

عنوان الاختراع

طريقة مبتكرة لإمكانية استعمال مشتق الأزو إيميدازول (MPIAQ)

ومعقده مع ايون النيكل (II) كأدوية مضادة لسرطان الثدي

An innovative method for the use of imidazole azo derivative (MPIAQ) and its complex with Nickel ion

(II) as anti- Breast cancer drugs

م.د ندى حسن حسين / كلية المستقبل الجامعة / قسم تقنيات المختبرات الطبية

Email / nadahasan@mustaqbal-college.edu.iq

nadahassanhusein@gmail.com

Phone / 07706021562

2- الموجز

في هذا الاختراع تم دراسة فحوصات سمية مركب جديد من مركبات الأزو إמידازول المشتقة من 5,4-ثنائي (4-ميثوكسي فنيل اميدازول) وهو مركب 2- [8-أمينو كوينولين) أزو] 5,4-ثنائي (4-ميثوكسي فنيل) إמידازول (MPIAQ) ومعقده مع النيكل (II) $[Ni(MPIAQ)_2]Cl_2$. H_2O على خلايا بشرية مصابة بسرطان الثدي واخرى سليمة لغرض المقارنة.

ومن خلال النتائج المستحصلة بلغ التركيز المثبط النصفى Inhibition Concentration (Fifty) (IC_{50}) $141.0 \mu g.mL^{-1}$ في حالة تفاعل المركب (MPIAQ) مع خط الخلايا السرطانية للثدي (MCF-7) , ونلاحظ ان هذا التركيز يكون قليل بالمقارنة مع خلايا الخط الاعتيادي (WRL-68) حيث بلغ التركيز المثبط النصفى في حالة تفاعل المركب (MPIAQ) مع خط الخلايا الاعتيادي (WRL-68) يساوي $334.4 \mu g.mL^{-1}$ وهذه النتيجة تعتبر نوعاً ما جيدة أي ان المركب يقتل الخلايا السرطانية و يكون تأثيره قليلاً على الخلايا السليمة لأنها تحتاج إلى تركيز اعلى لقتل نصف الخلايا السليمة , كما ونلاحظ إن التركيز المثبط النصفى (IC_{50}) يساوي $149.1 \mu g.mL^{-1}$ في حالة تفاعل معقد النيكل $[Ni(MPIAQ)_2]Cl_2.H_2O$ مع خط الخلايا السرطانية للثدي (MCF-7), بينما بلغ التركيز المثبط النصفى للخلايا الطبيعية (WRL-68) يساوي اكثر من $5198 \mu g.mL^{-1}$, وهذه النتيجة ممتازة تعزز من إمكانية استعمال المعقد المذكور في علاج سرطان الثدي (MCF-7).

تم تحديد الجرعة المميئة لنصف عدد الحيوانات (LD_{50}) في هذا الاختراع على كل من مركب الأزو اميدازوليل (MPIAQ) ومعقده مع النيكل (II) $[Ni(MPIAQ)_2]Cl_2.H_2O$ حيث تم دراسة سمية المركبات ومعرفة نصف الجرعة القاتلة لبيان تأثير كلا المركبين على الاعضاء الداخلية للفئران.

تم دراسة التأثير الحيوي لمركب الأزو اميدازول ومعقده مع النيكل (II) وإمكانية استعمالها في الجانب الطبي كدواء حيث تضمنت الدراسة استخدام ثلاثة اصناف من البكتريا المرضية المعزولة والمشخصة مختبرياً باستخدام الاختبارات الكيموحياتية والمجهرية الموجبة لصبغة

كرام *Streptococcus* و *Staphylococcus* والسالبة لصبغة كرام *Escherichia coli* وصنف من الفطريات *Candida Albicans* وعدت هذه العزلات من المسببات لكثير من الامراض الشائعة.

شُخصت المركبات المحضرة بتقنيات عدّة منها طيف الكتلة Mass Spectrum , أطياف رنين البروتون النووي المغناطيسي $^1\text{H-NMR}$, أطياف رنين الكربون النووي المغناطيسي $^{13}\text{C-NMR}$, مطيافية الأشعة تحت الحمراء FT-IR والأشعة فوق البنفسجية- المرئية UV-Visible , التحليل الدقيق للعناصر (C.H.N.S), التحلل الحراري الوزني (TGA), مطيافية المجهر الإلكتروني الماسح (FESEM) إضافة الى حيود الأشعة السينية (XRD).

2- Abstract

The invention included a toxicity study of a new compound of Imidazole azo 2-[(8-amino quinoline) azo]-4,5-di(4-methoxy phenyl)imidazole , derived from 4,5-di(4-methoxy phenyl)imidazole and its complex with Nickel (II) $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ on human cells with breast cancer and other healthy for comparison purposes.

Through the results obtained, the Inhibition Concentration Fifty (IC₅₀) was achieved $141.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ when the (MPIAQ) compound reaction with the (MCF-7) cell carcinoma, and notice this concentration is little compared with normal line cells (WRL-68) the Inhibition Concentration Fifty was $334.4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ when the (MPIAQ) compound reaction with the normal cells WRL-68 , which is a good result, the compound kills cancer cells and has very little effect on healthy cells because they need a higher concentration to kill half of healthy cells. Also notice The inhibition concentration fifty (IC₅₀) equal $149.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ when nickel complex (II) $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ reaction with the (MCF-7) breast cell carcinoma while inhibition Concentration Fifty of normal cells was $\sim 5198 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ WRL-68. This is also an excellent result that enhances the possibility of using the complex mentioned in the treatment of (MCF-7) breast cancer.

The lethal dose of half the number of animals (LD₅₀) in this invention was determined by compound imidazole Azo (MPIAQ) and complex with nickel (II) ion $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ where the toxicity of compounds

was studied and half the lethal dose was used to demonstrate the effect of both compounds On the internal organs of the mice.

The biological effect of imidazol azo compound and its complex nickel (II) was studied and its possible use in the medical aspect as a medicine ,The study included the use of three strains of isolated and laboratory-diagnosed pathogenic bacteria using the chemical tests and the positive for the chromium dye of *Streptococcus and Staphylococcus* and negative for the chromium dye *Escherichia coli* and one type of fungi *Candida Albicans*. These isolates promised the causes of many common diseases.

The prepared compounds were identified by several techniques of which mass spectra , $^1\text{H-NMR}$ spectra , $^{13}\text{C-NMR}$ spectra , FT-IR and UV-Visible spectroscopy , elemental analysis (C.H.N.S) , thermal analysis (TGA), and the spectroscopy of the Scanning Electron Microscopy (SEM) in addition to studied X-Ray Diffraction (XRD).

3- المفصل

أ-المقدمة (Introduction):-

حظيت مشتقات الإמידازول باهتمام الكثير من العاملين في حقل الكيمياء حيث استعملت في تطوير الكثير من الأدوية المضادة للسرطان والمضادة للبكتريا والفيروسات والفطريات والادوية الخافضة للضغط⁽¹⁾ , كما استخدمت في مجال الكيمياء التحليلية⁽²⁾ للكشف عن الكثير من العناصر الانتقالية وغير الانتقالية بصفتها ليكاندات عضوية واتضح دورها الفاعل في مجالات متعددة الصناعية⁽³⁾ منها والزراعية⁽⁴⁾ فضلا عن تأثيرها الحيوي وإمكانية استخدامها بوصفها مواد علاجية⁽⁵⁾.

ويعزى سبب الانتشار الواسع والاستعمالات العديدة لمركبات الأزو اميدازول الى الارتباط التناسقي للأيونات الفلزية مع هذه المركبات وذلك لإحتواءها على النيتروجين بوصفها ذرة مغايرة في الحلقة غير المتجانسة التي تكون في الموقع اورثو نسبة الى مجموعة الأزو كما انها تحتوي مجموعة فعالة غالبا ما تكون مجموعة هيدروكسيل او امين او خلات في الموقع اورثو للحلقة المتجانسة⁽⁶⁾.

Breast cancer

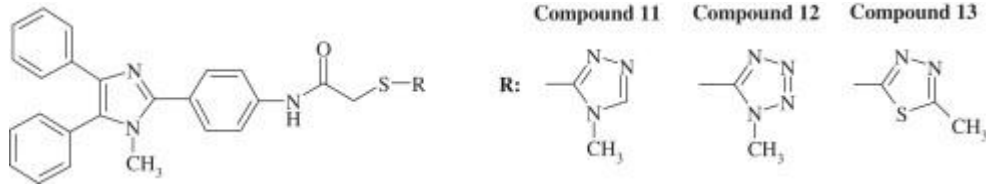
سرطان الثدي

سرطان الثدي هو أكثر أنواع السرطان شيوعاً بين النساء في الولايات المتحدة وفي جميع أنحاء العالم⁽⁷⁾ . ومن علاماته تغير في شكل الثدي وظهور كتلة في الثدي وخروج سائل من الحلمة أو ظهور بقعة حمراء ذات قشور . ومن العلامات التي تظهر في الجسم في حالة انتشار المرض هي ألم في العظام وضيق في التنفس وانتفاخ في الغدد الليمفاوية واصفرار في الجلد⁽⁸⁾ .

يشير سرطان الثدي تحديداً إلى سرطان متكون في أنسجة الثدي وغالباً من القنوات التي تحمل الحليب إلى الحلمة والفصيصات (الغدد المكونة للحليب). والشكل (1) يوضح صورة لخلايا الثدي الطبيعية واخرى لخلايا الثدي غير الطبيعية . ويعد العامل الرئيسي للإصابة بسرطان الثدي هو نوع الجنس (النساء أكثر عرضة من الرجال) والتقدم في العمر (تزيد الاحتمالية بزيادة العمر) وقلة الانجاب أو عدمه ، وقلة الرضاعة الطبيعية، وزيادة نسبة هرمونات معينة في الجسم ، وبعض الأنظمة الغذائية والسمنة، والوراثة وأظهرت الدراسات الحديثة أن التعرض للتلوث الضوئي يعدّ عاملاً من عوامل الإصابة بسرطان الثدي⁽⁹⁾ .

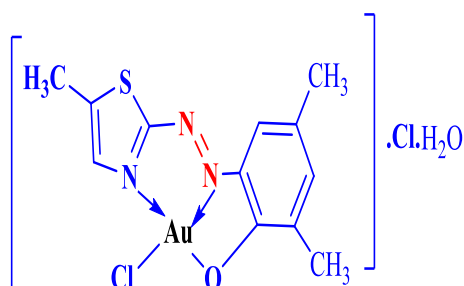
ب-الفن السابق

احتلت مشتقات الإמידازول مكانا فريدا في مجال الكيمياء الطبية فقد عُرف العديد منها باستخدامها الواسع في المجالات الطبية والعقاقيرية إذ استعمل البعض منها كمواد مسكنة (Analgesics) وكمضادات حيوية للفطريات (Anti-fungal) ومضادات للالتهابات (Anti-Inflammatory) ، ومضادات للتجلط (Anticoagulants) ومنشطات للقلب (Cardiovascular Activity) كذلك استعمل البعض من مركبات الأزو إמידازول كمضادات للسرطان (Anticancer) وذلك لتكوينها معقدات مع أيونات العناصر الانتقالية وقابلية معقداتها على الارتباط بأواصر تناسقية مع ذرات النيتروجين الموجودة في قواعد DNA لتكون حلقة كيليتية. فقد قام Yusuf وجماعته (10) بتحضير 18 مشتقا من الإמידازول والبايرازين *N*-[4-(1-methyl-4,5-diphenyl-1H-imidazole-2-yl) phenyl] acetamide وتم استخدام فحص السمية الخلوية (MTT) وتحليل تخليق الحمض النووي لتحديد نشاط هذه المركبات تجاه خطين سرطانيين هما سرطان القولون (HT-29) و سرطان الثدي (MCF-7) وقد أظهرت معظم المركبات أكبر نشاط ضد خلايا HT-29 من خلايا MCF-7. وأشار بعضهم إلى وجود سمية عالية في قتل الخلايا السرطانية, وفي ادناه الصيغة التركيبية للمركبات المحضرة :-

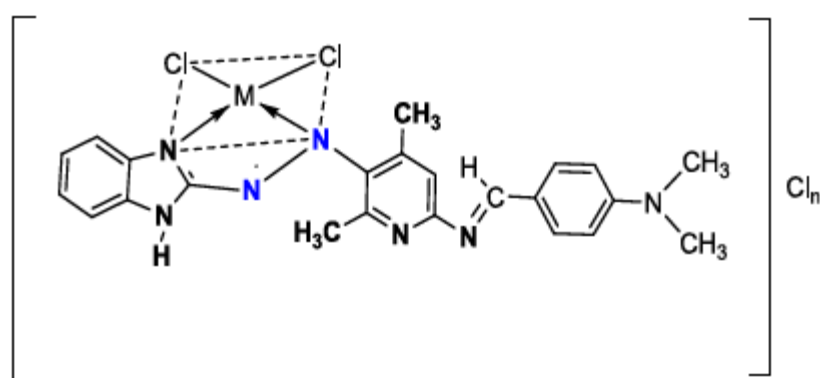


وفي دراسة أخرى للباحث حيدر (11) حضر المركب (5)-[2-(2-(MeTADMeP) 2-[2-(5)-MethylThiazolyl)Azo]-4,6-Dimethyl Phenol ودرست الفحوصات الحيوية والسمية لمعقد الذهب (III) على خلايا بشرية مصابة بسرطان المثانة (UBC40) وأخرى سليمة من أجل المقارنة حيث وجد إنَّ التركيز المثبط النصفى للخلايا السرطانية يساوي $118.2 \mu\text{g/ml}$ وبالمقارنة مع خلايا الخط الاعتيادي (WRL) وجد ان التركيز المثبط النصفى في حالة تفاعل معقد الذهب مع خط الخلايا الاعتيادي (WRL) يساوي (1426000 $\mu\text{g/ml}$) وهذه تعدّ نتيجة جيدة جداً أي أن معقد الذهب (III) يقتل الخلايا السرطانية للمثانة (UBC40) و يكون تقريباً عديم التأثير على الخلايا الاعتيادية أي ان معقد الذهب (III) المحضر قد اظهر انتقائية عالية في قتل الخلايا السرطانية وهو امن جدا مع الخلايا السليمة الاعتيادية الغير مصابة ونتيجة لذلك يعد معقد الذهب المحضر في هذه الدراسة بوصفه كعلاج

جديد لمعالجة سرطان المثانة (UBC40) بانتقائية وفعالية جده عالية. وتم الحصول على براءة الاختراع في هذا العمل والمرقمة (6375) .



