

## Aktiviti Sitotoksik dan Kepilihan Sebatian Trifenilstanum(IV) *N*-Metil-*N*-Benzilditiokarbamat terhadap Sel Karsinoma Hepatosel (HepG2) dan Sel Ginjal Embrio Manusia (HEK293)

(Cytotoxic Activity and Selectivity of the Triphenyltin(IV) *N*-Methyl-*N*-Benzylthiocarbamate Compound against Hepatocellular Carcinoma (HepG2) and Human Embryonic Kidney (HEK293) Cells)

NORMAH AWANG<sup>1,2,\*</sup>, PUTRI MALAYA TASLIM<sup>2</sup> & NURUL FARAHANA KAMALUDIN<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Pusat Kajian Toksikologi dan Risiko Kesehatan, Fakulti Sains Kesehatan, Universiti Kebangsaan Malaysia, Jalan Raja Muda Abdul Aziz, 50300 Kuala Lumpur, Malaysia*

<sup>2</sup>*Program Kesehatan Persekitaran dan Keselamatan Industri, Fakulti Sains Kesehatan, Universiti Kebangsaan Malaysia, Jalan Raja Muda Abdul Aziz, 50300 Kuala Lumpur, Malaysia*

*Diserahkan: 26 Januari 2026/Diterima: 23 April 2026*

### ABSTRAK

Kanser hati, khususnya karsinoma hepatosel (HCC), merupakan antara penyebab utama kematian berkaitan kanser di peringkat global. Walaupun agen kemoterapi konvensional seperti 5-fluorourasil (5-FU) digunakan secara meluas, keberkesanannya sering dibatasi oleh ketoksikan sistemik dan perkembangan rintangan sel kanser. Oleh itu, pencarian agen antikanser baharu yang lebih berkesan dan memilih terhadap sel kanser tanpa menjejaskan sel normal amat diperlukan. Sebatian organostanum(IV) telah dikenal pasti mempunyai potensi sitotoksik yang tinggi pada kepekatan rendah. Kajian ini bertujuan menilai aktiviti sitotoksik sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil *N*-benzilditiokarbamat terhadap sel HCC manusia (HepG2), sebagai model sel kanser dan sel ginjal embrio manusia (HEK293), sebagai model sel normal. Penilaian sitotoksik dilakukan menggunakan asai MTT bagi menentukan nilai kepekatan perencatan median (IC<sub>50</sub>) selepas 24 jam rawatan, di samping pemerhatian mikroskopik perubahan morfologi sel bagi mengenal pasti mekanisme kematian sel. Keputusan menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> masing-masing ialah 0.70 μM (HepG2) dan 1.97 μM (HEK293), mencerminkan ketoksikan yang lebih tinggi terhadap sel kanser berbanding sel normal. Pemerhatian morfologi pada kepekatan IC<sub>50</sub> memperlihatkan ciri apoptosis seperti pengecutan sel dan pembentukan bleb membran. Indeks selektiviti yang diperoleh ialah 2.81, menandakan tahap memilih yang baik terhadap sel kanser. Secara keseluruhan, keputusan kajian ini menunjukkan bahawa sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat berpotensi sebagai calon agen antikanser yang baharu, sekali gus memerlukan kajian lanjutan yang merangkumi penilaian mekanisme molekular dan kajian *in vivo* bagi mengesahkan keberkesanan serta keselamatannya.

Kata kunci: Asai MTT; HEK293; HepG2; indeks memilih; trifenilstanum(IV)

### ABSTRACT

Liver cancer, particularly hepatocellular carcinoma (HCC), is one of the leading causes of cancer-related mortality worldwide. Although conventional chemotherapeutic agents such as 5-fluorouracil (5-FU) are widely used, their effectiveness is often limited by systemic toxicity and the development of cancer cell resistance. Therefore, the search for new anticancer agents that are more effective and selective toward cancer cells without affecting normal cells is highly needed. Organotin(IV) compounds have been reported to exhibit high cytotoxic potential even at low concentrations. This study aimed to evaluate the cytotoxic activity of triphenyltin(IV) *N*-methyl-*N*-benzylthiocarbamate against human HCC cells (HepG2) and human embryonic kidney cells (HEK293). Cytotoxicity was assessed using the MTT assay to determine the median inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) after 24 h of treatment, along with observation of cellular morphological changes to identify the mechanism of cell death. The results showed IC<sub>50</sub> values of 0.70 μM for HepG2 cells and 1.97 μM for HEK293 cells, indicating higher toxicity toward cancer cells compared with normal cells. Morphological observation at the IC<sub>50</sub> concentration showed apoptotic characteristics such as cell shrinkage and membrane blebbing. The selectivity index obtained was 2.81, indicating good selectivity toward cancer cells. Overall, these findings suggest that triphenyltin(IV) *N*-methyl-*N*-benzylthiocarbamate has potential as a candidate anticancer agent and warrants further investigation through molecular mechanism evaluation and *in vivo* studies.

Keywords: HEK293; HepG2; MTT assay; selectivity index; triphenyltin(IV)

## PENGENALAN

Kanser kekal sebagai antara cabaran kesihatan awam paling kritikal di peringkat global dan dijangka terus menjadi penyumbang utama kepada kadar kematian dunia. Unjuran terkini menunjukkan bahawa jumlah kematian akibat kanser secara global dijangka meningkat sehingga 18.2 juta kes menjelang tahun 2050, selari dengan peningkatan beban penyakit tidak berjangkit dan perubahan demografi dunia (National Cancer Institute 2025; WHO 2022). Berdasarkan laporan GLOBOCAN 2022, kanser paru-paru mencatatkan insiden tertinggi dengan 2.5 juta kes baharu, diikuti oleh kanser payudara, kolorektal, prostat, perut dan hati, sekali gus menggambarkan keperluan mendesak terhadap strategi pencegahan dan rawatan yang lebih berkesan (Sung et al. 2024). Laporan terkini turut menunjukkan bahawa HCC kekal sebagai antara penyumbang utama kematian berkaitan kanser dengan kadar kelangsungan hidup selama lima tahun yang masih rendah walaupun terdapat kemajuan dalam terapi sasaran dan imunoterapi (Bray et al. 2024; Rungay et al. 2022).

Kanser hati, khususnya HCC, merupakan antara penyumbang utama kepada kematian berkaitan kanser di seluruh dunia dan berada dalam tiga teratas kanser dengan kadar kematian global tertinggi (GLOBOCAN 2022; Rungay et al. 2024). Insiden HCC dijangka meningkat secara signifikan dengan unjuran pertambahan sebanyak 76% menjelang tahun 2050, didorong oleh peningkatan jangkitan hepatitis B dan C, prevalens penyakit hati berlemak bukan alkohol (NAFLD), obesiti serta penuaan populasi global (Llovet et al. 2024; WHO 2022). Walaupun kemoterapi dan terapi sasaran masih digunakan secara meluas, keberkesanannya sering dibatasi oleh ketoksikan sistemik, keberkesanan terhad serta perkembangan rintangan sel kanser, yang akhirnya menjejaskan hasil rawatan jangka panjang (Kudo 2024; Llovet et al. 2024).

