Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Investigating the effect of Ciprofloxacin on rhodopsin protein structure using the molecular docking calculation method

Mahdieh Sadeghpour [1*], Mounir Shalbafan [2], Khadijeh Alviri [3]

[1] Dept of Chemistry, Qazvin Branch, Islamic Azad University, Qazvin, Iran
[2] Dept of Chemistry, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
[3] Dept of Pharmacology, School of Pharmacy, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: 06 March 2023
Revised: 19 June 2023
Accepted: 04 July 2023
Published Online:14 October 2023

**** Correspondence to:***
Mahdieh Sadeghpour
Dept of Chemistry, Qazvin Branch, Islamic Azad University, Qazvin, Iran
Email:
mahdieh.sadeghpour@qiau.ac.ir

A B S T R A C T

Introduction: Ciprofloxacin antibiotic is used in the treatment of retinal toxicity or retinopathy. The present study aimed to assess the effect of ciprofloxacin on rhodopsin protein structure and the stability or instability of this protein in the presence of this medicine. The type of drug and protein binding is effective in the elimination or interaction of the medicine with the target tissues.

Material & Methods: Thermodynamic components can be obtained in the interactions between rhodopsin protein and ciprofloxacin using docking software. Docking studies were performed by AutoDock 4.2 software. Pymol, Ligplot, and VMD graphic software packeages were used to observe the docking performed.

Findings: Based on the results obtained from docking studies, the most important bond involved in the binding of ciprofloxacin drug with rhodopsin protein is hydrophobic bonds and hydrogen bonds. The estimate of Gibbs free energies (kcal/mol) for the best docking model is equal to -6.5. This model with the lowest level of binding energy has the greatest tendency to bind to rhodopsin amino acids, and negative values of ΔG° are indicative of a spontaneous process.

Discussion & Conclusion: Based on the docking results, the A position of the rhodopsin protein is a suitable place for ciprofloxacin to bind to this protein, and the complex of ciprofloxacin with the rhodopsin protein can cause rhodopsin to regenerate so that it can start the process of seeing normally. In fact, the strong hydrogen bond between the nitrogen atom in the ciprofloxacin structure and the amino acid arginine plays a key role in stabilizing the complex.

Keywords: Binding constant, Binding free energy, Ciprofloxacin, Molecular docking, Rhodopsin

➢ **How to cite this paper**
Sadeghpour M, Shalbafan M, Alviri Kh. Investigating the effect of Ciprofloxacin on rhodopsin protein structure using the molecular docking calculation method. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2023;31(4): 79-89.

© The Author(s)
Publisher: Ilam University of Medical Sciences

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام
P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸
E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

بررسی تأثیر داروی سیپروفلوکساسین بر ساختار پروتئین رودوپسین با استفاده از روش محاسباتی داکینگ مولکولی

مهدیه صادق‌پور [۱*]، منیر شالبافان [۲]، خدیجه علویری [۳]

[۱] گروه شیمی، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران
[۲] گروه شیمی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی، قزوین، ایران
[۳] گروه فارماکولوژی، دانشکدهٔ داروسازی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۵
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۳
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۷/۲۲

نویسنده مسئول:
مهدیه صادق‌پور
گروه شیمی، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران
Email:
mahdieh.sadeghpour@qiau.ac.ir

چکیده

مقدمه: آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین در درمان سمیت شبکیهٔ چشم یا رتینوپاتی استفاده می‌شود. در این مقاله، تأثیر داروی سیپروفلوکساسین بر ساختار پروتئین رودوپسین و پایداری و یا ناپایداری این پروتئین در حضور دارو بررسی می‌گردد. نوع پیوند دارو و پروتئین روی دفع و یا برهم‌کنش دارو با بافت‌های هدف مؤثر است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، با استفاده از نرم‌افزار داکینگ می‌توان به مؤلفه‌های ترمودینامیکی در برهم‌کنش‌های پروتئین رودوپسین با داروی سیپروفلوکساسین دست یافت. مطالعات داکینگ بهوسیلهٔ نرم‌افزار AutoDock vol.4.2 انجام گرفت. به‌منظور مشاهدهٔ داکینگ انجام‌شده، از نرم‌افزارهای گرافیکی Pymol و Ligplot و VMD استفاده شد.

یافته‌های پژوهش: بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از مطالعات داکینگ، مهم‌ترین پیوند درگیر در اتصال داروی سیپروفلوکساسین با پروتئین رودوپسین، اتصالات هیدروفوب و پیوند هیدروژنی است. برآورد انرژی‌های آزاد گیبس (kcal/mol) برای بهترین مدل داکینگ برابر با ۶/۵- است. این مدل با پایین‌ترین سطح انرژی اتصال، بیشترین تمایل برای اتصال به آمینواسیدهای رودوپسین دارد و مقادیر منفی ΔG^{o} نشان‌دهندهٔ یک فرایند خودبه‌خودی است.

بحث و نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از داکینگ، جایگاه A پروتئین رودوپسین جایگاه مناسبی برای اتصال سیپروفلوکساسین به این پروتئین است و کمپلکس سیپروفلوکساسین با پروتئین رودوپسین می‌تواند سبب بازسازی رودوپسین شود تا بتواند فرایند دیدن را به‌طور معمول آغاز کند. درواقع، پیوند هیدروژنی قوی میان اتم نیتروژن موجود در ساختار سیپروفلوکساسین با اسیدآمینهٔ آرژنین، نقش مهمی در تثبیت و پایدارسازی کمپلکس ایفا می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: رودوپسین، داکینگ، سیپروفلوکساسین، ثابت اتصال، انرژی آزاد اتصال

استناد: صادق‌پور ، مهدیه؛ شالبافان، منیر؛ علویری ، خدیجه. بررسی تأثیر داروی سیپروفلوکساسین بر ساختار پروتئین رودوپسین با استفاده از روش محاسباتی داکینگ مولکولی. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام، مهر ۱۴۰۲؛۳۱(۴): ۸۹-۷۹.