وكذلك تم تحضير المركب (E)-5-((E)-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)diazenyl)-N-(4-(dimethylamino) benzylidene) 4,6-dimethylpyridin-2-amine ودرست الفحوصات الحيوية والسمية لمعقد البلاتيوم (II) على خلايا بشرية مصابة بسرطان البروستات واخرى سليمة من اجل المقارنة وقد اظهر معقد البلاتيوم (II) المحضر انتقائية عالية في قتل الخلايا السرطانية وهو امن جدا مع الخلايا السليمة الاعتيادية الغير مصابة ونتيجة لذلك يعد معقد البلاتيوم المحضر في هذه الدراسة بوصفه كعلاج جديد لمعالجة سرطان البروستات بانتقائية وفعالية جده عالية⁽¹²⁾. وتم الحصول على براءة الاختراع في هذا العمل والمرقمة (5353) .



ج- تفاصيل الفكرة

المواد والاجهزة الكيميائية المستخدمة :

أجريت التجارب وحضرت جميع المحاليل وغسلت جميع الأدوات الزجاجية باستخدام ماء مقطر لمرتين, وخال من الأيونات (DDDW) Doubly Distilled Deionized Water.

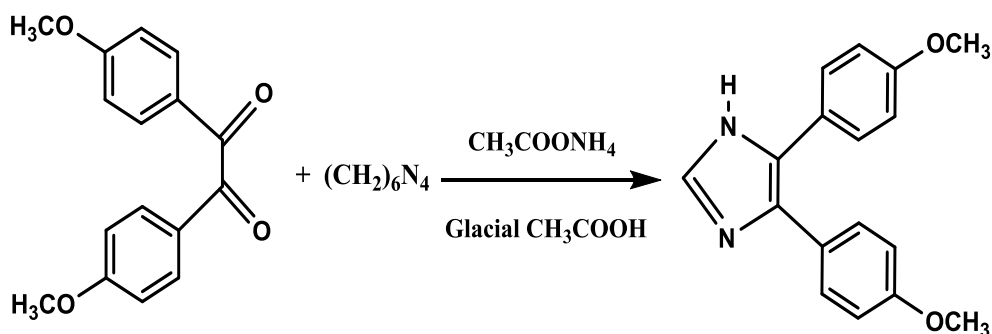
ويوضح الجدول (1) أهم المواد الكيميائية المستخدمة في البحث ودرجة نقاوتها والشركات المصنعة لها. كما يوضح الجدول (2) الاجهزة الكيميائية المستخدمة في الدراسة.

طريقة العمل

1-تحضير المادة الاولية 5,4-ثنائي (4- ميثوكسي فنييل اميدازول)

Preparation of 4,5-bis(4-methoxyphenyl)imidazol

تم تحضير المادة الاولية 5,4-ثنائي (4- ميثوكسي فنييل اميدازول) كما ورد في الادبيات⁽¹³⁾ بإضافة (40ml) من حامض الخليك الثلجي الى مزيج مكون من (2.700 g, 0.01 mole) من مشتق البنزل و (0.700 g , 0.005 mole) من الهكسامين (سداسي مثليين رباعي الأمين) مع (17.728 g, 0.23 mole) من خلاات الأمونيوم في ورق زجاجي دائري سعة (250 ml) . صُعد المزيج لمدة (90) دقيقة بعدها بُرد ناتج التفاعل وأضيف المزيج الى ورق يحوي على جريش الثلج , أعقب هذه الخطوة إضافة محلول هيدروكسيد الأمونيوم اليه قطرة فقطرة وبشكل تدريجي وصولا الى الوسط القاعدي الضعيف حيث لوحظ ظهور راسب أبيض , ترك ليركد ثم رُشح الراسب وغُسل بالماء المقطر لعدة مرات للتخلص من بقايا القاعدة والأملاح وجُفِّف الناتج وأعيد بلورته من الأيثانول للحصول على بلورات بيضاء , جففت وقيست درجة الأنصهار فكانت (182-184م⁰) فيما بلغت نسبة الناتج (85%) . وفيما يأتي مخطط سير التفاعل الكيميائي لتحضير المادة الاولية الموضح في مخطط (1) :-



1,2-bis(4-methoxyphenyl)ethane-1,2-dione

4,5-bis(4-methoxyphenyl)-1H-imidazole

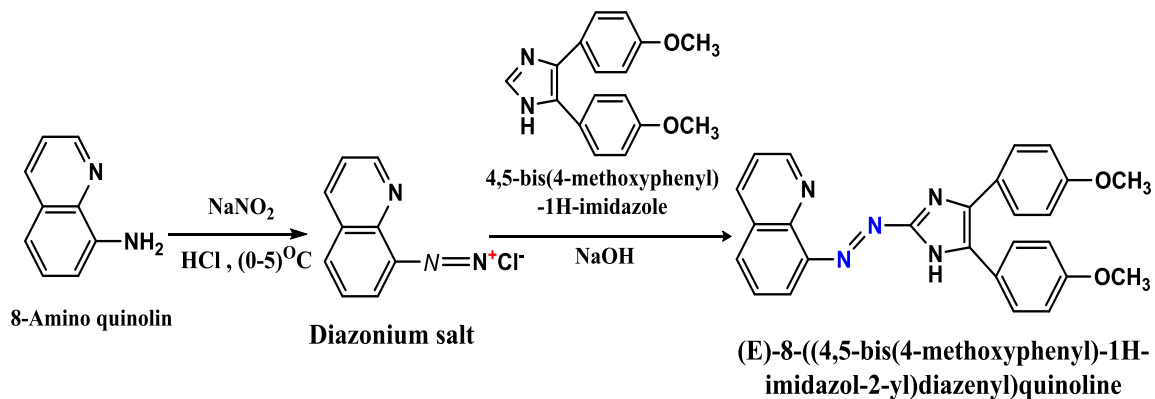
مخطط (1):- تحضير المادة الاولية 5,4-ثنائي (4-ميثوكسي فنيل) إيميدازول

2- تحضير مركب الازو اميدازول 2- [8-أمينو كوينولين) آزو] 5,4- ثنائي (4-ميثوكسي فنيل) إيميدازول (MPIAQ)

Preparation of imidazolyl azo compound E)-8-((4,5-bis(4-methoxyphenyl)-1H-imidazol-2-yl) diazenyl) quinolone (MPIAQ)

حُضِرَ المركب (MPIAQ) بالاعتماد على الطريقة المقترحة من قبل shibata وجماعته⁽¹⁴⁾ حيث أُذيب (0.01mol, 1.441 gm.) من 8-أمينو كوينولين في مزيج مكون من (4ml) من حامض الهيدروكلوريك المركز و(30ml) من الماء المقطر، بُرد المزيج إلى درجة C°(5-0) وأضيف له محلول (0.01 mole, 0.690 gm.) من نترتيت الصوديوم NaNO₂ المذاب في(10 ml) ماء مقطر قطرة قطرة مع التحريك والتبريد المستمر وملاحظة عدم ارتفاع درجة الحرارة فوق C°5، تُرك المحلول ليستقر لمدة 15 min. لإتمام عملية الأزوتة، أُضيف بعد ذلك محلول كلوريد الديازونيوم الناتج قطرة قطرة مع التبريد والتحريك المستمر إلى محلول (2.803 gm., 0.01 mole) من مشتق الإيميدازول المذاب في مزيج مكون من (75 ml) إيثانول و (20 ml) من محلول هيدروكسيد الصوديوم 10% المبرد إلى درجة C°(5-0) لوحظ تلون المحلول باللون البرتقالي ثم إلى البني الغامق ترك المحلول في حالة حركة مستمرة لمدة ساعة واحدة بعد إتمام عملية الإضافة ثم ترك المحلول إلى اليوم التالي، ثم حمض المزيج بحامض الهيدروكلوريك المخفف وعند الدالة الحامضية (pH = 6.0) فلوحظ تكون راسب بني غامق

رُشح الراسب وُغسل لمرات عدة بالماء المقطر و أعيدت بلورته باستعمال الكحول الأثيلي المطلق وُجفف الراسب في الهواء وحفظ في قنينة ،وفيما يأتي مخطط سير التفاعل الكيميائي لتحضير الليكاند (MPIAQ) الموضح في مخطط (2) :-



مخطط (2): تحضير مركب الازو اميدازول (MPIAQ)

3- تحضير معقد النيكل (II) :-

حضر معقد النيكل (II) بنسبة مولية 1:2 [M:L] وذلك من خلال إضافة 0.87098 غرام (0.002) مول من المركب المحضر المذاب في (50) مل الايثانول وبصورة تدريجية مع التحريك المستمر الى محلول ملح كلوريد النيكل (0.2371) غرام (0.001) مول والمذاب في (25) مل من المحلول المنظم وعند الدالة الحامضية الفضلى لوحظ ظهور راسب ذو لون ازرق داكن ترك المحلول لمدة 24 ساعة لإكمال الحصول على الراسب رشح الراسب وغسل عدة مرات بالماء اللأأيوني ثم بكمية قليلة من مذيب الإيثانول لازالة المواد العضوية غير المتفاعلة واعيدت البلورة بالايثانول المطلق.

النتائج والمناقشة

طيف رنين البروتون النووي المغناطيسي $^1\text{H-NMR spectroscopy}$

تم دراسة طيف رنين البروتون النووي المغناطيسي ($^1\text{H-NMR}$) لمركب الأزو اميدازول في مذيب ثنائي مثيل أوكسيد الكبريت DMSO-d_6 وباستعمال رباعي مثيل سيلان TMS بوصفه مرجعاً قياسياً إشارة منفردة عند الإزاحة الكيميائية $\delta=3.78$ ppm وقد اعزيت إلى بروتونات المثيل لمجموعتي الميثوكسي (O-CH_3) العائدتان لمشتق الإמידازول⁽¹⁵⁾, أما الإشارات المتعددة عند الإزاحة الكيميائية $\delta=6.95 - 7.86$ ppm فإنها عائدة الى مجموعة بروتونات الحلقات الأروماتية وحلقة الكوينولين⁽¹⁶⁾, في حين اظهر الطيف إشارة احادية عند الإزاحة الكيميائية $\delta=2.52$ ppm اعزيت الى بروتونات المذيب DMSO-d_6 ⁽¹⁶⁾, واخيرا فقد اظهر الطيف إشارة احادية غير حادة عند الإزاحة الكيميائية $\delta=12.84$ ppm تعود الى بروتون مجموعة الامين (N-H) لحلقة الإמידازول⁽¹⁷⁾. ويبين الشكل (2) طيف رنين البروتون النووي المغناطيسي لمركب الأزو اميدازول.

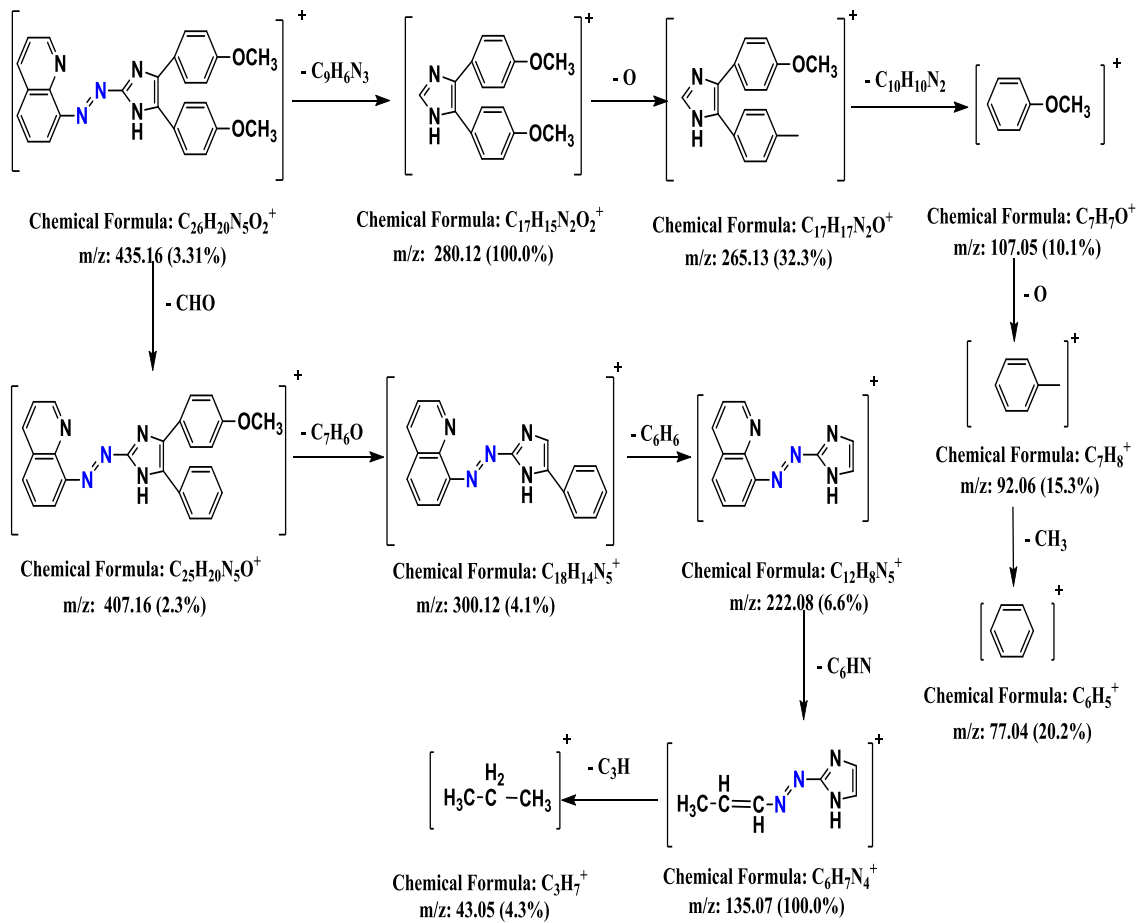
طيف رنين الكربون النووي المغناطيسي $^{13}\text{C-NMR Spectroscopy}$

سجل طيف رنين الكربون النووي المغناطيسي ($^{13}\text{C-NMR}$) لمركب الأزو اميدازول عدداً من الإشارات عند إزاحات مختلفة, فقد ظهرت إشارة منفردة عند الإزاحة الكيميائية $\delta=55.62$ ppm اعزيت إلى ذرة كربون المثيل لمجموعتي الميثوكسي (O-CH_3) العائدتان لمشتق الإמידازول⁽¹⁸⁾, أما الإشارات عند الإزاحات الكيميائية $\delta=114.54, 124.33, 129.45$ ppm فإنها تعود الى ذرات كربون (C=C) للحلقات الأروماتية وحلقة الكوينولين⁽¹⁹⁾ في حين اظهر الطيف إشارتين عند الإزاحة الكيميائية $\delta=132.52$ ppm و $\delta=134.96$ ppm اعزيتا الى كربون مجموعة (C=N) لحلقة الكوينولين و الإמידازول على التوالي, أما الإشارة عند الإزاحة الكيميائية $\delta=159.20$ ppm فقد اعزيت الى ذرة كربون (رقم 2) لحلقة الفينول والمرتبطة بمجموعة الميثوكسي (-C-OCH_3), واخيرا فقد اظهر الطيف إشارة احادية حادة عند الإزاحة الكيميائية $\delta=39.99$ ppm تعود الى كربون المذيب DMSO-d_6 ويبين الشكل (3) طيف رنين الكربون النووي المغناطيسي لمركب الأزو اميدازول.

