A Comparative in-vitro study between the interaction of aqueous extracts of Ephedra, Nepeta, and Hymenocrater with histone proteins

Elham Chamani[12], Roshanak Ebrahimi[3], Asghar Zarban[1], Reyhane Hoshyar[4]

Background and Aim: Ephedra, Nepeta, and Hymenocrater herbs have long been used in the treatment of many diseases, but their interactions with cellular components, especially nuclear proteins, are still unknown. On the other hand, in the eukaryotic cell nucleus histone proteins play a main role in the packaging of the genetic material as chromatin. The present study aimed at comparing the in-vitro interactions of aqueous extracts of Ephedra, Nepeta, and Hymonocarater with histone proteins.

Materials and Methods: Histone proteins type 2A were purchased from Sigma company and aqueous extract of Ephedra, Nepeta and Hymenocrater were prepared in the research laboratory of Birjand University of Medical sciences. Different concentrations of the aqueous extracts were incubated with histone proteins, then analyzed by UV-Spectroscopy and Circular dichroism.

Results: Aqueous extract of Nepeta increased maximum absorbance of histone proteins at 210 nm, but the reduction in absorbance was shown at its high concentration. The absorbance of histone proteins also changed in the presence of the aqueous extract of Ephedra and Hymenocrater and it decreased to zero at higher concentration of Ephedra. Circular Dichroism studies demonstrated that the structure of histone proteins changed in the presence of mentioned aqueous extract; the observed effect of the aqueous extract of ephedra was higher than Nepeta and Hymenocrater.

Conclusion: The aqueous extracts of ephedra, Nepeta,and Hymenocrated interacted with histone proteins and changed their structure. The effect of ephedra was higher than others.

Key Words: Histone proteins, Ephedra, Nepeta, Hymenocrater.

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2017; 24 (Supplementary: Biochimistry & Metabolism): 31-41.

Received: February 11, 2017 ***Accepted: March 13, 2017***

[1] *Birjand CardioVascular Diseases Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran*
[2] *Department of Biochemistry, Birjand University of Medical Sciences, Birjan, Iran*
[3] *Member of Student Research Committee, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran*
[4] ***Corresponding Author**; Cellular and Molecular Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran*
Email: hooshyar@bums.ac.ir Tel: +985632381452: Fax:+985632381500

مقاله اصیل پژوهشی

بررسی مقایسه ای میانکنش عصاره‌های آبی افدرا، پونه و اروانه با پروتئین‌های هیستونی در محیط برون تنی

الهام چمنی[21]، روشنک ابراهیمی[3]، اصغر زربان[1]، ریحانه هوشیار[4]

چکیده

زمینه و هدف: گیاهان دارویی افدرا، پونه و اروانه از دیرباز در درمان بسیاری از بیماری‌ها به‌کار می‌روند؛ اما تاکنون میانکنش آنها با اجزای سلولی و به‌ویژه پروتئین‌های هسته‌ای گزارش نشده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی و مقایسه میانکنش عصاره‌های آبی به‌دست‌آمده از افدرا، پونه و اروانه با پروتئین‌های هیستونی بود.

روش تحقیق: پروتئین‌های هیستونی تیپ 2A، از شرکت سیگما خریداری و عصاره‌های آبی افدرا، پونه و اروانه نیز در آزمایشگاه تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی بیرجند تهیه شد. غلظت‌های مختلف از عصاره‌های این گیاهان (80?g/ml- 0) با غلظت ثابتی از پروتئین‌های هیستونی انکوبه و سپس بررسی‌های اسپکتروسکوپی جذبی و طیف‌سنجی دورنگ نمایی انجام شد.

یافته‌ها: عصاره آبی پونه، میزان جذب حداکثر پروتئین‌های هیستونی را در 210 نانومتر افزایش داد؛ اما در غلظت بالا، کاهش در میزان جذب هیستون‌ها مشاهده شد. میزان جذب پروتئین‌های هیستونی در حضور عصاره‌های ابی افدرا و اروانه نیز تغییر نشان داد و میزان جذب پروتئین‌های هیستونی در غلظت‌های بالای افدرا به صفر رسید. بررسی‌های دورنگ‌نمایی حلقوی بیانگر تغییر ساختار پروتئین‌های هیستونی در حضور عصاره‌های آبی افدرا، پونه و اروانه بود که میزان اثر مشاهده‌شده برای عصاره آبی افدرا بیشتر از عصاره آبی پونه و اروانه بود.

نتیجه‌گیری: عصاره‌های آبی افدرا، پونه و اروانه با پروتئین‌های هیستونی میانکنش می‌دهند و می‌توانند سبب تغییر ساختار پروتئین‌های هیستونی شوند که میزان اثر افدرا بیشتر از سایرین می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین‌های هیستونی، عصاره آبی، افدرا، پونه، اروانه

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. 1396؛ 24 (ویژه‌نامه: بیوشیمی و متابولیسم): 31-41.

