

# مروری بر طراحی ملکولی و تاثیر مهاری فلاونوئیدها بر آنزیم سیتوکروم P450

دکتر ایمان کریم زاده ، دکتر حامد عابدناتاش ، دکتر عبدالعلی محقق زاده ، دکتر یونس قاسمی  
گروه فارماکوگنوزی ، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شیراز

بارتن (Barton) این امر را تسریع نمود. استفاده از کریستالوگرافی و پراش اشعه X برای بررسی ساختار سه بعدی پروتئین ها نخستین بار برای میوگلوبین به کار برده شد. به دنبال این رخداد مهم، ساختار سه بعدی ماکرومولکول های زیستی به سرعت شناسایی شدند. با شناسایی ساختار سه بعدی مولکول های زیستی، مدل هایی از آن ها ترسیم

طراحی مولکولی (Molecular Modeling) به عنوان یک ابزار ارزشمند و ضروری در علوم زیستی به خصوص داروسازی و پزشکی مطرح می باشد (۱). تاریخ پیدایش آن را بایستی در اواسط قرن ۱۹ میلادی جستجو کرد، زمانی که مفهوم شیمی فضایی برای اولین بار شکل گرفت و به دنبال آن کشف کربن چهار وجهی به وسیله وان هوف (Von't Hoff) و آنالیزهای فضایی

Mechanic) ، AMBER (Assisted Model (Chemistry at Harvard Macromolecule Receptor Model) ، CERICES2 ، CHARMm و Germ (Genetically Evolved) VMD (۱).

طراحی مولکولی در یک نگاه کلی در زمینه‌های گوناگونی به کار گرفته شده است که با توجه به اهمیت سنتز داروها، ابتدا به معرفی مختصر روندهای انجام شده برای سنتز دارو از این طریق پرداخته و بعد از آشنایی مختصر با آن‌ها به موضوع مورد بررسی درباره برنامه QSAR در زمینه فلاونوئیدها پرداخته خواهد شد.

در داروسازی نوین برنامه‌های کامپیوتری نقش مهمی در طراحی و تهیه داروهای جدید ایفا می‌کنند که به صورت عمده با دو راه کار این امر میسر می‌باشد: در راه کار اول ساختمان گیرنده دارو با روش‌های کریستالوگرافی و NMR شناسایی شده و تنها مشکل، ایجاد مولکول‌هایی مطابق با ساختار گیرنده است که این مشکل با در نظر گرفتن عواملی مانند پایداری از لحاظ انرژی، انعطاف پذیری و تمایل مولکول به گیرنده قابل حل است که بررسی این معیارها از طریق Molecular Docking انجام پذیر می‌باشد که به آن اشاره خواهد شد (۱).

راه کار دوم بر پایه لیگاند (دارو) می‌باشد. بدین معنی که ساختار گیرنده نامشخص می‌باشد. بر این اساس، گزینه‌های احتمالی دارویی با استفاده از مدل‌های موجود در برنامه‌های کامپیوتری به صورت مجازی سنتز می‌شوند که به این مرحله درون‌ده ساختاری (Structure Input) می‌گویند (۲، ۱). سپس این گزینه‌ها از لحاظ شاخص‌های گوناگون مانند

شدند که به مدل‌های فیزیکی شهرت یافتند. مدل‌های فیزیکی دارای نواقصی بودند که به برخی از آن‌ها اشاره می‌گردد. مدل‌های فیزیکی به صورت عمده بر پایه شیمی فضایی و اتصالات مولکول‌ها استوار بودند و اطلاعات چندانی درباره سطح انرژی و سایر خصوصیات کلیدی ماکرومولکول‌ها بیان نمی‌داشتند. کار کردن با مدل‌های فیزیکی به دلیل پیچیدگی ساختاری مشکل بود و در مورد مولکول‌های زیستی پیچیده امکان بازسازی آن‌ها به صورت مدل‌های فیزیکی عملاً غیرممکن بود. با پیشرفت دانش بشری در زمینه علوم کامپیوتری به ویژه برنامه‌نویسی و طراحی به وسیله کامپیوتر، افق‌های جدیدی پیش روی علوم زیستی و مولکولی قرار گرفت که نتیجه آن شکل‌گیری طراحی مولکولی کامپیوتری (Computational Molecular Modeling) و به دنبال آن مدل‌های کامپیوتری بود. مدل‌های کامپیوتری از مزایای قابل توجهی از جمله قابلیت کار کردن با مدل‌ها به صورت مجازی، محاسبه انرژی فضایی مدل‌ها و مقایسه و تعیین ویژگی‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی آن‌ها برخوردارند (۲).

طراحی مولکولی از دیدگاه ابزاری، به دو قسمت سخت‌افزاری و نرم‌افزاری تقسیم می‌شود. سخت‌افزارهای مورد نیاز از طریق شرکت‌هایی مانند IBM و Hewlett-Packard و Digital قابل دسترسی می‌باشد. از لحاظ نرم‌افزاری نیز برنامه‌های متنوعی با کاربردهای مختلف وجود دارد (جدول ۱) که برخی از آن‌ها عبارتند از: (Building Using Refinement)