طيف الكتلة The Mass Spectra

سجل طيف الكتلة لمركب الأزو إמידازول (MPIAQ) وقد اعطى مجموعة من الذروات ووضحت التجزؤات الكتلية المقترحة للمركب في الشكل (4) و المخطط (3), حيث أظهر الطيف ذروة رئيسية عند $m/z^+ = 435.16$ وبوفرة نسبية (3.31%) تعود الى الوزن الجزيئي للمركب

(20) بعد اكتسابه لبروتون $[C_{26}H_{20}N_5O_2]^+$, في حين ظهرت ذروة عند $m/z^+ = 407.31$ وبوفرة نسبية (2.3%) تعود إلى الايون $[C_{25}H_{21}N_5O]^+$ وهو ناتج من فقدان مجموعة الميثوكسي (O-CH₃) من جزيء الليكاند , بينما تعود الذروة عند $m/z^+ = 300.12$ وبوفرة نسبية (4.1%) إلى الايون $[C_{18}H_{14}N_5]^+$ وهو ناتج من فقدان جزيء الميثوكسي بنزين (Anisole) من الأيون الأخير, أما الذروة الظاهرة عند $m/z^+ = 280.12$ وبوفرة (100%) فإنها أعزيت إلى المركب 5,4-ثنائي(4-ميثوكسي فنييل)إميدازول في حين ظهرت ذروة عند $m/z^+ = 265.13$ وبوفرة (32.3%) تعود إلى الايون $[C_{17}H_{17}N_2O]^+$ وهو ناتج من فقدان مجموعة الميثوكسي (O-CH₃) من مشتق الإميدازول, بينما تعود الذروة عند $m/z^+ = 135.07$ وبوفرة (100%) إلى $[C_8H_{11}N_2]^+$, وظهرت ذروة عند $m/z^+ = 107.07$ وبوفرة نسبية (10.1%) تعود إلى الايون $[C_7H_7O]^+$ في حين ظهرت ذروة عند $m/z^+ = 92.06$ وبوفرة (15.3%) تعود إلى الايون $[C_7H_8]^+$ بينما تعود الذروة عند $m/z^+ = 77.04$ وبوفرة (20.2%) إلى $[C_6H_5]^+$ (22,21) والجدول (3) يوضح نواتج التجزؤ الكتلي المقترحة للمركب (MPIAQ).



مخطط(3):-- مسالك التجزؤ الكتلي المقترحة لمركب الأزو اميدازول

أطياف الأشعة تحت الحمراء Infrared Spectra

تم تشخيص المواقع للحزم في أطياف مركب الأزو إמידازول ومعهده مع النيكل (II) قيد الدراسة باستخدام طيف الأشعة تحت الحمراء من حيث مواقع حزم كل من حلقة الاميدازول ومجموعة الأزو الجسرية (-N=N-) وتمت ملاحظة التغير الحاصل لتلك الحزم في الشدة و الشكل والموقع عند حدوث التآصر للمركبات قيد الدراسة مع الايون الفلزية من اجل تكوين المعقدات الفلزية . ان التغيرات التي حصلت موضحة بالجدول (4) والشكلين (5) و(6).

التحليل الكمي الدقيق للعناصر C.H.N.S Elemental Analysis

تم تعيين النسبة المئوية للأيون الفلزي في المعقد المحضر بواسطة مطياف الامتصاص الذري اللهبى، كما اتضح من نتائج الحساسية المغناطيسية أن معقد النيكل(II) يمتلك صفات دايا مغناطيسية ، كذلك تبين من التحليل الدقيق للعناصر (C.H.N.S) التوافق الكبير بين النسب المحسوبة نظرياً و المستحصل عليها عملياً كما مبين في الجدول (5) .

قياسات التوصيلية الكهربائية المولارية

تمت دراسة التوصيلية المولارية للمعقد التناسقي و المذاب في DMSO و بتركيز 1×10^{-3} مولاري وبدرجة حرارة المختبر وقد أظهرت النتائج أن المعقد يمتلك الصفة الأيونية وهو محلول ذات طبيعة الكتروليتية كما موضح في الجدول (6).

الصيغ التركيبية المحتملة لمعقد النيكل

من النتائج التي تم التوصل اليها تم اقتراح الصيغة التركيبية للمعقد التناسقي الموضحة بالشكل (7)، والتي تبين من خلالها أن مركب الأزو اميدازول قيد الدراسة يسلك كليكاند ثلاثي السن حيث تم التناسق مع الفلز من خلال ذرة نيتروجين حلقة الاميدازول الحاوية على مزدوج الكتروني غير متآصر ونيتروجين مجموعة الأزو الجسرية البعيدة عن حلقة الاميدازول وذرة نيتروجين حلقة الكوينولين والعدد التناسقي لايون النيكل(II) هو (6) والشكل الفراغي المقترح هو ثماني السطوح⁽²³⁾ والتهجين sp^3d^2 .

الاطياف الالكترونية Electronic spectra

تم إجراء عملية المسح الطيفي لمركب الأزو إמידازول قيد الدراسة ومعهده مع النيكل(II) والمذاب في الايثانول المطلق باستعمال اطياف الاشعة فوق البنفسجية- المرئية وبتركيز⁴⁻ 1×10 مولاري من اجل معرفة الطول الموجي الاعظم (λ_{max}) لكل من المركب ومعهده وقد أظهر المعقد لون متميز وبراق و صاحب هذا التغير اللوني الحاصل إزاحة عن طيف المركب

وظهور حزم جديدة مما يدل على حصول عملية التناسق بين المركب والمعقد الفلزي⁽²⁴⁾ وكما موضحة في الشكل (8) والجدول (7) .

دراسة الثبات الحراري Study of thermal stability

تم دراسة السلوك الحراري لمركب الأزو إמידازول ومعقده مع النيكل (II) قيد الدراسة باستعمال تقنية (TGA) التحلل الحراري الوزني و(DTG) التحلل الحراري التفاضلي، ابتداء بدرجة 40 م° إلى درجة 900 م° واجريت باجواء خاملة من غاز النيتروجين و بمعدل درجة حرارة 20 م°. دقيقة^{1-(25,26)}. اما المواد المتبقية المحتملة التكوين بعد انتهاء و إتمام عملية التحليل الحراري الوزني إلى المعقد قيد الدراسة تكون عبارة عن ذرات الفلزات^(32,31,30) . والشكلين (9) و(10) والجدول(8) توضح تأثير درجة الحرارة و مراحل التفكك للمركب المحضر و معقده الفلزي قيد الدراسة.

تحاليل حيود الأشعة السينية X-Ray Diffraction analysis (XRD)

تمت دراسة التراكيب البلورية لكل من مركب الأزو اميدازول ومعقد النيكل في حالتها الصلبة باستخدام حيود الاشعة السينية ضمن المدى الزاوي (20-80) 2θ لمعرفة بعض خصائصها التركيبية مثل التركيب البلوري والحجم البلوري كما يمكن تقدير مدى نقاوتها. وقد تبين النقاوة العالية لمركب الأزو اميدازول ومعقد النيكل (II) المحضر والشكل البلوري لكلا المركبين . ان الاختلاف الواضح في بلورية مركب الأزو اميدازول ومعقده المحضر يوكد حصول عملية التناسق ما بين المركب والايون الفلزي قيد الدراسة, إذ امتاز معقد النيكل (II) المحضر بالتجانس البلوري العالي لحبيباته وذلك وفقا للشدة التي ظهرت بها قمم المعقد المشار ليه اعلاه في حيود الاشعة السينية كما موضح في الشكلين (11 و 12) وتم ادراج النتائج في الجدول (9).

تحاليل المجهر الالكتروني الماسح في المجال المنبعث (FESEM)

Field-emission Scanning Electron Microscope Analyzes

تم دراسة خصائص سطح جسيمات مركب الأزو إמידازول (MPIAQ) ومعقده الفلزي مع عنصر Ni(II) من حيث شكل الجسيمات وحجمها وتوزيعها وتجمعها باستعمال تقنية مجهر المسح الالكتروني (FESEM) بمساحة مقطع عرضي 1.44 μm وقوة تكبير Mag K X =100.00.

تبين صورة تحليل FESEM للمركب (MPIAQ) بأن له شكل صفائح غير منتظمة ومعدل حجم الجسيمات يبلغ 45.424 نانومتر. بينما معقد النيكل (II) توضح صورة تحليل FESEM أن له شكل تجمعات بلورية غير متجانسة أما معدل حجم الجسيمات فبلغ 55.49 نانومتر. من خلال صور FESEM المبينة في الشكل (13) ان مركب الأزو إמידازول (MPIAQ) ومعقده مع عنصر Ni(II) تكون ضمن المدى النانوي اي ذات حجم حبيبي اقل من 100 نانومتر. حيث تزداد المساحة السطحية الفعالة وذلك يدخل في التأثير الكمي (Quantitative effect) لتخليق مستويات جديدة للطاقة مؤدية الى حركة الالكترن بحرية أكثر.

فحوصات سمية الخلايا

تم تطبيق مركب الأزو إמידازول ومعقد النيكل $[Ni(MPIAQ)_2]Cl_2.H_2O$ في جامعة الكوفة/ كلية الصيدلة / فرع العلوم المختبرية السريرية / مركز الأبحاث السرطانية/ مختبر البحوث الجزيئية والزرع الخلوي. تم في هذه الدراسة تقدير مدى التأثير السمي باستخراج النسبة المئوية لمعدل تثبيط النمو (**Inhibition Rate**) لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 م° اذ يتم حساب سرعة التثبيط كالآتي:-

Percent Inhibition = Rate without inhibitor - rate with inhibitor / rate

without inhibitor x 100 , $[(X - Y)/X] \times 100$

استخدمت في هذه الدراسة خطوط خلايا هي خط الخلايا السرطانية لسرطان الثدي، وخط الخلايا السليمة للمقارنة \ وقد تم ادامة وتنمية خلايا الخطوط السرطانية واجراء الفحوصات عليها في نفس الجامعة اثبتت النتائج بأن مركب الأزو اميدازول ومعقده مع النيكل (II) يمتلكان تأثيراً سميّاً خلويّاً على الخلايا السرطانية اما تأثيرها على الخلايا الاعتيادية المأخوذة من الفئران فهو أمن جداً مع الخلايا غير المصابة, بحيث لا يستهدف الخلايا السليمة , تم استخدام الاختبار المسمى [اختبار صبغة3-(4,5ثنائي مثيل ثايوزول-2-يل)-2,5-ثنائي فنييل رباعي زوليوم بروميد] (MTT) لفحص حيوية الخلايا.

تأثير مركب الأزو اميدازول (MPIAQ) على نمو الخطوط الخلوية السرطانية للثدي

(MCF-7) وعلى الخلايا السليمة (WRL-68)

Effect of Imidazol Azo Compound (MPIAQ) on the growth of breast cancer cell lines (MCF-7) and Healthy cells (WRL-68)

يبين الجدول (10 و 11 و 12) تأثير مركب الأزو اميدازول (MPIAQ) على نمو خلايا الخطوط الخلوية السرطانية للثدي (MCF-7) وكذلك الخلايا السليمة (WRL-68) أذ تراوحت

التراكيز المستخدمة لتثبيط نمو الخلايا بين $6.25 - 400 \mu\text{g/ml}$ لخلايا الخطوط الخلوية السرطانية للثدي (MCF-7) وكذلك بالنسبة للخلايا السليمة (WRL-68). حيث نلاحظ من النتائج التي تم الحصول عليها ان نسب التثبيط للمركب تختلف باختلاف الخط الخلوي, إذ يتراوح عدد الخلايا الحية المتبقية بعد المفاعلة مع الليكاند المذكور بين (49.15- 96.95) لخلايا الخط الخلوي السرطاني للثدي (MCF-7) وبين % (73.42- 96.95) لخلايا الخط الخلوي السليمة (WRL-68). وكانت افضل نسبة لتثبيط نمو الخلايا للخطوط السرطانية للخلايا الحية المتبقية والخلايا السليمة بعد مفاعلة المركب (MPIAQ) عند التركيز $200 \mu\text{g/ml}$. حيث لوحظ ان أعلى نسبة تثبيط للمركب (MPIAQ) للخط الخلوي السرطاني للثدي (MCF-7) عند التركيز $200 \mu\text{g/ml}$ هي % 38.04 بينما لوحظ أن أعلى نسبة تثبيط للمركب (MPIAQ) للخط الخلوي السليمة (WRL-68) بنفس التركيز أعلاه هي % 13.97.

التركيز المثبط لنصف الخلايا (IC_{50}) لمركب الأزو اميدازول (MPIAQ)

من الأمور المهمة التي تم التوصل اليها من خلال الفحوصات التي أجريت لمركب الأزو إמידازول (MPIAQ) على كلا نوعي خلايا الخط السرطاني للثدي (MCF-7) والخلايا الاعتيادية (WRL-68) هو ما يدعى بالتركيز المثبط النصفى Inhibition Concentration Fifty الذي يرمز له (IC_{50}), إذ إن هذا التركيز يقتل نصف الخلايا تقريباً^(27,28), حيث نلاحظ إن التركيز المثبط النصفى (IC_{50}) يساوي $141.0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ في حالة تفاعل المركب (MPIAQ) مع خط الخلايا السرطانية للثدي (MCF-7), ونلاحظ ان هذا التركيز يكون قليل بالمقارنة مع خلايا الخط الاعتيادي (WRL-68) حيث بلغ التركيز المثبط النصفى في حالة تفاعل المركب (MPIAQ) مع خط الخلايا الاعتيادي (WRL-68) يساوي $\mu\text{g.mL}^{-1}$ 334.4 و كما مبين في الشكل (14) والجدول (10 و 11) وهذه النتيجة تعتبر نوعاً ما جيدة ومع ذلك لا يمكن استخدام الليكاند المشار اليه اعلاه كعلاج لسرطان الثدي (MCF-7) الا بعد إجراء بعض التحويرات لغرض تحسينه

تأثير معقد النيكل (II) $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ على نمو الخطوط الخلوية السرطانية
للثدي (MCF-7) وعلى الخلايا السليمة (WRL-68)

Effect of $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ on growth of breast cancer cell
(MCF-7) and Healthy cells (WRL-68)

تُدرس تأثير معقد النيكل (II) ذو الصيغة التركيبية $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ على نمو خلايا
الخطوط الخلوية السرطانية للثدي (MCF-7) ^(29,30) وعلى الخلايا السليمة (WRL-68) حيث
تراوحت التراكيز المستخدمة لتثبيط نمو الخلايا بين $6.25 - 400 \mu\text{g} \backslash \text{ml}$ لخلايا الخطوط
الخلوية السرطانية للثدي (MCF-7) وهكذا بالنسبة للخلايا السليمة (WRL-68) .