دریافت: 1395/11/23 **پذیرش: 1395/12/23**

[1] مرکز تحقیقات بیماری های قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

[2] گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

[3] عضو کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

[4] **نویسنده مسؤول؛** مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

آدرس: بیرجند- دانشگاه علوم پزشکی بیرجند- دانشکده پزشکی

تلفن: 05632381542 نمابر: 05632381500 پست الکترونیکی: hooshyar@bums.ac.ir

مقدمه

یکی از چالش‌های اصلی درمان سرطان، مقاومت دارویی است که در هنگام پیشرفت و بدخیمی سرطان از اصلی‌ترین دلایل مرگ و میر بیماران می‌باشد (1). مطالعات اخیر آشکار کرده است که می‌توان با استفاده از داروهای گیاهی به‌عنوان طب مکمل، کارآیی داروهای شیمی‌درمانی را از طریق بالابردن میزان حساسیّت سلول‌ها افزایش داد. این یافته سبب افزایش بررسی‌ها بر روی مکانیسم اثر داروهای گیاهی در سطح سلولی شده است تا بتوان از طریق تعیین عملکرد دقیق داروهای گیاهی در سلول، ترکیب دارویی مؤثر را به‌عنوان طبّ مکمل در کنار شیمی‌درمانی مورد استفاده قرار داد (2).

مکانیسم‌های اپی‌ژنتیکی مانند: متیلاسیون DNA و تغییرات ساختاری در هیستون‌ها به‌دلیل طبیعت قابل برگشت آنها و بروز زود هنگام آن در پیشرفت سرطان، همواره برای تضمین عملکرد دارو مورد توجه محقّیق قرار گرفته است (3). بررسی‌های زیادی بر روی اثر داروهای گیاهی در سطوح مختلف اپی‌ژنتیکی انجام شده است. پلی‌فنول‌های موجود در چای سبز قادرند از طریق مهار آنزیم DNA متیل‌ترانسفراز، فعالیّت ضدّ توموری خود را انجام دهند (4). تیمار با Curcumine (ماده مؤثّر زرچوبه) سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های هیستون داستیلاز 1، 4 و 8 می‌گردد که بیان دوباره ژن‌های سرکوب‌گر که طی فرآیند سرطان غیر فعال‌شده را موجب می‌گردد و از طریق افزایش در میزان بیان این ژن‌ها، حساسیت سلول‌ها را به شیمی‌درمانی افزایش می‌دهد (5). برخی از داروهای شیمیایی مانند «آدریامایسن» و گیاهان دارویی مانند «زعفران»، از طریق میان‌کنش با هیستون‌ها، ساختمان کروماتین را سست کرده و بر الگوی بیان ژن‌های مختلف درگیر در سرطان تأثیر می‌گذارند (6).

مطالعات اخیر نشان داده است که گیاهانی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند، قادرند مکانیسم‌های اپی‌ژنتیکی را نیز تحت تأثیر قرار دهند. به‌عنوان مثال Resveratol، یک ترکیب طبیعی که در پوست انگور قرمز وجود دارد و دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است، می‌تواند از طریق اثر بر سطوح مختلف اپی‌ژنتیکی، فعالیت ضدّ توموری خود را انجام دهد (6، 7). از جمله گیاهان بومی خراسان جنوبی که دارای خاصیت ضدّ اکسیدانی و ضدّ سرطانی قابل ملاحظه‌ای می‌باشند، افدرا، پونه و اروانه هستند. گیاهان مذکور به‌طور طبیعی در بسیاری از نقاط ایران می‌رویند و دارای ترکیبات مؤثّر شامل: فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، کاروتنوئیدها و اسانس‌های مونوترپنی آلی می‌باشند (8).

افدرا با نام علمی Ephedra Sarcocarpa از خانواده افدراسه بوده و دارای خواص چربی‌سوزی، ضدّ احتناق، ضدّ حساسیت و ضدّ درد می‌باشد (9). ترکیبات این گیاه دارای 50درصد آلکالوئید افدرین است و 50درصد باقیمانده دارای ترکیبات الکالوئیدی شبه‌افدرین مانند: نورافدرین و پسودو افدرین است. برررسی‌ها نشان می‌دهد که عصاره آبی گیاه افدرا قادر است، میزان تکثیر سلول‌های نرمال ریه را افزایش دهد؛ به همین دلیل، عصاره ذکرشده برای ترمیم بافت آسیب‌دیده ریه به‌کار می‌رود. از سوی دیگر افدرا به‌عنوان یک داروی سنّتی در درمان چاقی، کاربرد وسیعی دارد (10-12).

گیاه پونه از خانواده نعناعیان، گیاهی همیشه سبز با نام علمی *Nepeta Bracteata* و دارای خواص زیستی و دارویی متنوعّی مانند: ضدّ میکروبی، ضدّ آسم، ضدّ اسپاسم و ضدّ نفخ می‌باشد (13). این گونه پونه از نوع پونه سای برگه‌دار، از گونه‌های انحصاری ایران است. مهم‌ترین ترکیبات موجود در عصاره این گونه، نپتالاکتون‌ها هستند که به‌دلیل وجود این ترکیبات، دارای خصوصیات ضدّ قارچی، ضدّ میکروبی و ضدّ ویروسی می‌باشد (14).

گیاه اروانه با نام علمی *HymenocraterplatystegiusRech.F*، از گیاهان تیره نعناع و جنس مریم‌گلی می‌باشد که در طبّ سنّتی به‌عنوان مسکّن، ضدّ تشنج، محرّک معده و ضدّ اسپاسم است و برای

تقویت قلب استفاده می‌شود (15). فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و ترکیبات فنولی، اجزای اصلی تشکیل‌دهنده عصاره اروانه است (16). بررسی‌ها نشان داده است که عصاره گیاه اروانه قادر است، تخریب نورونی را کاهش دهد و برای درمان بیماری‌های عصبی نیز به‌کار رود (17).