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

مقدمه

داکینگ مولکولی مطالعهٔ چگونگی تطبیق دو یا چند ساختار مولکولی (مانند دارو و آنزیم یا پروتئین) با یکدیگر است. در یک تعریف ساده، داکینگ یک فن مدل‌سازی مولکولی است که برای پیش‌بینی نحوهٔ تعامل مولکول پروتئین با مولکول‌های کوچک لیگاندها استفاده می‌شود. داکینگ مولکولی ابزاری کلیدی در زیست‌شناسی مولکولی ساختاری و طراحی دارویی به کمک کامپیوتر است. هدف از اتصال لیگاند-پروتئین، پیش‌بینی حالت(های) اتصال غالب یک لیگاند با پروتئینی با ساختار سه‌بعدی شناخته‌شده است (۵-۱). هدف از اتصال پروتئین-لیگاند، یافتن اتصال بهینه میان یک مولکول کوچک لیگاند و یک پروتئین است و به‌طورکلی، در فرایند کشف و توسعهٔ دارو، با هدف یافتن یک نامزد دارویی بالقوه استفاده می‌گردد (۶). مدل‌سازی ماکرومولکولی توسط مطالعات داکینگ، جزئیات ممکن را از تعامل دارو-گیرنده ارائه می‌کند و یک رویکرد منطقی جدیدی برای طراحی دارو ایجاد می‌نماید که در آن، ساختار دارو بر اساس تناسب آن با ساختارهای سه‌بعدی محل گیرنده طراحی می‌شود (۷).

اتصال مولکولی می‌تواند امکان‌پذیری هر واکنش بیوشیمیایی را همان‌طور که پیش از بخش آزمایشی هر تحقیق انجام می-گردد، نشان دهد. مناطقی وجود دارد که اتصال مولکولی یافته‌ها را متحول کرده است. به‌طور خاص، تعامل میان مولکول‌های کوچک (لیگاند) و پروتئین هدف (ممکن است یک آنزیم باشد) ممکن است فعال شدن یا مهار آنزیم را پیش‌بینی کند. احتمال دارد، چنین اطلاعاتی مادهٔ خامی برای طراحی منطقی دارو باشد. اتصال مولکولی می‌تواند جهت‌گیری بهینهٔ لیگاند را روی هدف خود پیش‌بینی نماید و می‌تواند حالت‌های مختلف اتصال لیگاند را در شیار مولکول هدف پیش‌بینی کند. این امر می‌تواند برای توسعهٔ داروهای قوی‌تر، انتخابی و کارآمدتر استفاده شود (۱۰-۸).

برهم‌کنش پروتئین‌ها با لیگاندهای مختلف، نقشی مهمی در فرایندهای زیستی بر عهده دارد. مهم‌ترین کاربرد پیش‌بینی برهم‌کنش پروتئین-لیگاند در طراحی داروهای جدید بر مبنای ساختار است. در روش‌های آزمایشگاهی، مطالعهٔ برهم‌کنش-های دارویی با استفاده از روش‌های بیوفیزیکی مانند کالریمتری و اسپکتروسکوپی صورت می‌گیرد. پیشرفت فناوری و بهبود قدرت کامپیوترهای پیشرفته این امکان را فراهم کرده است که برهم‌کنش پروتئین و دارو با استفاده از کامپیوتر نیز مطالعه گردد. درنتیجهٔ استفاده از روش‌های کامپیوتری می‌توان پیش از انجام آزمایش‌های تجربی، برهم‌کنش داروها را با پروتئین بررسی کرد و ترکیبات دارویی را انتخاب نمود که بهتر به مولکول‌های هدف متصل می‌شوند؛ سپس می‌توان این ترکیبات را در آزمایشگاه بررسی کرد و یا آن‌ها را روی موجودات زنده آزمایش نمود و تأثیر آن‌ها را روی موجودات بررسی کرد (۱۱).

در این مقاله، تأثیر سیپروفلوکساسین بر ساختار پروتئین رودوپسین و پایداری و یا ناپایداری این پروتئین در حضور دارو بررسی می‌شود.

مطالعهٔ اندکی روی پروتئین رودوپسین با استفاده از داکینگ مولکولی صورت‌گرفته است. درواقع، مدل ساختاری رودوپسین این امکان را فراهم می‌آورد که از این ماده به‌عنوان یک مدل ارزشمند در طراحی دارویی استفاده گردد (۱۲-۱۳). در سال۲۰۰۸، برهم‌کنش گیرنده‌های آدنوزین و پروتئین رودوپسین با استفاده از داکینگ بررسی شد (۱۴). در سال ۲۰۱۲ نیز، نحوهٔ اتصال پروتئین رودوپسین با پروتئین ارستین و آنتوسیانین، در درمان بیماری شب‌کوری بررسی گردید. آنتوسیانین‌ها ترکیباتی هستند که در میوه‌های با رنگ قرمز یافت می‌شوند و استفاده از آن‌ها سبب افزایش بینایی به‌ویژه در شب می‌گردد (۱۷-۱۵). در سال ۲۰۱۸ نیز، تأثیر مداخلات دارویی روی بیماری پیگمنتوزا و پروتئین رودوپسین با استفاده از داکینگ مولکولی صورت گرفت. در این بیماری، اعصاب چشمی از بین می‌روند و شخص دچار کوری می‌شود (۱۹-۱۸).

در این مقاله، با استفاده از نرم‌افزارهای شبیه‌سازی و داکینگ مولکولی می‌توان به مؤلفه‌های ترمودینامیکی در برهم‌کنش‌های پروتئین رودوپسین با داروی سیپروفلوکساسین

دست یافت. پیش‌بینی جایگاه‌های اتصال پروتئین رودوپسین و داروی سیپروفلوکساسین نیز توسط روش داکینگ، با بهره‌گیری از انرژی آزاد صورت می‌گیرد (۲۰).

شبکیهٔ چشم حاوی ماده‌ای شیمیایی به نام رودوپسین است. رودوپسین یک رنگ‌دانهٔ بینایی است که در سلول‌های شبکیه وجود دارد و نور را به پالس‌های الکتریکی تبدیل می‌کند و پالس‌های الکتریکی در مغز، به‌صورت تصاویر تفسیر می‌گردند. عصب‌های شبکیه در پشت چشم به یکدیگر می‌پیوندند و عصب بینایی چشم را تشکیل می‌دهند؛ سپس پالس‌های الکتریکی از طریق عصب بینایی به مغز فرستاده می‌شوند (۲۱).

