طراحی مهارکننده دارویی آنزیم سیکلو اکسیژناز ۲ جهت کاهش التهاب و درد

پویان اسدی[1*]، الهه علی ویسی[2]، نازنین نوراللهی مقدم[3]

۱) باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران
۲) گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران
۳) گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور مرکز بهشهر، بهشهر، ایران

تاریخ دریافت:۹٤/۱۱/۲۱ **تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۱۳**

چکیده

مقدمه: در مطالعه پیش رو، به منظور کاهش عوارض جانبی داروهای ضد التهابی و افزایش اختصاصیت آن ها، از طریق زیست شناسی محاسباتی و دانش بیوانفورماتیک، مهارکننده دارویی جدیدی طراحی شد.

مواد و روش ها: به این منظور ابتدا ۱۵۰۰۰۰ ترکیب با خاصیت دارویی از پایگاه داده ZINC و هم چنین فایل مربوط به ساختار آنزیم سیکلواکسیژناز ۲، از پایگاه داده(RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics استخراج شدند. پس از آماده سازی آن ها، تمام این ترکیبات شبیه‌سازی با آنزیم مورد نظر به منظور انتخاب بهترین مهارکننده دارویی(لیگاند)، داک شدند.

یافته های پژوهش: پس از بررسی محاسبات،۱۰ ترکیب از لیگاندهایی که حاصل عمل داکینگ بودند، بر اساس انرژی آزاد گیبس(کمترین ΔG) انتخاب شدند. بر اساس نتایج به دست آمده از عمل داکینگ، اتصال مهارکننده به آنزیم سیکلواکسیژناز ۲، موجب تغییر کنفورماسیونی آنزیم، کاهش انرژی پتانسیل و افزایش پایداری کمپلکس مهارکننده–آنزیم شد.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق، ترکیبات می توانند با قرارگیری در جایگاه فعال آنزیم، التهاب و درد را در بیماری های مختلف التهابی، بر اساس اختصاصیت بیشتر و در نهایت توکسیسیتی کمتر، کاهش دهند.

واژه های کلیدی: سیکلواکسیژناز ۲، داکینگ مولکولی، داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی، غربالگری مجازی، دینامیک مولکولی

***نویسنده مسئول: باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران**

Email:cellchem2016@gmail.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-27]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.203]

مقدمه

با گسترش روز افزون مطالعات شبیه سازی و دینامیک مولکولی در تمامی شاخه های علوم و استفاده از کامپیوترها در مطالعات، بهره گیری از علم بیوانفورماتیک نسبت به دهه های گذشته بیش از پیش شده است. بیوانفورماتیک، علمی است که با ایجاد و توسعه الگوریتم ها، تکنیک های محاسباتی و آماری، عمل محاسبات پیشرفته و پیچیده را در علوم پایه مخصوصاً شاخه زیست شناسی به راحتی امکان پذیر می سازد(۱). در این راستا، غربالگری مجازی، روشی محاسباتی و تایید شده برای تشخیص بهترین و پایدارترین ترکیبات از کتابخانه های شیمیایی عظیم است. غربالگری مجازی از لحاظ اقتصادی، روشی کاملاً مقرون به صرفه جهت تحقق و دست یابی به بهترین و پایدارترین ترکیبات مهارکننده می باشد(۲). با بهره گیری از علم بیوانفورماتیک و درک عمیق رفتار مولکول ها، مهارکننده ها و نیز کمپلکس رسپتور–لیگاند، می توان داروهایی طراحی کرد که علاوه بر داشتن امتیازات و خواص داروهای فعلی، بسیار اختصاصی تر عمل کنند و از داشتن عوارض جانبی آن ها عاری باشند. تنها مهارکننده سیکلواکسیژناز ۲ که هنوز به طور وسیعی در بازار دارویی ایالات متحده وجود دارد، سلکوکسیب است که به نظر می رسد از نظر عوارض جانبی و توکسیسیتی از سایر داروهای هم خانواده اش مناسب تر باشد. سلکوکسیب برای درمان درد، تورم و خشکی ناشی از آرتروز یا ساییدگی مفصلی (استئوآرتریت)، روماتیسم مفصلی به کار برده می شود. از سلکوکسیب می توان در دردهای ناشی از کشیدگی عضلات، رگ به رگ شدن و پیچیدن **مفاصل**، درد ناشی از التهاب و یا کشیدگی تاندون و لیگامان ها و درد و تورم بورسیت ها استفاده کرد. از این دارو می توان برای کاهش دردهای استخوان و درد بعد از جراحی هم استفاده کرد. سلکوکسیب در درمان قاعدگی های دردناک و در درمان پولیپ های متعدد روده بزرگ و رکتوم هم به کار برده می شود(۳). داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی می توانند باعث بروز یا تشدید آسم شوند(۴). این داروها به طور شایع برای درمان التهاب، درد و تب از طریق کاهش ساخت پروستاگلاندین ها به واسطه مسدود نمودن آنزیم سیکلواکسیژناز به کار می روند(۵).