جدول ۱ - نرم افزارهای طراحی مولکولی

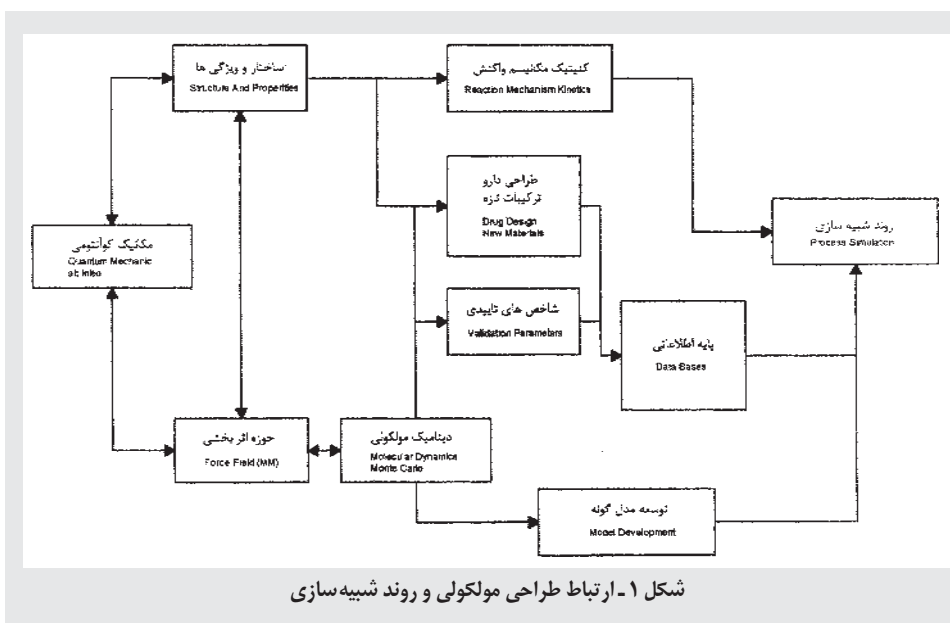
عملکرد	برنامه کامپیوتری	
G, S, M, CA, MM, MD, MO	MOE	۱
-do-	ACD/Chemsketch	۲
-do-	MDLS	۳
M, MM, MD, FE	AMBER	۴
G, S, M, CA, MM, STAT	Chem-X	۵
DG	Disgeo	۶
DG	Disman	۷
-do-	ChemSw	۸
-do-	Cerices 2	۹
-do-	Catalyst	۱۰
DG	Embed	۱۱
PR	Grid	۱۲
M, MM, MD, FE	Gromos	۱۳
-do-	Macromodel	۱۴
GM	IDAS	۱۵
G, S, M	MOGLI	۱۶
G, S, M, CA, MM, DM, STA, MO	Tripos	۱۷
-do-	VMD	۱۸
-do-	G و W	۱۹
-do-	Cosmoplayer	۲۰

G = طراحی و دستکاری ساختار؛ S = ساخت اسکلت مولکول‌های کوچک؛ M = ساخت اسکلت مولکولی؛  
 CA = ابزارهای آنالیز کانفورماسیونی؛ MM = مکانیک مولکولی؛ STSA = ابزار آماری؛  
 PR = انرژی تداخلی پروب (probe)؛ FE = بررسی روش‌های انحراف انرژی آزاد؛ MD = دینامیک مولکولی  
 - do - = داکینگ (سازگاری)، انطباق (docking)

انعطاف‌پذیری کانفورماسیونی، انرژی پایه و میزان تمایل (Affinity) و شدت اتصال (Avidity) آن‌ها به گیرنده مورد بررسی قرار گرفته و بر اساس این شاخص‌ها بهترین گزینه‌ها انتخاب می‌شوند. این مرحله موسوم به پالایش ساختاری (Structure Refinement) است. ویژگی‌های ترمودینامیکی گزینه‌ها در مرحله پالایش با استفاده از برنامه‌های: (Mechanic) MM (Molecular Mechanic)، QM (Quantum) و MD (Molecular Dynamic) مورد بررسی

(فشار و نقطه بحرانی) گرفته تا ویژگی های انتقالی (انتقال گرما) مدنظر می باشند. فناوری MD خصوصیات دینامیکی مولکول ها (ضریب انتشار و تغییر ماهیت مواد) را در نظر می گیرد (۴). اطلاعات به دست آمده از این روش با داده های NMR تلفیق می گردد و بر اساس آن ساختار سه بعدی پپتیدها و پروتئین های کوچکی که امکان انجام کریستالوگرافی برای آن ها مقدور نیست، شناسایی می شوند (۱). همچنین از این فناوری می توان برای تعیین ویژگی هایی مانند میزان تمایل لیگاند به گیرنده، سیالیت و پایداری ماکرومولکول ها که امکان بررسی آن ها از طریق مدل های استاتیک وجود ندارد، استفاده کرد. به بیان دیگر، این برنامه به عنوان پلی رابط میان تئوری و تجربه می باشد (شکل ۱) (۳، ۴).

قرار می گیرد (۲). محاسبات QM بر اساس معادله شرودینگر استوار می باشد ( $H\psi = E\psi$ ) که در این فرمول E انرژی سیستم و  $\psi$  عملگر موج (Function Wave) و H عملگر هامیلتون (Hamilton Operator) است (۱). در این محاسبات ویژگی های مولکولی از قبیل آنتالپی تشکیل، پتانسیل یونیزاسیون، هندسه مولکولی و چند قطبی های لحظه ای قابل محاسبه می باشند. محاسبات QM می تواند تخمین هایی از انرژی را در سطح اتم و مولکول به ما عرضه کند که از این نتایج می توان برای طراحی مولکول و آماده سازی آن برای ورود به مقیاس دیگری به نام مقیاس مولکولی استفاده کرد (۳). محاسبات MM بر اساس معادله Monte Carlo که فرم گلوله و فنر است، استوار می باشد. در این محاسبات از ویژگی های ترمودینامیکی



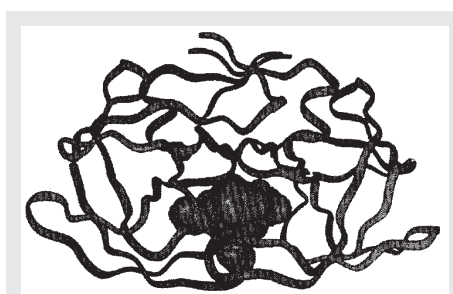
بعد از مرحله پالایش، گزینه‌های انتخابی وارد فرآیندهای دیگری می‌شوند که به صورت تیتروار عبارتند از: نمایش ویژگی‌ها (Display of properties)، محاسبه ویژگی‌ها (Computation of properties)، نمایش ساختار (Display of Structure) [۱].

رابطه میان ویژگی و فعالیت داروهای انتخابی با استفاده از برنامه QSAR قابل محاسبه می‌باشد که به آن اشاره خواهد شد.