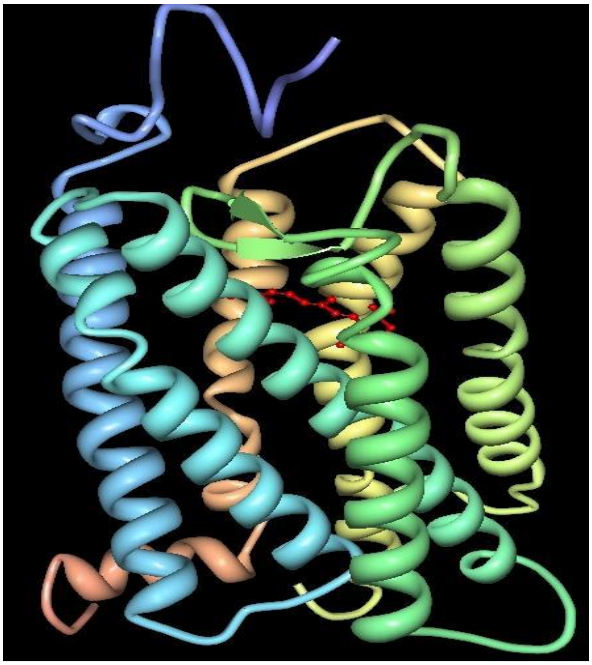
یکی از نگرانی‌های بسیار جدی در هنگام استفاده از داروهای مختلف برای بیماری‌های چشمی، عوارض این داروها و غیرقابل درمان بودن سمیت ناشی از آن‌ها است. سیپروفلوکساسین یکی از داروهای مورداستفاده در بیماری سمیت شبکیهٔ چشم است. سیپروفلوکساسین از خانوادهٔ آنتی‌بیوتیک‌های کینولینی است که در درمان بعضی از عفونت‌ها ازجمله عفونت‌های تنفسی، ادراری، پروستات، گوارشی، مفصلی و استخوانی و برخی از عفونت‌های تناسلی کاربرد دارد. این دارو به‌صورت قرص خوراکی، قطرهٔ چشمی، ویال و محلول مصرف می‌شود. آنتی‌بیوتیک‌های متعلق به این کلاس دارویی، در غشای سلولی باکتری‌ها پخش می‌گردند و مانع سنتز پروتئین در آن‌ها می‌شوند و به این ترتیب، باکتری‌ها را از بین می‌برند. از عوارض مصرف این دارو افزایش حساسیت چشم‌ها به نور، نسبت به حالت عادی است؛ بنابراین، در طول مدت مصرف این دارو باید از قرار گرفتن طولانی در معرض تابش نور مستقیم خورشید پرهیز شود.

در این مقاله با استفاده از روش داکینگ مولکولی، خطر ابتلا به سمیت شبکیهٔ چشم در مواجهه با قطرهٔ چشمی سیپروفلوکساسین بررسی می‌گردد. بررسی تغییرات در ساختار پروتئین رودوپسین با استفاده از روش داکینگ مولکولی می‌تواند نتایج چشمگیری بر میزان یا اثرپذیری عوارض داروی سیپروفلوکساسین بر روی چشم داشته باشد.

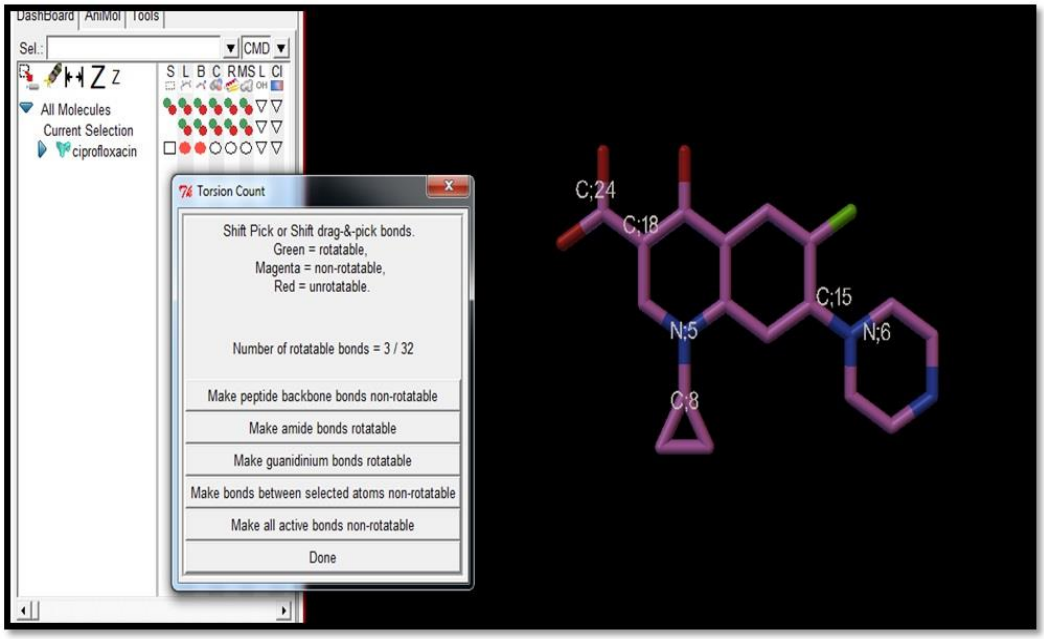
مواد و روش‌ها

پیش‌بینی برهم‌کنش‌های اتصال مجتمع‌ها: فعل و انفعالات اتصال مجتمع‌ها با AutoDockTools پیش‌بینی شد. AutoDock vol.4.0 یکی از شناخته‌شده‌ترین برنامه‌های طراحی دارویی منطقی مبتنی بر ساختار است که فعل و انفعالات پروتئین- لیگاند و تعاملات پروتئین-پروتئین را پیش‌بینی می‌کند و این دو ابزار اصلی را در حین اجرای داکینگ اجرا می‌نماید: یکیAutoGrid است که نقشه‌های شبکهٔ قرابت اتمی را محاسبه می‌کند و دیگری AutoDock است که مجتمع‌های داکینگ را تولید می‌نماید. مجتمع‌ها بیشتر در رابط نمایشگر مولکولی پایتون PMV vol.1.5.2 تجزیه‌وتحلیل شدند تا فعل و انفعالات پیوندی مانند پیوندهای هیدروژنی، نیروهای واندروالس، برهم‌کنش‌های آب‌گریز و محاسبات انرژی را آشکار کنند (۲۴-۲۲).

