

IN VITRO AND IN SILICO EVALUATION OF ANTICANCER ACTIVITY OF N,N-DIMETHYLAMINOMETHYLFERROCENE

A. Adaika, T. Lanez^{*}, E. Lanez

University of El Oued, VTRS Laboratory, B.P.789, 39000, El Oued, Algeria

Received: 30 December 2018 / Accepted: 19 April 2019 / Published online: 01 May 2019

ABSTRACT

The aim of this study was to examine the interaction of DNA with the ligand N,N-dimethylaminomethylferrocene (NDF) in buffer phosphate solution (pH = 7.2) by electronic spectroscopy, electrochemical and molecular docking technics. The electrochemical results showed that the binding constant and free binding energy of the adduct DNA-NDF is equal to 1.48×10^{-4} and $-23,81 \text{ KJ.mol}^{-1}$ respectively. These results were in good agreement with those obtained from electronic spectroscopic assays; furthermore the interaction was also confirmed by the low value of diffusion coefficient of the bounded ligand $1.83 \times 10^{-8} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$ as compared to the free ligand $2.13 \times 10^{-8} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$. In addition the in silico study by molecular docking confirms the obtained in vitro results. Molecular docking further indicated that the ligand is binds to DNA via a hydrogen bond between its nitrogen atom and the oxygen number 4 of the deoxyadenine of the DNA B-chain.

Keywords: DNA, Dimethylaminomethylferrocene, Molecular docking, Interaction parameters, Cancer.

Author Correspondence, e-mail: adaikaicha@gmail.com

doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v11i2.14>



1. INTRODUCTION

La transmission fidèle du matériel génétique est essentielle pour qu'un organisme se développe normalement. Cependant, l'ADN est constamment soumis à des agents enzymatiques, chimiques ou physiques qui peuvent altérer son intégrité [1]. Un ensemble complexe de voies de signalisation connu sous le nom de Réponse aux Dommages de l'ADN qui assure la maintenance de génome. Un dysfonctionnement d'un de ces processus peut conduire à une prédisposition au cancer [2]. Le cancer est une maladie de nos gènes [4]. Le développement des cellules cancéreuses conduit généralement à la formation d'un nodule ou d'une tumeur. Un des plus grands problèmes liés au cancer est sa propagation dans différentes parties du corps, qu'on appelle la métastase [2,3]. L'approche thérapeutique du cancer repose essentiellement sur la chimiothérapie, l'ADN doit constituer la cible principale des agents anticancéreux [5]. L'interaction entre les médicaments anticancéreux et ADN, ainsi que les applications des techniques expérimentales a un potentiel d'intérêt pharmaceutique [6]. L'identification des molécules à visée thérapeutique est un long processus, faisant intervenir de très nombreuses connaissances scientifiques dans les domaines de la chimie bio-organique [7]. Les champs des composés organométalliques se développent rapidement en raison de la grande variété de structures possibles pour les ligands. Ils ont de nombreuses applications dans de nombreux aspects biologiques, cliniques et médicinales [8].

L'objectif de notre étude est d'évaluer le type d'interaction entre le dérivé NDF et l'ADN. Le mode d'interaction et l'étendue de liaison du ferrocène avec l'ADN sont des sujets d'un intérêt considérable en raison de la complexité de leur structure sandwich [9,10]. L'interaction médicament-ADN ont été étudiées par diverses techniques analytiques. Parmi ces méthodes, les méthodes électrochimiques sont largement utilisées dans les études de liaison médicament-ADN en raison de leurs avantages comme une sensibilité élevée, une sélectivité efficace, l'affectivité des coûts, plus de fiabilité, une polyvalence étendue et une capacité de détection rapide [11,12]. La technique spectroscopique UV-Vis est la mieux adaptée aux ferrocènes en raison de leurs couleurs intenses [13,14]. En revanche, l'étude théorique a été utilisé pour prévoir l'énergie libre et la constante de liaison, ainsi il permet de prédire les sites actifs de liaison ADN-ligand, de plus il permet de calculer la longueur des liaisons établie

entre le ligand et les nucléotides de l'ADN [15]. Dans ce travail, nous avons utilisé l'AutoDock software pour étudier l'amarrage moléculaire de l'interaction virtuelle entre le NDF et l'ADN. En fin, ces résultats théoriques ont été comparés avec celles obtenues *in vitro*.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Produits chimiques

Le NDF a été synthétisé selon le protocole décrit dans la littérature [16]. Ce composé a donné des résultats analytiques et spectroscopiques compatible avec la structure proposée (2) (Figure1).

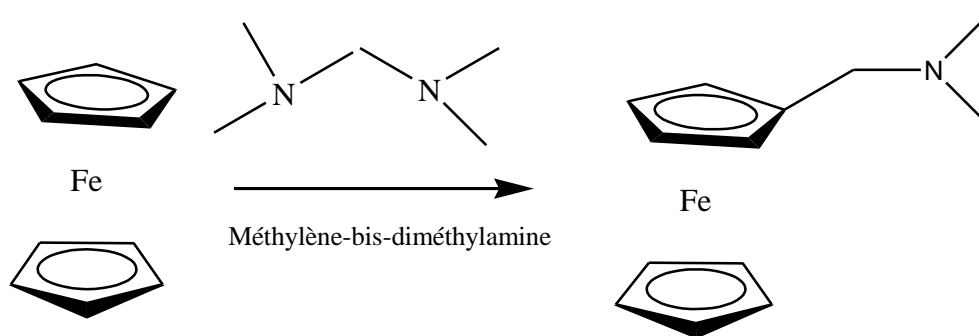


Fig.1. Schéma de synthèse de dérivé NDF

2.2. Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN se fait par la technique du relargage des protéines à force ionique élevée : la technique de salting-out (Technique au chlorure de sodium saturé) [17]. Elle a été réalisée à partir de prélèvement du sang de poulet. La DO de la solution d'ADN obtenu est mesuré à 260nm et à 280 nm afin de déterminer la concentration et la pureté de l'ADN extrait. Le ratio DO_{260}/DO_{280} est plus souvent utilisé pour évaluer la contamination de protéines dans une solution d'acides nucléiques. La pureté d'une solution d'ADN est considérée comme acceptable lorsque ce ratio est compris entre 1,6 – 2,0 [18]. La concentration finale d'ADN a été calculée par la loi Beer-Lamber en mesurant l'absorbance à 260 nm avec le coefficient d'extinction $6600M^{-1}cm^{-1}$ [19].

