Archive of SID
Pharmaceutical Sciences, 2010, Vol.16, No 2, Page 73-80 علوم داروئی، ۱۳۸۹ دوره ۱۶،شماره ۲، ۸۰- ۷۳

بررسی برهمکنشهسپرتین و کرستین با آنزیم گزانتین اکسیداز گاوی با استفاده از روش اسپکتروسکوپی

فرزانه رسولزاده[۱]، عبدالحسین ناصری[۲] ، محمدرضا رشیدی*[۳]

[۱]دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز،دانشکده علوم، گروه شیمی ، تبریز، ایران.[۲] دانشگاه تبریز، دانشکده شیمی، گروه شیمی تجزیه، تبریز، ایران.[۳]دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

تاریخ دریافت : ۸۸/۳/۱۳ ، تاریخ پذیرش : ۸۹/۱/۲۴

Spectroscopic study of quercetin and hesperetin interaction with bovine milk xanthine oxidase

RasoulzadehF.[1], Naseri A.[2], RashidiMR. *[3]

[1] Department of Chemistry, Faculty of Science, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.[2] Departments of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Tabriz, Tabriz, Iran.[3]Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences.

Received: 3 May 2009, Accepted:13 Apr. 2010

Objectives: Quercetin and hesperetin are natural flavonoids with many important therapeutic properties. The interaction of these polyphenolic compounds with bovine milk xanthine oxidase as one of their major target proteins was studied using fluorescence quenching method for the first time.**Methods:** ThisEnzyme (3.07×10^{-8}M) incubated with varying concentrations of hesperetin and quercetin (0-100 μM) for 5 min and the fluorescence spectra were recorded at 296, 303 and 310 °K. **Results:** It was found that these compounds quenched the fluorescence of XO. The binding constants and the number of binding sites of quercetin and hesperetin with XO were obtained.It was shown that the fluorescence quenching of quercetin and hesperetin with xanthine oxidase occur through a static, static and dynamic mechanism, respectively. The thermodynamic parameters (enthalpy and entropy changes) were also calculated at different temperatures. Conclusion: Both hydrogen and hydrophobic binding are involved in the interaction of quercetin with xanthine oxidase and hydrophobic binding exists in the interaction of hesperetin with xanthine oxidase.

Keywords: *Quercetin, Hesperetin, Xanthine oxidase, Fluorescence quenching.*

زمینه و هدف: کرستین و هسپرتین از فلاونوییدهای طبیعی هستند که که خواص دارویی مهمی دارند. برهمکنش این ترکیبات پلی فنلی با آنزیم گزانتین اکسیداز شیر گاوی به عنوان یکی از مهمترین پروتئین های هدف، با روش خاموشی فلورسانس برای اولین بار مورد مطالعه قرار گرفته است. **روشها:** غلظت های مختلفی از کرستین و هسپرتین (۱۰۰-۰میکرومولار) به طور مجزا تهیه و هر کدام از آنها با غلظت ثابتی از آنزیم $۳/۰۷\times۱۰^{-۸}$ مولار به مدت ۵ دقیقه و در سه دمای ۲۹۶، ۳۰۳ و ۳۱۰ کلوین انکوبه و طیفلورئورسانس آنزیم ثبت گردید. **یافته ها:** مشاهده شد که این ترکیبات باعث خاموشی فلورسانس آنزیم گزانتین اکسیداز می شوند. ثابت های پیوندی و تعداد محلهای پیوندی کرستین و هسپرتین با آنزیم گزانتین اکسیداز محاسبه گردید. نشان داده شد که برهمکنش کرستین با آنزیم گزانتین اکسیداز، از نوع استاتیکی و هسپرتین با آنزیم گزانتین اکسیداز از هر دو نوع استاتیکی و دینامیکی است. پارامترهای ترمودینامیکی(تغییرات آنتالپی و آنتروپی) در دماهای مختلف محاسبه شد. **نتیجهگیری:** از روی پارامترهای ترمودینامیکی مشاهده شد که در برهمکنش کرستین با گزانتین اکسیداز، پیوندهای هیدروژنی و هیدروفوبیک و در برهمکنش هسپرتین با این آنزیم، تنها نیروهای هیدروفوب موثر است.

