

## Molecular Modeling of Drug-Albumin Interactions: A case Study on Antifungal Agents

Mamizadeh R, Razzaghi-Asl N\*

Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

\* *Corresponding author.* Tel: +984533523833, Fax: +984533522197, E-mail: n.razzaghi@pharmacy.arums.ac.ir

Received: Oct 23, 2017 Accepted: Feb 19, 2018

### ABSTRACT

**Background & objectives:** the interaction of albumin- the most important plasma protein- with various drugs leads to variations in the pharmacokinetics of drugs. Since interaction of different pharmaceuticals with albumin is determinant in the estimation of dose and prediction of drug-drug and drug-food interferences, studying the binding ability of different drugs with albumin is an active area of research.

**Methods:** Docking studies were performed by Lamarckian Genetic Algorithm of AutoDock 4.2 program. The three-dimensional structures of albumin were obtained from Brookhaven protein data bank (2BXD & 2BXF; *www.rcsb.org*). Pre-processing of molecules was done using AM1 method and AutoDock Tools 1.5.4 software. AM1 optimization method was performed using Polak-Ribiere (conjugate gradient) algorithm with termination condition as RMS gradient of 0.1 Kcal/Å mol. Schematic representation of drug-albumin complexes were obtained by Ligplot.

**Results:** Oxiconazole and fenticonazole were top-ranked drugs in binding to site 1 (subdomain IIA) and 2 (subdomain IIIA) of albumin, respectively (  $G_b$  -9.01 and -9.89 kcal.mol<sup>-1</sup>). Leu238 and Ala291 were the key residues of site 1 due to hydrophobic contacts with all of the antifungals, while Ile388, Asn391 and Leu430 were the key residues of site 2. A few structure binding relationship rules could be extracted from the binding pattern of antifungal drugs.

**Conclusion:** It was found that antifungal agents might have higher affinity toward site 2 of albumin rather than site 1. Estimated high albumin affinities of antifungals provided the possibility of drug-drug or drug-food interactions. It seemed that hydrophobic contacts were more significant in binding antifungals to albumin.

**Keywords:** Drug; Antifungal; Albumin; Pharmacokinetics; Molecular Docking

# مدل سازی برهمکنش دارو- آلبومین عوامل ضد قارچی: یک مطالعه موردی

رضا ممی زاده، نیما رزاقی اصل\*

گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۵۳۳۵۲۳۸۳۳. فاکس: ۰۴۵۳۳۵۲۲۱۹۷. پست الکترونیک: n.razzaghi@pharmacy.arums.ac.ir

## چکیده

**زمینه و هدف:** برهمکنش آلبومین (به عنوان مهمترین پروتئین پلاسما) با داروهای مختلف باعث ایجاد تغییرات فارماکوکینتیکی می شود. از آنجایی که تعامل داروهای مختلف با آلبومین در تعیین دوز و پیش بینی تداخلات داروها و دارو با غذا تعیین کننده است، مطالعه در مورد توانایی اتصال داروهای مختلف به آلبومین زمینه مطالعاتی بسیار مهمی محسوب می باشد. **روش کار:** داکینگ توسط الگوریتم ژنتیکی لامارکین گنجانده شده در نرم افزار اتوداک ۴.۲ انجام گرفت. ساختارهای سه بعدی آلبومین با استفاده از پایگاه اطلاعاتی بروک هاون (2BXD & 2BXF; www.rcsb.org) به دست آمدند. آماده سازی فایل های مولکول ها توسط روش AM1 و نرم افزار AutoDock Tools انجام شد. روش بهینه سازی AM1 با استفاده از الگوریتم Polak Ribiere (conjugate gradient) با شرایط نهایی گرادیان  $RMS 0.1 \text{ Kcal} / \text{Å mol}$  انجام شد. برهمکنش های دارو- آلبومین توسط نرم افزار لیگ پلات نشان داده شد.

**یافته ها:** اُکسیکونازول و فنتیکونازول به ترتیب قوی ترین اتصال را به سایت های ۱ (IIA) و ۲ (IIIA) آلبومین از خود نشان دادند (انرژی آزاد اتصال ۹/۰۱- و ۹/۸۹- کیلو کالری بر مول). لوسین ۲۳۸ و آلانین ۲۹۱ اسیدهای آمینه کلیدی در اتصال به سایت ۱ و ایزولوسین ۳۸۸، آسپارژین ۳۹۱ و لوسین ۴۳۰ مهم ترین اسیدهای آمینه در اتصال به سایت ۲ بودند. **نتیجه گیری:** یافته های این مطالعه نشان داد که احتمالاً ضد قارچ ها تمایل بالاتری برای اتصال به سایت ۲ آلبومین دارند. مقادیر نسبتاً بالای انرژی آزاد اتصال داروهای ضد قارچ به آلبومین لزوم بررسی های بیشتر در زمینه مقایسه قدرت اتصال داروهای ضد قارچ و سایر داروها با آلبومین را مطرح می سازد. همچنین نتایج به دست آمده حاکی از این مطلب هستند که در اتصال داروهای ضد قارچ به آلبومین، برهمکنش های هیدروفوبی مهم تر از پیوندهای هیدروژنی هستند.

**واژه های کلیدی:** دارو، ضد قارچ، آلبومین، فارماکوکینتیک، داکینگ مولکولی

پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۳۰

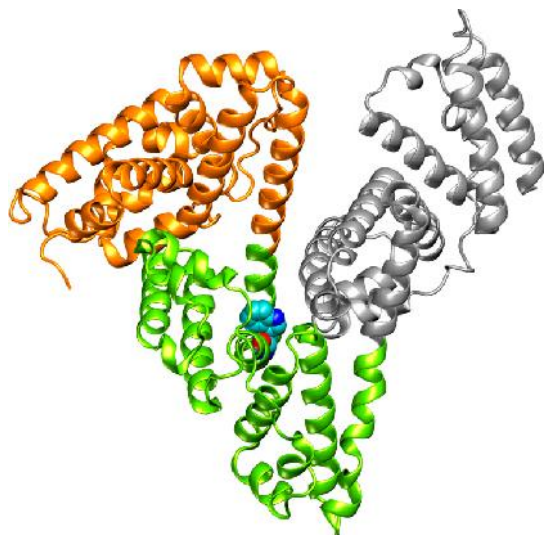
دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۰۱

## مقدمه

پروتئین های پلاسما حائز اهمیت بسیاری است زیرا اثر قابل توجهی بر فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک دارو دارد. میزان و نحوه اتصال یک دارو به آلبومین می تواند منجر به تداخل داروی تجویز شده با ترکیبات اندوژن، اگزوژن و یا سایر داروهای مصرفی و در نتیجه بروز تغییرات در طول مدت اثر، متابولیسم و غلظت آزاد دارو در پلاسما گردد [۲].

آلبومین فراوان ترین و مهم ترین پروتئین پلاسمایی است که نقش مهمی در حفظ pH پلاسما، تنظیم فشار اسمزی خون و همچنین جابجایی و توزیع ترکیبات مهم اندوژن همچون متابولیت ها، اسیدهای چرب، هورمون ها و همچنین داروها در سیستم گردش خون دارد [۱]. تمایل اتصال یک مولکول دارو به

در صورت داشتن آگاهی نسبت به نوع برهمکنش‌های شیمیایی دارو با آلبومین، عملکرد فارماکوکینتیک مولکول دارو تا حدی قابل پیش بینی بوده و امکان طراحی آنالوگ‌های دارویی با ویژگی‌های فارماکولوژیک بهتر و همچنین تصحیح فرمولاسیون و دوز بهینه دارو میسر خواهد شد.



شکل ۱. ساختار سه بعدی آلبومین انسانی (PDB ID: 1N5U)، نواحی I (نارنجی)، II (سبز) و III (خاکستری)

محل اصلی اتصال داروهای آروماتیک و هتروسیکل به آلبومین در دو پاکت هیدروفوبی واقع در نواحی IIA و IIIA قرار دارد که به ترتیب به نام سایت‌های اتصال ۱ و ۲ شناخته می‌شوند [۸]. به عنوان مثال وارفارین به سایت ۱ و بنزودیازپین‌ها و ایوپروفن به سایت ۲ اتصال می‌یابند [۹]. مسئله مهمی که در اینجا قابل طرح است امکان تداخلات جدی دارویی بر اثر اتصال رقابتی به سایت‌های ۱ و ۲ آلبومین است. به عنوان مثال اثر ضد انعقادی داروی وارفارین بر اثر تجویز همزمان داروهای ضد التهابی فنیل بوتازون به دلیل اتصال رقابتی فنیل بوتازون به سایت ۱ و در نتیجه افزایش غلظت غیر کمپلکس وارفارین افزایش می‌یابد. مثالی دیگر در این زمینه افزایش خاصیت ضد دردی دیکلوفناک در اثر تجویز هم زمان با داروی نابومتون است که به دلیل رقابت نابومتون در اتصال

علت این پدیده به رقابت لیگاندهای مختلف با مولکول داروی مورد نظر در اتصال به جایگاه فعال ماکرومولکول و ظهور تغییرات کنفورماسیونی پروتئین مرتبط است. اتصال سست یک دارو به آلبومین باعث می‌شود تا مقدار بیشتری از دارو به صورت غیر کمپلکس (متصل نشده به آلبومین) وجود داشته باشد، در حالی که اتصال محکم دارو به آلبومین منجر به کاهش غلظت غیر کمپلکس دارو در خون و در نتیجه پائین تر بودن دوز مؤثر تجویز شده آن خواهد گردید. مسئله مهم دیگر شرایط خاصی است که در اثر تغییرات پاتولوژیک به علت برخی از بیماری‌ها و یا اختلالات در بدن پدید می‌آید. به عنوان مثال در شرایطی که میزان بیلی روبین خون و یا سایر سموم کلیوی همچون ۳-کربوکسی-۴-متیل-۵-پروپیل-۲-فوران پروپانوئیک اسید و یا اینوکسیل سولفات بالاتر از حد استاندارد باشد، در اثر اتصال آنها به آلبومین تغییرات جدی در میزان و نحوه اتصال برخی از داروهای تجویز شده به آلبومین پلاسما رخ خواهد داد [۴،۳].

آلبومین انسانی یک پروتئین کروی غیر گلیکوزیله با جرم مولکولی حدوداً ۶۷ kDa می‌باشد که حاوی یک زنجیر پپتیدی متشکل از ۵۸۵ اسید آمینه است. در حدود ۶۷٪ ساختار آلبومین را زنجیرهای پپتیدی ماریچی شکل تشکیل می‌دهند [۳]. آلبومین انسانی دارای سه ناحیه هومولوگ است که عبارتند از ناحیه I (اسید آمینه ۱ تا ۱۹۵)، ناحیه II (اسید آمینه ۱۹۶ تا ۳۸۳) و ناحیه III (اسید آمینه ۳۸۴ تا ۵۸۵) که هر یک از این سه ناحیه، خود از دو زیرناحیه به نام‌های A و B تشکیل شده اند و کل ساختار توسط ۱۷ پیوند دی سولفیدی پایداری خود را حفظ می‌کند (شکل ۱) [۵].

با توجه به مطالب فوق، بررسی میزان و مکانیسم برهمکنش لیگاندهای مختلف دارویی با آلبومین به عنوان یک زمینه تحقیقاتی مهم و کاربردی در علوم دارویی مطرح بوده و در سال‌های اخیر پژوهش‌های قابل توجهی به این موضوع اختصاص یافته است [۸-۶].

به سایت ۲ آلومین و افزایش غلظت غیر کمپلکس دیکلوفناک رخ می‌دهد. البته در تحقیقات بعدی نشان داده شد که اتصال داروهای همچون دیگوکسیژنین مستقل از سایت‌های ۱ و ۲ بوده و در واقع به جایگاه سومی به نام سایت ۳ متصل می‌گردند [۱۰]. وجود ساختارهای سه بعدی متعدد آلومین انسانی در حالت بدون لیگاند و با حضور لیگاند (کمپلکس) حاصل از روش‌های کریستالوگرافی با اشعه ایکس دستاورد بسیار مهمی است که انجام مطالعات مدل سازی مولکولی و طراحی مجازی ترکیبات زیست فعال با هدف دستیابی به داروهای با ارزش را هموارتر نموده است [۷]. در صورت وجود ساختار سه بعدی گیرنده (هدف درمانی)، طراحی دارو بر اساس ساختار گیرنده ماکرومولکولی انجام پذیر خواهد بود. مهم‌ترین تکنیک به کار رفته در این روش، داکینگ مولکولی نام دارد که در آن بررسی محاسباتی و مدل سازی برهمکنش‌های مؤثر لیگاندهای مورد نظر در جایگاه فعال گیرنده به منظور انتخاب مولکول‌هایی که حتی الامکان تطابق فضایی و انرژی برهمکنش مناسبتری با گیرنده هدف باشند، انجام می‌گیرد.

در این میان نقش روش‌های محاسباتی بسیار مهم است زیرا با بهینه سازی و توسعه روش‌های فوق امکان صرفه جویی قابل توجه در هزینه‌های آزمایشات عملی و همچنین زمان امکان پذیر خواهد بود. بررسی متون علمی نشان می‌دهد که برهمکنش برخی از داروهای سنتزی و گیاهی ضد سرطان [۱۶-۱۱]، ضد التهاب [۱۷، ۱۸]، ضد مالاریا [۱۹]، ضد درد [۳]، بی‌هوش کننده‌های عمومی [۲۰]، پائین آورنده کلسترول [۲۱]، ضد دیابت [۲۲]، آنتی بیوتیک [۲۸-۲۳] با آلومین بوسیله روش‌های اسپکتروسکوپی و داکینگ مولکولی تحت مطالعه قرار گرفته اند ولی بر خلاف داروهای آنتی بیوتیک، تنها مطالعات محدودی به بررسی برهمکنش داروهای ضد قارچ [۲۹] و آلومین با وجود اهمیت این داروها، اختصاص یافته است. نکته مهم این است که هم زمان با توسعه و

تحقیق بر روی ترکیبات ضد قارچ جدیدتر با قدرت اتصال بالا به پروتئین‌های پلازما در مطالعات و کارآزمایی‌های بالینی و همچنین میزان مصرف این داروها در جامعه، انجام مطالعات نظری و عملی در مورد اتصال دارو- آلومین و ارتباط آن با فارماکوکینتیک دارو به منظور بهینه سازی دوز دارویی مورد نظر حائز اهمیت ویژه ای می‌باشد.

از این رو در مطالعه حاضر، تعدادی از داروهای ضد قارچ مهم برای اولین بار از نظر برهمکنش با جایگاه‌های فعال آلومین انسانی بوسیله روش داکینگ مولکولی مورد بررسی سیستماتیک قرار گرفتند. هدف از این تحقیق، جستجوی الگوریتمی به منظور دستیابی به سایت‌های احتمالی اتصال به آلومین در داروهای تحت مطالعه، مقایسه مکانیسم و قدرت اتصال داروهای ضد قارچ با آلومین و به دست آوردن اطلاعات ساختاری در ارتباط با کمپلکس‌های دارو- آلومین تحت مطالعه می‌باشد.

## روش کار

### لیگاندها

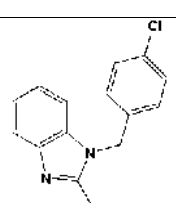
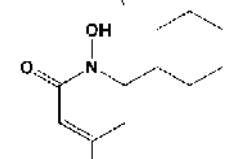
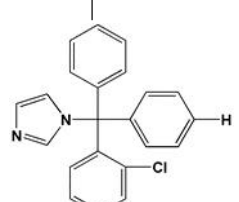
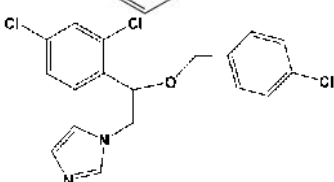
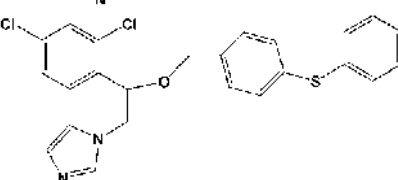
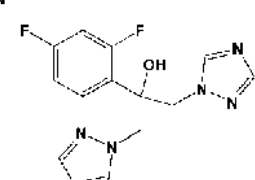
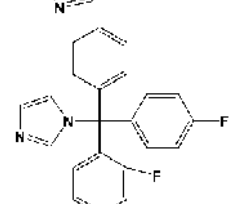
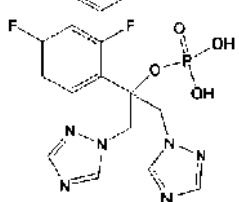
ساختار شیمیایی و برخی از ویژگی‌های داروهای ضد قارچ در نظر گرفته شده برای این مطالعه در جدول ۱ مشاهده می‌شود. ساختار ترکیبات مورد نظر با استفاده از نسخه ۷ نرم افزار Hyperchem ترسیم گردید. بهینه سازی انرژی ساختارها با استفاده از روش نیمه تجربی AM1 در الگوریتم پُلاک-ریبیر<sup>۱</sup> تا دستیابی به گرادیان مجذور میانگین مربعات<sup>۲</sup> ۰/۰۱ کیلوکالری بر مول انجام گردید. کنفورماسیون‌های به دست آمده به عنوان ساختارهای ورودی در مطالعات داکینگ مورد استفاده قرار گرفتند. لازم به ذکر است که ClogP یا همان logP محاسبه شده معیاری از میزان چربی دوستی یا لیپوفیلیسیته یک ترکیب است که با استفاده از ساختار و توسط بسیاری از

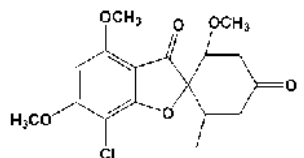
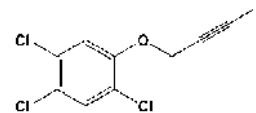
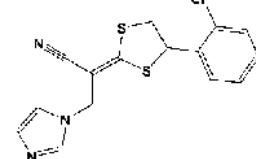
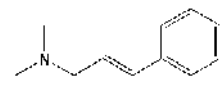
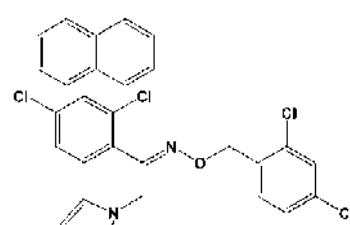
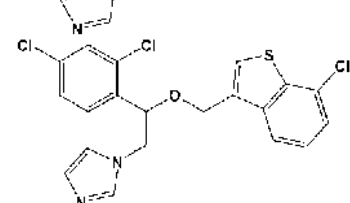
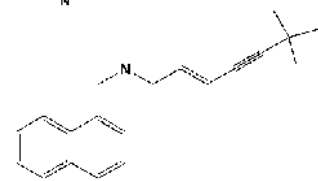
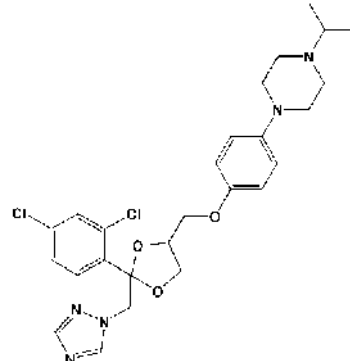
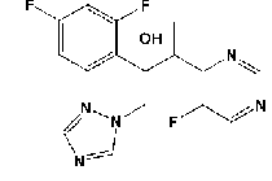
<sup>۱</sup> Polak-Ribiere algorithm

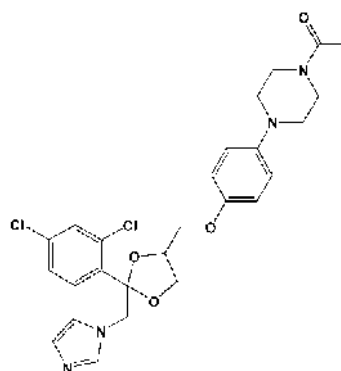
<sup>۲</sup> Root Mean Square Gradient

نرم افزارهای شیمیایی قابل محاسبه است. هر چقدر ثابت چربی دوستی بالاتر باشد، دارو هیدروفوب تر

جدول ۱. ساختار و مشخصات داروهای ضد قارچ استفاده شده در این مطالعه

ردیف	نام دارو	ساختار شیمیایی	وزن مولکولی (گرم/مول)	تعداد دهنده هیدروژن	تعداد گیرنده هیدروژن	لیپوفیلیته (ClogP)
۱	کلرمیدازول		۲۵۶/۷	۰	۲	۴/۳۳
۲	سیکلوپیروکس		۲۰۷/۲	۱	۲	۲/۰۲
۳	کلوتریمازول		۳۴۴/۸	۰	۲	۵/۲۵
۴	ایکونازول		۳۸۱/۶	۰	۳	۵/۰۹
۵	فنتیکونازول		۴۵۵/۴	۰	۳	۶/۷۲
۶	فلوکونازول		۳۰۶/۲	۱	۸	-۰/۵۰
۷	فلوتریمازول		۳۴۶/۳	۰	۴	۴/۸۲
۸	فُسفلوکونازول		۳۸۶/۲	۲	۱۰	-۰/۷۸

۱/۹۰	۶	۰	۳۵۲/۷		گریژتوفلوین	۹
۵/۲۷	۱	۰	۳۶۱/۳		هالوپروژین	۱۰
۳/۰۸	۳	۰	۳۱۹/۸		لانو کونازول	۱۱
۵/۵۲	۱	۰	۲۸۷/۳		نفتیفین	۱۲
۶/۰۸	۴	۰	۴۲۹/۱		آکسیکونازول	۱۳
۶/۱۶	۳	۰	۴۳۷/۷		سرتاکونازول	۱۴
۵/۹۶	۱	۰	۲۹۱/۴		ترینافین	۱۵
۴/۱۸	۸	۰	۵۳۲/۴		ترکونازول	۱۶
۰/۵۲	۸	۱	۳۴۹/۳		وَریکونازول	۱۷



### روش داکینگ مولکولی

محاسبات داکینگ مولکولی با استفاده از نرم افزار اتوداک ۴٫۲<sup>۱</sup> انجام گرفت [۳۰]. برنامه پیشرفته اتوداک یکی از مهم‌ترین نرم افزارهای شبیه سازی داکینگ در سطح بین المللی است که کاربرد بسیار زیادی در کشف و توسعه منطقی مولکول‌های دارویی دارد. این نرم افزار قادر است تا با استفاده از توابع میدان نیرو، میزان برهمکنش‌های شیمیایی بین لیگاند و گیرنده ماکرومولکولی (پروتئین‌ها و یا اسیدهای نوکلئیک) را بر اساس انرژی آزاد اتصال محاسبه نماید. انرژی آزاد اتصال یا همان  $G_b$  که به طور معمول بر حسب کیلو کالری بر مول مطرح می‌گردد، معیاری از میزان تمایل و اتصال یک ترکیب به یک گیرنده ماکرومولکولی را نشان می‌دهد. اصولاً مقادیر منفی‌تر انرژی آزاد اتصال نشان دهنده اتصال محکم‌تر دو مولکول به یکدیگر می‌باشد. قابلیت اتوداک در مدل سازی کیفی و کمی برهمکنش‌های لیگاند-گیرنده، آن را به عنوان یک ابزار مدل سازی سودمند برای شناسایی سایت‌های احتمالی فارماکوفوری لیگاند در جایگاه فعال گیرنده هدف مطرح نموده است [۳۲،۳۱]. بر اساس حجم مولکولی لیگاندهای طراحی شده، شبکه‌ای با ابعاد حداکثر  $60 \times 60 \times 60$ <sup>۳</sup> راستای محورهای سه‌گانه مختصات که در برگیرنده جایگاه فعال گیرنده مورد نظر باشد، در نظر گرفته شد. در هر یک از فایل‌های تحت مطالعه آلبومین،