2.3. Appareillage et techniques

La voltamétrie cyclique est réalisée à partir d'un potentiostat Galvanostat Model PGZ301

(Radiometer Analytical SAS) relié à une cellule électrochimique 25 mL à trois électrodes: Une électrode en carbone vitreux de surface 0.013 cm^2 , une électrode de référence Hg/Hg₂Cl₂/KCl saturée et une électrode auxiliaire en platine de diamètre 3 mm². Le tout est piloté par un micro-ordinateur Pentium IV (CPU 4.0 GHz et RAM 2 Go) doté d'un logiciel VoltaMaster4, version 7.08. Les voltammogrammes obtenus sont tracés en absence et en présence des concentrations croissantes d'ADN après un barbotage d'azote pendant 10 à 15 minutes pour chasser l'oxygène de la cellule. Un polissage de l'électrode de travail en utilisant le papier abrasif p4000 est effectué avant chaque essai électrochimique.

Les mesures UV-Vis ont été effectuées grâce au spectromètre UV-Vis (SHIMADZU 1800) lié à un micro-ordinateur Pentium IV (CPU 4.0 GHz et RAM 2 Go) doté d'un logiciel de visualisation et acquisition des données (Logiciel UV probe Spectrum). L'interaction se fait dans des cuves en quartz, l'appareil contient double emplacement des cuves en quartz, une pour le blanc tampon phosphate (KH₂PO₄/K₂HPO₄) 0.1 M à pH = 7.2 comme référence et la deuxième pour l'échantillon (le dérivé ferrocénique seul ou avec l'adduit d'ADN), chaque échantillon a été laissé reposer pendant au moins 5 min avant chaque mesure spectroscopique.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Etude par voltamétrie cyclique

3.1.1. Constant et énergie libre de liaison

La diminution du courant de pic anodique du ligand NDF en présence d'ADN peut être exploitée pour le calcul de la constante de liaison, tandis que le décalage des valeurs du potentiel de pic peut être utilisé pour la détermination du type d'interaction [20, 21].

L'énergie libre de liaison ΔG de l'ADN avec le dérivé ferrocénique a été déterminé par l'étude du comportement anodique de ce dérivé en absence et en présence des concentrations croissantes d'ADN, cette étude du comportement électrochimique a été réalisée par la technique de la voltammétrie cyclique dans une solution tampon phosphate (KH₂PO₄/K₂HPO₄) 0.1 M à pH = 7.2, la fenêtre du potentiel était de -200 à 600 mV avec une vitesse de balayage égale à 100 mV/s. Le pic de potentiel anodique de NDF a été apparu à 0.378V, dans le balayage retour les pics de potentiel cathodique a été observé à 0,318 V. Ces valeurs de

potentiel montrent que le groupement Méthylène -Bis- diméthylamine introduit au ferrocène exerce le même effet électronique sur le noyau ferrocénique.

Les voltammogrammes cycliques représentés dans la figure 2 montrent que l'addition de l'ADN provoque toujours une diminution de la densité du courant des pics anodiques i_{pa} accompagné d'un déplacement du potentiel des pics anodiques vers les valeurs les plus positives.

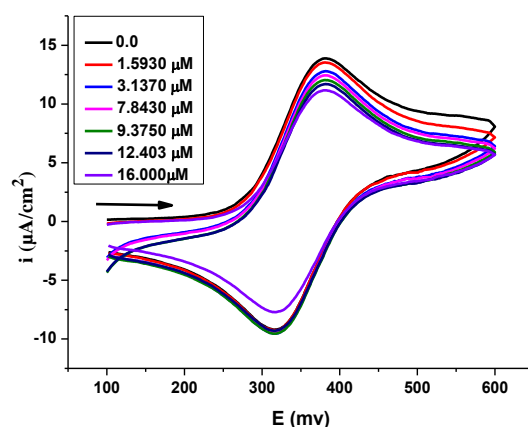


Fig.2. Voltammogramme cyclique de NDF (2 mM) en absence et en présence de différentes concentrations d'ADN enregistré sur une électrode de carbone vitreux dans une solution tampon à pH 7,2 à une vitesse de balayage du potentiel 100 mV/s.

La diminution du courant de pic anodique de dérivé ferrocénique par l'addition de diverses concentrations d'ADN a été utilisée pour quantifier la constante de liaison en utilisant l'équation (2) [22] suivante :

$$\log \frac{1}{[\text{ADN}]} = \log K_b + \log \frac{i_p}{i_{p_0} - i_p} \quad (2)$$

Avec, [ADN] : concentration d'ADN, K_b : constante de liaison, i_{p_0} et i_p sont les densités de courant anodiques en absence et en présence d'ADN respectivement.

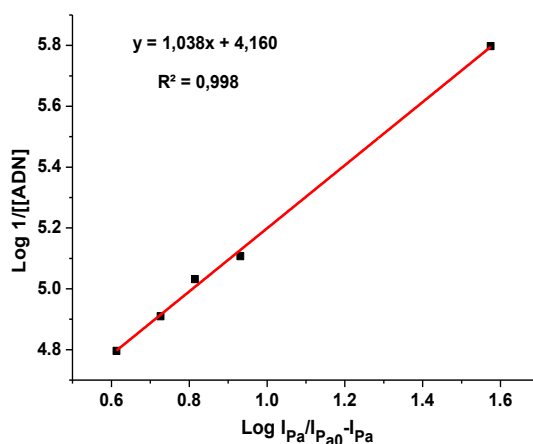


Fig.3. Droite de régression du $\log 1/[ADN]$ en fonction de $\log i_p / i_{p0} - i_p$

Les valeurs obtenues de constante liaison et d'énergie libre de l'interaction sont regroupées dans le tableau 1.