واژه های کلیدی: *کرستین، هسپرتین، گزانتین اکسیداز، اتصال، ترمودینامیک و اسپکتروفلوریمتری.*

*نویسنده مسئول: محمد رضا رشیدی، استاد، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات کاربردی داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ، تبریز، ایران. تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۶۴۰۳۸ ، نمابر: ۰۴۱۱-۳۳۶۳۲۳۱

Corresponding author: Mohammad-Reza Rashidi, Professor,Faculty of Pharmacy and Drug applied Resarch Center, Tabriz University of Medical Sciences,Tabriz, Iran. Tel: +98- 411-3364038; fax: +98- 411- 3363231; E-mail rashidi@tbzmed.ac.ir(M.-R.Rashidi)

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه

فلاوونوئیدها ترکیباتی هستند که در پلی فنلهای موجود در مواد غذایی و نوشیدنیهای با منشاء گیاهی به وفور یافت می شوند(۱).این ترکیبات علاوه بر نقش مهمی که در تعیین رنگ سبزیجات و میوه ها دارند، دارای خواص بیولوژیک و فارماکولوژیک از قبیل اثرات ضد سرطانی، ضد ویروسی و آنتی اکسیدانت هستند. بیشتر خواص دارویی فلاوونوئیدها به اثرات آنتی اکسیدانتی و مهار آنها بر روی برخی از سیستمهای آنزیمی نسبت داده می شود(۳،۲). از مهم ترین آنزیمهائی که توسط فلاوونوئیدها مهار می شود، آنزیم گزانتین اکسیداز است(۶-۴). این آنزیم نقش مهمی در متابولیسم بسیاری از داروها و ترکیبات دارد. آلبومین سرم یکی از مهمترین پروتئین های محلول در خون انسان است که حدود ۶۰٪ از پروتئین های پلاسما را تشکیل داده و حدود ۸۰٪ فشار اسمزی خون را ایجاد می کند(۸،۷). آلبومین همچنین به عنوان محل ذخیره و انتقال دهنده ترکیبات داخلی و خارجی عمل می‌کند. از آنجائی که کم و کیف اتصال فلاوونوئیدها به آلبومین سرم می تواند نقش مهمی در میزان اثرات داروئی این ترکیبات داشته باشد، مطالعات زیادی در خصوص برهمکنش این گروه از ترکیبات طبیعی و سرم آلبومین صورت پذیرفته است. اما تاکنون چگونگی برهمکنش فلاوونوئیدها با آنزیم گزانتین اکسیداز به عنوان یکی از مهمترین پروتئین های هدف این مواد، صورت نپذیرفته است. از این رو در مقاله حاضر برای اولین بـار، چگونگی بـرهمکنش کـرستین و هسپرتین(شکل ۱ – الف و ۱- ب) با آنزیم گزانتین اکسیداز شیر گاو مورد مطالعه قرار گرفته است. دلیل اصلی انتخاب این دو فلاوونوئید، علاوه بر اهمیت زیاد آنها، متفاوت بودن ساختمان شیمیایی و نیز اثر مهاری آن دو بر روی گزانتین اکسیداز است. کرستین به عنوان یک مهار کننده قوی گزانتین اکسیداز متعلق به زیر گروه فلاوونول بوده در حالی که هسپرتین با اثر مهاری متوسط بر روی گزانتین اکسیداز دارای ساختمان فلاوونونی است. لذا، داشتن اطلاعاتی در مورد چگونگی برهمکنش این دو ترکیب با آنزیم گزانتین اکسیداز می‌تواند اطلاعات مفیدی بویژه از نظر روابط ساختمان-فعالیت این دسته از ترکیبات طبیعی با پروتئین های هدف در اختیار قرار دهد. برای مطالعه برهمکنش، از روش اسپکتروسکوپی فلورسانس استفاده شده است. این روش، به عنوان ابزاری قدرتمند برای مطالعه برهمکنش فلاونوئیدها با پروتئینها، به طور وسیعی برای بررسی برهمکنش فلاونوئیدها با سرم آلبومین به کار گرفته شده است(۱۰-۸).

www.SID.ir

۲- مواد و روش ها

۲-۱: دستگاههای مورد استفاده

تمام اندازه گیریهای فلورسانس، توسط دستگاه اسپکتروفلوروفتومتر Shimadzu مدلRF-۵۳۰۱ و مجهز به یک سل یک سانتیمتری کوارتز انجام شد. پهنای شکافهای تحریک و نشر در ۵ نانومتر تنظیم گردید و طول موج های تحریکی و نشری بهینه به ترتیب ۲۷۸ و ۳۴۶ نانومتر انتخاب شد. تنظیم دمای محلولها، توسط حمام آب گرم صورت پذیرفت. مطالعات سنتیک آنزیمی و تعیین ثوابت مهاری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر دو شعاعی Shimadzu مدل ۲۵۵۰- UV/VIS مجهز به منبع تنظیم دمای دستگاه انجام شد که تـوسط نرم‌افزار probeUV کنترل می‌شد، انجام گرفت.

