



ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

## تعیین رفتار تعاملی DNA تیموس گوساله با بربرین هیدروکلرید در حضور هیستون

### پیونددهنده<sup>1</sup>: یک مطالعه بیوفیزیکی

#### چکیده

اتصال مولکول‌های کوچک با کمپلکس‌های هیستون - DNA می‌تواند باعث تداخل در فرایندهای حیاتی سلولی مانند تقسیم سلولی و رشد سلول‌های سرطانی شود که منجر به آپوپتوز می‌شود. مطالعه اثر متقابل مولکول‌های کوچک با کمپلکس هیستون - DNA با هدف درک بهتر مکانیسم عمل آن‌ها و همچنین طراحی ترکیبات دارویی جدید و مؤثرتر مهم است. خاموشی فلورسنت ct-DNA پس از برهمکنش با بربرین، اتصال بربرین به ct-DNA را با  $K_{sv} = 9.46 \cdot 10^7 M^{-1}$  تعیین کرده است. مقدار  $K_{sv}$  بربرین-ct-DNA در حضور H1، به میزان  $3.10 \cdot 10^7 M^{-1}$  به دست آمد، که نشان می‌دهد که H1 موجب کاهش اتصال بربرین به ct-DNA می‌شود. در طیف انتشار رقابتی، اتیدیم برومید (EB) و آکریدین اورنج (AO) به عنوان intercalators از طریق اضافه کردن بربرین به کمپلکس‌های ct-DNA مورد بررسی قرار گرفت که شامل ctDNA-EB و ctDNA-AO است. گرچه در حضور هیستون H1، نشانه‌هایی از رقابت از طریق تغییرات القا شده در طیف‌های انتشار مشاهده شد، اما ظاهراً رقابتی بین لیگاندها و پروب‌ها وجود ندارد. نتایج ویسکوزیته، رفتارهای مختلف برهمکنش بین ctDNA و بربرین را در سیستم‌های دوتایی و سه‌تایی تایید کرده است. IC50 و درصد زنده‌مانی در سه دوره‌ی مختلف زمانی از برهمکنش بین بربرین و سلول‌های بنیادی MCF7 به دست آمد. آزمایش‌های مولکولی

<sup>1</sup> linker histone

با دستیابی به نتایج حاصل از آزمایش MTT تکمیل شدند که به خوبی مطابق با مطالعات مدل سازی مولکولی است.

اختصارات: (Berberine): بربرین کلرید؛ (EB): اتیدیوم بروماید؛ (AO): آکریدین اورنج

کلمات کلیدی: برهمکنش DNA؛ بربرین کلرید؛ طیفسنجی؛ مدل سازی مولکولی؛ کشت سلولی؛

تست MTT؛ هیستون پیونددهنده

#### مقدمه

سرطان به عنوان فروپاشی تنظیم سلولی و تقسیم کنترل نشده سلولها شناخته شده است. DNA حاوی اطلاعات ژنتیکی منحصر به فرد درباره همه موجودات زنده است که تنظیمات سلولی را کنترل می کند و به عنوان عامل هدایت کننده برای روش های زیستی سلولها است که منجر به تکثیر رونویسی و سنتز پروتئین می شود (Agarwal, Jangir, & Mehrotra, 2013; Anbazhagan & Renganathan, 2008; Arrondo, Muga, Castresana, & Goni, 1993; Asadi, Safaei, Ranjbar, & Hasani, 2004). DNA سلول به عنوان شکل فشرده ی کروماتین شناخته شده است که در میان گروهی از پروتئینها به نام هیستون که در تشکیل کروماتین دخیل هستند، قرار دارد. هیستون H1 به عنوان مهم ترین هیستون برچسب گذاری می شود. از این رو، DNA و کمپلکس هیستون -DNA می تواند به عنوان اهداف درمانی برای طراحی داروهای ضد سرطان مورد استفاده قرار گیرند (Bazett-Jones, Cote, Landel, Peterson, & Workman, 1999).

به طور کلی، سه روش مختلف وجود دارد که داروهای ضد سرطانی می توانند با DNA ارتباط داشته باشند، از جمله اتصال به شیار DNA (برهمکنش اتصال شیار)، اتصال بین دو رشته DNA (تعامل

بین‌لایه‌ای<sup>۱</sup>) و پیوند کووالانسی. داروها با برهمکنش‌های بین‌لایه‌ای می‌تواند سلول‌های سرطانی را از طریق ایجاد اتصال بین دو رشته DNA از بین ببرد ( Bera, Sahoo, Ghosh, & Dasgupta, 2008; Bi et al., 2006; Blake et al., 1999; Borchman, Yappert, & Herrell, 1991; Burton et al., 1978; Cao & He, 1998; Chen et al., 2005; Chi & Liu, 2014; Du et al., 2011; Sowrirajan, Yousuf, & Enoch, 2011). برهمکنش بربرین کلرید با DNA و کمپلکس هیستون H1-DNA در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است. بربرین (C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub>) یک ترکیب شیمیایی با وزن مولی ۳۶۶/۳۶۱۲۲ گرم/مول است (شکل ۱) ( Gallori et al., 2000; Gittelsohn & Walker, 1967; Guo, Yue, & Gao, 2011; Hossain & Kumar, 2009; Huang & Zou, 2006; Ivankin, Carson, Kinney, & Wanunu, 2013; Jordan & Wilson, 2004; Kashanian et al., 2008; Khare & Pande, 2012; Kumar, Naik, Girija, Sharath, & Pradeepa, 2012; Kypr & Vorlickova, 2002; Lerman, 1961). بربرین به طور گسترده به عنوان یک آلکالوئید ایزوکوئینولین<sup>۲</sup> متعلق به رده‌ی ساختاری پروتوبرین<sup>۳</sup> شناخته شده و دارای ساختار مشابه کلسترول است. طبق داده‌های موجود، بربرین قادر به فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی و بالینی مانند اثرات ضد میکروبی، ضد سرطان، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی است ( Li & Dong, 2009; Macquet & Butour, 1978; Nafisi, Saboury, Keramat, Neault, & Tajmir-Riahi, 2007; Neelam, Gokara, Sudhamalla, Amooru, & Subramanyam, 2010). این ماده خاص می‌تواند باعث القای آپوپتوز از طریق مسیر NF $\kappa$ B و ممانعت از تکثیر سلول‌ها و همچنین جلوگیری و

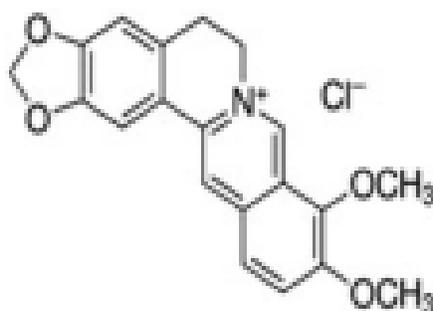
---

<sup>1</sup> intercalation interaction

<sup>2</sup> isokoinoline

<sup>3</sup> Protobrine

ایجاد تاخیر در پیشرفت آنژیوژنز شود (Oohara & Wada, 1987). علاوه بر این، جین و همکاران تاثیر بربرین را بر لاین سلولی سرطانی SKOV3 مورد مطالعه قرار داده و گزارش کردند که این ترکیب اثرات ضد توموری دارد (Jin, Zhang, & Li, 2015). بربرین همچنین باعث جلوگیری از تکثیر سلول‌های سرطانی از طریق کاهش بیان ژن‌های ضد آپوپتوز BCL2 و افزایش بیان ژن پیش‌آپوپتوزی می‌شود. علاوه بر این، این ماده جالب می‌تواند از طریق کاهش بیان BCL2 و افزایش بیان ژن‌های CytC، باعث القای آپوپتوز در لاین سلولی سرطانی پستان MCF-7 شود. بربرین به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته و اثبات شده است که این ماده دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتری، ضد TB و ضد تومور است (Tang et al., 2009).



شکل ۱- ساختار شیمیایی کلرید بربرین

در این مطالعه، تحقیقاتی در مورد نوع تعامل بین بربرین کلرید با DNA و کمپلکس هیستون H1-DNA از طریق روش‌های مختلف از جمله طیف‌سنجی فلورسانس، طیف‌سنجی جذبی، پراکندگی

رزونانس نوری، دورنگ‌نمایی دایره‌ای ( $CD^1$ )، اندازه‌گیری دمای ذوب، اندازه‌گیری ویسکوزیته، مدل-ساز مولکولی و آزمون ۳-(۴،۵-سیمتیل‌تiazول-۲-yl)-۲،۵-دیفنیل‌تترازولیم برومید (MTT)<sup>۲</sup> انجام شد.

## مواد و روش‌ها

### بخش آزمایشگاهی

DNA تیموس گوساله، هیستون H1 (وزن مولی = ۲۱۵۰۰ گرم بر مول)، کلرید بربرین (وزن مولی = ۳۷۱/۸۱ گرم بر مول)، اتیدیوم برومید (EB) و آکریدین اورنج (AO) از شرکت SigmaAldrich (St. Louis, MO) خریداری شد. Tris-HCl (با غلظت بیش از ۹۹٪) از شرکت Merck (Kenilworth, NJ) Chemical Co. تهیه شد.

غلظت DNA توسط اسپکتروفتومتری تعیین شد. از ضرایب جذب مولی<sup>۳</sup> ctDNA (e<sup>1/4</sup> 6600) برای ارزیابی غلظت از طریق اندازه‌گیری جذب استفاده کردیم. بربرین کلرید (۰/۰۲۵ میلی‌مولار) به دلیل حلالیت بسیار کم آن در آب، در دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) حل شد. تمام آزمایش‌های انجام شده در محیط بافر Tris-HCl (۱۰ میلی‌مولار) در pH ۶/۸ انجام شد.

pH محیط با استفاده از اسید سیتریک تنظیم شد، در حالی که مقادیر pH محلول‌ها در دمای ۴ درجه سلسیوس و در تاریکی اندازه‌گیری و نگهداری شدند. نسبت جذب فرابنفش (UV) (A260/A280) محلول DNA فیلتر شده در بافر به میزان ۱/۸ بود، که نشان می‌دهد که DNA به اندازه کافی از

<sup>1</sup> circular dichroism

<sup>2</sup> 3-(4,5-cimethylthiazol-2-yl)-2,5diphenyl tetrazolium bromide

<sup>3</sup> molar extinction coefficients

پروتئین‌ها آزاد شده است. برهمکنش با DNA intercalator دورشته‌ای مسطح کلاسیک، EB و AO مقایسه شدند.

محلول استوک بربرین ( $10^3 \times 25$  میلی مولار) در DMSO تهیه شد، در حالیکه DNA تیموس گوساله (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) بدون هیچ‌گونه خالص‌سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفت و محلول استوک آن با حل کردن مقدار مناسبی از ctDNA در محلول بافر Tris-HCl تشکیل شد. سپس، محلول به مدت یک شب باقی ماند و به مدت یک هفته، در دمای ۴ درجه سلسیوس در تاریکی نگهداری شد. غلظت ctDNA در محلول استوک از طریق جذب UV در ۲۶۰ نانومتر تعیین شد که شامل کاربرد ضریب جذب مولی  $e_{260} = 6600 \text{ L.cm}^{-1}$  است (Sohrabi, Hosseinzadeh, Beigoli, Saberi, & Chamani, 2018).

خلوص ctDNA با نشان دادن نسبت جذب در ۲۶۰ نانومتر، نسبت به جذب در ۲۸۰ نانومتر، تایید شد. نسبت جذب این محلول ۱/۸ در A260/A280 بود، که نشان می‌دهد که DNA به اندازه کافی از پروتئین‌ها آزاد شده است (Wang, Wang, Kollman, & Case, 2006). محلول‌ای استوک EB و AO (۰/۱ و ۰/۱۵ میلی مولار) با حل کردن بلورهای آنها (Sigma Chemical Co.) در یک محلول بافر Tris-HCl تهیه شد و محل نگهداری آن در یک مکان سرد و تاریک بود.

طیف جذب روی یک اسپکتروفتومتر Jasco UV-visible (مدل V-60) با استفاده از یک کنترل-کننده‌ی دمایی در یک کووت کوارتز با طول مسیر ۱ سانتی‌متری در K۲۹۸ ثبت شد. این طیف خاص برای ctDNA آزاد و کمپلکس‌های بربرین-ctDNA در غیاب و حضور محلول کمپلکس H1 اندازه-گیری شد. تمام اندازه‌گیری‌های فلورسنت با استفاده از اسپکتروفتومتر Hitachi F-2500 انجام شد.

تمام اندازه‌گیری‌ها با حفظ یک میان‌گذر<sup>۱</sup> تحریک و انتشار ۳ نانومتری در دمای  $20 \pm 1$  درجه سلسیوس انجام شدند.

محلول بربرین (۰/۰۲۵ میلی‌مولار) در یک کووت کوارتزی یک سانتیمتری اضافه شده و از طریق افزودن پیوسته ctDNA تیترا شد تا غلظت  $10^5$  به دست آید. این محلول به مدت ۵ دقیقه باقی ماند تا به تعادل برسد، بنابراین طیف انتشار در ۲۰۸، ۳۰۳ و ۳۰۸ K در محدوده طول موج ۳۷۵-۶۵۰ نانومتر ثبت شد. بلنک‌های مناسب تطبیق داده شده با محلول بافر Tris-HCl برای فلورسانس پس‌زمینه اصلاح شدند.