Tableau 1. Constante et énergie libres de liaison calculés à partir du tracé $\log 1/[ADN]$ en fonction de $\log i_p / i_{p0} - i_p$ a partir des donnés VC à PH 7,2 et T=298K

Adduit	Equation	R ²	K (mol ⁻¹)	ΔG (KJ.mol ⁻¹)
NDF-ADN	y = 1.028x + 4.173	0.998	1.48x10 ⁴	-23,81

L'énergie de liaison est calculée en utilisant l'équation 3 suivante [23],

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (3)$$

D'où ΔG est l'énergie libre de liaison exprimée par KJ.mol⁻¹, R est le constant de gaz parfait, 8.32 mol⁻¹ K⁻¹, et T est la température absolue 298K.

L'interaction de NDF et l'ADN montre que la valeur de l'énergie libre est négative ($\Delta G = -23.81$ KJ/mol), ce qui confirme que l'interaction de dérivé ferrocénique et l'ADN se fait spontanément par interaction physique.

D'ailleurs, Lors que l'ADN est ajouté à une solution de NDF, une diminution de courant de pic anodique est marqué et les changements de potentiels de pic à de valeurs positives sont observés. Il semble que cette diminution du courant de pic est provoquée par l'intercalation de NDF à la masse d'ADN,

Il a été rapporté qu'une interaction électrostatique du ligand avec l'ADN pourrait entraîner des modifications conformationnelles de l'ADN qui peuvent provoquer des perturbations dans son fonctionnement normal. Ceci peut vraisemblablement conduire à la prévention de la duplication et du fonctionnement de l'ADN, et éventuellement à la mort cellulaire [24, 25].

3.1.2. Rapport de constant de liaison K_{ox}/K_{red}

Le mode d'interaction NDF-ADN peut être évalué à partir de la variation du potentiel formel. En général, le décalage anodique du potentiel formel (déplacement vers les valeurs les plus positives) est causé par l'intercalation du composé étudié avec la structure de la double hélice de l'ADN [29], bien que le décalage cathodique (déplacement vers les valeurs les plus négatives) a été causé par l'interaction électrostatique du composé cationique étudié avec le phosphate anionique du squelette de l'ADN [33].

Ainsi, le déplacement de potentiel de pic vers les valeurs les plus positive indique en outre que l'anion Fe (III) du dérivé NDF est plus facile de s'oxydée en présence d'ADN parce que sa forme réduite est plus fortement lié à l'ADN que sa forme oxydée. Pour un tel système, où les deux formes de dérivé ferrocénique réagissent avec l'ADN, le schéma 3 ci-dessous peut être appliqué.

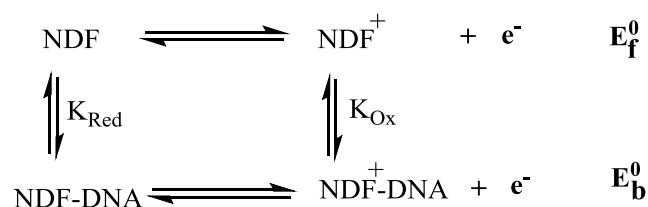


Fig.4. Chemins réactionnels des réactions électrochimiques de NDF libre et celui lié à l'ADN.

Pour déterminer le rapport K_{ox}/K_{red} , des voltammogrammes cycliques de dérivé ferrocénique en absence et en présence de 15.4 μM d'ADN ont été obtenus figure4.

Le déplacement positive du potentiel de pic (décalage anodique) dans le comportement de CV de dérivés NDF par l'ajout de l'ADN peut être attribué à la l'intercalation de dérivé étudié avec la structure de la double hélice de l'ADN. Le déplacement de potentiel de pic vers les valeurs les plus positive indique en outre que l'anion Fe (III) du dérivé NDF est plus facile de s'oxydée en présence d'ADN parce que sa forme réduite est plus fortement lié à l'ADN que sa forme oxydée [26].

L'application de la relation de Nernst au processus électrochimique de la forme non lié avec l'ADN donne la relation (5) suivante [26],

$$E_n^0 - E_l^0 = 0.059 \log \frac{K_{ox}}{K_{red}} \quad (5)$$

Avec

E_n^0 est le potentiel redox de la forme NDF non liée à l'ADN, E_l^0 est son potentiel redox de la forme lié, [NDF (III)] et [NDF (II)] sont respectivement les concentrations de la forme oxydée et réduite du dérivé NDF non lié à l'ADN, K_{ox} et K_{red} sont respectivement leurs constantes de liaison.

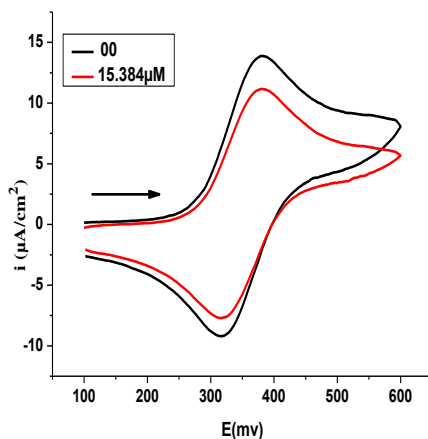


Fig.4. Voltammogrammes cycliques de NDF (2 mM) en absence d'ADN (ligne noire) et en présence d'ADN (ligne rouge) enregistré sur une électrode de carbone vitreux dans une solution tampon a pH 7,2

Les valeurs de déplacement du potentiel des pics anodiques et cathodiques et la baisse de leurs courants, ainsi que le rapport des constantes de liaison sont tabulées dans le tab.02.

Tableau 02. Rapport de constante de liaison, déplacement de potentiel formel et pourcentage de la baisse de la densité du courant des pics anodiques de l'adduit étudié

Adduit	ΔE^0 (V)	$\% \Delta i_{p_a}$	K_{ox} / K_{red}
NDF-ADN	5.5	19.49	1.24

E^0 est calculé à partir de la relation (4)[27] suivante,

$$\Delta E^0 = \left| \frac{Ep_c + Ep_a}{2} \right| \quad (4)$$

Le tableau 02 montre que le potentiel des pics anodiques et cathodiques des adduits est supérieur de celui de la forme non liée de dérivé ferrocénique, les constatations sont observées pour le potentiel formel E_0 . Les valeurs du rapport ipa/ipc traduit parfaitement la réversibilité du système ferrocénium/ferrocène.