۲-۲: مواد و آماده‌سازی محلولها

آنزیم گزانتین اکسیداز استخراج‌شده از شیر گاو (unit/mg protein ۰/۶) از Sigma و بقیه مواد از شرکت مرک آلمان خریداری شد. برای بررسی برهمکنشها، محلول مادر کرستین و هسپرتین(10^{-3}مولار) در اتانول و آنزیم گزانتین اکسیداز (10^{-4} × ۸مولار)در بافر تریس(pH=۷/۴ و ۰/۰۵ مولار) تهیه شد. شرایط مناسب از نظر طول موج تحریک و نشر برای بدست آوردن طیف آنزیم تعیین و انتخابی بودن شرایط طیف سنجی بدست آمده برای مطالعه برهمکنش ترکیب با آنزیم مورد بررسی قرار گرفت. سپس، غلظت های مختلفی از کرستین و هسپرتین(۱۰۰- ۰میکرومولار) به طور مجزا تهیه و هر کدام از آنها با غلظت ثابتی از آنزیم $3/07\times10^{-8}$ مولار به مدت ۵ دقیقه، و در سه دمای ۲۹۶،۳۰۳و۳۱۰ کلوین انکوبه و طیف آنزیم ثبت گردید. مقادیر جذب بدست آمده در λmax تعیین و با استفاده از رابطه استرن-ولمر، محاسبات لازم، صورت پذیرفت.

۳- نتایج

۳-۱: طیف فلورسانس

Archive of SID

تحت شرایط اسپکتروفلوریمتری توضیح داده شده در بالا، طیف فلورسانس خوبی برای گزانتین اکسیداز در غیاب دارو بدست آمد. در حضور غلظتهای فزایندهٔ داروهای کرستین و هسپرتین، شدت فلورسانس آنزیم, کاهش پیدا کرد با این تفاوت که در هسپرتین این کاهش، همراه با تغییر طول موج تحریکی به طول موجهای بالاتر و در مورد کرستین بدون تغییر بود(شکل۲ –الف و ۲– ب). این نتایج نشانگر آن است که هر دو دارو در غلظتهای مختلف قادر هستند موجب خاموشی نشر فلورسانس آنزیم گزانتین اکسیداز تحت یک الگوی وابسته به غلظت فلاوونوئید، شوند. در مطالعه حاضر، تنها بخش خطی منحنی استرن–ولمر، برای محاسبهٔ ثابت خاموشی، مورد استفاده قرار گرفت. وجود ضریب وابستگی بالا، حاکی از وجود توافق بسیار خوب بین داده های بدست آمده و رابطهٔ استرن–ولمر در محدودهٔ غلظتهای مورد استفاده، است. در شکل ۳ – الف و۳– ب منحنی استرن–ولمر برای اثر خاموشی کرستین و هسپرتین برروی طیف نشری آنزیم گزانتین اکسیداز در دماهای مختلف نشان داده شده است.

در مورد برهمکنش آنزیم با کرستین، نتایج بدست آمده نشان داد که با افزایش دما, مقدار K_{sv} کاهش و در برهمکنش آنزیم با هسپرتین, این مقدار افزایش می‌یابد. در جدول۱، ثابتهای استرن–ولمر برای سیستم های کرستین–گزانتین اکسیداز و هسپرتین–گزانتین اکسیداز در دماهای مختلف آمده است.

۲–۳: ثابت پیوندی و محلهای پیوندی

روشهای مختلفی برای محاسبه ثابت پیوندی، K_A و تعداد محلهای پیوندی بازای هر مولکول آنزیم، n ، وجود دارد که یکی از بهترین این روشها، استفاده از رابطه ۳ است:

(۳)

$$\log (F_0 - F/F) = n \log K_A - n (\log 1/[Q_t] - (F_0 - F) [P_t]/F_0)$$

در این رابطه F_0 و F به ترتیب شدت فلورسانس را در غیاب و در حضور دارو نشان می دهد و پارامترهای Q_t , P_t نشان دهنده غلظت آنزیم و دارو است. مزیت استفاده از این رابطه این است که در آن به جای استفاده از غلظت آزاد دارو یا پروتئین از غلظت کلی دارو و آنزیم استفاده می شود(۸). بنابراین بر اساس این رابطه می توان مقادیر مربوط به n و K_A را از طریق رسم داده های حاصل از log $(F_0 - F/F)$ در مقابل داده های بدست آمده از – $\log 1/[Q_t](F_0 - F) [P_t]/F_0)$ به دست آورد. در بررسی حاضر مقادیر مربوط به K_A و n در جدول ۲ گردآوری شده اند. ضرایب همبستگی بالاتر از ۰/۹۹ نشاندهندهٔ کارآمدی معادلهٔ ۳ در محاسبهٔ مقادیر K_A و n است. در مورد کرستین با افزایش دما, مقادیر K_A کاهش می‌یابد و این نشان دهنده تشکیل ترکیب ناپایدار است که در دمای بالا تجزیه می شود(۱۱،۱۲). در مورد هسپرتین عکس این مورد اتفاق می افتد یعنی با افزایش دما مقادیر K_A نیز افزایش می‌یابد. تعداد محلهای پیوندی در هر دو مورد تقریبا برابر ۱ است که با مقادیر به دست آمده در بررسیهای گذشته روی سرم آلبومین مطابقت دارد(۱۳،۸).

۳–۳: پارامترهای ترمودینامیکی و نوع نیروهای پیوندی

نیروهای برهمکنش بین مولکولهای لیگند وماکرومولکولها بطور عمده می‌تواند شامل نیروهای هیدروفوبیک، واندروالس، پیوند هیدروژنی و الکتروستاتیک باشد. پارامترهای ترمودینامیکی در تعیین نوع نیروهای برهمکنشی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرند(۱۴). برای این منظور می توان به کمک روابط ۴ و۵، پارامترهای ترمودینامیکی برهمکنش دارو با ماکرومولکول را محاسبه نمود:

$$\ln K_a = -\Delta H/RT + \Delta S/R \quad (۴)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (۵)$$

در این روابطه, R ثابت گازها، Ka ثابت پیوندی، T دمای آزمایشهای انجام شده برحسب کلوین، ΔH تغییرات آنتالپی و ΔS تغییرات آنتروپی است. مقادیر بدست آمده از این معادلات برای برهمکنش کرستین و هسپرتین با آنزیم گزانتین اکسیداز در جدول ۲، نشان داده شده است.

www.SID.ir

جدول۱. ثابتهای استرن–ولمر برای سیستم های کرستین–گزانتین اکسیداز و هسپرتین–گزانتین اکسیداز در دماهای مختلف

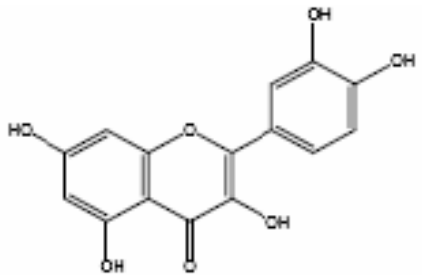
	pH	T (K)	10^{-4} Ksv ($l\ mol^{-1}\ s^{-1}$)	R[a]	SD[b]
Quercetin	۷/۴	۲۹۶	۱/۳۷۰	۰/۹۹۶۹	۰/۰۲۴۳
		۳۰۳	۱/۲۵۵	۰/۹۹۶۵	۰/۰۳۰۱
		۳۱۰	۱/۲۰۵	۰/۹۹۱۸	۰/۰۱۳۸
Hesperetin	۷/۴	۲۹۶	۳/۳۸۰	۰/۹۹۶۴	۰/۰۲۱۳
		۳۰۳	۴/۲۵۲	۰/۹۹۰۱	۰/۰۱۵۴
		۳۱۰	۴/۴۰۵	۰/۹۹۰۴	۰/۰۲۰۱