تمام شدت‌های فلورسانس برای جذب نور تحریک‌شده و جذب مجدد نور منتشر شده تصحیح شدند. از رابطه زیر برای اصلاح اثر فیلتر داخلی استفاده شد (Wang et al., 2006).

$$F_c = F_m e^{(A_1 + A_2)/2}$$

که در آن  $F_c$  و  $F_m$  به ترتیب فلورسانس تصحیح شده و اندازه‌گیری شده و  $A_1$  و  $A_2$  جذب ctDNA به ترتیب در طول موج‌های تحریک و انتشار است.

تمام آزمایش‌های CD در ۱۰ درجه سلسیوس توسط اسپکتروفوتومتر Jasco J-815 مجهز به نگهدارنده‌ی سلول کنترل‌شده به صورت ترموالکتریکی انجام شد. طیف CD به عنوان میانگین پنج اسکن از ۳۰۰ تا ۲۰۰ نانومتر به صورت افزایش ۰/۱ نانومتری ضبط شد. محلول اولیه DNA حداقل ۳۰ دقیقه قبل از اولین افزودن دارو نگهداری شد تا به تعادل برسد.

اندازه‌گیری ویسکوزیته با استفاده از یک ویسکومتر Ubbelohde (class company, Shanghai, China) انجام شد که به صورت عمودی در یک حمام دمای ثابت تنظیم شده بود. در حالی که حجم

---

<sup>1</sup> band pass

محلول ctDNA ۱۵ میلی‌لیتر بود، زمان جریان محلول توسط یک کرومومتر دیجیتال با دقت p0255 اندازه‌گیری شد. به منظور ارزیابی ویسکوزیته نمونه‌ها، از میانگین پنج تکرار استفاده شد.

لاین‌های سلولی MCF7 از موسسه بوعلی (مشهد، ایران) خریداری شدند. آنها ابتدا در DMEM همراه با FBS ۱۰ درصد، پنی‌سیلین ۱ درصد و استروپتومايسين ۱ درصد کشت شدند و سپس در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در یک انکوباتور CO<sub>2</sub> با رطوبت ۵٪ انکوبه شد. محلول‌های کمپلکس به صورت استوک در H<sub>2</sub>O بلافاصله قبل از استفاده تهیه شدند. بربرین به لاین سلولی MCF7 اضافه شد و برای مدت زمان تعیین‌شده انکوبه شد. لاین سلولی MCF7 از بانک سلولی موسسه بوعلی (مشهد، ایران) تهیه شد که شامل غدد شیری، پستان بود که از محل متاستازی استخراج شده بود (-ATCCVR HTB-22<sup>TM</sup>). تمام مواد و محیط‌های استفاده شده در این مطالعه، بلافاصله قبل از استفاده آماده شدند.

سلول‌ها در یک DMEM (Gibco, Germany) همراه با FBS ۱۰ درصد (Gibco, Germany)، پنی‌سیلین (۱ درصد v/v) و استرپتومايسين (۱ درصد v/v) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و در CO<sub>2</sub> ۵ درصد تا رسیدن به confluent کشت شدند. تاثیر بربرین بر زنده‌مانی سلول‌های MCF7 با استفاده از آزمون MTT (Sigma-Aldrich, St. Louis, MA) تعیین شد. به طور خلاصه، جمعیت اولیه‌ی ۵۰۰۰ سلول/میلی‌لیتر در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه‌ای حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر الیکوت محیط کشت قرار داده شد و سپس به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شد. ۰/۰۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بربرین به هر چاهک، در سه تکرار MCF7 یا سلول‌های طبیعی اضافه شد و پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته، ۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر از محلول MTT به پلیت‌های کشت اضافه شد تا غلظت نهایی ۰/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر به دست آید. سپس، پلیت‌ها به مدت ۳/۵ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند و پس از آن فورمازان

رسوب شده در ۲۰۰ میلی لیتر از DMSO حل شد. با استفاده از دستگاه خوانش الیزا ( Anthos, Australia)؛ جذب در ۴۹۰ نانومتر مشاهده شد.  $IC_{50}$  به شکل میلی گرم/میلی لیتر اندازه گیری شد.

### داکینگ مولکولی<sup>۱</sup>

ساختارهای گیرنده (ctDNA و هیستون) از Protein Data Bank خریداری شد. به منظور بررسی برهمکنش های ctDNA-بربرین، 1BNA PDBID انتخاب شد. برای ساخت یک گیرنده برای ارزیابی برهمکنش های بربرین با کمپلکس ctDNA-H1، از یک ساختار داک شده ی هیستون و ctDNA به ترتیب با کد پیوست 5NLO و 1BNA استفاده شد. روند داکینگ هیستون و ctDNA در HEX8 انجام شد، در حالی که نوع همبستگی به صورت " فقط شکلی<sup>۲</sup>" تنظیم شده بود. علاوه بر این، گیرنده و لیگاند دارای محدوده پیچش ۳۶۰ و محدوده چرخش ۱۸۰ بودند. نتایج نهایی داکینگ به عنوان گیرنده برای مطالعه برهمکنش بربرین با ctDNA-H1 در نظر گرفته شد ( Berendsen, van der Spoel, & van Drunen, 1995; Sohrabi et al., 2018).

پری پارسیون های ساختاری با استفاده از MOE 2015.10 برای گیرنده ها آماده شد که شامل اصلاحات موضوعی ساختاری، افزودن هیدروژن قطبی و به حداقل رساندن انرژی بود. ساختار بربرین در Chem OfficeVR رسم شد و انرژی آن با استفاده از میدان نیروی AmBerberine10 که شامل MOE 2015.10 بود، به حداقل رسید. علاوه بر این، ارزیابی های داکینگ با استفاده از نرم افزار مشابه انجام شد و تمام اتم های گیرنده به عنوان محل های اتصال تعیین شدند. London dG به عنوان ماتریس

---

<sup>1</sup> Molecular docking

<sup>2</sup> shape only

امتیازدهی تعیین شد، در حالی که بهترین ۱۰۰ حالت قرار گیری برای مطالعات بیشتر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

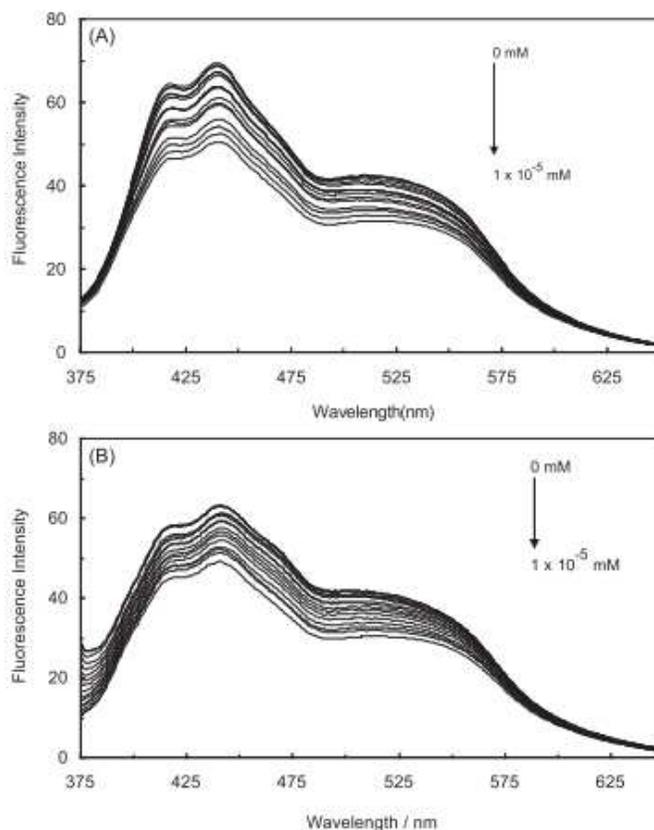
### شبیه سازی دینامیک مولکولی (MD)

نتایج نهایی داکینگ در بسته‌ی GROMACS-2018 (Wang, Wolf, Caldwell, Kollman,) Generalized از Case, 2004) برای مطالعات پایداری وارد شد. پارامترهای لیگاند از AmBerberine Forcefield (GAFF) (Cornell et al., 1995) همراه با بسته‌ی AntichamBerberine در سرور وب acpype به دست آمد (Coutsias, Seok, & Dill, 2004). پس از افزودن بارهای جزئی به AM1-BCC، تمام پارامترهای لیگاند و گیرنده روی AmBerberine 99SB تنظیم شد (Cornell et al., 1995). ساختارهای داک شده درون یک جعبه مکعبی قرار گرفتند که فاصله حداقل آن از لبه جعبه‌ی همسایه یک نانومتر بود. برای ادامه روند، یک مدل آب TIP3P اضافه شد و سیستم‌ها با مقدار کافی از شمارنده یون‌های بربرین خنثی شدند. از الگوریتمی با تندترین شیب کاهشی به حداقل رساندن برای به وجود آوردن آرامش در سیستم استفاده شد. تعادل دما و فشار در ۱۰۰ ps برای بهینه‌سازی پارامترهای ترمودینامیک قبل از شبیه‌سازی MD انجام شد. در نهایت، شبیه‌سازی MD در ۵۰ ns انجام شد و منحنی‌ها تحلیل شدند. به منظور برآورد پایداری ساختاری در کل دوره زمان شبیه‌سازی، انحرافات ریشه دوم میانگین (RMSDs<sup>1</sup>) (Ghosh, Kundu, Paul, & Chattopadhyay, 2014) ساختار مارپیچی ctDNA با استفاده از اکسل رسم شد که وابسته به ساختارهای مرجع و کربن‌های آلفای هیستون است. تجزیه و تحلیل ساختار ثانویه

---

<sup>1</sup> root-mean-square deviations

هیستون، در حضور و عدم وجود بربرین، با استفاده از برنامه DSSP انجام شد و در نرم افزار Grace<sup>VR</sup> با توجه به آخرین ۵ ns شبیه‌سازی رسم شد.



شکل ۲. (A) طیف انتشار فلورسانس کمپلکس بربرین در حضور مقدار در حال افزایش ctDNA؛ (B) کمپلکس ctDNA-H1.

جدول ۱: ثابت‌های اتصال، پارامترهای ترمودینامیکی و ثابت‌های خاموشی دینامیکی استرن-والمر<sup>۱</sup> ctDNA و H1-DNA با بربرین در دماهای مختلف.

$\Delta S^0 / \text{J. mol}^{-1} \text{K}^{-1}$	$\Delta H^0 / \text{kJ. mol}^{-1}$	$\Delta G^0 / \text{kJ. mol}^{-1}$	$K_{sv} / \text{M}^{-1}$	$T / \text{K}$	سیستم
---	------------------------------------	------------------------------------	--------------------------	----------------	-------

<sup>1</sup> Stern-Volmer

-۱۶۷/۰۸	-۹۵/۳۳	-۴۵/۵۱	$0.03 \times 10^7$ ( $9 \pm 46$ )	۲۹۸	Ber-cDNA
		-۴۵/۰۱	$0.03 \times 10^7$ ( $5 \pm 76$ )	۳۰۳	
		-۴۳/۵۳	$0.03 \times 10^7$ ( $2 \pm 41$ )	۳۰۸	
۷۱۴/۰۵	۱۷۰/۱۱	-۴۲/۷۴	$0.03 \times 10^7$ ( $3 \pm 1$ )	۲۹۸	Ber (H1- ctDNA)
		-۴۶/۱۱	$0.03 \times 10^7$ ( $8 \pm 85$ )	۳۰۳	
		-۴۹/۹۱	$0.03 \times 10^7$ ( $9 \pm 2$ )	۳۰۸	

در نهایت، تصاویر لحظه‌ای پیکوثنایه شبیه‌سازی‌ها به فرمت pdb تبدیل شده و برای به دست آوردن برهمکنش‌های ساختاری دقیق با استفاده از MOE ارزیابی شدند.

## نتایج و بحث

### اندازه‌گیری طیف‌سنجی فلورسانس

برای مشخص کردن شیوه‌ی برهمکنش، خاموشی فلوروسنت<sup>۱</sup> DNA متصل به بربرین، که مرتبط با خاموشی فلوروسنت بربرین در محلول آبی بافری است بررسی شد (شکل ۲ A و B را مشاهده کنید). لازم به ذکر است که انتظار می‌رود که حفاظت از فلئوروفور از خاموش‌کننده در دو مکان مختلف که باعث به دام افتادن بربرین می‌شود (شامل درون دو رشته‌ی DNA در مورد اتصال intercalative و

<sup>1</sup> fluorescence quenching

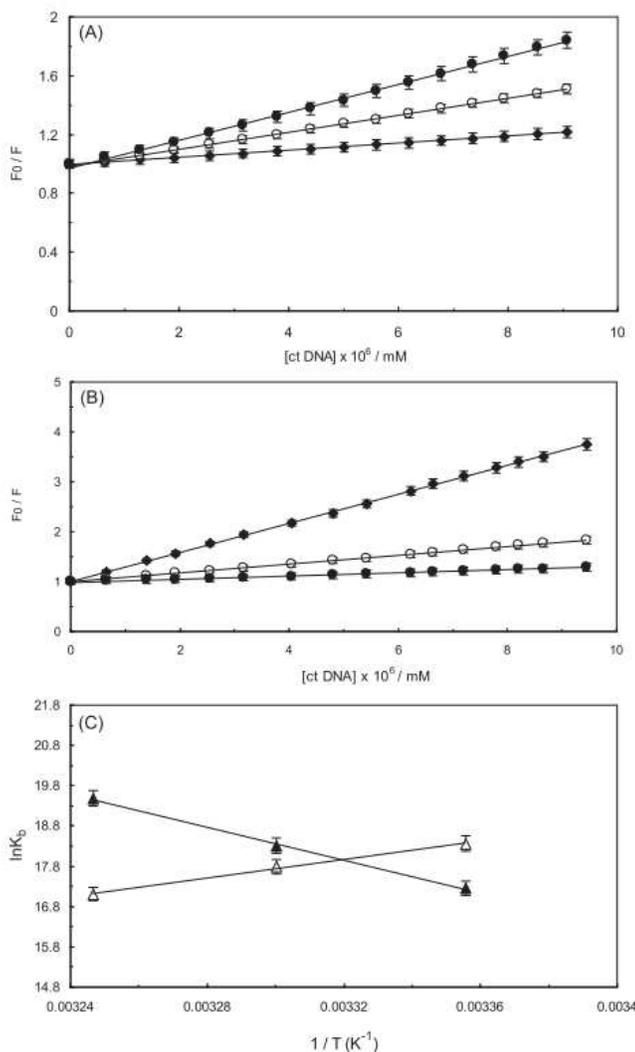
شیارهای عمیق بزرگ یا کم عمق کوچک در اتصال شیاری است)، قوی تر از هسته‌ی قبلی و ضعیف تر از موقعیت بعدی است (Daniel et al., 2015).