آماده کردن لیگاندها و پروتئین رودوپسین برای داکینگ: برای شروع پژوهش، ابتدا ساختار سه‌بعدی پروتئین رودوپسین از بانک داده‌های پروتئین برداشته شد و مولکول‌های ناخواسته توسط نرم‌افزار حذف گردید. در ادامه، برای رسم ساختار سه‌بعدی داروی سیپروفلوکساسین، از نرم‌افزار Hyperchem vol.7 وChem Office 2006 استفاده شد؛ همچنین برای محاسبهٔ بار جزئی بر اتم‌های پروتئین رودوپسین از روشGasteiger-Marsili استفاده گردید و بار جزئی روی اتم‌های داروی سیپروفلوکساسین نیز از روش Kollman به‌دست آمد. برای جستجوی بهترین پیکربندی از روشLamarckian genetic algoritm استفاده شد؛ سپس محاسبهٔ Grid maps با استفاده از AutoGrid صورت گرفت. ابعاد Grid Maps نیز در حدود ۴۰*۴۰*۴۰ آنگستروم با فاصلهٔ ۰/۳۷۵ آنگستروم انتخاب گردید. تعداد genetic algorithm و تعداد بررسی‌ها به‌ترتیب در حدود ۱۰۰ و ۲/۵ میلیون تنظیم شدند. در پایان، بهترین پیکربندی برهم‌کنش انجام‌شده با کم‌ترین مقدار انرژی (G□) انتخاب گردید. به‌منظور مشاهدهٔ داکینگ انجام‌شده، از نرم‌افزارهای گرافیکی Pymol و Ligplot و VMD استفاده شد.



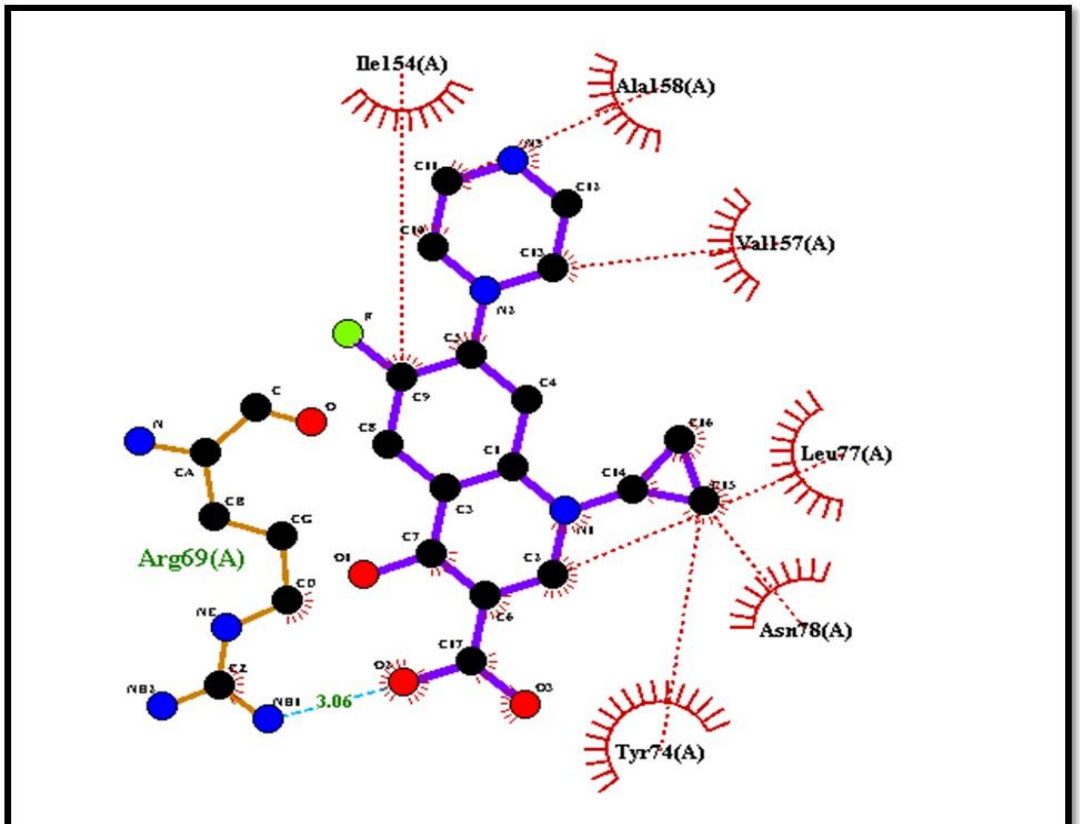
شکل شماره ۱. نمایش ساختار پروتئین رودوپسین به‌صورت نواری با کد pdb 6OY9



شکل شماره ۲. نمایش داروی سیپروفلوکساسین با فرمت pdb در محیط نرم‌افزار داکینگ همراه با سه پیوند قابل چرخش

جدول شمارهٔ ۱. نتایج آنالیز داکینگ سیپروفلوکساسین با پروتئین رودوپسین بر اساس ده الگوی پیشنهادی اول نرم‌افزار

mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode rmsd l.b.	rmsd u.b.
1	-6.5	0.000	0.000
2	-5.7	28.025	30.286
3	-5.7	45.811	49.619
4	-5.7	31.966	34.466
5	-5.6	30.750	33.157
6	-5.5	31.743	33.718
7	-5.5	17.063	17.822
8	-5.5	31.084	33.324
9	-5.5	1.851	2.478
10	-5.4	36.306	38.125