La variation de valeur du potentiel formel ΔE^0 calculé à partir de la relation 5 ainsi que le pourcentage de la baisse de la densité du courant anodique $\% \Delta ip_a$ est calculé à partir de relation 6 [27] sont représenté dans le tableau 2.

$$\Delta E^0 = E^{\circ}_n - E^{\circ}_1 = E^{\circ}(\text{NDF}) - E^{\circ}(\text{NDF-ADN}) \quad (5)$$

$$\% \Delta ip_a = 100 - \frac{ip_a}{ip_{a_0}} \times 100 \quad (6)$$

En effet, d'après la valeur du rapport K_{ox} / K_{red} dans le tableau 2, que la forme oxydée Fc(III) réagit plus quantitativement que celle de la forme réduite Fc(II).

3.1.3. Coefficient de diffusion

Afin de calculer les coefficients de diffusion de NDF et celui de l'adduit NDF-ADN, plusieurs voltammogrammes cycliques ont été enregistrés à différentes vitesses de balayage du potentiel 100, 200, 300, 400, 500 mV/s en absence et en présence de $(15.384 \times 10^{-6} \text{ mol/l})$ d'ADN (Fig.3) en utilisant l'équation (7) de Randles-Sevcik [28]

$$ip_a = 2.69 \times 10^5 n^{\frac{3}{2}} A C D^{\frac{1}{2}} v^{\frac{1}{2}} \quad (7)$$

Avec, ip_a : la densité du courant de pic anodique, n : nombre des électrons mise en jeu, A : surface de l'électrode du travail, C : la concentration de dérivé ferrocénique, D : coefficient de diffusion, et v : la vitesse de balayage du potentiel.

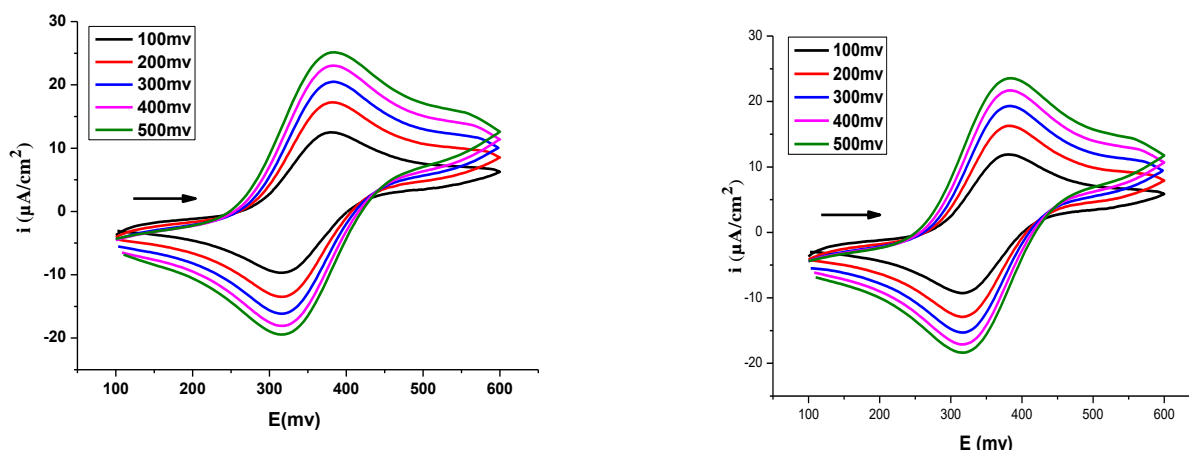


Fig.5.: Voltammogrammes cycliques à différentes vitesses de balayage du potentiel de 100 à 500 mV/s en absence (A) et en présence (B) de l'ADN

Le courant des pics anodiques ont été tracé en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage du potentiel en absence et en présence de $15.384 \times 10^{-6} \text{ mol/l}$ de l'ADN selon l'équation (7)(Figure 5).

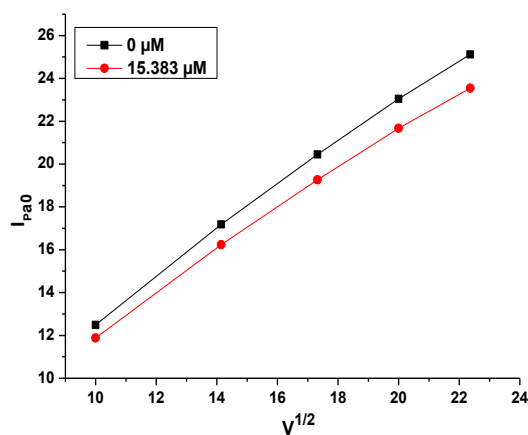


Fig.6. Courant des pics anodiques en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage du potentiel en absence (ligne noire) et en présence (ligne rouge) de l'ADN

Les coefficients de diffusion de NDF et de l'adduit NDF-ADN sont tabulés dans le tableau 3.

Tableau 3. Coefficients de diffusion de DMAM et de l'adduit DMAM-ADN

Adduit	Equation	R ²	D (cm ² .s ⁻¹)
NDF	y = 1.022x + 2.511	0.997	2.13×10 ⁻⁸
NDF-ADN	y = 0.946x + 2.658	0.997	1.83×10 ⁻⁸

Les résultats montrent que le coefficient de diffusion de l'adduit de dérivé ferrocénique en présence de l'ADN (DMAMF-ADN) est plus petit que celle de dérivé ferrocénique seul (DMAMF) cela confirme l'interaction entre ce dernier et l'ADN.

3.1.4. Taille de site de liaison

La taille des sites de liaison S de dérivé ferrocénique avec l'ADN peut être déterminée à partir des données électrochimiques en utilisant de l'équation (8) [29] suivant :

$$\frac{C_l}{C_n} = K \frac{\text{paire de bases}}{s} \quad (8)$$

Avec, (S) est la taille de site de liaison en termes de paires de bases, (C_n) est la concentration de l'espèce libre, (C_l) est la concentration des espèces d'ADN lié, (K) est la constante de liaison.