Molecular Docking یک فناوری کامپیوتری است که به بررسی امکان اتصال لیگاند (دارو) از لحاظ هندسی و انرژی به محل اتصال ویژه خود بر روی گیرنده می‌پردازد. روش‌های مورد استفاده در docking عبارتند از: Autodock، Flex و Dock. در برنامه Autodock لیگاند مورد نظر به صورت منفرد و جدا از گیرنده از لحاظ چرخش و میزان آزادی لیگاند مورد بررسی قرار می‌گیرد و سپس کانفورماسیون‌هایی بر اساس شاخص‌های ذکر شده انتخاب می‌گردند. مرحله بعدی، محاسبه تقریبی انرژی آزاد پیوند یا نمره‌دهی (Scoring) می‌باشد. تقریبی بودن این محاسبات سبب می‌شود که تنها برای ارزیابی کیفی کمپلکس‌های فرضی و مجازی گیرنده - لیگاند به کار روند (۵). از دیگر محدودیت‌های آن عدم توانایی این روش در تبیین تغییرات کانفورماسیونی لیگاند و همچنین گیرنده در حین اتصال لیگاند به گیرنده خود می‌باشد (۶). این محدودیت‌ها در مورد لیگاندهایی با پلی‌پپتیدهای انعطاف‌پذیر تشدید می‌شود. با توجه به محدودیت‌های بیان شده برای روش

Autodock، فناوری‌های کارتری مانند Dock و Flex مطرح شدند که از الگوریتم‌های ساختاری (Algorithm Construction) استفاده می‌کنند. در این روش ابتدا یک لنگر (Anchor) ثابت بر روی محل پیوند با گیرنده به صورت مجازی قرار می‌گیرد و تغییرات کانفورماسیونی ایجاد شده در سطح لیگاند و گیرنده بررسی می‌شوند. بعد از این مرحله، بقیه لیگاند بر روی محل اتصال قرار می‌گیرد که با استراتژی به کار رفته، مشکل روش قبلی (Autodock) تا حدودی برطرف می‌شود (۵).

به عنوان مثال، XK263 که یک مهارکننده آنزیم پروتئاز HIV-1 می‌باشد و با استفاده از روش Docking به عنوان مناسب‌ترین فرم کانفورماسیونی دارو که کمترین انرژی آزاد پیوندی را با گیرنده خود دارا است انتخاب شد و اثرات امیدوارکننده آن در مقابله با ویروس HIV تاییدی بر موفقیت نسبی این روش به حساب می‌آید (شکل ۲) (۶).

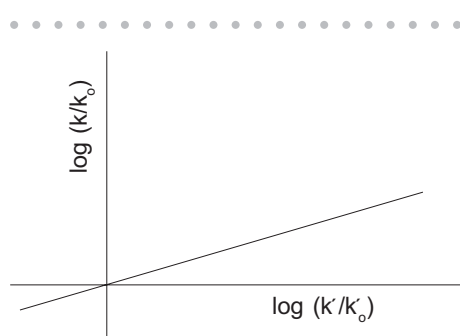


شکل ۲ - فناوری Auto Dock مورد استفاده در مهارکننده پروتئاز HIV.

جز نواری چارچوب مدل پروتئینی و فرم کروی موجود در مرکز اتصالات مهارکننده پروتئاز HIV در محل جایگاه فعال پروتئین را نشان می‌دهد.

خرداد ۸۴، شماره ۵، سال شانزدهم، رازی، ۱۵

ترکیبات دست نخورده و  $k$  و  $k'$  ثابت های تعادل در ترکیبات استخلافی و  $p$  شیب نمودار می باشد (۷). با استفاده از این معادله می توان تاثیر عامل استخلافی بر خاصیت اسیدی را تعیین کرد که این قدم مهمی در پیشرفت QSAR است (نمودار ۱).



نمودار ۱- مثالی از نمودار نشان دهنده ارتباط خطی انرژی آزاد  $k_0$  و  $k'_0$  ثابت های تعادلی ترکیبات غیر استخلافی و  $k$  و  $k'$  ثابت های تعادلی ترکیبات استخلافی را نشان می دهند.

مشکلی که این معادله داشت عدم کاربرد آن در سیستم های بیولوژیکی است. دانشمندان دیگری به نام هانش (Hansch) با استفاده از اهمیت میزان چربی دوستی مواد رابطه هامت را گسترش داد و آن را به صورت کاراتری تکمیل کرد. بر اساس معادله هانش می توان میزان سمیت مواد را بر اساس میزان چربی دوستی در سیستم های بیولوژیکی تعیین کرد (۷، ۸). علاوه بر دو شاخص مذکور، اثر فضایی دیگر شاخص مورد استفاده در QSAR می باشد که با استفاده از عواملی مانند شعاع واندروالس، طول و زوایای پیوندی، انعطاف پذیری کانفورماسیونی و فضای

## Activity Relationship) ■

### QSAR (Quantitative Structure

با پیشرفت فناوری های طراحی مولکولی، چشم اندازهای جدیدی برای درک عملکرد فعالیت و ویژگی های مواد سیستم های بیولوژیکی در علوم زیستی به وجود آمد. QSAR روشی است که رابطه میان ساختار و ویژگی های بیولوژیکی را تعیین می کند (۱). این برنامه به ما اجازه می دهد که با استفاده از شاخص های ساختاری الکتریکی، خواص مواد بیولوژیکی را حدس بزنیم. QSAR هم اکنون در بسیاری از زمینه ها مانند طراحی دارو و ارزیابی خطرات محیط زیستی مورد استفاده قرار می گیرد. تاریخ پیدایش QSAR به قرن ۱۹ میلادی باز می گردد، زمانی که کراس (Cross) (A.F.A) در سال ۱۸۶۳ پی برد که سمیت الکل ها برای پستانداران با افزایش حلالیت آن ها در آب کاهش می یابد. در سال ۱۸۹۰ هانس هارت (Hart) (Hans) متوجه شد که سمیت ترکیبات آلی با میزان چربی دوستی (Lipophilicity) آن ها رابطه مستقیم دارد. این تحقیقات ادامه یافتند تا این که لویی هامت (Louis Hammet) ارتباط میان ویژگی های الکتریکی اسیدها و بازهای آلی، ثابت تعادلی و فعالیت آن ها را بیان کرد. او با بررسی ثابت تفکیک اسیدی چندین اسید آلی که از لحاظ گروه استخلافی با هم متفاوت بودند، توانست نمودار خطی انرژی آزاد را نسبت به ثابت تفکیک اسیدی نشان دهد و بر اساس این نمودار، معادله ای به صورت:

$$\log k/k_0 = p \log k'/k'_0$$

بیان کرد که  $k_0$  و  $k'_0$  ثابت های تعادل در

اشغالی مولکول‌ها محاسبه می‌شود (۷). در QSAR، ارایه مدل‌هایی از ترکیب مورد نظریک امر ضروری است. معمولاً مولکول‌ها در یک مدل بر اساس مجموعه‌ای از توصیف‌گرها (Descriptors) که اطلاعاتی را درباره خصوصیات کوآنتوم شیمیایی و هندسی مولکول‌ها بیان می‌کنند، توصیف می‌شوند. از طریق کوآنتوم شیمیایی می‌توان بار اتم خالص را به دست آورد که با استفاده از بار اتم‌ها می‌توان چند قطبی‌های لحظه‌ای را محاسبه کرد. همچنین سطح انرژی اوربیتال‌های Homo و Lumo را تعیین نمود.