آنزیم سیکلواکسیزناز ۲ به عنوان جزئی از واکنش های التهابی در پاسخ به تحریکات خارج سلولی سریعاً القاء می گردد. به علاوه COX_2 نقش مهمی در تنظیم تکثیر سلولی، تمایز زدایی و سرطان زایی ایفاء می کند(۶). مطالعات زیادی افزایش میزان COX_2 در سلول های ترانسفرم شده و اشکال مختلف سرطان را نشان داده اند. مطالعات بالینی و اپیدمیولوژیکی حاکی از کاهش خطر ایجاد تومورهای بدخیم مانند سرطان کولون در اثر مصرف منظم داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی مثل آسپرین و سالینداک است. بنا بر این مهار COX_2 به عنوان یک استراتژی امیدبخش و موثر برای درمان و جلوگیری از سرطان مورد توجه قرار گرفته است(۷). داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی به کانال هیدروفوبی سیلکواکسیژناز متصل شده و باعث مهار آن می شوند. استیلاسیون اسید آمینه سرین ۵۳۰ مانع از اتصال اسید آراشیدونیک به جایگاه فعال و در نتیجه مهار برگشت ناپذیر آنزیم می شود. سایر داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی با اسیدآراشیدونیک برای اتصال به جایگاه فعال رقابت می کنند و باعث مهار برگشت پذیر آنزیم می شوند(۸). در بیشتر ساختار این مهارکننده ها، دو حلقه آریلی مجاور هم وجود دارند که متصل به یک حلقه هتروسیکلیک در مرکز مهارکننده هستند. اما خطراتی نیز همراه با مصرف این داروها وجود دارد که از آن جمله می توان به خونریزی گوارشی فوقانی شدید اشاره نمود. به خصوص افراد سالمند، کسانی که داروهای ضد انعقاد مصرف می کنند و افراد دارای سابقه خونریزی گوارشی فوقانی با مصرف این داروها، در معرض خطر بالایی قرار دارند(۹). امروزه استفاده از داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی به دلیل داشتن عوارض جانبی و اثرات سمی خاص خود با چالشی جدید روبرو است. نیاز به داروهایی با کارکرد بهینه و کمترین عوارض جانبی و سمی از یک سو و افزایش خطر ابتلا به بیماری های التهابی مانند بیماری های آرتریت روماتوئید، استئوآرتریت از سوی دیگر، اهمیت و ضرورت وجود داروهایی که بتوانند با حداکثر اثر مهاری و حداقل عوارض جانبی و سمیت، التهاب و

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-27]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.203]

درد را مهار کنند به روشنی قابل درک است(۱۰). در این راستا، افشین زرقی و همکاران در سال ۲۰۰۸ مشتقات ۱ و ۳ دی آریل اوره را سنتزکردند و به عنوان مهارکننده های انتخابی COX_2 مورد آزمایش قرار دادند. از بین ترکیبات ۱-(۴-متیل سولفونیل فنیل)-۳-(۴-متیل اکسی فنیل) اوره به عنوان مهارکننده قوی COX_2 معرفی شد که مشابه با داروی سلکوکسیب می باشد. در مطالعه حاضر با استفاده نرم افزارها و برنامه های بیوانفورماتیکی، مکانیسم ها و برهمکنش های درون مولکولی شبیه سازی شده و با تعریف دقیق محیط سلول و شیه سازی آن در محیط مورد نظر محاسبات انجام می گیرد که منجر به شناخت و درک صحیح از رفتار مولکول ها می شود. هم چنین در این مطالعه محاسباتی، با کمک شبیه سازی مولکولی، مهارکننده ای با قدرت مهارکنندگی بالا نسبت به سایر مهارکنندگان قبلی، طراحی شده است، که در مرحله استعمال اثرات جانبی کمتری را داشته و اختصاصی تر عمل می کند و پایداری بیشتری را دارد.

این مطالعه با هدف طراحی و معرفی ساختارهایی بهینه و جدید که نسبت به داروهای فعلی میل ترکیبی بیشتری را با آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ داشته و در عین حال کمترین عوارض جانبی و سمیت ممکن را داشته باشند، صورت گرفت. هدف این مطالعه محاسباتی، طراحی مهارکننده ای با قدرت مهارکنندگی بالا نسبت به سایر مهارکنندگان قبلی است، که در مرحله استعمال اثرات جانبی کمتری را داشته و اختصاصی تر عمل کند و پایداری بیشتری را دارد.

