چکیده

میان‌کنش بین ترکیب سنتزی با فرمول شیمیایی $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ با قطعه DNA حاوی ۱۰۰ جفت باز در بافر Tris-HCl (pH= ۷,۴) با استفاده از روش‌های طیف‌سنجی UV-Vis، فلورسانس، ویسکومتری و ژل الکتروفورز بررسی گردید. با استفاده از روش طیف‌سنجی UV-Vis نشان داده شد که در حضور غلظت‌های افزاینده DNA، افزایش شدت جذب (هایپرکرومیسم) در طیف مربوط به ترکیب سنتزی مشاهده می‌شود که می‌تواند نشان‌دهنده وجود برهم‌کنش بین $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ و DNA باشد. همچنین به کمک طیف‌سنجی جذبی، ثابت پیوندی (K_b) $۵/۸\times۱۰^{۵}\ M^{-۱}$ تخمین زده شده است. در مطالعات فلورسانس، افزایش DNA به محلول تتراآکریدینیم‌سالیسیلات‌کبالت (II) موجب کاهش در شدت نشر فلورسانس این ترکیب می‌گردد که می‌توان گفت DNA برای این ترکیب سنتزی خاصیت خاموش کنندگی دارد. به کمک معادله استرن- ولمر ثابت خاموشی مولکول DNA $۱/۵\times۱۰^{۴}\ Lmol^{-۱}$ برآورد گردید. در مطالعات اتصال رقابتی با اتیدیوم‌برماید (EtBr) کاهش شدت نشر کمپلکس DNA- EtBr در حضور تتراآکریدینیم‌سالیسیلات‌کبالت (II) نشانگر رقابت این ترکیب با اتیدیوم‌برماید بر سر جایگاه‌های اتصال به DNA می‌باشد که این مطلب تاییدی بر میان‌جاگیر بودن اتصال است. ویسکوزیته نسبی DNA در حضور مقادیر افزایش یافته از کمپلکس $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ افزایش پیدا کرد که نشان‌دهنده میان‌جاگیر بودن اتصال بین تتراآکریدینیم‌سالیسیلات‌کبالت (II) و DNA می‌باشد. در روش الکتروفورز افزایش مقدار ترکیب سنتزی $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ موجب کندتر شدن حرکت DNA پلاسمیدی می‌گردد که این کاهش حرکت به دلیل تغییر ساختمان و افزایش طول DNA در اثر قرار گرفتن ترکیب سنتزی بین جفت بازهای DNA است. نتایج به‌دست آمده نشان دهنده این مطلب است که حالت میان‌کنش DNA با ترکیب سنتزی تترا-آکریدینیم‌سالیسیلات‌کبالت (II) میان‌جاگیر است.

کلید واژه: DNA؛ ترکیب تتراآکریدینیم‌سالیسیلات‌کبالت (II)؛ طیف‌سنجی UV-Vis؛ طیف‌سنجی فلورسانس؛ ویسکومتری؛ الکتروفورز

Abstract

The interactions of $(Acr)_4$ $[Co(Sal)_3]$ with DNA were investigated by electronic absorption, fluorescence, viscosity measurement and electrophoresis methods. The binding constant has been determined by absorption measurement and found to be 5.8×10^5 M^{-1}. The interaction was also studied by fluorescence quenching technique. The results of fluorescence titration revealed that DNA had the strong ability to quenching the intrinsic fluorescence of $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ at 427 nm. In addition, the Stern–Volmer quenching constant K_{SV} has been determined. In order to testify if $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ could bind to DNA by intercalation, DNA competitive binding study with ethidium bromide was carried out. The emission intensity of DNA bound ethidium bromide is decreased on the addition of the $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ which indicates that ethidium bromide molecule, have been replaced by the complex. Displacement of ethidium bromide by the titration of $(Acr)_4$ $[Co(Sal)_3]$ is suggestive of an intercalative or binding. In the viscosity measurements, the complex showed an increase in viscosity of DNA on increasing the concentration of the complex, leading to the conclusion that the complexes bound to DNA via intercalation mode. In order to substantiate the binding of the cobalt (II) complex to DNA, agarose gel electrophoresis was carried out. In this study, due to the interaction of DNA–$(Acr)_4[Co(Sal)_3]$, the migration of the DNA band is made slow as the amount of cobalt(II) complex is increased. The results indicate that $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ bound to DNA by intercalation mode.

Keywords: DNA, $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$, UV-Vis spectroscopy; Fluorescence spectroscopy; Viscometric; Agarose gel electrophoresis.

فصل اول: مقدمه

۱-۱ سرطان ۲

۱-۱-۱ درمان سرطان ۲

۱-۱-۲ طراحی دارو برای مقابله با سرطان ۲

۱-۲ اتصال مولکول های کوچک سنتزی به اسیدهای نوکلئیک ۳

۱-۳ حالت های اتصال مولکول های کوچک به DNA ۴

۱-۳-۱ تأثیر مستقیم مولکول‌های کوچک بر روی DNA (از طریق مهار آنزیم توپوایزومراز) ۴

