دانشور
پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال هیجدهم– شماره ۹۲
اردیبهشت ۱۳۹۰

دریافت: ۱۳۸۹/۱۱/۶
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۰/۲/۷
پذیرش: ۱۳۹۰/۲/۸

مطالعه میان‌کنش سالویژنین با DNA

نویسندگان: زهره حبیبی[1*]، زهیر محمدحسن[2]، شکوفه نوری[3]، ولی‌اله مظفری[4]، مریم یوسفی[5]، مهدی محمدی[5]، لیلا حسنی[6]

۱- استاد،گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
۲- استاد،گروه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳- استادیار،گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه بهشتی، تهران، ایران
٤- استادیار،گروه گیاه شناسی،گروه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، کرج، ایران
۵-دانشجو دکترا،گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
٦- استادیار،گروه بیوفیزیک، دانشگاه زنجان، ایران

* نویسنده مسئول: زهره حبیبی **E-mail: zohre1340@hotmail.com**

چکیده

مقدمه و هدف: بررسی میان‌کنش سالویژنین با DNA به‌منظور شناسایی ساختار مولکولی آثار ضد سرطانی سالویژنین

مواد و روش‌ها: سالویژنین از *Tanacetum canescens* وDNA از تیموس گوساله جدا و خالص‌سازی‌شد؛ سپس میان‌کنش سالویژنین با DNA در بافر تریس ۰/۰۵M، PH برابر۷/۴ و دمای ۲۵°C با روش‌های مختلف مطالعه‌شد.

نتایج: طیف‌های جذبی DNA در حضور غلظت‌های مختلف هریک از لیگاندهای بالا نشان‌داد که DNAبا سالویژنین میان‌کنش‌می‌کند و با تشکیل کمپلکس، جذب در طول موج ۲۶۰ nmافزایش‌می‌یابد. تغییرات جذب DNA بر اثر لیگاند نشان‌دهنده تغییرات ساختاری در آن است؛ همچنین با کمک داده‌های به‌دست‌آمده از کاهش نشر کمپلکس DNA با اتیدیوم برماید توسط لیگاند بالا و آنالیز اسکاچارد، مشخص شد که ساختار کاهش نشر از طریق مهار غیررقابتی است؛ یعنی اتصال سالویژنین به DNA با مکانیزم غیرفروروندگی و به‌احتمال از طریق اتصال به شیار کوچک صورت‌می‌گیرد.

نتیجه گیری:نتیجه میگیریم که سالویژنین که بعنوان یک داروی ضد سرطان شناخته شده است یکی از مکانیسمهای عمل آن برهمکنش با آپأ است.

واژگان کلیدی: سالویژنین، DNA، میان‌کنش

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

اتصال مولکول‌های مختلف به DNA از جمله پروتئین‌های تنظیمی شرایطی را فراهم‌می‌آورد که طی آن، سلول به پاسخ‌گویی نسبت‌به شرایط محیطی قادر می‌شود که از جمله این پاسخ‌ها تغییر در دسترسی به توالی‌های خاص یا القا خمیدگی در ساختار DNA است (۱). پدیدهٔ میان‌کنش DNA و لیگاند که طی آن، یک کمپلکس بزرگ‌تر به‌وجودمی‌آید، نقشی مهم در پدیده‌های زیستی، مانند بیان ژن یا همانندسازی DNA، بازی‌می‌کند. شمار زیادی از لیگاندهای طبیعی و سنتزی شناسایی‌شده‌اند که قابلیت میان‌کنش با DNA را دارند. بسیاری از این ترکیب‌ها توانایی شناسایی توالی‌های خاص ازDNA را دارند(۲، ۳).