مواد و روش ها

در این تحقیق به کمک مقالات مطالعه شده و مرتبط، بهترین لیگاند مورد استعمال در بازار دارویی آمریکا را به عنوان ترکیب مرجع انتخاب گردید و ساختار ترکیب مورد نظر را وارد بانک داده ZINC شد. در این پایگاه ۱۵۰۰۰۰ ترکیب مشابه با عبور از مرحله غربالگری درون پایگاهی برای تحقیق انتخاب شدند. هدف از اجرای عملیات غربالگری مجازی، جستجوی ساختارهای شیمیایی مشابه با ساختار شیمیایی مهار کننده های اختصاصی شناخته شده آنزیم COX_2 می باشد. ترکیباتی که از این بانک داده استخراج شدند، از قواعد ۵ تایی لیپینسکی پیروی می کنند. این ترکیبات بیشترین میزان شباهت(بیش از ۷۰ درصد) را به ترکیب مرجع دارند. این پایگاه حاوی اطلاعات مربوط به کریستالوگرافی اشعه X و NMR ترکیبات شناخته شده است(۱۱). فایل به دست آمده از RCSB مربوط به آنزیم نیز به کمک برنامه GROMACS، اپتیمایز و مینیمایز شدند. این برنامه تحت عامل لینوکس بوده، شبیه سازی دینامیک مولکولی را به اجرا در می آورد و با استفاده از قوانین نیوتن حرکات اتمی و مولکولی، برهمکنش بین لیگاند-گیرنده را در یک بازه زمانی مشخص در حد نانوثانیه محاسبه و پیش بینی می کند. در این مرحله جهت یابی های اتم های هیدروژن ماکرومولکول ها تصحیح گردید(۱۲). سپس ساختار مینیمایز شده COX_2 به همراه مهارکننده های مورد نظر توسط نرم افزار Auto Dock Vina وارد مرحله داکینگ شدند و ۱۰ ترکیب از لیگاندهایی که حاصل داک و دینامیک مولکولی بودند، بر اساس کمترین انرژی آزاد گیبس مرتب شدند. هدف از داکینگ رسیدن به ساختاری از مولکول مهارکننده- COX_2 است که از لحاظ ساختاری و انرژی، کمترین انرژی آزاد اتصال را داشته باشد(۱۳). مولکولار داکینگ فرآیندی محاسباتی است که از طریق آن، لیگاندها در فضای سه بعدی حرکت داده می شوند تا ساختار فضایی جایگاه هدف و لیگاند پیدا شود؛ به طوری که بیشترین امتیاز را در تابع کسب کند. لیگاندهای موجود در پایگاه های اطلاعاتی بر اساس بیشترین امتیاز درجه بندی می شوند و بهترین ترکیبات، مورد بررسی و جستجوی بیشتر قرار می گیرد. اتصال لیگاند به گیرنده در عمل داکینگ از طریق میان کنش های آب گریز، الکتروستاتیک و پیوندهای هیدروژنی مورد بررسی قرار گرفتند(۱۴). به منظور پایداری کمپلکس لیگاند-گیرنده، نمودار RMSF در محیط شبیه سازی شده در شرایط محیطی مختلف همراه با تغییر دما، فشار، رسم گردید. به کمک برنامه VMD نیز ساختار ۳ بعدی مولکول های مورد نظر نیز بررسی شدند(۱۵).

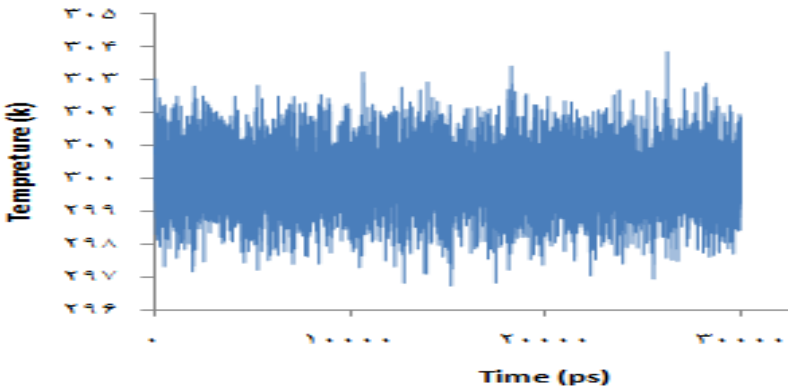
یافته های پژوهش

ترکیبی با کد ۶۴۳۷۳۵ با انرژی پتانسیل ۵۰/۰۳۴- کیلوژول بر مول کمترین انرژی آزاد گیبس را دارا بود و

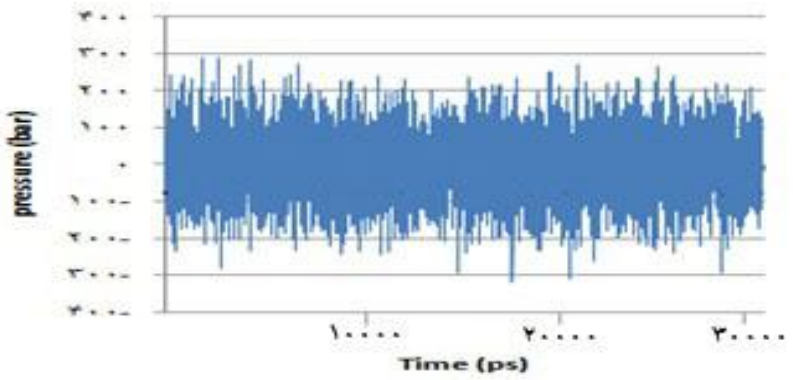
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-27]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.203]