۱-۳-۲ اتصال به DNA به صورت کووالان و برگشت ناپذیر ۷

۱-۳-۳ اتصال به DNA به صورت غیر کووالان و برگشت پذیر ۹

۱-۳-۳-۱ اتصال سطحی ۹

۱-۳-۳-۲ میان‌کنش با شیار کوچک و بزرگ DNA ۱۰

۱-۳-۳-۳ جای‌گرفتن بین جفت بازها ۱۲

۱-۳-۴ ترکیبات میان‌جاگیر دوتایی ۱۴

۱-۳-۵ آنترا سیکلین ها ۱۶

۱-۴ تکنیک‌های موجود برای شناسایی میان‌کنش های مولکول‌های کوچک با DNA ۱۷

۱-۴-۱ مطالعات طیف‌سنجی مادون قرمز (IR) ۱۷

۱-۴-۲ مطالعات طیف‌سنجی UV-Vis ۱۸

۱-۴-۳ مطالعات غیرطبیعی شدن دمایی ۱۹

۱-۴-۴ مطالعات طیف سنجی نشری ۲۰

۱-۴-۵ مطالعات ویسکوزیته ۲۱

۱-۴-۶ مطالعات ژل الکتروفورز ۲۲

۱-۴-۷ واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) ۲۳

۱-۵ معرفی ترکیب سنتزی [Acr)4[Co(Sal)3] ۲۵
۱-۵-۱ فرایند انتقال پروتون ۲۵
۱-۵-۲ سالیسیلیک اسید ۲۶
۱-۵-۳ آکریدین ۲۷
۱-۶ هدف از مطالعه میان‌کنش ترکیب سنتزی تتراآکریدینیم سالیسیلات کبالت II با DNA ۲۸

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱ مواد مورد نیاز ۳۰
۲-۲ وسایل و دستگاه‌ها ۳۰
۲-۳ محلول‌های مورد نیاز ۳۱
۲-۳-۱ محلول‌های مورد نیاز برای مطالعات نوری ۳۱
۲-۳-۲ محلول های مورد نیاز برای برای مطالعات ژل الکتروفورز ۳۱
۲-۴ روش ها ۳۲
۲-۴-۱ تعیین کیفیت و خلوص DNA ۳۲
۲-۴-۱-۱ بستن ژل و الکتروفورز کردن نمونه‌ها ۳۲
۲-۴-۱-۲ نانودراپ ۳۳
۲-۴-۲ اسپکتروسکوپی جذبی UV-Vis ۳۴
۲-۴-۲-۱ تعیین غلظت مناسب از کمپلکس تتراآکریدینیم‌سالیسیلات‌کبالت (II) ۳۴
۲-۴-۲-۲ محاسبه ثابت اتصال از طریق نمودار معکوس دوطرفه تغییرات جذب نسبت به غلظت لیگاند ۳۴
۲-۴-۳ طیف سنجی فلورسانس ۳۴
۲-۴-۴ مطالعات ویسکوزیته ۳۵
۲-۴-۵ مطالعات ژل الکتروفورز ۳۵

۲-۵ مشخصات پلاسمید pcDNA3 ..... ۳۶

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱ مطالعات طیف سنجی UV-Vis ۳۸
۳-۱-۱ تعیین غلظت مناسب از کمپلکس تتراآکریدینیم‌سالیسیلات‌کبالت (II) ۳۸
۳-۱-۲ بررسی برهمکنش کمپلکس $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ با DNA ۴۰
۳-۱-۳ محاسبه ثابت اتصال ذاتی ترکیب سنتزی به DNA ۴۲
۳-۲ طیف سنجی فلورسانس ۴۳
۳-۲-۱ بررسی میان کنش ترکیب سنتزی $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ و DNA ۴۳
۳-۲-۲ محاسبه ثابت خاموشی مولکول DNA ۴۵
۳-۲-۳ مطالعات اتصال رقابتی با اتیدیوم برماید ۴۶
۳-۳ مطالعات ویسکوزیته ۴۷
۳-۴ مطالعات ژل الکتروفورز ۴۹
۳-۴-۱ تعیین کیفیت و خلوص DNA ۴۹
۳-۴-۲ تأثیر کمپلکس $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ بر روی حرکت الکتروفورتیک DNA پلاسمیدی ۵۰
۳-۵ مطالعات غیرطبیعی شدن دمایی ۵۱
۳-۵ بحث و نتیجه گیری کلی ۵۲
۳-۶ پیشنهادات ۵۴
فصل چهارم: منابع و ماخذ ۵۵