همان‌طور که اشاره شد، گیاهان مذکور دارای کاربردهای غذایی فراوان و اثرات درمانی متنوعی هستند؛ اما در مورد تأثیر آنها بر ساختارهای مولکولی داخل سلول‌ها، گزارشی در دست نیست. در مطالعه حاضر برای اولین‌بار، اثرات هر یک از عصاره‌های گیاهی افدرا، پونه و اروانه بر ساختار پروتئین‌های هیستونی از طریق روش‌های رایج اسپکتروسکوپی جذبی و دورنگ‌نمایی حلقوی، مورد بررسی قرار گرفت.

روش تحقیق

به‌منظور تهیّه عصاره‌های آبی افدرا، پونه و اروانه، این گیاهان بعد از شستشو، در دمای 50؟C خشک شدند؛ سپس گیاهان خشک‌شده، آسیاب و 5mg از هر گیاه با 100ml آب جوش مخلوط و برای 30دقیقه انکوبه شد. محلول‌های به‌دست‌آمده از هر گیاه، با دور 7,000 g سانتریفوژ و محلول رویی با کاغذ واتمن شماره 1 فیلتر گردید و در دمای 80- ؟C برای دو ساعت لیپوفیلیز شد. سپس یک میلی‌گرم از پودرهای افدرا، پونه و اروانه در بافر تریس 10mM حل شد و یک استوک 1mg/ml از هر کدام از عصاره‌های ذکرشده تهیّه گردید.

هیستون‌های تیپ 2a از شرکت سیگما خریداری گردید. از این هیستون‌ها، یک استوک 1 mg/ml تهیه و در دمای 4؟C ذخیره شد. برای آزمایش‌های ذکرشده، از غلظت 50؟g/ml پروتئین‌های هیستونی استفاده شد. غلظت‌های مختلف عصاره‌های افدرا، پونه و اروانه (0، 10، 20، 40 و 60؟g/ml) به‌طور مجزا با غلظت مشخصی از پروتئین‌های هیستونی (50؟g/ml) برای 45دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس بررسی‌های اسپکتروسکوپی جذبی و طیف‌سنجی دورنگ‌نمایی حلقوی (CD) انجام گردید.

به‌منظور بررسی‌های اسپکتروسکوپی جذبی، میزان جذب محلول‌های حاصل از میان‌کنش عصاره‌های آبی ذکرشده با غلظت پروتئین‌های هیستونی، در طول موج 210 نانومتر در کووت‌های کوارتز با پهنای یک سانتی‌متر بررسی شد.

بررسی‌های طیف‌سنجی دورنگ‌نمایی حلقوی در ناحیه فرابنفش دور انجام شد. طیف‌های ناحیه فرابنفش دور، در محدوده 190- 260 نانومتر توسط اسپکتروپلاریمتر به‌دست آمد. طیف CD با سرعت 20 نانومتر بر دقیقه با استفاده از کووت‌های کوارتز با پهنای یک میلی‌متر تحت جریان ثابت 11/7 لیتر بر دقیقه گاز ازت انجام گردید. طیف‌های حاصل نسبت به طیف شاهد هر نمونه، تصحیح شده و داده‌ها براساس بیضیواری مولی، [θ]، بر حسب $deg\ cm^2\ mol^{-1}$ ارائه شدند.

داده‌ها در نرم‌افزار SPSS (ویرایش 18) وارد شد و با کمک آمار توصیفی توصیف و توسط آزمون‌های آماری one-way Anova، Kruskalwallis، Friedman و Man-Whitney در سطح آلفای 5درصد تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

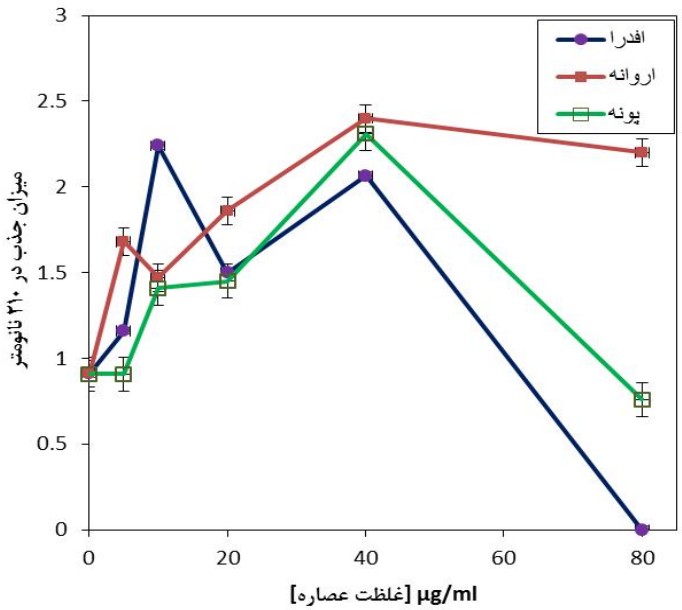
بررسی‌های اسپکتروسکوپی جذبی نشان داد که پروتئین‌های هیستونی، دارای یک جذب شاخص در طول موج 210 نانومتر بودند. میزان جذب پروتئین‌های هیستونی در حضور غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی افدرا، پونه و اروانه تغییر نمود. در حضور غلظت‌های پایین عصاره آبی افدرا، میزان جذب پروتئین‌های هیستونی در طول موج 210 نانومتر افزایش پیدا کرد و در غلظت‌های بالای عصاره آبی افدرا، میزان جذب پروتئین‌های هیستونی کاهش پیدا نمود؛ به‌گونه‌ای که در غلظت حداکثر عصاره آبی افدرا (60؟g/ml) به صفر رسید.