ثابت‌های خاموشی را می‌توان مطابق با معادله استرن و ولمر آنالیز کرد (Shahabadi, Hadidi, & Taherpour, 2014):

$$F_0/F = 1 + K_{sv} [Q] = 1 + k_q \tau_0 [Q] \quad (2)$$

که در آن  $F_0$  و  $F$  به ترتیب برای شدت فلورسانس در غیاب و حضور ctDNA و ctDNA-H1 است،  $K_{sv}$  ثابت خاموشی دینامیک استرن-والمر،  $k_q$  ثابت نرخ خاموشی و نشان‌دهنده میانگین عمر مولکول-های فلورسانس بدون ctDNA و ctDNA-H1 ( $\tau_0 \approx 10^{-8}$ ) (Akbarabadi, Ismaili, Kahrizi, & Firouzabadi, 2018) و  $[Q]$  غلظت ctDNA و کمپلکس ctDNA-H1 است.

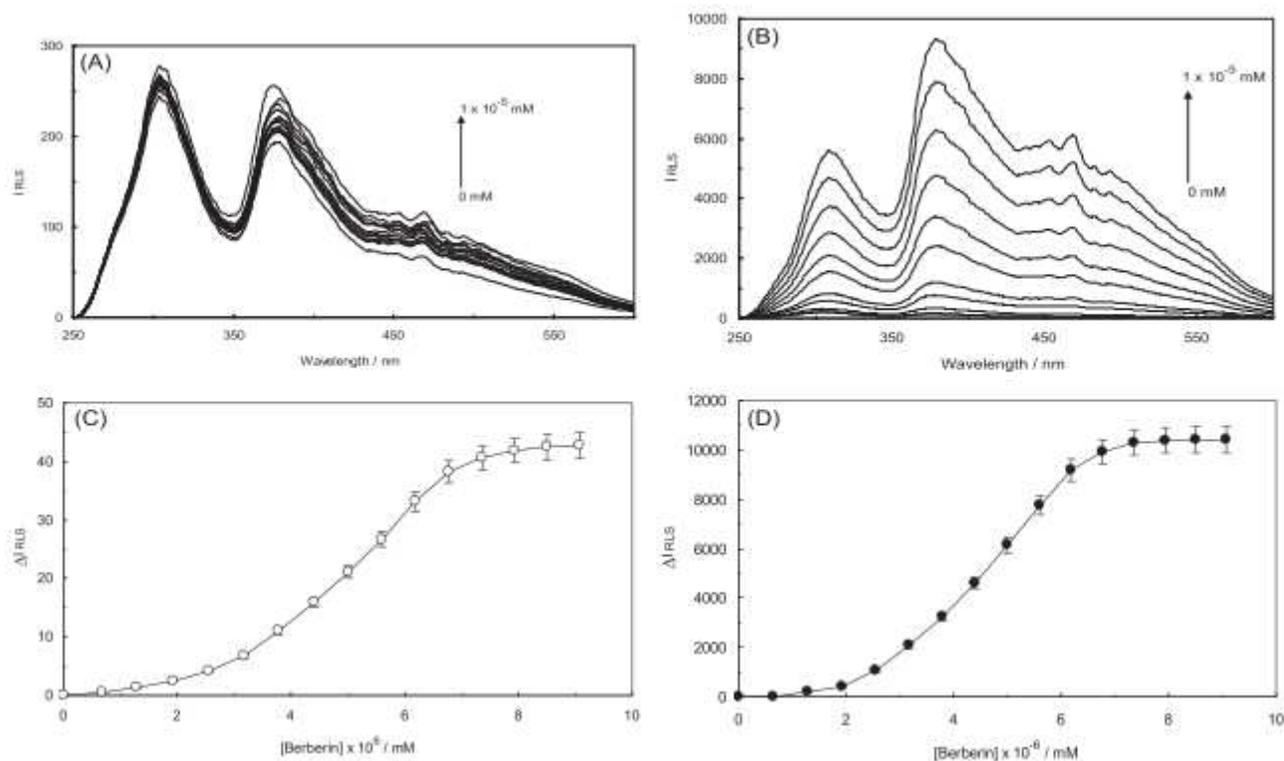
خاموشی دینامیک و استاتیک را می‌توان از طریق وابستگی‌های مختلف آن‌ها به دما تشخیص داد (Chi & Liu, 2011).  $k_q$  ثابت نرخ خاموشی بیومولکولی ظاهری است که برابر با  $K_{sv}/s_0$  و در رابطه با خاموشی دینامیکی است، حداکثر ثابت خاموشی برخورد نقاط خنک‌کننده‌های مختلف برابر با  $2 \times 10^{10}$   $L \cdot mol^{-1} s^{-1}$  است.  $K_{sv}$  حاصل از معادله Stern-Volmer در دماهای مختلف در جدول ۱ و شکل ۳ و B ارائه شده است.



شکل ۳- (A) نمودارهای استرن-والمر خاموشی بربرین فلورسنس ctDNA، (B) کمپلکس H1- ctDNA در سه دما: K ۲۹۸ دایره‌ی توپر؛ K ۳۰۳ دایره‌ی توخالی و K ۳۰۸ لوزی توپر، در  $\text{pH} = 6.8$ . (C) نمودار van't Hoff برای برهمکنش ctDNA با بربرین (مثلث توخالی)؛ کمپلکس H1- ctDNA با بربرین (مثلث توپر).

همانطور که مشاهده می‌شود، با کاهش دما طی تشکیل کمپلکس بربرین (ctDNA-H1)، مقادیر  $K_{sv}$  افزایش یافت، که نشان می‌دهد که مکانیسم درگیر در خاموشی ممکن است از نوع استاتیک باشد، در حالی که در مورد کمپلکس بربرین-ctDNA، در حضور H1 به عنوان سیستم سه‌گانه، با افزایش دما

از ۲۹۸ به ۳۰۸ K، ثابت استرن-والمر ( $K_{sv}$ ) از  $(3/1 \pm 0/03) \times 10^7$  به  $(9/2 \pm 0/03) \times 10^7$  افزایش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که مکانیسم احتمالی خاموشی بربرین توسط ctDNA، در حضور H1، از نوع دینامیکی است، زیرا  $K_{sv}$  در نتیجه‌ی افزایش دما افزایش یافته است (Du et al., 2011).



شکل ۴- (A) کل رزونانس پراش<sup>۱</sup> و برهمکنش بربرین با ctDNA؛ (B) کمپلکس H1-DNA در دمای ۲۹۸ K و pH = 6.8؛ (C) منحنی  $DI_{RLS}$  در برابر غلظت بربرین کمپلکس ctDNA-بربرین؛ (D) منحنی  $DI_{RLS}$  در برابر غلظت بربرین (H1-ctDNA) کمپلکس بربرین؛

انواع مختلف برهمکنش‌های غیر کووالانسی که می‌توانند نقش مهمی در اتصال لیگاند به مولکول زیستی ایفا کنند، شامل پیوندهای هیدروژنی، نیروهای واندروالسی و برهمکنش‌های الکترواستاتیک و هیدروفوبیک هستند. ثابت اتصال،  $K_b$ ، می‌تواند از طریق معادله زیر محاسبه شود:

<sup>1</sup> diffraction resonance

$$\text{Log } (F_0 - F)/F = \log K_b + n \log [Q] \quad (3)$$

مقادیر  $K$  با ترسیم مقادیر  $\log (F_0-F)/F$  در برابر  $\log [Q]$  (شکل نشان داده نشده است) به دست آمد؛ مقادیر مربوطه در جدول ۱ نشان داده شده است.

مقادیر تغییرات آنتالپی و آنتروپی از طریق معادله زیر محاسبه شد:

$$\ln K = -\Delta H^0/RT + (\Delta S^0)/R \quad (4)$$

با استفاده از مقادیر  $DH^0$  و  $DS^0$ ، مقادیر  $DG^0$  بر اساس معادله زیر محاسبه شد:

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \Delta S^0 \quad (5)$$

مقادیر مربوط به  $DG^0$ ،  $DH^0$  و  $DS^0$  برای تشکیل کمپلکس بربرین-ctDNA در حضور و عدم حضور H1 از شکل C۳ و در جدول ۱ به دست آمده است.

نتایج این جدول خاص، نقش مهم پیوندهای واندروالسی و هیدروژنی را در طول تشکیل کمپلکس بربرین-ctDNA به عنوان یک سیستم دوتایی نشان داده است. طبق داده‌های ترمودینامیکی، تشکیل کمپلکس بربرین-ctDNA آنتالپی مطلوب<sup>۱</sup> و آنتروپی نامطلوب<sup>۲</sup> است. مشاهده شده است که تشکیل کمپلکس منجر به ایجاد یک حالت مرتب‌تر می‌شود که احتمالاً به دلیل انجام آزادی حرکتی مولکول-های بربرین و ctDNA است؛ بنابراین، مقدار منفی  $DS^0$  حالت تعاملی بربرین را در اتصال به ctDNA تایید کرد (Shakibapour, Dehghani Sani, Beigoli, Sadeghian, & Chamani, 2018).

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، مقادیر  $DH^0$  و  $DS^0$  برای اتصال بربرین به ctDNA در حضور H1 مثبت است که به عنوان شاهدهی از تعامل هیدروفوب است. از این رو، این مشاهدات

<sup>1</sup> enthalpy-favored

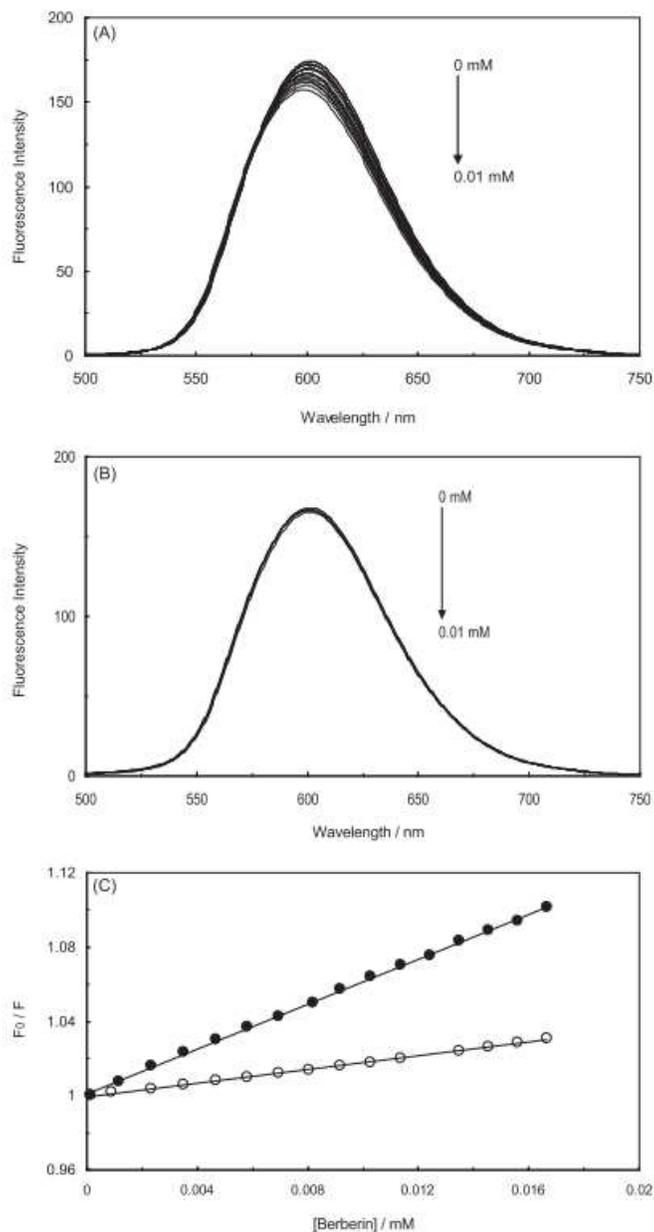
<sup>2</sup> entropy disfavored

نشان‌دهنده‌ی حالت شیار جزئی برهمکنش بین بربرین و ctDNA است که در حضور H1 رخ داده است.