در فناوری QSAR روش‌های گوناگونی به کار می‌رود که بهترین آن‌ها عبارتند از:

MLR (Multiple Linear Regression)، PCA (Principal Component Analysis)، PLS (Partial Least Squares) Network، ANN (Artificial Neural

اساس MLR بر این است که برون‌ده ارزشی (فعالیت بیولوژیکی) بسط چند خطی (Expansion Multilinear) توصیف‌گر مورد نظر (ارزش‌های طیفی) می‌باشد که این آنالیز به وسیله برنامه توصیف‌گرهای جامع برای آنالیز ساختاری و استاتیکی (Statistical Analysis & Comprehensive Descriptors for Structural CODESSA) انجام گیرد. این روش برای کاهش تعداد توصیف‌گرهایی است که به صورت مطلوب‌تری با فعالیت بیولوژیکی در ارتباط می‌باشند. برنامه CODESSA معادلات تک شاخصی را برای تمام توصیف‌گرها محاسبه کرده و توصیف‌گرهایی را که حایز معیارهای

خاصی مانند  $r$  (ضریب همبستگی) نیستند را حذف می‌کند. معادلات دو شاخصی برای معرف‌های باقیمانده محاسبه شده و روند گزینش تکرار می‌شود و در نهایت ۱۰ توصیف‌گر را که بیشترین ارتباط را با فعالیت بیولوژیکی دارند انتخاب می‌شوند. نقص عمده این روش ناتوانی در تعیین و ارتباط خطی میان توصیف‌گرهایی است که بر اساس معادله‌های غیرخطی بیان شده‌اند (۹).

روش مورد استفاده بعدی، شبکه نورونی مصنوعی (Artificial Neural Network) می‌باشد که اولین بار در ۱۹۴۳ مطرح گردید. کاربرد این روش به سرعت در تمام زمینه‌های شیمی گسترش یافت به طوری که از این فناوری برای آنالیز اطلاعات طیفی، تقسیم‌بندی ترکیبات ضد سرطان، پیش‌بینی فعالیت شیمیایی، خصوصیات فیزیکی و پتانسیل الکتریکی استفاده می‌شود. به طور خلاصه، شبکه نورون‌های مصنوعی شامل یک سری واحدهای پنهان (Hidden Unit) می‌باشد که اطلاعات را از خارج دریافت کرده و پس از پردازش آن‌ها پیغامی را از خود خارج می‌کنند (شکل ۳).

نورون مورد بحث در حقیقت یک معادله رگرسیون (Regression Equation) با برون‌ده غیرخطی است. با به‌کارگیری بیش از یک نورون (معادله رگرسیونی) می‌توان توصیف‌گرها یا معادلات غیرخطی را با هم در نظر گرفت و اطلاعات به دست آمده را در واحد خروجی دریافت و آن‌ها را تفسیر کرد. بعد از تفسیر اطلاعات، اشتباه احتمالی تعیین می‌گردند و به صورت برگشتی به واحدهای

ارتباطات آن با فعالیت بیولوژیک مورد آنالیز قرار دهد و به عبارت دیگر، شبکه نورونی را به طرز صحیحی تنظیم کند (۱۰).

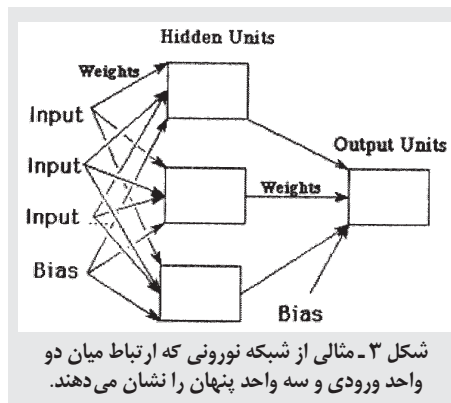
#### □ پردازش جزء اصلی

#### (Principal Component Analysis)

روش آنالیز عوامل استاتیک چند عاملی می باشد. به عنوان مثال، اگر اطلاعات درباره ویژگی های یک ترکیب ناقص باشد، اطلاعاتی را که در مورد فعالیت آن ترکیب به دست خواهیم آورد، ناکافی خواهد بود و مانع تصمیم گیری قاطع ما می گردد (۹). در روش PCA تمام ویژگی های فیزیکوشیمیایی یک ترکیب به وسیله اجزای اطلاعاتی (Data Component) که از روش نرمسالیسیونیون (Normalization) و اورتوگونالیسیونیون (Orthogonalization) تعیین شده اند، جایگزین می گردند. این امر باعث می شود که تعداد متغیرها در داده های برداری کاهش یافته و کل داده ها در مهم ترین اجزای اطلاعاتی توزیع گردند و در نهایت، تنها خصوصیات که در تعیین فعالیت بیولوژیک یک ترکیب نقش بیشتری دارند، اندازه گیری شده و مورد محاسبه قرار بگیرند (۹، ۱۱).

#### □ فلاونوئیدها

گروهی از ترکیبات پلی فنولی می باشند که در میوه جات و سبزی ها یافت می شوند. فلاونوئیدها اغلب به فرم گلیکوزید در واکوئول های سلول های گیاهی وجود دارند. فلاونوئیدهای غیر گلیکوزید به طور عمده در سلول های پارانشیمی و به مقدار کمتر به صورت ترشخی بر روی برگ درختان موجود می باشند (۱۲). از نظر ساختاری فلاونوئیدها



مخفی بازگشته و تغییرات مورد نظر در معادلات غیرخطی آن ها صورت گرفته و دوباره به واحد خروجی بازگشته و مورد بازبینی قرار می گیرند. این روند بارها صورت می پذیرد تا این که سیستم بتواند یک ارتباط مناسب را میان توصیف گرهای گوناگون که به صورت معادلات غیرخطی بیان گردیده اند، برقرار کند (به عبارت دیگر، آن ها را به صورت معادلات خطی بیان کند). البته ممکن است که سیستم نتواند هیچ گونه ارتباط منطقی میان توصیف گرهای گوناگون برقرار کرده و نتیجه را منفی بیان کند. برنامه AUTONET، نمونه موفق از پردازش گرهای ANN می باشد.