همان‌طور که در شکل یک نیز نشان داده شده است، در غلظت پایین عصاره آبی پونه (10؟g/ml)، میزان جذب

شاخص پروتئین‌های هیستونی تغییر نکرد؛ اما با افزایش میزان غلظت عصاره آبی پونه، میزان جذب پروتئین‌های هیستونی افزایش پیدا کرد؛ به‌گونه‌ای که در غلظت 40؟g/ml، میزان جذب شاخص پروتئین‌های هیستونی 60درصد افزایش یافت؛ اما در غلظت حداکثر دارو، میزان جذب کاهش یافت و به 0/5 رسید.

میزان جذب پروتئین‌های هیستونی در حضور غلظت‌های پایین اروانه افزایش و سپس در غلظت 20؟g/ml عصاره اروانه کاهش یافت و به دنبال آن با افزایش غلظت، افزایش در میزان جذب مشاهده شد و در غلظت حداکثر عصاره آبی این گیاه، میزان جذب پروتئین‌های هیستونی کاهش مختصری را نشان داد (نمودار 1).

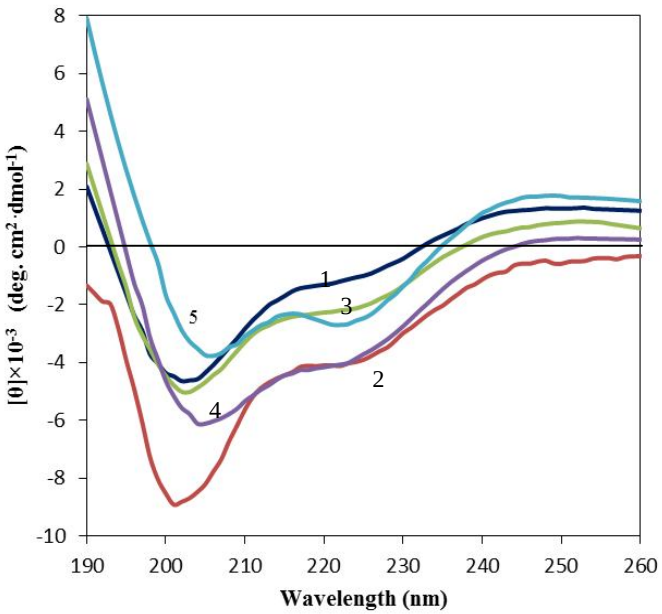
در بخش دوم، اثر عصاره‌های آبی افدرا، پونه و اروانه بر ساختار دوم پروتئین‌های هیستونی مورد بررسی قرار گرفت. پروتئین‌های هیستونی مرکزی به‌دلیل داشتن ساختارهای آلفا هلیکسی، دارای دو پیک منفی در ناحیه 208 و 220 نانومتر منطبق بر نواحی که در مارپیچ آلفا حضور دارند، می‌باشد. H1 دارای یک دومین گلبولار، یک دومین C ترمینال و یک دومین N ترمینال می‌باشد. از آن جایی که دومین C ترمینال H1 دارای آمینواسید پرولین می‌باشد که بین آمینواسیدهای باردار لیزین و آرژنین قرار گرفته است، عمدتاً در محلول‌هایی با قدرت یونی پایین، ساختار راندوم کویل و پیچه نامنظم به خود می‌گیرد. امّا ساختار دوم H1 در بافرهایی که پایدارکننده پیوندهای هیدروژنی هستند، به‌دلیل حضور آمینواسید آلانین و لیزین در دومین C ترمینال H1، ساختار مارپیچ آلفا دارد. با توجه به اینکه بافر مورد استفاده در آزمایش، بافر 10میلی‌مولار تریس بود، H1 (در غیاب دارو) دارای ساختار راندوم کویل و پیچه نامنظم بود. از آن جایی که پروتئین‌های هیستونی مورد استفاده در این آزمایش شامل هیستون‌های مرکزی (H2A، H2B، H3، H4) و هیستون H1 بود، به‌همین دلیل طیف CD پروتئین‌های هیستونی در غیاب دارو دارای دو انحنای منفی در 203 و 220 نانومتر بود.



نمودار 1- تغییرات جذب پروتئین‌های هیستونی در طول موج 210 نانومتر در حضور غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی افدرا، پونه و اروانه

