طراحی، سنتز و برهمکنش DNA با ایزوپروپیل گلایسین از کمپلکس پالادیوم فندایون

حسین فرهنگیان[۱و۲]، علی نعمتی خراط*[۲]

۱.پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران

۲.دانشکده شیمی دانشگاه تهران

E-mail: Farhangian@ccerci.ac.ir

E-mail: anemati@ut.ac.ir

چکیده

این تحقیق در جهت طراحی و سنتز مشتق جدیدی از داروهای ضد سرطان با سمیت و عوارض جانبی کمتر نسبت به داروهای کلینیکی شناخته شده در درمان سرطان می‌باشد. از اینرو، برهمکنش DNA با کمپلکس ضد سرطان جدید پالادیوم(II) با فرمول $[Pd(phd)(isopropylglycine)]NO_3$ که در آن phd، ۱ و۱۰-فنانترولین-۵و۶-دی ان می‌باشد، در محیط تریس بافر با pH=7.4 در دو دمای 27°C و 37°C مورد بررسی قرار گرفت. این اسید آمینه قادر است DNA را در غلظت میلی مولار دناتور کند و این توانایی با افزایش دما، بیشتر می‌شود. همچنین با تعیین پارامترهای ترمودینامیکی این برهمکنش، مکانیسم احتمالی و نحوه تغییر کانفورماسیون DNA پیش بینی شد.

واژه‌های کلیدی: کمپلکس پالادیوم(II) ، DNA، فندایون، ایزوپروپیل گلایسین، ضد سرطان

۱- مقدمه

علم داروشناسی جدید در زمینه درمان سرطان بر میزان فهم عملکرد داروهایی که با پروتئین یا DNA پیوند می‌شوند، استوار بوده و فعالیت این داروها را در ابعاد ژنی نیز بررسی می‌کند. تعدادی از داروهای ضدسرطان، از طریق برهم کنش های مستقیم با DNA از گسترش سرطان جلوگیری می-کنند. بنابراین، تحقیقات وسیعی در زمینه بر هم کنش دارو و DNA انجام شده است[1,2].

در حال حاضر سیس پلاتین و کربو پلاتین متعلق به گروه داروهای ضد سرطان خانواده پلاتین هستند. آنها با DNA سلول واکنش داده و در تعمیر آن تداخل ایجاد می‌کنند. این داروها به موازات خواص ضد سرطانی دارای عوارض جانبی مثل نوتروپنی، ترومبوسیتوپنی، کم خونی، تهوع، استفراغ، اسیب شنوایی، اسیب کلیه، خستگی و ریزش مو می-باشند[3,4].

همین امر سبب گسترش زمینه تحقیقات در خصوص سنتز کمپلکس های جدید با سمیت و عوارض جانبی کمتر گردیده است. برای مثال تعدادی از کمپلکس‌های پلاتین و پالادیم همراه با آمینو اسیدها سنتز شده و به عنوان عامل ضد سرطان شناسایی شده است[5].

با کشف فعالیت ضد سرطانی سیس پلاتین و عدم فعالیت ترانس پلاتین و نیز عوارض جانبی نامطلوب در اثر استفاده از سیس پلاتین، تلاش های بعدی برای محقیقن برروی توسعه کمپلکس‌های ضد تومور متمرکز و هدف این بود که این کمپلکس‌ها بتوانند بر روی انواع سلول‌های سرطانی نیز اثر داشته و عوارض جانبی سیس پلاتین را به حداقل برسانند.

۱-۱- پالادیوم در جایگاه پلاتین

به طور کلی هرچند کمپلکس های پلاتین (II) از لحاظ سینتیکی و ترمودینامیکی پایدارتر از پالادیوم (II) هستند اما پالادیوم 10^5 بار در واکنش‌های جایگزینی لیگاند سریع تر از کمپلکس های پلاتین عمل می‌کند و این مساله سنتز کمپلکس های بهینه شده را با پالادیوم مقدور می‌سازد در صورتی که ممکن است با پلاتین واکنش انجام نشود. اما از طرفی این مساله علت فعالیت کمتر ضدتوموری و سمیت بالای این ترکیبات در مقایسه با کمپلکس های پلاتینی مشابه آنها است. به همین دلیل به طور کلی استفاده از پالادیوم (II) و کمپلکس های آن در داروسازی محدود شده است و تنها کاربرد آن ایزوتوپ ^{103}Pd بود که برای جلوگیری از رشد سریع سرطان پروستات پیشرفته استفاده می‌شد. اما پالادیوم (II) به دلیل نرم بودن با لیگاندهای غیر فعال و نرم S و N ترکیبات مفیدتری از فلزات دیگر می‌ساخت، آنها فعالیت مناسب برای پیوند با DNA دارند و از لحاظ سینتیکی بسیار غیر فعال می‌شوند در صورتیکه فلزاتی از قبیل Ni(II)، Zn(II) ، Cu(II) و ..... پایداری ترمودینامیکی کافی ندارند [3,4]. به این ترتیب، پالادیوم (II) به عنوان یکی از فلزات جایگزین برای داروهای ضد سرطان پلاتین مورد بررسی و تحقیق قرار گرفت.