### اندازه‌گیری پراکنش نور رزونانس

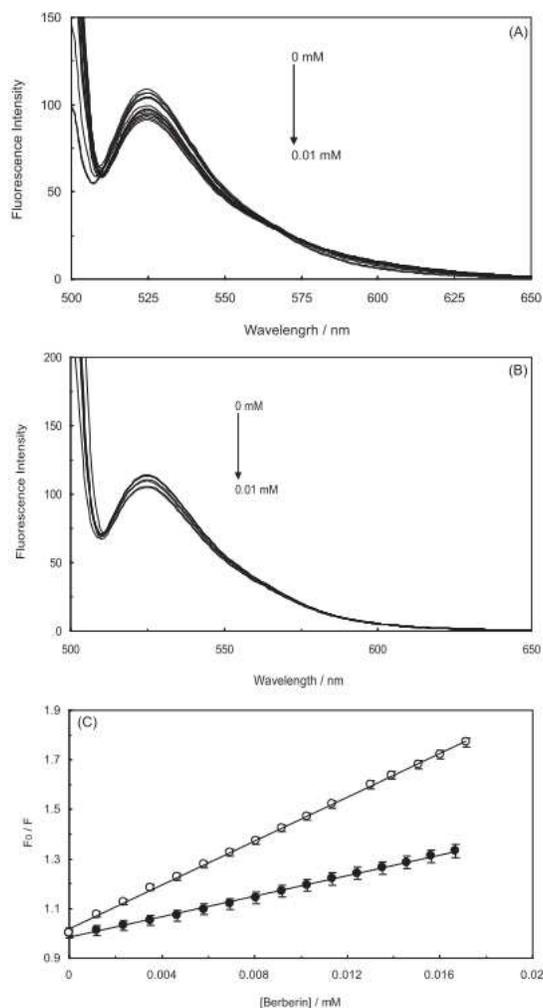
روش پراکنش نور رزونانس برای بررسی تغییرات القا شده در اندازه مولکولی، شکل و وزن ماکرومولکول‌ها و نیز کمپلکس به وجود آمده مورد استفاده قرار می‌گیرد (Aktipis & Panayotatos, 1976). همانطور که در شکل A<sup>4</sup> و B نشان داده شده است، با افزایش غلظت بربرین کلرید در این آزمایش شدت ctDNA RLS و هیستون کمپلکس ctDNA-H1 افزایش یافته، که به دلیل تشکیل کمپلکس و تغییرات ساختاری ctDNA و ctDNA-H1 است.

پراکنش نور رزونانس نشان‌دهنده مقدار نوری است که توسط کمپلکس پراکنده شده است، زیرا هرچه اندازه ذره بزرگتر باشد، پراکندگی اندازه نمونه بیشتر خواهد بود (Ma, Wang, & Zhang, 2017). ممکن است دو دلیل برای افزایش پراکندگی نور مشاهده شده وجود داشته باشد، یکی افزایش جزء محلول و دیگری رسوب است که توسط جزء محلول همراه با وضعیت مونومر ایجاد می‌شود.



شکل ۵- (A) اثر بربرین در رقابت با اتیدیم برومید در طول موج تحریک ۴۴۰ نانومتر در اثر تعامل با ctDNA؛ (B) تاثیر بربرین در رقابت با اتیدیم برومید در طول موج تحریک ۴۴۰ نانومتر بر اثر تعامل با کمپلکس H1-ctDNA؛ (C) نمودارهای Stern-Volmer (ctDNA-EB) بربرین (دایره توخالی) و کمپلکس‌های بربرین (ctDNA-H1-EB) (دایره‌های توخالی).

شدت RLS عمدتاً تحت تاثیر جهت ذرات جامد تشکیل شده در محلول است (Sarkar, Das, Basak, & Chattopadhyay, 2008). همانطور که نتایج نشان می‌دهند، فرض شده است که ctDNA ممکن است با بربرین، در حضور و عدم حضور H1 تعامل داشته باشد که منجر به پیدایش کمپلکس‌های جدید ctDNA-بربرین و (ctDNA-H1) بربرین می‌شود که می‌توان انتظار داشت که به صورت یک توده در بیابند (به شکل C۴ و D مراجعه کنید).



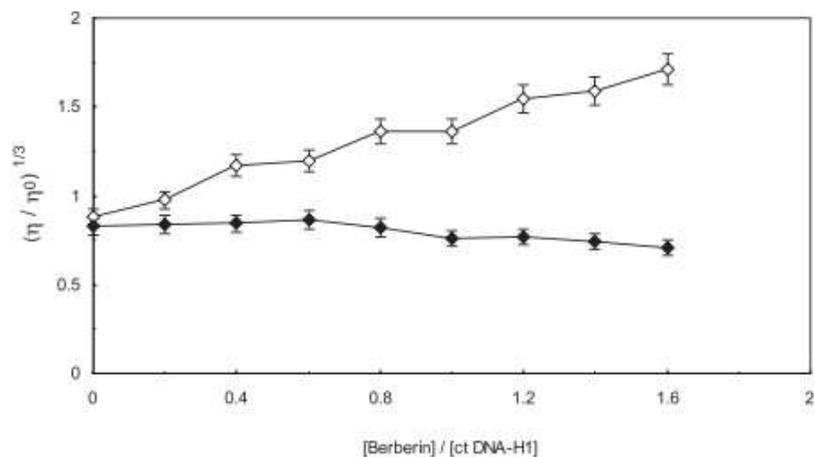
شکل ۶- A) تأثیر بربرین در رقابت با آکریدین‌اورنج در طول موج تحریک ۳۵۱ نانومتر بر اثر تعامل با ctDNA؛ B) تأثیر بربرین در رقابت با آکریدین‌اورنج در طول موج تحریک ۳۵۱ نانومتر بر اساس

تعامل با کمپلکس (H1-ctDNA)؛ (C) نمودارهای Stern-Volmer (ctDNA-AO) بربرین (دایره‌های توپر) و کمپلکس‌های (ctDNA-H1-AO) بربرین (دایره‌های توخالی).

اندازه ذرات بربرین-ctDNA و (ctDNA-H1) بربرین ممکن است بزرگتر از بربرین باشد، که می‌تواند دلیل افزایش سیگنال پراکنش نور تحت شرایط مشخص باشد. دانشمندان افزایش مشابه طیف RLS را روی تجمع لیگاند روی هر دو Z DNA و B گزارش کرده‌اند (Sarkar et al., 2008).

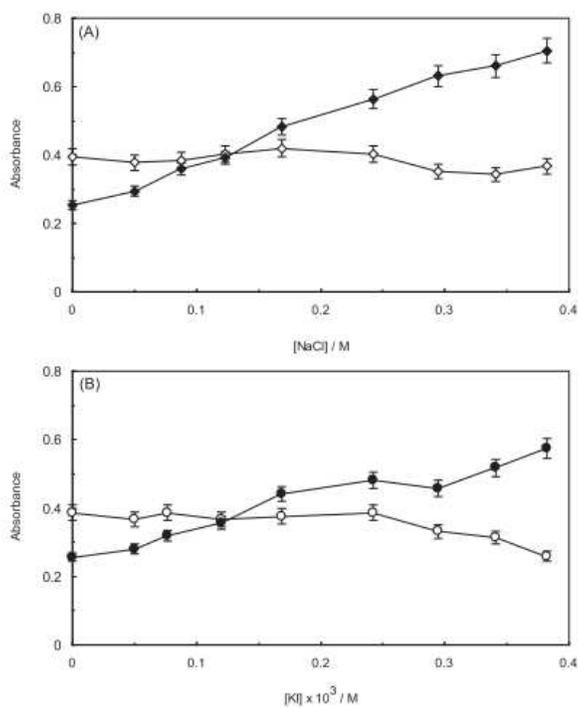
### طیف فلورسانس اتصال رقابتی بربرین و EB برای ctDNA و ctDNA-H1

به منظور مطالعه بیشتر حالت اتصال، پارامترهای مربوط به اتصال و ترمودینامیک با استفاده از طیف-سنجی فلورسانس تعیین شدند. به نظر می‌رسد که شدت فلورسانس EB پس از اتصال با DNA به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد، که ظاهراً به دلیل تعامل القاشده است (Ross & Subramanian, 1981). اگر مولکول‌های بربرین به مارپیچ DNA متصل شوند، رفتارهای رقابتی نسبت به EB در رابطه با محل تداخل موجود در DNA به وجود می‌آید که می‌تواند موجب خاموشی سیگنال فلورسانس افزایش‌یافته شود (Ross & Subramanian, 1981). شکل A5 طیف انتشار کمپلکس ctDNA-EB را در غیاب و حضور بربرین نشان می‌دهد.



شکل ۷: اثر افزایش مقدار بربرین بر ویسکوزیته نسبی ctDNA (لوزی توخالی) و کمپلکس

ctDNA-H1 (لوزی توپر) در pH = 6.8

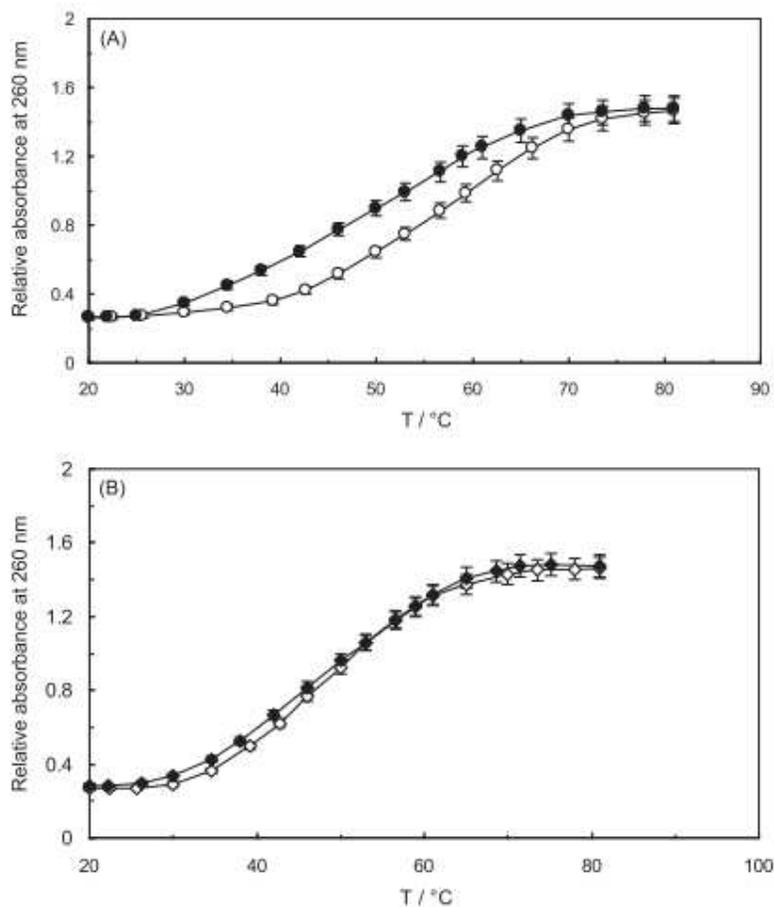


شکل ۸- اثر قدرت یونی (A) NaCl بر شدت فلورسانس بربرین-ctDNA (لوزی توپر) و کمپلکس

بربرین (H1-ctDNA) (لوزی توخالی)؛ (B) KI بر شدت فلورسانس بربرین-ctDNA (دایره توپر)

و کمپلکس بربرین (H1-ctDNA) (دایره توخالی).

همانطور که در شکل دیده می‌شود، این کمپلکس خاص به محض تحریک در ۵۲۵ نانومتر با افزایش بربرین، موجب انتشار سیگنال فلورسانس شدید در ۶۰۷ نانومتر می‌شود، در حالی که شدت فلورسانس آن تا زمان رسیدن به شدت اولیه کاهش می‌یابد. این نتیجه نشان می‌دهد که بربرین ظاهراً جایگزین EB در کمپلکس ctDNA-EB می‌شود. شکل 5C نمودار استرن-والمر (ctDNA-EB) بربرین و همچنین مقدار  $K_{sv}$  ( $10^3 \times 6/0.2 M^{-1}$ ) را نشان می‌دهد که با برهمکنش بین ctDNA-EB و بربرین همراه است. اتصال رقابتی بربرین و EB به ctDNA-H1 در شکل B۵ ارزیابی شده است.



شکل ۹: منحنی ذوب (A) ctDNA (دایره توپر) در غیاب بربرین و (دایره توخالی) در حضور بربرین؛

(B) H1-ctDNA (دایره توخالی) در غیاب بربرین و (دایره توپر) در حضور بربرین در pH 6.8.