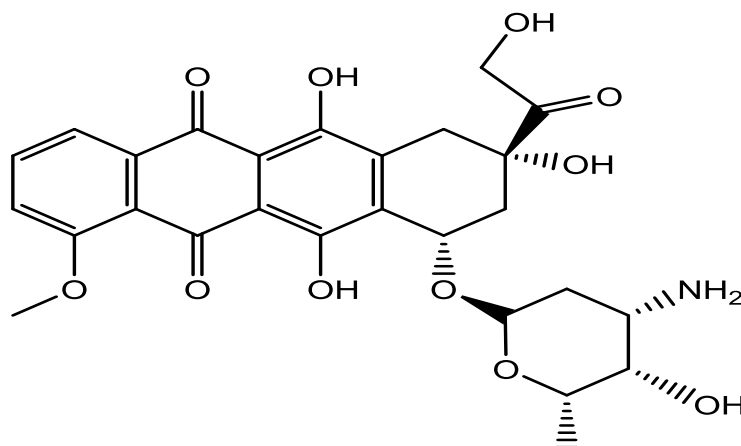
تبين من النتائج المستحصلة والتي تم ادراجها في الجدول (13 و 14 و 15) ان نسب التثبيط
لمعقد النيكل (II) $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ تختلف حسب نوع الخط الخلوي , إذ تراوحت
عدد الخلايا الحية المتبقية بعد المفاعلة مع معقد النيكل (II) بين % (30.83- 95.68) لخلايا
الخط الخلوي السرطاني للثدي (MCF-7) ، وبين % (69.17-96.95) لخلايا الخط الخلوي
السليمة (WRL-68).

كما بينت النتائج ان افضل نسبة تثبيط لمعقد النيكل (II) للخط الخلوي السرطاني للثدي (MCF-7)
(7) عند التركيز $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ بعد المعاملة مع معقد النيكل (II) هي % 53.09 بينما لوحظ
أن أفضل نسبة تثبيط للخط الخلوي للخلايا السليمة (WRL-68) بنفس التركيز أعلاه بعد
المفاعلة مع معقد النيكل (II) هي % 12.08 .

التركيز المثبط لنصف الخلايا (IC_{50}) لمعقد النيكل (II) $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

من النتائج التي تم التوصل اليها نلاحظ إنَّ التركيز المثبط النصفى (IC_{50}) يساوي
 $149.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ في حالة تفاعل معقد النيكل $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ مع خط الخلايا
السرطانية للثدي (MCF-7) ونلاحظ ان هذا التركيز يكون قليل بالمقارنة مع خلايا الخط
الاعتيادي (WRL-68) حيث بلغ التركيز المثبط النصفى في حالة تفاعل معقد النيكل
 $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ مع خط الخلايا الاعتيادي (WRL-68) يساوي اكثر
من $5198 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ~ و كما مبين في الشكل (15) والجدول (13) وهذه تعتبر نتيجة جيدة جداً
أي ان معقد النيكل $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ يقتل نصف الخلايا السرطانية للثدي (MCF-7)

7) بتركيز قليل و يحتاج تراكيز عالية ليؤثر على الخلايا الاعتيادية السليمة وهذه النتيجة مهمة جداً في استخدام معقد النيكل $[Ni(MPIAQ)_2]Cl_2 \cdot H_2O$ علاجاً لسرطان الثدي. كما تم استخدام احد انواع العلاج الكيميائي لسرطان الثدي (Doxorubicin) في موضوع دراستنا ومقارنته مع معقد النيكل (II) المستخدمة في هذه الدراسة حيث كانت الصيغة التركيبية للدواء

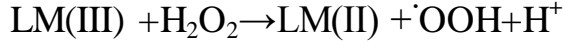


وعند مقارنة معقد النيكل مع الدواء العلاجي لسرطان الثدي (Doxorubicin) وجد أن زيادة تركيز الدواء يزيد من نسبة تثبيط نمو الخلايا للخطوط السرطانية إذ وجد أقل نسبة تثبيط لنمو الخلايا عند التركيز $6.25 \mu g \text{ \ } ml$ وأعلى نسبة للتثبيط عند التركيز $400 \mu g \text{ \ } ml$ لخلايا الخطوط الخلوية السرطانية للثدي MCF-7 كما مبين بالجدول (16) . وهذه النتيجة مشابهة للنتائج المستحصلة لمعقد النيكل من حيث أن زيادة تركيز معقد النيكل (II) يزيد من نسبة تثبيط نمو الخلايا للخطوط السرطانية وهذا يشير الى ان مقدار التثبيط يعتمد على مقدار الجرعة بالنسبة للدواء ولمعقد النيكل (II) كذلك ويطلق على هذه الظاهرة الاعتماد على الجرعة (Dose dependent)، وهذا يتفق مع ما توصل إليه العديد من الباحثين⁽³¹⁾ حيث يزداد معدل الفعالية بزيادة التركيز.

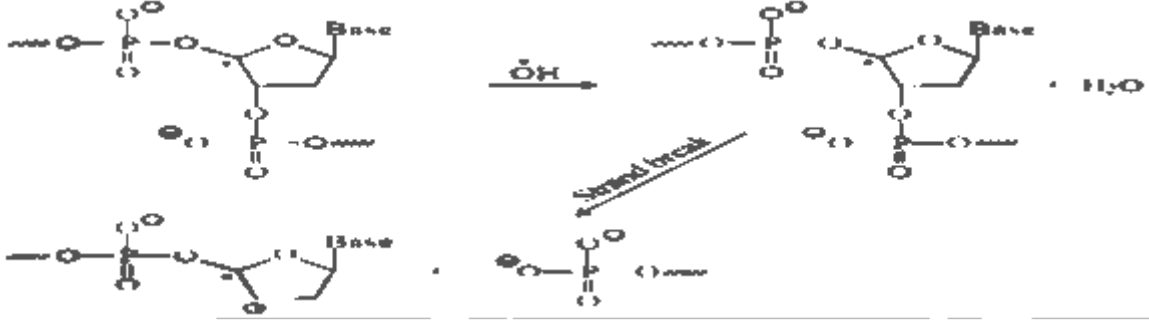
والاشكال (16) توضح خلايا سرطانية غير معاملة وخلايا معاملة بالمركب المحضر وبتراكيز مختلفة .

وفسرت الميكانيكية وفقا لما جاء في دراسة للباحثين Chow و Gaetke حيث اقترحا أن الفلز يسهل من إصابة الانسجة المؤكسدة خلال مسار وسطي للجذر الحر وهو مماثل لتفاعل فنتون⁽³²⁾ بواسطة تطبيق تقنية Electron spin resonance (اصطياد الفلز) ويحدث من خلال تكوين جذر الهيدروكسيل الوسطي في الجسم الحي الذي يتم الحصول عليه من Reactive

oxygen species التي انتجت من خلال تفاعل فنتون Fenton-type reaction كما في المعادلات الآتية :



حيث يعمل الفلز كسيف ذي حدين من خلال تلف الحامض النووي وتثبيت عملة بتفاعل جذور الهيدروكسيل مع السكريات والقواعد للحامض النووي حيث يعمل جذر $\cdot\text{OH}$ بسحب ذرة الهيدروجين من C_4 من سكر ديوكسي را ييوز للحصول على جذر السكر وبحلول هذه الآلية يحدث كسر للأواصر ويطلقها على شكل قواعد حرة، يكون الهجوم على قواعد DAN بواسطة الكترولونات المنحلة وهذا يعتبر تفاعل مماثل للتأثيرات المباشرة للإشعاع على الحامض النووي. كما موضح بالشكل (18) أدناه .



الشكل (18): ميكانيكية تفاعل فنتون

تحديد الجرعة المميتة لنصف عدد الحيوانات (LD_{50})

Determination of the lethal dose of half the number of animals

(LD_{50})

استخدمت في هذه الدراسة 90 من ذكور الفئران، بعمر ستة اسابيع وكانت اوزانها بين (20-25) غرام، ووضعت الحيوانات في اقفاص بلاستيكية ابعادها $50 \times 35 \times 15$ سم و بمعدل 10 حيوانات للقفص الواحد وعرضت الحيوانات جميعها لنفس الظروف من درجة الحرارة 20-25 م° ونظمت بوساطة مكيف الهواء، واما معدل الاضاءة فكانت 12 ساعة ضوء و12 ساعة ظلام. وبعدها تم تحديد الجرعة المميتة لنصف عدد الحيوانات باستخدام محلول معقد النيكل $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ المحضر في هذه الدراسة بتركيز مختلفة (100, 300, 500, 700, 900, 1100, 1300, 1500, 1700)، مايكرو غرام /كغم من وزن الحيوان على الفئران، إذ

تم تقسيم الحيوانات الى عشرة مجاميع وأعطيت فموياً عن طريق انبوبة معدية و من ثم تم تسجيل علامات التسمم والوفاة من الفئران خلال ثلاثة ايام لتحديد الجرعة المميتة لنصف عدد الحيوانات (LD₅₀) .

الحسابات Caluclution

تم حساب قيمة (LD₅₀) للمركب ولمعقد النيكل (II) [Ni(MPIAQ)₂]Cl₂.H₂O باستخدام المعادلة التالية⁽³³⁾

$$LD_{50} = LD_y - \frac{\sum(Dd \times Md)}{N}$$

LD_y = الجرعة العالية القاتلة لجميع الحيوانات . (LD₁₀₀ highest dose)

N = عدد الحيوانات في المجموعة .

Dd = الاختلاف في الجرعة .

Md = معدل الحيوانات الميته .

حيث أنه بلغت الجرعة القاتلة لنصف عدد الحيوانات لمعقد النيكل (II) [Ni(MPIAQ)₂]Cl₂.H₂O (1671.24) مايكرو غرام / كغم من وزن الحيوان . كما مبين في الجدول (17)

4- التطبيقات Application

1. بالإمكان تطبيق المنتج المحضر في مجال الطب لمعالجة الأورام السرطانية
2. تطبيق هذا النوع من المنتج في الجانب الصيدلي في صناعة الادوية.

5- المميزات Features

1. يتميز هذا العمل بإمكانية تحضير ادوية جديدة مضادة لسرطان الثدي.
2. اعطى معقد النيكل $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ نتائج ممتازة من فعالية مضادة للخلايا السرطانية للثدي بنسبة انتقائية عالية لمعالجة الأورام السرطانية حيث ان التركيز المطلوب لقتل نصف الخلايا السرطانية يبلغ $149.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ اما التركيز المطلوب لقتل نصف الخلايا السليمة (WRL-68) يبلغ اكثر من $5198 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ وتعد هذه كنتيجة جيدة كونه لا يؤثر على الخلايا السليمة ، حيث يضاف هذا العلاج للعلاجات الموجودة في الأسواق ويعمل كعلاج انتقائي بنسبة عالية.
3. يتميز هذا العمل بسهولة طريقة تحضير مركب الازو اميدازول ومعقده مع النيكل $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$.
4. يتميز هذا المنتج المحضر بثبات واستقرارية عالية.
5. كما يتميز المنتج المحضر في هذه الدراسة بقابلية ذوبان عالية في المذيبات المختلفة وفي الظروف الاعتيادية دون الحاجة إلى التسخين.
6. كذلك يتميز هذا العمل بنسبة انتاج عالية عند تحضيرمركب الازو اميدازول ومعقده مع النيكل $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$.
7. تم تحضير المركبات من مواد رخيصة الثمن و متوفرة في الاسواق

6- الادعاءات Allegations

1. طريقة مبتكرة لإمكانية استعمال مشتق الأزو اميدازول (MPIAQ) ومعقده مع ايون النيكل (II) كأدوية مضادة لسرطان الثدي.
2. اشارة الى عنصر الحماية الاول تم تحضير مركب الأزو اميدازول المشتق من 8-امينو كوينولين وهو مركب 2- [(8-أمينو كوينولين) آزو] 4,5- ثنائي (4-ميثوكسي فنييل) إمدازول (MPIAQ) ومعقده مع النيكل(II) $[Ni(MPIAQ)_2]Cl_2.H_2O$ حيث ان معقد النيكل المحضر امتاز بانتقائية عالية لقتل الخلايا السرطانية.
3. اشارة الى عنصر الحماية الاول تم تحضير مركب الأزو اميدازول ومعقده مع النيكل الموضح شكله الفراغي في الشكل (7) غير محضر سابقاً كدواء جديد لمعالجة مرضى سرطان الثدي.
4. إشارة إلى عنصر الحماية الاول تم استخدام مركب الأزو اميدازول ومعقده مع النيكل في تحديد التركيز المثبط لنصف الخلايا (IC_{50}).
5. إشارة على عنصر الحماية الاول تم استخدام مركب الأزو اميدازول ومعقده مع النيكل المحضر في هذا الاختراع، في تحديد الجرعة المميتة لنصف عدد الحيوانات (LD_{50}).