۱-۲- کمپلکس های پالادیوم با لیگاندهای دارای حلقه آروماتیک

اگرچه ترکیب‌های آلی فلزی برای سیستم‌های زیستی به عنوان عوامل سمی شناخته می‌شوند، با این حال داروهای با بنیان فلزات واسطه روز به روز از اهمیت بیشتری در درمان برخوردار می‌شوند. افزودن یون‌های فلزی درون درشت مولکول‌های زیستی، از قبیل پروتئین‌ها و نوکلئیک‌اسیدها، خود زمینه گسترده‌ای در تحقیقات به شمار می‌رود. استفاده از ترکیب‌های آلی فلزات واسطه در داروسازی بسیار وسیع می‌باشد. در سال‌های اخیر از تعداد زیادی دارو به خاطر فعالیت‌های درمانی آن‌ها در گستره عظیمی از بیماری‌ها رونمایی شده است، اما فقط تعداد انگشت شماری از آن‌ها وارد چرخه پزشکی شده‌اند. در طول فرایند استفاده آزمایشی مشخص شده است که تغییرات کوچک ساختاری به نحو قابل توجهی قدرت تغییر در خواص دارویی بسیاری از داروها را

دارد. پر واضح است که لیگاندهای آلی فلزی فرصت‌هایی را ارائه می‌دهند که با داروهای معدنی سنتی قابل دسترس نمی‌باشد[6].

تحقیقات نشان می‌دهد اگر گروه NH_3 در سیس پلاتین و ترکیبات مشابه ان با آمین های نوع اول (خصوصا حلقوی وآروماتیک) جایگزین شود، منتهی به تهیه داروهای ضد سرطانی با عوارض جانبی کمتر می شود [6,7]. به این ترتیب کمپلکس های فلزی با لیگاندهای آروماتیک چنددندانه با کئوردیناسیون مسطح مربعی N_4 یا N_2O_2 ، بیشتر برای برهمکنش با DNA مطالعه می شود [8-10]. از انواع این ترکیبات کمپلکس های حاوی لیگاندهای دودندانه نیتروژن از جمله ۱و۱۰ فنانترولین به عنوان برش دهنده (cleavage) رشته های DNA و غیر رادیواکتیو است [11]. همچنین کمپلکسهای پالادیوم با لیگاندهای دارای اتم N از جمله پیریدن، کوئینولین و پیرازول نیز سنتز و مشخص شده است که دارای خصلت انتی توموری هستند [12-14]. این ترکیبات علاوه بر کاربرد در طراحی حسگرهای شیمیایی دارای فعالیت بیولوژیکی از قبیل بازدارنده ویروس HIV-1 [15,16] ضد باکتری [17]، ضد مالاریا [18] و ضد توموری بوده[19,20] و به همین دلیل گزینه مناسبی در سنتز و برهمکنش کمپلکس های ضدتوموری می باشد.

در این راستا کمپلکس هایی با لیگاندهای آروماتیک مانند فنانترولین یا بی پیریدین و .... با خواص ضد سرطانی مورد تحقیق و بررسی قرار گرفته اند. برای عبور از غشای سلول و سازگاری بیشتر با سیستم فیزیولوژی از اسیدهای آمینه به عنوان لیگاند N و O دهنده استفاده می شود. نیتروژن و اکسیژن یا کربوکسیلات به صورت پل به یونهای فلزی متصل می شوند. در اثر کئوردینه شدن اسید های امینه به صورت کیلیت باعث غیر فعال شدن یا بلوکه شدن دو جایگاه کلر در سیس پلاتین، عوارض جانبی کاهش می یابد. در برخی از کمپلکس های پالادیوم و پلاتین با اسیدهای آمینه خصلت ضد توموری مشاهده شده است، به عنوان مثال اثر کمپلکس $[Pd(phen)(Tyr)]^+$ بر روی سلول سرطانی لنفوسیت P388 گزارش شده است [21].