La concentration des paires de base peut être exprimée en tant que [ADN]/2, l'équation précédente peut être écrite comme suit :

$$\frac{C_l}{C_n} = K \frac{[ADN]}{s} \quad (9)$$

Le rapport des concentrations C_l/C_n est déterminé à partir de l'équation (10) [30] ci-dessous :

$$\frac{C_l}{C_n} = \frac{ip_0 - ip}{ip} \quad (10)$$

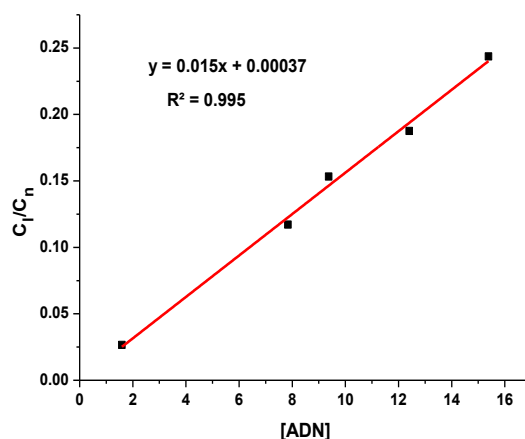


Fig.7. Tracé de C_1 / C_n en fonction de [ADN]

La taille de site de liaison déterminée à partir de la pente de Tracé de C_1 / C_n en fonction de

[ADN] en mettant : $\frac{K}{2S} = Pente$

Tableau 4. Détermination de la taille de site de liaison entre l'ADN et le dérivé ferrocénique

Pente	K	S (bp)
0.015	14791.08388	0.000110933

La faible valeur de S indique la dominance de l'interaction via le mode d'intercalation ou électrostatique entre le dérivé ferrocénique et l'ADN. Une telle interaction peut induire une perturbation dans le fonctionnement normal de l'ADN qui probablement abouti à la prévention de la réplication et la mort de la cellule.

3.2. Etude spectroscopique par UV-Vis

En spectroscopie électronique, si un composé interagit avec l'ADN, l'absorbance et la longueur d'onde de ce composé subit une variation suite à l'addition de l'ADN. Ces variations peuvent être utilisées pour la détermination des paramètres de liaison. Il est bien connu dans la littérature scientifique que les techniques spectroscopiques UV-visible sont particulièrement utilisées pour l'étude de l'interaction des dérivés ferrocéniques avec l'ADN en raison de leur couleur intense, ce qui permet les mesures spectroscopiques dans le domaine visible.

En effet, la constante de liaison peut être évaluée par spectrophotométrie d'après l'équation (11)

de Benesi-Hildebrand [31, 32] suivante:

$$\frac{A_0}{A - A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G} - \varepsilon_G} + \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G} - \varepsilon_G} \frac{1}{K [DNA]} \quad (11)$$

L'interaction entre le DMAMF et l'ADN a été étudié dans un solution tampon phosphate a pH 7.2. Le domaine UV-Vis de composé NDF (2 mM) était entre 300 et 600 nm.

Différents Concentrations d'ADN ajoutées ainsi que les valeurs d'absorbance obtenues à partir de spectre d'absorption UV-Vis, Les valeurs obtenues de constant de liaison et d'énergie libre de l'interaction ADN-NDF sont regroupés dans le tableau (5) avec, $A_0 = 0.2482$.

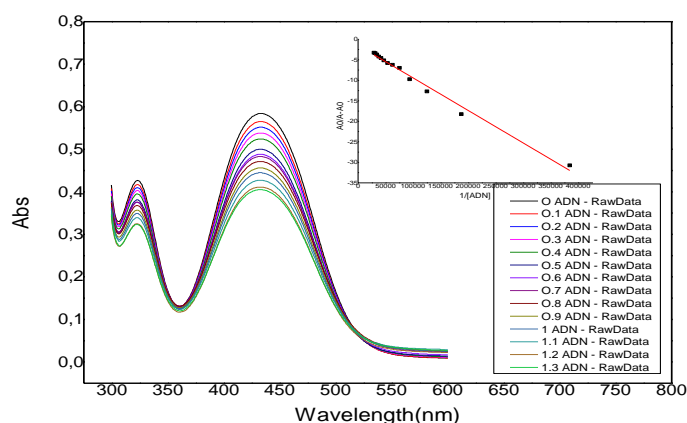


Fig.8. Spectre d'absorption UV-Vis de NDF (2 mM.) en absence et en présence de différentes concentrations d'ADN dans un tampon phosphate($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$)0.1 M à 298K.inset : droite de regression de $A_0/(A-A_0)$ en fonction de $1/[ADN]$ utilisé pour calculer le constant de liaison de ligand NDF avec l'ADN

Tableau 5. Valeurs de la constante et l'énergie libre de liaison de l'interaction ADN-NDF obtenu à partir des données spectrophotométrique UV-Vis

Adduit	Equation	R^2	$K(\text{L.mol}^{-1})$	$\Delta G(\text{KJ.mol}^{-1})$
NDF-ADN	$-8 \times 10^{-5}x - 1.480$	0.988	1.85×10^4	-24.4

En spectroscopie UV-Visible la variation d'absorbance de NDF en absence et en présence d'une concentration croissante d'ADN donne une valeur négative de l'énergie libre de Gibbs ($\Delta G = -24.4$) cela indique la spontanéité de la réaction entre le NDF et l'ADN par interaction physique [33].

Le spectre électronique de dérivé ferrocénique révèle que quel que soit la portion d'ADN ajoutée, il y a toujours une diminution de l'absorbance, les changements d'absorbance se produisent généralement, lorsque les molécules se lient à l'ADN par intercalation [34].

3.3. Etude in silico

3.3.1. Optimisation structurale

La structure chimique de complexe NDF est optimisé par le programme Gaussian 09[35], en utilisant le niveau de théorie B3LYP [36, 37] avec la base 6-311++G(d,p) . La structure optimisée du ligand est présentée dans la figure(9).