فهرست اشکال

شکل۱-۱ شماتیکی از نحوه اثر مهارکننده بر روی آنزیم توپوایزومراز I و II ۶
شکل ۱-۲ مکانیزم عمل ضدسرطانی سیس‌پلاتین ۷
شکل ۱-۳ اشکال مختلف از کمپلکس‌های پلاتین ۸
شکل۱-۴ ساختار اسپرمین و اسپرمیدین ۹
شکل ۱-۵ ساختار دی ایمیدازول لکسی‌تروپسین ۱۰
شکل۱-۶ نتروپسین و نتروپسین اتصال یافته به شیار کوچک DNA ۱۱
شکل۱-۷ ساختار اتیدیوم برماید و نمایش حالت اتصال اتیدیوم برماید به DNA ۱۳
شکل۱-۸ ترکیبات میان جاگیر معمول و غیرمعمول ۱۳
شکل۱-۹ اکتینومایسین D و جاگیری اکتینومایسین D در میان جفت بازهای DNA ۱۴
شکل۱-۱۰ ترکیب میان جاگیر دوتایی ۶ – فنیل – ۲، ' ۲– بی پیریدین پلاتین II ۱۵
شکل۱-۱۱ نمونه‌هایی از داروهای ضد تومور رایج آنتراسیکلینی ۱۶
شکل۱-۱۲ موقعیت تقریبی باندهای جذبی IR مربوط به DNA در محلول‌های آبی ۱۷
شکل۱-۱۳ تصویر شماتیک از منحنی غیرطبیعی شدن دمایی DNA با افزایش دما در غیاب و حضور ترکیب میان جاگیر ۱۹
شکل۱-۱۴ تغییرات ویسکوزیته DNA پلاسمید pBR322 در حضور ترکیب میان جاگیر BePI و ساختار ۲۲
شکل۱-۱۵ دیاگرام آزمایشات توپوایزومراز ۲۳
شکل۱-۱۶ اثر دیستامایسین و دانومایسین بر روی PCR مربوط به یک میکروگرم DNA ژنومی ۲۴
شکل۱-۱۷ واکنش سنتز یک ترکیب انتقال پروتون دارای پیریدین ۲-۶ دی کربوکسیلیک اسید ۲۵
شکل۱-۱۸ ساختار کمپلکس مس استیل سالیسیلیک اسید [Cu(sal)(bipy)] ۲۶
شکل۱-۱۹ ساختار N- {۲-(دی متیل آمینو) اتیل} آکریدین-۴-کربوکسامید (DACA) ۲۷
شکل ۲-۱- توالی قطعه DNA به طول ۱۰۰ جفت باز ۳۰

شکل۲-۲ نمودار جذب DNA با دستگاه نانودراپ..... ۳۳

شکل۲-۲ پلاسمید pcDNA3..... ۳۶

شکل۳-۱ ترکیب سنتزی تتراآکریدینیم‌سالیسیلات‌کبالت (II)..... ۳۸

شکل۳-۲ طیف جذبی تتراآکریدینیم‌سالیسیلات‌کبالت (II) با غلظت‌های مختلف در بافر Tris-HCl, mM ۱۰با pH ۷/۴ ..... ۳۹

شکل۳-۳ طیف جذبی $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ در غلظت‌های افزاینده توالی DNA..... ۴۰

شکل۳-۴ طیف جذبی $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ در غلظت‌های افزاینده pcDNA3..... ۴۱

شکل۳-۵ نمودار $1/(A_0-A)$ بر حسب $1/[Complex\ Co(II)]$ ۴۲

شکل۳-۶ اثر افزایش غلظت DNA بر روی طیف فلورسانس تتراآکریدینیم‌سالیسیلات‌کبالت (II) ۴۳

شکل۳-۷ نمودار $\log (F_0-F)/F$ بر حسب $\log [DNA]$ ۴۴

شکل۳-۸ نمودار استرن- ولمر برای ترکیب سنتزی $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ در طول موج ۴۲۷ نانومتر در حضور غلظت‌های مختلف DNA..... ۴۵

شکل ۳-۹ طیف نشری فلورسانس کمپلکس DNA- EtBr در غیاب و حضور غلظت‌های مختلف از ترکیب سنتزی تتراآکریدینیم‌سالیسیلات‌کبالت (II)..... ۴۶

شکل ۳-۱۰ نمودار (η/η_0) بر حسب $1/R\ (R = [DNA]/(Acr)_4[Co(Sal)_3])$ در حضور ترکیب سنتزی تترا-آکریدینیم‌سالیسیلات‌کبالت (II) ۴۷

شکل ۳-۱۱ تیتراسیون ویسکومتری DNA پلاسمید (pcDNA3) با ترکیب سنتزی تترا آکریدینیم سالیسیلات کبالت (II)..... ۴۸

شکل ۳-۱۲ ژل الکتروفورز قطعه DNA ۱۰۰ جفت بازی ۴۹

شکل۳-۱۳ تصویر ژل آگارز ۰/۸٪ برای بررسی اثر کمپلکس $(Acr)_4[Co(Sal)_3]$ بر روی حرکت الکتروفورتیک DNA پلاسمیدی ۵۰

شکل۳-۱۴ طیف جذبی تتراآکریدینیم‌سالیسیلات‌کبالت (II) با غلظت ۴/۵ میکرومولار در دماهای مختلف..... ۵۱

فهرست جداول

جدول ۱– ۱ مهار کننده‌های آنزیم توپوایزومراز I و II ۵

فصل اول

مقدمه

۱-۱- سرطان

سرطان اصطلاحی برای اطلاق به گروهی از بیماری‌ها است که در آن سلول‌های غیرطبیعی بدون کنترل تقسیم می‌شوند و می‌توانند به سایر بافت‌ها تهاجم کنند. بعد از بیماری‌های قلبی و عروقی، سرطان دومین علت مرگ‌ومیر در کشورهای توسعه یافته محسوب می‌گردد. بر اساس آمار بدست آمده از IARC[1] هرساله حدود ۱۲/۷ میلیون مورد سرطانی جدید ایجاد می‌شود و ۷/۶ میلیون نفر در اثر این بیماری جان خود را از دست می‌دهند [۱و۲].