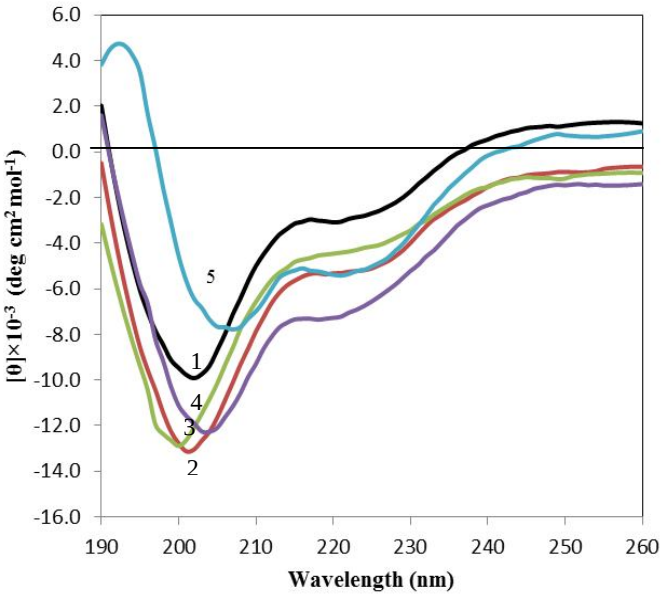
در حضور غلظت‌های مختلف عصاره آبی افدرا، طیف CD پروتئین‌های هیستونی تغییر کرد. در غلظت 20?g/ml از عصاره آبی افدرا، میزان بیضی‌واری مولی پروتئین‌های هیستونی بدون هیچ‌گونه جابه‌جایی در موقعیت پیک‌ها، کاهش پیدا کرد. با افزایش غلظت عصاره به 40?g/ml، میزان بیضی‌واری مولی افزایش یافت؛ اما موقعیت پیک‌ها تغییر نکرد. در حضور غلظت 40?g/ml از عصاره افدرا، میزان بیضی‌واری مولی کاهش یافت و جابه‌جایی در موقعیت پیک‌ها به سمت طول موج‌های بالاتر مشاهده شد. در غلظت حداکثر عصاره آبی افدرا (60?g/ml)، موقعیت پیک منفی 203 نانومتر به طول موج 208 نانومتر جابه‌جا شد (جابه‌جایی قرمز).

همانطور که در نمودار 3 ملاحظه می‌شود، در حضور غلظت 10 ?g/ml از عصاره آبی پونه، میزان بیضی‌واری مولی پروتئین‌های هیستونی بدون هیچ‌گونه جابه‌جایی در موقعیت پیک‌ها، کاهش پیدا کرد. با افزایش غلظت عصاره، میزان بیضی‌واری مولی همراه با تغییر در موقعیت پیک منفی 203 نانومتر افزایش پیدا کرد تا در غلظت حداکثر عصاره آبی پونه (60 ?g/ml)، افزایش 50درصد در میزان بیضی‌واری مولی همراه با تغییر در جابه‌جایی موقعیت پیک منفی 203 نانومتر به طول موج 210 نانومتر مشاهده شد. میزان تغییرات مشاهده‌شده برای بیضی‌واری مولی در پیک 203 نانومتر بیشتر از تغییرات مشاهده‌شده برای پیک 220 نانومتر بود.

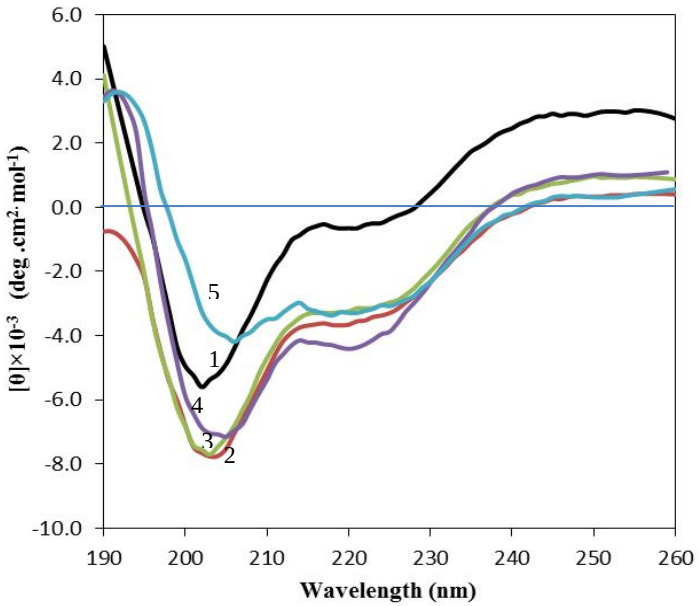


نمودار 2- نمودار دورنگ نمایی حلقوی پروتئین‌های هیستونی در غیاب و حضور غلظت‌های مختلف عصاره آبی افدرا. شماره‌های 1 تا 5 به‌ترتیب غلظت‌های 0، 10، 20، 40 و 60?g/ml عصاره افدرا می‌باشد.

همانطور که در شکل 4 ملاحظه می‌شود، کاهش 30درصد در میزان بیضی‌واری مولی پروتئین‌های هیستونی در غلظت 10?g/ml از عصاره آبی اروانه بدون تغییر در موقعیت پیک‌ها مشاهده می‌شود. با افزایش غلظت عصاره تا 60?g/ml، افزایش جزئی در میزان بیضی‌واری مولی همراه با تغییر در موقعیت پیک منفی 203 نانومتر مشاهده شد. اما در غلظت 100?g/ml از عصاره آبی پونه میزان بیضی‌واری مولی به‌میزان قابل ملاحظه‌ای افزایش پیدا کرد و موقعیت پیک منفی 203 نانومتر به طول موج 207 نانومتر جابه‌جا شد.



نمودار 3- نمودار دورنگ‌نمایی حلقوی پروتئین‌های هیستونی در غیاب و حضور غلظت‌های مختلف عصاره آبی پونه. شماره‌های 1 تا 5 به‌ترتیب غلظت‌های 0، 10، 20، 40 و 60?g/ml عصاره پونه می‌باشد.



