

بررسی نقش فنول ها بر بهبود خصلت ضد سرطان بتاکارتن به کمک افزایش جذب اشعه فرابنفش

مهدیه انتظاری¹، ملک حکمتی¹، سعید حیدری کشل^{2*}، آتنا آذین³، شهره حکمت⁴، افسانه برکت⁵، رضا شیرینی هریس⁶

1) گروه شیمی تهران، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی

2) کمیته تحقیقات دانشجویی، مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

3) دانشگاه آزاد اسلامی واحد ماهشهر

4) گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

5) گروه شیمی دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ماهشهر

6) گروه هماتولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت: 91/8/19

تاریخ پذیرش: 91/11/24

چکیده

مقدمه: محدوده عمر پوشش های آلی در مصارف محیطی به دلیل مضرات اشعه آفتاب، اکسیژن و آلاینده های اتمسفری کاهش پیدا کرده است. از طرفی تجزیه این پوشش ها و پوشش های تجدید شده، آلاینده هایی به محیط وارد می کنند. در پوشش هایی که بر پایه حلال ها هستند مانند رنگ های آکیدی، منبع اصلی آلاینده ها، VOC ها یا همان ترکیبات آلی فرار می باشند که به عنوان عوامل ابتدایی ایجاد سرطان شناخته می شوند. در این مقاله اثرات جاذب های UV فنولی بر روی افزایش جذب بتاکاروتن بررسی شده و هم چنین با استفاده از آزمون توان حیاتی (MTT) توان زیستی سلول های سرطانی مورد محاسبه قرار گرفت.

مواد و روش ها: طیف UV فنل ها از محلول های 2×10^{-5} مولار به دست آمده و ϵ ترکیبات به وسیله معادله بیر-لامبرت ($A = \epsilon bc$) محاسبه شده است. استخراج کاروتن از هویج به وسیله اتانل و -2°C پروپانل در دمای 60°C در 4-2 ساعت انجام سپس، شاهد و نمونه ها به وسیله طیف سنجی UV مورد مطالعه قرار گرفته و پس از آن این محلول ها در نور آفتاب به مدت 30 روز قرار گرفتند. بعد از گذر مدت گزارش شده، محلول ها دوباره به وسیله طیف سنجی UV مطالعه شدند. نهایتاً برای بررسی اثر ضد سرطانی بتاکارتن در حضور جاذب های UV بر رده سلول سرطانی انسانی از روش (MTT) استفاده شد.

یافته های پژوهش: بررسی ها نشان داد که حضور فنول های به کار رفته در این پروژه بر پایداری بتاکاروتن در حضور اشعه فرابنفش افزوده است.

بحث و نتیجه گیری: در پژوهش حاضر، روشی جدید و مناسب در ساخت ماده ضد سرطان توام با جذب UV ارائه شد. قابلیت جذب فرابنفش در تمام نمونه ها افزایش یافت؛ بنا بر این این مواد گزینه های بسیار مناسبی برای کاربرد در داروهای ضد سرطانی به شمار می روند.

واژه های کلیدی: فنل ها، MTT، جاذب های UV، بتاکاروتن، ضد سرطان

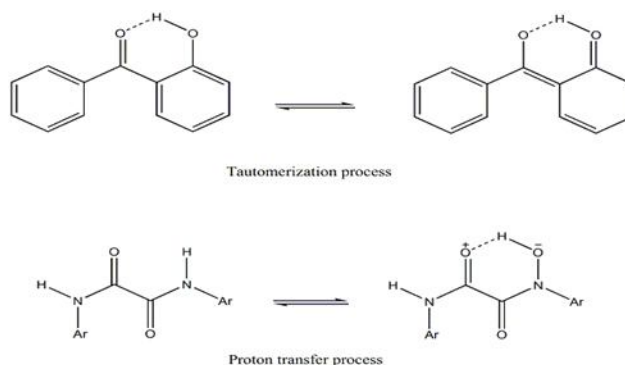
* نویسنده مسئول: کمیته تحقیقات دانشجویی، مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