سرنوشت سلول‌ها کاملاً کنترل شده است و بر اساس نیازهای بدن انجام می‌شود. در جنین میزان تکثیر سلول‌ها بیشتر از مرگ سلولی است اما در جاندار بالغ میزان مرگ سلولی و تقسیم سلولی به تعادل می‌رسد. سرنوشت سلول در هر زمان، به طور کاملاً دقیق، به وسیله فاکتورهای رشد، پیام‌های محیطی و برخی پروتئین‌ها و پیامبرهای سلولی، کنترل می‌شود. جهش‌هایی که منجر به تغییر هر یک از فاکتورهای موثر در سرنوشت سلول می‌شوند باعث به‌هم خوردن نظم دقیقی که در تنظیم رشد و تکثیر و تمایز سلول‌هاوجود دارد می‌شده و می‌توانند منجر به بروز سرطان شوند. سلول‌های سرطانی کنترل خود را بر چرخه سلولی از دست داده و به طور مداوم و بدون توجه به پیام‌های سلولی و فاکتورهای رشد، به تکثیر ادامه می‌دهند.

۱-۱-۱- درمان سرطان

روش‌های درمانی که امروزه برای مقابله با سرطان به‌کار می‌روند عبارت‌اند از [۳]:

۱: پرتودرمانی

۲: جراحی (برداشتن تومور)

۳: شیمی‌درمانی

۱-۱-۲- طراحی دارو برای مقابله با سرطان

داروهایی که برای درمان سرطان طراحی می‌شوند در دو گروه عمده قرار می‌گیرند:

1International Agency for Research on Cancer

۱: داروهای سیتوتوکسیک (کشنده سلول)

۲: داروهای سیتواستاتیک (پایدار کننده سلول[1]): این گروه از داروها برای کشتن سلول سرطانی طراحی نشده‌اند. در واقع این داروها با هدف قرار دادن آنزیم‌های موجود در مسیرهای بیوشیمیایی مختلف در سلول سرطانی مانع تکثیر آن‌ها شده و از پیشرفت و متاستاز تومور جلوگیری می‌کنند.

اما داروهای سیتوتوکسیک از طریق تداخل با همانندسازی DNA سلول‌های سرطانی عمل می‌کنند، مانع تکثیر آن‌ها شده و باعث مرگ سلول می‌شوند. سه گروه اصلی از مولکول‌هایی که بدین طریق عمل می‌کنند عبارت‌اند از:

گروه ۱- آنتی‌متابولیت‌ها: این داروها ساختاری مشابه به ترکیبات زیستی داخل بدن که در سنتز نوکلئیک اسیدها شرکت می‌کنند داشته و بدین طریق باعث سنتز DNA غیر عملکردی می‌شوند.

گروه ۲- عوامل آلکیله‌کننده[2]: عوامل آلکیله‌کننده باعث ایجاد اتصالات عرضی بین دو زنجیره DNA و درون هر یک از زنجیره‌های DNA می‌شوند. همین امر با عملکرد رونوشت‌برداری DNA مداخله می‌کند. این داروها بهترین عملکرد خود را در زمان تقسیم سریع اعمال می‌کنند.

گروه ۳- عوامل متصل‌شونده به DNA[3]: عوامل متصل‌شونده به DNA در حال حاضر از مؤثرترین داروها برای درمان انواع مختلف سرطان به شمار می‌آیند [۴ و ۵].

۱-۲- اتصال مولکول‌های کوچک سنتزی به اسیدهای نوکلئیک

رونویسی و همانندسازی دو فرایند حیاتی برای تکثیر و بقای سلول‌ها به شمار می‌روند. DNA به محض دریافت پیام مورد نظر، همانندسازی و رونویسی را آغاز می‌کند. این پیام اغلب به صورت یک پروتئین تنظیمی می‌باشد که به ناحیه ویژه‌ای بر روی DNA اتصال می‌یابد. بنابراین اگر ویژگی اتصال و قدرت اتصال این پروتئین تنظیمی توسط یک مولکول کوچک تحت تأثیر قرار گیرد، دراین‌صورت عملکرد طبیعی DNA دستخوش تغییر می‌شود. این تغییرات می‌تواند مهار و یا حتی فعال شدن DNA باشد؛ لذا این مولکول‌های کوچک سنتزی و یا طبیعی می‌توانند در درمان و یا کنترل بیماری‌هایی که در ارتباط با مهار یا فعال شدن DNA هستند، به عنوان یک داروی مؤثر عمل کنند.

1Cell stabilising drugs
2Alkylating agents
3DNA-binding agents

در حالت فعال شدن DNA، بسته به جایگاهی که دارو بر روی DNA هدف قرار می‌گیرد، تولید مقادیر زیاد از پروتئین مورد نظر و یا القای همانندسازی را خواهیم داشت و مهار DNA، محدودیت در سنتز پروتئین، اختلال در همانندسازی و متعاقباً مرگ سلول را به دنبال خواهد داشت. اگرچه هردو عملکرد امکان‌پذیر می‌باشند اما عمدتاً در آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای ضدسرطان، با ایجاد آسیب درDNA سلول‌های سرطانی و توقف تقسیم در این سلول‌ها، DNA در حالت مهاری هدف قرار می‌گیرد [۶].

چندین دهه است که شناسایی مولکول‌های کوچکی که قادرند با DNA اتصال برقرار کنند مورد توجه بسیار زیاد می‌باشد. آزمایشات بیولوژیکی متعدد نشانگر این است که DNA هدف داخل سلولی مناسب برای داروهای ضد تومور است [۷ و ۸].