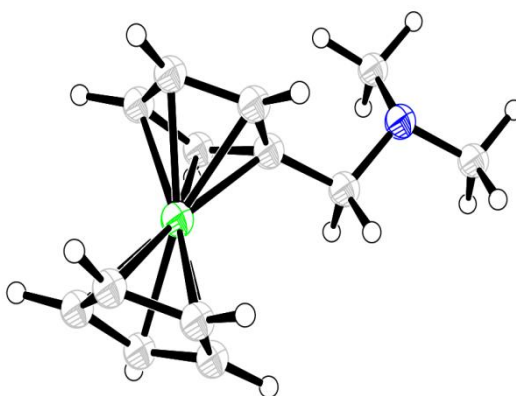


Fig.9. 3D conformation du ligand NDF (ORTEP View 03, V1.08); le code couleur est:

gris:carbon blanc: hydrogene blue: nitrogene vert: fer

3.3.2. Les orbitales HOME et LUMO

Valeur de la quantité d'énergie entre l'orbite moléculaire la plus occupée (HOMO) et l'orbite moléculaire la moins occupée (LUMO) pour le Diméthylaminométhylferrocène a été calculé à l'aide des méthodes DFT / B3LYP avec la base LanL2DZ. Fig 9. En fait, l'énergie d'ionisation est égale à (HOMO) et l'énergie d'affinité électronique à (LUMO). Aussi la différence entre HOMO - LUMO est appelé l'écart énergétique[38]. L'écart énergétique

indique la quantité de souplesse ou la dureté dans la molécule. Quelle que soit la quantité d'énergie utilisée, la molécule est plus molle et sa polarisabilité est plus grande.

Les valeurs des orbitales HOMO et LUMO et leur écart d'énergie (ΔE) obtenu par la méthode DFT avec la fonctionnelle B3LYP en utilisant la STO3G représenté dans la figure 10.

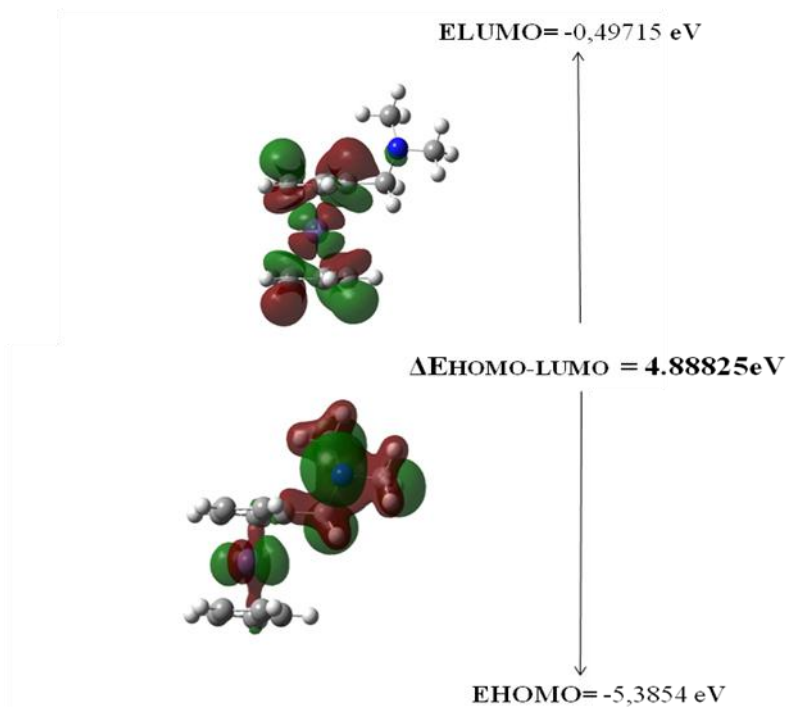


Fig.10. Les orbitales HOMO et LUMO et écart d'énergie (ΔE) obtenu par la méthode DFT/B3LYP/STO3G pour le dérivé NDF

On peut constater que l'orbitale moléculaire HOMO se répartie sur l'atome de fer, les atomes de carbone, d'oxygène et d'azote ; tandis que l'orbitale moléculaire LUMO se concentre principalement sur le ferrocène. La faible valeur de ΔE nous permet de conclure que la molécule NDF est réactive.

3.3.3. Etude par amarrage moléculaires

L'amarrage moléculaire par le logiciel AUTODOCK 4.2 docking software [39] de l'interaction de dérivé ferrocénique avec l'ADN permet d'obtenir les paramètres de cette interaction à savoir : l'énergie libre de liaison ΔG et la constante de liaison K .

La structure optimisée du ligand NDF et de l'ADN a été importée dans le logiciel AutoDock. Toutes les études d'amarrage ont été effectuées sur une micro-ordinateur Pentium 3.30 GHz et

RAM 4.00 Go MB avec le système d'exploitation Windows 7. La structure cristalline de l'ADN synthétique dodécamère (CpGpCpGpApApTpTpCpGpCpG) (PDB ID: 1w0t) sélectionné dans la banque de données sur les protéines (<http://www.rcsb.org/pdb>)[40] a été choisie comme récepteur pour étudier la liaison du ligand DMAM. Pour la structure de l'ADN, tous les atomes d'hydrogène et les charges sont ajoutés à l'ADN pour l'analyse de l'amarrage moléculaire. Pour les calculs d'amarrage, des algorithmes génétiques Lamarckiens ont été utilisés et la taille de la grille a été fixée à 50×50×50 avec un point séparé de 1.000 Å et une taille de pas de 0,372 centrée sur le site de liaison de l'ADN. Les centres de grille ont été fixés à X = 28,949, Y = 38,547 et Z = 24,342. L'expérience d'amarrage comprenait 25 essais d'amarrage. Les autres paramètres ont été laissés à leurs valeurs par défaut. La meilleure conformation a été sélectionnée avec l'énergie d'amarrage inférieure [41, 42].

Tableau 07 : conformation retenue (RUN24) de l'interaction DMAM-ADN et leur énergies libres ΔG et constantes de liaison K.