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

مواد واکنش شامل ۱و۱۰- فنانترولین مونوهیدرات، پتاسم برماید، پالادیوم کلراید، نیترات نقره و DNA از سیگما الدریچ و سایر مواد و حلال‌ها از شرکت امرتات شیمی تهیه شده است.

۲-۲- سنتز مواد اولیه و کمپلکس

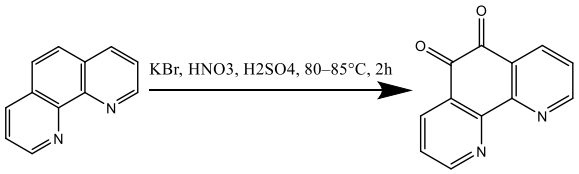
۲-۲-۱- سنتز لیگاند ایزوپروپیل گلایسین

در یک بالون دودهانه ۵۰ میلی لیتری، به محلولی از ۲۱ میلی‌مول ایزوپروپیل‌آمین در ۸ میلی‌لیتر تولوئن در حمام آب و یخ قطره‌قطره محلولی از ۱۰/۶ میلی‌مول برمواتیل‌استات در ۲ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب سرد هم‌زده شد. مخلوط حاصل به مدت ۴ ساعت رفلاکس شد. سپس تا دمای عادی به‌تدریج سرد گردید. رسوب به‌دست‌آمده‌ی ایزوپروپیل‌آمین‌هیدروبرمید را صاف و با ۱۰ میلی‌لیتر تولوئن شستشو داده شد. تمامی حلال تولوئن موجود در محلول توسط روتاری تبخیر شد. سپس به محلول غلیظ باقی‌مانده ۱۰/۶ میلی‌مول NaOH حل شده در ۱/۶ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه رفلاکس شد. پس از اینکه دمای مخلوط واکنش‌گرها به دمای محیط رسید آن را به قیف جداکننده منتقل کرده و سه مرتبه با ۱۰ میلی‌لیتر حلال دی‌اتیل‌اتر شستشو داده شد تا فاز آلی وارد واکنش نشده استخراج شود. دو فاز آبی و آلی از یکدیگر جدا شدند و با ۳ میلی‌لیتر HCl ۳ مولار تا pH = ۲ اسیدی و محلول حاصل در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد تبخیر و تغلیظ شد. محصول آمورف زرد کم‌رنگ تشکیل و صاف گردید.

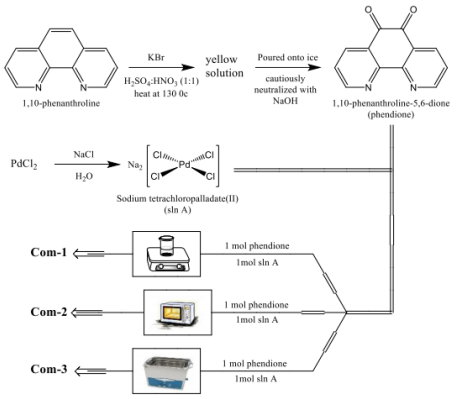
به‌وسیله‌ی تبلور مجدد در حلال آب، فرآورده‌ی خالص به‌دست آمد. بازده واکنش ۶۵٪ بود.

۲-۲-۲- سنتز لیگاند ۱و۱۰ فنانترولین-۵و۶-دی ان

به یک بالون دو دهانه ۱۰۰ میلی لیتری مخلوطی از ۴ گرم ۱و۱۰-فنانترولین مونوهیدرات و ۴ گرم پتاسیم برمید اضافه می‌کنیم سپس مخلوط سردی از ۴۰ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ و ۲۰ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ را به صورت قطره قطره به محتویات بالون اضافه می‌کنیم بالون باید در حمام یخ قرار داشته باشد دود نارنجی برم از ظرف واکنش متصاعد می‌شود. پس از اتمام افزودن مخلوط اسیدها بالون را در دمای ۹۰ تا ۱۰۰ درجه سانتیگراد و برای مدت ۳ ساعت تحت ریفلاکس قرار می‌دهیم. سپس واکنش را برای مدت ۱ ساعت دیگر بدون کندانسور ادامه می دهیم تا دیگر گاز برم خارج نشود. پس از این مرحله اجازه می‌دهیم تا مخلوط واکنش خنک شود. و محتویات بالون را به مخلوط ۴۰۰ میلی لیتر اب و یخ تقطیر شده می‌افزاییم و pH آن توسط محلول سود به ۴ تا ۵ می‌رسانیم و توسط دی کلرومتان استخراج می‌کنیم پس از تبخیر حلال فندایون با راندمان ۹۶ درصد به دست می‌اید. جهت افزایش خلوص محصول حاصل در اتانل کریستال گیری مجدد شد.