[a] R: the correlation coefficient
[b] SD: standard deviation

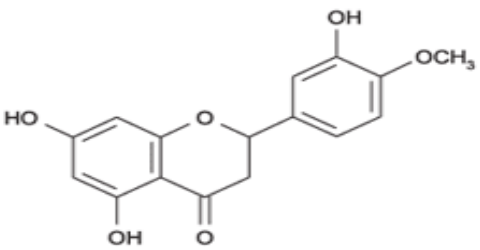
جدول ۲. ثابتهای اتصال، K_A، و تعداد محلهای اتصال ترکیب به آنزیم،n، پارامترهای ترمودینامیکی برای اتصال کرستین و هسپرتین به آنزیم گزانتین اکسیداز شیر گاوی

	pH	T (K)	10^{-4} K_a ($l\ mol^{-1}$)	n	R[a]	ΔH ($kJ\ mol^{-1}$)	ΔG ($kJ\ mol^{-1}$)	ΔS ($J\ mol^{-1}\ K^{-1}$)
Quercetin	۷/۴	۲۹۶	۱/۴۰۱	۱/۰۵۹	۰/۹۹۶۳		–۲۳/۴۸۴	
		۳۰۳	۱/۲۲۳	۱/۰۴۰	۰/۹۹۵۳	–۱۰/۶۶۱	–۲۳/۷۸۷	۴۳/۳۲۱
		۳۱۰	۱/۱۵۳	۱/۱۳۷	۰/۹۹۰۶		–۲۴/۰۹۰	
Hesperetin	۷/۴	۲۹۶	۳/۹۷۳	۱/۱۶۸	۰/۹۹۳۱		–۲۶/۰۴۰	
		۳۰۳	۴/۳۹۸	۱/۲۵۰	۰۰/۹۹۱۲	۱۳/۶۵۰	–۲۶/۹۷۸	۱۳۴/۰۸۸
		۳۱۰	۵/۱۰۶	۱/۲۷۷	۰/۹۹۴۲		–۲۷/۹۱۷	