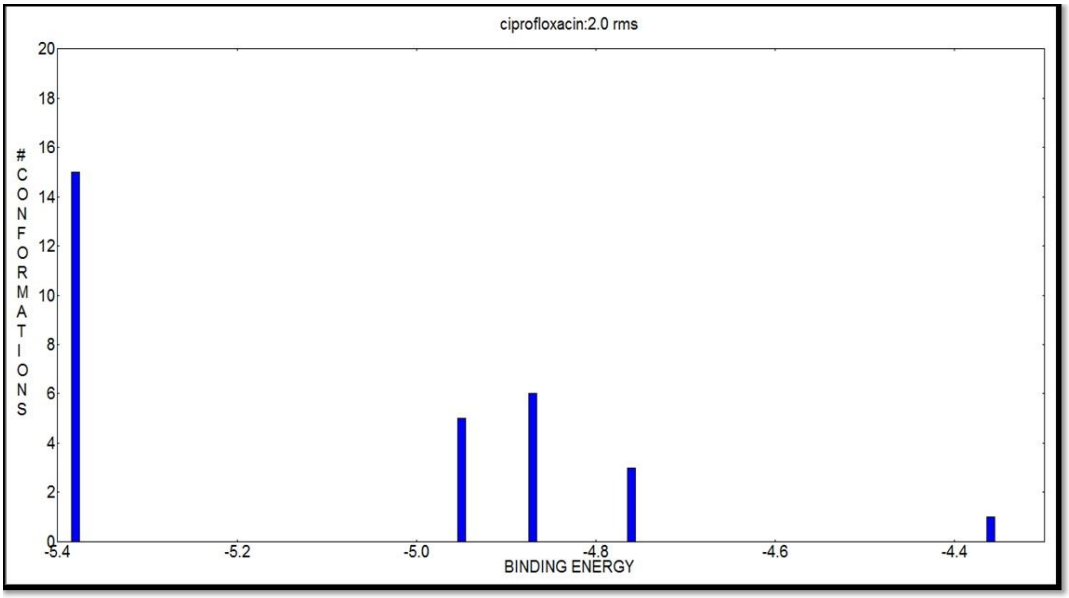
شکل شماره ۳. نمایش برهم‌کنش داروی سیپروفلوکساسین با پروتئین رودوپسین در کمپلکس شمارهٔ یک با استفاده از نرم‌افزار Ligplot

یافته های پژوهش

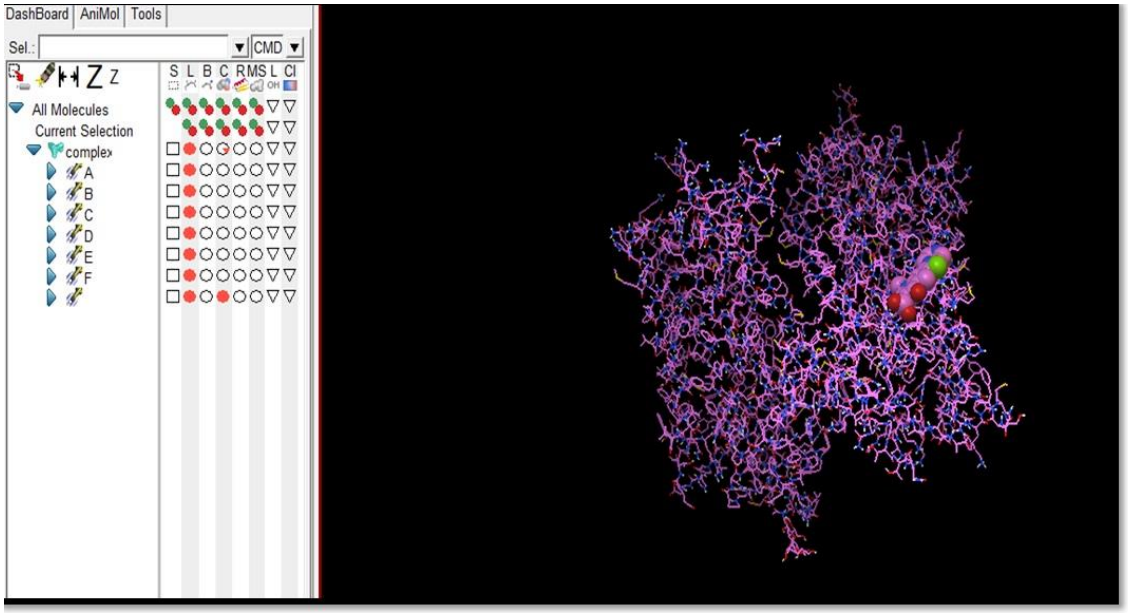
در این روش، برای دستیابی به ترکیبی با خواص فارماکولوژیکی و افزایش فعالیت فارماکولوژیکی داروی سیپروفلوکساسین، صورت‌بندی‌های متفاوت از دارو با گیرندهٔ پروتئین رودوپسین برهم‌کنش داده‌شده است و ساختاری که بهترین برهم‌کنش با گیرنده و کمترین سطح انرژی را داشته است، برای انجام مراحل آزمایشگاهی انتخاب می‌شود. بدین ترتیب می‌توان ساختارهای احتمالی را که برهم‌کنش قوی‌تری با گیرنده دارند، در این مرحله جداسازی کرد.

در کمپلکس ۱ (بهترین مدل)، داروی سیپروفلوکساسین قادر است که از طریق اتم نیتروژن موجود در ساختار خود با اتم اکسیژن آمینواسید آرژنین پیوند هیدروژنی برقرار کند. برآورد انرژی‌های آزاد گیبس (kcal/mol) برای بهترین مدل برابر با ۶/۵- است. مقادیر منفی

ΔG^{o}نشان می‌دهد که تشکیل پیوند هیدروژنی یک فرایند خودبه‌خودی است. همان‌طور که در شکل شمارهٔ ۴ مشخص است، در این نمودارها، ستون‌هایی که ارتفاع بلندتری دارند، احتمال وقوع بیشتری دارند. انرژی پیوند ۵/۳۸- بر اساس اطلاعات نشان داده‌شده در نمودار موردقبول است.