۱-۳- حالت‌های اتصال مولکول‌های کوچک به DNA

ویژگی‌های شیمیایی و شیمی‌فیزیکی، همچنین شیمی فضایی مولکولی که در میان‌کنش با DNA شرکت می‌کند، می‌تواندحالت‌های مختلفی از برهم‌کنش‌ها را به وجود آورد [۹]. مولکول‌های کوچک سنتزی خاصیت ضدسرطانی خود را به صورت مستقیم و یا غیرمستقیم بر روی DNA اعمال می‌کنند. تأثیر مستقیم از طریق ممانعت از شکل‌گیری مناسب DNA (مهار آنزیم توپوایزومراز[1]) و تأثیر غیرمستقیم از طریق اتصال به DNA به صورت کووالان و یا غیرکووالان است [۱۰].

۱-۳-۱-تأثیر مستقیم مولکول‌های کوچک بر روی DNA (از طریق مهار آنزیم توپوایزومراز)

برای بررسی مکانیزم عمل داروهایی که از این طریق عمل می‌کنند، نیاز به معرفی اجمالی آنزیم توپوایزومراز و انواع آن است. توپوایزومرازها آنزیم‌هایی هستند که گره‌ها و پیچش‌های اضافی DNA را که در هنگام همانندسازی ایجاد می‌شوند حذف می‌کنند و بدین طریق نقش مهمی در همانندسازی و رونویسی بازی می‌کنند. دو نوع اساسی از توپوایزومرازها، توپوایزومراز I و II هستند که به ترتیب موجب شکسته شدن تک‌رشته و دورشته در سوپرکویل

1Topoisomerase enzyme

DNA می‌گردند. از آنزیم‌های توپوایزومراز نوع یک انسانی (Topo I ,TopoIIIa ,TopoIIIb) تنها Topo I به عنوان هدف داروهای ضدسرطانی تایید شده است. از مهارکننده‌های توپوایزومراز I، مشتقات حاصل از کامپوتسین‌ها[1] را می‌توان نام برد [۱۰ و ۱۱].

آنزیم‌های توپوایزومراز II (TopoIIa و TopoIIb)، توسط دو ژن متفاوت رمز شده و دارای سطوح بیان مجزا هستند. بیان TopoIIa در یک رفتار وابسته به تکثیر سلولی تنظیم می‌شود و در جایی‌که سلول‌ها به سرعت تقسیم می‌شوند حضور دارد. اما در TopoIIb، رشد سلولی تأثیری بر بیان آن ندارد و در این صورت احتمالاً هدف ضعیفی برای ترکیبات ضدسرطانی است [۱۰].

آنتراسیکلین‌ها و اتوپوزید (Etop) مثال‌هایی هستند که از طریق مهار TopoIIa فعالیت ضدسرطانی خود را اعمال می‌کنند

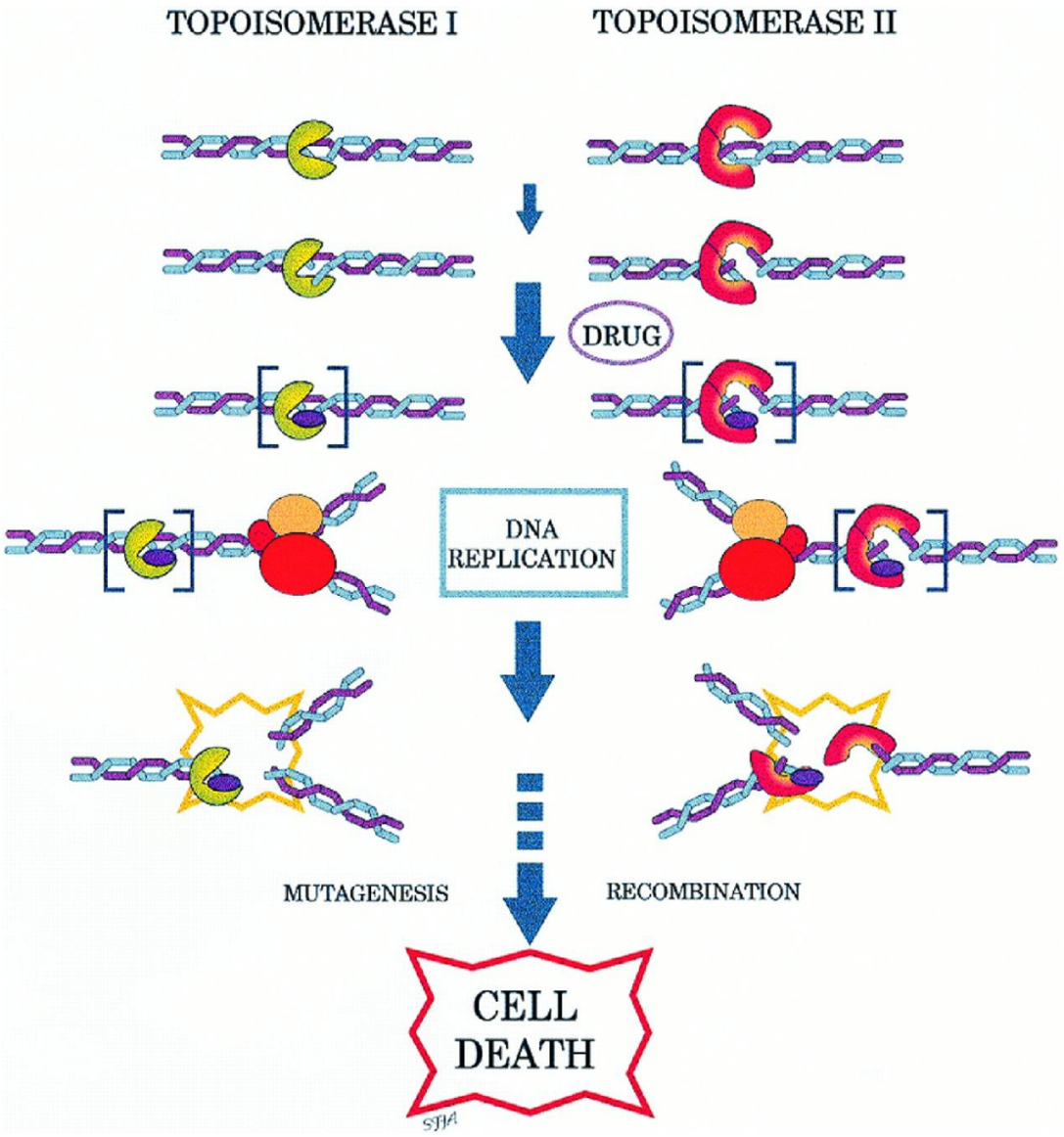
[۵ و ۱۱]. مهارکننده‌های آنزیم توپوایزومراز I و II درجدول ۱-۱ نشان داده شده است.