چنین مولکول‌هایی از نظر درمانی، ترکیب‌هایی ارزشمند محسوب می‌شوند.(٤، ٥) بررسی‌ها نشان‌داده‌است که شیار کوچک DNA دارای یک لایه آب بوده، عرض این شیار در رشته‌های غنی از جفت بازهای A.T کم است؛ درنتیجه، اتصال اختصاصی دارو به DNA دست‌کم در یکی از دو شیار اتفاق‌می‌افتد و اهمیت آن دو، ویژگی بازها (Sequence-Selectivity) است(٦، ٧) و ازطرفی، مشخص شده‌است که مولکول‌های کوچکی که ویژگی توالی(sequence-specific) دارند، به‌طور ترجیحی در شیار کوچک متصل می‌شوند، به‌احتمال، دلیل آن وجود سطح تماس بهتر در این شیار و مطلوب‌بودن میان‌کنش واندروالس است(۱و۵). بسیاری از این ترکیب‌ها جایگاه‌های غنی از A.T را برای اتصال ترجیح‌می‌دهند (۸، ۹).

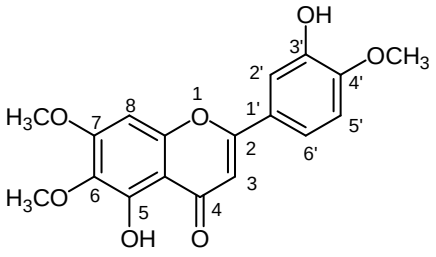
دلایل بررسی اتصال مولکول‌های کوچک به DNA را می‌توان به دو دسته دلایل تجربی و بنیادی تقسیم‌کرد. از دلایل تجربی آن، کارایی بسیاری از مولکول‌های کوچک در جایگاه ترکیب‌های دارویی است که دانستن نحوه اتصال آنها به DNA برای شناخت دقیق ساختار عمل آنها و همچنین توسعه و پیشرفت اصول طراحی ترکیب‌ها با فعالیت بالا ضروری است (۸)؛ اما از جنبه بنیادی بررسی اتصال این ترکیب‌ها به DNA، نظام تعریف‌شده‌ای را به‌دست‌می‌دهد که آشنایی با اصول انرژی آزاد تشکیل کمپلکس‌های بیومولکولی را میسر می‌سازد. (۹،۱۰و۱۱)

از جمله لیگاندهایی که به‌طور گسترده، ساختار میان‌کنش آن با DNA بررسی‌شده‌است، ترکیب‌های فلاوونوئیدی، قابل اشاره‌اند (۱۲،۱۳و۱٤). امروزه داروهای ضدسرطان گوناگونی در جهت درمان یا بهبود استفاده‌می‌شوند که هدف این داروها اغلب، مولکول DNA است (۱۲). به‌طور عمده این داروها پس‌از واکنش موجب پایدارشدن ساختارهای موقت در DNA یا القای ساختارهای جدید یا پوشاندن جایگاهی در DNA را موجب می‌شوند(۱۵، ١٦).

ترکیب‌های موجود در گیاهان درعلوم پزشکی و درمانی اهمیت فراوانی داشته‌اند؛ برای نمونه برای سالویژنین‌ها تأثیرهای ضدسرطانی، ضدجهش‌زایی و تعدیل ایمنی دیده‌شده‌است (۱۷). یکی از اثرهای مهم بیولوژیک آنها جلوگیری از رشد سلول‌های سرطانی و ممانعت از ازدیاد و تقسیم این سلول‌هاست، درحالی‌که بر سلول‌های طبیعی هیچ اثری ندارد (۱۸). بیشتر تحقیقات انجام‌شده در زمینه اثرات تشکیل‌دهنده‌های مختلف مربوط به مطالعه آثار سلولی آنهاست، اما تأثیر و اجزای آن بر ساختارهای مولکول‌های زیستی تاکنون بررسی‌نشده‌است. در این تحقیق، اثرهای یک فلاوونویید (سالویژنین) استخراج‌شده از گیاه *Tanacetum canescens* بر ساختار DNA در جایگاه یکی از ساختارهای مولکولی محتمل در اعمال آثار ضدسرطانی به طریق آزمایشگاهی بررسی‌می‌شود (۱۹).