Dalam usaha mengatasi kekangan terapi konvensional ini, sebatian organostanum(IV) telah dikenal pasti sebagai kelas sebatian berpotensi tinggi dalam pembangunan agen antikanser generasi baharu (Abd Aziz et al. 2023; Adeyemi et al. 2020). Kelebihan utama sebatian ini terletak pada kebolehsuaian struktur kimia yang membolehkan pengubahsuaian ligan untuk meningkatkan selektiviti terhadap sel kanser serta mengurangkan ketoksikan terhadap sel normal. Kajian terkini melaporkan bahawa sebatian organostanum(IV) menunjukkan aktiviti sitotoksik yang tinggi pada kepekatan rendah, di samping menunjukkan profil keselamatan yang lebih baik berbanding sesetengah agen kemoterapi konvensional (Rasli et al. 2023; Syed Annuar et al. 2022). Tambahan pula, kepelbagaian struktur, sifat redoks dan aktiviti pemangkin sebatian ini memberikan kefleksibilitan yang tinggi dalam reka bentuk molekul terapeutik yang lebih bersasar.

Sebatian trifenilstanum(IV) sebagai subkumpulan utama triorganostanum menonjolkan potensi sitotoksik yang unggul hasil daripada kehadiran tiga kumpulan fenil yang meningkatkan lipofilisiti, kestabilan struktur

dan keupayaan penembusan membran sel (Anasamy et al. 2020; Syed Annuar et al. 2021). Dalam sebatian yang mengandungi ligan ditiokarbamat, ligan tersebut lazimnya bertindak sebagai ligan bidentat melalui atom sulfur, membentuk ikatan koordinasi Sn-S yang kuat dan stabil dalam persekitaran biologi. Khususnya, sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat menggabungkan rangka triorganostanum dengan ligan ditiokarbamat berpengganti *N*-metil dan *N*-benzil, yang menyumbang kepada kepelbagaian geometri serta sifat elektronik yang kondusif untuk interaksi dengan komponen sel (Abd Aziz et al. 2023; Awang et al. 2025).

Selain itu, kehadiran ligan ditiokarbamat dalam kompleks organostanum(IV) telah dilaporkan menghasilkan kesan sinergistik yang signifikan dengan aktiviti sitotoksik kompleks adalah lebih tinggi berbanding komponen individu (Adeyemi et al. 2019; Haezam et al. 2021). Kesan sinergistik ini berupaya meningkatkan keberkesanan antikanser (Tronina et al. 2023). Selain itu, ia juga berpotensi mengurangkan kebarangkalian perkembangan rintangan ubat dalam sel kanser yang merupakan salah satu cabaran utama dalam rawatan kanser moden (Banti 2019). Walau bagaimanapun, maklumat khusus berkaitan selektiviti sitotoksik sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat terhadap sel HCC berbanding sel normal masih terhad dan memerlukan penilaian uji kaji yang sistematik.

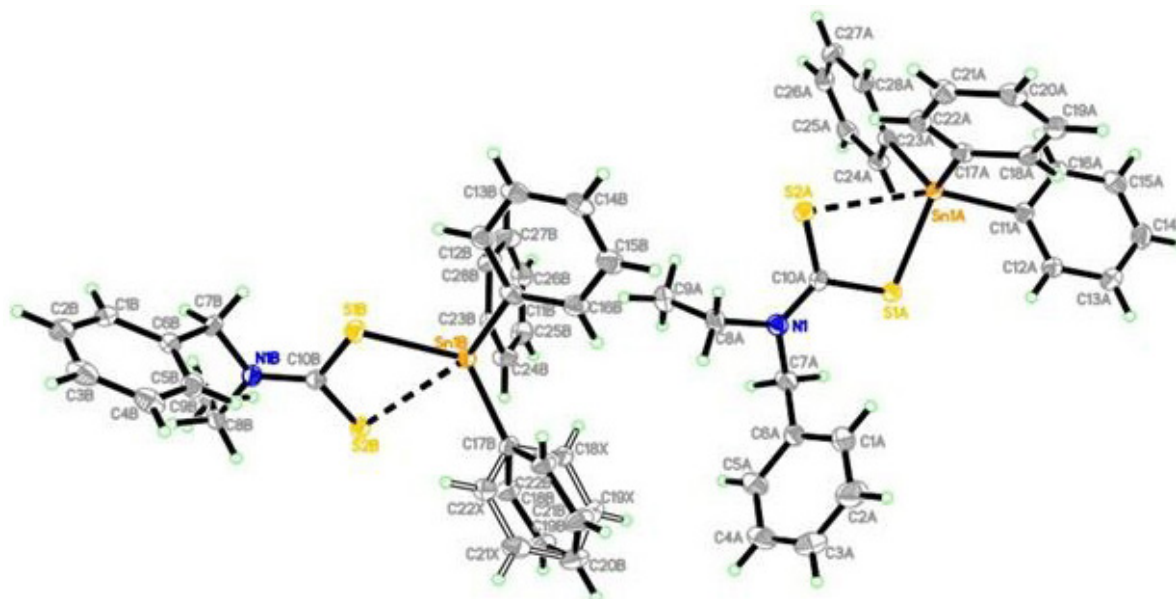
Sehubungan itu, kajian ini bertujuan untuk menilai aktiviti sitotoksik serta indeks selektiviti sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat terhadap sel HepG2 dan sel HEK293 secara *in vitro*. Keputusan kajian ini diharap dapat menyumbang kepada pemahaman yang lebih mendalam mengenai potensi sebatian triorganostanum sebagai calon agen antikanser yang lebih selektif, berkesan dan berprofil keselamatan yang lebih baik.

## METODOLOGI

### PENYEDIAAN LARUTAN STOK

Sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat (Rajah 1) digunakan dalam penilaian sitotoksikiti dan analisis perubahan morfologi sel. Sebanyak 0.0135 g sebatian ditimbang dengan tepat dan dilarutkan dalam 1.0 mL dimetil sulfoksida (DMSO) bagi menghasilkan larutan stok berkepekatan 20 mM. Larutan stok ini kemudiannya dicairkan untuk memperoleh kepekatan 1000  $\mu$ M.

Sebatian menadion digunakan sebagai kawalan positif. Bagi menghasilkan larutan stok berkepekatan 20 mM, sebanyak 0.00344 g serbuk menadion dilarutkan dalam 1.0 mL DMSO sehingga homogen sepenuhnya. Larutan tersebut dilindungi daripada cahaya dengan pembalutan kerajang aluminium. Semua larutan stok disimpan pada suhu  $-20$  °C bagi mengekalkan kestabilan kimia.