۲-۲-۳- سنتز کمپلکس دی کلرو(۱و۱۰ فنانترولین-۵و۶-دی ان) پالادیوم (II)



۲-۲-۳-۱- سنتز کمپلکس در شرایط عادی

به ۳ میلی لیتر آب دو بار تقطیر، ۱۷٫۷میلی گرم (۰٫۱میلی مول) پالادیوم (II) کلرید و ۲۹٫۳ میلی گرم (۰٫۵ میلی مول) سدیم کلرید اضافه گردید. سپس مخلوط در ۵۰ درجه سانتیگراد هم زده شد تا کاملاً شفاف شد. سپس سرد و صاف شد. محلول حاوی $Na_2[PdCl_4]$ است. به این محلول، قطره قطره محلول حاوی ۲۱ میلی گرم ۱و۱۰ فنانترولین-۵و۶-دی ان (۰٫۱ میلی‌مول) حل شده در ۲ میلی لیتر اتانول تقطیر شده در دمای اتاق افزوده و به مدت یک ساعت هم زده شد. رسوبهای زرد آجری حاصل تحت خلاء صاف و با مقدار زیادی آب دو بار تقطیر و ۵ میلی لیتر اتانول و ۵ میلی لیتر اتر شستشو داده شد و در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد خشک گردید. مقدار محصول ۳۲ میلی گرم و بازده واکنش ۹۰٪ است. دمای تجزیه این کمپلکس ۳۷۰ درجه سانتیگراد تعیین گردید.

۲-۲-۳-۲- سنتز کمپلکس تحت تابش میکروویو

به ۰٫۱ میلی مول محلول حاوی $Na_2[PdCl_4]$ و محلول حاوی ۲۱ میلی گرم ۱و۱۰ فنانترولین-۵و۶-دی ان (۰٫۱ میلی‌مول) حل شده در ۲ میلی لیتر اتانول تقطیر شده افزوده شد و محلول حاصل برای مدت ۳ دقیقه تحت تابش میکروویو قرار گرفت. رسوبهای سبز تیره حاصل سانتریفیوژ گردید و با مقدار زیادی آب دو بار تقطیر و ۵ میلی لیتر اتانول و ۵ میلی لیتر اتر شستشو داده شد و در دمای ۳۵درجه سانتیگراد خشک گردید. مقدار محصول ۳۲ میلی گرم و بازده واکنش ۹۰٪ است.

۲-۲-۳-۳- سنتز کمپلکس تحت امواج التراسونیک

۰٫۱ میلی مول محلول حاوی $Na_2[PdCl_4]$ در حمام التراسونیک در دمای ۴۰درجه سانتیگراد قرار داده شد سپس قطره قطره محلول حاوی ۲۱ میلی گرم ۱و۱۰ فنانترولین-۵و۶-دی ان (۰٫۱ میلی‌مول) حل شده در ۲ میلی لیتر اتانول تقطیر شده افزوده شد و محلول حاصل برای مدت ۲۰ دقیقه

تحت امواج التراسونیک قرار گرفت. رسوبهای سبز زیتونی حاصل سانتریفیوژ گردید و با مقدار زیادی آب دو بار تقطیر و ۵ میلی لیتر اتانول و ۵ میلی لیتر اتر شستشو داده شد و در دمای ۳۵درجه سانتیگراد خشک گردید. مقدار محصول ۳۲ میلی گرم و بازده واکنش ٪۹۰ است.

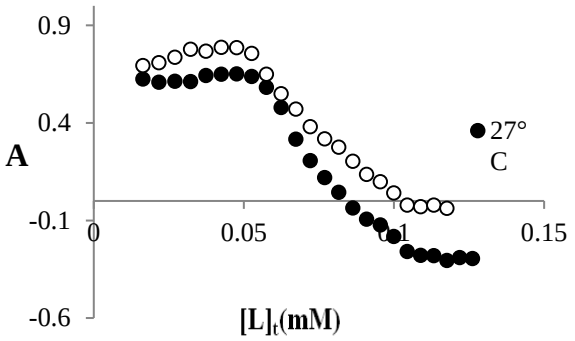
۲-۲-۴- سنتز کمپلکس ایزوپروپیل گلایسین پالادیوم فندایون نیترات