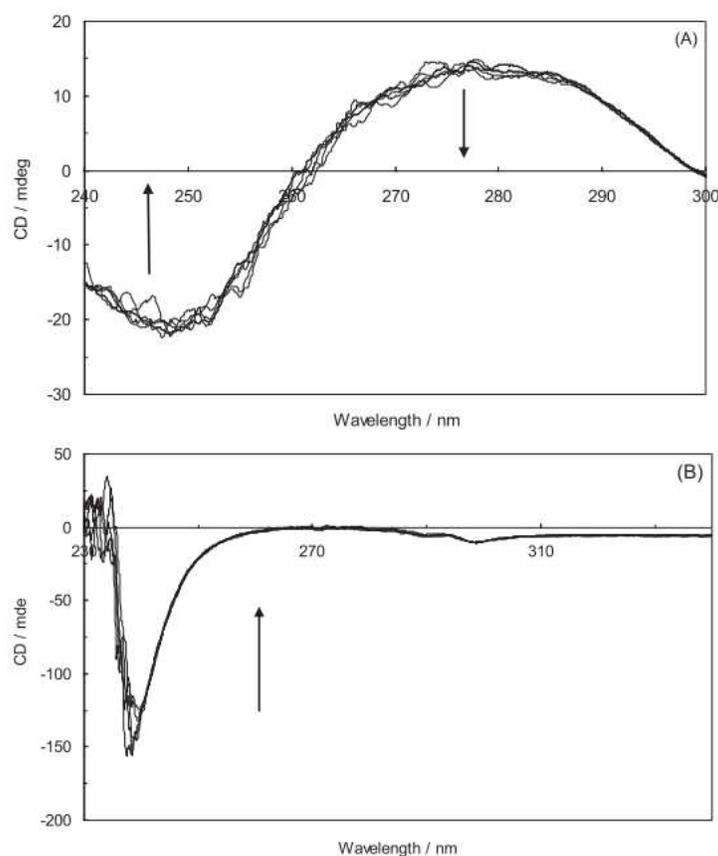
تعامل EB با ctDNA-H1 با استفاده از طیف‌های فلورسانس مشخص شده است. افزایش کل طیف فلورسانس EB در حضور ctDNA-H1 رخ می‌دهد، که به علت planarity بالاتر ctDNA و اتصال آن به H1 است. پس از اضافه کردن بربرین به محلول کمپلکس EB (ctDNA-H1)، شدت فلورسانس تغییر نکرد که نشان می‌دهد که بربرین با EB تعویض نشده و مولکول‌های EB پس از برهمکنش القایی بین ctDNA-H1-EB و بربرین، به درون محلول آزاد نشدند. این مشاهدات از این فرضیه پشتیبانی می‌کنند که بیان می‌کند که بربرین قادر به تعامل با یک اتصال‌دهنده‌ی شیاری کوچک است. بنابراین، H1 می‌تواند باعث اتصال بربرین به ctDNA از طریق تشکیل یک کمپلکس با ctDNA شود. منحنی استرن-وولمر (ctDNA-H1-EB) بربرین در شکل C5 نشان داده شده است.

شکل A6 نشان‌دهنده طیف انتشار تعامل بین ctDNA-AO و بربرین HCl است. همانطور که مشاهده شد، افزایش غلظت بربرین HCl می‌تواند باعث کاهش طیف انتشار ctDNA-AO شود که نشان‌دهنده‌ی افزایش غلظت AO آزاد در محلول شود؛ از این رو، مقایسه بین بربرین HCl و AO در محل اتصال ctDNA وجود دارد. مشخص شده است که AO لیگاند intercalator است که با بربرین HCl رقابت می‌کند. شکل C6 نشان‌دهنده‌ی نمودار Stern-Volmer با تمایل اتصال بربرین HCl به کمپلکس ctDNA-AO است و علی‌رغم واقعیت ذکر شده، هیچ تغییری در فلورسانس انتشار کمپلکس AO (ctDNA-H1) مشاهده نشد که می‌تواند تعیین‌کننده‌ی اتصال شیاری بربرین HCl باشد (شکل B6).

### مطالعات ویسکومتر بربرین کلرید

آزمایش ویسکوزیته به عنوان مهم‌ترین آزمون برای حالت اتصال مولکول‌های کوچک و DNA محسوب می‌شود. در این تحقیق بررسی‌های ارزشمند نشان داده‌اند که یک اتصال بین‌لایه‌ای کلاسیک برای فضای

جفت‌بازهای مجاور به اندازه‌های بزرگ است که باعث اتصال لیگاند و افزایش طول مارپیچ دوگانه و به دنبال آن افزایش قابل توجه ویسکوزیته DNA می‌شود (Haque, Bhuiya, Giri, Chowdhury, & Das, 2018). به منظور بررسی بیشتر پیوند بربرین HCl به ctDNA و ctDNA-H1، اندازه-گیری ویسکوزیته از طریق تغییر غلظت بربرین HCl افزوده شده به محلول‌های ctDNA و کمپلکس ctDNA-H1 انجام شد. شکل ۷، تغییرات مشاهده شده در ویسکوزیته‌ی نسبی ctDNA و ctDNA-H1 را در حضور غلظت‌های مختلف بربرین HCl نشان می‌دهد. مطابق با این شکل، با افزایش غلظت بربرین HCl، ویسکوزیته نسبی ctDNA و ctDNA-H1 به ترتیب به طور قابل توجهی افزایش و کاهش می‌یابد. این شواهد تایید می‌کنند که بربرین HCl می‌تواند با ctDNA و ctDNA-H1 به-ترتیب از طریق نوع اتصال بین لایه‌ای و شیاری ارتباط برقرار کند.



شکل ۱۰. (A) طیف دورنگ‌نمایی دایره‌ای<sup>۱</sup> ctDNA؛ (B) کمپلکس H1-ctDNA، در حضور

مقادیر مختلف بربرین در بافر Tris-HCl ۰/۰۱ مولار (pH = ۶/۸)

جدول ۲. نتایج سمیت بربرین از طریق آزمون MTT روی لاین سلولی MCF7 در غلظت‌های ۰/۰۵،

۰/۰۲۵، ۰/۰۱۲۵ و ۰/۰۰۶۲۵ M در ۲۴ ساعت

حداقل	۴۳/۶۶۵۲ ± ۶/۸۶۷ (۱۵/۷۳ %)
حداکثر	۱۵۲/۶۳۲ ± ۲۲۹۴ (۱۵۰۳ %)
IC <sub>50</sub>	۱/۱۱۴۵۵ e <sup>-۰.۵</sup> ± ۰/۰۰۰۷۶۶۵ (۶۸۷۷ %)
ضریب Hill	۰/۶۲۱۴۱ ± ۶/۸۶۷ (۶۲۳/۳ %)

جدول ۳. نتایج سمیت بربرین از طریق آزمون MTT روی لاین سلولی MCF7 در غلظت‌های ۰/۰۵،

۰/۰۲۵، ۰/۰۱۲۵ و ۰/۰۰۶۲۵ M در ۴۸ ساعت

حداقل	۴۹/۳۲۱۷ ± ۲/۴۶۲ (۴/۹۹۲ %)
حداکثر	۱۰۴/۶۹۶ ± ۲۰/۵۲ (۱۹/۶ %)
IC <sub>50</sub>	۰/۰۰۰۲۵۹۲۲۷ ± ۷۵۴۲ (۲۹۱/۲ %)
ضریب Hill	۰/۷۳۰۵۴۷ ± ۰/۶۷۵۵ (۹۲/۴۶ %)

### اثر NaCl و KI بر ctDNA-Berberine HCl و (ctDNA-H1) Berberine HCl

حالت اتصال الکترواستاتیک به عنوان یکی از حالت‌های اتصال غیر کووالانسی مولکول‌های کوچک به DNA شناخته می‌شود، که اغلب به عنوان یک نیروی کمکی در اتصال شیاری و بین‌لایه‌ای عمل می‌کند. مولکول کوچک با اتصال قوی به DNA معمولاً با اجزای الکترواستاتیک همراه است. در صورتی

<sup>1</sup> Circular dichroism spectra

که تعامل اتصال الکترواستاتیک نقش مهمی در اتصال DNA به مولکول‌های کوچک داشته باشد، قدرت تعامل می‌توان از طریق افزایش غلظت نمک سیستم، کاهش یابد (Huang et al., 2015). شکل A۸ و B داده‌های آزمایشی مربوط به جذب ctDNA-بربرین HCl را نشان می‌دهد، که ظاهراً با افزودن غلظت‌هایی از NaCl و KI افزایش می‌یابد، که نشان‌دهنده‌ی اتصال الکترواستاتیک بین ctDNA و بربرین HCl است. از سوی دیگر، جذب کمپلکس ctDNA-بربرین HCl در حضور هیستون پیونددهنده به عنوان سیستم سه‌گانه، افزایش می‌یابد که به دلیل افزایش غلظت NaCl و KI است، که نشان‌دهنده عدم وجود هر گونه اتصال الکترواستاتیک قابل توجه بین ctDNA و بربرین HCl است. بنابراین می‌توان گفت که هیستون پیونددهنده نقش کلیدی در تشکیل کمپلکس ctDNA-بربرین HCl دارد. علاوه بر این، نتایج به دست آمده تایید کردند که هیستون پیونددهنده می‌تواند باعث تغییر رفتار تعامل ctDNA و بربرین شود.

جدول ۴- نتایج سمیت بربرین از طریق آزمون MTT روی لاین سلولی MCF7 در غلظت‌های

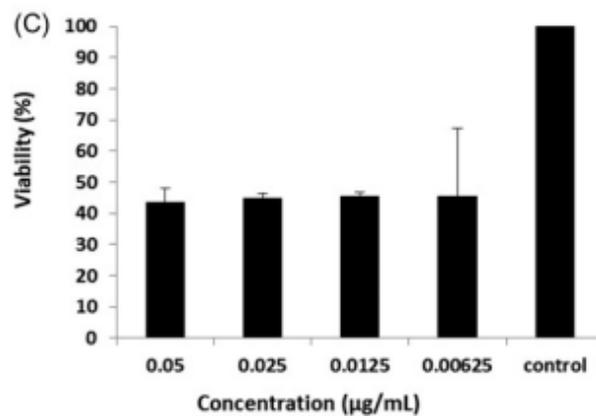
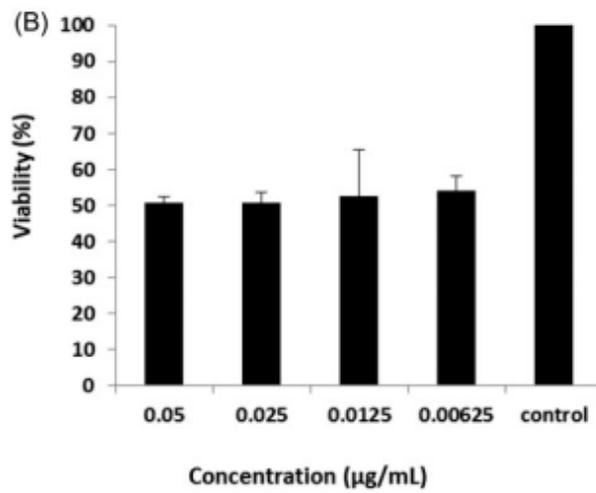
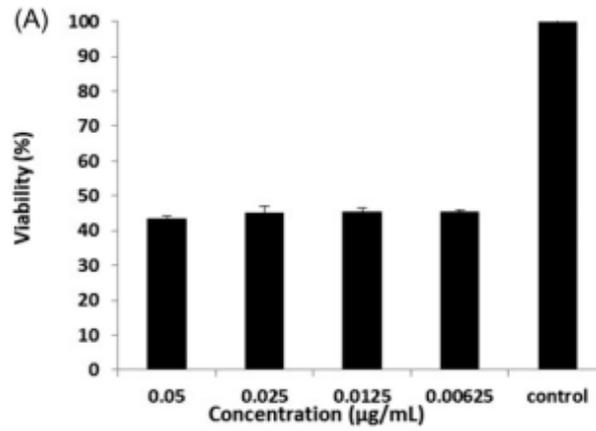
۰/۰۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۱۲۵ و ۰/۰۰۶۲۵ M در ۷۲ ساعت.

حد اقل	۴۴/۰۱۰۷ ± ۲/۵۷ (۵/۸۴ %)
حداکثر	۱۰۴/۷۶۶ ± ۸۳/۶۴ (۷۹/۸۳ %)
IC <sub>50</sub>	۰/۰۰۰۱۴۶۶۵۳ ± ۰/۰۰۱۶۳۲ (۱۱۱۳ %)
ضریب Hill	۹/۶۱۲۷ ± ۲/۵۹۵ (۲۸۶/۴ %)

مطالعات نقطه فراگذر<sup>۱</sup> (T<sub>m</sub>)

<sup>1</sup> Transition point

دنا تورا سیون DNA، که همچنین ذوب شدن DNA نامیده می‌شود، یک روشی است که در آن ds ctDNA باز می‌شود و از طریق شکستن پیوند هیدروژنی موجود بین بازها به ss ctDNA تبدیل می‌شود. گرچه ترکیب مولکول‌های کوچک به مارپیچ دوگانه می‌تواند منجر به افزایش دمای ذوب DNA شود، اما اتصال غیرتعاملی موجب افزایش  $T_m$  نمی‌شود (Ross & Subramanian, 1981). نقطه ذوب ctDNA، ctDNA-بربرین HCl، ctDNA-H1 و (ctDNA-H1) بربرین HCl از طریق روش اسپکتروسکوپی فلورسانس تعیین شد. برای این مورد، شدت فلورسانس ctDNA، ctDNA-بربرین HCl، ctDNA-H1 و (ctDNA-H1) بربرین HCl در محدوده دمای ۲۰-۹۰ درجه سلسیوس، پایین ذکر شده است. منحنی ذوب ctDNA و ctDNA-Berberine HCl، در غیاب و حضور H1 در شکل A۹ نشان داده شده است، در حالی که مقدار  $T_m$  ctDNA به دلیل اتصال به بربرین HCl به میزان ۴ درجه سلسیوس (از ۵۵ تا ۵۹ درجه سلسیوس) افزایش می‌یابد و از این طریق نوع اتصال بین لایه‌ای را تایید می‌کند. در شکل B۹ نشان داده شده است که افزایش غلظت بربرین HCl در محلول ctDNA-H1 سبب افزایش قابل توجهی در  $T_m$  این کمپلکس نمی‌شود. نتایج نشان داد که نوع اتصال ctDNA-H1 با بربرین HCl بین‌لایه‌ای نیست و احتمالاً شامل نوع اتصال شیاری است.