RAJAH 1. Struktur molekul sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat

#### SEL SELANJAR

Sel selanjar yang digunakan ialah sel karsinoma hepatosel manusia (HepG2) dan sel ginjal embrio manusia (HEK293). Kedua-dua sel selanjar ini diperolehi daripada *American Type Culture Collection* (ATCC 2021, 2020) dan dikultur di Makmal Bioserasi dan Bioteknologi, Fakulti Sains Kesihatan, Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM), Kampus Kuala Lumpur.

#### KULTUR DAN PENYEDIAAN SEL SELANJAR

Semua prosedur kultur sel dijalankan di dalam kabinet aliran udara laminar di bawah keadaan aseptik. Peralatan disterilkan menggunakan sinaran ultraungu (UV) selama 10 minit bagi mencegah pencemaran silang. Sel dikultur dalam *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) yang dituras dan diperkaya dengan 10% serum lembu fetus (FBS) serta antibiotik penisilin–streptomisin.

Inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C dalam persekitaran 5% CO<sub>2</sub> menggunakan inkubator CO<sub>2</sub> Thermo Scientific Heracell VIOS 160i CO<sub>2</sub> Incubator (Thermo Fisher Scientific, Amerika Syarikat). Pertumbuhan, morfologi dan tahap kepadatan sel dipantau menggunakan mikroskop cahaya songsang. Selepas 2-3 hari, subkultur dilakukan dengan menyingkirkan medium terpakai, diikuti oleh pencucian menggunakan larutan penimbal fosfat (PBS) sebelum proses tripsinisasi. Larutan Tripsin–EDTA (0.25%) sebanyak 1-2 mL ditambah untuk menanggalkan sel daripada permukaan kelalang kultur.

Sel yang tertanggal dikumpulkan dan diempar menggunakan Eppendorf 5810R Centrifuge (Eppendorf, Jerman) selama 5 minit, masing-masing pada 1700 rpm bagi HepG2 dan 1500 rpm bagi HEK293. Supernatan dibuang

dan pelet sel disuspensikan semula dalam medium kultur. Pengiraan sel dilakukan bagi memastikan kepekatan akhir sel hidup diselaraskan kepada  $5 \times 10^4$  sel/mL dalam isi padu 8000  $\mu$ L medium. Kelalang kultur dilabel mengikut nombor laluan.

#### PENILAIAN KEVIABELAN SEL MENGGUNAKAN ASAI MTT

Penilaian sitotoksiti dilakukan menggunakan asai 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide (MTT) seperti yang diterangkan oleh Mosmann (1983). Kepekatan sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat (Rajah 1) dicairkan melalui pencairan bersiri dengan kepekatan maksimum 5  $\mu$ M. Menadion dengan kepekatan tertinggi sebanyak 50  $\mu$ M dan sel tanpa rawatan masing-masing digunakan sebagai kawalan positif dan negatif.

Sebanyak 200  $\mu$ L sel HepG2 dan sel HEK293 disemai ke dalam plat mikro 96-telaga pada ketumpatan  $5 \times 10^5$  sel/mL dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dengan 5% CO<sub>2</sub> bagi membolehkan pelekatan sel berlaku. Sel seterusnya dirawat dengan sebatian rawatan pada julat kepekatan antara 0 - 5  $\mu$ M dan diinkubasi selama 24 jam. Selepas tempoh rawatan selama 24 jam, sebanyak 20  $\mu$ L larutan MTT ditambah ke setiap telaga dan plat diinkubasi selama 4 jam bagi membolehkan pembentukan kristal formazan.

Supernatan sebanyak 180  $\mu$ L disingkirkan terlebih dahulu. Kemudian, 180  $\mu$ L DMSO ditambah ke dalam setiap telaga untuk melarutkan kristal formazan, diikuti inkubasi selama 15 minit. Nilai serapan diukur menggunakan pembaca plat ELISA pada panjang gelombang 570 nm. Peratusan keviabelan sel diplotkan terhadap kepekatan

sebatian dan nilai  $IC_{50}$  ditentukan sebagai kepekatan yang menyebabkan perencatan 50% aktiviti populasi sel terawat berbanding kawalan negatif.

#### PENILAIAN PERUBAHAN MORFOLOGI SEL

Sel HepG2 dan HEK293 dirawat berdasarkan nilai  $IC_{50}$  masing-masing yang diperoleh daripada asai MTT dengan tujuan untuk mengaruh kira-kira 50% kematian sel dalam tempoh 24 jam. Sel yang dirawat dengan menadion digunakan sebagai kawalan positif, manakala sel tanpa rawatan berfungsi sebagai kawalan negatif. Proses pembersihan sel dilakukan menggunakan kepekatan sel yang sama seperti dalam prosedur asai MTT iaitu  $5 \times 10^5$  sel/mL, namun dengan isi padu sebanyak 1000  $\mu$ L bagi setiap telaga menggunakan plat kultur 6-telaga. Selepas tempoh pengeraman, perubahan morfologi sel yang berkaitan dengan kematian sel diperhatikan menggunakan mikroskop cahaya songsang pada pembesaran  $10\times$ .

#### PENGIRAAN INDEKS SELEKTIVITI

Indeks selektiviti (SI) ditentukan dengan membahagikan nilai  $IC_{50}$  sel normal kepada nilai  $IC_{50}$  sel kanser (Badisa et al. 2009; Suffness & Pezzuto 1990). Dalam kajian ini, nilai  $IC_{50}$  bagi sel HEK293 yang diperoleh daripada asai MTT dibahagikan dengan nilai  $IC_{50}$  bagi sel HepG2. Nisbah ini mencerminkan keupayaan sebatian untuk menyasarkan sel kanser berbanding sel normal. Nilai SI melebihi 1.0 menunjukkan tahap selektiviti yang lebih baik terhadap sel kanser, manakala nilai SI kurang daripada 1.0 menandakan ketoksikan yang lebih tinggi terhadap sel normal (Badisa et al. 2009; Nordin, Othman & Abdullah 2018). Parameter ini digunakan secara meluas untuk menilai potensi selektiviti dan keselamatan awal agen terapeutik antikanser.

#### HASIL DAN PERBINCANGAN

Kajian ini menjelaskan secara kuantitatif aktiviti sitotoksik sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat terhadap sel karsinoma hepatosel manusia (HepG2) dan sel ginjal embrio manusia (HEK293) menggunakan asai MTT. Keputusan yang diperoleh menunjukkan bahawa sebatian ini mengaruh kesan sitotoksik yang kuat dan bergantung kepada kepekatan, dengan perencatan 50% populasi sel HepG2 dan HEK293 masing-masing dicapai pada kepekatan 0.70  $\mu$ M dan 1.97  $\mu$ M selepas 24 jam rawatan. Seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 3 dan 5, keupayaan sebatian ini untuk menghalang proliferasi sel pada kepekatan mikromolar yang rendah menandakan

potensi biologi yang signifikan. Bagi tujuan pengesahan ujian, menadion yang digunakan sebagai kawalan positif (Rajah 2 dan 4) dalam kajian ini menunjukkan pola sitotoksik yang tekal dan mengesahkan keberfungsian sistem asai yang digunakan. Ringkasan nilai  $IC_{50}$  bagi sebatian kajian serta kawalan positif menadion dipaparkan dalam Jadual 1 dan 2, sekali gus membolehkan perbandingan langsung tahap keberkesanan sitotoksik antara kedua-dua agen.