Email: saeed_heidari@spu.ir



مقدمه

شیمیایی با به دام اندازنده‌ها و حضور دیگر افزودنی‌ها سنجیده می‌شود، (5-1). جاذب‌های UV با داشتن سه ویژگی می‌توانند مؤثر واقع شوند. اول این که لازم است آن‌ها به طرز فزاینده‌ای اشعه UV را که مضر است جذب کنند؛ دوم، آن‌ها باید انرژی جذب شده را به صورت بسیار کم ضررتر پراکنده ساخته و در نهایت باید در بستر ماده پایداری ویژه‌ای داشته باشند، (6). تا به حال دو مکانیسم عمده برای عملکرد جاذب‌های UV ارائه شده است. یکی از آن‌ها این است که UVA‌های فنلی با تشکیل تعادل تبدیل سریع انول-کتو در حضور اشعه UV عمل می‌نمایند، (7). طیف سنجی‌های IR و رامان، هندسه‌های trans-planar و وجود H-tunneling یا انتقال پروتونی درون مولکولی میان گروه کربونیل و هیدروژن‌های عوامل مجاور را ثابت کردند. (تصویر شماره 1) (8)



تصویر شماره 1. تاتومری شدن و انتقال پروتونی UVA‌ها

سرطان، این مواد از لحاظ علمی توجه خاصی را به خود جلب کرده‌اند. مواد جاذب UV در محافظت مواد آلی و معدنی و جلوگیری از تجزیه نوری مورد استفاده قرار می‌گیرند، (10-14). سلول‌های انسانی به هنگام جذب اشعه مضر UV به منظور دفع مضرات این اشعه از بستر جدا شده و در نتیجه بدن آن‌ها را از دست می‌دهد. دریافت UV بیشتر منجر به از بین رفتن سلول‌ها گشته و باعث ملتهب شدن می‌گردد؛ پیامد ناشی از این پدیده در سلول‌های

جاذب‌های UV (UVA‌ها) جزء افزودنی‌هایی هستند که ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی پوشش‌ها را بهینه‌سازی می‌نمایند. UVA‌ها ضرایب جذب بالایی ($\epsilon > 10000$) را در قسمت UV طیف نور آفتاب در بر می‌گیرند. آن‌ها پوشش‌ها را در مقابل تخریب نوری با روش جذب اشعه‌های مضر آفتاب و به دام انداختن آن‌ها حفظ می‌نمایند. UVA‌ها باید تشعشعات میان 290 تا 350 نانومتر را جذب کنند. هر چند که بازه جذب باید تا 400 نانومتر گسترش یابد و آن به این دلیل است که در حضور پیگمنت‌ها و رنگ‌ها محافظت از به دام اندازنده‌ها باید انجام شود. تاثیر گذاری جاذب‌های UV در پوشش‌ها به وسیله فاکتورها و ویژگی‌های جذب و مقاومتشان در برابر نور و هم چنین قابلیت آن‌ها در پراکنده سازی انرژی جذب شده به صورت کم ضررتر به وسیله غلظت جاذب موجود در پوشش‌ها، ضخامت لایه، برهم کنش‌های

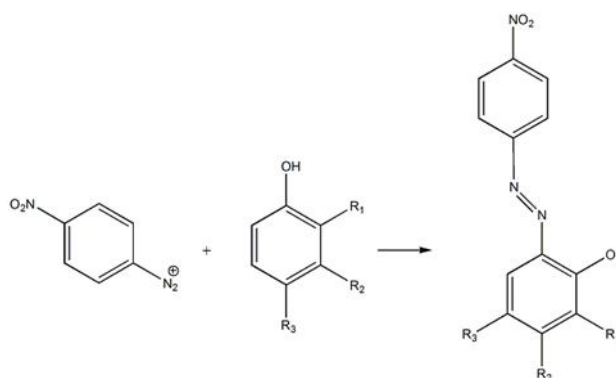
فرم‌های تاتومری و عملکرد انتقال پروتون است که به فنل‌ها قابلیت جذب UV را می‌بخشد. با در نظر گرفتن قابلیت فنل‌ها در جذب UV، برخی از مشتقات فنل‌ها طبق تصاویری که در ادامه می‌آید سنتز شدند.

بتاکارتین از لحاظ صنعتی به عنوان مکمل مواد غذایی، رنگ خوراکی و افزودنی طبیعی مجاز کاربرد دارد، (9). اخیراً به دلیل تاثیرات مثبت کاروتنوئیدهای خوراکی بر سلامتی انسان مانند کاهش خطر ابتلا به

مواد و روش ها

نمک های دی آزونیم با اضافه کردن HCl/NaNO_2 به پارا نیتروآنیلین به دست می آیند. نمک ها با فنل ها پیوند برقرار کرده و ترکیبات آزو را به دست می دهند (تصویر شماره 2) (16)

پوست erythema یا آفتاب سوختگی نام گذاری می شود. به همین ترتیب جذب مقدار بیشتر UV منجر به تشکیل زخم هایی می شود که این عمل ممکن است به سرطان پوست ختم شود. (15)