[a] R: the correlation coefficient
[b] SD: standard deviation



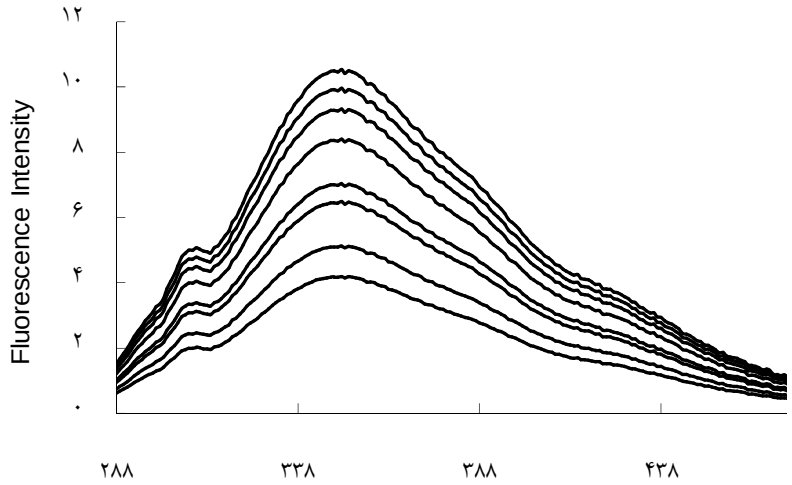
شکل۱. الف ساختمان شیمیائی کرستین



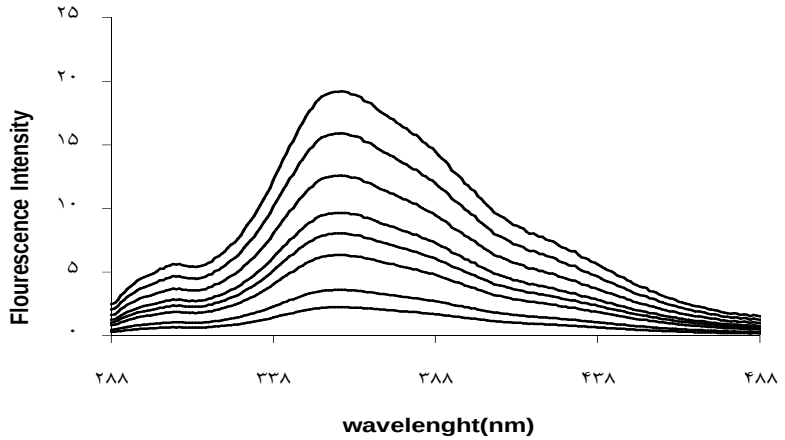
شکل۱. ب ساختمان شیمیائی هسپرتین

www.SID.ir

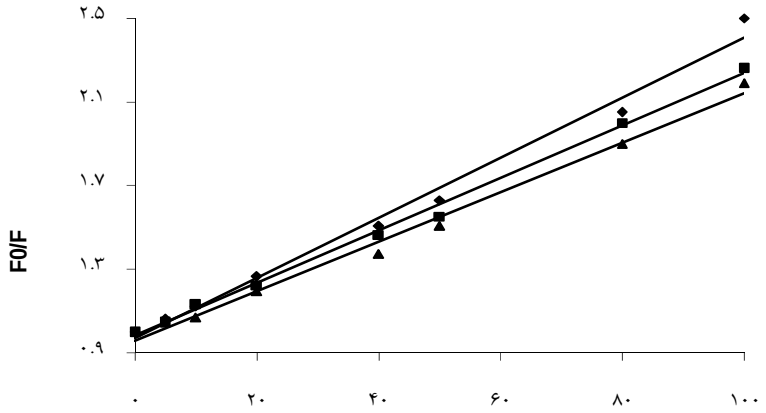
Archive of SID



شکل۲. الف طیف نشری آنزیم گزانتین اکسیداز شیر گاوی در حضور غلظتهای مختلف کرستین(۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰میکرومول). غلظت گزانتین اکسیداز در تمامی محلولهای انکوباسیون, مقدار ثابت $۳/۰۷ \times ۱۰^{-۸}$ مول بود(λ_{ex} = 278 nm, pH 7.4, T= 296 K) .



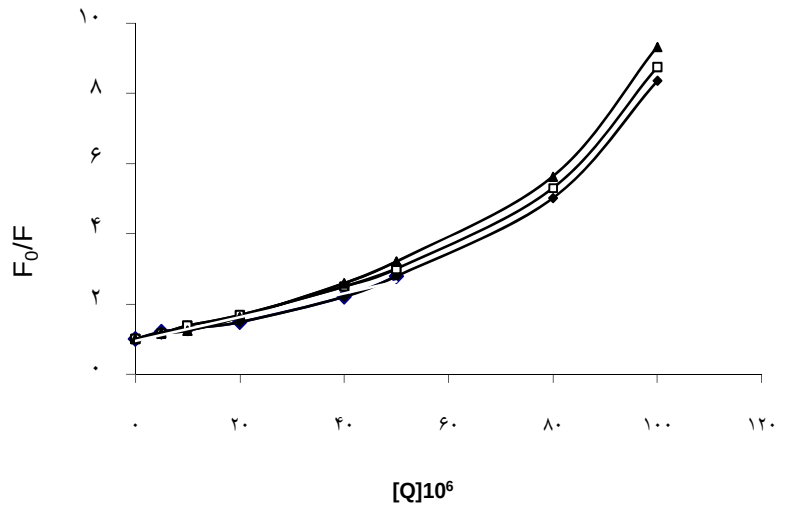
شکل۲. ب طیف نشری آنزیم گزانتین اکسیداز شیر گاوی در حضور غلظتهای مختلف هسپرتین
(λ_{ex} = 278 nm, pH 7.4, T= 296 K).



شکل ۳. الف منحنی استرن–ولمر برای اثر خاموشی کرستین (A)برروی طیف نشری آنزیم گزانتین اکسیداز شیر گاوی در دماهای ۲۹۶, ۳۰۳ و ۳۱۰ کلوین (۷/۴۰ =pH، λ_{ex}=278 nm و λ_{em}=339 nm)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳. ب منحنی استرن–ولمر برای اثر خاموشی هسپرتین (B)برروی طیف نشری آنزیم گزانتین اکسیداز شیر گاوی در دماهای ۲۹۶، ۳۰۳ و ۳۱۰ کلوین (۷/۴۰ =pH، λ_{ex}=278 nm و λ_{em}=346 nm)

۴–بحث

خاموشی فلورسانس از طریق دو مکانیسم استاتیکی و دینامیکی می‌تواند اتفاق بیفتد که این دو مکانیسم از طریق وابستگی متفاوت آن به دما و طول عمر حالت برانگیخته از همدیگر متمایز می‌شوند(۱۴). در مکانیسم دینامیکی کاهش شدت فلورسانس در نتیجه برخورد ماده خاموش کننده (دارو) با ماده فلورسانس اتفاق می‌افتد در حالیکه در مکانیسم استاتیکیتشکیل کمپلکس ماده غیرفلورسانس با ماده فلورسانس باعث کاهش شدت فلورسانس زا می‌شود(۱۵). هر دو مکانیسم، از طریق رابطه استرن – ولمر قابل بررسی است که در معادله ۱ به آن اشاره شده است.

$$F_0/F = 1 + K_q\tau_0 [Q] = 1 + K_{sv}[Q] \qquad (1)$$

در این رابطهQ , K_q , F_0K_{sv} , F, τ_0 به ترتیب شدت فلورسانس در غیاب و در حضور دارو، طول عمر فلوروفور در غیاب دارو که برابر با ۸–۱۰ ثانیه است، غلظت دارو، ثابت سرعت و ثابت استرن– ولمر را نشان می‌دهد(۱۶).