الجدول

جدول (1) المواد الكيميائية المستعملة ودرجة نقاوتها

No	Substances	Formula	Company	Purity
1	2-Amino benzimidazole	C ₇ H ₇ N ₃	Sigma-Aldrich	99.0%
2	8-Amino quinoline	C ₉ H ₈ N ₂	Merck	96.0%
3	Ammonium hydroxide	NH ₄ OH	B.D.H	97.0%
4	4,4-Di methoxy benzil	C ₁₇ H ₁₈ O ₄	Fluka	98.0%
5	Ethanol absolute	CH ₃ CH ₂ OH	GCC	99.5%
6	formamide	CH ₃ NO	Aldrich	99.0%
7	Hexa methylene tetra amine	C ₆ H ₁₂ N ₄	Fluka	98.0%
8	Hydrochloric acid	HCl	B.D.H	36.5%
9	Nickel (II) chloride hexa hydrate	NiCl ₂ .6H ₂ O	B.D.H	98.0%
10	Sodium hydroxide	NaOH	B.D.H	98.0%
11	Sodium nitrite	NaNO ₂	FLUKA	98.0%

جدول (2) الاجهزة المستخدمة في هذه الدراسة

	Instrument	Model and Company supplied	Work place
1	¹ H- C ¹³ NMR Spectrophotometer	Bruker,400MHz,AC-300F 300MHz	AL al-Bayt University- Gordan, Ferdowsi University of Masshad- Iran
2	Autoclave	Binder USA	Al-mustaqbal University college -Iraq
3	pH meter	HI 83141 Hanna, Romania	Al-mustaqbal University college -Iraq
4	vacuum oven	K-VO27 K&K, Korea	Al-mustaqbal University college -Iraq
5	Hot plate stirrer	LMS-1003 Labtech, Korea	University of Al-Kufa-Iraq
6	FTIR spectrophotometer	8500, Shimadzu, Japan	University of Al-Qadisiyah
7	Field-Emission Scanning electron microscope (FE-SEM)	MIRA3, TESCAN, Czech	Ferdowsi University of Masshad- Iran
8	X-Ray diffraction (XRD)	D2 Phaser Bruker AXS GmbH,Germany	University of Baghdad-Iraq
9	C.H.N.S	EA-034,mth	AL al-Bayt University- Gordan
10	Electric Balance	+ 0.0001g , L420 B,	University of Al-Kufa-Iraq

		Sartorius, Germany	
11	UV-Visible Spectrophotometer double Beam	UV-1650, Shimadzu, Japan	University of Al-Qadisiyah- Iraq
12	Mass Spectra	Mass AB sciex 3200 QTRAP	Ferdowsi University of Masshad- Iran
13	T.G.A	Perkin Elmer, USA	University of Al-Muthanna- Iraq
14	Melting point apparatus	Melting point/SMP Stuart	University of Al-Kufa-Iraq
15	Balance Magnetic Susceptibility	M.S.B Auto	AL-Nahrain University-Iraq
16	Atomic absorption spectrophotometer	AA-6300 Shimadzu, Japan	University of Baghdad-Iraq
17	Incubator	5973C Shimadzu Agilent Technologies	Al-mustaqbal University college -Iraq

جدول (3) :- نواتج التجزؤ الكتلي لمركب الازو اميدازول

Fragment	m/z ⁺ Exact mass	Relative Abundance(%)
[C ₂₆ H ₂₀ N ₅ O ₂] ⁺	435.16	3.31
[C ₂₅ H ₂₁ N ₅ O] ⁺	407.16	2.3
[C ₁₈ H ₁₄ N ₅] ⁺	300.12	4.1
[C ₁₇ H ₁₆ N ₂ O ₂] ⁺	280.12	100.0
[C ₁₇ H ₁₇ N ₂ O] ⁺	265.13	32.3
[C ₈ H ₁₁ N ₂] ⁺	135.07	100.0
[C ₇ H ₇ O] ⁺	107.05	10.1
[C ₇ H ₈] ⁺	92.06	15.3
[C ₆ H ₅] ⁺	77.04	20.2

جدول (4):- ترددات أطيف الأشعة تحت الحمراء (cm^{-1}) لمركب الازو اميدازول ومعهده مع النيكل

Ligand/complexes	ν (N-H)imid or ν (OH) water	ν (C=H) ar.	ν (C=H)a l.	ν (C=N)	ν (N=N)	ν (M-N)
(HL ₁)= (C ₂₆ H ₂₁ N ₅ O ₂)	3460.34	3071.49	2933.83	1608.69	1450.09	-----
[Ni(C ₂₆ H ₂₁ N ₅ O ₂) ₂]Cl ₂ .H ₂ O	3398.69	3059.20	2929.97	1608.69	1464.02	472.58

جدول (5):- نتائج التحليل الدقيق للعناصر (C.H.N.S) لكل من مركب الازو اميدازول ومعهده مع النيكل

المركبات	نسبة المنتوج %	الصيغة الجزيئية (الوزن الجزيئي)	العملي (النظري) %			
			C	H	N	M
(MPIAQ)	80	(C ₂₆ H ₂₁ N ₅ O ₂) (435.49)	(71.71) 72.10	(4.86) 4.98	(16.08) 16.43	--
[Ni(C ₂₆ H ₂₁ N ₅ O ₂) ₂]Cl ₂ .H ₂ O	88	C ₅₂ H ₄₄ N ₅ O ₃ Ni.Cl ₂ (1018.57)	(61.32) 61.56	(4.35) 4.68	(13.75) 14.01	(5.76) 5.54

جدول (6):- قيمة التوصيلية المولارية (Λ_m) لمحلول معقد النيكل في مذيب DMSO عند التركيز (10×10^{-3}) ودرجة حراره المختبر.

Metal ion	Molar conductivity ($\text{Scm}^2.\text{mol}^{-1}$)
Ni(II)	78.88

جدول (7) :- الانتقالات الالكترونية لمركب الازو اميدازول ومعهده مع النيكل

Ligand /complexes	λ_{max} (nm)	Absorpti on bands (cm^{-1})	Transitions	μ_{eff} (B.M)	Geometr y	Hybridiz ation
-------------------	--------------------------------	---	-------------	-----------------------------	--------------	-------------------

$(HL_1) = (C_{26}H_{21}N_5O_2)$	247	40485.83	$\pi \rightarrow \pi^*$	—	—	—
	361	27700.83	$\pi \rightarrow \pi^*$	—	—	—
	484	20661.16	$n \rightarrow \pi^*$	—	—	—
$[Ni(C_{26}H_{21}N_5O_2)_2]Cl_2 \cdot H_2O$	232	43103.45	C.T	3.65	Octahedral (Regular)	Sp^3d^2 (High spin)
	292	34246.58	C.T			
	596	16778.52	$(^3A_{2g(F)} \rightarrow ^3T_{1g(F)})(\nu_2)$			

جدول (8) :- نتائج التحلل الحراري لمركب الازو اميدازول ومعقدته مع النيكل

Compounds	Dissociation stages	TG Range (°C)	DTG peak (°C)	Estimated (calculated) %	Decomposition assignment	Residue
				Mass loss %		
Ligand=MPIAQ	Stage I	40.09-513.55	387.59	55.677(55.65)	$C_{16}H_{22}N_2$	C_5HN_3
	Stage II	513.55-897	-	11.901(12.42)	C_4H_6	
$[Ni(MPIAQ)_2]Cl_2 \cdot H_2O$	Stage I	39.71-167.70	126.29	1.604(1.769)	The loss of the H_2O molecule outer-sphere coordination	$C_{35}H_{28}N_8$ O_2
	Stage II	167.71-269.33	237.34	3.913(3.579)	The loss of the OCH_3 molecule	
	Stage III	269.33-898	38038	34.738(34.760)	$C_{19}H_{22}N_2O_2Ni$	

جدول (9) :- يوضح زوايا الحيود وعرض القمم وقيم الحجم البلوري و قيم التباعد بين

المستويات البلورية لليكاند الازو إمدازول (MPIAQ) ومعقدته مع النيكل

Compounds	2 θ Obs. (degree)	d calc. spacing(A°)	FWHM [$^\circ 2 \theta$]	Crystallite Size D(nm)
-----------	--------------------------	------------------------------	----------------------------	------------------------

Ligand=MPIAQ	20.833	2.551	0.101	83.56
	22.733	2.982	0.124	68.28
	17.633	2.625	0.152	55.26
[Ni(MPIAQ) ₂]Cl ₂ .H ₂ O	17.333	2.526	0.116	72.38
	29.183	2.787	0.109	78.69
	41.083	1.899	0.120	73.87

جدول (10):- تأثير مركب الأزو إמידازول (MPIAQ) على خلايا الخط الخلوي السرطاني للثدي (MCF-7) ومقارنتها مع خط الخلايا السليمة (WRI-68) باستخدام اختبار (MTT) عند نفس التركيز ولمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 م.

(x) =Conc . µg / ml	400	200	100	50	25	12.5	6.25
Log x	2.60	2.30	2	1.69	1.39	1.09	0.79
Inhibition % MCF-7 Cell Line	50.85	38.04	23.65	12.32	3.05	3.97	3.94
Inhibition % WRL-68 Cell Line	26.58	13.97	7.87	3.82	3.05	5.09	3.9
خلايا الخط الخلوي السرطاني للثدي MCF-7 IC50 =141(µg.mL ⁻¹)				خلايا الخط الخلوي الاعتيادي WRL-68 IC50 =334.4(µg.mL ⁻¹)			

جدول (11): القيم الاحصائية لخط الخلايا السرطانية للثدي MCF-7 لمركب الأزو إמידازول (MPIAQ)

Dose (µg.mL ⁻¹)	Mean	Number of Values	Std.Deviation	Std. Error of Mean(±SEM)
6.25	96.06	3	0.5306	0.3063

12.5	96.03	3	3.076	1.776
25	96.95	3	1.752	1.012
50	87.65	3	1.044	0.6025
100	76.35	3	3.244	1.873
200	61.96	3	0.8209	0.4740
400	49.15	3	5.184	2.993

جدول (12): القيم الاحصائية لخط الخلايا الاعتيادية WRL-68 لمركب الأزو إמידازول (MPIAQ)

Dose ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Mean	Number of Values	Std.Deviation	Std. Error of Mean(\pm SEM)
6.25	96.10	3	0.4820	0.2783
12.5	94.91	3	2.199	1.270
25	96.95	3	1.142	0.6592
50	96.18	3	1.252	0.7227
100	92.13	3	1.557	0.8992
200	86.03	3	0.8535	0.4928
400	73.42	3	3.387	1.955

Std. Error of Mean = معدل الخطأ القياسي ، Std. Deviation = الانحراف القياسي

جدول (13) تأثير معقد النيكل $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ على خلايا الخط الخلوي السرطاني للثدي (MCF-7) ومقارنتها مع خط الخلايا السليمة (WRI-68) باستخدام اختبار (MTT) عند نفس التركيز ولمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 م.

(x) =Conc . µg / ml	400	200	100	50	25	12.5	6.25
Log x	2.60	2.30	2	1.69	1.39	1.09	0.79
Inhibition % MCF-7 Cell Line	69.17	53.09	22.45	11.92	5.4	4.63	4.32
Inhibition % WRL-68 Cell Line	30.83	12.08	7.79	3.51	3.05	5.71	3.93
خلايا الخط الخلوي السرطاني للثدي MCF-7 IC50 =149.1(µg.mL ⁻¹)				خلايا الخط الخلوي الاعتيادي-WRL-68 68 IC50 =>5198(µg.mL ⁻¹)			

جدول (14): القيم الاحصائية لخط الخلايا السرطانية للثدي MCF-7 لمعقد النيكل



Dose (µg.mL ⁻¹)	Mean	Number of Values	Std.Deviation	Std. Error of Mean(±SEM)
6.25	95.68	3	1.794	1.036

12.5	95.37	3	1.863	1.075
25	94.60	3	2.166	1.251
50	88.08	3	3.282	1.895
100	77.55	3	2.474	1.428
200	46.91	3	3.343	1.930
400	30.83	3	2.742	1.583

جدول (15): القيم الاحصائية لخط الخلايا الاعتيادية WRL-68 لمعقد النيكل



Dose ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Mean	Number of Values	Std.Deviation	Std. Error of Mean(\pm SEM)
6.25	96.07	3	0.1160	0.06697
12.5	94.29	3	2.979	1.720
25	96.95	3	1.142	0.6592
50	96.49	3	1.291	0.7452
100	92.21	3	2.778	1.604
200	87.92	3	3.579	2.067
400	69.17	3	1.622	0.9363

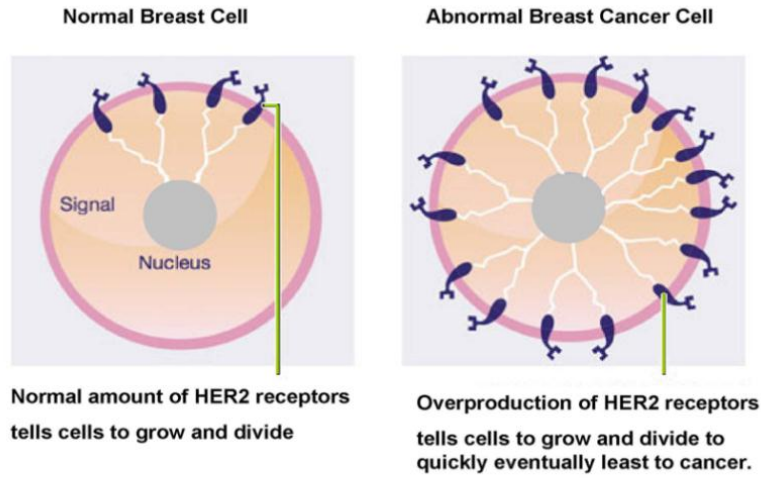
جدول (16): تأثير دواء Doxorubicin على خلايا الخط الخلوي السرطاني للثدي MCF-7 لنفس التراكيز باستخدام اختبار MTT لفترة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 م

X= Conc. ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	6.25	12.5	25	50	100	200	400
Log X	0.79	1.09	1.39	1.69	2	2.30	2.60
Inhibition %	20.2	24.7	25.4	27.5	30.4	35.3	50.5
IC50=30.5				Log IC50 = 1.48			