تصویر شماره 2. تهیه فنل ها به عنوان UVA

جدول شماره 1. استخلاف های متصل شده به فنل ها

5	a	b	c	d	e	f
R ₁		H	NO	H	H	H
R ₂	phenyl			H	NO ₂	OH
R ₃	H	phenyl	phenyl	NO ₂	H	H

می آیند. (جدول شماره 2) می توان این نتیجه را برداشت کرد که با افزایش مزدوج شدگی در این فنل ها قدرت جذب نیز به مراتب افزایش می یابد. با توجه به ضریب توزیع مولی (ϵ) به عنوان فاکتور مؤثر دیگر در UVA ها، تمام این فنل ها به دلیل داشتن $\epsilon > 10000$ در ناحیه UV دارای شرایط مطلوب بودند.

طیف UV فنل ها از محلول های 2×10^{-5} مولار به دست آمده و ϵ ترکیبات به وسیله معادله بیر-لامبرت ($A = \epsilon bc$) محاسبه شده است. $\lambda_{\max}$ و ϵ در جدول شماره 2 به صورت خلاصه قابل مشاهده می باشند. $\lambda_{\max}$ این فنل ها در بازه 241-308 nm بوده و $\epsilon > 10000$ را دارا هستند. بنا بر این این ترکیبات برای استفاده در جذب UV ترکیبات معقولی به شمار

جدول شماره 2. داده های طیف UV برای فنل ها

Molecules	ϵ	$\lambda_{\max}$
a	15000	243
b	25000	241
c	6500	308
d	17500	302
e	3500	243
f	16500	243



یافته های پژوهشی

استخراج کاروتن از هویج به وسیله اتانل و 2-پروپانل در دمای 60°C در 2-4 ساعت انجام گردید. (17)

0.01 gr (A) بتاکاروتن در 100 cc آب حل شد. 10 cc از این محلول به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت.

0.01 gr (B) بتاکاروتن و 0.0001 gr جاذب UV (4 ترکیب فنلی به ترتیب استفاده شدند) در آب حل شدند. 10 cc از این محلول ها به عنوان نمونه استفاده شد.

سپس، شاهد و نمونه ها به وسیله طیف سنجی UV مورد مطالعه قرار گرفته و پس از آن این محلول ها در نور آفتاب به مدت 30 روز قرار گرفتند. بعد از گذر مدت گزارش شده، محلول ها دوباره به وسیله طیف سنجی UV مطالعه شدند.

در جدول شماره 3 و 4 و در تصویر 3 نتایج نهایی قابل مشاهده هستند. A جذب بیشینه قبل از استقرار نمونه ها به مدت 30 روز در نور آفتاب و A' جذب بیشینه پس از سکون در نور آفتاب را نشان می دهد. نسبت A به A' نیز محاسبه شده و در ستون R قابل مشاهده است.

جدول شماره 3. داده های UVA و A' بتاکاروتن؛ و بتاکاروتن در حضور جاذب های فرابنفش، قبل و پس از 30 روز قرار گرفتن در معرض نور آفتاب

Sample	A	A'	R
β -carotene	1.0	0.4	2.5
a	0.18	0.16	1.12
b	0.21	0.20	1.05
c	0.38	0.2	1.9
d	0.3	0.2	1.5



تصویر 3: بتاکاروتن؛ و بتاکاروتن در حضور جاذب های UV قبل و پس از 30 روز قرار گرفتن در معرض نور آفتاب (1=a, 2=b, 3=c, 4=d)

جدول شماره 4. داده های λ_{max} و جذب بتاکاروتن؛ و بتاکاروتن در حضور جاذب های UV قبل و پس از 30 روز قرار گرفتن در معرض نور آفتاب (1=a,2=b,3=c,4=d)

اولیه	λ_{max} (nm)	abs
β -carotene	475	0.40
a	262	0.14
b	263	0.08
c	275	0.09
d	237	0.22

ثانویه	λ_{max} (nm)	abs
β -carotene	473	0.90
a	262	0.18
b	263	0.09
c	273	0.31
d	237	0.26

افزودن محلول MTT به مخلوط حاوی سلول های سرطانی و داروی ضد سرطان، سلول های سرطانی زنده مانده با انجام فعالیت های متابولیکی میتوکندریایی قادر به شکستن نمک تترازولیوم (MTT زرد رنگ) و کاهش آن به شکل فرمازان (ارغوانی رنگ) می باشند. (21-18)

سلول های مورد آزمایش در انکوباتور با دمای 37 درجه سانتی گراد حاوی 5 درصد گاز CO₂ برای 24 ساعت کشت داده شدند.