Conformation	ΔG (KJ.mol ⁻¹)	K (mol ⁻¹)
1	-22.07	2.647.10 ⁴

Selon les valeurs des énergies libres de liaison ΔG , la plus stable conformation est la conformation 1 avec une valeur de ΔG plus négative obtenue dans RUN24, et dans laquelle une liaison hydrogène est formée entre le NDF et l'ADN, figure 11.

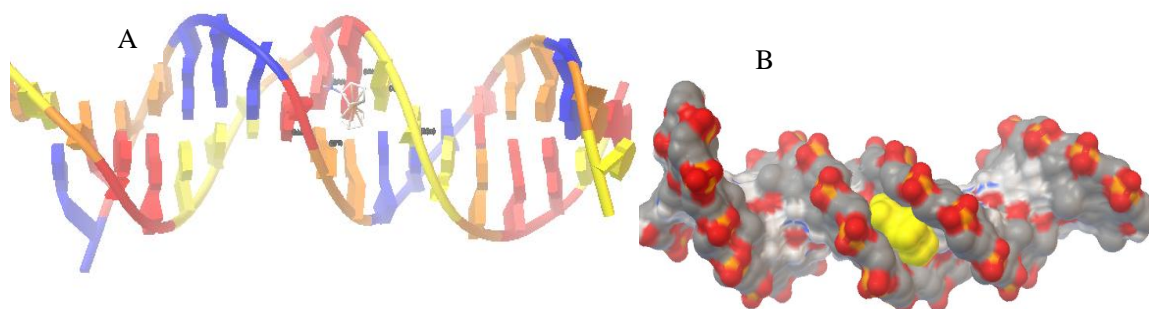


Fig.11. Interaction de NDF avec l'ADN : Amarrage moléculaire de l'interaction DMAM-ADN, désoxyadénosine (DA): rouge, désoxycytosine (DC): jaune, désoxyguanine (DG): bleu, désoxythymidine (DT) : brun foncé, (B) : Vue en surface de NDF amarré avec de l'ADN, Il montre que le DMAM est attaché dans le petit sillon par liaison H

Le NDF se lie avec l'ADN en formant une liaison hydrogène entre l'oxygène n°4 de deoxyadénine (DA) n°12 de la chaîne B d'ADN et l'Azote de DMAM.

4. CONCLUSION

Les résultats obtenus par l'étude *in silico* et *in vitro* montrent qu'il y a une interaction spontanée entre le dérivé N-N-Diméthylaminométhylferrocène et l'ADN qui se lie par intercalation ou par liaison électrostatique traduite par l'ordre de grandeur de la constante de liaison K et l'énergie libre de liaison ΔG .

D'ailleurs, L'étude *in silico* a montré que le NDF a formé une liaison hydrogène avec les différentes nucléotides de l'ADN. Ce résultat indique que le dérivé étudié est un médicament candidat pour lutter contre le cancer.

En effet, Les études d'interaction avec l'ADN par la spectroscopie UV-Vis et la voltamétrie cyclique révèlent que le NDF peut provoquer des changements conformationnels de l'ADN se qui peuvent ralentir le processus de la réplication cellulaire et finalement la mort cellulaire.

5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- [1] Hurley, L. H., Boyd, F. L. (1988). *DNA as target for drug action*. Trends Pharmacol. Sei. 9, 402-407
- [2] Lacave, R., Larsen, Ch-J., Robert, J. (2005). *Cancérologie fondamentale*, John LibbeyEurotext, Paris, 437p.
- [3] Lacroix, R., Sabatier, F., Digna, T., George, F., Sampol, J. (2009). *La leucémie myéloïde chronique*, 14 p
- [4] Schwab, M. (2011). *Encyclopedia of Cancer*. Ed: 3. Springer Science & Business Media, New York. 3934p
- [5] Ricco, A.J. (1997). *Chemical and Biological Sensors and Analytical Electrochemical Methods: Proceedings of the Symposium on Chemical and Biological Sensors and Analytical Electrochemical Methods*, The Electrochemical Society, 1100p
- [6] Görmen, M. (2010). Synthèse de composés organométalliques de la série du ferrocénophane et évaluation de leurs activités antiprolifératives sur les cellules du cancer du

sein et de la prostate, Cancer. Chimie ParisTech, 2010. Français, 244p

[7] Klajner, M. J. (2011). Organometallic compounds as a anti-cancer agents: interaction with DNA and migration in cell. Thèse de doctorat. Université de STRASBOURG. P05-06.

[8] Gulam, F. M., Manohar, V. L. (2014). Synthesis of ferrocene based organometallic compounds and antimicrobial activity. Journal of applied chemistry. 7: 27-32

[9] Shafqat, A. (2013). DNA interaction, Antibacterial and Antifungal studies of 3-nitrophenylferrocene. *J. Chem. Soc. Pak.* 35:3

[10] Didier Astruc.(2016). Why is Ferrocene so Exceptional? *Eur. J. Inorg. Chem.* 2017, 6–29
DOI: 10.1002/ejic.201600983

[11] Olivier. M.-G. (2009). ELECTROCHIMIE ET APPLICATIONS. EDITION 2009. p11

[12] Raufa, S., Gooding, J.J., Akhtar, K., Ghauri, M.A., Rahman, M., Anwar, M.A.

Khalid, A.M. (2005). Electrochemical approach of anticancer drugs–DNA interaction, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis **37**, 205–217

[13] Shah, A. (2010). *Redox Behavior and DNA Binding Studies of Some Electro active Compounds* Quaid-i-Azam University, Islamabad.