نمودار 4- نمودار دورنگ‌نمایی حلقوی پروتئین‌های هیستونی در غیاب و حضور غلظت‌های مختلف عصاره آبی اروانه. شماره‌های 1 تا 5 به‌ترتیب غلظت‌های 0، 10، 20، 40 و 60?g/ml عصاره اروانه می‌باشد.

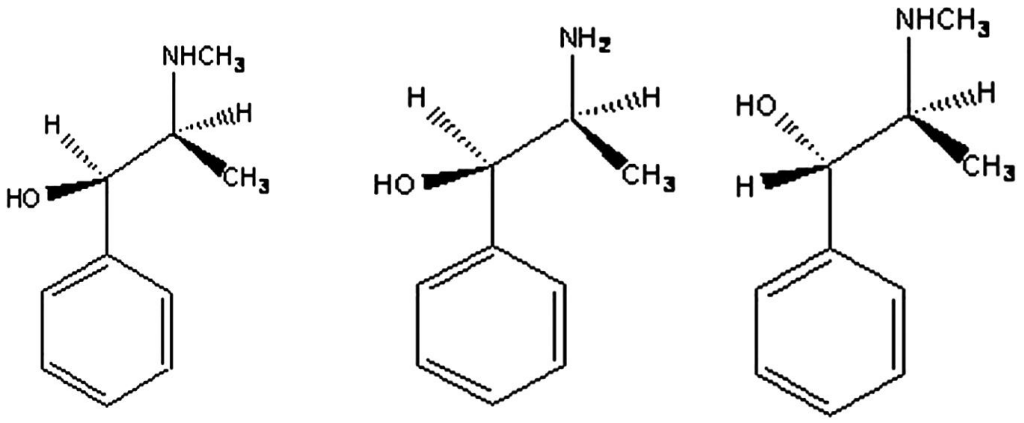
بحث

از گذشته‌های دور، استفاده از داروهای گیاهی برای بهبود زخم‌ها، تسکین دردها و مبارزه با بیماری‌های میکروبی و ویروسی بین مردم رواج داشته است (18). امروزه نیز یکی از اصلی‌ترین منابع مورد استفاده برای داروسازان در طراحی و ساخت داروهای مؤثّر، استفاده از مواد مؤثّر موجود در داروهای گیاهی است. به عنوان مثال، داروی اتوپوساید که از جمله قوی‌ترین داروهای شیمی‌درمانی است، در سال 1993 از Podophyllotoxin (نوعی گونه زرشک که در هیمالیا می‌روید) سنتز شد. داروهایی مانند: وینورلبین و وینکریستین که برای درمان طیف زیادی از سرطان‌ها استفاده می‌شود نیز مشتقّی از وینکا آلکالوئیدهای گیاهی است (19-21).

بررسی‌های محققین در سال‌های اخیر نشان داده که کروماتین یکی از اهداف داروهای گیاهی بعد از ورود به درون سلول باشد و از اصلی‌ترین اهداف مولکول‌های دارویی در میانکنش با کروماتین، هدف قرار دادن بخش پروتئینی آن و اثر بر پروتئین‌های هیستونی است (22، 23). پروتئین‌های هیستونی، ازجمله مهم‌ترین پروتئین‌های موجود در سلول‌های یوکاریوتی هستند که نقش اساسی در شکل‌گیری نوکلئوزوم دارند. نوکلئوزوم اولین سطح سازماندهی و تنظیمی ژنوم در یوکاریوت‌هاست که در آن DNA با بار منفی حول اکتامری از هیستون‌های مرکزی و H1 پیچیده می‌شود (24).

اشرفی و همکاران در سال 2005، برای اولین‌بار گزارش کردند که کارتنوئیدهای استخراج‌شده از زعفران، دارای تمایل اتصالی به پروتئین‌های هیستون H1 می‌باشند (6). Hu و همکاران در سال 2009 گزارش کردند، کورکومین که ماده مؤثّر زردچوبه است، قادر است میزان استیلاسیون پروتئین‌های هیستونی را در تومورهای سلول‌های خونی (HL60، K562 ، Raji) افزایش داده و از این طریق فعالیت ضدّ توموری خود را اعمال کند (25). Saha و Khuda-Bukhsh در سال 2014 نشان دادند که بربرین، ماده مؤثّر موجود در ریشه زرشک، قادر است با هیستون داستیلازهای 1 و 2 میانکنش داده و خاصیت مهارکنندگی تومور را در سلول‌های هلا موجب شود (26). هوشیار و همکاران در سال 2012، به بررسی اثر ضدّ توموری 12 گیاه بومی منطقه بیرجند که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی متفاوت بودند، پرداختند. در مطالعه آنها، گیاهان با توجه به خصوصیات آنتی‌اکسیدانی به دو گروه A قوی و B متوسط و C ضعیف تقسیم‌بندی شدند. بررسی آنها بر روی سلول‌های آدنوکارسینومای سینه (MCF-7) و سلول‌های اپی‌تلیال نرمال سینه انسان (MCF10A)، بیانگر اثر مهاری قوی‌تر گیاهان دارویی گروه A بر میزان زنده‌ماندن سلول‌های MCF-7 بود. همچنین ارتباط مستقیم بین میزان فعالیت آنتی‌آکسیدانی و خصوصیات ضدّ توموری در این مطالعه نشان داده شد (8).