در یک بالون ۵۰ میلی لیتری مقدار یک میلی مول **ایزوپروپیل گلایسین**، یک میلی مول فندایون پالادیوم کلراید، دو میلی مول نیترات نقره و ۳۵ میلی لیتر آب مقطر می‌ریزیم و بالون را برای مدت ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد حرارت می‌دهیم. پس از این مدت رسوب AgCl را فیلتر می‌کنیم و حلال را توسط خلا حذف می‌کنیم. رسوب حاصل را توسط استون شستشو داده و در آون خشک می‌کنیم. راندمان واکنش ۷۸ درصد می‌باشد. طیف HNMR در حلال DMSO گرفته شد.

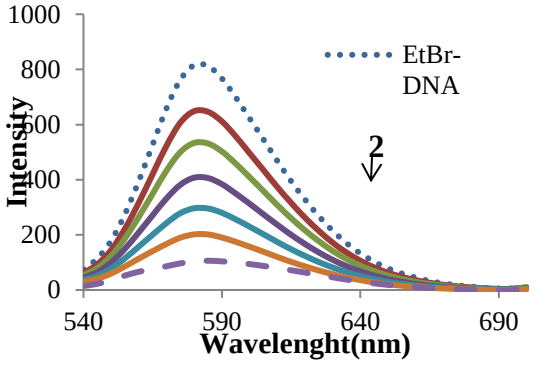
۲-۳- روش آزمایش

برهمکنش کمپلکس و DNA

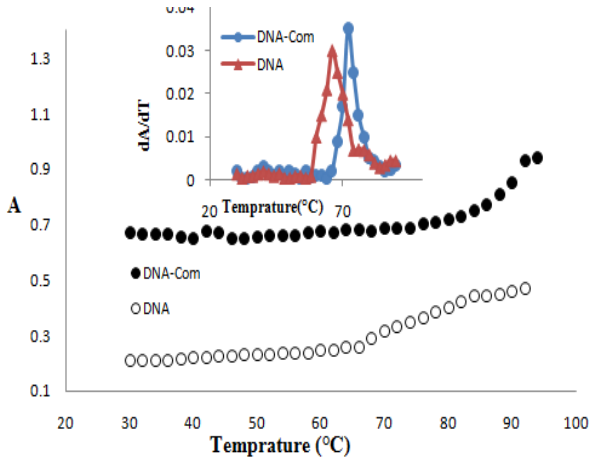
مطالعه غیر طبیعی شدن DNA با کمپلکس تهیه شده در محیط تریس بافر با pH=7.4 و 10 mM سدیم کلرید در دو دمای 27°C و 37°C با استفاده از طیف سنجی UV-visible, Fluorescence انجام و پارامترهای ترمودینامیکی این برهمکنش بررسی شد. شکل ۱ تغییرات جذب DNA در ۲۵۸ نانومتر با افزایش کمپلکس در دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتیگراد در محیط تریس بافر را نشان می دهد که در آن دناتور شدن DNA قابل مشاهده می‌باشد. همچنین شکل ۲ کاهش شدت نشر فلورسانس با افزایش کمپلکس به محلول DNA-EtBr در دمای 27°C در محیط تریس بافر با pH=7.4 را نشان می‌دهد که این امر به واسطه خروج اتیدیوم برمید و قرار گرفتن کمپلکس به جای آن می‌باشد. شکل ۳ برهمکنش بین کمپلکس و DNA در دمای انتقال را نشان می‌دهد. در صورت وجود برهم‌کنش بین کمپلکس و DNA، در دمای انتقال محلول Complex-DNA نسبت به دمای انتقال محلول DNA تنها، تغییر ایجاد می‌شود به طوریکه پایداری حرارتی آن افزایش می‌یابد، که اگر این افزایش بین ۵ تا ۱۲ درجه سانتیگراد باشد نشانه برهم‌کنش از نوع اینترکلیشن است [22]. این میزان برای این برهمکنش ۸ درجه سانتیگراد بدست آمده است که نشان از بر همکنش از نوع اینترکلیت می‌باشد.