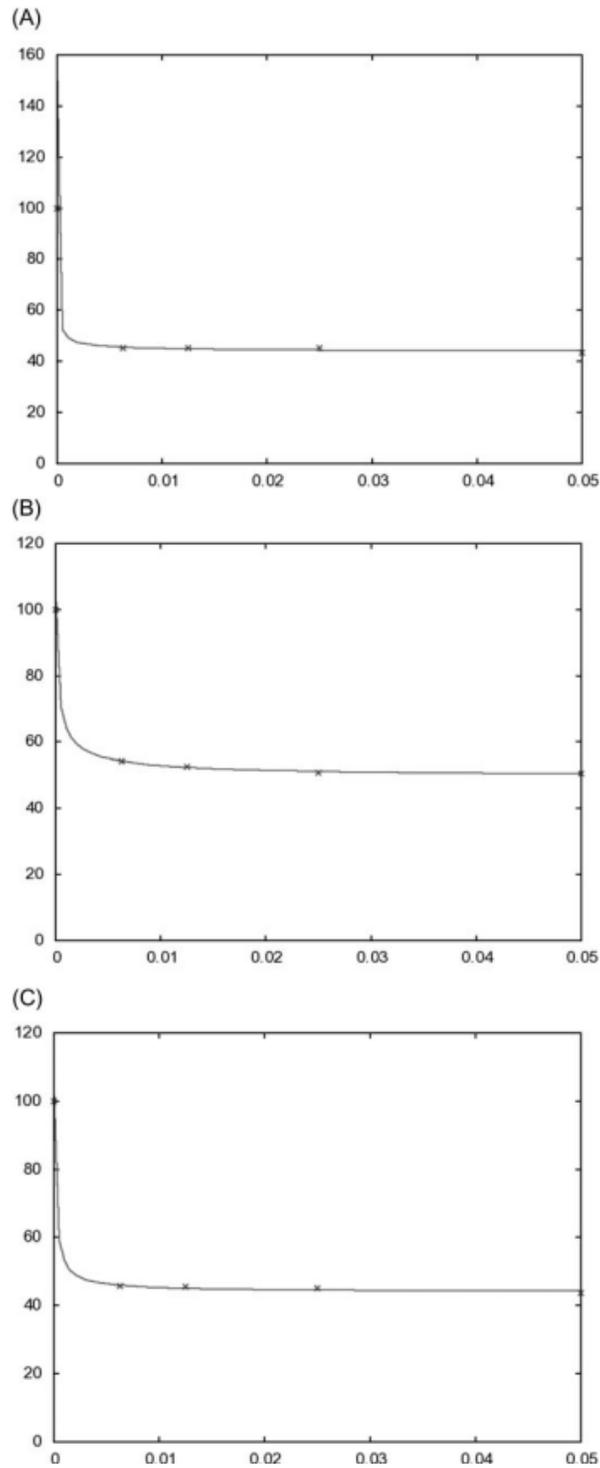


شکل ۱۱. نتایج سمیت بربرین از طریق آزمون MTT روی لاین سلولی MCF7 در غلظت‌های

۰/۰۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۱۲۵ و ۰/۰۰۶۲۵ M در (A) ۲۴، (B) ۴۸ و (C) ۷۲ ساعت

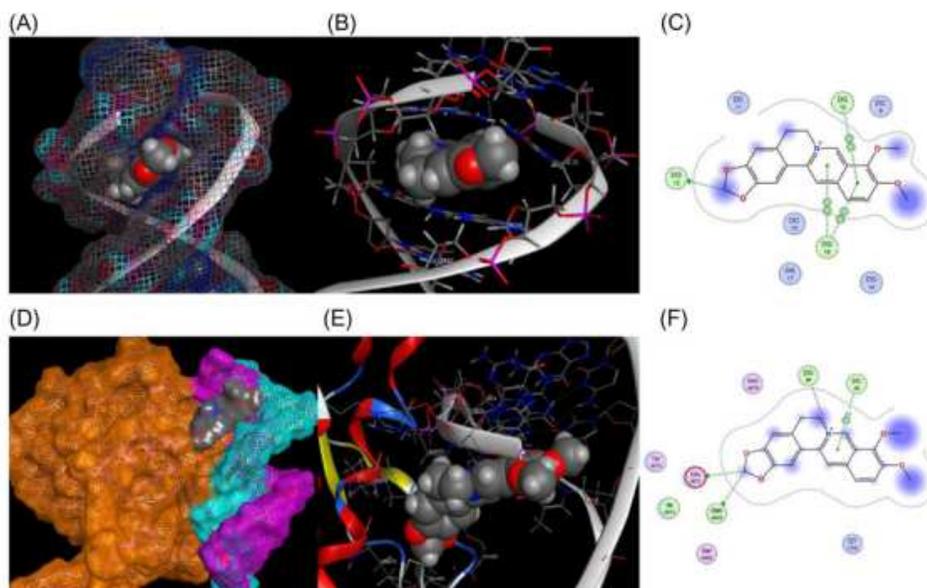
## اندازه‌گیری طیف CD

CD با توجه به دقت و حساسیت آن، به طور معمول برای بررسی تغییرات ساختاری پروتئین و DNA مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای تشخیص قابلیت بربرین HCl در ایجاد تغییرات ساختاری در ctDNA، طیف CD ctDNA و ctDNA-H1 در حضور و عدم حضور بربرین HCB اندازه‌گیری شد. همانطور که در شکل A10 نشان داده شده است، ctDNA به دلیل مارپیچ سمت راست، یک باند منفی در ۲۴۵ نانومتر دارد (Zavriev et al., 1979) و همچنین دارای یک باند مثبت در ۲۷۵ نانومتر است که به دلیل انباشته شدن بازها ایجاد شده است (Kashanian & Ezzati Nazhad Dolatabadi, 2009)، که طیف معمول CD صورتبندی B کلاسیک CtDNA بودند. با توجه به شکل A10، افزودن بربرین HCl به ctDNA موجب کاهش شدت باند منفی (تغییر به سطح صفر) شده، در حالی که کاهش باند مثبت بدون هیچ تغییر قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد. نتایج حاصل نشان داد که بربرین سبب ایجاد تغییرات ساختاری ctDNA در باز شدن پیچش مارپیچ می‌شود. شکل B10 طیف CD ctDNA-Berberine HCl را در غیاب و حضور H1 نشان می‌دهد. همانطور که این شکل نشان می‌دهد، بدشکلی ساختاری موضعی القایی در ساختار داخلی B-DNA پیشنهاددهنده‌ی اختلال تعداد کمی از جفت‌بازهای DNA در محل اتصال بربرین HCl است. تغییرات موضعی اهمیت زیادی برای فرایندهای شناسایی پروتئین-DNA و لیگاند-DNA دارد. مقایسه شکل A10 و B نشان می‌دهد که H1 نقش مهمی در تشکیل کمپلکس ctDNA-Berberine HCl دارد، بنابراین H1 برای صحت و درستی فرآیندهای تکثیر و رونویسی ضروری است.



شکل ۱۲. نمودار IC50 سمیت بربرین از طریق آزمون MTT روی لاین سلولی MCF7 در غلظت-

های ۰/۰۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۱۲۵ و ۰/۰۰۶۲۵ M در (A) ۲۴، (B) ۴۸ و (C) ۷۲ ساعت



شکل ۱۳. (A) تعامل ctDNA با بربرین در یک نمای سطحی، (B) اتمی، (C) دوبعدی، (D) تعامل ctDNA-H1 با بربرین در یک نمای سطحی (E) اتمی و (F) دوبعدی.

جدول ۵- گزارش برهمکنش بربرین با ctDNA-H1.

انرژی (Kcal/mol)	فاصله (A)	تعامل	اتم‌های باقیمانده ctDNA-H1	اتم‌های بربرین
-۱/۳	۳/۶۱	دهنده H	SD of MET483	C
-۰/۷	۳/۳۸	دهنده H	OE2 of GLU571	C
-۱/۶	۳/۵۸	یونی	OP2 of G4	N
-۲/۲	۴/۴۴	$\pi$ -H	C2' of C3	6-ring

تست سمیت سلولی MTT

زنده‌مانی سلول‌های MCF7 توسط آزمون MTT تعیین شد. ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای ریخته شد و پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، محیط کشت جدا شد و سلول‌ها با رقت‌های دنباله‌ای از بربرین کلرید در فواصل زمانی مختلف تیمار شدند (جدول‌های ۲-۴). سپس، محلول MTT (۴ میلی‌گرم/میلی‌لیتر در PBS) به هر چاهک اضافه شد. بعد از ۳ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در ۵ درصد CO<sub>2</sub>، به منظور حل کردن بلورهای فورموزان، DMSO به هر چاهک اضافه شد.

از طریق استفاده از یک دستگاه میکروپلیتری‌در (USA, Epoch)، جذب هر چاهک در ۵۷۰ و ۶۳۰ نانومتر خوانده شد و نتایج به دست آمده به صورت درصد DMSO شاهد ارائه شد. غلظت خاصی از دارو که مانع تکثیر سلول‌ها تا ۵۰٪ DMSO شاهد (IC<sub>50</sub>) شد از حداقل سه آزمایش مستقل به دست آمد که هر کدام چهار تکرار داشتند.

تاثیر سمیت سلولی بربرین روی لاین سلولی MCF7 از طریق آزمون MTT ارزیابی شد. همانطور که در شکل ۱۱ نشان داده شده است، رشد سلول از طریق تیمار سلول‌های MCF-7 با استفاده از غلظت‌های مختلف (۰/۰۲۵، ۰/۰۱۲۵ و ۰/۰۰۶۲۵) برای ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مهار شد. شکل A-C۱۱ نشان داد که اثر سمیت سلولی بربرین بر لاین سلولی MCF-7 ظاهراً وابسته به دوز است و با افزایش غلظت دارو از ۰/۰۶۲۵ تا ۰/۰۵ مولار، ویژگی‌های سمیت سلولی در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت افزایش می‌یابد.

مشاهدات ثابت کرد که در غلظت ۰/۰۵ Ig/ml، میزان مرگ و میر سلول‌های سرطان پستان MCF-7 بیشترین مقدار بود، در حالی که میزان بقای سلول به کمترین سطح خود رسید.

محاسبه غلظت بازدارندگی نصف حداکثری<sup>۱</sup> (IC50) براساس منحنی دوز-پاسخی بود که در شکل ۱۲ نشان داده شده است. غلظت بازدارندگی نصف حداکثر IC50 به معنای مقدار معینی از دارو (mgr/ml) است، که در آن رشد و تمایز ۵۰٪ از سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های شاهد که تحت تاثیر دارو نیست، مهار می‌شود.

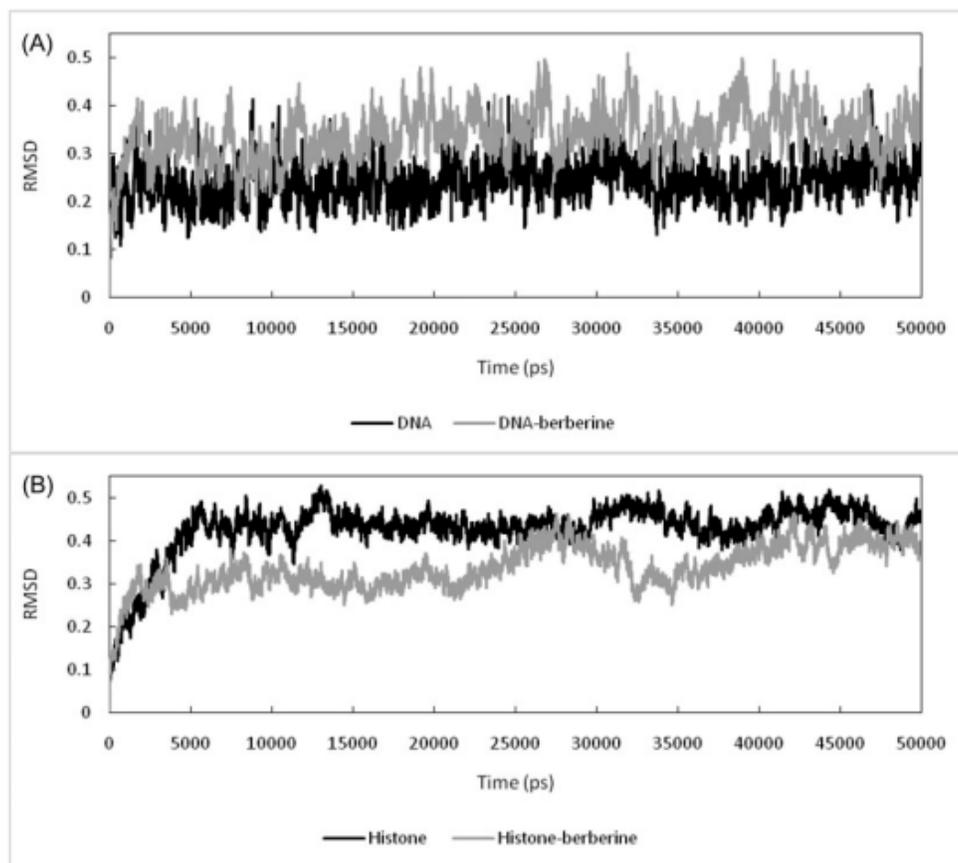
### شبیه‌سازی‌های MD

برای بررسی و کشف بهترین محل‌های اتصال بربرین، بررسی داکینگ‌های آزاد پوشاننده‌ی کل محل‌های گیرنده در نظر گرفته است. هنگامی که ctDNA به عنوان گیرنده عمل می‌کرد، تمام نتایج داکینگ در محل‌های اتصال بین لایه‌ای ظاهر شد. میانگین مقدار انرژی اتصال ۶/۱۷ کیلوکالری/مول بود. شکل A-C1۳ نشان داد که بربرین در محل اتصال بین لایه‌ای تحریک شد. میانگین فاصله اتم‌های بربرین از نوکلئوتیدهای ctDNA، حدود ۳/۷ Å بود. بیشتر برهمکنش‌ها از نوع برهمکنش p (arene-arene) بود، که باعث القای G10 و G16 ctDNA و حلقه‌های آروماتیک بربرین شد.