Keputusan kajian ini turut menunjukkan bahawa sebatian kajian menghasilkan kesan sitotoksik yang lebih ketara terhadap sel selanjara HepG2 berbanding sel HEK293, berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh selepas 24 jam rawatan bagi kedua-dua sel selanjara. Perbezaan tahap sitotoksik ini mencerminkan keupayaan selektif sebatian dalam menyasarkan sel kanser hati berbanding sel normal, yang seterusnya menyumbang kepada nilai indeks selektiviti (SI) yang lebih tinggi. Selain itu, kestabilan relatif ikatan antara ligan dan Sn, khususnya ikatan Sn-N dan Sn-S serta kadar penguraian hidrolitik yang perlahan dipercayai memainkan peranan penting dalam menyumbang kepada aktiviti sitotoksik sebatian triorganostanum (Syed Annuar et al. 2021).

Tambahan pula, sebatian triorganostanum mempunyai tahap lipofilisiti yang tinggi disebabkan keluasan permukaan molekul yang lebih besar. Ciri ini meningkatkan keupayaan sebatian untuk menembusi membran sel dan berinteraksi dengan komponen intrasel, sekali gus berpotensi meningkatkan keberkesanan terhadap sel kanser. Dalam konteks ini, sifat lipofilisiti dan kebolehtelapan membran boleh menyumbang kepada peningkatan nilai SI dengan sebatian triorganostanum berkemungkinan menunjukkan selektiviti yang lebih tinggi disebabkan keupayaannya untuk memberikan kesan sitotoksik yang lebih dominan terhadap sel kanser berbanding sel normal (Anasamy et al. 2020). Pemerhatian ini disokong oleh kajian terdahulu yang melaporkan bahawa sebatian ini menunjukkan aktiviti toksik yang tinggi terhadap pelbagai sel selanjara kanser, termasuk kanser paru-paru, ovari, prostat, melanoma, kolon dan payudara (Haezam et al. 2021).

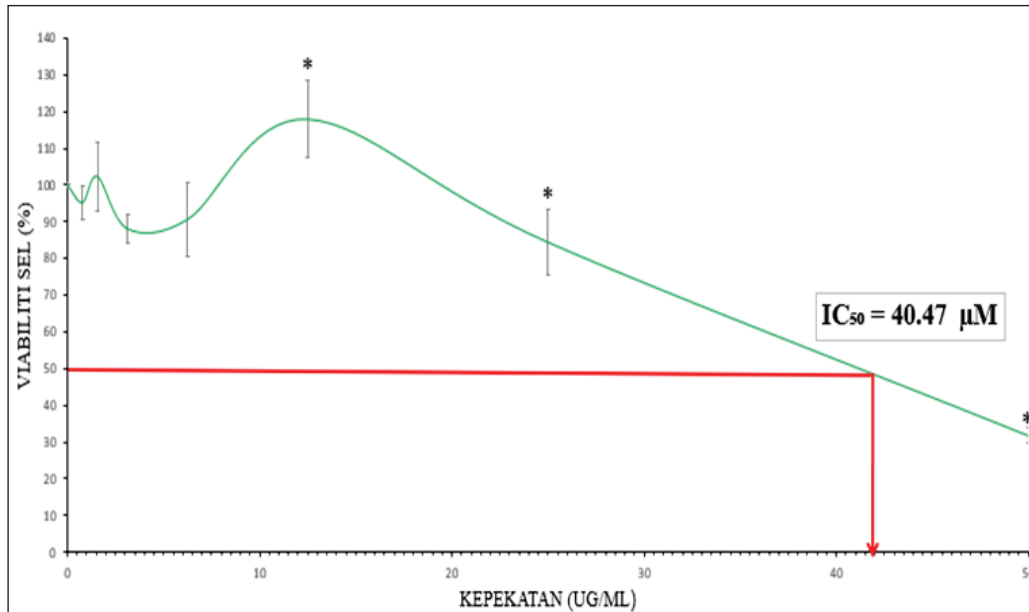
Penilaian morfologi telah dijalankan ke atas sel HepG2 dan HEK293 yang dirawat pada kepekatan  $IC_{50}$  masing-masing bagi sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat, iaitu 0.70  $\mu$ M dan 1.97  $\mu$ M, seperti yang ditentukan melalui asai MTT. Rajah 6 menunjukkan perubahan morfologi yang diperhatikan pada sel HepG2 selepas 24 jam pendedahan kepada sebatian kajian dengan menadion digunakan sebagai kawalan positif.

JADUAL 1. Nilai  $IC_{50}$  sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat terhadap sel HepG2 dan HEK293

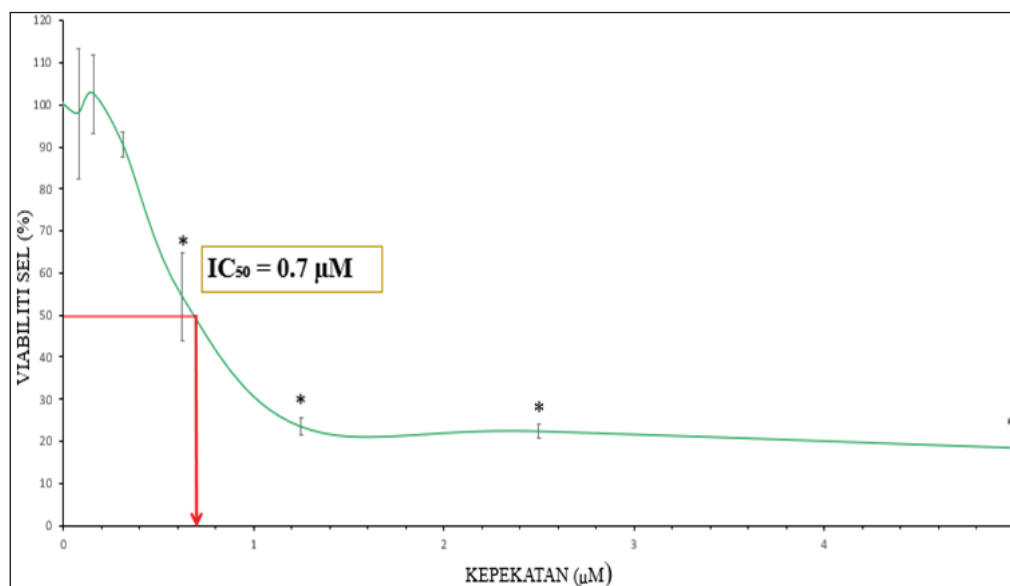
Sel selanjara	Nilai $IC_{50}$ ( $IC_{50} \pm$ S.E.M), $\mu$ M
HepG2	0.70 $\pm$ 0.16
HEK293	1.97 $\pm$ 0.48