شکل شماره ٤. نتایج صورت‌بندی بر اساس انرژی پیوند داروی سیپروفلوکساسین با پروتئین رودوپسین با استفاده از نرم‌افزار اتوداک



شکل شماره ۵. نمایش کمپلکس داروی سیپروفلوکساسین با پروتئین رودوپسین در نرم‌افزار اتوداک

بحث و نتیجه‌گیری

رودوپسین یک رنگ‌دانه بیولوژیکی است که در سلول‌های گیرندهٔ نور شبکیه، به‌ویژه در سلول‌های میله‌ای یافت می‌شود و نقش مهمی در روند بینایی، به‌ویژه در شرایط کم‌نور دارد. رودوپسین از دو جزء اصلی تشکیل‌شده است: یک پروتئین به نام اپسین و یک مولکول حساس به نور به نام رتینال. هنگامی‌که رودوپسین در معرض نور قرار می‌گیرد، تحت یک واکنش شیمیایی قرار می‌گیرد که در آن شبکیه ساختار خود را تغییر می‌دهد و به فعال شدن سلول گیرندهٔ

نوری و انتقال سیگنال‌های بصری به مغز از طریق عصب بینایی منجر می‌شود. این فرایند برای توانایی ما در درک و پردازش اطلاعات بصری، به‌ویژه در موقعیت‌های نور کم، اساسی است (۲۵).

داکینگ رودوپسین به یک فن مدل‌سازی محاسباتی اشاره دارد که در بیولوژی مولکولی و بیوشیمی، برای مطالعهٔ برهم‌کنش میان پروتئین رودوپسین و سایر مولکول‌ها مانند لیگاندها یا ترکیبات دارویی بالقوه استفاده می‌شود. نرم‌افزار تخصصی داکینگ مولکولی (AutoDock) برای بررسی و شبیه‌سازی فرایند اتصال واقعی به‌کار می‌رود. این برنامه‌ها از روش‌های کامپیوتری، برای پیش‌بینی نحوهٔ اتصال مولکول‌های لیگاند به پروتئین رودوپسین استفاده می‌کنند و عواملی مانند برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی، نیروهای واندروالس و پیوند هیدروژنی را در نظر می‌گیرند. نرم‌افزار داکینگ امتیازی را به هر حالت اتصال اختصاص می‌دهد که نشان‌دهندهٔ قدرت تعامل میان لیگاند و رودوپسین است. نمرات پایین‌تر معمولاً نشان‌دهندهٔ اتصال مطلوب‌تر است (۲۶).

مطالعات داکینگ رودوپسین معمولاً با هدف درک چگونگی تعامل مولکول‌های دیگر مانند لیگاندها یا داروها با محل فعال رودوپسین انجام می‌گردد. اتصال شامل شبیه‌سازی‌های محاسباتی برای پیش‌بینی میل پیوند و نحوهٔ تعامل میان لیگاند و محل فعال پروتئین است. محققان از ابزارها و الگوریتم‌های نرم‌افزاری مختلفی برای انجام مطالعات اتصال مولکولی استفاده می‌کنند. این ابزارها عواملی مانند برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک، پیوند هیدروژنی، نیروهای واندروالس و مانع فضایی را برای پیش‌بینی مطلوب‌ترین جهت اتصال از نظر انرژی لیگاند در محل فعال رودوپسین ارزیابی می‌نمایند. این اطلاعات می‌تواند برای کشف دارو و درک تعاملات رودوپسین با عوامل درمانی بالقوه یا مولکول‌های دیگر ارزشمند باشد (۲۶).

به‌طور خلاصه می‌توان گفت که محل فعال رودوپسین، در درجهٔ اول، شامل تعامل میان شبکیه و اپسین است که منجر به فعال شدن پروتئین در پاسخ به نور جذب‌شده می‌شود. مطالعات داکینگ را می‌توان برای کشف چگونگی تعامل مولکول‌های دیگر با این سایت فعال، کمک به طراحی دارو و درک عملکرد رودوپسین استفاده کرد. هدف در مطالعات داکینگ شناسایی محتمل‌ترین حالت اتصال لیگاند در گیرندهٔ رودوپسین و تخمین میل اتصال است. این اطلاعات می‌تواند در طراحی دارو و درک اساس مولکولی برهم‌کنش‌های پروتئین–لیگاند، به‌ویژه در زمینهٔ تحقیقات بینایی و توسعهٔ درمان‌ها برای شرایط مرتبط، ارزشمند باشد (۲۷). درواقع، انرژی اتصال اندازه‌گیری قدرت برهم‌کنش میان دو مولکول، مانند یک لیگاند (دارو) و یک گیرنده (رودوپسین) است. در زمینهٔ زیست‌شناسی مولکولی و بیوشیمی، انرژی اتصال اغلب برای تعیین کمیت چسبندگی یک لیگاند به گیرندهٔ هدف خود استفاده می‌شود و می‌توان آن را با استفاده از روش‌های محاسباتی و فن‌های تجربی مختلف محاسبه کرد. در مطالعات داکینگ مولکولی که شامل رودوپسین می‌شود، از یک «تابع امتیاز» برای ارزیابی و رتبه‌بندی موقعیت‌های اتصال مختلف یا جهت‌گیری لیگاند در محل اتصال رودوپسین استفاده می‌گردد. تابع امتیاز یک امتیاز عددی را به هر پوز داکینگ اختصاص می‌دهد، با نمرات پایین‌تر که نشان‌دهندهٔ اتصال بهتر یا تعاملات مطلوب‌تر میان لیگاند و گیرنده است (۲۶).

مقادیر منفی ΔG^{o} نشان می‌دهد که این فرایند به‌صورت خودبه‌خودی صورت می‌گیرد و مقدار ثابت اتصال $Ka\ L \bullet mol\text{-}1 \approx 94/113$ است (۲۸). در حالت ایدئال در یک تابع امتیازدهی، بهترین امتیاز مربوط به منفی‌ترین انرژی آزاد گیبس مربوط به اتصال لیگاند و گیرنده است؛ به‌عبارت‌دیگر، هرچه انرژی آزاد گیبس بیشتر باشد، اتصال بهتری میان لیگاند و گیرنده برقرار می‌گردد. انرژی آزاد گیبس مربوط به بهترین حالت صورت‌بندی از لیگاند است که به گیرنده متصل می‌شود (۲۹). یافته‌های به‌دست‌آمده در این مطالعه نشان می‌دهد که پیوندهای درگیر در اتصال داروی سیپروفلوکساسین با پروتئین رودوپسین، از نوع پیوند هیدروژنی و اتصالات آب‌گریز هستند. در میان همهٔ الگوهای بررسی‌شده، بهترین نتایج داکینگ مربوط به الگوی پیشنهادی اول است. درواقع در الگوی اول، منفی‌ترین سطح انرژی