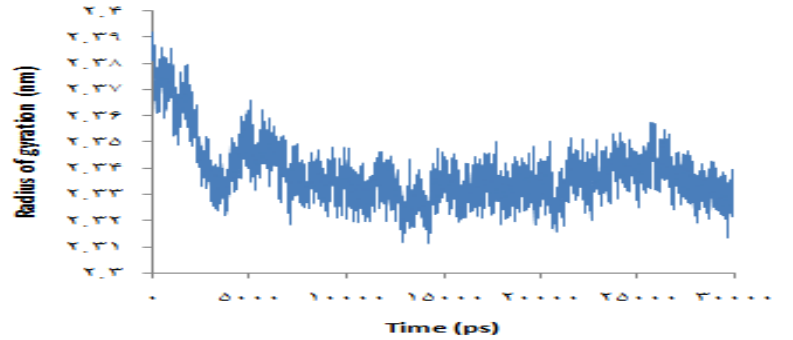
به عنوان بهترین مهارکننده در بین ۱۰ مهارکننده برتر انتخاب گردید. به منظور بررسی میزان پایداری پروتئین مورد نظر، نمودار مربوط به تغییرات دما(نمودار شماره ۱)، فشار(نمودار شماره ۲) و شعاع ژیراسیون(نمودار شماره ۳) بررسی شد و پایداری سیستم مورد نظر نیز با توجه به تصویر به اثبات رسید. انرژی پتانسیل آنزیم به طور جداگانه و به همراه مهارکننده نیز بررسی شد(نمودار شماره ۴).



نمودار شماره ۱. نمودار تغییرات دمایی آنزیم سیکلواکسیژناز ۲



نمودار شماره ۲. نمودار تغییرات فشار آنزیم سیکلواکسیژناز ۲

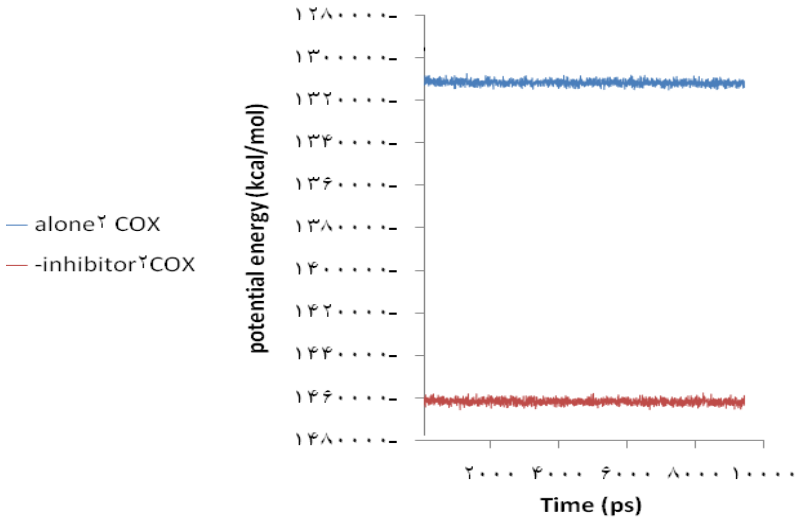


نمودار شماره ۳. نمودار شعاع ژیراسیون آنزیم سیکلواکسیژناز ۲

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-27]

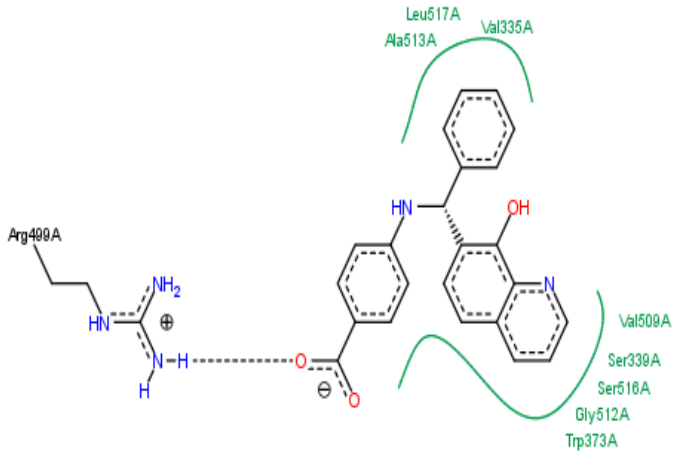
[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.203]

نمودار شعاع ژیراسیون، به تعادل رسیدن پروتئین در طول ۳۰ نانو ثانیه را بررسی می کنند. اگر پروتئین دناتوره شود، یعنی ناپایدار بوده است و تغییرات محیطی وارد شده بر خود را مانند تغییرات دما و فشار تحمل نکرده است. در این صورت، پیوندهای غیر کووالان شکسته شده است و به این معناست که آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ پایداری چندانی ندارد و می شکند. این نوع نمودارها ثانیه ای که آنزیم، کنفورماسیون می دهد را مشخص می کند.



نمودار شماره ٤. نمودار مقایسه انرژی پتانسیل آنزیم در حالت آزاد(آبی) و کمپلکس با مهارکننده(قرمز)

پس از برهمکنش پروتئین با مهارکننده ها از نرم افزار Pose View استفاده شد که به وضوح ساختار جایگاه فعال آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ و نحوه برهمکنش این آنزیم با مهارکننده ها را نشان می دهد و هم چنین مهم ترین اسید آمینه‌ها را در محل اتصال لیگاند و پروتئین مشخص می کند(شکل شماره ۱).