اگر مکانیسم خاموشی برهمکنش دارو و آنزیم تنها از نوع استاتیکی یا دینامیکی باشد، در این صورت نمودار F_0/F در برابر غلظتهای مختلف دارو، خطی خواهد بود(۸)، ولی اگر هر دو مکانیسم در برهمکنش موثر باشند منحنی مربوطه در غلظتهای بالای دارو از حالت خطی خارج و به طرف محور x، انحناء خواهد یافت(۱،۱۵).

تجزیه و تحلیل برهمکنش آنزیم گزانتین اکسیداز با داروهای کرستین و هسپرتین در دماهای مختلف نشان داد که برهمکنش آنزیم با کرستین و هسپرتین، به ترتیب استاتیکی و استاتیکی– دینامیکی است.در مورد برهمکنش آنزیم با کرستین، نتایج بدست آمده نشان داد که با افزایش دما، مقدار K_{sv} کاهش و در برهمکنش آنزیم با هسپرتین، این مقدار افزایش می‌یابد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که در برهمکنش کرستین و آنزیم گزانتین اکسیداز که با تشکیل کمپلکس کرستین– آنزیم همراه است، مکانیسم استاتیکی نسبت به نوع دینامیکی غالب است، در حالی که در مورد هسپرتین، مکانیسم غالب برای کاهش نشر فلورسانس آنزیم، از نوع دینامیکی است. مطالعاتی که بر روی برهمکنش سرم آلبومین و کرستین انجام گرفته است، نشان‌دهنده وجود مکانیسم استاتیکی در آن است(۸،۱۳).

در برهمکنش آنزیم گزانتین اکسیداز و کرستین، آنتروپی مقدار مثبت و آنتالپی و انرژی آزاد گیبس مقادیر منفی دارند که نشان دهنده خود به خودی بودن برهمکنش است. مقادیر ΔH برای برهمکنش های الکترواستاتیک، بسیار ناچیز است و علامت منفی برای این پارامتر ترمودینامیکی، عمدتاً به وجود پیوندهای هیدروژنی نسبت داده می شود، در حالی که مثبت بودن ΔS نشاندهندهٔ اهمیت نیروهای هیدروفوبیک در برهمکنش لیگند با پروتئین است(۱۴،۱۷).

بنابراین، نتایج این مطالعه، حاکی از این است که ماهیت نیروهای دخیل در برهمکنش کرستین با آنزیم گزانتین اکسیداز، بطور عمده از نوع نیروهای هیدروفوبیک است. اهمیت این برهمکنشها در بررسی برهمکنش کرستین با

www.SID.ir

Archive of SID

سرم آلبومین نیز نشان داده شده است(۱۷). در برهمکنش هسپرتین با آنزیم گزانتین اکسیداز، تغییرات آنتروپی و آنتالپی هر دو مقدار مثبت بدست آمد و این امر بیانگر این است که در فرآیند برهمکنش آنزیم و هسپرتین، برخلاف تغییرات آنتالپی، تغییرات آنتروپی نقش موثری داشته و نیروهای موثر در برهمکنش آنزیم با این فلاوونوئید فقط از نوع نیروهای هیدروفوبیک است.

با توجه به اهمیت دارویی این مواد نتایج حاصل می تواند در پیشگویی رفتار آنها در بدن حائز اهمیت باشد. همچنین روش ارائه شده می تواند برای مطالعه برهمکنش سایر داروها با آنزیم گزانتین اکسیداز مورد استفاده قرار گیرد.