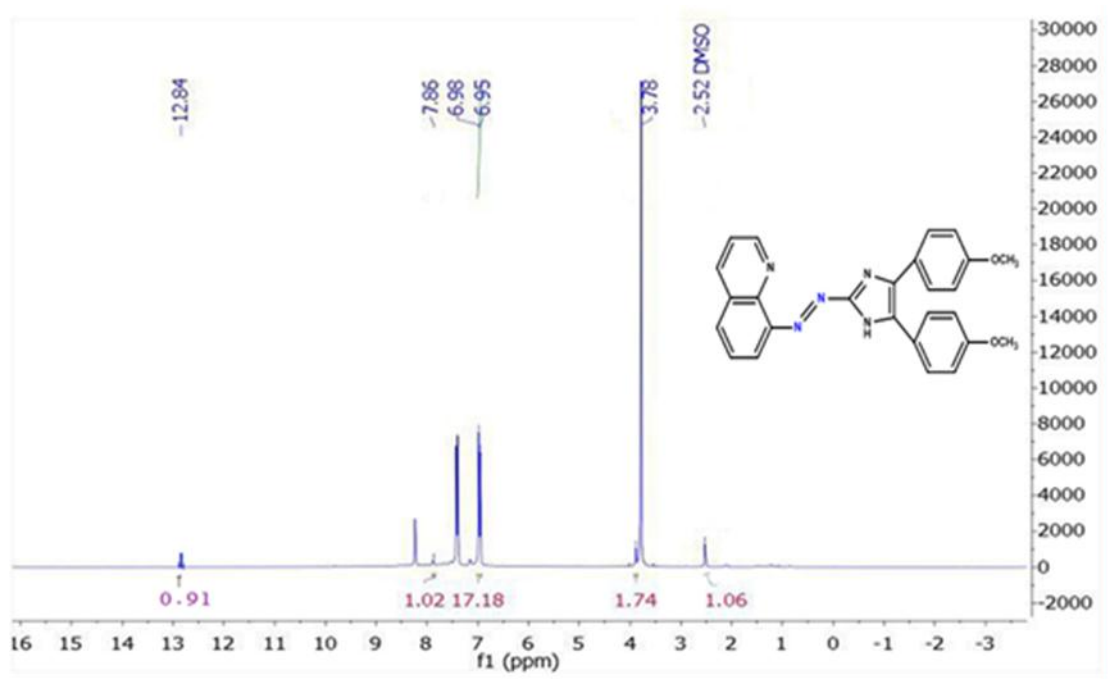
جدول (17) يبين كيفية حساب الجرعة المميتة لنصف عدد الحيوانات LD50 لمعدن النيكل $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

الاختلاف في معدل الوفيات	الاختلاف في الجرعة	معدل الوفيات Md	عدد الوفيات	عدد الفئران في المجموعة	الجرعة من مادة المعدن
0	0	0	0	10	100 ($\mu\text{g./Kg}$)
0	200	0	0	10	300 ($\mu\text{g./Kg}$)
0	200	0	0	10	500 ($\mu\text{g./Kg}$)
0	200	0	0	10	700 ($\mu\text{g./Kg}$)
0	200	0	0	10	900 ($\mu\text{g./Kg}$)
0	200	0	0	10	1100 ($\mu\text{g./Kg}$)
30.2	200	0.151	1	10	1300 ($\mu\text{g./Kg}$)
85.8	200	0.4290	3	10	1500 ($\mu\text{g./Kg}$)
142.8	200	0.7140	5	10	1700 ($\mu\text{g./Kg}$)
258.8	$\text{LD}_{50} = \text{LD}_y - \frac{\sum (DdxMd)}{N}$ $\text{LD}_{50} = 1700 - 258.8/9$ $\text{LD}_{50} = 1700 - 28.76$ $\text{LD}_{50} = 1671.24$				

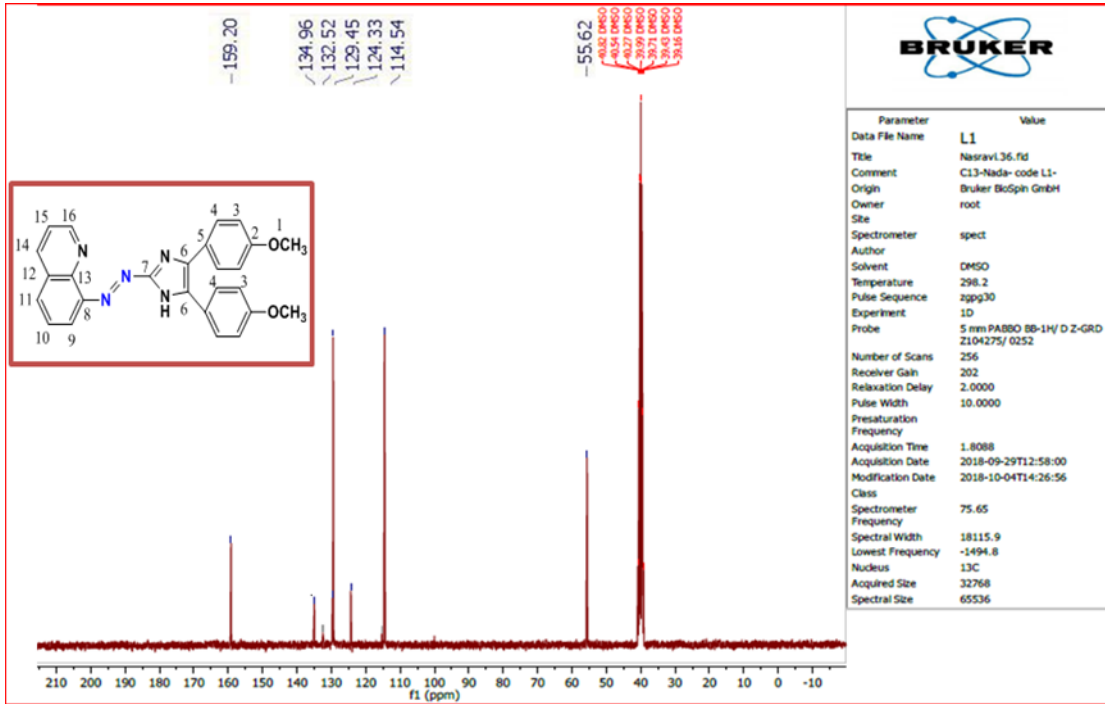
الاشكال



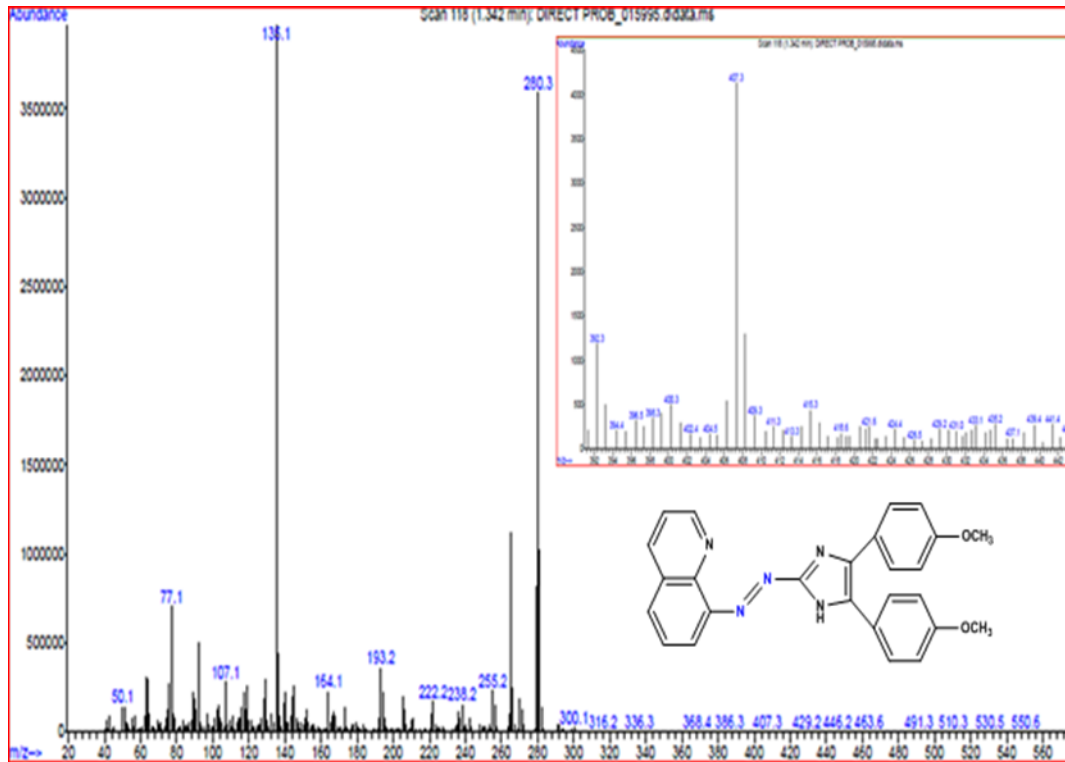
شكل(1):- رسم لخلايا الثدي الطبيعية وغير الطبيعية



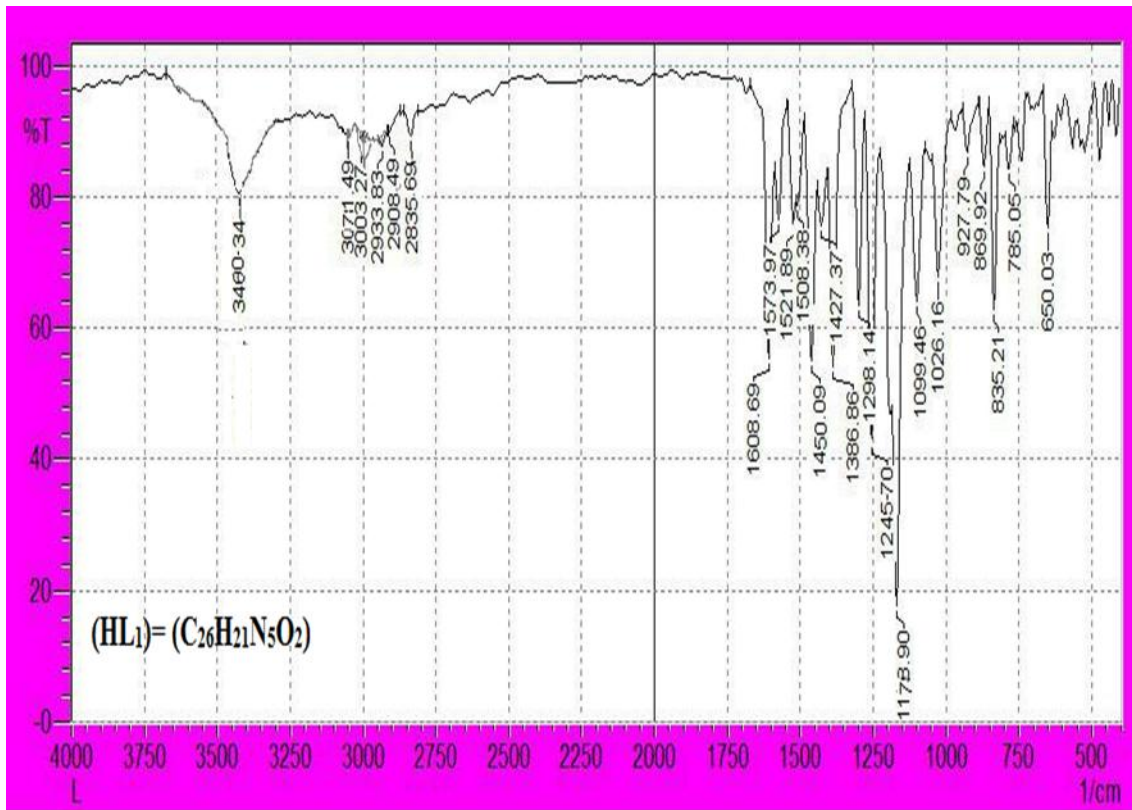
شكل(2) طيف رنين البروتون النووي المغناطيسي (H^1 -NMR) لمركب الازو اميدازول (MPIAQ)



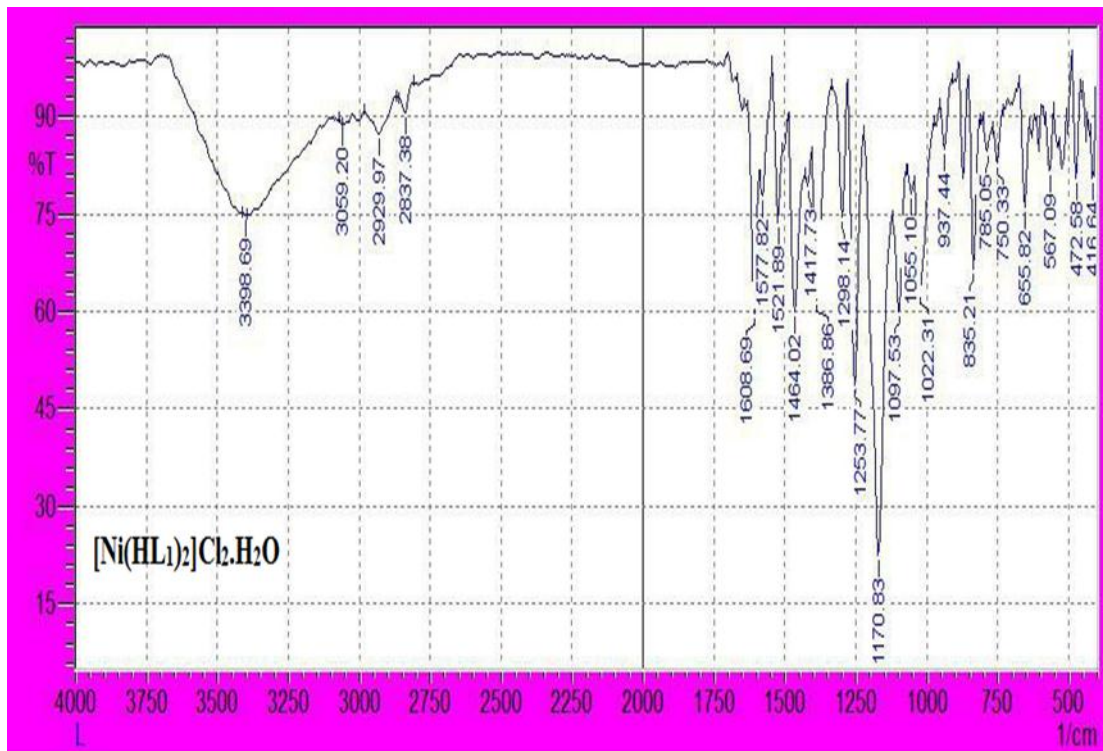
شكل (3) : - طيف رنين الكربون النووي المغناطيسي ($^{13}\text{C-NMR}$) لمركب الازو اميدازول (MPIAQ)