مشاهده شده است که پس از انتصاب ctDNA-H1 به عنوان گیرنده، بربرین در موقعیت‌های متفاوت از جمله جیب‌های اتصال سطحی هیستون، محل‌های اتصال شیار DNA و حتی محل اتصال بین‌لایه‌ای DNA داک می‌شود. میانگین انرژی اتصال ۱۶/۴ کیلو کالری/مول است. بهترین ساختار صورت‌بندی با کمترین انرژی اتصال در بربرینی شناسایی شد که یکی از سمت‌های آن در محل اتصال شیار قرار گرفته است، در حالی که سمت دیگر در یکی از حفره‌های هیستون قرار دارد. در این شرایط خاص، بربرین بیشترین تاثیر ممکن را دارد. شکل D-F1۳ نشان‌دهنده‌ی بربرینی است که در موقعیت اتصال شیار گیرنده ctDNA-H1 واقع شده است. در این شکل، ctDNA-H1 بر اساس زنجیره‌ها و محل بربرین

<sup>1</sup> half-maximal inhibitory concentrations

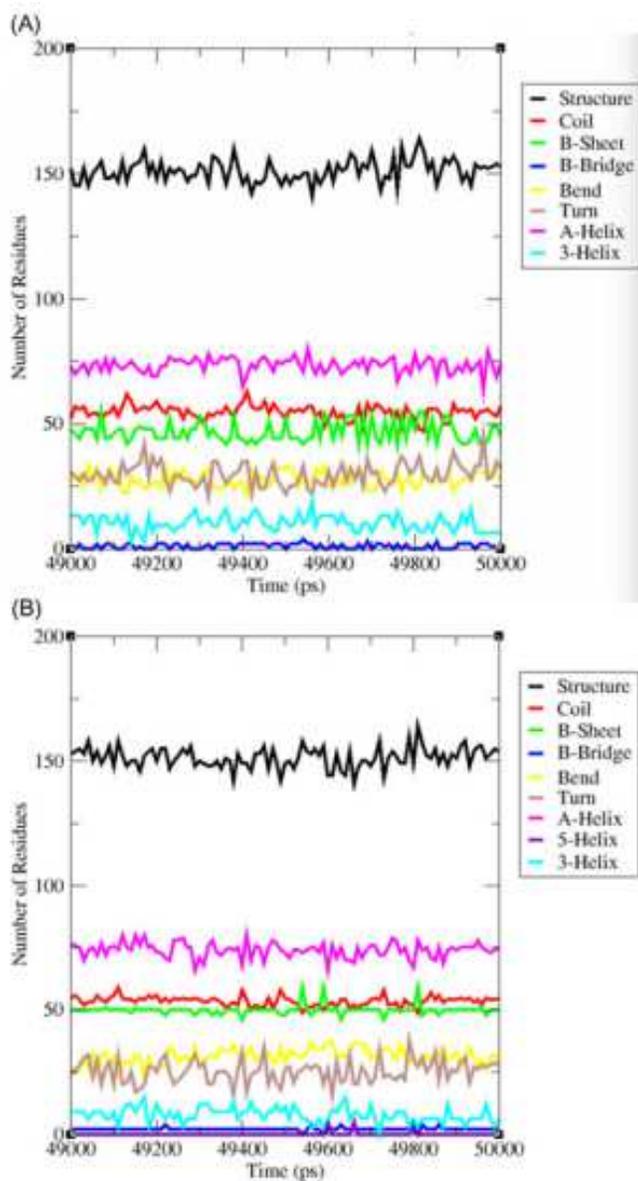
در حفره هیستون رنگ‌آمیزی شده است، در حالی که محل اتصال شیار ctDNA غالب است. بربرین شامل برهمکنش‌های باند 2H با Met 483 و Glu 571 هیستون است، در حالی که از طرف دیگر، یک برهمکنش یونی قوی بین ctDNA G4 و N<sup>p</sup> بربرین وجود دارد. علاوه بر این، یک برهمکنش p-H بین C3 و حلقه‌های آروماتیک بربرین وجود دارد (جدول ۵).



شکل ۱۴. (A) RMS ctDNA قبل و بعد از تعامل با بربرین از ساختارهای مرجع. (B) RMSD هیستون C-alpha در کمپلکس ctDNA-H1 قبل و بعد از تعامل با بربرین از ساختارهای مرجع.

استحکام ساختاری نتایج حاصل از داکینگ از طریق استفاده از Gromacs مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج شبیه‌سازی MD تایید کردند که بربرین قادر به ثبات کامل در محل‌های فعال خود در

دوره‌های شبیه‌سازی ۵۰ ns است. ctDNA RMSD و هیستون قبل و بعد از اتصال بربرین، در شکل A۱۴ و B نشان داده شده است.



شکل ۱۵. (A) ساختار ثانویه هیستون در غیاب بربرین در ۵ ns شبیه‌سازی اخیر. (B) ساختار ثانویه هیستون در حضور بربرین در ۵ ns شبیه‌سازی اخیر.

حضور بربرین در محل تداخل ctDNA می‌تواند ظاهراً باعث تغییر شکل مارپیچی ساختار DNA شود و همانطور که مشاهده می‌شود، ctDNA RMSD از ساختار مرجع در حدود ۰/۱ واحد کاهش یافت.

با این حال، با تعامل بربرین با ctDNA-H1، پایداری پروتئین‌ها کمی افزایش می‌یابد که می‌تواند نشان‌دهنده‌ی برهمکنش قوی بین هیستون و بربرین باشد. در رابطه با این موضوع، تجزیه و تحلیل ساختار ثانویه هیستون در ۵ ns آخر شبیه‌سازی، نشان‌دهنده‌ی القای حداقل تغییرات در ساختارهای ثانویه است (شکل A۱۵ و B).

### نتیجه‌گیری

در این مقاله، تعامل بربرین کلرید با ctDNA و کمپلکس هیستون H1-ctDNA در محیط با pH ۶/۸ و شرایط فیزیولوژیکی با استفاده از روش‌های مختلف مانند اسپکتروسکوپی، طیف‌سنجی فلورسانس، پراکنش نور رزونانس، مطالعه انتقال حرارت، ویسکومتری، طیف‌سنجی جذب و CD، همراه با مدل‌سازی مولکولی و تاثیر آن بر لاین سلولی MCF-Cell مورد بررسی قرار گرفت. به منظور انجام تحقیقات در مورد نوع تعامل بربرین کلرید با کمپلکس هیستون H1-ctDNA، تعامل این ترکیب در مهار تمایز DNA و هیستون H1، که به عنوان مهارکننده بیان ژن است، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج طیف-سنجی منتشر شده نشان داد که وجود DNA و هیستون کمپلکس H1-ctDNA می‌تواند باعث خاموشی لیگاند فلئوروفور شود. در غیاب هیستون H1، با افزایش دما، شیب بیشتر می‌شود، که نشان‌دهنده‌ی وجود تعاملات استاتیک و احتمالاً اتصال لیگاند بین دو رشته DNA است. از سوی دیگر، در حضور هیستون H1، افزایش شیب به علت افزایش دما مشاهده شد، که نشان‌دهنده وجود تعاملات دینامیک است، در حالی که نوع اتصال از نوع اتصال شیاری است. با استفاده از نمودار ون‌هف، مقادیر ترمودینامیکی در حضور هیستون H1 به دست آمد. مقادیر آنتالپی و آنتروپی در غیاب هیستون H1 منفی بود، که نشان می‌دهد که نیروهای مربوطه از نوع پیوندهای هیدروژنی و واندروالسی هستند. با این حال، در حضور هیستون H1، مقادیر آنتالپی و آنتروپی ظاهراً مثبت است، که تعیین می‌کند که بخش

عمده‌ی این تعاملات هیدروفوب است و نوع تعامل احتمالا از نوع اتصال شیاری است. در جریان این آزمایش‌ها که شامل پراکنش نور رزونانس با افزایش پراش است، لیگاند باعث تشکیل یک کمپلکس در حضور و عدم هیستون H1 می‌شود.

تحقیقات انجام شده روی برهمکنش رقابتی بربرین کلرید با EB و AO در محل اتصال به DNA، تایید کرد که بربرین کلرید می‌تواند پروب‌های DNA را جدا کند. در نتیجه ثابت می‌کند که نوع برهمکنش بین DNA و بربرین کلرید احتمالا از نوع اتصال بین‌لایه‌ای بین دو رشته است. با این حال، در حضور هیستون H1، کاهش انتشار درمورد رقابت بین لیگاند و پروب بسیار کمتر از مقدار کاهش در نبود آن است، که نشان‌دهنده‌ی تغییر نوع برهمکنش در حضور آن است. در غیاب هیستون H1 و افزودن لیگاندها، مطالعات ویسکومتری با مشاهده‌ی افزایش ویسکوزیته تأیید کردند که بین دو رشته برهمکنش وجود دارد. با این حال، در حضور هیستون H1، ویسکوزیت نه تنها افزایش نیافته بلکه کاهش یافته است، که نشان می‌دهد که نوع تعامل با شیاری DNA مرتبط است. تحقیقات انجام شده در مورد رقابت بین نمک‌ها و بربرین کلرید تاییدکننده‌ی نتایج ذکر شده است، زیرا در غیاب هیستون H1، لیگاند با سدیم کلرید و پتاسیم یدید رقابت می‌کند و با توجه به چگونگی اتصال نمک‌ها بین دو رشته ctDNA، نوع برهمکنش در غیاب یک هیستون H1 ظاهرا اتصال بین دو رشته است. با این وجود، نتایج در حضور هیستون H1 متفاوت است، زیرا هیچ رقابتی بین بربرین کلرید و نمک‌ها به علت اتصال لیگاند به شیاری وجود ندارد.

در عدم وجود هیستون H1، مطالعات انجام‌شده در مورد انتقال دما تایید کرده است که با توجه به چگونگی افزایش  $T_m$ ، نوع اتصال، اتصال بین دو رشته است. علی‌رغم این واقعیت ذکر شده،  $T_m$  مانند

زمانی که در حضور هیستون H1 است، تغییر نمی‌کند. آزمایش‌های داپینگ نمایی طولی<sup>1</sup>، در حضور و عدم حضور هیستون H1، تایید کننده‌ی نتایج بیان‌کننده‌ی افزایش اوج ناحیه دور و گسترش ناحیه نزدیک بود.

تمام آزمایش‌های انجام‌شده تایید کرد که نوع تعامل بین بربرین کلرید و DNA از نوع اتصال بین دو رشته است، که لیگاند intercalator نیز نامیده می‌شود. علاوه بر این، تعامل بین بربرین کلرید و کمپلکس هیستون H1-ctDNA ظاهراً نوعی اتصال به شیار ctDNA است.

نتایج کشت سلولی و آزمون MTT ثابت کردند که ۰/۰۰۶۲۵ میلی‌مولار کمترین غلظت لیگاندی است که در تکثیر سلول MCF7 موثر بوده و با افزایش غلظت‌های به کار رفته افزایش می‌یابد، که نشان می‌دهد که بربرین سمیت سلولی داشته و باعث مرگ سلول‌های سرطانی از طریق فعال‌سازی آپوپتوز در سلول‌های زنده می‌شود.

نتایج مدل‌سازی مولکولی نشان می‌دهد که پیوند بربرین، در غیاب یک هیستون H1، نوع اتصال بین قطره‌ای است، در حالی که در حضور هیستون H1 نوع آن اتصال به شیار DNA است. تمام نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که بربرین کلرید می‌تواند در غیاب هیستون H1، بین دو رشته DNA قرار گیرد، در حالی که در حضور آن، به شیار DNA متصل می‌شود. با توجه به نتایج مدل‌سازی مولکولی، بربرین کلرید همچنین می‌تواند با ماکرومولکول هیستون H1 تعامل داشته باشد.