JADUAL 2. Nilai  $IC_{50}$  menadion terhadap sel HepG2 dan HEK293

Sel selanjar	Nilai $IC_{50}$ ( $IC_{50} \pm S.E.M.$ ), $\mu M$
HepG2	$40.47 \pm 3.00$
HEK293	$37.67 \pm 1.53$

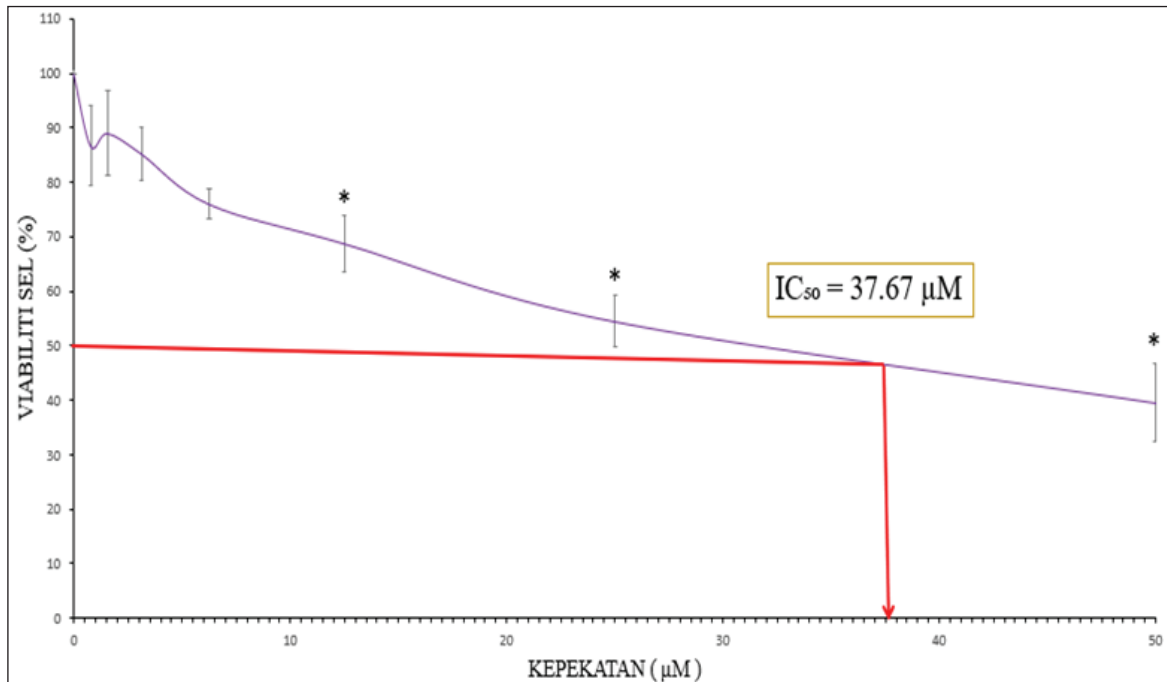


Data menunjukkan peratusan keviabelan sel (%) dalam bentuk  $\text{min} \pm \text{S.E.M.}$ , diperoleh daripada tiga ulangan uji kaji bebas. Perbezaan dianggap signifikan secara statistik ( $p < 0.05$ ) berbanding kawalan negatif.

RAJAH 2. Kesan sitotoksik menadion terhadap sel selanjar HepG2 selepas 24 jam rawatan pada kepekatan maksimum  $50.000 \mu M$ 

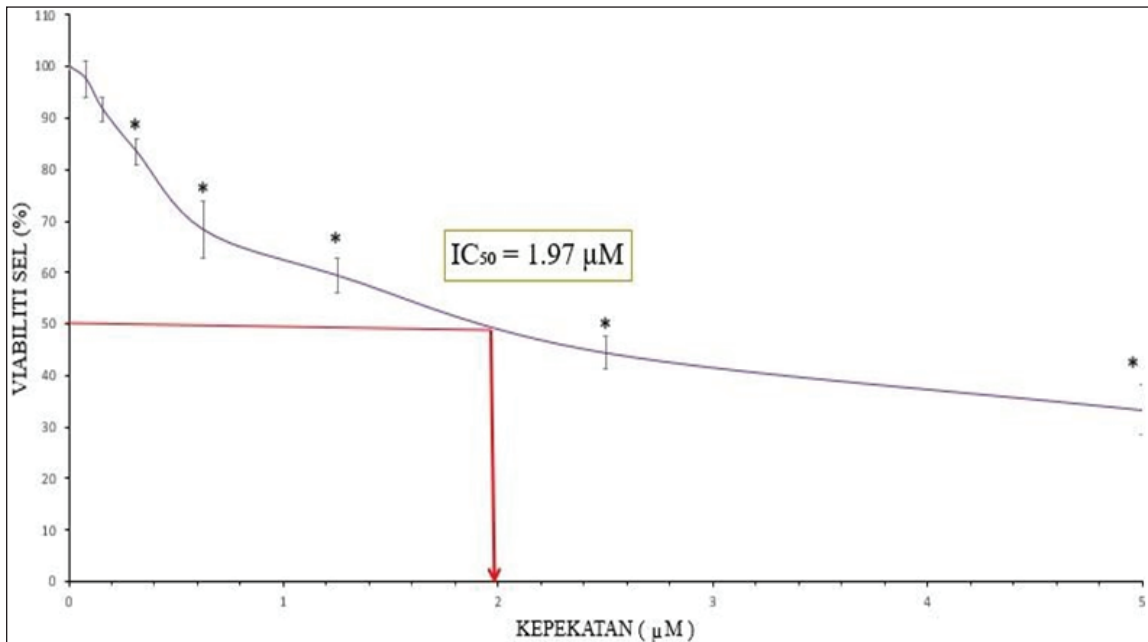
Data menunjukkan peratusan keviabelan sel (%) dalam bentuk  $\text{min} \pm \text{S.E.M.}$ , diperoleh daripada tiga ulangan uji kaji bebas. Perbezaan dianggap signifikan secara statistik ( $p < 0.05$ ) berbanding kawalan negatif.

RAJAH 3. Kesan sitotoksik sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat terhadap sel selanjar HepG2 selepas 24 jam rawatan pada kepekatan tertinggi  $5.000 \mu M$



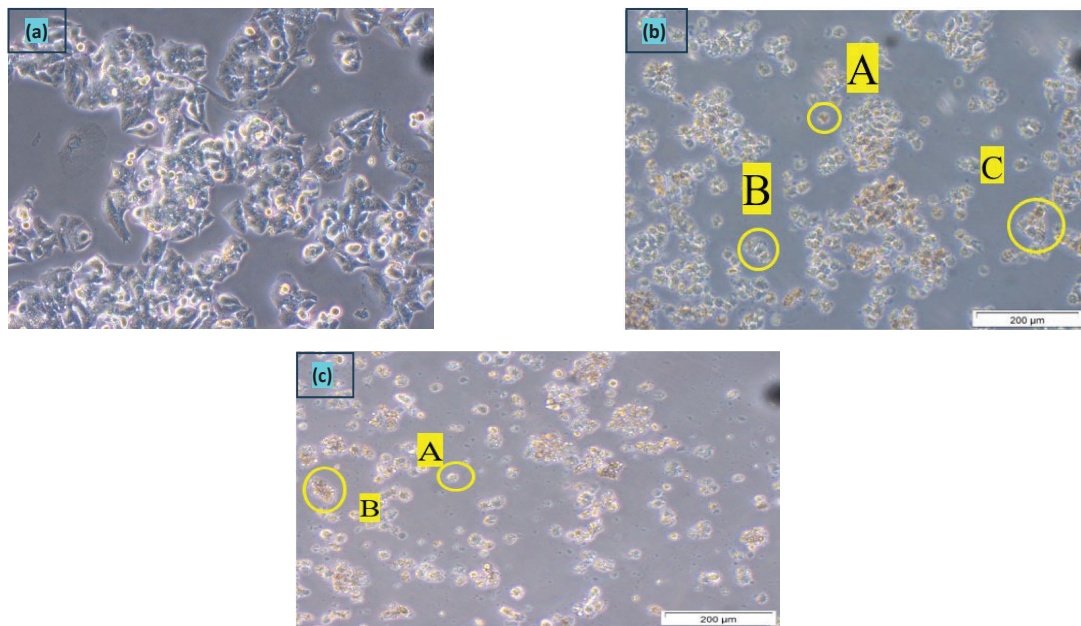
Data menunjukkan peratusan keviabelan sel (%) dalam bentuk min  $\pm$  S.E.M., diperoleh daripada tiga ulangan uji kaji bebas. Perbezaan dianggap signifikan secara statistik ( $p < 0.05$ ) berbanding kawalan negatif.

RAJAH 4. Kesan sitotoksik sebatian menadion terhadap sel selangar HEK293 selepas 24 jam rawatan pada kepekatan tertinggi 50.000  $\mu\text{M}$ .

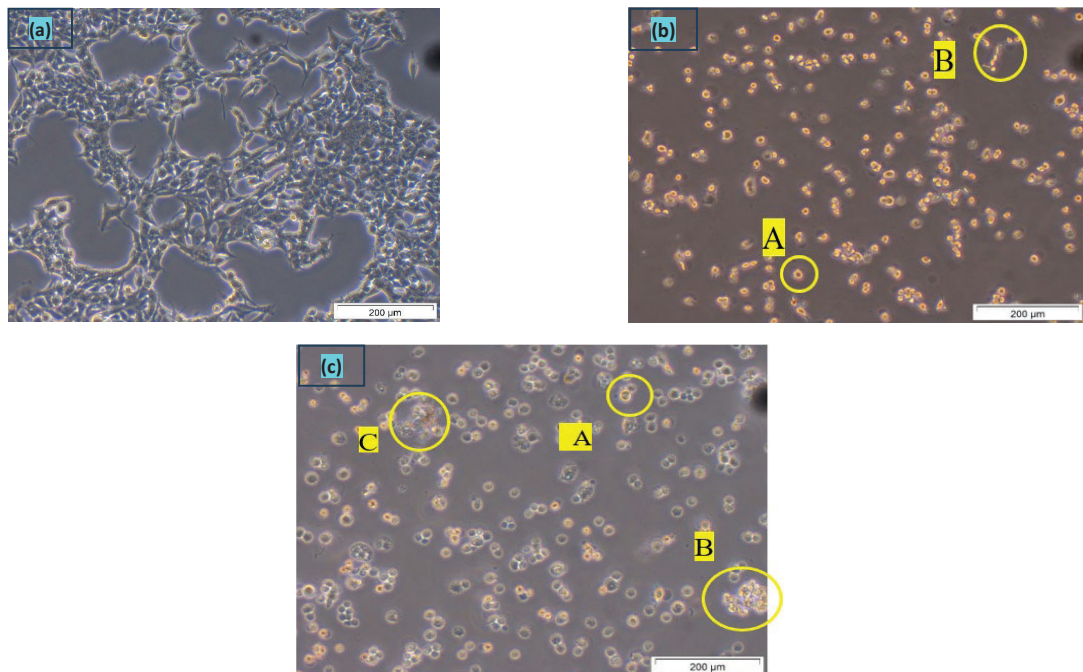


Data menunjukkan peratusan keviabelan sel (%) dalam bentuk min  $\pm$  S.E.M., diperoleh daripada tiga ulangan uji kaji bebas. Perbezaan dianggap signifikan secara statistik ( $p < 0.05$ ) berbanding kawalan negatif.

RAJAH 5. Kesan sitotoksik sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat terhadap sel selangar HEK293 selepas 24 jam rawatan pada kepekatan tertinggi 5.000  $\mu\text{M}$ .



RAJAH 6. Perubahan morfologi sel HepG2 yang diperhatikan selepas 24 jam menggunakan mikroskop cahaya songsang (pembesaran  $\times 10$ ). Pemerhatian merangkumi (a) sel tanpa rawatan, (b) sel yang dirawat dengan menadion dan (c) sel yang dirawat dengan sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat. Ciri utama apoptosis yang dikenal pasti termasuk pembentukan badan apoptosis (A), pengecutan sel (B), pembentukan bleb membran (C) serta pembengkakan sel



RAJAH 7. Perubahan morfologi sel HEK293 yang diperhatikan selepas 24 jam menggunakan mikroskop cahaya songsang (pembesaran  $\times 10$ ). Pemerhatian merangkumi (a) sel tanpa rawatan, (b) sel yang dirawat dengan menadion dan (c) sel yang dirawat dengan sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat. Ciri utama apoptosis yang dikenal pasti termasuk pembentukan badan apoptosis (A), pengecutan sel (B), pembentukan bleb membran (C) serta pembengkakan sel

Berdasarkan analisis pengenalpastian morfologi yang dijalankan, kedua-dua sel selanjar HepG2 dan HEK293 yang dirawat dengan sebatian kajian serta kawalan positif menadion menunjukkan perubahan morfologi yang ketara selepas 24 jam pendedahan. Pemerhatian ini dilakukan pada kepekatan  $IC_{50}$  yang diperoleh daripada penilaian sitotoksiti menggunakan asai MTT. Antara perubahan morfologi yang dikenal pasti termasuk ciri kematian sel secara apoptosis, seperti pengecutan sel, pembentukan bleb membran plasma dan penghasilan badan apoptosis.