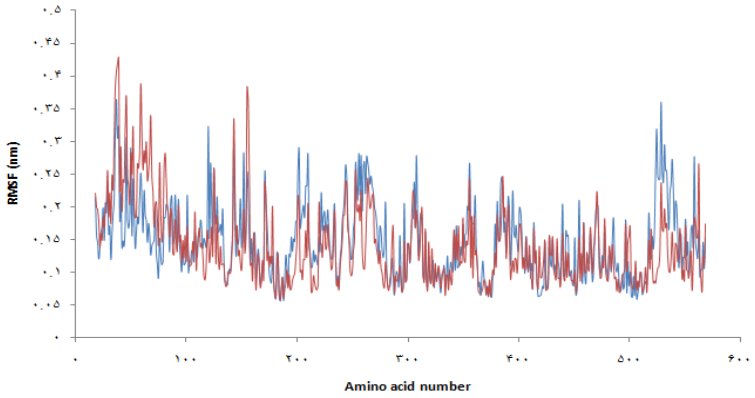


شکل شماره ۱. نمایی از برهمکنش آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ با مهارکننده شماره ٦٤٣٧٣٥ (بهترین لیگاند) در جایگاه فعال آنزیم

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-27]

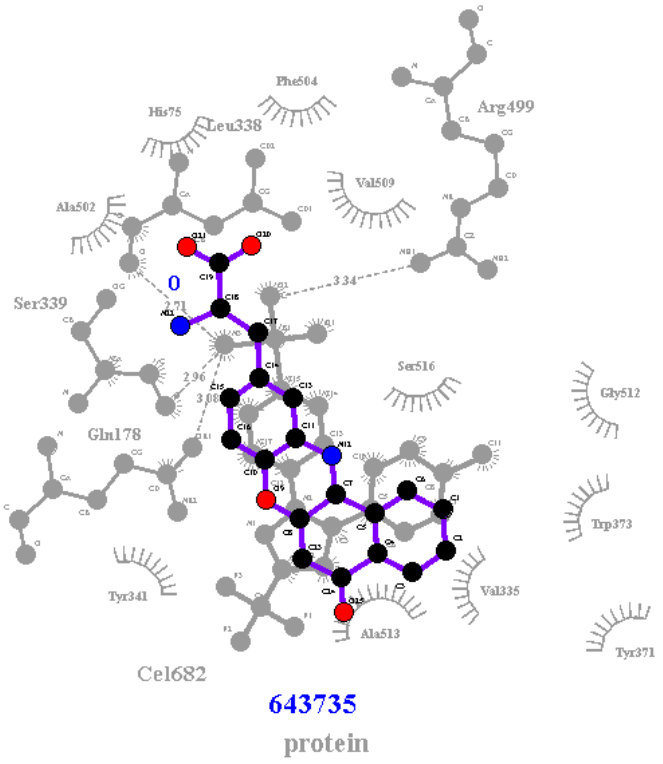
[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.203]

نمودارهای مربوط به(root mean square fluctuation) RMSF، رفتار پروتئین و میانگین حرکات آن را در حالت قرارگیری در محیط آبی با حالت داک شده به آنزیم بررسی کرده و اطلاعات مناسبی را از این میانکنش در اختیار ما قرار می دهد(نمودار شماره ۵).



نمودار شماره ۵. نمودار RMSF برای مقایسه اثر مهاری کمپلکس و خود آنزیم

می توان در انتها کیفیت و میزان شباهت مهارکننده طراحی شده با مهارکننده مرجع را با کمک نرم افزار LigPlot در قالب تصاویری که بیانگر رزیدوهای (آمینواسیدهای) مشترک مهار شده و میزان انطباق دو مهارکننده نسبت به هم هستند را مورد ارزیابی دقیق قرار داد(شکل شماره ۲).



شکل شماره ۲. انطباق و میزان شباهت مهارکننده طراحی شده(٦٤٣٧٣٥) با مهارکننده مرجع(سلکوکسیب)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-27]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.203]

بحث و نتیجه گیری

کنفورماسیون، جهت گیری ها و میانکنش ها بین رسپتور و لیگاندها نیز بررسی شد و مشخص شد که رسپتور و مهارکننده هایی که بهترین شکل های فضایی را دارند، بهترین کنفورماسیون اتصالی توسط اتوداک را خواهند داشت. علاوه بر این تمام انرژی های درونی و مولکولی و انرژی آزاد توسط اتوداک محاسبه شده است. این لیگاندها با استفاده از Auto Dock Vina داک شدند که انجام جستجوهای کنفورماسیونی لیگاند، برای شناسایی پتانسیل باندهای پنهانی را انجام می دهد و می تواند برای ارزیابی مجدد اتصال ساختارهای که پیش بینی شده است مورد استفاده قرار گیرد(۱۶). پیوند الکترواستاتیک مهم ترین میانکنش بین مهارکننده و آنزیم است اما سایر پیوندها نیز از جمله پیوندهای هیدروژنی و برهمکنش های هیدروفوب در تشکیل کمپلکس رسپتور(پروتئین) و مهارکننده ها(لیگاندها) و کیفیت آن ها بسیار تاثیرگذار هستند(۱۷). انطباق بالای دو مهارکننده مرجع و طراحی شده نسبت به هم و مهار رزیدوهای یکسانی از آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ از قبیل Ser339، Tyr341، Ala513، Val335، Leu338، Phe504، Arg499 و Ile503 موید دقت بالای فرآیند طراحی و شباهت بالای این دو مهارکننده نسبت به هم می باشد که امید است تفاوت های آن ها عامل افزایش کارایی و اختصاصیت مهارکننده طراحی شده و کاهش عوارض جانبی آن در مرحله استعمال دارو توسط بیمار در آینده باشد.