---

<sup>1</sup> Longitudinal exponential doping tests

## References

- Agarwal, S., Jangir, D. K., & Mehrotra, R. (2013). Spectroscopic studies of the effects of anticancer drug mitoxantrone interaction with calf-thymus DNA. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 120, 177–182.
- Akbarabadi, A., Ismaili, A., Kahrizi, D., & Firouzabadi, F. N. (2018). Resistance determination of the ACCase-inhibiting herbicide of clodinafop propargyl in *Avena ludoviciana* (Durieu), and study of their interaction using molecular docking and simulation. *Molecular Biology Reports*, 1–10.
- Aktipis, S., & Panayotatos, N. (1976). Mechanism of ethidium bromide inhibition of RNA polymerase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 68(2), 465–470. doi:10.1016/0006-291X(76)91168-2
- Anbzhagan, V., & Renganathan, R. (2008). Study on the binding of 2, 3-diazabicyclo [2.2. 2] oct-2-ene with bovine serum albumin by fluorescence spectroscopy. *Journal of Luminescence*, 128(9), 1454–1458. doi:10.1016/j.jlumin.2008.02.004
- Arrondo, J. L. R., Muga, A., Castresana, J., & Goñi, F. M. (1993). Quantitative studies of the structure of proteins in solution by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 59(1), 23–56. doi:10.1016/0079-6107(93)90006-6
- Asadi, M., Safaei, E., Ranjbar, B., & Hasani, L. (2004). Thermodynamic and spectroscopic study on the binding of cationic Zn (II) and Co (II) tetrapyridinoporphyrazines to calf thymus DNA: The role of the central metal in binding parameters. *New Journal of Chemistry*, 28(10), 1227–1234. doi:10.1039/b404068f
- Bazett-Jones, D. P., Côté, J., Landel, C. C., Peterson, C. L., & Workman, J. L. (1999). The SWI/SNF complex creates loop domains in DNA and polynucleosome arrays and can disrupt DNA–histone contacts within these domains. *Molecular and Cellular Biology*, 19(2), 1470–1478. doi:10.1128/MCB.19.2.1470
- Bera, R., Sahoo, B. K., Ghosh, K. S., & Dasgupta, S. (2008). Studies on the interaction of isoxazolcurcumin with calf thymus DNA. *International Journal of Biological Macromolecules*, 42(1), 14–21. doi:10.1016/j.ijbiomac.2007.08.010
- Berendsen, H. J., van der Spoel, D., & van Drunen, R. (1995). GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation. *Computer Physics Communications*, 91(1-3), 43–56. doi:10.1016/0010-4655(95)00042-E
- Bi, S., Qiao, C., Song, D., Tian, Y., Gao, D., Sun, Y., & Zhang, H. (2006). Study of interactions of flavonoids with DNA using acridine orange as a fluorescence probe. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 119(1), 199–208. doi:10.1016/j.snb.2005.12.014
- Blake, R. D., Bizzaro, J. W., Blake, J. D., Day, G. R., Delcourt, S. G., Knowles, J., ... SantaLucia, J. (1999). Statistical mechanical simulation of polymeric DNA melting with MELTSIM. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 15(5), 370–375. doi:10.1093/bioinformatics/15.5.370

- Borchman, D., Yappert, M., & Herrell, P. (1991). Structural characterization of human lens membrane lipid by infrared spectroscopy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 32(8), 2404–2416.
- Burton, D., Butler, M., Hyde, J., Phillips, D., Skidmore, C., & Walker, I. (1978). The interaction of core histones with DNA: Equilibrium binding studies. *Nucleic Acids Research*, 5(10), 3643–3664. doi:10.1093/nar/5.10.3643
- Cao, Y., & He, X-W. (1998). Studies of interaction between safranin T and double helix DNA by spectral methods. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 54(6), 883–892. doi:10.1016/S1386-1425(97)00277-1
- Chen, W.-H., Qin, Y., Cai, Z., Chan, C.-L., Luo, G.-A., & Jiang, Z.-H. (2005). Spectrometric studies of cytotoxic protoberberine alkaloids binding to double-stranded DNA. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13(5), 1859–1866. doi:10.1016/j.bmc.2004.10.049
- Chi, Z., & Liu, R. (2011). Phenotypic characterization of the binding of tetracycline to human serum albumin. *Biomacromolecules*, 12(1), 203–209. doi:10.1021/bm1011568
- Cornell, W. D., Cieplak, P., Bayly, C. I., Gould, I. R., Merz, K. M., Ferguson, D. M., ... Kollman, P. A. (1995). A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. *Journal of the American Chemical Society*, 117(19), 5179–5197. doi:10.1021/ja00124a002
- Coutsias, E. A., Seok, C., & Dill, K. A. (2004). Using quaternions to calculate RMSD. *Journal of Computational Chemistry*, 25(15), 1849–1857.
- Daniel, B., Pavkov-Keller, T., Steiner, B., Dordic, A., Gutmann, A., Nidetzky, B., ... Gruber, K. (2015). Structural and biochemical characterization of a monolignol oxidoreductase from *A. thaliana* implies a link between the berberine bridge enzyme-like family and cell wall metabolism. Paper Presented at the 13th DocDay-NAWI Graz Doctoral School of Molecular Biosciences and Biotechnology, Graz, Austria.
- Du, K.-J., Wang, J.-Q., Kou, J.-F., Li, G.-Y., Wang, L.-L., Chao, H., & Ji, L.-N. (2011). Synthesis, DNA-binding and topoisomerase inhibitory activity of ruthenium (III) polypyridyl complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(4), 1056–1065. doi:10.1016/j.ejmech.2011.01.019
- Gallori, E., Vettori, C., Alessio, E., Vilchez, F. G., Vilaplana, R., Orioli, P., ... Messori, L. (2000). DNA as a possible target for antitumor ruthenium (III) complexes. A spectroscopic and molecular biology study of the interactions of two representative antineoplastic ruthenium (III) complexes with DNA. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 376(1), 156–162. doi:10.1006/abbi.1999.1654
- Ghosh, S., Kundu, P., Paul, B. K., & Chattopadhyay, N. (2014). Binding of an anionic fluorescent probe with calf thymus DNA and effect of salt on the probe–DNA binding: A spectroscopic and molecular docking investigation. *RSC Advances*, 4(108), 63549–63558. doi:10.1039/C4RA14298E
- Gittelsohn, B., & Walker, I. (1967). The interaction of proflavine with deoxyribonucleic acid and deoxyribonucleohistone. *Biochimica et Biophysica Acta*, 138(3), 619. doi:10.1016/0005-2787(67)90563-1
- Guo, Y., Yue, Q., & Gao, B. (2011). Molecular docking study investigating the possible mode of binding of CI Acid Red 73 with DNA. *International Journal of Biological Macromolecules*, 49(1), 55–61. doi:10.1016/j.ijbiomac.2011.03.009
- Haque, L., Bhuiya, S., Giri, I., Chowdhury, S., & Das, S. (2018). Structural alteration of low pH, low temperature induced protonated form of DNA to the canonical form by the benzophenanthridine alkaloid

- nitidine: Spectroscopic exploration. *International Journal of Biological Macromolecules*, 119, 1106–1112. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.08.031
- Hossain, M., & Kumar, G. S. (2009). DNA binding of benzophenanthridine compounds sanguinarine versus ethidium: Comparative binding and thermodynamic profile of intercalation. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 41(6), 764–774. doi:10.1016/j.jct.2008.12.008
- Huang, S., Zhu, F., Xiao, Q., Liang, Y., Zhou, Q., & Su, W. (2015). Thermodynamic investigation of the interaction between the [(η<sup>6</sup>-p-cymene) Ru (benzaldehyde-*N*-4-phenylthiosemicarbazone) Cl] Cl anticancer drug and ctDNA: Multispectroscopic and electrochemical studies. *RSC Advances*, 5(53), 42889–42902. doi:10.1039/C5RA03979G
- Huang, S. Y., & Zou, X. (2006). Efficient molecular docking of NMR structures: Application to HIV-1 protease. *Protein Science*, 16(1), 43–51. doi:10.1110/ps.062501507
- Ivankin, A., Carson, S., Kinney, S. R., & Wanunu, M. (2013). Fast, label-free force spectroscopy of histone–DNA interactions in individual nucleosomes using nanopores. *Journal of the American Chemical Society*, 135(41), 15350–15352. doi:10.1021/ja408354s
- Jin, P., Zhang, C., & Li, N. (2015). Berberine exhibits antitumor effects in human ovarian cancer cells. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Chemistry)*, 15(4), 511–516. doi:10.2174/1871520614666141226124110
- Jordan, M. A., & Wilson, L. (2004). Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nature Reviews. Cancer*, 4(4), 253.
- Kashanian, S., Askari, S., Ahmadi, F., Omidfar, K., Ghobadi, S., & Tarighat, F. A. (2008). *In vitro* study of DNA interaction with clodinafop-propargyl herbicide. *DNA and Cell Biology*, 27(10), 581–586.
- Kashanian, S., & Ezzati Nazhad Dolatabadi, J. (2009). *In vitro* study of calf thymus DNA interaction with butylated hydroxyanisole. *DNA. Cell Biology*, 28(10), 535–540. doi:10.1089/dna.2009.0906
- Khare, D., & Pande, R. (2012). Experimental and molecular docking study on DNA binding interaction of *N*-phenylbenzohydroxamic acid. *Der Pharma Chemica*, 4(1), 66–75.
- Kumar, B. V., Naik, H. B., Girija, D., Sharath, N., & Pradeepa, S. (2012). Metal complexes of new tetraazamacrocyclic constrained oxadiazole ring as subunits: Synthesis, DNA binding and photonuclease activity. *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 49(2), 139–148. doi:10.1080/10601325.2012.642210
- Kypr, J., & Vorlíčková, M. (2002). Circular dichroism spectroscopy reveals invariant conformation of guanine runs in DNA. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 67(4–5), 275–277. doi:10.1002/bip.10112
- Lerman, L. (1961). Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. *Journal of Molecular Biology*, 3(1), 18
- Li, J., & Dong, C. (2009). Study on the interaction of morphine chloride with deoxyribonucleic acid by fluorescence method. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 71(5), 1938–1943. doi:10.1016/j.saa.2008.07.033
- Ma, L., Wang, J., & Zhang, Y. (2017). Probing the characterization of the interaction of aflatoxins B1 and G1 with calf thymus DNA *in vitro*. *Toxins*, 9(7), 209.
- Macquet, J. P., & Butour, J. L. (1978). A circular dichroism study of DNA-platinum complexes: Differentiation between monofunctional, cis-bidentate and trans-bidentate platinum fixation on a series of DNAs. *European Journal of Biochemistry*, 83(2), 375–387. doi:10.1111/j.1432-1033.1978.tb12103.x
- Nafisi, S., Saboury, A. A., Keramat, N., Neault, J.-F., & Tajmir-Riahi, H.-A. (2007). Stability and structural features of DNA intercalation with ethidium bromide, acridine orange and methylene blue. *Journal of Molecular Structure*, 827(1–3), 35–43. doi:10.1016/j.molstruc.2006.05.004
- Neelam, S., Gokara, M., Sudhamalla, B., Amooru, D. G., & Subramanyam, R. (2010). Interaction studies of coumaroyltyramine with human serum albumin and its biological importance. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114(8), 3005–3012. doi:10.1021/jp910156k
- Oohara, I., & Wada, A. (1987). Spectroscopic studies on histone–DNA interactions. II. Three transitions in nucleosomes resolved by salt-titration. *Journal of Molecular Biology*, 196(2), 399–411.
- Paul, B. K., & Guchhait, N. (2011). Exploring the strength, mode, dynamics, and kinetics of binding interaction of a cationic biological photosensitizer with DNA: Implication on dissociation of the drug–DNA complex via detergent sequestration. *The Journal of Physical Chemistry B*, 115(41), 11938–11949. doi:10.1021/jp206589e
- Ross, P. D., & Subramanian, S. (1981). Thermodynamics of protein association reactions: Forces contributing to stability. *Biochemistry*, 20(11), 3096–3102. doi:10.1021/bi00514a017
- Sarkar, D., Das, P., Basak, S., & Chattopadhyay, N. (2008). Binding interaction of cationic phenazinium dyes with calf thymus DNA: A comparative study. *The Journal of Physical Chemistry B*, 112(30), 9243–9249. doi:10.1021/jp801659d
- Shahabadi, N., Hadidi, S., & Taherpour, A. A. (2014). Synthesis, characterization, and DNA binding studies of a new Pt (II) complex containing the drug levetiracetam: Combining experimental and computational methods. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(5), 2436–2454. doi:10.1007/s12010-013-0695-z
- Shakibapour, N., Dehghani Sani, F., Beigoli, S., Sadeghian, H., & Chamani, J. (2018). Multi-spectroscopic and molecular modeling studies to reveal the interaction between propyl acridone and calf thymus DNA in the presence of histone H1: Binary and ternary approaches. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1–13. doi:10.1080/07391102.2018.1427629. [Epub ahead of print]
- Sohrabi, T., Hosseinzadeh, M., Beigoli, S., Saberi, M. R., & Chamani, J. (2018). Probing the binding of lomefloxacin to a calf thymus DNA–histone H1 complex by multi-spectroscopic and molecular modeling techniques. *Journal of Molecular Liquids*, 256, 127–138. doi:10.1016/j.molliq.2018.02.031
- Sowrirajan, C., Yousuf, S., & Enoch, I. V. (2014). The unusual fluorescence quenching of Coumarin 314 by β-cyclodextrin and the effect of β-cyclodextrin on its binding with calf thymus DNA. *Australian Journal of Chemistry*, 67(2), 256–265. doi:10.1071/CH13364
- Tang, J., Feng, Y., Tsao, S., Wang, N., Curtain, R., & Wang, Y. (2009). Berberine and Coptidis rhizoma as novel antineoplastic agents: A review of traditional use and biomedical investigations. *Journal of Ethnopharmacology*, 126(1), 5–17. doi:10.1016/j.jep.2009.08.009
- Wang, J., Wang, W., Kollman, P. A., & Case, D. A. (2006). Automatic atom type and bond type perception in molecular mechanical calculations. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 25(2), 247–260. doi:10.1016/j.jmgm.2005.12.005
- Wang, J., Wolf, R. M., Caldwell, J. W., Kollman, P. A., & Case, D. A. (2004). Development and testing of a general Amber force field. *Journal of Computational Chemistry*, 25(9), 1157–1174.
- Zavriev, S. K., Minchenkova, L. E., Vorlickova, M., Kolchinsky, A. M., Volkenstein, M. V., & Ivanov, V. I. (1979). Circular dichroism anisotropy of DNA with different modifications at N7 of guanine. *Biochimica et Biophysica Acta*, 564(2), 212–224. doi:10.1016/0005-2787(79)90220-X



این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

لیست مقالات ترجمه شده ✓

لیست مقالات ترجمه شده رایگان ✓

لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI ✓

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی