

بررسی اثر بخشی ترکیب‌های زیست فعال گیاه نارنج بر خارش اورمیک با استفاده از محاسبات داکینگ مولکولی

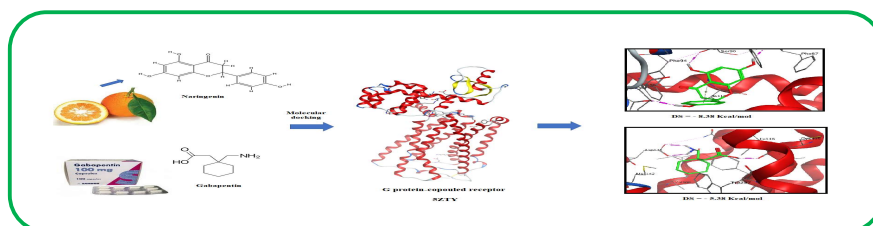
میترا زیاری، سپیده حبیب زاده*، خدیجه دیده بان و حمیدرضا مردانی

بخش شیمی، دانشگاه پیام نور، کدپستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۹ تیر، ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: ۳۰ مرداد، ۱۴۰۱

چکیده: خارش اورمیک یک علامت شایع در بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیه است که حدود یک سوم بیماران دیالیزی را تحت تاثیر قرار داده و کیفیت زندگی آنها را تا حد زیادی کاهش می‌دهد. استفاده از داروهای مشتق شده از گیاهان طبیعی می‌تواند راهی جایگزین برای محدود کردن و درمان خارش اورمیک در بیماران کلیوی باشد. این پژوهش برای ارزیابی پتانسیل ضد خارش برخی از ترکیب‌های زیست فعال نارنج انجام شده است. فرایند شبیه‌سازی داکینگ مولکولی برای برهمکنش ۹ ترکیب زیست فعال نارنج با محل‌های اتصال فعال موجود در چهار گیرنده پروتئینی مرتبط با سازوکار خارش انجام شد. نتایج نشان داد که ترکیب‌های منتخب نارنج به خوبی گیرنده‌های کاپا-اپیوئیدی 4DJH، 6VI4، 6B73 و گیرنده جفت شده با پروتئین-5ZTY، را مهار می‌کنند و اثر بازدارندگی قوی‌تری در مقایسه با داروی ضدخارش گاباپنتین دارند. با توجه به امتیازات اتصال (DS) که در محدوده ۸/۷۲- تا ۴/۸۸- قرار می‌گیرند و همچنین مقدارهای ثابت‌های بازدارندگی (K_i)، بهترین فعالیت‌های ضد خارش مربوط به لیگاند‌های نابیلنتین، کاریوفیلین، نارینجین و تانجرتین می‌باشد. نتایج اتصال نشان داد که می‌توان ترکیب‌های طبیعی نارنج را به عنوان منبع ارزشمندی برای مهار خارش اورمیک در نظر گرفت.

کلید واژه: ترکیب‌های زیست فعال، خارش اورمیک، داکینگ مولکولی، ضد خارش، نارنج



۱- مقدمه

خارش همراه با بیماری مزمن کلیه، که به خارش اورمیک نیز معروف است، یک بیماری شایع، ناراحت کننده و ناشناخته است که بیش از ۶۰ درصد بیماران همودیالیزی را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۱-۳]. یک مطالعه جهانی مقطعی بر روی ۱۸۸۰۱ بیمار همودیالیزی نشان داد که از بین آنها ۲۰ تا ۴۰ درصد بیماران دچار خارش متوسط تا شدید می‌باشند. خارش اورمیک با خارش‌های روزانه شروع می‌شود و در شب معمولاً شدت خارش افزایش می‌یابد. خارش ممکن است وسیع یا موضعی باشد، به ویژه در ناحیه سر، بازوها، پشت و شکم. خارش سیستمیک در این بیماران مشکلاتی از جمله کیفیت پایین خواب، افسردگی، افزایش خطر ابتلا به عفونت، کاهش کیفیت زندگی و حتی افزایش خطر مرگ را به همراه خواهد داشت [۴-۷]. در

حال حاضر هیچ درمان تایید شده‌ای برای خارش اورمیک در ایالات متحده یا اروپا وجود ندارد و دیگر درمان‌ها نیز دارای اثرهای محدود یا عوارض جانبی قابل توجهی هستند، بنابراین درمان یا بهبود خارش اورمیک یک نیاز پزشکی برآورده نشده است [۴]. مهمترین رویکردهای درمانی گزارش شده عبارتند از: (الف) داروی گاباپنتین، (ب) آنتاگونیست‌های گیرنده میو-اپیوئیدی و کاپا-اپیوئیدی، (ج) داروهای دارای اثر ضدالتهابی (د)، نوردرمانی و (ه) طب سوزنی [۸]. گیرنده‌های اپیوئیدی به عنوان یک هدف برای درمان خارش شناخته شده‌اند. گیرنده‌های میو و کاپا که در سامانه عصبی مرکزی و محیطی وجود دارند، با سازوکارهای متضادی عمل می‌کنند [۹]. تحریک گیرنده میو-اپیوئیدی می‌تواند توسط آنتاگونیست‌ها خارش را متوقف کند، در حالی که فعال شدن گیرنده کاپا-اپیوئیدی توسط

برهمکنش آنها با چهار گیرنده پروتئینی به روش داکینگ مولکولی بررسی شد.

۲- روش‌های تجربی و نظری

۲-۱- انتخاب و آماده‌سازی لیگاند

اطلاعات در مورد ترکیب‌های مختلف نارنج، از جمله مواد معدنی، ترکیب‌های آلی و ویتامین‌ها از مقاله‌های علمی جمع‌آوری شد. تمام ترکیب‌های طبیعی موجود در فهرست بر اساس معیارهای داروهماندی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مطابق با قانون پنج لیپینسکی، غربال شدند [۲۴]. ۹ لیگاند فعال‌زیستی نارنج مرحله غربالگری را پشت سر گذاشتند و برای فرایند اتصال به پروتئین انتخاب شدند (جدول ۱). همچنین گاباپنتین، یک داروی موثر ضد خارش اورمیک، به عنوان لیگاند مرجع انتخاب شد [۴]. ساختار سه بعدی لیگاندها از درگاه اینترنتی پابکم با فرمت sdf به دست آمد [۲۵]. هر لیگاند با روش‌های کمینه‌سازی MM⁺ و AM1 و با استفاده از برنامه هایپرکم ۸ بهینه شد. آماده‌سازی هر لیگاند طی دو مرحله انجام شد. اول، محاسبه بارهای جزئی اتم با استفاده از روش گسیتیگر-مارسیلی [۲۶]، دوم ادغام‌کردن هیدروژن‌های غیرقطبی و اختصاص‌دادن پیوندهای قابل‌چرخش. در پایان، ساختارهای بهینه‌شده در قالب فرمت mol2 ذخیره شدند.

۲-۲- آماده‌سازی گیرنده پروتئینی

ساختارهای سه‌بعدی چهار پروتئین هدف، از بانک اطلاعات پروتئین‌ها به صورت فایل‌های pdb با وضوح بالا استخراج شدند [۲۷]. پروتئین‌های منتخب برای مطالعه اثرهای ضدخارش عبارت بودند از: گیرنده کاپا-اپیوئیدی انسانی (4DJH)، گیرنده‌های کاپا-اپیوئیدی (6V14 و 6B73)، و گیرنده جفت‌شده با پروتئین-G (5ZTY). برای آماده‌سازی هر گیرنده پروتئینی از برنامه AutoDock Tools به شرح زیر استفاده شد: لیگاندهای همپلور و مولکول‌های آب حذف و هیدروژن‌های از دست رفته اضافه، بارهای اتمی متحد کولمن تعیین و هیدروژن‌های غیرقطبی ادغام شدند. همچنین، سنج‌های حلال زدایی به هر اتم پروتئین اختصاص یافت [۲۸]. در آخر ساختارهای پروتئینی بهینه‌شده به صورت فایل‌های pdb ذخیره شدند.

۲-۳- پیش‌بینی موقعیت اتصال

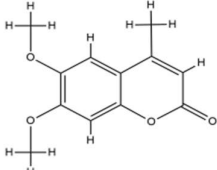
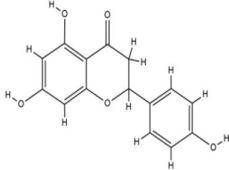
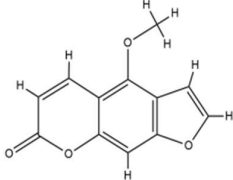
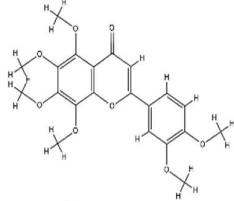
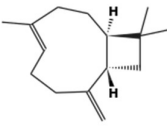
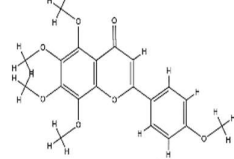
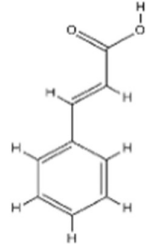
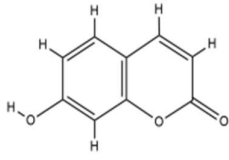
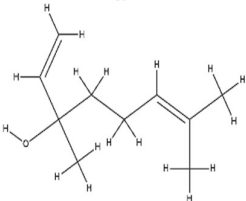
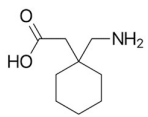
تشخیص محل اتصال گیرنده‌ها با استفاده از برنامه AutoGrid موجود در نرم افزار AutoDock 4.2 به دست آمد و جعبه‌گریب با فاصله ۰/۳۷۵ آنگستروم و به ابعاد ۶۰×۶۰×۶۰ ساخته شد. در برخی از پروتئین‌ها، مختصات جعبه بر اساس موقعیت لیگاندهای همپلور متصل-شده، انتخاب و در برخی دیگر با استفاده از مقاله‌های علمی چاپ‌شده به دست آمد.

آگونیست هارخ می‌دهد و خارش را مهار می‌کند. بررسی-های کمی در مورد خارش اورمیک به‌صورت درون تنی، برون تنی و محاسباتی انجام شده است که بیشتر بررسی‌ها شامل بررسی اثرهای ضد خارش داروهای سنتزی بر انواع خارش می‌باشد. البته بررسی‌هایی در مورد اثرهای ضد خارش ترکیب‌های طبیعی بر انواع دیگری از خارش‌ها گزارش شده است. در این بین، مطالعه لیگاندها و ترکیب‌های طبیعی بر خارش اورمیک بسیار محدود و اندک می-باشد [۱۵-۱۰].

همزمان با پیشرفت روزافزون علم و صنعت داروسازی، نیاز بشر به مواد درمانی با منشا طبیعی موجب شده است تا در استفاده از گیاهان دارویی و تولید داروهای گیاهی بازنگری شود. از آنجا که در طب سنتی و بومی، تعداد بی‌شماری از گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرند، مطالعه بر روی اثرهای گیاهان می‌تواند در دستیابی به اهداف مختلف زیستی و همچنین درمان بیماری‌ها سودمند باشد [۱۶ و ۱۷]. در بین گیاهان دارویی فراوان، نارنج در طب سنتی ایرانی به میزان زیادی مصرف می‌شود. هر یک از اندام‌های گیاه نارنج به دلیل داشتن ترکیب‌های شیمیایی متنوع برای اهداف مختلفی مورد استفاده قرار می‌گیرند. نارنج از خانواده مرکبات و دارای نام علمی *citrus aurantium L.* می‌باشد [۱۷]. گل این گیاه به‌عنوان یک ماده آرام‌بخش شناخته شده است. پوست میوه نارنج که اغلب شامل لیمونن و فلاونوئیدهاست، ویژگی ضدالتهای و ضدقارچی دارد. برگ درخت نارنج نیز برای بیماری‌های قلبی و عروقی موثر است [۱۸ و ۱۹]. در سال‌های اخیر کاربردهای زیادی از عصاره این گیاه در فعالیت‌های زیستی گزارش شده است. شارا و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که میوه نارنج به دلیل اثر بر فرآیندهای متابولیکی و افزایش سرعت سوخت‌وساز پایه و لیپولیز، ماده موثری برای مدیریت وزن انسان و ایمنی است [۱۶]. اثر عصاره گل نارنج در پیشگیری از علائم شبه افسردگی در موش صحرایی توسط محمودی و همکارانش در سال ۱۳۸۴، گزارش شده است [۲۰]. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست میوه نارنج بر اکسایش گوشت خام ماهی توسط پورامیر بررسی و گزارش شده است [۲۱]. اثر عصاره الکلی پوست نارنج بر بیماری دیابت نیز توسط این گروه پژوهشی بررسی شده است [۲۲]. خاکپور و همکارانش نیز در سال ۱۳۹۴ نشان دادند که عصاره گل نارنج بر میزان تستوسترون موش نر موثر است [۱۷]. ساتوح و همکارانش گزارش کرده اند که میوه نارنج در کنترل سلول‌های سرطانی اثر مطلوبی دارد [۲۳].

با توجه به مصرف زیاد گیاه نارنج در طب سنتی و درمان بیماری‌ها، در این پژوهش ما به مطالعه تاثیر ترکیب‌های مختلف نارنج بر بیماری خارش اورمیک به روش محاسباتی علاقمند شدیم. در این راستا تعدادی از ترکیب‌های زیست‌فعال نارنج پس از غربالگری انتخاب و

جدول ۱. ویژگی‌های ۹ ترکیب زیست‌فعال منتخب نارنج به همراه داروی ضدخارش مرجع

ترکیب	فرمول شیمیایی	ساختار شیمیایی	ترکیب	فرمول شیمیایی	ساختار شیمیایی
1			6		
6,7-Dimethoxy-4-methylcoumarin	C ₁₂ H ₁₂ O ₄		Naringenin	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	
2			7		
Bergapten	C ₁₂ H ₈ O ₄		Nobiletin	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	
3			8		
Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄		Tangeretin	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	
4			9		
Cinnamic acid	C ₉ H ₈ O ₂		Umbelliferone	C ₉ H ₆ O ₃	
5			10		
Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O		Gabapentin	C ₉ H ₁₇ NO ₂	

شد. انعطاف‌پذیر در نظر گرفته شدند و گیرنده‌ها سفت و سخت نگه داشته شدند. از بین الگوریتم‌های استاندارد مختلف، الگوریتم لامارکین ژنتیک (LGA) استفاده شد و همه شبیه‌سازی‌ها بر روی یک رایانه شخصی ۷ هسته‌ای (CPU 8 MB) انجام گردید. در ادامه بهترین نتایج داکینگ در میان وضعیت‌های اتصال ایجاد شده، از نظر کمترین انرژی‌های اتصال و بهترین برهم‌کنش‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. نرم‌افزارهای مختلفی از جمله برنامه گرافیک مولکولی PyMOL، برنامه AutoDock Tools (ADT)، نسخه ۱.۵.۶) و برنامه برخط PLIP (پروفایل کاملاً خودکار برهم‌کنش پروتئین-لیگاند) برای تجزیه و تحلیل برهم‌کنش‌ها استفاده شدند [۳۱ و ۳۲]. نتایج داکینگ بر

۴-۲- داکینگ مولکولی

همه شبیه‌سازی‌های داکینگ با استفاده از برنامه DOCKFACE (یک نسخه ابداعی) انجام شد. این نسخه توسط دکتر ساختمان و همکاران ایشان طوری برنامه‌ریزی شده است که مراحل برنامه داکینگ AutoDock 4.2 اعم از آماده‌سازی لیگاند، آماده‌سازی گیرنده، تولید نقشه‌گرید، آماده‌سازی فایل‌های dpf و اجرای فرایند داکینگ را گام به گام اجرا کند [۲۹ و ۳۰]. پس از افزودن بارهای اتمی جزئی و تعریف انواع اتم برای هر لیگاند با استفاده از نرم افزار MGLTOOLS 1.5.6 نسخه ۱.۵.۶، فایل‌های .pdb پروتئین و لیگاند به فایل‌های .pdbqt تبدیل شدند. برای شروع هر فرایند داکینگ، جعبه‌گرید پیش‌بینی شده، تنظیم

نتایج داکینگ بین ۹ ترکیب زیست فعال نارنج و گیرنده کاپا-اپیونیدی انسانی (4DJH) در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشخص است بر اساس امتیازهای به‌دست آمده توانایی اتصال به گیرنده پروتئینی به ترتیب زیر می‌باشد:

نارینجین > کاربوفیلین > تانجرتین > نابیلتن
لیگندهای نابیلتن و تانجرتین بهترین پتانسیل‌های بازدارندگی را به ترتیب با $DS = -8/72$ کیلوکالری-برمول، $K_i = 0/41$ میکرومولار و $DS = -8/54$ کیلوکالری-برمول و $K_i = 0/55$ میکرومولار نشان داده‌اند. تجسم برهم‌کنش‌ها در کمپلکس‌های داک شده نشان داد که نابیلتن و تانجرتین فقط برهم‌کنش‌های آب‌گریز با آمینواسیدهای پروتئین گیرنده به اشتراک گذاشته‌اند در این دسته تنها لیگاند نارینجین است که علاوه بر برهم‌کنش‌های آب‌گریز، دو پیوند هیدروژنی با His291 ($2/53$ آنگستروم) و Asp138 ($2/74$ آنگستروم) برقرار کرده است. همه ترکیب‌های منتخب نارنج (غیر از سینامیک اسید) در مقایسه با داروی ضدخارش گاباپنتین که یکی از داروهای متداول جهت درمان خارش اورمیک است، مهارکنندگی بهتری از خود نشان می‌دهند ($5/68$ - $DS = 68/98$ کیلوکالری-برمول و $K_i = 68/98$ میکرومولار). در مورد گیرنده کاپا-اپیونیدی (6VI4)، همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، بهترین امتیازهای اتصال برای ترکیب‌های زیست‌فعال مورد نظر در توالی زیر قرار می‌گیرند:

نارینجین > کاربوفیلین > تانجرتین > نابیلتن
در این میان، نابیلتن با انرژی اتصال $DS = -8/38$ کیلوکالری-برمول و $K_i = 0/73$ میکرومولار قوی‌ترین اثر مهارکنندگی را از خود نشان داده است. این ترکیب یک پیوند هیدروژنی با آمینواسید Asp138 ($3/43$ آنگستروم) تشکیل داده است، در حالی که ترکیب نارینجین با $7/23$ - $DS = 4/98$ کیلوکالری-برمول و $K_i = 4/98$ میکرومولار سه پیوند هیدروژنی با Ser323 ($2/52$ آنگستروم)، Gln115 ($2/98$ آنگستروم) و Val134 ($2/69$ آنگستروم) و یک پیوند هیدروژن-پای با Thr111 و یک پیوند پای-پای با Tyr320 برقرار کرده است. مقایسه نتایج به‌دست آمده برای داروی مرجع گاباپنتین ($5/66$ - $DS = 70/82$ کیلوکالری-برمول و $K_i = 70/82$ میکرومولار) نشان می‌دهد که در مورد این گیرنده کاپا-اپیونیدی نیز کلیه لیگندها نسبت به داروی مذکور اثر بازدارندگی بهتری دارند.
نتایج داکینگ برای ترکیب‌های مختلف نارنج و گیرنده کاپا-اپیونیدی (6B73) در جدول ۴ ارائه شده است. ترتیب بهترین برهم‌کنش‌ها با این گیرنده پروتئینی به شرح زیر است:

نابیلتن > نارینجین > کاربوفیلین > تانجرتین
لیگاند تانجرتین امتیاز اتصال $DS = -8/67$ کیلوکالری-برمول و $K_i = 0/44$ میکرومولار را از خود نشان داد. در

اساس مقدارهای RMSD زیر ۲ آنگستروم و منفی‌ترین انرژی آزاد پیوندی، قابل اعتماد در نظر گرفته شدند. همچنین، دقت داکینگ با اتصال مجدد لیگندهای هم‌بلور به گیرنده‌های پروتئینی مربوطه بررسی شد [۳۳].

۵-۲- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

پیش‌بینی فعالیت دارویی هر یک از لیگندهای پیشنهادی نیازمند محاسبه سنج‌های جذب، توزیع، سوخت و ساز و دفع (ADME) آن لیگاند است. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ترکیب‌های طبیعی مورد نظر با استفاده از درگاه اینترنتی SWISSADM ارزیابی شدند [۳۴ و ۳۵]. قانون پنج لیپینسکی برای ارزیابی ویژگی‌های داروهماندی مثبت لیگندها در نظر گرفته شد [۳۶].

۶-۲- پیش‌بینی‌های PASS

برنامه غربالگری پیش‌بینی PASS یک ابزار برخط مفید است که ارزیابی فعالیت‌های زیستی لیگندها را فراهم می‌کند [۳۷-۳۹]. احتمال فعال بودن یا نبودن لیگاند در برابر گیرنده با نسبت P_a (احتمال فعال‌بودن) و P_i (احتمال غیرفعال‌بودن) بیان می‌شود. احتمال فعالیت زیستی با $P_a > P_i$ افزایش می‌یابد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تجزیه و تحلیل نتایج داکینگ مولکولی

جستجو برای یافتن آگونیست‌ها یا آنتاگونیست‌های مشتق‌شده از گیاهان و مواد خوراکی طبیعی یک روش کاربردی برای به دست آوردن داروها و درمان‌های مکمل و همچنین محدود کردن عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی است. پژوهشگران به طور گسترده از بررسی‌های داکینگ مولکولی برای پیش‌بینی فعال‌سازی یا مهار پروتئین هدف توسط ترکیب‌ها استفاده کرده‌اند، به این امید که داروهای کم‌خطر و مفیدی برای درمان بیماری‌ها پیدا کنند.

در این پژوهش، شبیه‌سازی داکینگ مولکولی برای ترکیب‌های فعال‌زیستی منتخب نارنج در برابر چندین گیرنده پروتئینی هدف، مرتبط با سازوکار خارش، انجام شد. در کمپلکس‌های داک‌شده انرژی‌های اتصال (DS)، ثابت‌های بازدارندگی (K_i) و همچنین برهم‌کنش‌های مختلف مانند پیوندهای هیدروژنی، برهم‌کنش‌های هیدروژن-پای، پای-پای و برهم‌کنش‌های آب‌گریز در نظر گرفته شدند. برنامه‌های PyMOL و PLIP برای مشاهده برهم‌کنش‌ها و بررسی پتانسیل ضد خارش لیگندهای پیشنهادی مورد استفاده قرار گرفتند. برای اعتبارسنجی فرایند داکینگ، لیگندهای هم‌بلور موجود دوباره به گیرنده‌های مربوطه داک شدند تا مقدارهای RMSD قابل قبول زیر ۲ آنگستروم را به‌دست دهند.

طبیعی از نارنج به خوبی در محدوده فیلترهای تعریف شده قرار گرفتند و ویژگی های ADME آنها در جدول ۶ آورده شده است. جرم مولکولی برای همه لیگاندها کمتر از ۵۰۰ بود و همچنین، تعداد دهنده های پیوند هیدروژنی (≤ 5) و تعداد گیرنده های پیوند هیدروژنی (≤ 10) به خوبی با فیلترها همخوانی داشتند. بیشتر نامزدها به دلیل سطح حلالیت بالا، توانایی جذب خوبی از خود نشان دادند. برخی لیگاندها دارای جذب GI پایین یا چربی دوستی بالا بودند، اما این ترکیب ها نیز با قانون پنج لیپینسکی در توافق هستند.

۳-۳- تجزیه و تحلیل فعالیت های زیستی

با برنامه غربالگری پیش بینی PASS، ترکیب هایی را که دارای بهترین نتایج در برابر گیرنده کاپا-اپیوئیدی از نظر فعالیت های زیستی ضدالتهابی، ضدخارش، ضد حساسیت و ضد درد بودند، بررسی شد. جدول ۷ نشان می دهد که لیگاندهای انتخاب شده از نارنج، چنین فعالیت های زیستی را در کنار مهار گیرنده کاپا-اپیوئیدی از خود نشان می دهند. مقدارهای P_a از 0.0218 تا 0.0745 متغیر بودند و مقدارهای P_a بالاتر از P_i نشان دهنده فعالیت قوی می باشند. داروی مرجع گاباپنتین، پتانسیل مهار گیرنده کاپا-اپیوئیدی را نشان داد و نتایج پیش بینی شده را تایید کرد.

۴- نتیجه گیری

مطالعه حاضر بر روی کاربرد داروهای گیاهی در خصوص بیماران مبتلا به مشکلات کلوی و خارش ناشی از آن موسوم به خارش اورمیک متمرکز شده است. نارنج به عنوان یکی از مرکبات به دلیل داشتن ترکیب های متعدد، دارای فعالیت های زیستی و پزشکی مختلفی است. از میان ترکیب های فیتوشیمیایی طبیعی نارنج، تعدادی از آنها که بر اساس ارزیابی PASS دارای ویژگی های ضدالتهابی، ضدخارش یا ضد آلرژی هستند، برای بررسی مهار خارش اورمیک بوسیله یک فرایند *in-silico* انتخاب شدند. فرایند شبیه سازی داکینگ مولکولی انجام شد و نتایج نشان داد که دست کم ۹ ماده زیستی نارنج قادر به مهار محل های اتصال فعال احتمالی گیرنده های پروتئینی مرتبط با سازوکار خارش هستند. در مجموع می توان گفت که لیگاندهای نابیلتین، کاربوفیلین، نارینجین و تانجرتین بهترین امتیازهای داکینگ را داشتند و می توان آنها را مهارکننده های قابل قبولی برای گیرنده های کاپا-اپیوئیدی 4DJH، 6VI4، 6B73 و گیرنده جفت شده با پروتئین-G، 5ZTY در نظر گرفت. این پژوهش می تواند منجر به تجزیه و تحلیل فعالیت ضدخارش ترکیب های نارنج برای مهار یا محدود کردن خارش های آزاردهنده اورمیک در بیماران همدیالیزی شود.

رده بعد، لیگاند کاربوفیلین امتیاز اتصال $DS = -0.48$ کیلوکالری بر مول و $K_i = 0.61$ میکرومولار را به دست داد. این لیگاندها هیچ پیوند هیدروژنی با گیرنده 6B73 ایجاد نمی کنند و تنها از طریق برهمکنش های آبگریز در موضع فعال پروتئین جای می گیرند. در این بین نارینجین با تشکیل سه پیوند هیدروژنی با آمینو اسیدهای His291 ($2/66$ آنگستروم) و Tyr312 ($3/02$ آنگستروم) و Asp138 ($2/96$ آنگستروم)، امتیاز اتصال $DS = -0.72$ کیلوکالری بر مول و $K_i = 0.07$ میکرومولار را از خود نشان داد. نتایج برای داروی گاباپنتین در مقابل این گیرنده کاپا اپیوئیدی از دیگر گیرنده ها بهتر است ($DS = -0.706$ کیلوکالری بر مول و $K_i = 0.68$ میکرومولار) و تا حدودی نزدیک به نتایج حاصل از ترکیب های زیست فعال نارنج است. شکل 1a برهمکنش های داکینگ بین داروی گاباپنتین و گیرنده کاپا-اپیوئیدی 6B73 را در جایگاه فعال پروتئین نشان می دهد.

فعالیت ضدخارش ترکیب های نارنج در مقابل گیرنده جفت شده با پروتئین-G (5ZTY) بررسی و بهترین نتایج به ترتیب زیر مشاهده شد:

تانجرتین > نابیلتین > نارینجین > کاربوفیلین
نتایج جدول ۵ نشان داد که ترکیب های کاربوفیلین و نارینجین به ترتیب بهترین امتیازهای داکینگ -0.53 و -0.38 کیلوکالری بر مول را از خود نشان دادند. کاربوفیلین با ثابت بازدارندگی برابر $K_i = 0.56$ میکرومولار تنها از طریق برهمکنش های آبگریز به گیرنده پروتئینی متصل شده است، اما در مورد نارینجین با ثابت بازدارندگی $K_i = 0.72$ ، چندین آمینو اسید در ایجاد برهمکنش با گیرنده پروتئینی نقش دارند، از جمله سه پیوند هیدروژنی با Tyr25 ($2/72$ آنگستروم)، Ser90 ($2/87$ آنگستروم) و Phe87 ($2/93$ آنگستروم) و همچنین یک پیوند هیدروژن-پای با اسید آمینه His95. نتایج نشان می دهند که کلیه ترکیب های منتخب نارنج به جز سینامیک اسید در مقایسه با گاباپنتین مهارکننده های بهتری هستند. برای داروی مرجع، مقدارهای $DS = -0.38$ کیلوکالری بر مول و $K_i = 113/83$ میکرومولار به دست آمد. در شکل 1b شبیه سازی داکینگ برای برهمکنش بین 5ZTY لیگاند نارینجین و گیرنده پروتئینی قابل مشاهده است.

۳-۲- تجزیه و تحلیل فیزیکوشیمیایی

توصیفگرهای فیتوشیمیایی مجموعه ای از ترکیب های نارنج به کمک ارزیابی ADME محاسبه و تجزیه و تحلیل شدند. جرم مولکولی، تعداد پیوندهای قابل چرخش، تعداد دهنده های پیوند هیدروژنی، تعداد گیرنده های پیوند هیدروژنی، چربی دوستی ($\log P$)، حلالیت در آب ($\log S$)، و جذب گوارشی GI، جهت ارزیابی ویژگی های دارو همانندی آنها مورد بررسی قرار گرفتند. ۹ لیگاند

جدول ۲. نتایج داکینگ برای برهمکنش ترکیب‌های منتخب نارنج با گیرنده پروتئینی 4DJH

ترکیب	DS (kcal mol ⁻¹)	No. of H-Bonds	K _i (μM)	Hydrogen bond Interactions with their length (Å)		Hydrophobic interactions
6,7-Dimethoxy-4-methylcoumarin	-۶/۴۳	۱	۱۹/۴۰	Thr111	۲/۸۲	Lys227, Val230, Ile290, Ile294
Bergapten	-۷/۳۶	۱	۴/۰۱	His291	۳/۱۶	Lys227, Val230, Ile290, Ile294
Caryophyllene	-۷/۸۹	۰	۱/۶۵	-	-	Tyr66, Gln115, Tyr313, Ile316 Ala317, Tyr320
Cinnamic acid	-۴/۸۸	۲	۲۶۳/۲۶	Tyr313 Gln115	۲/۹۱ ۳/۲۵	Val230, Trp287, Ile290, Ile29
Linalool	-۵/۷۱	۱	۶۴/۹۲	Ile316	۲/۸۰	Phe231, Trp287, Ile290, His291 Ile294, Leu295
Naringenin	-۷/۶۳	۲	۲/۵۷	His291 Asp138	۲/۵۳ ۲/۷۴	Lys227, Val230, Ile294
Nobiletin	-۸/۷۲	۰	۰/۴۱	-	-	Ile290, Ile294, Ile316
Tangeretin	-۸/۵۴	۰	۰/۵۵	-	-	Val230, Ile290, Ile294, Ile316
Umbelliferone	-۶/۴۱	۲	۲۰/۰۷	His291 Tyr139 Asp138	۲/۶۷ ۲/۸۷ ۲/۵۴	Tyr139, Lys227, Val230, His291, Ile294
Gabapentin	-۵/۶۸	۳	۶/۹۸	Asp138 Asp138 Asp138	۲/۷۰ ۳/۰۱	Val230, Ile290, Ile294

جدول ۳. نتایج داکینگ برای برهمکنش ترکیب‌های منتخب نارنج با گیرنده پروتئینی 6VI4

ترکیب	DS (kcal mol ⁻¹)	No. of H-Bonds	K _i (μM)	Hydrogen bond Interactions with their length (Å)		Hydrophobic interactions
6,7-Dimethoxy-4-methylcoumarin	-۶/۵۶	۱	۱۵/۵۴	Thr111	۲/۷۲	Val108
Bergapten	-۶/۹۲	۰	۸/۴۲	-	-	Val108, Thr111, Asp138, Ile316
Caryophyllene	-۷/۷۳	۰	۲/۱۴	-	-	Val108, Trp287, Ile290 Ile316, Tyr320
Cinnamic acid	-۵/۵۰	۳	۹۳/۲۱	Tyr139 Tyr139 Lys227	۳/۰۵ ۳/۳۸ ۲/۹۰	Lys227, Val230, Phe231 Ile294, Leu295
Linalool	-۵/۷۱	۱	۶۵/۷۷	Ser323	۲/۸۷	Val108, Thr111, Ile137, Asp138, Trp287, Ile316, Tyr320
Naringenin	-۷/۲۳	۳	۴/۹۸	Ser323 Gln115 Val134	۲/۵۲ ۲/۹۸ ۲/۶۹	Thr111, Gln115, Ile316
Nobiletin	-۸/۳۸	۱	۰/۷۳	Asp138	۳/۴۳	Trp287
Tangeretin	-۸/۰۲	۰	۱/۳۲	-	-	Val134, Leu135, Asp138, Tyr320
Umbelliferone	-۶/۲۱	۱	۲۷/۹۷	His291	۲/۷۶	Lys227, Val230, Ile294
Gabapentin	-۵/۶۶	۲	۷/۸۲	Thr111 Asp138	۳/۰۵ ۲/۴۴	Ile316, Tyr320

جدول ۴. نتایج داکینگ برای برهمکنش ترکیب‌های منتخب نارنج با گیرنده پروتئینی 6B73

ترکیب	DS (kcal mol ⁻¹)	No. of H- Bonds	K _i (μM)	Hydrogen bond Interactions with their length (Å)		Hydrophobic interactions
6,7-Dimethoxy-4-methylcoumarin	-۶/۷۱	۰	۱۲/۰۳	-		Lys227, Val230, His291, Ile294
Bergapten	-۷/۰۹	۰	۶/۳۰	-		Met142, Tyr320
Caryophyllene	-۸/۴۸	۰	۰/۶۱	-		Val108, Trp287, Ile294, Ile316, Tyr320
Cinnamic acid	-۴/۹۸	۱	۲۲۲/۷۰	His291	۲/۷۹	Phe114, Gln115, Val118, Trp124 Val134, Leu135, Asp138
Linalool	-۶/۰۲	۱	۳۸/۸۷	Asp138	۲/۶۷	Val108, Met142, Ile290, Ile316, Tyr320
Naringenin	-۷/۵۱	۳	۳/۱۵	His291 Tyr312 Asp138	۲/۶۶ ۳/۰۲ ۲/۹۶	Met142, Trp287, Ile290, Tyr320
Nobiletin	-۷/۲۲	۱	۵/۰۷	Lys227	۲/۹۲	Met142, Ile294
Tangeretin	-۸/۶۷	۰	۰/۴۴	-		Met142, Trp287, Ile290, Ile294
Umbelliferone	-۶/۱۶	۲	۳۰/۴۴	Ile316 Ser323	۲/۹۷ ۲/۷۵	Lys227, Val230, His291, Ile294
Gabapentin	-۷/۰۶	۳	۶/۶۸	Ile316 Asp138 Asp138	۲/۶۳ ۲/۶۵ ۲/۶۷	Val108, Met142, Trp287, Tyr320