شکل ۱- تغییرات جذب DNA با افزایش کمپلکس در دو دمای ۲۷ و ۳۷ درجه سانتی گراد و محیط تریس بافر با pH=7.4



شکل۲- طیف نشر فلوئورسانس برای برهم‌کنش EtBr-DNA در عدم حضور (نقطه چین) و حضور غلظت های متفاوت کمپلکس



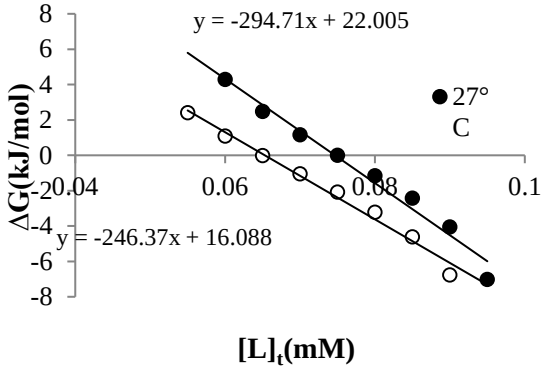
شکل ۳- منحنی ذوب DNA در غیاب و حضور کمپلکس

۳- شرح و بحث

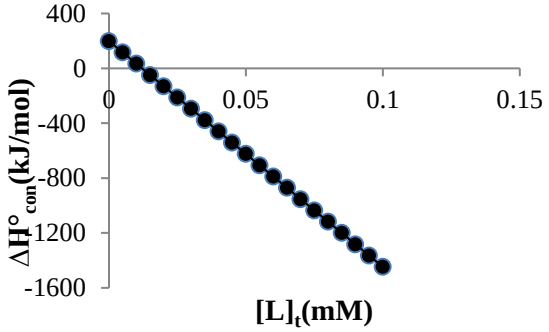
با رسم منحنی تغییرات جذب به غلظت کمپلکس، منحنی دناتور رسم گردید (شکل۱). مطالعه غیر طبیعی شدن DNA با کمپلکس تهیه شده، نشان داد که این ترکیب می‌تواند DNA را در غلظت های میکرومولار دناتور کند. مقادیر $[L]_{1/2}$ در دو دمای 27°C و37°C به ترتیب (۸۰ و ۷۰) میکرومولار است که با افزایش دما این غلظت کاهش می‌یابد.

با استفاده از منحنی فوق و روش PACE [23] میزان پایداری DNA (ΔG°_{H2O}) در دو دمای 27°C و 37°C به ترتیب (۳۳,۶ و۲۷,۳ kJ/mol) می باشد. بنابراین DNA در دمای 37°C پایداری کمتری دارد و این پایداری در حضور کمپلکس کاهش می‌یابد. شکل ۴ تغییرات انرژی آزاد گیبس برای DNA در دو دمای 27°C و 37°C را نشان می دهد.

همچنین شکل ۵ نمودار تغییرات انتالپی DNA در برابر کمپلکس را نشان می دهد.



شکل ۴- تغییرات انرژی گیبس DNA با افزایش لیگاند در دو دمای 27°C و37°C



شکل ۵- نمودار تغییرات آنتاپی DNA در برابر $[L]_t$ مربوط به برهم‌کنش DNA با کمپلکس

همچنین با بکارگیری وانت هوف می توان ΔH° conformation یا ΔH° denaturation در محدوده دمایی 27°C تا 37°C برای DNA در بر همکنش با کمپلکس را تعیین کرد ، که نتایج ترمودینامیکی غیر طبیعی شدن DNA توسط کمپلکس پالادیوم در جدول زیر نشان داده شده است.

	دما °C	غلظت در نقطه میانی انتقال (µM)	ΔG^{o} H_2O (kJ/mol)	ΔH^{o} conformation (kJ/mol)	ΔS^{o} H_2O (kJ/molK)
[Pd(phd)(isopropylglycine)]NO_3	۲۷	۸۰	۳۳,۶	۲۲۳	۰,۶
	۳۷	۷۰	۲۷,۳		۰,۶