۵- نتیجه گیری

در این تحقیق یک روش اسپکتروفلوئوریمتری برای بررسی برهمکنش کرستین و هسپرتین با پروتئین گزانتین اکسیداز به عنوان یکی از پروتئینهای اصلی فلاونوئیدها بررسی شد. کرستین و هسپرتین با گزانتین اکسیداز به ترتیب برهمکنشهایی از نوع استاتیکیو دینامیکی- استاتیکی می‌توانند داشته باشند. همین موضوع امکان بررسی آنها را با روش استرن ولمر امکان‌پذیر می سازد(۸،۱۳). مقادیر ترمودینامیکی به‌دست آمده نشان می دهد که در برهمکنش کرستین با گزانتین اکسیداز هر دو نیروی هیدروژنی و هیدروفوب موثر است همانطور که در برهمکنش کرستین با سرم آلبومین نیز این نیروها به عنوان نیروهای موثر شناخته شده است(۱۷)و این نشان می‌دهد که برهمکنش کرستین با هر دو پروتئین یکسان است. دربرهمکنش هسپرتین با گزانتین اکسیداز فقط نیروهای هیدروفوب نقش دارند.با مطالعه برهمکنش فلاونوئیدهای دیگربا ساختارهای شیمیایی متفاوت با گزانتیین اکسیداز می‌توان اطلاعات بیشتری را در مورد ویژگیهای ساختاری گزانتین اکسیداز با فلاونوئیدها به دست آورد.

۶- تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از دانشگاه علوم پزشکی تبریز به واسطه حمایتهای مالی تشکر می کنند.

References:

1. Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer, Pharmacol. Rev., 2000, 52: 673-751.
2. Havsteen B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids, Pharmacol and Ther., 2002, 96: 67-202.
3. Webb M.R., Ebeler S.E. Comparative analysis of topoisomerase IB inhibition and DNA intercalation by flavonoids and similar compounds: structural determinates of activity, Biochem. J., 2004, 384: 527-541.
4. Aucamp J., Gaspar A., Hara Y., Apostolides Z. Inhibition of xanthine oxidase by catechins from tea (Camellia sinensis), Anticancer Res., 1997, 17: 4381-4385.
5. Nagao A., Seki M., Kobayashi H. Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids, Biosci. Biotechnol. Biochem., 1999, 63: 1787-1790.
6. Zhu J.X., Wang Y., Kong L.D., Yang C., Zhang X. Effects of Biota orientalis extract and its flavonoid constituents, quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver, J. Ethnopharmacol., 2004, 93: 133-140.
7. Krenitsky T. A., Neil S. M., Elion G. B., Hitchings G. H., A comparison of the specificities of xanthine oxidase and aldehyde oxidase, Archiv. Bioch. Biophys., 1972, 150: 585-599.
8. Bi S., Ding L., Tian Y., Song D., Zhou X., Liu X., Zhang H. Investigation of the interaction between flavonoids and human serum albumi, J. Mol. Struc., 2004, 703, 37–45.
9. Pastukhov A.V., Levchenko L. A., Sadkov A. P. Spectroscopic study on binding of rutin to human serum albumin, J. Mol. Struc., 2007, 842: 60- 66.
10. Li Y., He W., Liu H., Yao X., Hu Z. Daidzein interaction with human serum albumin studied using optical spectroscopy and molecular modeling methods, J. Mol. Struc., 2007, 831: 144 – 150.
11. Li J., Li N., Wu Q., Wang Z., Ma J., Wang C., Zhang L. Study on the interaction between clozapine and bovine serum albumin, J. Mol. Struc., 2007, 833: 184 – 188.
12. Gong A., Zhu X., Hu Y., Yu S., A. fluorescence spectroscopic study of the interaction between epristeride and bovin serum albumin and its analytical application, Talanta., 2007, 73: 668-673.
13. Wang Y., Zhang H., Zhang G., Tao W., Fei Z., Liu Z. Spectroscopic studies on the interaction between silicotungstic acid and bovine serum albumin, J. Pharm. Biomed. Anal., 2007, 43: 1869 – 1875
14. Kanakis C.D., Tarantilis P.A., Polissiou M.G., Diamantoglou S, Tajmir-Riahi H.A. Antioxidant flavonoids bind human serum albumin., J. Mol. Struc., 2006, 798: 69 -74.
15. Hu Y.J., Liu Y., Shen X.S., Fang X.Y., Qu S.S. Studies on the interaction between 1-hexylcarbamoyl-

www.SID.ir

Archive of SID

5-fluorouracil and bovine serum albumin, J. Mol. Struct., 2005, 738: 143 – 147. 16. Wang Y., Zhang H., Zhang G., Tao W., Tang S. Binding of brucine to human serum albumin, J. Mol. Struc., 2007, 830: 40-45.

16. Min J., Meng-Xia X., Dong Z., Yuan L., Xiao-Yu L., Xing C. Spectroscopic studies on the interaction of cinnamic acid and its hydroxyl derivatives with human serum albumin, J. Mol. Struc., 2004, 692: 71 - 80.

www.SID.ir