از مقایسه نتایج حاصل از آزمون MTT بر سلول های سرطانی که در مجاورت بتاکاروتن و بتاکاروتن همراه با افزودنی قرار گرفته بودند، مشخص گردید که سلول های سرطانی توان زیستی خود را از دست داده اند و تفاوت معنی داری بین اثر بتاکاروتن بدون افزودنی و همراه با افزودنی در سرکوبی رشد سلول های سرطانی دیده شد است. (جدول شماره 5)

بررسی ها نشان داد که حضور فنول های به کار رفته در این پروژه بر پایداری بتاکاروتن در حضور اشعه فرابنفش افزوده است. سپس در این تحقیق تجربی برای بررسی اثر ضدسرطانی بتا کارتن در حضور جاذب های UV بر رده سلول سرطانی انسانی از روش (MTT) استفاده شد.

آزمایش MTT برای اولین بار توسط Mosmann ابداع شد. مطالعات نشان داده است که این آزمایش می تواند به عنوان معرفی برای تکثیر سلولی (Proliferation) در پاسخ به عوامل مختلف از قبیل هورمون رشد، داروهای ضد سرطان و نظایر آن مورد استفاده قرار گیرد. در طی این آزمایش نمک زرد رنگ و محلول در آب تترازولیوم-2,5-(4,5-dimethylthiazolyl)-3 diphenyltetrazolium bromide:MTT در اثر احیاء سلولی به فرمازان (Formazan) بنفش رنگ نامحلول در آب تبدیل می شود. به عنوان مثال، با

توان زیستی (viability)=تعداد سلول های زنده تقسیم بر کل سلول های کشت داده شده ضرب در 100



جدول شماره 5: نتایج توان زیستی سلول های سرطانی پس از تیمار با بتاکارتن در حضور فنول ها

ترکیب	viability%
β -carotene +4a	51%
β -carotene +4b	43%
β -carotene +4c	43%
β -carotene +4d	55%
کنترل	100%
β -carotene	78%

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر، روشی جدید و مناسب را در ساخت ماده ضد سرطان توام با جذب UV ارائه دادیم. قابلیت جذب فرابنفش در تمام نمونه ها افزایش یافت؛ بنا بر این این مواد گزینه های بسیار مناسبی برای کاربرد در داروهای ضد سرطانی به شمار می روند. بررسی آزمون MTT نیز نشان داد که ما برای اولین بار توانستیم خاصیت ضد سرطانی

بتاکارتن را با کمک افزودنی ها به میزان قابل توجهی بهبود ببخشیم.

سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت مالی انجمن پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی برای انجام این پژوهش نهایت سپاس و تشکر را داریم. مقاله حاضر بر گرفته از پایان نامه مقطع دکتری می باشد.

References

- 1-Bayramoglu G, Senkal BF, Yilmaz M, Arica MY. Immobilization and stabilization of papain on poly(hydroxyethyl methacrylate-ethylenglycol dimethacrylate) beads grafted with epoxy functional polymer chains via surface-initiated-atom transfer radical polymerization (SI-ATRP). *Bioresour Technol* 2011;102:9833-7.
- 2-Rivaton A, Sallet D, Lemaire J. The photo-chemistry of bisphenol-A polycarbonate reconsidered: Part 2-FTIR analysis of the solid-state photo-chemistry in 'dry' conditions. *Polym Degrad Stab* 1983;3: 463-81.
- 3-Lemaire J, Gardette JL, Rivaton A, Roger A. Dual photochemistries in aliphatic polyamides, bisphenol A polycarbonate and aromatic polyurethanes-a short review. *Polym Degrad Stab* 1986;15:1-13.
- 4-Torikai A, Mitsuoka T, Fueki K. Wavelength sensitivity of the photoinduced Reaction in polycarbonate. *J Polym Sci* 1993;31:2785-8.
- 5-Factor A, Chu ML. The role of oxygen in the photoageing of bisphenol-a polycarbonate. *Polym Degrad Stab* 1980;2:203-23.
- 6-Factor A, Ligon WV, May RR. The role of oxygen in the photoaging of bisphenol a polycarbonate. 2. GC/GC/high-resolution MS analysis of Florida-weathered Polycarbonate. *Macromolecules*. 1987;20:2461-8.
- 7-Factor A. Handbook of polycarbonate science and technology. New York:Marcel Dekker Inc. 2000.P.267-92.
- 8-Kandilioti G, Elenis A, Macchiarola KA, Gregoriou VG. Photooxidative degradation and conformational changes in syndiotactic polypropylene/clay nanocomposites. *Appl Spectrosc* 2006;60:1285-92.
- 9-Jeliazkova B, Dimitrova A, Doicheva M. Charge-transfer photolysis of copper(II) dithiocarbamate mixed-ligand complexes in toluene/alcohol solutions. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2004;60: 1291-7.
- 10-Gijsman P, Sampers J. Oxygen uptake measurements to identify the cause of unexpected differences between accelerated and outdoor weathering. *Angewandte Makromolekulare Chemie* 1998;261:77-82.
- 11-Chien JCW. On the possible initiation of photooxidation by charge-transfer excitation. *J Chem Phys* 1965;69:4317-25.
- 12-Rabek J, Sanetra J, Ranby B. Charge-transfer complexes between molecular oxy-