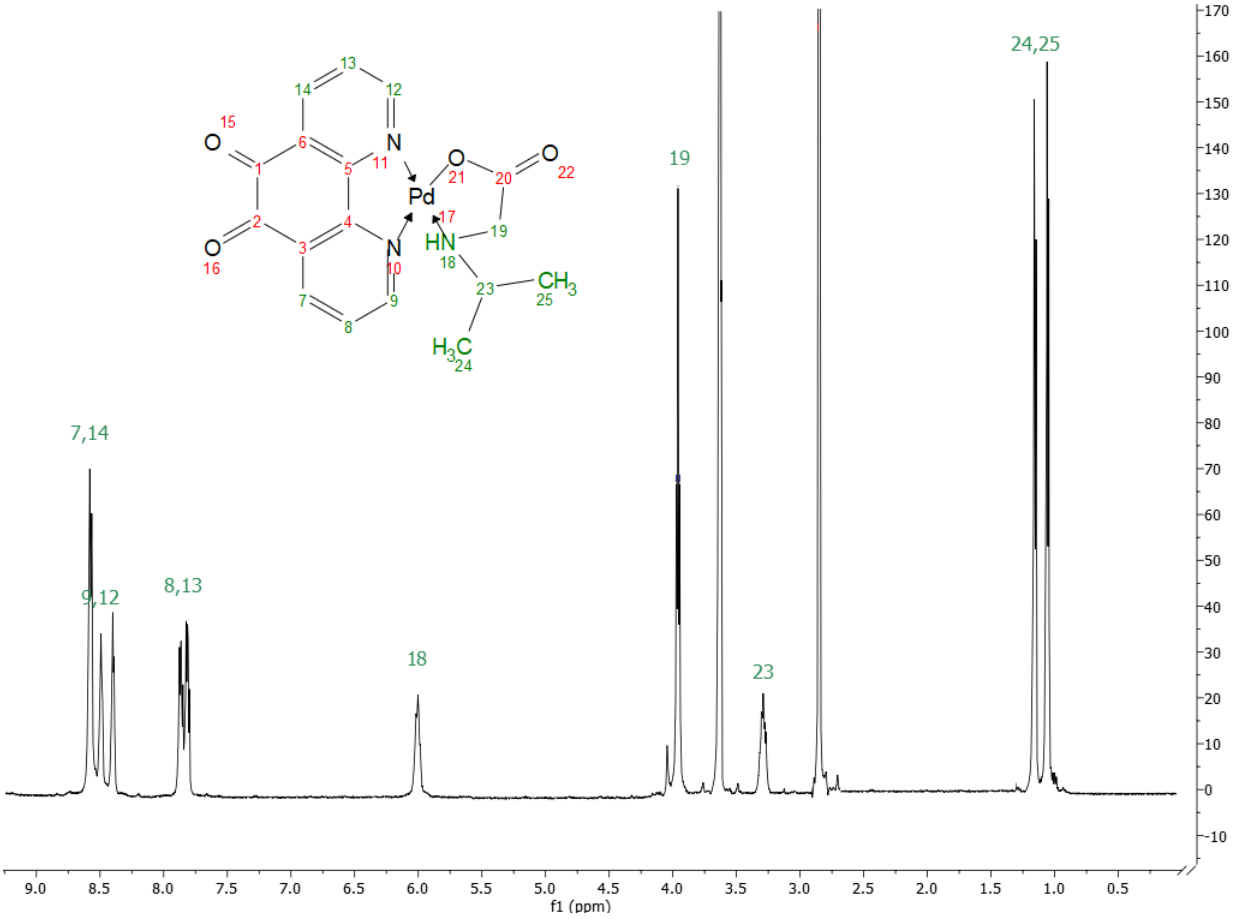
۴- نتیجه گیری

بر همکنش کمپلکس جدید پالادیوم با DNA مورد مطالعه قرار گرفت و مشاهده شد این کمپلکس می تواند DNA را در مقادیر کم غیر طبیعی کند با توجه به شکل‌های ۱ و ۲ به احتمال قوی نوع بر همکنش کمپلکس DNA از نوع اینترکلیشن می‌باشد. با توجه به شکل ۴ با افزایش غلظت کمپلکس، انرژی آزاد گیبس کاهش می‌یابد. به این دلیل که با افزایش غلظت کمپلکس، تعداد بیشتری از جایگاه‌های پیوندی DNA توسط کمپلکس اشغال شده و موجب تغییر ساختار DNA و کاهش پایداری آن می‌شود. با تعیین معادله خط، عرض از مبدأ که همان $\Delta G^{\circ}_{(H_2O)}$ است و نشان دهنده پایداری DNA در عدم حضور کمپلکس می‌باشد، بدست آمده است که بزرگ بودن این پارامتر، نشان از پایداری بیشتر DNA می باشد[24]. با توجه به نزولی بودن نمودار تغییرات انتالپی (شکل ۵) می‌توان نتیجه گرفت که این برهمکنش گرمازا است و مقادیر مثبت آنتروپی (ΔS°) به طور معمول دلیل بر، برهمکنش هیدرو فوبی می‌باشد [25].