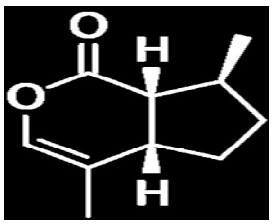
در مطالعه حاضر، از گیاهان افدرا، پونه و اروانه که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند، استفاده شد و میانکنش آنها با پروتئین‌های هیستونی مورد بررسی قرار گرفت. بررسی‌های اسپکتروسکوپی جذبی بیانگر میانکنش قوی‌تر افدرا با پروتئین‌های هیستونی است. در غلظت‌های پایین مولکول‌های افدرا به درون ساختار پروتئین‌های هیستونی نفوذ کرده و سبب بازشدن ساختار پروتئین‌های هیستونی و افزایش در میزان جذب می‌شود؛ اما در غلظت حداکثر عصاره آبی افدرا، تمام مولکول‌های مؤثّر افدرا سطح پروتئین‌های هیستونی را می‌پوشاند و سبب کاهش در میزان جذب می‌شود. از آن جایی که بررسی‌های اخیر محققین نشان داده است که خصوصیات درمانی و ویژگی‌های ضدّ توموری افدرا به‌دلیل وجود آلکالوئیدهای افدرین (افدرین، نورافدرین و پسودو افدرین)(شکل 1) است (12)، به نظر می‌رسد در میانکنش عصاره آبی افدرا با پروتئین‌های هیستونی، آلکالوئیدهای ذکرشده، به‌دلیل ساختار حلقوی و زنجیره جانبی متصل به حلقه که دارای گروه‌های هیدروکسیل و آمین است، می‌تواند با آمینواسیدهای انتهای C ترمینال و N ترمینال پروتئین‌های هیستونی بند و بست ایجاد کند و سبب بازشدن



شکل 1- ساختار آلکالوئید های افدرین (12)

ساختار پروتئین‌های هیستونی شود.

از سوی دیگر در مورد عصاره آبی پونه، از آن جایی که ماده مؤثّر عصاره آبی پونه، ترکیب نپتالاکتون (شکل 2) می‌باشد که دارای ساختار حلقوی و گروه‌های اکسیژن متصل به حلقه است (14)، به خوبی می‌تواند به ساختار پروتئین‌های هسیتونی نفوذ کرده و سبب باز شدن ساختار آن و افزایش در میزان جذب شود. در غلظت‌های بالا، مولکول‌های مؤثّر گفته‌شده، سطح کروموفورهای هیستونی را پوشانیده و سبب کاهش در میزان جذب آنها می‌شوند.



شکل 2- ساختار نپتالاکتون

نتایج حاصل از طیف‌سنجی دورنگ‌نمایی نیز بیانگر این است که در حضور عصاره‌های آبی افدرا، پونه، اروانه ساختارهای دوم پروتئین‌های هیستونی دستخوش تغییر می‌شوند؛ به‌گونه‌ای که کاهش در ساختارهای پیچه نامنظم و افزایش در ساختارهای مارپیچ آلفا در پروتئین‌های هیستونی در حضور عصاره‌های آبی فوق مشاهده می‌شود که میزان اثر مشاهده‌شده برای افدرا بیشتر از پونه و اروانه است و در غلظت حداکثر افدرا، ساختار غالب، ساختار مارپیچ آلفاست.

نتیجه‌گیری

همانطور که مطالعه حاضر نشان می دهد، افدارا که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به اروانه و پونه است، میانکنش قوی‌تری با پروتئین‌های هیستونی ایجاد می کند. بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که رابطه مستقیم بین خاصیت آنتی اکسیدانی و میانکنش با پروتئین های هیستونی وجود دارد. هر چند بررسی دقیق تر این نتیجه گیری به بررسی های بیشتری مانند میانکنش با انواع مختلف پروتئین های هیستونی به صورت جداگانه، تعیین تعداد جایگاه های اتصال، ثابت اتصال عصاره به پروتئین های هیستونی، تخلیص و جداسازی ماده مؤثر عصاره که با پروتئین های هیستونی میانکنش می کند نیاز دارد. با توجه به اینکه پروتئین‌های هیستونی یکی از اصلی‌ترین اهداف ضدّ توموری برای داروهای ضدّ سرطان هستند، با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر، جداسازی ماده مؤثّر موجود در عصاره آبی افدرا، پونه و اروانه، می‌تواند دریچه جدیدی را برای طراحی مشتقّات دارویی ضدّ سرطان با کارآیی بالا و عوارض جانبی کمتر ایجاد کند.

منابع:

1- Teiten MH, Mack F, Debbab A, Aly AH, Dicato M, Proksch P, et al. Anticancer effect of altersolanol A, a metabolite produced by the endophytic fungus Stemphylium globuliferum, mediated by its pro-apoptotic and anti-invasive potential via the inhibition of NF-κB activity. Bioorg Med Chem. 2013; 21(13): 3850-8.

2- Thakur VS, Deb G, Babcook MA, Gupta S. Plant phytochemicals as epigenetic modulators: role in cancer chemoprevention. AAPS J. 2014; 16(1): 151-63.

3- Gerhauser C. Cancer chemoprevention and nutriepigenetics: state of the art and future challenges. Top Curr Chem. 2013; 329: 73-132.