البته موفقیت روش ANN به چندین عامل عمده بستگی دارد که برخی از آن ها عبارتند از: تعداد مناسبی از واحدهای پنهان بایستی مورد استفاده قرار بگیرد. در صورت استفاده از تعداد ناکافی از واحدهای پنهان امکان شکست این روش بالا می رود. واحد تفسیرگر یا آزمون کننده بایستی به اندازه کافی جامع بوده و بتواند واحدهای دریافتی را با توجه به



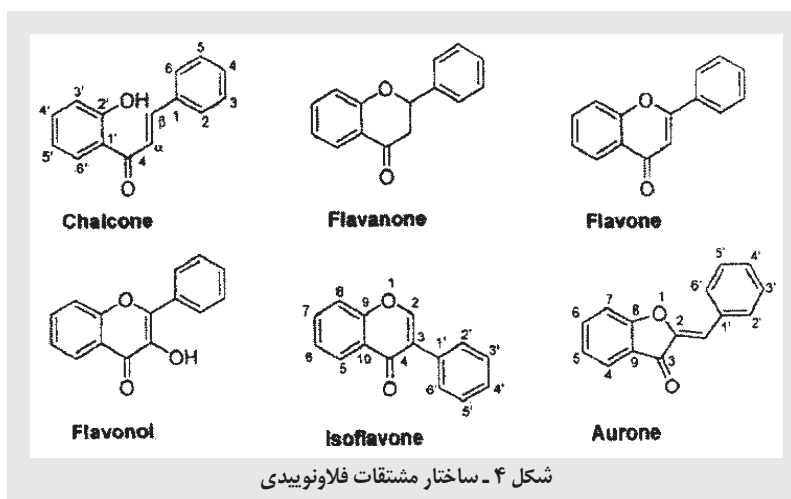
و سالمونلاتیفی و تاثیر بر باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها مانند استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متیسیسین (MSRA)، اثرات ضد مالاریایی، فعالیت ضد زخم معده، اثرات ضد چاقی از طریق کاهش جذب اسیدهای چرب در روده و افزایش تجزیه لیپیدها در بافت‌های چربی، فعالیت‌های ضد التهابی و ضد احتقانی، افزایش نفوذ پذیری عروق با تغییر مقاومت و شکنندگی عروق، درمان بیماری‌های پارانشیمی کبدی، فعالیت مدری، فعالیت اسپاسمولیتیک و اثرات ضد سرطانی هم از طریق خاصیت آنتی‌اکسیدانی با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد با دارا بودن گروه‌های فنولی و همچنین از طریق مهار فعالیت آنزیم سیتوکروم P450 (۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵).

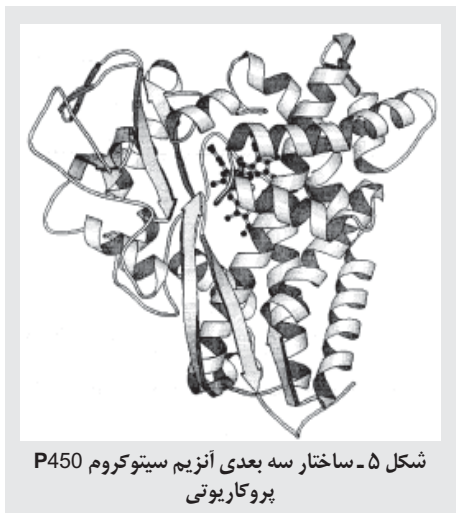
#### □ آنزیم‌های سیتوکروم P450 (CYP)

خانواده بزرگی از منواکسیژنازهای هموپروتئینی می‌باشند که اکسیداسیون طیف

ترکیباتی حاوی سه هسته  $C_6-C_3-C_6$  می‌باشند و بر اساس درجه اکسیداسیون حلقه پیرول مرکزی به سیزده دسته طبقه‌بندی می‌شوند که برخی از آن‌ها عبارتند از: فلاونول‌ها، فلاون‌ها، فلاونون‌ها، ایزوفلاون‌ها، گلیکوفلاون‌ها، پروآنتوسیانیدین‌ها، چالکون‌ها و اورون‌ها (شکل ۴) (۱۳).

تفاوت این دسته‌ها را می‌توان در تنوع، تعداد و مکان قرارگیری گروه‌های هیدروکسیل و میزان گلیکوزیله شدن این گروه‌ها جستجو کرد. فلاونوئیدها رنگ‌های متنوعی مانند آبی، زرد و قرمز را ایجاد می‌کنند و به همین دلیل برای اولین بار در اروپا برای رنگ کردن پارچه‌ها، پشم و نخ‌ها مورد استفاده قرار گرفتند (۱۳، ۱۲). تاکنون اثرات درمانی زیادی برای فلاونوئیدها شناسایی شده است که برخی از آن‌ها عبارتند از: اثرات ضد ویروسی، اثرات ضد میکروبی بر ضد باکتری‌هایی مانند باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوک اورئوس