Archive of SID

www.SID.ir



(۱)

مواد و روش ها

به‌منظور جداسازی و خالص‌سازی سالویژنین، ۵۰۰ گرم از اندام‌های هوایی وخشک‌شده گیاه به مدت ۲٤ ساعت در کلروفرم خیسانده‌شد؛ سپس حلال با استفاده از تبخیرکننده چرخان تبخیرشد. برای چربی‌گیری، عصاره به‌دست‌آمده در حداقل متانول حل شده و در فریزر به مدت ٤۸ ساعت قرارگرفت؛ پس‌از صاف‌کردن و تبخیر حلال با تبخیرکننده چرخان، عصاره باقی‌مانده به شکل یک عصاره غلیظ سبزرنگ به‌دست‌آمد و برای جداسازی اجزای آن از کروماتوگرافی ستونی و برای پرکردن ستون از سیلیکاژل مرک (۰/۰۹mm-۰/۰٦)٦۰ استفاده‌شد. برای شستشوی ستون، حلال غیرقطبی پترولیوم اتر به‌کارگرفته‌شد و سپس با افزایش دی‌اتیل‌اتر قطبیت افزایش‌یافت. حجم حلال‌هایی که در هر نوبت اضافه می‌شد ۱۰۰ml و حجم اجزای جمع‌آوری‌شده در هر ارلن ۵۰ml بود. درنهایت، ستون با متانول شسته‌شد تا تمامی اجزا باقی‌مانده از ستون خارج‌شود. از اجزای به‌دست‌آمده کروماتوگرافی لایه نازک با استفاده از ورقه‌های آلومینیمی پوشیده از سیلیکا ژل تهیه‌شد. اجزای مشابه به هم اضافه شدند و برای خالص‌سازی بیشتر دوباره از کروماتوگرافی ستونی (با ستون‌های کوچک‌تر) و کروماتوگرافی لایه نازک (با استفاده از صفحات شیشه‌ای) استفاده‌شد برای شناسایی نمونه‌های خالص‌شده از روش‌های مختلف NMR و طیف جرمی استفاده‌شد.

DNA با وزن مولکولی بالا براساس روشی که در گذشته ارائه‌شده‌بود، از تیموس گوساله استخراج و خالص‌سازی‌شد (۲). مواد شیمیایی، نظیر اتیدیوم برماید و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت‌های مرک و سیگما خریداری‌شد.

برای به‌دست‌آوردن ضریب جذب مولی، محلولی ذخیره غلیظ از ترکیب‌های مورد آزمایش در بافر تریس تهیه‌شد؛ در ادامه، رقت‌هایی مختلف از محلول‌ها فراهم-آمد. با رسم نمودار جذب مولی برای هریک از نمونه‌ها به‌دست‌آمد.

تمام اندازه‌گیری‌های طیف سنجی نوری در این تحقیق با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر دو پرتوی شیمادزو مدل ۳۱۰۱ انجام‌شد. بافر تریس ۰/۰۵ مولار با PH برابر ٤/ ۷ در دمای اتاق برای تمام مطالعات میان کنش‌ها انتخاب‌شد. بررسی میان‌کنش سالویژنین با DNA از طریق طیف سنجی نوری در این روش محلول DNAبا غلظت مشخص با محلول سالویژنین تیتر شده، سپس طیف جذبی DNA در محدوده ۲۰۰nm تا ۵۰۰ nm مورد بررسی قرارگرفت.

اندازه‌گیری‌های فلوریمتری با اسپکتروفلوریمتر شیمادزو مدل ۵۰۰۰ –RF انجام‌شد. مطالعه فلوریمتری میان‌کنش اتیدیوم برماید با DNA در غیاب و حضور سالویژنین بر طبق روش استروتکمپ در سال ۱۹۹٤ انجام‌شد (۲۱). طول موج برانگیختگی اتیدیوم برمایدnm ۵۲۵ وطول موج نشری آن ۵۸٤ nm در شرایط آزمایش تعیین‌شد.

نتایج

نتایج حاصل از عصاره‌گیری گیاه

از گیاه *T. canescens* فلاوونویید ۵- هیدروکسی ٤'،۷،٦- تری متوکسی فلاون (۱) خالص‌سازی‌شد؛ نام

Archive of SID

www.SID.ir

دیگر این ترکیب سالویژنین است .شکل ظاهری این ترکیب به صورت کریستال‌های زردرنگ با نقطه‌ذوب C ۱۸۵° است و از فرکشن‌های ۱۴-۱۶ (از مجموع ۲۵ فرکشن) در قطبیت حلال پترولیوم اتر ۹۰ درصد- اتیل استات ۱۰ درصد جداسازی و شناسایی‌شد.

تفسیر طیف ^{1}H NMR سالویژنین

هیدروژن‌های حلقه B به صورت یک سیستم اسپینی AX در δ=۷/۰۱ppm و δ= ۷/۸٤ ppm با ثابت جفت‌شدن ۸/۵ Hz که به ترتیب مربوط به هیدروژن‌های ۳'، ۵' و ۲'، ٦' است، ظاهر می‌شود. پیام مربوط به هیدروژن‌های ۳- H و۸- H به ترتیب در δ = ٦/٥٧ ppm و δ = ٦/٦٢ ppm آشکار می‌شوند؛ سه گروه متوکسی نیز در ۳/۹۹ ppm، ۳/۹٤ و ۳/۹۱ دیده‌می‌شوند؛ پیک مربوط به چربی هم در δ= ۱/۲٦ ppm مشاهده‌می‌شود. پیام مربوط به OH فنولی (C-۵)که در بسیاری از موارد در بالاتر از ۱۲ ppm ظاهر می‌شود، (به دلیل پیوند هیدروژنی درون مولکولی با گروه کربونیل) در طیف غایب است. برای صحت وجود OH فنولی از ترکیب مورد نظر طیف IR گرفته و وجود OH تأییدشد.

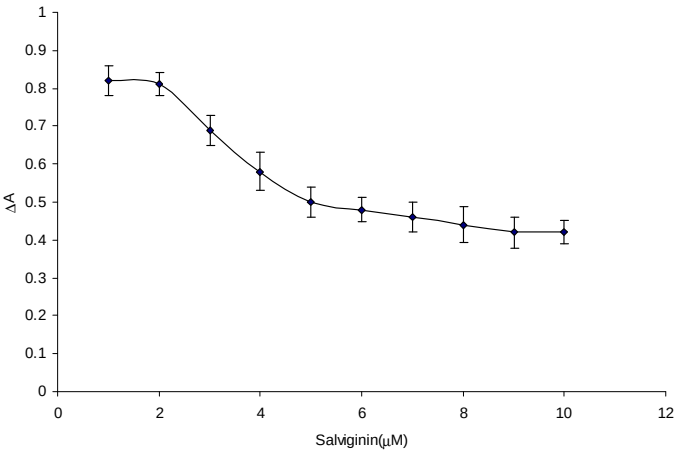
تفسیر طیف ^{13}C NMR ترکیب سالویژنین

وجود OH در موقعیت کربن شماره ۵ با مقایسه طیف ^{13}C NMR به‌دست‌آمده با مقالات منتشرشده اثبات‌شدنی است. وجود OH در این موقعیت، دشیلدشدن C-٤ (گروه کربونیل) به δ=۱۸۲ ppm را سبب‌می‌شود؛ درصورتی‌که اگر به جای OH، گروه OCH_3 در این موقعیت قرارگیرد، C-٤ می‌باید در حدود δ=۱۷٦ ppm ظاهر می‌شد؛ بدین ترتیب در پایین‌ترین میدان، C-٤ در ۱۸۲/٦٦ppm ظاهر شده، پس‌از آن به ترتیب پیام‌های زیر مشاهده‌می‌شوند: C-۲ در ۱٦٤/۰۱ppm، C-٤' در ۱٦۲/۰٦، C-۷ در ۱۵۸/۷۱، C-۹ در ۱۵۳/۲۲، C-۵ در ۱۵۳/۰۲، C-٦ در ۱۳۲/۵۷، C-۲' و C-٦' در ۱۲۸/۰۰، C-۱' در ۱۲۳/۵۰، C-۳' و C-۵' در ۱۱٤/۵۱، C-۱۰ در ۱۰٦/۱۰، C-۳ در ۱۰٤/۰۸، C-۸ در ۹۰/۵۷. سه گروه متوکسی در موقعیت C-٦، C-۷ و C-٤' به ترتیب در۶۰/۸۷ppm، ۵٦/۳۳ و۵۵/۵۵ ظاهرشده‌اند.

ویژگی ساختاری DNA تیموس گوساله (ctDNA) با غلظت ۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، نسبت حاصل از جذب در ۲٦۰ نانومتر به ۲۸۰نانومتر، نشان‌داد نمونه‌های استخراج‌شده خالص‌اند(ctDNA=1.86) .

مطالعه میان‌کنش سالویژنین -DNA با استفاده از طیف سنجی نوری

در بررسی طیف سنجی نوری مشخص شد، افزودن سالویژنین به DNA، افزایش جذب در طول موج nm ۲٦۰ را سبب‌شد (نمودار ۱)، تغییرهای پیک در ۲٦۰nm از القای تغییرات ساختمانی در DNA در اثر میان‌کنش حکایت‌دارد.



نمودار ۱. منحنی تغییرهای جذب DNA با غلظت۰٫۱mMb در ۲۶۰ nmدر اثرتیترشدن با سالویژنین

Archive of SID
www.SID.ir

بررسی اثر سالویژنین بر اتصال اتیدیوم برماید (EtBr) به DNA

اتیدیوم برماید یک داروی ضدتریپانوزومی (نوعی انگل تک سلولی) است که سنتز DNA را در بسیاری از ارگانیزم‌ها مهارمی‌کند (۱۰). بر اثر اتصال اتیدیوم برماید به DNA، نشر فلورسانس اتیدیوم برماید افزایش‌می‌یابد. در صورت حضور لیگاند دیگری در محیط که برای اتصال به DNA با اتیدیوم برماید رقابت‌کند، تغییراتی در نشر اتیدیوم ایجادمی‌شود که از طریق آن می‌توان به ساختار اتصال لیگاند دوم پی‌برد (۹). شرط اول در این آزمایش، آن است که لیگاند مورد مطالعه در طول موج‌های برانگیختگی یا نشری اتیدیوم برماید تداخل جذب ونشر نداشته‌باشند، در این مطالعه، شرط مذکور در مورد سالویژنین صادق است؛ بنابراین به‌منظور بررسی مکانیزم میان‌کنش سالویژنین با DNA، از این روش استفاده‌شد، یعنی به کمپلکس DNA-EtBr، مقادیر متفاوتی از لیگاند اضافه شد و تغییرهای نشر EtBr مورد مطالعه قرارگرفت.

معادله اسکاچارد بدین صورت است:

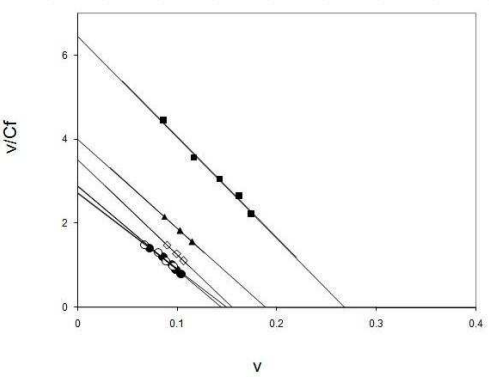
$$\frac{v}{[D]} = nk - vk \qquad v = [D]_b / [DNA]_t$$

از این مقدار می‌توان، مقدار عددی n (حداکثر تعداد جایگاه اتصال لیگاند، روی ماکرومولکول) و k (ثابت پیوندی ذاتی) را تعیین‌کرد.

سپس بر اساس روش ارائه‌شده با استروتکمپ (۹) نمودار اسکاچارد برای اتصال اتیدیوم برماید به DNA در غیاب و حضور لیگاند رسم‌شد.

$$\nu / C_{f} = nK - \nu K$$

به‌طوری‌که ν نسبت لیگاند پیوندشده به غلظت (جفت باز)DNA، C_f غلظت لیگاند آزاد، n حداکثر مقدار ν,K ثابت پیوندی ذاتی اتصال اتیدیوم به DNA است. با رسم نمودار تجربی ν / C_f برحسب ν مقدار عددی n یا حداکثر تعداد جایگاه‌های پیوندی بر جفت بازهای DNA، از نقطه تقاطع نمودار با محور x به‌دست‌می‌آید؛ همچنین ثابت پیوندی ذاتی،K از ضریب زاویه نمودار خطی مذکور به‌دست‌می‌آید. معادله اسکاچارد فقط برای سیستم‌هایی با جایگاه‌های پیوندی یکسان و غیروابسته به‌کارمی‌رود.



نمودار۲. منحنی‌های اسکاچارد دیده‌می‌شود و تغییرهای پارامترهای n و K در جدول پایین نشان‌داده‌شده‌است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. مقادیر K, n به‌دست‌آمده در اتصال اتیدیوم برماید به ctDNA در حضور غلظت‌های سالویژنین

غلظت سالویژنین(µM)	ctDNA	
	n	Ka (µM-1)
0.5	0.28	22.639
0.8	0.18	21.188
1.1	0.14	18.123

بحث

مولکول DNA در محلول آبی به فرم ساختاری B وجوددارد. شیار بزرگ DNA به‌طور کامل، وسیع بوده، دارای گروه‌های عاملی متعددی در لبه جفت بازهاست؛ درحالی‌که شیار کوچک بسته‌تر است و تعداد کمتری از گروه‌های عاملی را دربردارد. علاوه‌بر فرم طبیعی B، وجود فرم‌های متعدد ساختاری دیگر در مولکول DNA نشان‌دهندهٔ نوعی انعطاف‌پذیری در ساختار آن است (۱). اتصال مولکول‌های مختلف به DNA از جمله پروتئین‌های تنظیمی، شرایطی را فراهم‌می‌آورد که طی آن، سلول به پاسخ‌گویی نسبت‌به شرایط محیطی قادر می‌شود که از جمله این پاسخ‌ها تغییر در دسترسی به توالی‌های خاص یا القای خمیدگی در ساختار DNA است (۲). به‌وجودآمدن تغییر در ساختار DNA به‌احتمال در کنترل بیان ژن مؤثر است؛ لذا ایجاد تغییرهایی از این نوع می‌تواند هدفی برای استفاده از مولکول‌های کوچکی باشد که به DNA متصل می‌شوند (۲). مدت زمان زیادی است که مطالعات گوناگونی روی نحوه میان‌کنش مولکول‌های کوچک با DNA انجام‌گرفته، به‌احتمال، این ترکیب‌ها پس‌از این میان‌کنش‌ها، پایداری ساختارهای موقت در DNA یا القای ساختاری جدید یا پوشاندن جایگاهی در DNA را سبب‌می‌شوند که در آن صورت، فرایندهای طبیعی که در این جایگاه فعالیت‌دارند، تغییرمی‌کند (۵،۲ و۹).

برخلاف سایر انواع اتصال‌ها، میان‌کنش در شیار کوچک، تغییر زیادی در ساختار DNA نیازندارد. بر اساس شواهد ساختاری موجود، پیشنهادشده‌است که طی فرایند اتصال، تغییرات ساختاری کمی در DNA ایجادمی‌شود درنتیجه، مدل فرضی اتصال این ترکیب‌ها به DNA دو مرحله‌ای است؛ مرحله اول، انتقال هیدروفوب لیگاند از محلول به شیار کوچک است و در مرحله بعد، پیوندهای مولکولی غیرکووالان میان لیگاند و گروه‌های موجود در شیار برقرار می‌شود (٦).

تاکنون خواص مختلف فیزیوژیکی برای سالویژنین گزارش‌شده‌است که یکی از مهم‌ترین آنها، خاصیت ضدسرطانی آن است (۱۰).

بررسی‌های اتصال ساختاری DNA نشان‌داده‌است که هر دو شیار کوچک و بزرگ آن می‌توانند به عنوان پذیرنده پروتئین‌ها و مولکول‌های کوچک عمل کنند(۱). شیار کوچک DNA ، یک لایه آ ب داشته، عرض این شیار در رشته‌های غنی از جفت بازهای A.T کم اما ساختار سلولی و مکانیزم‌های مولکولی این اثرها هنوز ناشناخته‌است. یکی از ساختارهای مولکولی محتمل برای اعمال آثار، همانند سایر داروهای ضدسرطان، میان‌کنش سالویژنین با DNAاز طریق ایجاد کمپلکس با آن و اعمال آثار ساختاری بر DNA است.

در این تحقیق، سالویژنین از *Tanacetum Canescens* تخلیص‌شد و اثرهای ساختاری آنها بر DNA با روش‌های گوناگون مورد مطالعه قرارگرفت. تغییرات طیف جذبی DNA در طول موج۲٦۰nm نشان‌دهنده القای تغییرهای ساختاری در آن با سالویژنین در اثر تشکیل کمپلکس و افزایش جذب در این ناحیه بیانگر نوعی بازشدن ساختار DNA وناپایدارشدن آن است. با افزایش غلظت لیگاند، غلظت کمپلکس نیز زیاد می‌شود تااینکهDNA اشباع‌شود و تغییرهای جذب به حدی ثابت برسد.

Archive of SID

www.SID.ir

به‌منظور بررسی چگونگی مکانیزم میان‌کنش از لیگاند شناخته‌شده اتیدیوم برماید استفاده‌شد. اتیدیوم برماید با ساختار فروروندگی باDNA میان‌کنش‌می‌کند (۱۰)؛ به‌عبارت‌دیگر، حلقه فنانتریدینیوم این ترکیب میان حلقه بازها در دو رشته DNA جای‌می‌گیرد و رج‌بندی بازها را برهم‌می‌زند؛ این واکنش، افزایش نشر فلورسانس اتیدیوم را سبب‌می‌شود. اگر لیگاند دیگری در محیط حضور-داشته‌باشد که جایگزین اتیدیوم برماید شود و میان جفت بازهای DNA فروبرود یا اینکه به شیارهای DNA متصل شود، در هر حال، موجب فرونشانی نشر اتیدیوم را موجب خواهدشد، لیگاند مذکور در حالت اول از طریق خارج‌کردن اتیدیوم از جایگاه‌های اتصال و در حالت دوم به دلیل اتصال به نواحی نزدیک به آن روی DNA، از طریق انتقال انرژی، فرونشانی نشر اتیدیوم را سبب‌می‌شود. در دو حالت می‌توان فرونشانی نشر را بررسی‌کرد و با رسم نمودارهای اسکاچارد به مکانیزم میان‌کنش پی‌برد. درصورتی‌که لیگاند دوم نیز همانند اتیدیوم میان جفت بازهای DNA قرارگیرد، نمودار اسکاچارد، نمایانگر مهار رقابتی خواهدبود، یعنی n ثابت و K متغیر است؛ چنین رفتاری در مورد اسپرمین، اسپرمیدین و اسپرمین بیس آکریدین مشاهده‌شده‌است (۱۰)؛ اما اگر هر دو پارامتر nوK تغییرکند، مهار از نوع غیررقابتی و میان‌کنش از طریق اتصال به شیارهای DNA با مکانیزم غیرفروروندگی است. همان‌طورکه در جدول شماره ۱ ملاحظه‌می‌شود بر اثر میان‌کنش سالویژنین با DNA،هر دوپارامتر تغییرکرده‌است؛ یعنی سالویژنین با ساختار غیرفروروندگی و به‌احتمال از طریق شیار کوچک به DNA متصل می‌شود.

منابع

1. Parkin DM Clayton D Black RJ Masuyer E Friedl HP Ivanov E et al. Childhood leukemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. Br J Cancer-12-1006; 73; 1995.
2. Geierstanger B.H Wemmer D.E complexes of the minor groove of DNA: Annu. Rev. Biophys. Biomol Struct 463-493:24; 1995.
3. Nelson S.M Lennette R.F Denny A.w DNA and chromosome-varied targets for chemotherapy Cell and Chromosome ;2004.
4. Chaires J.B Drug-DNA interactions Current: Opini. Struct. Biol 314-320: 8; 1998.
5. Han H Hurley L.H G-quadruplex DNA: A potential target for anti-cancer drug design: Tips 136-42: 21;2000.
6. Ren J Charies B.J sequence and structural selectivity of nucleic acid binding ligands: Biochemistry 16067-16075: 38; 1999.
7. Chaires J.B Energetics of Drug-DNA interaction: Biophys. Chem 201-215: 64; 1998.
8. Bailly C Chaires J.B Sequence-specific DNA minor groove binders: Design and synthesis of Netropcin and Distamycin analogus. Bioconjugat. Chem 13-523: 95; 1998.
9. Ren J Jenkins T.C Chaires J.B Energetics of DNA interaction reactions: Biochem:8439-8447;:39;2000.
10. Smolian I.V Demidov V.V Frank-Kamenetskii M.D Pausing of DNA polymerases on dulex DNA templates due to ligand binding in vitro: J.Moi. Biol, 1113-1125:326; 2003.
11. Wemmer D.E Designed sequence-specific minor groove ligands: Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct, 439-461:29; 2000.
12. Ninaber A Goodfellow J.M DNA conformation and dynamics: Radiat. Environ. Biophy, 23-29:38; 1999.
13. Kikuta E Matsubara R Katsube N Koike T kimura E Selective recognition of consecutive G sequence in double-stranded DNA by a zinc(ii)- macrocyclic teraamine comlex appended with an anthraquinone: J. Inorg. Biochem, 239-249: 82;2000.
14. Kelly J Tossi A McConnell D Uigin Oh Nucl Acids: Res 6017:13;1985.http://www.photobiology.com/photoiupac2000/pierard/Interactionmain.html
15. Friedman K.AG Manning G.S Polyelectrolyte effect on site-binding equilibria with application to interaction of drug with DNA. BIopolymerase, 2671-714:23; 1984.
16. Record M.T Lohman T.M Dahaseth P.J Thermodynamic analysis of ion effect on the binding and conformational equilibria of proteins and nucleic acids: the roles of ion association or release, screening, and ion effects on watter activity. Moi. Biol, 45-58:107; 1976.
17. Bloomfile V.A Crotheres D.M Tinco I Physical- Chemistry of nucleic acid. 35-40:20; 1974.

Archive of SID

www.SID.ir

18. Baguley B.C DNA intercalating anti-tumour agent. Anti-cancer. Drug. Desig, 1 35:6;1991.

19.Ciolkowski M.L Fang M.M Lund M.E. A surface Plasmon resonance method for detecting multiple modes of DNA-Ligand interactions. J. Phormaceuti. Biomed. Ana, 1037-1045:22; 2000.

20. Ibrahim M.S Voltammetric Studies of the iteraction of Noglamycin antitumor drug with DNA. Analy.Chim.Acta. 63-72:443; 2001.

21. Dixon D.W Kim A.S kumar V., Obara G., Marzilli G. Land Schinaz. R.F. Amino- and hydroxytetrephenyl porphyrins with activity against the human immunodeficiency virus. Antiviral. Chem. Chemother, 279-282:3; 1992.

22. Graves D.E Vela L.M Intercalative binding of small molecules to nucleic acids. Biochem 9221-9233:38; 1999.

Archive of SID

www.SID.ir

Daneshvar

Medicine

Scientific-Research Journal of Shahed University Seventeenth Year, No.92 April, May 2011

Received: 26/1/2011
Last revised: 27/4/2011
Accepted: 28/4/2011

Interaction of salvigenin with DNA

Zohre Habibi[1*], Zuhair M. Hassan[2], Shokoofe Noori[3], Valiolah Mozafari[1], Maryam Yoosefi[1], Mehdi Mohammadi[1], Lila Hassani[4]

1. Department of Chemistry, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
2. Department of Immunology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
3. Department of Biochemistry, School of Medical Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
4. Department of Biophysics, Zanjan University, Iran.

E-mail: zohre1340@hotmail.com

Abstract

Background and Objective: To evaluate interaction of salvigenin with DNA and the molecular mechanism of its anti-cancer effect.

Materials and Methods: Salvigenin from Tanacetum canescens and DNA from calf thymus were isolated and purified. Then, salvigenin interaction with DNA in Tris buffer (0.05 M, pH equal to 4.7 and the temperature at 25 ℃) was studied by different meth ods.

Results and Conclusion: DNA absorption spectra in the presence of various concentrations of each of these ligands showed that the DNA with salvigenin has interaction and complex formation and the absorption wave length at 260 nm increased. Under the effect of changes in DNA uptake ligand showed structural changes. Also, using information obtained from the suppression with ethidium bromide of DNA complex by ligand skachard, above analysis indicated that the mechanism of suppression of publication is through non-competitive inhibition and it means that connecting mechanism of salvigenin is non-intercalated with DNA and probably through connection small grooves.

Key words: Salvigenin, DNA, Interaction

www.SID.ir