4- Kato K, Long NK, Makita H, Toida M, Yamashita T, Hatakeyama D, et al. Effects of green tea polyphenol on methylation status of RECK gene and cancer cell invasion in oral squamous cell carcinoma cells. Br J Cancer. 2008; 99(4): 647-54.

5- Reuter S, Gupta SC, Park B, Goel A, Aggarwal BB. Epigenetic changes induced by curcumin and other natural compounds. Genes Nutr. 2011; 6(2): 93-108.

6- Ashrafi M, Bathaie SZ, Taghikhani M, Moosavi-Movahedi AA. The effect of carotenoids obtained from saffron on histone H1 structure and H1–DNA interaction. Int J Biol Macromol. 2005; 36(4): 246-52.

7- Papoutsis AJ, Lamore SD, Wondrak GT, Selmin OI, Romagnolo DF. Resveratrol prevents epigenetic silencing of BRCA-1 by the aromatic hydrocarbon receptor in human breast cancer cells. J Nutr. 2010; 140(9): 1607-14.

8- Hoshyar R, Mostafavinia SE, Zarban A, Hassanpour M, Partovfari M, Taheri A, et al. Correlation of anticancer effects of 12 Iranian herbs on human breast adenocarcinoma cells with antioxidant properties. Free Radicals and Antioxidants. 2015; 5(2): 65-73.

9- Powers ME. Ephedra and its application to sport performance: another concern for the athletic trainer? J Athl Train. 2001; 36(4): 420-4.

10- Singh D, Singh D, Choi SM, Han SS. Enhanced proliferation and growth of human lung epithelial cells on gelatin microparticle loaded with Ephedra extracts. J Nanomater. 2013; 2013: ID 909120.

11- Lee M, Cheng B, Che C-T, Hsieh D. Cytotoxicity assessment of Ma-huang (Ephedra) under different conditions of preparation. Toxicol Sci. 2000; 56(2): 424-30.

12- Ma G, Bavadekar SA, Davis YM, Lalchandani SG, Nagmani R, Schaneberg BT, et al. Pharmacological effects of ephedrine alkaloids on human alpha(1)- and alpha(2)-adrenergic receptor subtypes. J Pharmacol Exp Ther. 2007; 322(1): 214-21.

13- Mellati H, Kafi M, Mellati F, Najdafi F. A review on botany and ethnobotany of NepetabracteataBenth. grown in KhorasanRazavi province. J Herbal Drugs. 2012;3(4):223-32.

14- Adiguzel A, Ozer H, Sokmen M, Gulluce M, Sokmen A, Kilic H, et al. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of Nepeta cataria. Pol J Microbiol. 2009; 58(1): 69-76.

15- Morteza-Semnani K, Ahadi H, Hashemi Z. The genus Hymenocrater: a comprehensive review. Pharm Biol. 2016; 54(12): 3156-63.

16- Akramian M, Ebrahimi SN, Joharchi MR. Essential oil composition of Hymenocrater platystegius Rech. f. from Iran. J Essent Oil Bear Pl. 2008; 11(2): 199-202.

17- Emrani S, Zhiani R, Dolatabadi S. Identification of Chemical Compositions and Protective Effects of Essential Oil of Arvaneh (Hymenocrater platystegius) on Oxidative Stress Induced by H2O2 in PC12 Cells. Shefaye Khatam. 2015;3(3):27-36. [Persian]

18- Hosseinzadeh S, Jafarikukhdan A, Hosseini A, Armand R. The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of Thymus Vulgaris. Int J Clin Med. 2015; 6(9): 635-42.

19- Montecucco A, Zanetta F, Biamonti G. Molecular mechanisms of etoposide. EXCLI J. 2015; 14: 95-108.

20- Mhaidat NM, Alzoubi KH, Khabour OF, Alawneh KZ, Raffee LA, Alsatari ES, et al. Assessment of genotoxicity of vincristine, vinblastine and vinorelbine in human cultured lymphocytes: a comparative study. Balkan J Med Genet. 2016; 19(1): 13-20.

21- Douer D. Efficacy and Safety of Vincristine Sulfate Liposome Injection in the Treatment of Adult Acute Lymphocytic Leukemia. Oncologist. 2016; 21(7): 840-7.

22- Majumder P, Pradhan SK, Devi PG, Pal S, Dasgupta D. Chromatin as a target for the DNA-binding anticancer drugs. In: Kundu TK, Bittman R, Dasgupta D, Engelhardt H, Flohe L, Herrmann H, et al (eds). Chromatin and Disease. Springer Netherlands; 2007. pp: 145-92.

23- Bayo J, Dalvi MP, Martinez ED. Successful strategies in the discovery of small-molecule epigenetic modulators with anticancer potential. Future Med Chem. 2015; 7(16): 2243-61.

24- Nocetti N, Whitehouse I. Nucleosome repositioning underlies dynamic gene expression. Genes Dev. 2016; 30(6): 660-72.

25- Hu J, Wang Y, Chen Y. Curcumin-induced histone acetylation in malignant hematologic cells. J Huazhong Univ Sci Technol. 2009; 29(1): 25-8.

26- Saha SK, Khuda-Bukhsh AR. Berberine alters epigenetic modifications, disrupts microtubule network, and modulates HPV-18 E6–E7 oncoproteins by targeting p53 in cervical cancer cell HeLa: A mechanistic study including molecular docking. Eur J Pharmacol. 2014; 744: 132-46.