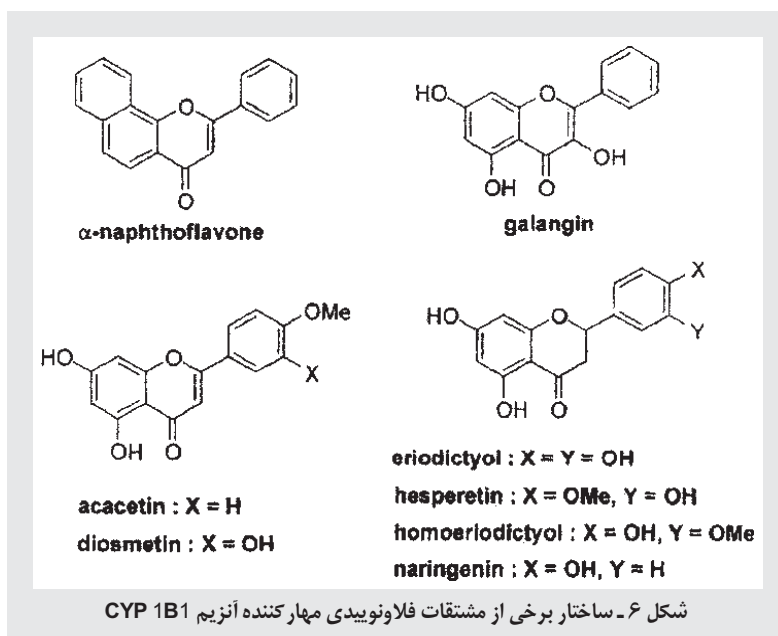
خانواده می باشند که از مهم ترین خانواده های آن CYP1 است که خود شامل سه زیر خانواده با نام های CYP 1A1، CYP 1A2 و CYP 1B1 می باشند. آنزیم CYP 1A1 به مقدار بسیار کمی در بافت کبدی و به طور عمده در بافت های خارج کبدی بیان می شوند و قادر است که هیدروکربن های آرماتیک پلی سیکلیک (PAHs) را اکسید کند؛ محصولات واسطه حاصل از این اکسیداسیون به میزان زیادی سرطان زا می باشند. آنزیم CYP 1A2 در انسان به طور مستمر در کبد بیان می شود ولی در سایر بافت ها یافت نمی گردد (۱۵). این آنزیم قادر است که آریل آمین ها و آمین های هتروسیکلیک که در گوشت های سرخ شده به فراوانی یافت می شوند را فعال کند و مقدمات سرطان زایی را فراهم می کند. آنزیم CYP 1B1 نیز به طور عمده در سلول های مزودرمال خارج کبدی شامل بافت های تولیدکننده استروئید مانند

وسعی از ترکیبات درون زاد (Endogenous) و برون زا (Exogenous) را بر عهده دارند. آنزیم های سیتوکروم P450 در پستانداران نقش های متفاوتی از جمله متابولیسم داروها، هموئوستاز خون، بیوسنتز کلسترول، سنتز استروئیدها را بر عهده دارند. آنزیم های سیتوکروم P450 در پروکاریوت ها نیز یافت می شوند با این تفاوت که آنزیم های سیتوکروم P450 در پروکاریوت ها حدود ۴۰۰ اسید آمینه داشته و عمدتاً به فرم محلول وجود دارند، در حالی که در یوکاریوت ها حدود ۵۰۰ اسید آمینه داشته و به صورت اتصال به غشای شبکه آندوپلاسمی یا غشای داخلی میتوکندری می باشند که توالی از اسید آمینه های آب گریز در انتهای آمینی در اتصال این آنزیم به غشای نقش دارد. ساختمان فضایی آنزیم های سیتوکروم P450 پروکاریوتی اولین بار با استفاده از کریستالوگرافی و پراش اشعه ایکس تعیین گردید. ساختار فضایی آنزیم cam CYP101 مربوط به پروکاریوت ها در شکل (۵) دیده می شود. در حدود نیمی از آنزیم از ماریپیچ  $\alpha$  و نیمی دیگر آن شامل صفحه های  $\beta$  یا ساختارهای غیر تکرار شونده می باشد. اولین آنزیم سیتوکروم P450 یوکاریوتی که ساختار فضایی آن مشخص گردید آنزیم P450 2C5 بود که ساختار آن شامل دو دامنه یک ماریپیچ  $\alpha$  و یک گروه هم (Hem) و دامنه دیگر شامل صفحه های کوچک  $\beta$  می باشد (۱۶).

آنزیم های سیتوکروم P450 که بالغ بر ۵۰ آنزیم می باشند به وسیله حدود ۱۸ ژن کد می شوند. آنزیم های CYP در انسان شامل ۱۷

زیاد این آنزیم در ایجاد سرطان باشد. ترکیبات زیادی هم طبیعی و هم آروماتیکی سنتزی به منظور مهار آنزیم CYP 1B1 مورد شناسایی قرار گرفته است ولی به دلیل عدم دسترسی به مدل‌های سه بعدی لیگاند - گیرنده در مورد آنزیم مذکور، استفاده از روش‌های CADD و طراحی مولکولی مقدور نمی‌باشد. این مشکل با استفاده از سیستم‌های بیانی ناهمگون (Heterologous Expression System) برطرف شده است. به این ترتیب که ژن CYP1 را شناسایی کرده و پس از جدا کردن ژن مورد نظر، با استفاده از آنزیم‌های محدودکننده به وسیله DNA ناقل وارد باکتری می‌کنند. ژن مورد نظر در باکتری بیان می‌شود. اکنون می‌توان تاثیر عوامل مهارکننده را مورد

تخمین‌ها، بیضه‌ها و غده آدرنال و بافت‌های پاسخگو به استروژن مانند پستان و رحم و به مقدار بسیار ناچیزی در کبد و کلیه و ریه‌ها بیان می‌شوند. این آنزیم قادر است که (PAHs) مانند  $\alpha$ -بنزوپیرن، ۷ و ۸ دی‌ال‌دی بنزوپیرن را فعال کند (۱۷). همچنین این آنزیم با هیدروکسیلاسیون ۱۷-بتاستردی‌ال (E2) در بافت‌های پاسخگو به استروژن و طی مراحل، آن را به E2-۳ و ۴ کینون تبدیل کند که این ترکیب به نیتروژن شماره ۷ گوانین موجود در DNA سلول متصل شده و موجب ناپایداری پیوند گلیکوزیدی در DNA و جدا شدن بازهای پورینی از DNA می‌گردد که این رخداد در بافت‌های سرطانی پستان، غدد لنفاوی، ریه و کولون مشاهده شده است که دلیلی بر پتانسیل



جدول ۲- ساختارها و میزان  $IC_{50}$  برای مشتقات فلاونویدی بر روی فعالیت دمتیله کردن نیتروژن شماره ۳ کافئین به وسیله میکروزوم های کبد انسان