ژاکوب و همکاران در سال ۲۰۱۱ توانستند با کمک قوانین مربوط به دینامیک مولکولی و شعاع ژیراسیون مدلی را برای شبیه سازی مولکولی و طراحی دارو ارائه دهند. بیلسکا و همکاران در سال ۲۰۱۱ با کمک قوانین بیوفیزکی و ادغام آن با دانش بیوانفورماتیک و طراحی دارو توانستند مدلی برای غربالگری ترکیبات مهارکننده بسیاری از آنزیم ها ارائه دهند که ترکیبات را بر اساس قوانین لیپینسکی آماده اجرا و فعالیت های بعدی می کند. هم چنین یومنگ و همکاران با بهره گیری از قوانین فیزیکی و شیمیایی مربوط به سلول و استفاده از غربالگری مجازی، روشی را در قالب داکینگ و دینامیک مولکولی ارائه دادند که می توان در جهت طراحی دارو های نوین در مدت زمان بسیار کوتاه تر و صرف هزینه کمتر از آن ها بهره جست که از آن روش ها در این تحقیق استفاده شد و کاملاً منطبق با روش های نوین آن ها بود. لورتادی و همکاران در سال ۲۰۱۳ توانستند با کمک دانش بیوانفورماتیک و بهره گیری از زیست شناسی محاسباتی بر روی ۱۰ مهارکننده، مدل جامعی را برای بهینه سازی عملکرد و نیز طراحی دارو ارائه کنند. اخیراً تینگ ژو و همکاران در سال ۲۰۱۳ با بهره گیری از دانش زیست شناسی محاسباتی و استفاده از معادلات کوانتومی در علم زیست شناسی و ادغام آن ها توانستند روشی را با عنوان روش کوانتوم مکانیکی برای طراحی داروهای نوین ارائه دهند. هم چنین ابراهیم آبادی و همکاران در سال ۱۳۸۵ توانستند مشتقات جدید سلکوکسیب را با استخلاف آمینوسولفونیل متیل و آزایدومتیل به عنوان مهارکننده اختصاصی سیکلواکسیژناز ۲ طراحی و سنتز کنند. هر چه انرژی آزاد اتصال منفی تر باشد، واکنش بیشتر خود به خودی و برگشت ناپذیرتر می شود و ترکیبات مهارکننده از ارزش بیشتری برخوردار می شوند. هم چنین تمایلشان به انجام واکنش بیشتر می گردد. در این میانکنش ها، هر چه تعداد پیوندهای الکترواستاتیکی و هیدروژنی بیشتر باشد، مهارکننده بهتر و با شدت بیشتری به جایگاه فعال آنزیم داک شده است و اتصال آن بسیار قوی تر خواهد بود، در نتیجه به طور بهینه تر و مطلوب تری جلوی فعالیت آنزیم و در نهایت جلوی ایجاد التهاب و درد را خواهد گرفت. اما هر چه برهمکنش های هیدروفوب در این کمپلکس بیشتر شود، مهارکننده با شدت ضعیف تری به جایگاه فعال آنزیم داک می شود و در نتیجه به طور خفیفی جلوی فعالیت آنزیم و در نهایت جلوی ایجاد التهاب و درد را می گیرد و در نتیجه عوارض جانبی بیشتری را سبب می شود. نمودار مربوط به تغییر دما نشان می دهد که آنزیم سیکلو اکسیژناز ۲ با تغییرات دمایی تا چه حد ثبات و پایداری ساختاری خود را حفظ می کند و در چه ثانیه‌ای تغییر کنفورماسیونی می دهد. اگر این آنزیم به تعادل دمایی نرسد، تغییرات دمایی باعث دناتوره شدن آن خواهد شد(نمودار شماره ۱).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-27]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.203]