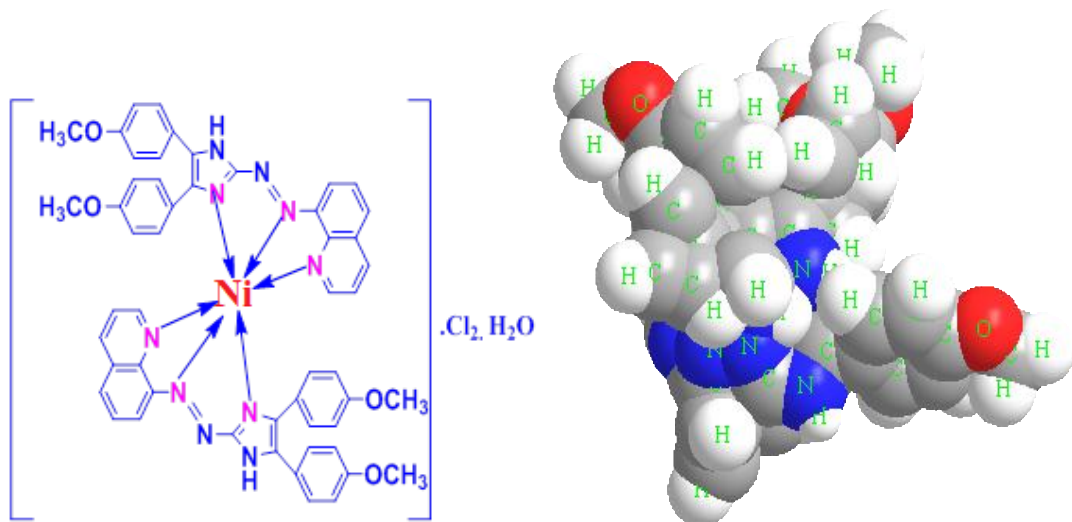
شكل (4) :- طيف الكتلة لمركب الازو اميدازول (MPIAQ)



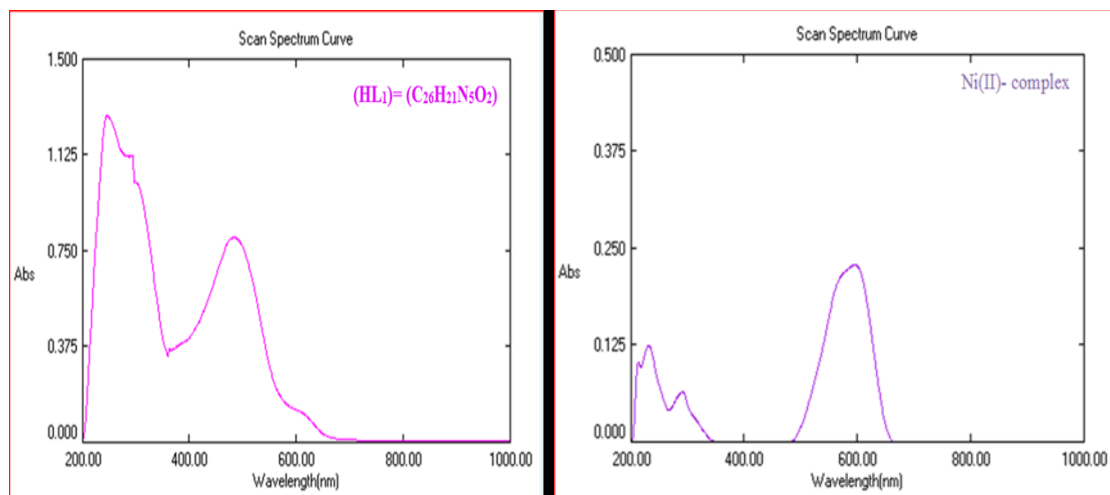
شكل (5): طيف الأشعة تحت الحمراء في صلب KBr لمركب الازو اميدازول (MPIAQ)



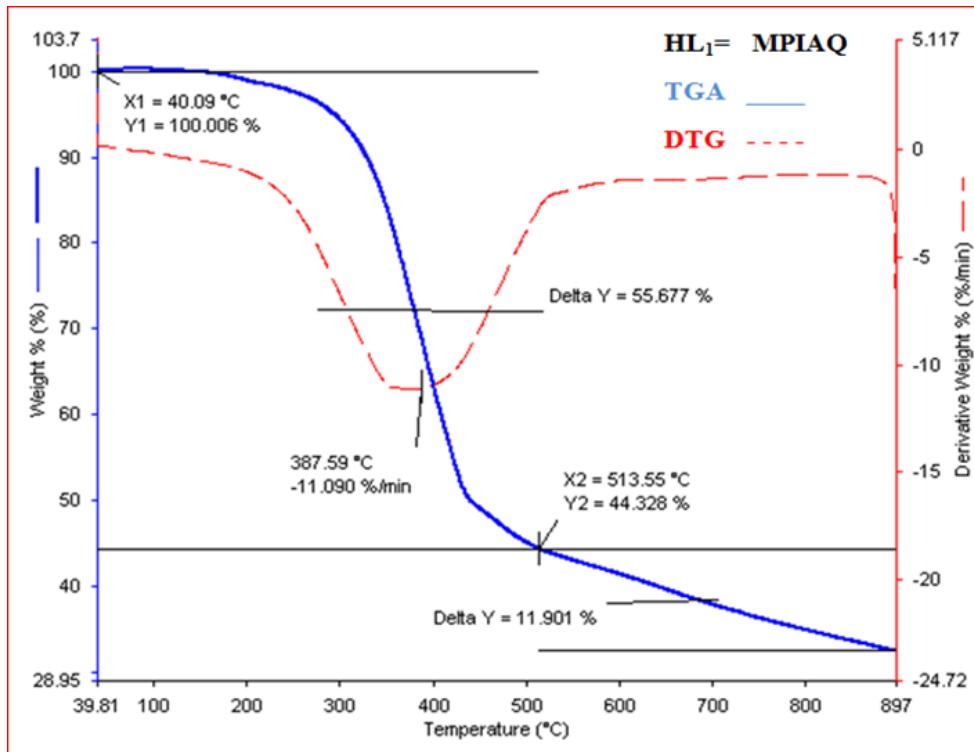
شكل (6): طيف الأشعة تحت الحمراء في صلب KBr لمعقد النيكل (II) [Ni(MPIAQ)₂]Cl₂.H₂O



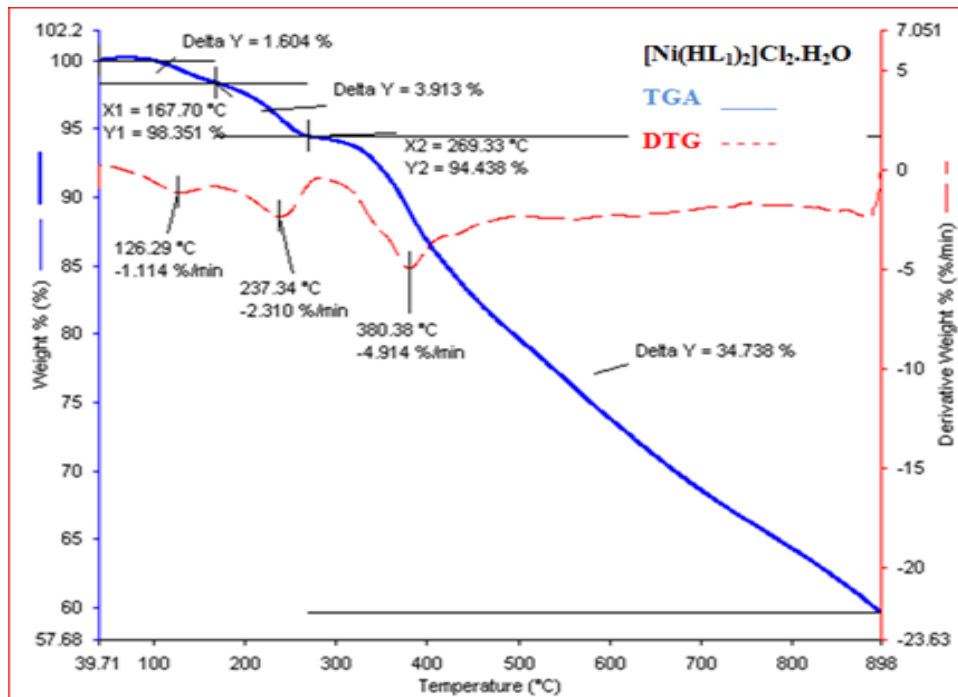
شكل (7):- الشكل الفراغي المقترح لمعقد النيكل (II) مع مركب الازو اميدازول (MPIAQ) $\cdot \text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$



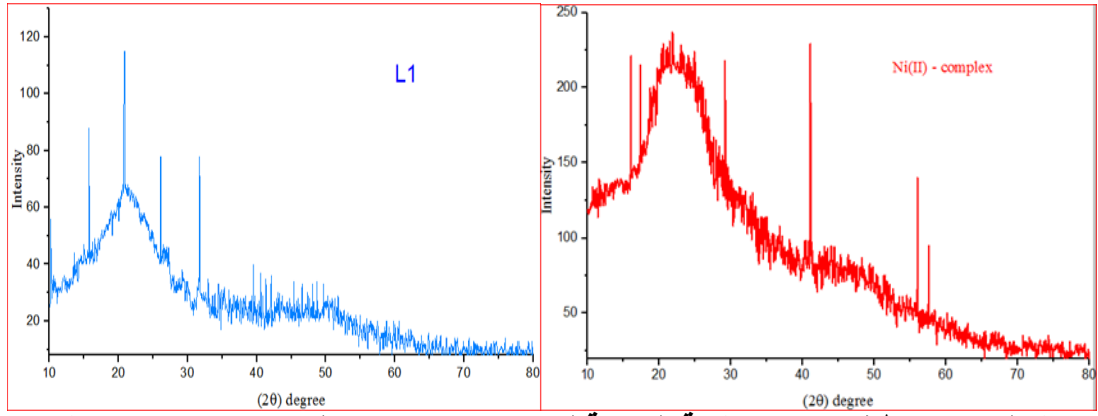
شكل (8):- طيف الأشعة فوق البنفسجية-المرئية لمركب الازو اميدازول (MPIAQ) ومعقده النيكل (II)



شكل (9):- التحلل الحراري لمركب الازو اميدازول (MPIAQ)

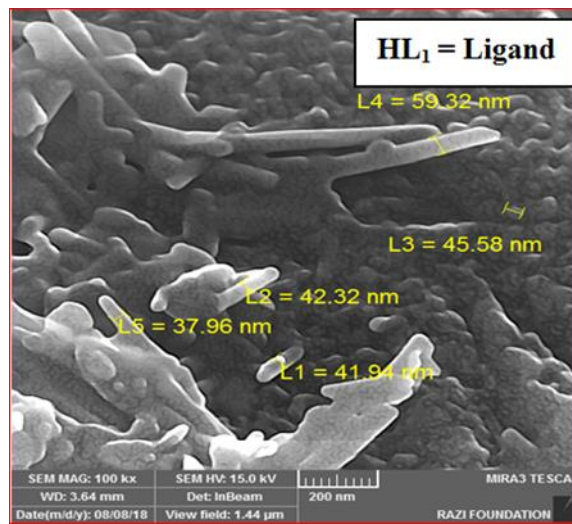


شكل (10):- التحلل الحراري لمعقد النيكل (II)

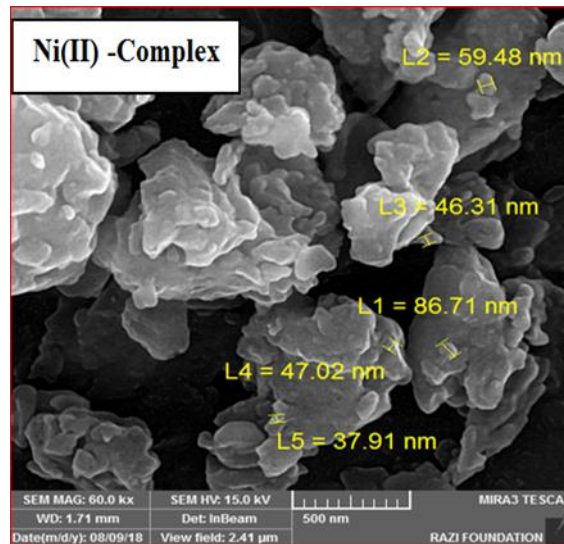


شكل (11):- طيف حيود الاشعة السينية لمركب الازو اميدازول (MPIAQ) و معقده

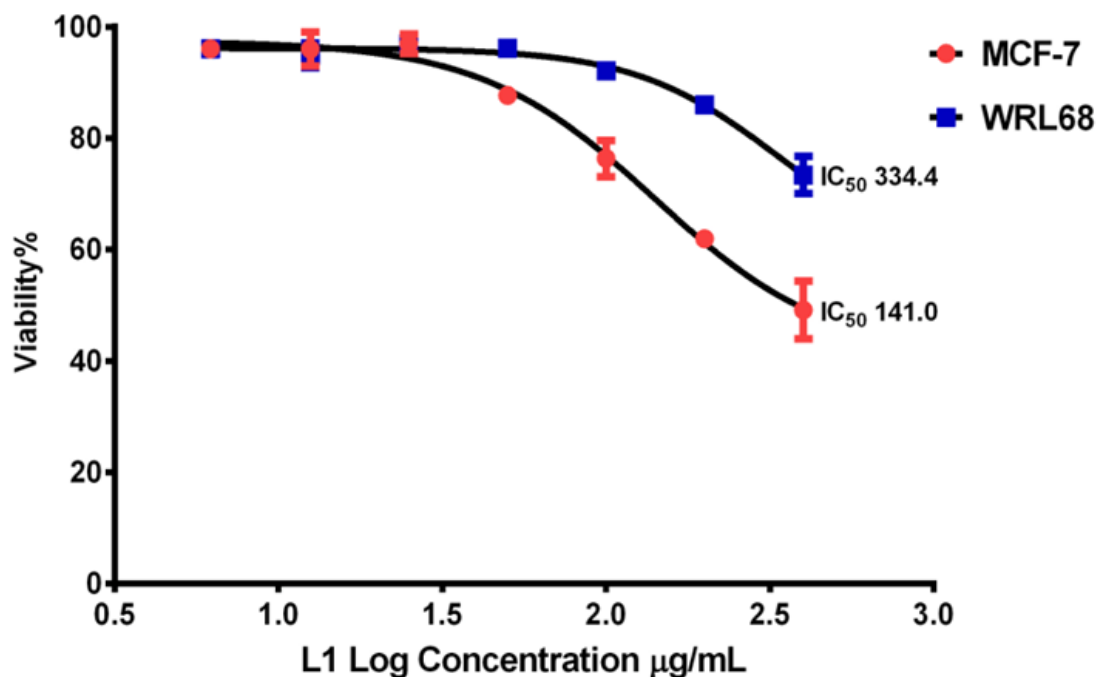
النیکل (II)



شكل (12):- صور FESEM لمركب الازو اميدازول (MPIAQ)