۵- مراجع

1. M. I-Moghaddam, M. Saidifar, F. Rostami-Charati, D. Ajloo, M. Ghadamgahi, *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening, 2014, 17, 781-789*
2. M. Saidifar, H. Mansouri-Torshizi, Y. Palizdar, M. I-Moghaddam, A. Divsalar, A.A.Saboury, *Acta Chim. Slov., 2014, 61, 126*
3. J.L. van der Veer, J. Reedjik, *Chem. Brit,. 1985, 20 , 775*
4. R.F. Ozds, R.C. Young, *Semin. Oncol,. 1985, 12, 21*
5. M. I-Moghaddam, M. Saidifar, A. Divsalar, H. Mansouri-Torshizi, A.A.Saboury, H. Farhangian, M. Ghadamgahi, *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, 2016, 34, 206*
6. Szucova. L., Travnicek. Z., Zatloukal. M., Popa. I., *Bioorg. Med. Chem., 2006, 14, 479*
7. Natile, G., Coluccia, M., *Coord. Chem. Rev., 2001, 216, 383*
8. Gao, E., Wang, L., Zhu, M., Liu, L., Zhang, W., *Eur. J. Med. Chem., 2010,45, 311*
9. Erkkila, K.E., Odom, T.D., Barton, J.K., *Chem. Rev., 1999, 99, 2777*
10. Metcalfe, C., Thomas, J.A., Kinetically *Chem. Soc. Rev., 2003, 32, 215*
11. Tan, L.-F., Liu, X.-H., Chao, H., Ji, L.-N., *J. Inorg. Biochem., 2007, 101, 56*
12. Tusek-Bozic, L., Juribasic, M., Traldi, P., Scarcia, V., Furlani, A., *Polyhedron, 2008, 27, 1317*
13. Higgins III, J.D., Neely, L., Fricker, S., *J. Inorg. Biochem., 1993, 49, 156*
14. Kovala-Demertzi, D., Demertzis, M.A., Filiou, E., Pantazaki, A.A., Yadav, P.N., Miller, J.R., Zheng, Y., Kyriakidis, D.A., *Biometals,*, 2003, 16, 411
15. Zhuang, L., Wai, J.S., Embrey, M.W., Fisher, T.E., Egbertson, M.S., Payne, L.S., Guare Jr., J. P., Vacca, J.P., Hazuda, D.J., Felock, P.J., Wolfe, A.L., Stillmock, K.A., Witmer, M.V., Moyer, G., Schleif, W.A., Gabryelski, L.J., Leonard, Y.M., Lynch Jr., J.J., Michelson, S.R., Young, S.D., *J. Med. Chem., 2003, 46, 453*

U., Kraus, J.-L., *Eur. J. Med. Chem., 2009, 44, 558*

21. Jin, V.X., Ranford, J.D., *Inorg. Chim. Acta, 2000, 304, 38*
22. Grant, M.; Baron, R.; Macias, M.; Layne, M.; Perrella, M., *Biochem. J., 2009, 418, 103.*
23. Greene, R. F., & Pace, C. N. *Journal of Biological Chemistry, 1974, 249, 5388*
24. Cao, Y.; He, Xi-w., *Spectrochim. Acta. A*, 1998, 54, 883.
25. Divsalar A.; Saboury, A. A.; Mansoori-Torshizi; H.; Eslami, M. M.; Ahmad, F.; Hakimelahi, G. H., *J. Biomol. Struc., 2009, 26, 5, 587.*

16. Shaw, A.Y., Chang, Ch.-Y., Hsu, M.-Y., Lu. P.-J., Yang, Ch.-N., Chen, H.-L., Lo, Ch.-W., Shiau, Ch.-W., Chern, M.-K., *Europ. J. Med. Chem., 2010, 45, 2860*
17. Gershon, H., Parmegiani, R., *Appl. Microbiol., 1962, 10, 348*
18. Negm, N.A., Morsy, S.M.I., Said, M.M., *Bioorg.Med.Chem., 2005, 13, 5921*
19. Yamato, M., Hashigaki, K., Yasumoto, Y., Sakai, J., Tsukagoshi, S., Tashiro, T., Tsuruo, T., The synthesis and antitumor *Chem. Pharm. Bull., 1986, 34, 3496*
20. Moret, V., Laras, Y., Cresteil, T., Aubert, G., Ping, D.Q., Di, C., BarthélémyRequin, M., Béclin, C., Peyrot, V., Allegro, D., Rolland, A., De Angelis, F., Gatti, E., Pierre, P., Pasquini, L., Petrucci, E., Testa,