وقتی آنزیم در اثر تغییرات فشار دناتوره شود، تغیرات به وجود آمده را می توان از طریق این نمودار بررسی کرد. این نمودار نشان می دهد که سیستم مورد نظر ما تا چه اندازه پایدار خواهد بود و با تغییرات فشار دقیقا در چه نانو ثانیه ای تغییر کنفورماسیونی می‌دهد و دناتوره خواهد شد(نمودار شماره ۲). نمودار شعاع ژیراسیون، پایداری و ثبات فیزیولوژیکی پروتئین را در محیط آبی بر اساس میزان تاخوردگی پروتئین نشان می دهد. این برنامه کره ای فرضی را در اطراف سیکلواکسیژناز ۲ متصور می شود که در اثر نیروهایی که به این کره و در نتیجه پروتئین وارد می شود مانند تغییر دما و تغییر فشار، این پروتئین با دناتوره شدن و یا ایجاد فولدینگ به این تغییرات واکنش نشان می دهد که رفتار دینامیک مولکولی آنزیم را منعکس می سازد. در این نمودار با تغییر دما از ۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد رفتار آنزیم بررسی می شود که در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد اتم های سیستم کاملاً فعال و در تحرک کاملند. معیار ثابت بودن رفتار محیط و به دنبال آن پروتئین، ثابت ماندن طول شعاع کره فرضی است. اگر پروتئین دناتوره شود، کره پهن تر می شود و شعاع آن بیشتر خواهد شد. اگر فولدینگ برای آن اتفاق افتد، کره کوچک تر و شعاع آن کمتر خواهد بود و اگر پروتئین تغییر نکند به این معنا است که پروتئین پایدار است و تغییر کنفورماسیونی رخ نداده است(نمودار شماره ۳). دینامیک مولکولی، اتم های سیستم را مانند گلوله هایی در نظر می گیرد که توسط فنری انعطاف پذیر به هم اتصال یافته اند. با اعمال تغییرات دما، فشار و تغییرات انرژی پتانسیل فاصله این اتم ها از هم تغییر می کند و با محاسبه و مقایسه طول اولیه این اتم ها قبل و بعد از اعمال تغییرات می توان رفتار دینامکی مولکول ها را حتی در حد نانو ثانیه مورد ارزیابی قرار داد(۱۸).

نمودار مربوط به RMSF، رفتار دینامیک سیستم را در دو حالت آنزیم بدون مهارکننده که به رنگ آبی مشخص است با حالت کمپلکس آنزیم–مهارکننده که با رنگ قرمز آمده است مقایسه می کند. این مقایسه بین دو حالت با اعمال تغییرات انرژی پتانسیل در سیستم رخ می دهد. آن مناطقی از نمودار قرمز رنگ که بیشترین افت انرژی پتانسیل را نسبت به حالت آبی رنگ دارد به معنای قرار گیری جایگاه فعال و داک شدن مهارکننده ها در این جایگاه است که می توان با استفاده از نرم افزارهایی خاص آمینو اسیدهای فعال در این جایگاه ها را شناسایی کرد. شروع این نمودارها، از آن جایی که پایانه های انتهایی پروتئین ها آزادی و تحرک بیشتری دارند از آمینواسید هیجدهم به بعد است. انعطاف پروتئین در این دو سر بیشتر است و بیشتر در معرض محیط اطراف خود خواهد بود بنا بر این این دو ناحیه نمی توانند محل مناسبی برای قرار گیری جایگاه فعال این آنزیم و داک شدن مهارکننده ها باشند(نمودار شماره ۵).

پایین بودن نمودار قرمز نسبت به نمودار آبی رنگ در نمودار مقایسه انرژی پتانسیل سیستم به این معناست که با داک شدن آنزیم و مهارکننده ها سیستم با کاهش انرژی پتانسیل روبرو شده است و پایدارتر گشته است(نمودار شماره ۴). این امر در معادلات و قوانین مربوط به دینامیک مولکولی امری بسیار مطلوب است و هر چه این افت انرژی کمتر باشد مهارکننده قوی تر است و عمل داک بهینه تر انجام شده است و مهارکننده می تواند با سرعت و شدت بیشتری جلوی فعالیت آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ و در نهایت جلوی ایجاد التهاب و درد را با کمترین عوارض جانبی بگیرد. چنین مهارکننده هایی نهایتاً داروهای مطلوب تر و بهینه تری خواهند بود.

روش شناسایی کاندیدهای داروها با استفاده از روش های محاسباتی، غربالگری مجازی و یا غربالگری مجازی با بازده بالا نامیده می شود. برای انجام عملیات غربالگری مجازی ابتدا با استفاده از نرم افزارهای در دسترس، ساختار سه بعدی شیمیایی مولکول مهارکننده رسم و استخراج شوند(۱۹). انجام آزمایش با استفاده از روش های کامپیوتری بسیار آسان تر از انجام آزمایش بر روی یک سیستم حقیقی است. البته باید به این نکته نیز توجه داشت که آزمایشات تجربی نقش بسیار مهمی در اعتبار روش های شبیه سازی خواهند داشت. موضوع دیگر این که تمام فاکتورهای استفاده شده در شبیه سازی تقریبی هستند اما تحت کنترل کاربرند، و به راحتی می توان با تغییر

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-27]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.203]

یک پارامتر، اهمیت آن پارامتر را در ویژگی های مورد بررسی، مطالعه نمود. در حال حاضر به خاطر پیشرفت های کامپیوتری و ساخته شدن الگوریتم ها با پیچیدگی ها و سرعت محاسباتی مختلف، داک کردن هزاران لیگاند میسر شده است که این امر در صنعت دارو برای حل مسائل و مشکلات طرح های دارویی مبتنی بر ساختار، از اهمیت به سزایی برخوردار می باشد.