اتصال وجود دارد. در این الگو، بیشترین تمایل به اتصال مولکول سیپروفلوکساسین به آمینواسیدهای موجود در جایگاه اتصال پروتئین رودوپسین وجود دارد. داروی سیپروفلوکساسین قادر است از طریق اتم نیتروژن موجود در ساختار خود با اتم اکسیژن آرژنین پیوند هیدروژنی برقرار کند و با این پیوند هیدروژنی، برهم‌کنش قوی میان داروی سیپروفلوکساسین و پروتئین رودوپسین ایجاد می‌شود. در حقیقت، بیشترین و منفی-ترین انرژی اتصال آزاد تخمین زده‌شده و برهم‌کنش‌های مناسب با آمینواسیدهای اصلی جایگاه فعال، دو عامل مهم در ایجاد بهترین حالت داک‌شده هستند. انرژی پیوندی و انرژی داکینگ محاسبه‌شده از نظر مقداری، مجموعه‌ای از انرژی درون-مولکولی، انرژی آزاد پیچشی و انرژی درونی مولکول سیپروفلوکساسین‌اند. منفی‌ترین انرژی آزاد اتصال نشان می‌دهد که برهم‌کنش‌های مناسب و اتصال‌های محکمی میان سیپروفلوکساسین و آمینواسیدهای اصلی در جایگاه فعال پروتئین رودوپسین ایجادشده است. سیپروفلوکساسین حلقه‌های آلیفاتیک و آروماتیک دارد و به همین علت، دارای بخش‌های آب‌گریز است و توانایی بالایی را در تشکیل برهم‌کنش‌های آب‌گریز با آمینواسیدهای پاکت اتصال دارد.

این نتایج نشان می‌دهد که کمپلکس سیپروفلوکساسین با پروتئین رودوپسین می‌تواند سبب بازسازی رودوپسین شود تا بتواند فرایند دیدن را به‌طور معمول آغاز کند. درواقع، پیوند هیدروژنی قوی میان اتم نیتروژن موجود در ساختار سیپروفلوکساسین با آرژنین، نقش مهمی در تثبیت و پایدارسازی کمپلکس ایفا می‌نماید؛ همچنین سیپروفلوکساسین با چندین برهم‌کنش آب‌گریز با رودوپسین، با انرژی آزاد پیوندی5/6 kcal/mol- تشکیل می‌دهد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از داکینگ مولکولی، جایگاه A پروتئین رودوپسین جایگاه مناسبی برای اتصال سیپروفلوکساسین به این پروتئین است. مؤلفهٔ ترمودینامیکی انرژی آزاد اتصال دارو به پروتئین، با توجه به منفی‌تر بودن مقدار انرژی آزاد اتصال در زیر دومین A نشان می‌دهد که این اتصال پایدارتر است و نقش مهم‌تری را در مطالعهٔ برهم‌کنش داروی سیپروفلوکساسین با پروتئین رودوپسین خواهد داشت (۳۲-۳۰).

نکتهٔ نهایی این است که مسیر طراحی داروها مسیری طولانی و دشوار است و نرم‌افزار داکینگ مولکولی با شناسایی جایگاه-های فعال در ساختار پروتئین‌ها و مکان‌های اتصال دارو به پروتئین می‌تواند مسیر طراحی داروها را کوتاه کند. به همین علت، امروزه با استفاده از نرم‌افزار مسیرهای طراحی داروها کوتاه‌تر شده است؛ همچنین می‌توان در مسیر طراحی و پیش‌بینی عملکرد دارو نرم‌افزار داکینگ را با کارهای آزمایشگاهی هم‌زمان پیش‌برد و نتایج دو روش تئوری و تجربی را با یکدیگر مقایسه کرد.

سپاس‌گزاری

نویسندگان مقاله از حمایت‌های دانشگاه آزاد اسلامی واحد قزوین و واحد علوم پزشکی تشکر و قدردانی می‌کنند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی ندارند.

کد اخلاق

این تحقیق به‌صورت تئوری و با استفاده از نرم‌افزار داکینگ مولکولی صورت گرفته و روی نمونه‌های حیوانی و انسانی کار نشده است. با توجه به جنبهٔ تئوری کار، برای این تحقیق کد اخلاق اخذ نشده است.

References

1. Torres PHM, Sodero ACR, Jofily P, Silva-Jr FP. Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. Int J Mol Sci 2019; 20:4574. doi: 10.3390/ijms20184574.
2. Wang G, Zhu W. Molecular docking for drug discovery and development: a widely used approach but far from perfect. Future Med Chem 2016; 8:1707-1710. doi.org/10.4155/fmc-2016-0143.
3. Sethi A, Khusbhoo J, Sasikala K, Alvala M. Molecular Docking in Modern Drug Discovery: Principles and Recent Applications. Book Published 2019. doi: 10.5772/intechopen.85991.
4. De Ruyck J, Brysbaert G, Blossey R, Lensink M. Molecular docking as a popular tool in drug design, an in-silico travel. Adv Appl Bioinform Chem 2016; 9:1-11. doi: 10.2147/AABC.S1052895.
5. Jakhar R, Dangi M, Khichi A, Chhillar A K. Relevance of molecular docking studies in drug designing. Current Bioinformatics 2020;