- gen and polystyrenes. *Macromolecules* 1986;19:1674-9.
- 13-Roy P, Surekha P, Rajagopal C, Chatterjee S, Choudhary V. Studies on the photo-oxidative degradation of LDPE films in the presence of oxidised polyethylene. *Polym Degrad Stab* 2007;92:1151-60.
- 14-Rufus I, Shah H, Hoyle C. Identification of fluorescent products produced by the thermal treatment of bisphenol-A-based polycarbonate. *J Appl Polym Sci* 1994;51: 1549-58.
- 15-Rivaton A. Recent advances in bisphenol A polycarbonate photodegradation. *Polym Degrad Stab* 1995;49:163-79.
- 16-Andrady AL, Searle ND, Crewdson LFE. Wavelength sensitivity of unstabilized and UV stabilized polycarbonate to solar simulated radiation. *Polym Degrad Stab* 1992;35:235-47.
- 17-Garton A, Carlsson D, Wiles D. Polymer oxidation and secondary cage combination of peroxy radicals. *Makromolekulare Chemie* 1980;181:1841-6.
- 18-Gijzeman O, Kaufman F, Porter G. Quenching of aromatic triplet states in solution by nitric oxide and other free radicals. *J Chem Soci* 1973;69:708-20.
- 19-Pankasem S, Kuczynski J, Thomas J. Photochemistry and photodegradation of polycarbonate. *Macromolecules* 1994;27: 3773-81.
- 20-Rupp J, Bohringer A, Yonenaga A, Hilden J. Textiles for protection against harmful ultraviolet radiation. *Int Textile Bulletin* 2001;6:8-20.
- 21-Fieser H, Blangey L. Fundamental processes of dye chemistry. Interscience publishers: New York, 1931. PP.126-8.





Application of Phenols in Improvement of β -carotene as Anti-Cancer Agent Assisted by its UV Absorbing Quality

Entezari M¹, Hekmati M¹, Heidari Keshel S^{*2}, Azin A³, Hekmat Sh⁴, Barekat A⁵, Shiri Heris R⁶

(Received: 9 Nov. 2012

Accepted: 12 Feb. 2013)

Abstract

Introduction: The lifespan of organic coatings is reduced in outdoor applications by attacks of solar radiation, oxygen and atmospheric pollutants. Degradation of coating and recoating introduce pollutants into the environment. For solvent based coatings like alkyd paints, volatile organic compounds (VOC) are the main source of pollution. Undesirable mechanical, physical and chemical consequences of the resulting degradation can be substantially restricted by properly selected photo stabilizers.

Materials & Methods: Carotene than carrots extracted by ethanol and 2 - propanol at a temperature of 60 ° C in 4-2 hours. In this regard, samples and control were analyzed by UV spectroscopy and results were compared with samples after past 30 days exposure on the UV sunlight.

Findings: Beta carotene acts like a substance against UV light and can increase the resistance of the material to be used as anticancer drug; however it's not able to do the task by itself. In a view, beta carotene is counted as a powerful anti-oxidant material. If such material is increased in UVAs, the UV absorbing quality will be increased. Such work is considered a big advantage in anti-cancer drugs. Tautomerization and conjugation in phenols makes them to be considered as important UV absorbers and effective class of UV-absorbers.

Discussion & Conclusion: In this paper we have investigated the effect of phenolic UVAs on increasing UV absorbing quality in beta carotene, viable cancer cell numbers or MTT test was also performed.

Keywords: phenol, MTT, UV Absorbing, β -carotene, anti-cancer

1. Dept of Chemistry, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Student Research committee, Proteomics Research Center, Faculty of Paramedical sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran Iran

3. Islamic Azad University, Mahshahr Branch, Mahshahr, Iran

4. Dept of Chemistry, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

5. Dept of Chemistry, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Mahshahr Branch, Mahshahr, Iran

6. Dept of Hematology, Faculty of Paramedicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

*(correspondence author)