جدول ۱-۱- مهار کننده‌های آنزیم توپوایزومراز I و II

Antibiotics	Anthracyclines: doxorubicin,epirubicin, idarubicin, mitoxantrone	Free radicals & Ø Topo II
Podophillotoxins	Etoposide	Ø Topo II
Topo I inhibitors	Topotecan, irinotecan, rubitecan	Ø Topo I

Ø: inhibition

1 Camptothecin

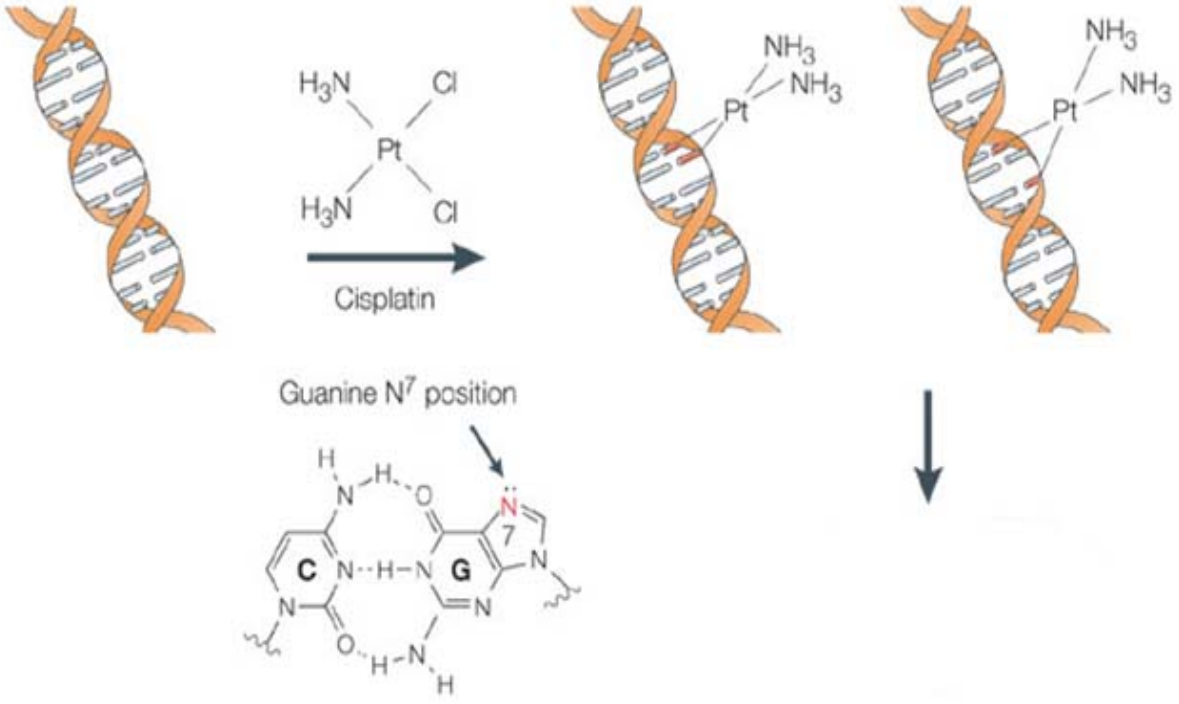


شکل ۱- ۱- شماتیکی از نحوه اثر مهارکننده بر روی آنزیم توپوایزومراز I و II [۱۲]

۱-۳-۲- اتصال به DNA به صورت کووالان و برگشت ناپذیر

اتصال کووالان به DNA برگشت ناپذیر بوده و همواره منجر به مهار کامل عملکرد DNA و به دنبال آن، مرگ سلول می‌شود. سیس‌پلاتین[1] یک داروی ضدسرطان شناخته شده است که در این گروه قرار می‌گیرد. سیس‌پلاتین با اتصال به موقعیت نیتروژن ۷ گوانین در مولکول DNA و ایجاد اتصالات متقاطع داخل و بین رشته‌ای، مکانیزم مهارکنندگی خود را اعمال می‌کند [۶ و ۱۳]. شکل ۱-۲ مکانیزم عمل ضدسرطانی سیس‌پلاتین را نشان می‌دهد.