15:270-8. doi: 10.2174/1574893615666191219094216.
6. Mares-Sámano S, Garduño-Juárez R. Computational modeling of the interactions of drugs with human serum albumin (HSA). Compute y Sist 2018; 22: 1123-35. doi:10.13053/cys-22-4-3085.
7. Heydargoy MH. Investigation of antiviral drugs with direct effect on RNA polymerases and simulation of their binding to SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase by molecular docking method. Iran J Microbiol 2020; 14: 342-7. doi: 10.30699/ijmm.14.4.342.
8. Collins I, Workman P. New approaches to molecular cancer therapeutics. Nat Chem Biol 2006; 2: 689-700. doi. 10.1038/nchembio840.
9. Wadood A, Ahmed N, Shah L, Ahmad A, Hassan H, Shams S. In-silico drug design: An approach which revolutionarised the drug discovery process. Drug Des Devel 2013; 1:3-7. doi: 10.13172/2054- 4057-1-1-1119.
10. Parsa NZ, Mukherjee AB, Gaidano G, Hauptschein RS, Dallafavera R, Lenoir G. Cytogenetic and molecular analyis of 6q deletions in Burkitt´s lymphoma cell lines. Genes Chromosomes cancer 1994; 9: 13-8. doi: 10.1002/gcc.2870090104.
11. Christensen SH, Roest B, Besselink N, Janssen R, Boymans S, Artens JWM, et al. 5-Fluorouracil treatment induces characteristic T>G mutations in human cancer. Nat Commun 2019; 10: 4571-82. doi: 10.1038/s41467-019-12594-8.
12. Yanamala N, Gardner E, Riciutti A, Klein-Seetharaman J. The Cytoplasmic Rhodopsin-Protein Interface: Potential for Drug Discovery. Curr Drug Targets 2012; 13:3-14. doi: 10.2174/138945012798868461.
13. Chen S, Getter T, Salom D, Wu D, Quetschlich D, Chorev DS, et al. Rhodopsin signaling study could present new opportunities for GPCR drug discovery. Nature 2022:1-7. doi: 10.1038/s41586-022-04547-x.
14. Yuzlenko O, Kieć-Kononowicz K. Molecular modeling of A1 and A2A adenosine receptors: Comparison of rhodopsin- and β2-adrenergic-based homology models through the docking studies. J Comput Chem 2009; 30:14-32. doi: 10.1002/jcc.21001.
15. Kanwal S, Nishat S, Irfan Khan M. Docking of human rhodopsin mutant (Gly90→Asp) with beta-arrestin and cyanidin 3-rutinoside to cure night blindness. Bioinformation 2012; 8:128-33. doi: 10.6026/97320630008128.
16. Sinha A, Brunette AMJ, Fay JF, Schafer CT, Farrens DL. Rhodopsin TM6 can interact with two separate and distinct sites on arrestin: evidence for structural plasticity and multiple docking modes in arrestin-rhodopsin binding. Biochemistry 2014; 53:3294-3307. doi.10.1021/bi401534y.
17. Kataoka C, Sugimoto T, Shigemura S, Katayama K, Tsunoda SP, Inoue K, et al. TAT rhodopsin is an ultraviolet-dependent environmental pH sensor. Biochemistry 2021; 60:899-907. doi: 10.1021/acs.biochem.0c00951.
18. Mattle D, Kuhna B, Aebia J, Bedouchaa M, Kekillib D, Grozingera N, et al. Ligand channel in pharmacologicallystabilized rhodopsin. Proc Natl Acad Sci USA 2018; 115:3640-45. doi: 10.1073/pnas.1718084115.
19. Razzaghi N, Fernandez-Gonzalez P, Mas-Sanchez A, Vila-Julià G, Perez JJ, Garriga P. Effect of Sodium Valproate on the Conformational Stability of the Visual G Protein-Coupled Receptor Rhodopsin. Molecules 2021; 26:3032-48. doi: 10.3390/molecules26103032.
20. Yuriev E, Holien J, Ramsland PA. Improvements, trends and new ideas in molecular docking 2012- 2013 in review. J Mol Recognit 2015; 28:581-604. doi: 10.1002/jmr.2471.
21. Dratz EA, Hargrave PA. The structure of rhodopsin and the rod outer segment disk membrane. Trends Biochem Sci 1983; 8: 128-31. doi: 10.1016/0968-0004(83)90235-9.
22. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF Chimera—A Visualization system for exploratory research and analysis. J Comput Chem 2004; 25:1605-12. doi:10.1002/jcc.20084.
23. Ritchie DW, Kemp GJL. Protein docking using spherical polar fourier correlations. Proteins 2000; 39:178-94.
24. Cosconati S, Forli S, Perryman AL, Harris R, David S, Olson Arthur J. Virtual screening with AutoDock: theory and practice. Expert Opin Drug Discov 2010; 5:597-607. doi:10.1517/17460441.2010.484460.
25. Smith SO. Mechanism of activation of the visual receptor rhodopsin. Annu Rev Biophys 2023; 52: 301-17. doi:10.1146/annurev-biophys-083122-094909.
26. Kesi´c AS, Milenkovi´c D, Antonijevi´c M, Petrovi´c B, Markovi´c Z. Molecular docking study on the interaction of rhodopsin-like receptors with tetracoordinated gold (III) complexes. Biol Life Sci Forum 2021; 7:17-23. doi:10.3390/ECB2021-10264.
27. Jain A. Computer aided drug design. J Phys Conf Ser 2017; 884:1-23. doi:10.1088/1742-6596/884/1/012072.
28. Motaharinia M, Sadeghpour M, Shalbafan M. Study of human albumin protein interaction with fluorouracil anticancer drug using molecular docking method. J Ilam Uni Med

Sci 2022; 30:32-40. doi: 10.52547/sjimu.30.2.32.
29. Parvizi Fard G, Solouki L, Zakariazadeh M, Haghaei H, Soltani S. Study of interaction between nicotinamide and human serum albumin using spectroscopic techniques and molecular docking simulation simulation. Nova Biologica Reperta 2022; 9:153-68. doi: 10.29252/nbr.9.3.153.
30. Asghar BH, Arshad M. Ciprofloxacin analogues: drug likeness, biological and molecular docking studies. J Umm Al-Qura Uni Applied Sci 2023; doi: 10.1007/s43994-023-00061-6.
31. Akhtar R, Noreen R, Raza Z, Rasul A, Zahoor AF. Synthesis, anticancer evaluation, and in Silico modeling study of some N-acylated ciprofloxacin derivatives. Russ J Org Chem 2022; 58: 541-8. doi:10.1134/S107042802204011X.
32. Marciniec K, Beberok A, Pęcak P, Boryczka S, Wrześniok D. Ciprofloxacin and moxifloxacin could interact with SARS-CoV-2 protease: preliminary in silico analysis. Pharmacol Rep 2020; 72:1553-61. doi:10.1007/s43440-020-00169-0.