Flavonoids	Structure	$IC_{50}$ (M)
Flavone	Chrysin	$2.0 \times 10^{-7}$
	Apigenin	$1.35 \times 10^{-6}$
Flavonol	Luteolin	$1.34 \times 10^{-5}$
	Galangin	$3.06 \times 10^{-6}$
	Quercetin	$1.69 \times 10^{-4}$
	Avicularin	$3.77 \times 10^{-4}$
	Quercitrin	$2.24 \times 10^{-4}$
	Myricetin	$1.85 \times 10^{-4}$
	Fisetin	$2.37 \times 10^{-4}$
	Morin	$9.46 \times 10^{-6}$
	Kaempferol	$7.34 \times 10^{-5}$
	Panascenoside	$3.68 \times 10^{-4}$
Flavanone	Populin	$3.27 \times 10^{-4}$
	Hesperetin	$2.72 \times 10^{-4}$
	Neohesperidin	$5.05 \times 10^{-4}$
	Prunin	$2.73 \times 10^{-4}$
	Hesperetin-5-glucoside	$> 6 \times 10^{-4}$
Flavan	Naringenin	$1.82 \times 10^{-4}$
	(-)Epigallocatechin(EGC)	$1.05 \times 10^{-4}$

P450 1A2 به وسیله فلاونویدها با استفاده از روش QSAR قابل محاسبه می باشد. برای این منظور  $IC_{50}$  مربوط به هر کدام از مشتقات فلاونویدی بایستی محاسبه شود.  $IC_{50}$  به غلظتی از فلاونویدها گفته می شود که برای کاهش فعالیت آنزیم سیتوکروم P450 1A2 (دمتیله کردن نیتروژن شماره ۳ کافئین) به میزان ۵۰ درصد مورد نیاز است. منبع آنزیم سیتوکروم P450 1A2 در این بررسی، میکروزوم کبد انسانی است. مشتقات فلاونویدی با استفاده از طراحی مولکولی II Insight طراحی شدند (جدول ۲).

برای این منظور تمام پیوندهای قابل چرخش ترکیبات با افزایش مرحله به مرحله به اندازه ۶۰ در زاویه پیوندی مورد بررسی قرار گرفتند.

بررسی قرار داد.

از میان ترکیبات آروماتیکی پیرن و مشتقات آن قدرتمندترین مهارکننده آنزیم CYP 1B1 می باشند. از میان ترکیبات طبیعی می توان به فلاونویدها اشاره کرد. از میان فلاونویدها، Hesperitin ، Diosmetin ، Acacatin و Homoeriodictyol اثرات مهاری قابل توجهی دارند که اثر مهاری خود را با استفاده از گروه های هیدروکسیل موجود در روی حلقه انجام می دهند (شکل ۶) (۱۵).

### ■ بررسی ارتباط ساختار و فعالیت

#### مهاری مشتقات فلاونویدی بر آنزیم سیتوکروم P450 1A2

میزان توانایی مهار آنزیم سیتوکروم

قرار می‌گیرد. روش Purning یک شبکه نورونی است که شامل یک واحد ورودی، یک واحد پنهان و یک واحد خروجی می‌باشد. توصیف‌گرهای برگزیده از این روش، به طور عمده شامل بار جزئی کربن ۳، ضریب پی ( $\pi$ ) HOMO مربوط به  $C_3$  و  $C_4$ . مجموع توصیف‌گرهای حاصل از MLR و Purning به وسیله شبکه نورونی ۱ و ۲ که به ترتیب به صورت ۱-۴-۴ و ۱-۲۳-۲۳ عمل می‌کنند مورد پردازش قرار می‌گیرند. برای جلوگیری از هرگونه اشتباه این روش به وسیله ۵۰ شبکه نورونی مستقل تکرار می‌شود. توصیف‌گرهای انتخابی از شبکه نورونی که با توصیف‌گرهای برگزیده از MLR مطابقت دارند، با فعالیت مہاری

نتیجه این روش انتخاب شدن ایزومرهایی با انرژی کم بود. البته در مورد دو ترکیب Neohesperidin و Panasenoside افزایش درجه برای پیوندها به میزان  $30^\circ$  در هر مرحله در نظر گرفته شد، زیرا دو مولکول مذکور پیوندهای قابل چرخش زیادی داشتند. ایزومرهایی پایدار هر مولکول با استفاده از حداقل سازهای انرژی به حداقل انرژی خود رسیدند. به طوری که حداکثر انرژی مجاز برای هر ایزومر کمتر از  $0.001 \text{ Kcal}$  بود. ساختارهای انتخابی با استفاده از مدل AM1 هامیلتون از لحاظ هندسی و فضایی بهینه شدند. به گونه‌ای که معرف‌های مورد استفاده برای هر ترکیب به وسیله برنامه‌های وابسته به QSAR قابل پذیرش باشد. توصیف‌گرهای مورد استفاده در محاسبات NN و MLR عبارتند از: حجم مولکولی، نسبت سطح به حجم، دو قطبی‌های دائمی، HOMO و LUMO، بار جزئی کربن‌های  $C_3$ ،  $C_5$ ،  $C_7$ ،  $C_3'$ ،  $C_4'$  و  $C_5'$  و تفاوت میان HOMO و LUMO.

توصیف‌گرها در ابتدا با استفاده از روش MLR مورد پردازش قرار گرفته و ضریب معکوس (Coefficient Regression) برای هر کدام تعیین می‌شود. ضریب معکوس پایه برابر  $0.001$  در نظر گرفته شد. توصیف‌گرهایی که ضریب معکوسی کمتر از  $0.001$  داشتند، حذف می‌گردند. این امر باعث کاهش تعداد توصیف‌گرها از ۹۰ به ۷۰ شد. در روش شبکه نورونی (Neural Network) دو دسته از توصیف‌گرها شامل توصیف‌گرهای مورد استفاده در MLR و توصیف‌گرهایی که با استفاده از روش Purning انتخاب شده است، مورد استفاده

جدول ۳- ارزش‌های وزنی به دست آمده از روش (Neural Networks) NN

input unit	hidden unit	output unit	weight value
[between input and hidden units]			
Voi	1st		2.396
Voi	2nd		2.497
Voi	3rd		2.399
Voi	4th		2.501
$C_3$	1st		-6.334
$C_3$	2nd		-6.428
$C_3$	3rd		-6.323
$C_3$	4th		-6.433
$C_{p3}$	1st		-6.914
$C_{p3}$	2nd		-6.812
$C_{p3}$	3rd		-6.912
$C_{p3}$	4th		-6.809
$C_{p5}'$	1st		5.330
$C_{p5}'$	2nd		5.227
$C_{p5}'$	3rd		5.326
$C_{p5}'$	4th		5.218
[between hidden and output units]			
	1st	1st	1.418
	2nd	1st	0.414
	3rd	1st	1.345
	4th	1st	0.341