Kewujudan ciri nekrosis dalam kajian ini boleh dijelaskan oleh beberapa faktor. Pertama, pada kepekatan rawatan yang tinggi atau pendedahan yang berpanjangan, kerosakan sel menjadi terlalu teruk sehingga mekanisme apoptosis tidak lagi dapat dikawal, lalu mendorong sel mengalami nekrosis. Kedua, tekanan oksidatif yang melampau akibat penghasilan spesies oksigen reaktif (ROS) boleh merosakkan membran sel dan organel, seterusnya menyebabkan pembengkakan dan lisis sel. Selain itu, gangguan terhadap fungsi mitokondria juga boleh menyebabkan kegagalan penghasilan tenaga (ATP) yang merupakan faktor penting dalam peralihan daripada apoptosis kepada nekrosis. Pemerhatian ciri apoptosis seperti pembentukan bleb membran dan badan apoptosis adalah selari dengan laporan terkini yang menyatakan bahawa kompleks logam berligan ditiokarbamat mampu mengaktifkan laluan apoptosis intrinsik secara berkesan dalam sel kanser (Singh & Lim 2024; Tronina et al. 2023).

Sebatian yang berupaya mengaruh kematian sel melalui mekanisme apoptosis serta mengganggu fasa kitar sel mempunyai potensi tinggi untuk dibangunkan sebagai agen antikanser yang berkesan (Rasli et al. 2023). Dalam kajian ini, pemerhatian yang dilakukan terhadap sel selepas rawatan menggunakan sebatian organostanum(IV) ditiokarbamat selama 24 jam kebanyakannya menunjukkan ciri kematian sel secara apoptosis. Pemerhatian ini selari dengan kajian sebelum ini yang melaporkan bahawa sebatian organostanum(IV) ditiokarbamat mengaruh kematian sel secara apoptosis pada peratusan yang tinggi, manakala peratusan sel nekrosis adalah minimum (Haezam et al. 2021).

Dari segi selektiviti, Indeks Selektiviti (SI) yang melebihi 1.0 menunjukkan bahawa sesuatu sebatian adalah lebih selektif terhadap sel kanser berbanding sel normal, sekali gus mencerminkan profil keselamatan yang lebih

baik (Tronina et al. 2023). Seperti yang ditunjukkan dalam Jadual 2, nilai SI yang diperoleh bagi sebatian kajian ialah 2.81, menandakan aktiviti sitotoksik yang bersifat selektif. Keputusan ini mengesahkan bahawa sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat menghasilkan kesan sitotoksik yang lebih tinggi terhadap sel kanser HepG2 berbanding sel normal HEK293, sekali gus menyokong potensinya sebagai calon agen antikanser.

Dalam kajian ini, nilai Indeks Selektiviti (SI) sebanyak 2.81 dengan jelas menunjukkan bahawa sebatian kajian lebih cenderung mengaruh kematian sel kanser berbanding sel normal, sekali gus mencerminkan profil selektiviti yang menggalakkan. Nilai indeks selektiviti melebihi 2.0 dianggap sebagai petunjuk awal yang baik bagi potensi terapeutik dan keselamatan relatif sesuatu agen antikanser pada peringkat praklinikal (Matotoka & Masoko 2025). Keputusan ini adalah sejajar dengan laporan oleh Anasamy (2020) yang menunjukkan bahawa sebatian triorganostanum bukan sahaja menunjukkan tahap selektiviti yang lebih tinggi berbanding Cisplatin (SI = 1.2) menggunakan sel HepG2 dan HEK293, malah turut menunjukkan keupayaan untuk mengatasi isu rintangan terhadap ubat berasaskan platinum.

Tahap selektiviti yang diperhatikan ini menonjolkan kelebihan farmakologi sebatian triorganostanum dari segi keseimbangan antara keberkesanan sitotoksik terhadap sel kanser dan pengurangan ketoksikan terhadap sel normal. Pemilihan sel HepG2 adalah sesuai kerana hati memainkan peranan penting dalam metabolisme xenobiotik, manakala sel HEK293 digunakan sebagai model sel normal kerana mudah dikultur dan mempunyai pertumbuhan yang stabil.

Keputusan ini menunjukkan bahawa sebatian triorganostanum mempunyai tahap selektiviti yang lebih tinggi berbanding cisplatin serta berpotensi mengatasi masalah rintangan terhadap ubat berasaskan platinum yang sering berlaku dalam rawatan kanser konvensional. Penekanan terhadap perbandingan ini dalam kesimpulan adalah berdasarkan rujukan kepada laporan kajian terdahulu sebagai penanda aras keberkesanan, walaupun cisplatin tidak digunakan sebagai kawalan positif dalam kajian ini. Pendekatan ini diambil bagi memberikan konteks terhadap potensi sebatian yang dikaji; namun demikian, ketiadaan kawalan positif mengehadkan keupayaan untuk membuat perbandingan langsung dan kajian lanjutan yang merangkumi cisplatin sebagai kawalan adalah disarankan bagi pengesahan yang lebih kukuh.

JADUAL 3. Nilai indeks selektiviti bagi sebatian trifenilstanum(IV) *N*-metil-*N*-benzilditiokarbamat (TPNM) dan menadion

Sebatian	Nilai $IC_{50}$ HepG2, $\mu$ M	Nilai $IC_{50}$ HEK293, $\mu$ M	Indeks selektiviti
TPNM	0.70	1.97	2.81
Menadion	40.47	37.67	0.93

## KESIMPULAN

Dalam kajian ini, nilai Indeks Selektiviti (SI) sebanyak 2.82 dengan jelas menunjukkan bahawa sebatian kajian mempunyai keupayaan tinggi untuk menyasarkan sel kanser secara selektif, di samping mengekalkan tahap ketoksikan yang lebih rendah terhadap sel normal. Keupayaan ini merupakan satu ciri kritikal dalam pembangunan agen antikanser yang berkesan dan selamat. Keputusan ini adalah tekal dengan laporan oleh Anasamy (2020) yang menunjukkan bahawa sebatian triorganostanum menunjukkan tahap selektiviti yang lebih unggul berbanding cisplatin, di samping berupaya mengatasi masalah rintangan terhadap ubat berasaskan platinum yang lazim berlaku dalam rawatan kanser konvensional.

Tahap selektiviti yang tinggi dalam kajian ini menunjukkan kelebihan farmakologi sebatian triorganostanum, terutamanya dalam mengoptimalkan sitotoksiti terhadap sel kanser di samping meminimumkan kesan terhadap sel normal. Keputusan ini juga memperkukuh potensi sebatian tersebut sebagai agen antikanser berdaya saing dengan profil terapeutik yang lebih baik. Namun begitu, kajian lanjut berkaitan mekanisme molekul sebatian dan penilaian secara *in vivo* amat diperlukan bagi mengesahkan kesesuaiannya untuk aplikasi klinikal.