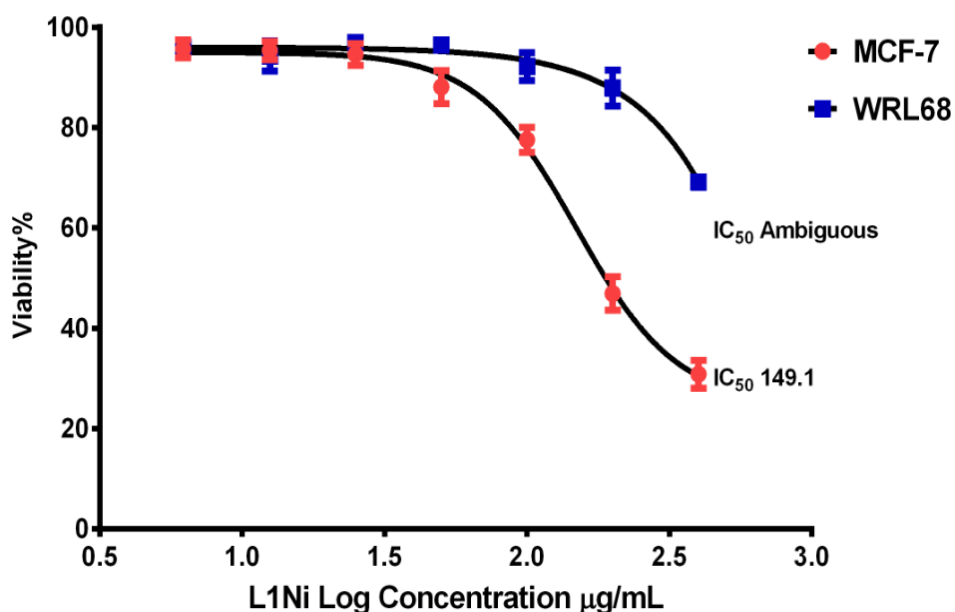


شكل (13):- صور FESEM لمعقد النیکل (II)



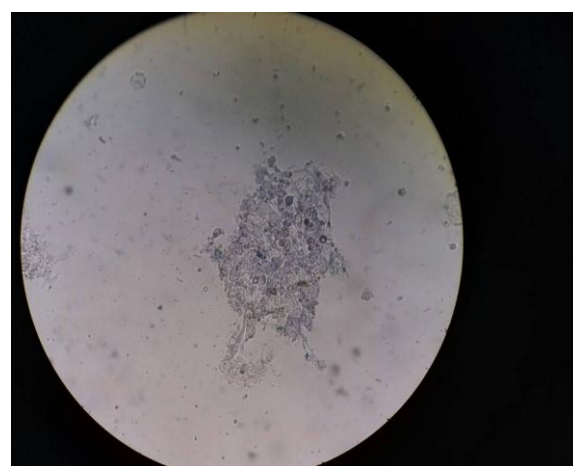
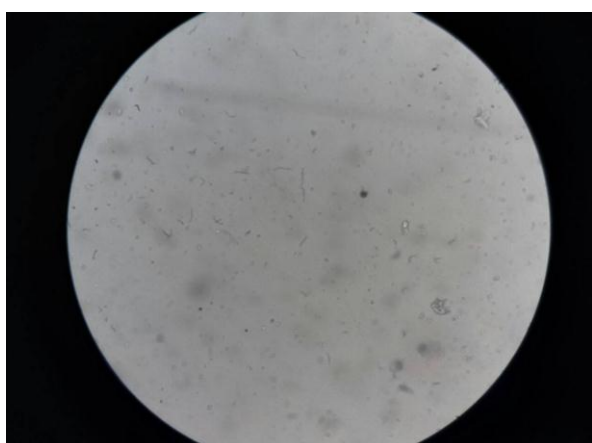
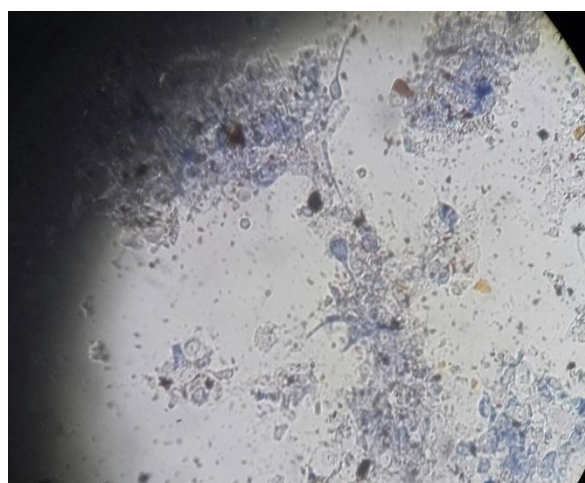
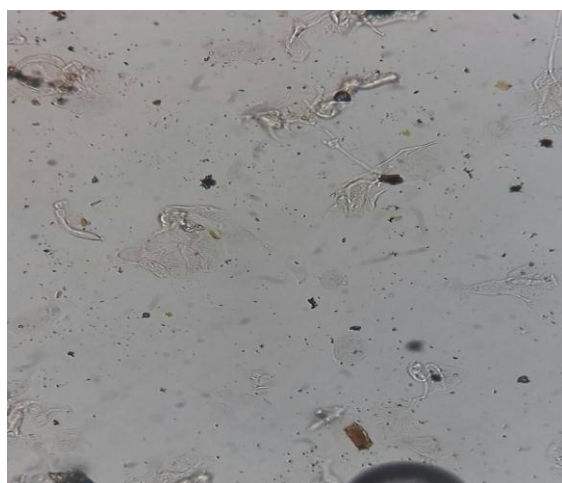
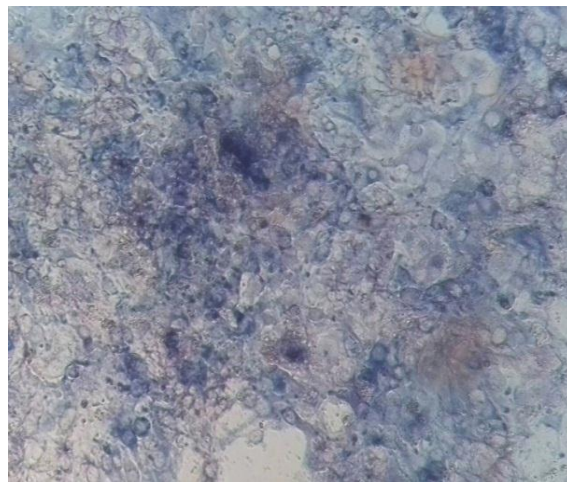
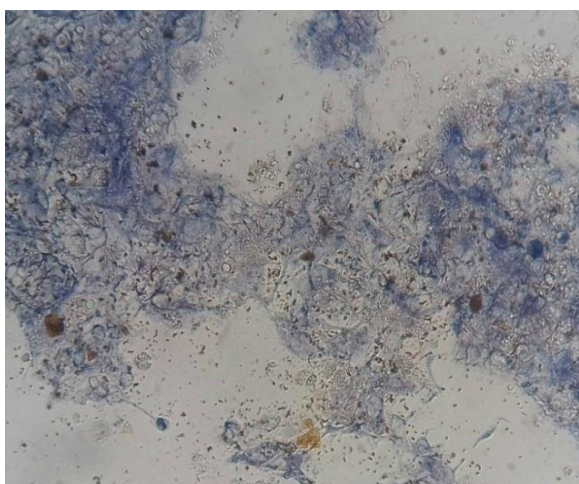
شكل (14):- العلاقة بين الفعالية الحيوية لخلايا الخط السرطاني للثدي (MCF-7)

ولوغاريتم التركيز لليكاند الأزو إמידازول (MPIAQ)



شكل (15):- العلاقة بين الفعالية الحيوية لخلايا الخط السرطاني للثدي (MCF-7)

ولوغاريتم التركيز لمعقد النيكل $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$



الشكل (16): خلايا سرطانية معاملة بمركب $[\text{Ni}(\text{MPIAQ})_2]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ بتراكيز مختلفة بعد

إضافة MTT

References:

المصادر:

1. Gaber, M., El-Wakiel, N., & Hemed, O. M. (2019). Cr (III), Mn (II), Co (II), Ni (II) and Cu (II) complexes of 7-((1H-benzo [d] imidazol-2-yl) diazenyl)-5-nitroquinolin-8-ol. synthesis, thermal, spectral, electrical measurements, molecular modeling and biological activity. *Journal of Molecular Structure*, 1180, 318-329.
2. Shree, G. J., Sivaraman, G., Siva, A., & Chellappa, D. (2019). Anthracene-and pyrene-bearing imidazoles as turn-on fluorescent chemosensor for aluminum ion in living cells. *Dyes and Pigments*, 163, 204-212.
3. Zhang, L., Shao, Q., & Xu, C. (2019). Enhanced azo dye removal from wastewater by coupling sulfidated zero-valent iron with a chelator. *Journal of Cleaner Production*, 213, 753-761.
4. K. Kumar, J. Keshhavayya, Rajesh and K. Peethambar; *Int J Pharm Sci.*, (2013), Vol 5, Suppl 1, 296-301.
5. I. El-Deen, I. M., Shoair, A. F., & El-Bindary, M. A. (2019). Synthesis, characterization and biological properties of oxovanadium (IV) complexes. *Journal of Molecular Structure*, 1180, 420-437.
6. P.P.Kumar, and B.L.Ranil; *Int. J. Chem. Tech. Res.*, 3(1), 155, (2011).
7. Sparano, J. A., Gray, R. J., Makower, D. F., Pritchard, K. I., Albain, K. S., Hayes, D. F., ... & Lively, T. (2018). Adjuvant chemotherapy guided by a 21-gene expression assay in breast cancer. *New England Journal of Medicine*, 379(2), 111-121.
8. Saunders 'Christobel' Jassal 'Sunil (2009). *Breast cancer* Oxford: Oxford University Press. Chapter 13. ISBN 978-0-19-955869-8.
9. Haim, A., & Portnov, B. A. (2013). Light pollution as a new risk factor for human breast and prostate cancers (p. 168). Dordrecht: Springer.

- 10.Özkay, Y., Işıkdağ, İ., İncesu, Z., & Akalın, G. (2010). Synthesis of 2-substituted-N-[4-(1-methyl-4, 5-diphenyl-1H-imidazole-2-yl) phenyl] acetamide derivatives and evaluation of their anticancer activity. *European journal of medicinal chemistry*, 45(8), 3320-3328.
- 11.Haider Mohammed , *Ph . D . Thesis* , Al-Qadisiyah University (2019) .
- 12.Haitham, Dakheel, , *Ph . D . Thesis* , Al-Qadisiyah University (2017) .
- 13.Hofmann, K. (2009). *Imidazole and its Derivatives* (Vol. 12). John Wiley & Sons.
- 14.S. Shibata, M. Furukawa, and R. Nakashima (1976) ,Syntheses of azo dyes containing 4, 5-diphenylimidazole and their evaluation as analytical reagents. *Analytica Chimica Acta*, 81(1): 131-141.
- 15.Kumar, G., Singh, V., & Sharma, P. (2018). Synthesis, characterization of biologically active Schiff base 14-membered M (III) macrocyclic complexes derive from 1 H-indol and diethyl oxalate and thiocarbonohydrazide. *Synthesis*, 3(1).
- 16.Xie, W., Wu, Y., Zhang, J., Mei, Q., Zhang, Y., Zhu, N., ... & Zhang, H. (2018). Design, synthesis and biological evaluations of novel pyridone-thiazole hybrid molecules as antitumor agents. *European journal of medicinal chemistry*, 145, 35-40.
- 17.Jarallah, S. A., Nief, O. A., & Atia, A. J. K. (2019). Synthesis, Characterization of heterocyclic compounds and preliminary evaluation of their antibacterial activity and antioxidant agents. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(3), 1010-1015.
- 18.Streciwilk, W., Terenzi, A., Lo Nardo, F., Prochnow, P., Bandow, J. E., Keppler, B. K., & Ott, I. (2018). Synthesis and Biological Evaluation of Organometallic Complexes Bearing Bis-1, 8-naphthalimide Ligands. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2018(26), 3104-3112.

19. Meng, G., Kakalis, L., Nolan, S. P., & Szostak, M. (2019). A simple ^1H NMR method for determining the σ -donor properties of N-heterocyclic carbenes. *Tetrahedron letters*, 60(4), 378-381.
20. Idemudia, O., Sadimenko, A., & Hosten, E. (2016). *International journal of molecular sciences*, 17(5), 687.
21. Arunadevi, A., Porkodi, J., Ramgeetha, L., & Raman, N. (2019). Biological evaluation, molecular docking and DNA interaction studies of coordination compounds gleaned from a pyrazolone incorporated ligand. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 1-24.
22. Ali, A. A. M., Mohammed, H. J., & Khadhim, A. J. (2015). *IUG Journal of Natural Studies*, 16(1).
23. Foulds, G. (1987). 1 Nickel. *Coordination chemistry reviews*, 80, 1-129.
24. S. Demir, A. Güder, T. K. Yazıcılar, S. Çağlar and Orhan; *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.*, 150: p. 821-828,(2015)
25. B. S. Kusmariya, S. Tiwari, A. Tiwari, A. P. Mishra and G. A. Naiku; *J. Molec. Struct.*, 1116, 279–291(2016).
26. A.A.S.Al-Hamdani and N.R.Al-Khafaji ;*Research Journal of pharmaceutical ,Biological and Chemical Sciences.*, 8(3),740-750(2017).
27. Gulzar, A., Mahmud, T., Mitu, L., Munir, R., Imran, M., & Iftikhar, K. (2019). *Revista de chimie* 70(2), 596-601.
28. Alper, P., Erkisa, M., Genckal, H. M., Sahin, S., Ulukaya, E., & Ari, F. (2019). *Journal of Molecular Structure*, 1196, 783-792.
29. Abdnoor, Z. M., & Alabdali, A. J. (2019). Synthesis, characterization, and anticancer activity of someazole-heterocyclic complexes with gold (III), palladium (II), nickel (II), and copper (II) metal ions. *Journal of the Chinese Chemical Society*.
30. Gaber, M., El-Ghamry, H. A., & Mansour, M. A. (2018). Pd (II) and Pt (II) chalcone complexes. Synthesis, spectral characterization, molecular

modeling, biomolecular docking, antimicrobial and antitumor activities. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 354, 163-174.

31. Agnieszka Kadej, Mariola Kuczer, Elżbieta Czarniewska and Arkadiusz Urbański, **Journal of inorganic biochemistry**, 163: p. 147-161, **2016**.

32. Elizabeth J. Campbell ^a, Margreet C. M. Vissers ^b, and others .; **Free Radical Biology and Medicine**, 99, 451–462 , (2016),

33. Nikles, D. E., Powers, M. J., and Urbach, F. L. (1983), *Inorganic Chem*, 22, 3210-3217.