<sup>(a)</sup>NN1 = neural networks using MLR descriptors

جدول ۴ - مقادیر تجربی و  $-\log IC_{50}$  محاسبه شده در آنالیز رگرسیون خطی چندگانه (MLR) و شبکه‌های نورونی (NN2 و NN1)

Compounds	MLR <sup>(a)</sup>			NN1 <sup>(b)</sup>		NN2 <sup>(c)</sup>	
	$-\log(IC_{50})$ (exp)	$-\log(IC_{50})$ (calc)	residual	$-\log(IC_{50})$ (calc)	residual	$-\log(IC_{50})$ (calc)	residual
<b>Training Set</b>							
Chrysin	6.70	6.439	-0.261	6.494	-0.206	6.673	-0.027
Galangin	5.51	5.421	-0.089	5.531	0.021	5.297	-0.213
Morin	5.02	4.938	-0.082	5.097	0.077	5.137	0.117
Luteolin	4.87	4.296	-0.574	4.420	-0.450	4.853	-0.017
Naringenin	3.74	4.060	0.320	4.153	0.413	3.809	0.069
Quercetin	3.77	3.480	-0.290	3.466	-0.304	4.058	0.288
Myricetin	3.73	3.969	0.239	3.514	-0.216	3.653	-0.077
EGC	3.97	4.466	0.496	4.011	0.041	3.898	-0.072
Hesperetin	3.57	3.315	-0.255	3.467	-0.103	3.551	-0.019
Fruin	3.56	3.504	-0.056	3.628	0.068	3.485	-0.075
Populin	3.49	3.020	-0.471	3.459	-0.031	3.494	0.004
Avicularin	3.42	4.046	0.626	3.594	0.174	3.520	0.100
Quercitrin	3.65	3.921	0.271	3.823	0.173	3.477	-0.173
Panasenoside	3.43	3.553	0.123	3.606	0.176	3.466	0.036
<b>Test Set</b>							
Kaempferol	4.13	3.678	-0.452	3.505	-0.625	4.750	0.620
Apigenin	5.87	4.688	-1.182	4.839	-1.031	6.556	0.686
Neohesperidin	3.30	3.586	0.286	3.508	0.208	3.467	0.167
Fisetin	3.63	3.848	0.218	3.677	0.047	3.640	0.010
Hesperetin 5-glucoside	3.22	3.429	0.209	3.474	0.254	3.473	0.253

<sup>(a)</sup>MLR = multiple linear regression analysis  
<sup>(b)</sup>NN1 = neural networks using MLR descriptors  
<sup>(c)</sup>NN2 = neural networks using descriptors selected by pruning method

نماییم (جدول ۴). ترکیبات حاوی گروه آمین به طور عمده بیشترین فعالیت مهاری را دارند [۹].

#### نتیجه‌گیری و جمع‌بندی

با توجه به مطالب ذکر شده درباره روش QSAR، فواید بسیاری را می‌توان برای این روش ذکر کرد که برخی از آن‌ها عبارتند از: ایجاد نگرش صحیح نسبت به ترکیبات با توجه به فعالیت آن‌ها، امکان پیش‌بینی فعالیت و تاثیر ترکیباتی که به میزان کافی در دسترس نیستند

فلاونوئیدهای ارتباط نزدیکی دارند مانند ضریب بی (π) HOMO مربوط به کربن شماره ۳. در حقیقت توصیف‌گرهای حاصل از MLR با استفاده از شبکه نورونی بهینه می‌شوند. با استفاده از ارزش‌های وزنی (Value Weight) به دست آمده از شبکه نورونی (جدول ۳) و ضریب معکوس به دست آمده از MLR،  $-\log IC_{50}$  برای هر کدام از ترکیبات را در قالب NN و MLR محاسبه می‌کنیم. با استفاده از  $-\log IC_{50}$  می‌توان میزان توانایی هر ترکیب را در مهار آنزیم سیتوکروم P450 1A2 پیش‌بینی

QSAR، افق‌های تازه‌ای پیش روی داروسازی قرار گرفته و گام‌های موثری در شناسایی ترکیبات جدید دارویی برداشته شود.

#### منابع

1. Nadendla R. Molecular modeling: A Powerful tool for drug design and molecular docking, via [www.ias.ac.in/resonance/may2004/may2004p51-60](http://www.ias.ac.in/resonance/may2004/may2004p51-60).
2. Gosper J. Computing part II-Lecture 2: Introduction to molecular modeling, via [www.brunel.ac.uk/depts/chem/ch241s/lecture2](http://www.brunel.ac.uk/depts/chem/ch241s/lecture2).
3. Allen M.P. Introduction to molecular dynamics simulation, via [www.fz.juelich.de/nicseries/volume23](http://www.fz.juelich.de/nicseries/volume23).

از درج سایر منابع به خاطر کمیود جا خودداری گردید. بقیه منابع در دفتر نشریه موجود می‌باشند.

یا سنتز آن‌ها به دلایل گوناگون مشکل است (مانند ترکیبات طبیعی)، کمک به درک صحیح تعاملات و واکنش‌های میان گروه‌های عاملی و امکان تعیین بسیاری از ویژگی‌ها با استفاده از اطلاعات و فراسنج‌های محدود. البته باید توجه داشت که برخی از فراسنج‌های مورد استفاده در روش QSAR دارای ارتباط متقاطع (Cross-Related) می‌باشند مانند حجم مولکولی و وزن مولکولی که با توجه به ارتباط متقاطع آن‌ها، در تعیین فعالیت یک ترکیب معین با استفاده از هر کدام از این فراسنج‌ها دچار اشتباه خواهیم شد. همچنین مدل‌های معکوسی که به آن اشاره شد، بیان‌کننده ارتباطات ریاضی هستند و تاثیر بیولوژیکی ترکیبات را نمی‌توان مستقیماً پیش‌بینی کرد. با این وجود، امید است با رفع مشکلات و موانع پیش روی روش