با استفاده از روش های آزمایشگاهی سنتز دارو، در کنار دانش بیوانفورماتیک می توان ترکیبات ارائه شده را سنتز و پس از کشت در رده های سلولی و بررسی سمیت آن ها به تولید گسترده چنین داروهایی با هزینه کمتر و کارکرد بهینه تر در بازار دارویی فعلی و آینده بسیار امیدوار بود(۲۰).

References

1.Reddy NM, Kleeberger SR, Kensler TW, Yamamoto M, Hassoun PM, Reddy SP. Disruption of NRF2 impairs the resolution of hyperoxia-induced acute lung injury and inflammation in mice. J Immunol 2009; 182:7264-71.

2.Reddy NM, Suryanarayana V, Kalva-kolanu DV, Yamamoto M, Kensler TW, Hassoun PM. Innate immunity against bacterial infection following hyperoxia exposure is impaired in NRF2-deficient mice. J Immunol 2009;183:4601-8.

3.Dannhardt G, Laufer S. Structural approaches to explain the selectivity of COX-2 inhibitors is there a common pharmacophore? Curr Med Chem2000;7**:** 1101-12.

4.Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. Nat New Biol 1971; 231: 232-5.

5.Marcus A J, Broekman M J, Pinsky DJ. COX inhibitors and thromboregulation. N Engl J Med2002; 347**:**1025-6.

6. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. Annu Rev Pharmacol Toxicol1998;38: 97-120.

7.Cochran FR, Selph J, Sherman P. Insights into the role of nitric oxide in inflammatory arthritis.Med Res Rev1996;16:547-63.

8.Picot D, Loll PJ, Garavito RM. The X-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H2 synthase-1. Nature1994; 367:243-9.

9.Rao P, Knaus EE. Evolution of nons-teroidal anti-inflammatory drugs cycl-ooxygenase inhibition and beyond. J Pharm Pharm Sci2008;11:81-110.

10.Cryer B, Feldman M. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used non-steroidal anti-inflammatory drugs. Am J Med 1998; 104:413–421.

11.Lipinski CA. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. J Pharmacol Tox Meth2000; 44:235-49.

12.Vanderspoel D, Lindahl E, Hess B, Groenhof G, Mark AE, Berendsen HJC. J Comput Chem 2005; 26: 1701.

13.Verlinde CL, Hol WG. Structure based drug design Progress results and challenges. Structure1994; 2: 577-87.

14. Piotr C, Christopher I, Bayly S, Ian R. A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids and Organic Molecules. J Am Chem SOC 1995; 117: 5179-97.

15. Hess B, Carsten K, Davidvander S, Erik L. Algorithms for highly efficient load balanced and scalable molecular simulation. J Chem Theory Comput2008; 4: 435-47.

16.Weiner ML, Weiner PH. A study ofstructure activity relationships of a series of diphenylaminopropanols by factor analysis. J Med Chem1973;16:655-61.

17. Wang R, Lai L, Wang S. Further development andvalidation of empirical scoring functions for structure based binding affinity prediction. J Comput Aided Mol Des 2002; 16:11-26.

18. Schuttelkopf AW, Vanaalten DM. Prodrg a tool for high throughput crystallography of protein ligand comp-lexes. Acta Crystallogr 2004; 60: 1355-63.

19. Rester U. From virtuality to reality virtual screening in lead discovery and lead optimization a medicinal chemistry persp-ective. Curr Opin Drug Discov Devel 2008; 11:559-68.

20.Tollenaere JP. The role of structure-based ligand design in industrial pharmac-eutical research. Comput Aided Drug Des Indus Res 1996;15: 187-206**.**

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-27]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.203]

Pharmaceutical Inhibitor Design against Cyclooxygenase2 to Reduce the Inflammation and Pain

*Asadi P[*1], ALivaisi E[2], Norollahimoghadam N[3]*

(Received: February 10, 2016 Accepted: May 2, 2016)

Abstract

Introduction: In the current study, to reduce the side effects of anti-inflammatory drugs and increase their specificity, a new pharmaceutical inhibitor was designed by computational Biology and Bioinformatics knowledge.

Materials & methods: For this purpose, first, 150000 compounds with medicinal properties from ZINC database and also the files related to the structure of the enzyme cyclooxygenase2 from RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics) were extracted. After preparing them, all of these chemical compounds were docked with the target enzyme in order to select the best pharmaceutical inhibitor (ligand).

Findings: After checking the computation, 10 compounds of ligands that were the results of Docking, were selected according to the Gibbs free energy (least ΔG). Based on the results of the docking operation, inhibitor binding to cox2 causes conformational changes of enzyme, potential energy reduction, and increasing the stability of inhibitor-enzyme complex.

Discussion & conclusions: According to the results obtained from the study, the inhibitors can reduce the inflammation and pain in different inflammatory diseases, by placing in the active site on the basis of more specificity and finally less toxicity.

Keywords: Cyclooxygenase2, Molecular docking, Nonsteroidal anti-inflammatory drug, Virtual screening, molecular dynamics

1. Young Researchers and Elite Club, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran
2. Dept of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
3. Dept of Chemistry, Faculty of Science, University of Payam Noor Behshahr, Behshahr, Iran
** Correspondin author Email: cellchem2016@gmail.com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-27]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.6.203]