1 Cisplatin



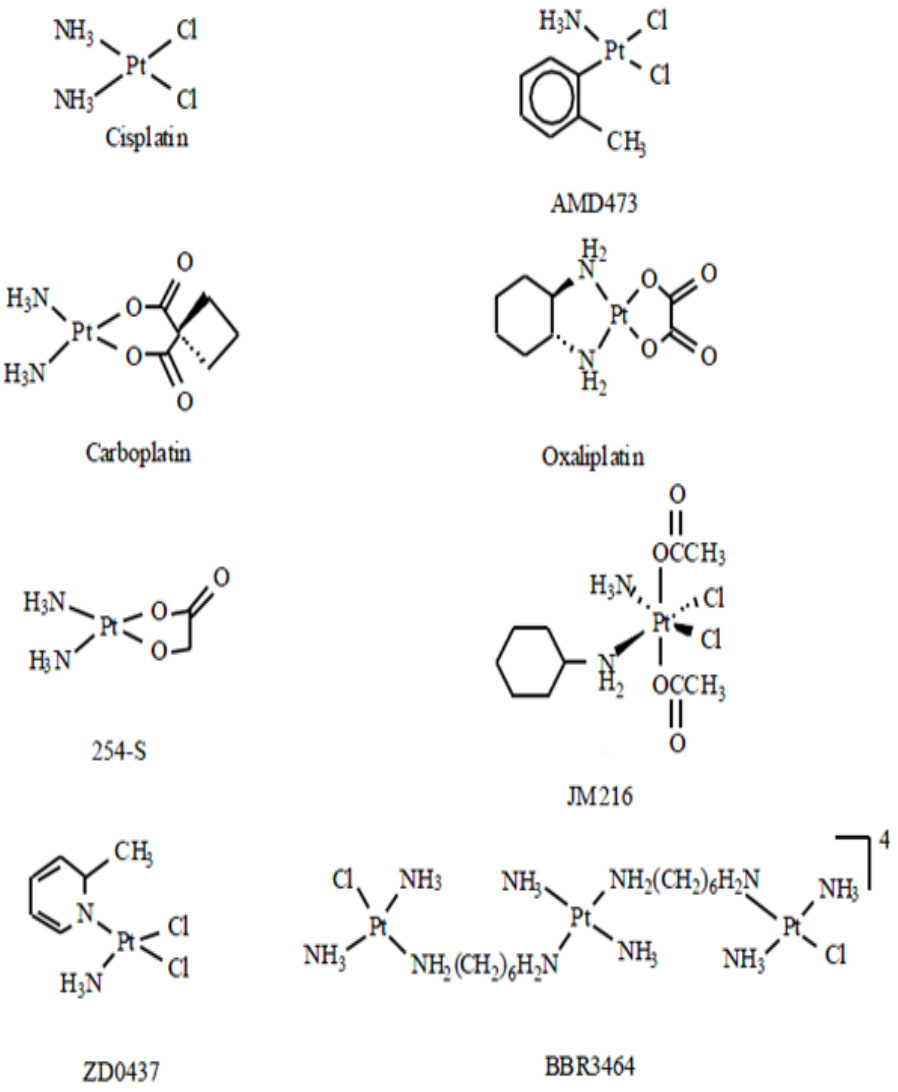
شکل ۱– ۲- مکانیزم عمل ضدسرطانی سیس‌پلاتین

مهار همانندسازی

مهار رونویسی

مرگ سلول

نمونه‌هایی از خانواده سیس‌پلاتین شامل کاربوپلاتین[1]، اگزالی‌پلاتین[2]، AMD473،BBR3474 و غیره در شکل ۱-۳ نشان داده شده‌اند [۱۳].



شکل ۱- ۳- انواع مختلف کمپلکس‌های پلاتین

1Carboplatin
2Oxaliplatin

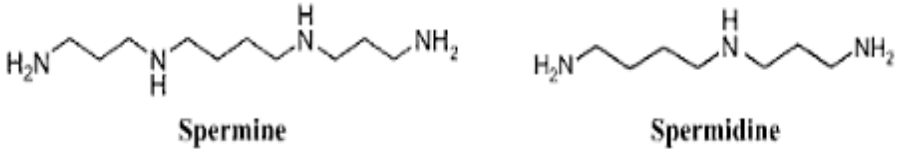
۱-۳-۳- اتصال به DNA به‌صورت غیرکووالان و برگشت پذیر

تعداد زیادی از ترکیبات فلزات واسطه که به‌صورت برگشت‌پذیر به DNA متصل می‌شوند، سال‌های متوالی مورد مطالعه قرار گرفته اند. در بسیاری از موارد، تمایل اتصال بالا مشاهده شده است. بنابراین می‌توان آن‌ها را به‌عنوان کاوشگرهای ساختار و عملکرد DNA مورد توجه قرار داد. همچنین این ترکیبات فلزی می‌توانند در کاربردهای مختلف، از زیست‌شناسی مولکولی گرفته تا کاربردهای دارویی نقش ایفا کنند [۱۴]. در اتصال برگشت پذیر سه حالت متصور است [۹]:

۱: اتصال سطحی، ۲: میان‌کنش با شیار کوچک و بزرگ DNA، ۳: جاگیری بین جفت بازها

۱-۳-۳-۱- اتصال سطحی

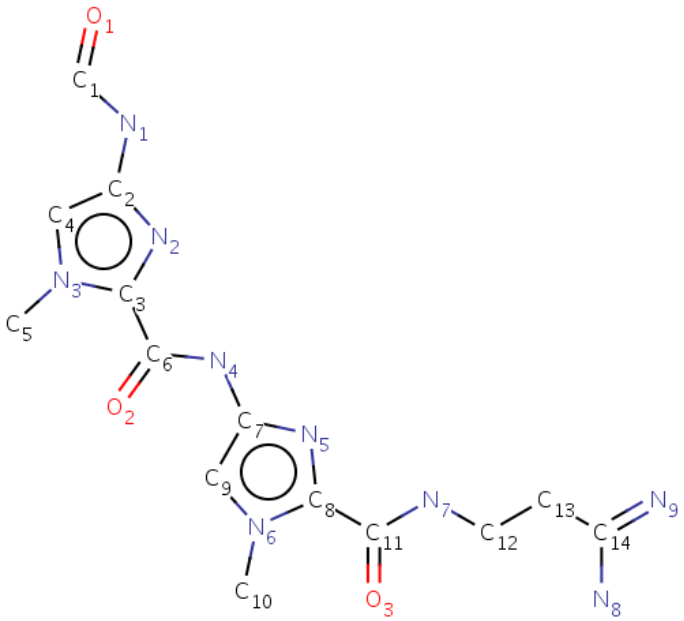
این اتصال از طریق میان‌کنش‌های الکترواستاتیک لیگاندهای باردار با ستون قند– فسفات DNA انجام می‌گیرد. پلی‌آمین‌ها نمونه‌های اولیه داروهای اتصال شونده به DNA هستند که اتصال آن‌ها توسط میان‌کنش‌های الکترواستاتیک بین گروه‌های آمونیوم کاتیونی پلی‌آمین و گروه‌های فسفات DNA صورت می‌گیرد. اسپرمین و اسپرمیدین مثال‌هایی از پلی‌آمین‌هایی هستند که مهم‌ترین نقش آن‌ها متراکم کردن DNA به داخل کروماتین است [۱۵]. شکل ۱-۴ اسپرمین و اسپرمیدین را نشان می‌دهد.



شکل ۱- ۴- ساختار اسپرمین و اسپرمیدین

۱-۳-۳-۲- میان‌کنش با شیار کوچک و بزرگ DNA

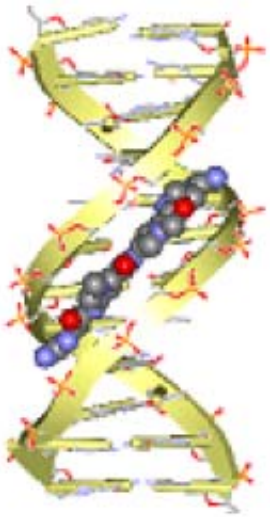
اتصال به شیارهای DNA توسط میان‌کنش‌های واندروالس صورت می‌گیرد. داروهایی که به شیار کوچک اتصال می‌یابند معمولاً هلالی شکل و مکمل شیار هستند. علاوه بر میان‌کنش‌های واندروالس، این داروها همچنین می‌توانند با بازهای DNA پیوند هیدروژنی تشکیل دهند که این پیوند به‌طور رایج با نیتروژن شماره ۳ مربوط به باز آدنین و اکسیژن شماره ۶ مربوط به باز تیمین انجام می‌گیرد. اغلب ترکیبات متصل شونده به شیار کوچک به توالی‌های غنی از A/T اتصال می‌یابند اما با این حال برخی از پلی‌آمیدهای سنتزی مانند لکسی‌تروپسین‌ها[1] (شکل ۱-۵) و پلی-آمیدهای ایمیدازول - پیرول طوری طراحی شده‌اند که به مناطق G-C و C-G در شیارها اتصال می‌یابند [۶]. ترکیبات متصل شونده به شیار، تغییرات کونفورماسیونی زیادی در ماکرومولکول DNA ایجاد نمی‌کنند و می‌توانند مشابه مدل‌های استاندارد قفل و کلید[2] در اتصال ماکرومولکول- لیگاند در نظر گرفته شوند [۱۰].



1Lexitropsin
2Key-lock model

شکل ۱- ۵ - ساختار دی ایمیدازول لکسی‌تروپسین

یکی از ترکیبات متصل شونده به شیار کوچک DNA، دیستامایسین A[1] می‌باشد. این ترکیب یک آنتی‌بیوتیک است که در سال ۱۹۶۲ از محیط کشت *Streptomyces distallicus* با عملکرد ضدویروسی و ضدباکتریایی جداسازی شد و در حال حاضر به‌عنوان کلاس جدیدی از داروهای ضدسرطان در حال تحقیق و بررسی می‌باشد. این دارو هم به دلیل فعالیت بیولوژیکی و هم به‌خاطر اتصال برگشت‌پذیر به توالی نوکلئوتیدی شامل ۴-۵ جفت باز AT در DNA توجه زیادی را به خود جلب کرده است [۱۶]. از دیگر ترکیبات متصل شونده به شیار کوچک DNA، نتروپسین[2](Nt) می‌باشد که به‌عنوان داروی ضدسرطان و ضدویروس شناخته شده است. Nt از *Streptomyces netropsis* استخراج شده و به توالی غنی از AT در شیار کوچک DNA اتصال می‌یابد. این آنتی بیوتیک فعالیت بیولوژیکی خود را با ایجاد تداخل در عملکرد پروتئین‌های دخیل در همانندسازی و رونویسی، اعمال می‌کند [۱۷]. نتروپسین اتصال یافته به



شیار کوچک DNA در شکل ۱-۶ نشان داده شده است.

1Distamycin A
2Netropsin