جدول ۵. نتایج داکینگ برای برهمکنش ترکیب‌های منتخب نارنج با گیرنده پروتئینی 5ZT

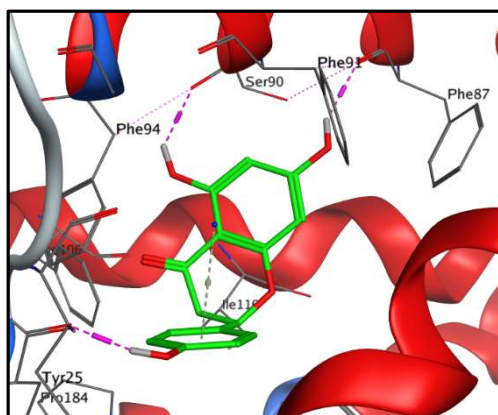
ترکیب	DS (kcal mol ⁻¹)	No. of H- Bonds	K _i (μM)	Hydrogen bond Interactions with their length (Å)		Hydrophobic interactions
6,7-Dimethoxy-4-methylcoumarin	-۶/۶۶	۱	۱۳/۲۱	Ser285	۳/۵۰	Phe183, Ala282
Bergapten	-۷/۰۱	۱	۷/۲۶	Leu191	۲/۷۴	Ile110, Val113, Ile186, Tyr190, Leu191, Trp194
Caryophyllene	-۸/۵۳	۰	۰/۵۶	-		Phe87, Phe94, Phe106, Lys109, Ile110, Val113
Cinnamic acid	-۵/۲۹	۲	۱۳۱/۴۴	Asn93 Lys109	۲/۷۸ ۲/۷۰	Phe94, Lys109, Ile110
Linalool	-۵/۴۷	۱	۹۷/۸۷	Tyr25	۲/۷۷	Tyr25, Phe94, Leu182, Phe183 Lys278
Naringenin	-۸/۳۸	۳	۰/۷۲	Tyr25 Ser90 Phe87	۲/۷۲ ۲/۸۷ ۲/۹۳	Tyr25, Phe94, Phe106, Ile110 Phe183
Nobiletin	-۸/۲۵	۲	۰/۹۰	Cys288 His95	۲/۹۷ ۳/۱۱	Phe94, Phe106, Ile110, Pro184
Tangeretin	-۷/۹۷	۲	۱/۴۳	Cys288 Cys288	۳/۱۸ ۳/۲۴	Phe94, Phe106, Lys109, Ile110, Val113, Val183
Umbelliferone	-۵/۹۴	۱	۴۴/۵۵	Phe106	۲/۹۶	Phe91, Phe106, Lys109, Ile110 Val113
Gabapentin	-۵/۳۸	۱	۱۱/۸۳	Glu181	۲/۵۲	Tyr25, Phe94, Leu182

جدول ۶. سنجه‌های لیپینسکی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ترکیب‌های منتخب نارنج

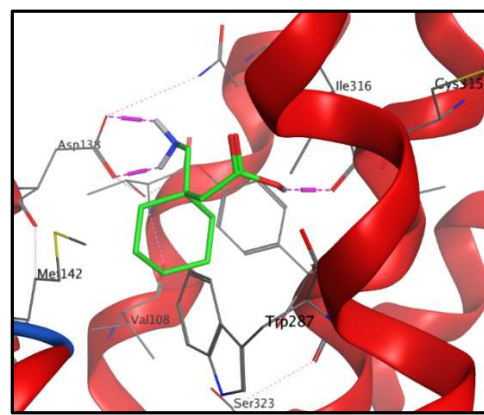
ترکیب	شناسه پاب کم	جرم مولکولی (g mol ⁻¹)	تعداد پیوندهای قابل چرخش	دهندگان پیوند هیدروژنی	پذیرندگان پیوند هیدروژنی	چربی دوستی	حلالیت در آب	جذب گوارشی	تخلف از قانون لیپینسکی
6,7-Dimethoxy-4-methylcoumarin	۷۷۹۶۶	۲۲۰/۲۲	۲	۰	۴	۲/۴۶	-۲/۹۲	بالا	۰
Bergapten	۲۳۵۵	۲۱۶/۱۹	۱	۰	۴	۲/۲۹	-۲/۹۳	بالا	۰
Caryophyllene	۵۳۵۴۴۹۹	۲۰۴/۳۶	۰	۰	۰	۳/۲۹	-۳/۸۷	پایین	۱
Cinnamic acid	۴۴۴۵۳۹	۱۴۸/۱۶	۲	۱	۲	۱/۵۵	-۲/۳۷	بالا	۰
Linalool	۶۵۴۹	۱۵۴/۲۵	۴	۱	۱	۲/۷۰	-۲/۴۰	بالا	۰
Naringenin	۹۳۲	۲۷۲/۲۵	۱	۳	۵	۱/۷۵	-۳/۴۹	بالا	۰
Nobiletin	۷۲۳۴۴	۴۰۲/۴۰	۷	۰	۸	۳/۹۶	-۴/۱۸	بالا	۰
Tangeretin	۶۸۰۷۷	۳۷۲/۳۷	۶	۰	۷	۳/۷۱	-۴/۱۱	بالا	۰
Umbelliferone	۵۲۸۱۴۲۶	۱۶۲/۱۴	۰	۱	۳	۱/۴۴	-۲/۴۶	بالا	۰

جدول ۷. پیش بینی PASS برای برخی از ترکیب‌های زیست‌فعال منتخب نارنج و همچنین داروی مرج

Gabapentin		Caryophyllene		Naringenin		Nobiletin		Tangeretin		فعالیت زیستی
P _a	P _i	P _a	P _i	P _a	P _i	P _a	P _i	P _a	P _i	
۰/۳۲۰	۰/۱۴۴	۰/۷۴۵	۰/۰۱۱	۰/۶۶۰	۰/۰۲۱	۰/۶۹۴	۰/۰۱۷	۰/۷۰۵	۰/۰۱۵	ضد التهاب
۰/۳۰۷	۰/۱۰۹	۰/۴۴۲	۰/۰۴۷	۰/۲۸۷	۰/۱۳۰	۰/۳۴۳	۰/۰۸۰	۰/۳۳۱	۰/۰۸۸	ضد خارش
-	-	-	-	۰/۲۸۷	۰/۱۳۰	۰/۶۳۶	۰/۰۱۳	۰/۵۷۵	۰/۰۱۸	ضد آلرژی
۰/۷۰۸	۰/۰۰۹	-	-	-	-	-	-	-	-	ضد درد
۰/۳۵۷	۰/۰۴۰	۰/۳۰۱	۰/۰۸۴	۰/۴۲۳	۰/۰۱۶	۰/۲۸۸	۰/۰۹۷	۰/۲۷۷	۰/۱۱۲	آگونیست گیرنده کاپا-اوپیوئیدی



(a)



(b)

شکل ۱. (a) برهم‌کنش‌های داکینگ بین داروی گاباپنتین و گیرنده کاپا-اوپیوئیدی 6B73، (b) برهم‌کنش‌های داکینگ بین لیگاند نارینجین و گیرنده جفت‌شده با پروتئین-G، 5ZTY. لیگاندها به رنگ سبز و پیوندهای هیدروژنی به رنگ بنفش نشان داده شده‌اند.

