plasmacytoma cell line and its effect on Mice immune response. Ph D thesis, Nahrain University. (2000).
14. Mahony, D. E.; Gilliat, E.; Dawson, S.; Stockdale, E. and Lee, S. H. S. Cell assay for rapid detection of Clostridium Perfringens enterotoxin. Applied and Environmental Microbiol. (1989) 2141-2143.
15. Gao, S.; Yu, B.; Li, Y.; Dong, W. and Luo, H.. Antiproliferative effect of Octreotide on gastric cells mediated by Inhibition of Akt/ PKB and telomerase. World J. Gastroentrol. (2003) 9: 2362-5.
16. Chumchalova, J. and Smarda, J Human Tumor Cells are Selectively Inhibited by Colicins. Folia Microbiol. (2003) 48: 111-5.
17. SAS. Statistical Analysis System, User Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS.Inst.Inc. Cary.N.C. U.S.A.(2012).
18. Percival SL, Bowler PG, Russell D. Bacterial resistance to silver in wound care. J. Hosp. Infect. 2005; 60 (1): 1-7.
19. Nakamoto K. Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds. 6th ed. NJ: Wiley; 2009.
20. Silverstein RM, Webster FX, Kiemle DJ. Spectrometric identification of organic compounds. 7th ed. NJ: Wiley; 2005.
21. Gore MG. Spectrophotometry and spectrofluorimetry. 1st ed. New York: Oxford University Press; 2000.
22. Brittain HG. Spectroscopy of pharmaceutical solids. 1st ed. New York: Taylor and Francis Group; 2006.
23. Deegan, C.; McCann, M.; Devereux, M.; Coyle, B.; Egan, D. A. Cancer Lett. 2007, 247, 224-233.
24. Thati, B.; Noble, A.; Creaven, B. S.; Walsh, M.; McCann, M.; Kavanagh, K.; Devereux, M.; Egan, D. A. Cancer Lett. 2007, 248, 321-331.
25. Cheung-Ong K, Giaever G, Nislow C. DNA-damaging agents in cancer chemotherapy: serendipity and chemical biology. Chem Biol. 2013;20(5):648-659.
26. Koolman J and Roehm K. Color Atlas of Biochemistry. 2nd Edition. Georg Verlag Rüdigerstrasse 14, 70469 Stuttgart, Germany. 2005, 254.

synthesis and characterization of the amino complex of the silver nitrate (I) and studying its cellular toxicity in the Murine mammary adenocarcinoma Cell Line AMN-3.

Ahmed Zaki Lafta¹, Shalal Murad Hussian², Safa'a Abd-alrhman ahmed³

1 The College of Education -University of Samarra.

2 College of Pharmacy , University of Al-Mustansiriyah.

3 College of applied sciences. University of Samarra.

Abstract :

This study is synthesis involved the of amino complex of the silver ion (I), and characterization , in molecular formula of the complex : $[Ag(CMZ) NO_3.H_2O]$ that stands for CMZ-Carbamazepine .The prepared complex is identified by means of the infrared spectrum (FT-IR) and the Ultraviolet-visible spectrum UV-Vis , the atomic absorption, the accurate elementary analysis (C.H.N), the molar electric conduct ability as well as the measurement of the melting degree.

The study showed that the engineering configuration of all prepared complex is tetra-hedral .The effect of the complex is studied (In Vitro) on the Murine mammary adenocarcinoma Cell Line AMN-3. The decimal concentrations are begun at (1,10,100,1000,10000) $\mu g/ml$. So it is noticed there is no inhibition on the concentration (1,10,100) $\mu g/ml$. The ratio of inhibition is less than 50%. The study is concluded that there is a lethal toxic effect of the complex at the approved concentrations: (1000,10000) $\mu g/ml$. The statistical horizontal comparisons among the concentrations of the complex exposure times , showed that the 24 hours, exposure to the concentrations(1000,10000) $\mu g/ml$. caused significantly affect (56,57.9% respectively) when compared with their corresponding concentrations of other exposure times.

Keyword : Silver amino complex (I) Carbamazepine. Study (In Vitro).