[14] Sirajuddin, M., Saqib, Ali., Amin, Badshah. (2013). Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence, spectroscopies and cyclic voltamètrie, Elseviers, jornal of photochemistry and photobiology B: Biology science direct, 124(1-19)

[15] Altaf, A.A., Lal, B., Khan,NBadshah, A., Ullah, Sh., Akbar, K .(2016).*Spectroscopic, Electrochemical, and In Silico Characterization of ComplexFormedbetween 2-Ferrocenylbenzoic Acid and DNA, Journal of Chemistry, Vol 2016 (2016), Article ID 7468951, 8 p.doi.org/10.1155/2016/7468951*

[16] Henni, M. (2017). Synthèse, caractérisation et évaluation in vitro de l'activité biologique et du pouvoir mutagène de quelques N-(ferrocenylmethyl) amino-benzonitrile. Thèse de doctorat. Uniiversiité Echahiid Hamma Lakhdar EL-OUED. 185p

[17] H. Nasiri, M. Forouzandeh, n M.J. Rasae, and F. Rahbarizadeh.(2005) ; Modified Salting-Out Method: High-Yield, High-Quality Genomic DNA Extraction From Whole Blood Using Laundry Detergent; Journal of Clinical Laboratory Analysis 19:229–232 (2005)

- [18] Glasel J. Validity of nucleic acid purities monitored by 260 nm/280 nm absorbance ratios. *Biotechniques*. 1995;8:62-63
- [19] Vijayalakshmi R, Kanthimathi M, Subramanian V, Nair BU. cleavage by a chromium (III) complex. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 271:731-734.
- [20] Lu X, Zhu K, Zhang M, Liu H, Kang J. Voltammetric studies of the interaction of transition-metal complexes with DNA: *J. Biochem. Biophys. Met*, 2002;52(3):189-200.
- [21] Ozsoz M, Erdem A, Kara P, Kerman K, Ozkan D. Electrochemical biosensor for the detection of interaction between arsenic trioxide and DNA based on guanine signal. *Electroanalysis*. 2003;15(7):613-619.
- [22] Feng, Q., Li, N. Q., Jiang, Y.Y. (1997). Electrochemical studies of porphyrin interacting with DNA and determination of DNA. *Anal. Chim. Acta.* , 344, 97.
- [23] Atkins PW. *Physical Chemistry*. Oxford University Press, Oxford, UK. 1986; 263-265
- [24] Ye H, Cande C, Stephanou NC, Jiang S, Gurbuxani S, Larochette N, Daugas E, Garrido C, Kroemer G, Wu H. DNA Binding Is Required for the Apoptogenic Action of Apoptosis Inducing Factor. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2002;9:680-684.
- [25] Daghriri H, Huq F, Beale P. Studies on activities, cell up take and DNA binding of four multinuclear complexes of the form: $[{\text{trans-PtCl(NH}_3)_2}]_2\mu\text{-}{\text{trans-Pd(NH}_3)_2\text{-}(H_2N(CH_2)_nNH_2)_2}]Cl_4$ where $n = 4\text{--}7$. *J. Inorg. Biochem.* 2004;98(11):1722-1733.
- [26] Afzal Shah, abdur rauf, Asad Ullah, Azeema Munir, Rumana Querishi, Iftikhar Ahmad, Muhammad Tahir Soomro, Zia-Ur-Rehman.(2013). Electrochemical investigations of unexplored anthraquinones and their DNA binding. *J. Electrochem. Sci. Eng.* 3(1), 19-27; doi:10,5599/jese.2012.0026
- [27] M.S. Ibrahim. (2001), Voltammetric studies of the interaction of nogalamycin antitumor drug with DNA. *Analytica Chimica Acta* 443 (2001) 63–72
- [28] Brett, C.M.A., Brett. A.M.O. (1993). *Electrochemistry : Principles, Methods and Applications*, Oxford Science University Publications, Oxford
- [29] Aslanoglu, M., Oge, N. (2005). Voltammetric, UV Absorption and Viscometric Studies of the Interaction of Norepinephrine with DNA, *Turk. J. Chem.* 29, 477-485.

-
- [30] Aslanoglu M, Ayne G. Voltammetric studies of the Interaction of quinacrine with DNA. *Anal. Bioanal. Chem.* 2004;380(4):658-663.
- [33] Friedli, C. (2002). *Chimie générale pour ingénieur*, PPUR presses polytechniques, 747p.
- [34] Can, Ozluer., Hayriye, Eda., Satana, Kara. (2014). Approche Electrochemical peut-il fournir un nouvel aperçu de la conception rationnelle de médicaments et conduirait à une meilleure compréhension de la mécanisme d'interaction entre les médicaments anti-cancéreux et de l'ADN, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, Elsevier 138 (2014) 36–4
- [35] Frisch MJ, *et al.* (2009) Gaussian, Inc., Wallingford CT. 2009.
- [36] Becke AD. Densityfunctional thermochemistry. III. The role of exact exchange *J. Chem. Phys.* 1993;98(7):5648-5662.
- [37] Miehlich B, Savin A, Stoll H, Preuss H. Results obtained with the correlation energy density functionals of Becke and Lee, Yang and Parr *Chem. Phys. Lett.* 1989;157(3-5):200-206.
- [38] ADELIO R. MATAMALA, ALEJANDRO A. ALARCO´ N.(2011) A Simple Model for the Calculation of HOMO and LUMO Energy Levels of Benzocatafusenes. *International Journal of Quantum Chemistry*, Vol 112, 1316–1322 (2012)
- [39] Morris GM, Ruth H, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, Olson AJ. Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *J. Comput. Chem.* 2009;30(16):2785-2791.
- [40] Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, Shindyalov IN, Bourne PE. The Protein Data Bank. *Nucl. Acids Res.* 2000;28(1): 235-242.
- [41] Bandyopadhyay N, Pradhan AB, Das S, *et al.* Synthesis, structure, DFT calculations, electrochemistry, fluorescence, DNA binding and molecular docking aspects of a novel oxime based ligand and its palladium (II) complex. *J Photochem Photobiol B Biol.* 2016;160:336–346.

[42] Guhathakurta B Basu P, Purohit CS, et al. Synthesis, characterization, structure, DNA binding aspects and molecular docking study of a novel Schiff base ligand and its bis(μ -chloro) bridged Cu(II) dimer. *Polyhedron*. 2017;126:195–204.

How to cite this article:

Adaika A, Lanez T. Lanez E. In vitro and in silico evaluation of anticancer activity of N,N-dimethylaminomethylferrocene. *J. Fundam. Appl. Sci.*, 2019, 11(2), 748-768.