- [19] N. Gholizade, Z. Khanbabapoor, F. Habibnejad, M. Lakzaei, M. Pouramir, J. Babol. Univ. Medical Sci. 11 (2009) 7.
- [20] م. ش. میمندي، ع. فرومدي، ش. رفتاري، م. ا. شکاری، م. محمودي، مجله علوم پزشکی کرمان ۱۲ (۱۳۸۴) ۲۴۴.
- [21] ز. گلي، م. لکزايي، م. پورامير، مجله علوم تغذيه و صنايع غذايي ايران ۵ (۱۳۸۹) ۱۹.
- [22] M. Lakzaei, M. Pouramir, A. Moghadamnia, H. Mir, J. Babol Univ. Medical Sci. 14 (2012) 19.
- [23] Y. Satoh, S. Tashiro, M. Satoh, Y. Fujimoto, J. Xu, T. Ikekawa, Yakugaku Zasshi: J. Pharm. Soc. Jpn. 116 (1996) 244.
- [24] P.B. Jadhav, A.R. Yadav, M.G. Gore, Int. J. Pharm. Biol. Sci. 6 (2015) 142.
- [25] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.
- [26] J. Gasteiger, M. Marsili, Tetrahedron. 36 (1980) 3219.
- [27] <https://www.rcsb.org>.
- [28] S.J. Weiner, P.A. Kollman, D.A. Case, U.C. Singh, C. Ghio, G. Alagona, S. Profeta, P. Weiner, J. Am. Chem. Soc. 106 (1984) 765.
- [29] A. Mojaddami, A. Sakhteman, M. Fereidoonzezhad, Z. Faghil, A. Najdian, S. Khabnadideh, H. Sadeghpour, Z. Rezaei, Res. Pharm. Sci. 12 (2017) 21.
- [30] S. Habibzadeh, M.E. Zohalinezhad, Biointerface Res. Appl. Chem. 12 (2021) 6382.
- [31] S. Salentin, S. Schreiber, V.J. Haupt, M.F. Adasme, M. Schroeder, Nucleic Acids Res. 43 (2015) W443.
- [32] M.F. Adasme, K.L. Linnemann, S.N. Bolz, F. Kaiser, S. Salentin, V.J. Haupt, M. Schroeder, Nucleic Acids Res. 49 (2021) W530.
- [33] V.K. Vishvakarma, B. Nand, V. Kumar, K. Kumari, I. Bahadur, P. Singh, Comput. Toxicol. 16 (2020) 100140.
- [34] J.A. Daina, O. Michieli, V. Zoete, Sci. Rep. 7 (2017) 1.
- [35] <https://www.swissadme.ch>.
- [36] A. Mehmood, S. Khan, S. Khan, S. Ahmed, A. Ali, M. Hamza, S. ur Rehman, A.M. Khan, A.H. Shah, Q. Bai, Saudi. J. Biol. Sci. 28 (2021) 3137.
- [37] A.A. Parikesit, R. Nurdiansyah, Cermin Dunia Kedokteran. 47 (2020) 222.
- [38] A. Lagunin, A. Stepanchikova, D. Filimonov, V. Poroikov, Bioinform. 16 (2000) 747.
- [39] <http://www.way2drug.com/passonline>.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از راهنمایی‌های ارزنده دکتر محمد ابراهیم زحلی نژاد (هیئت علمی بخش طب سنتی دانشگاه علوم پزشکی شیراز) صمیمانه قدردانی می‌نمایند.

*عهده‌دار مکاتبات

نشانی: ایران، استان تهران، شهر تهران، دانشگاه پیام نور، بخش شیمی

مراجع

- [1] R. Feldman, N. Berman, M.C. Reid, J. Roberts, R. Shengelia, K. Christianer, B. Eiss, R.D. Adelman, J. Palliat. Med. 16 (2013) 1528.
- [2] S.D. Weisbord, L.F. Fried, M.K. Mor, A.L. Resnick, M.L. Unruh, P.M. Palevsky, D.J. Levenson, S.H. Cooksey, M.J. Fine, P. L. Kimmel, Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2 (2007) 960.
- [3] E. Weisshaar, U. Matteredne, T. Mettang, Nephrol. Dial. Transplant. 24 (2009) 1328.
- [4] T. Lau, S. Leung, W. Lau, Can. J. Kidney Health Dis. 3 (2016) 1.
- [5] R.L. Pisoni, B. Wikström, S.J. Elder, T. Akizawa, Y. Asano, M.L. Keen, R. Saran, D.C. Mendelssohn, E.W. Young, F.K. Port, Nephrol. Dial. Transplant. 21 (2006) 3495.
- [6] L. Manenti, P. Tansinda, A. Vaglio, Drugs. 69 (2009) 251.
- [7] T. Mettang, A.E. Kremer, Kidney. Int. 87 (2015) 685.
- [8] N.Z. Sepehri, M.M. Parvizi, S. Habibzadeh, F. Handjani, Evid. Based. Complement. Alternat. Med. (2022) 2022.
- [9] P.-Y. Tseng, M.A. Hoon, The Kappa Opioid Receptor. Handbook of Experimental Pharmacology. 271 (2020) 255.
- [10] M. Uma, J. Bioinform. Seq. Anal. 3 (2011) 6.
- [11] K.-I. Kusakabe, Y. Iso, Y. Tada, M. Sakagami, Y. Morioka, N. Chomei, S. Shinonome, K. Kawamoto, H. Takenaka, K. Yasui, Bioorg. Med. Chem. 21 (2013) 3154.
- [12] S.A. Combs, J.P. Teixeira, M.J. Germain, Semin. Nephrol. 35 (2015) 383.
- [13] M. Raouf, T.J. Atkinson, M.W. Crumb, J. Fudin, J. Pain. Res. 10 (2017) 275.
- [14] R. Kaur, V. Sinha, Eur. Neuropsychopharmacol. 28 (2018) 341.
- [15] A. Agrawal, G.T. Kulkarni, Indian. J. Biochem. Biophys. 57 (2020) 578.
- [16] D. Bagchi, H.G. Preuss, Obesity: epidemiology, pathophysiology, and prevention. CRC press. 2007.
- [17] م. میرزایی، ش. خاکپور، م. خسروی، ص. اربابیان، فصلنامه علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی دوره ۲۲ (۱۳۹۱) ۱۰۱.
- [18] A. Gurib-Fakim, Mol. Aspects Med. 27 (2006) 1.