## PENGHARGAAN

Kami merakamkan setinggi-tinggi penghargaan kepada Kementerian Pengajian Tinggi, Malaysia atas pembiayaan kajian ini melalui geran FGSR/1/2021/STG04/UKM/02/5. Penghargaan juga ditujukan kepada Fakulti Sains Kesihatan, Universiti Kebangsaan Malaysia atas penyediaan kemudahan makmal dan sokongan infrastruktur yang membolehkan kajian ini dilaksanakan dengan jayanya.

## RUJUKAN

- Abd Aziz, N.A., Awang, N., Chan, K.M., Kamaludin, N.F. & Mohamad Anuar, N.N. 2023. Organotin(IV) dithiocarbamate compounds as anticancer agents: A review of syntheses and cytotoxicity studies. *Molecules* 28(15): 1-27.
- Adeyemi, J.O., Onwudiwe, D.C., Nundkumar, N. & Singh, M. 2020. Diorganotin(IV) benzyldithiocarbamate complexes: Synthesis, characterization, and thermal and cytotoxicity study. *Open Chemistry* 18(1): 453-462.
- Adeyemi, J.O., Onwudiwe, D.C., Ekennia, A.C., Anokwuru, C.P., Nundkumar, N., Singh, M. & Hosten, E.C. 2019. Synthesis, characterization and biological activities of organotin(IV) diallyldithiocarbamate complexes. *Inorganica Chimica Acta* 485: 64-72.
- Anasamy, Chee, C.F., Wong, Y.F., Heh, C.H., Kiew, L.V., Lee, H.B. & Chung, L.Y. 2020. Triorganotin complexes in cancer chemotherapy: Mechanistic insights and future perspectives. *Applied Organometallic Chemistry* 35(2): e6029.
- ATCC. 2020. *HepG2 (Human hepatocellular carcinoma cell line)*. American Type Culture Collection.
- ATCC. 2021. *HEK293 (Human embryonic kidney cell line)*. American Type Culture Collection.
- Awang, N., Abd Aziz, N.A., Salihin, N.Z.S. & Kamaludin, N.F. 2025. Elucidating the suppressive capabilities of novel organotin(IV) compounds derived from N-methyl-N-benzylidithiocarbamate ligands: Assessing their cytotoxicity effects on human leukemic cells (Jurkat E6.1). *Oriental Journal of Chemistry* 41(3): 749-757.
- Badisa, R.B., Darling-Reed, S.F., Joseph, P., Cooperwood, J.S., Latinwo, L.M. & Goodman, C.B. 2009. Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. *Anticancer Research* 29(8): 2993-2996.
- Banti, A., Ramly, C.A., Karim, S., Zainudin, U., Rajab, N., Husain, K. & Jufri, N. 2019. Cytotoxicity evaluation of *Zingiber zerumbet* ethyl acetate extract on K-562 erythroleukemia cell line. *Pharmacognosy Magazine* 14(57): 34-76.
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Soerjomataram, I. & Jemal, A. 2024. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 74(3): 229-263.
- GLOBOCAN. 2022. Global cancer statistics 2022: Incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. International Agency for Research on Cancer.
- Haezam, F.N., Awang, N., Kamaludin, N.F. & Mohamad, R. 2021. Synthesis and cytotoxic activity of organotin(IV) diallyldithiocarbamate compounds as anticancer agent towards colon adenocarcinoma cells (HT-29). *Saudi Journal of Biological Sciences* 28(5): 3160-3168.
- Kudo, M. 2024. Immune checkpoint inhibitors plus anti-VEGF/tyrosine kinase inhibitors combined with TACE (triple therapy) in unresectable hepatocellular carcinoma. *Liver Cancer* 13(3): 227-234.
- Llovet, J.M., Pinyol, R., Yarchoan, M., Singal, A.G., Marron, T.U., Schwartz, M., Pikarsky, E., Kudo, M. & Finn, R.S. 2024. Adjuvant and neoadjuvant immunotherapies in hepatocellular carcinoma. *Nature Reviews Clinical Oncology* 21: 294-311.
- Matotoka, M. & Masoko, P. 2025. *In vitro* cytotoxicity determination: Avoiding pitfalls. Dlm. *Cytotoxicity - A Crucial Toxicity Test for In Vitro Experiments. Biochemistry*, disunting oleh Erkekoğlu, P. IntechOpen. doi:10.5772/intechopen.1008312

- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods* 65(2): 55-63.
- National Cancer Institute. 2025. *Cancer Statistics*. National Cancer Institute. Bethesda, MD: U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health.
- Nordin, M.L., Othman, R. & Abdullah, R. 2018. Cytotoxicity and selectivity index of *Clinacanthus nutans* extracts on cancer and normal cell lines. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 18: 1-9. doi.org/10.1186/s12906-018-2204-3
- Rasli, N.R., Hamid, A., Awang, N. & Kamaludin, N.F. 2023. Series of organotin(IV) compounds with different dithiocarbamate ligands induced cytotoxicity, apoptosis and cell cycle arrest on Jurkat E6.1 T acute lymphoblastic leukemia cells. *Molecules* 28(8): 3376.
- Rumgay, H., Arnold, M., Ferlay, J., Lesi, O., Cabasag, C.J., Vignat, J., Laversanne, M., McGlynn, K.A., Soerjomataram, I. & Bray, F. 2022. Global burden of primary liver cancer in 2020 and predictions to 2040. *Journal of Hepatology* 77(6): 1598-1606.
- Singh, P. & Lim, B. 2022. Targeting apoptosis in cancer. *Current Oncology Reports* 24(3): 273-284.
- Suffness, M. & Pezzuto, J.M. 1990. Assays related to cancer drug discovery. In *Methods in Plant Biochemistry: Assays for Bioactivity*, disunting oleh Hostettmann, K. Academic Press. 6: 71-133.
- Syed Annuar, S.N., Kamaludin, N.F., Awang, N. & Chan, K.M. 2022. Triphenyltin(IV) dithiocarbamate compound induces genotoxicity and cytotoxicity in K562 human erythroleukemia cells primarily via mitochondria-mediated apoptosis. *Food and Chemical Toxicology* 168: 113354.
- Syed Annuar, S.N., Kamaludin, N.F., Awang, N. & Chan, K.M. 2021. Cellular basis of organotin(IV) derivatives as anticancer metallodrugs: A review. *Frontiers in Chemistry* 9: 657599. doi.org/10.3389/fchem.2021.657599
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. & Bray, F. 2024. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *A Cancer Journal for Clinicians* 74(3): 229-263.
- Tronina, T., Bartmańska, A., Popłoński, J., Rychlicka, M., Sordon, S., Filip-Psurska, B., Milczarek, M., Wietrzyk, J. & Huszcza, E. 2023. Prenylated flavonoids with selective toxicity against human cancers. *International Journal of Molecular Sciences* 24(8): 7408.
- World Health Organization (WHO). 2022. *Global Cancer Statistics*.
- \*Pengarang untuk surat-menyurat; email: norm@ukm.edu.my