مختصات مرکز شبکه با استفاده از مختصات مرکز ثقل لیگاندهای کریستالوگرافی اولیه تخمین زده شد. فاصله بین نقاط شبکه<sup>۲</sup> برابر  $0.375$  در نظر گرفته شد. به منظور مدل سازی اتصال داروهای تحت مطالعه با آلبومین از الگوریتم ژنتیکی لامارکین<sup>۳</sup> استفاده گردید. تعداد مراحل محاسبات انرژی با استفاده از مطالعات اولیه اعتبار سنجی داکینگ (بخش ۳-۱) تعیین گردید. تمامی پارامترهای الگوریتم ژنتیکی لامارکین بر اساس مقادیر پیش فرض موجود در نرم‌افزار اتوداک در نظر گرفته شد. در نهایت آنالیز خوشه‌ای نتایج داکینگ بر اساس انحراف ریشه میانگین مجذور<sup>۴</sup> انجام شد.

به منظور به دست آوردن الگوی شماتیک دو بعدی برهمکنش در داروهای تحت مطالعه با ساختار آلبومین از نرم افزار Ligplot نسخه ۲۰۱۲ استفاده گردید که قادر است تا داده‌های متنی اتوداک را به فرمت شماتیک تبدیل نماید [۳۳].

### آلبومین

ساختارهای سه بعدی آلبومین با کدهای 2BXD [۳] و 2BXF [۳] از بانک پروتئینی بروک‌هاون<sup>۴</sup> استخراج گردید. این ساختارها به ترتیب نماینده‌ای از الگوی اتصال به سایت‌های ۱ (II<sub>A</sub>) و ۲ (III<sub>B</sub>) آلبومین بوده و

<sup>2</sup> Grid Spacing

<sup>3</sup> Lamarckian Genetic Algorithm (LGA)

<sup>4</sup> Brookhaven Protein Databank (PDB: [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org))

<sup>1</sup> Autodock 4.2 (<http://autodock.scripps.edu/>)

ساختار کریستالوگرافی افزوده شده و فرم‌های توئومری آمینو اسیدها نیز تصحیح شدند. در مرحله بعد، اتم‌های هیدروژن غیرقطبی (متصل به اتم‌های کربن) در اتم کربن مربوطه ادغام شده و بارالکتریکی گُلمن<sup>۲</sup> و پارامترهای حلال‌پوشی ماکرومولکول نیز محاسبه و ذخیره گردیدند.

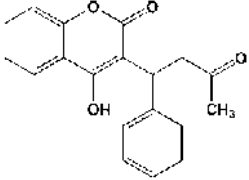
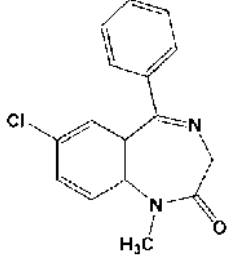
### یافته‌ها

نتایج اعتبارسنجی روش اتوداک برای ساختارهای کمپلکس آلومین با لیگاند (کدهای 2BXF و 2BXD) جدول ۲ مشاهده می‌گردد.

متشکل از کمپلکس آلومین با لیگاندهای وارفارین و دیازپام می‌باشند.

پیش از آغاز مراحل داکینگ، فایل ماکرومولکول توسط نرم افزار اتوداک تولز<sup>۱</sup> آماده‌سازی گردید. اتوداک تولز یک محیط گرافیکی مناسب برای آماده سازی فایل‌های لیگاند و گیرنده مورد نیاز در فرآیند داکینگ می‌باشد [۳۰]. برای آماده‌سازی فایل ماکرومولکول، در ساختار سه بعدی کریستالوگرافی کمپلکس آلومین-لیگاند، مولکول‌های آب، کوفاکتورها و سایر مولکول‌هایی که در جایگاه فعال گیرنده حضور ندارند، حذف گردیدند. کلیه اتم‌های هیدروژن به

جدول ۲. نتایج اعتبارسنجی اتوداک برای آلومین با کدهای 2BXF و 2BXD

انرژی آزاد اتصال (kcal/mol)	حد وضوح فایل کریستالوگرافی (Å)	RMSD (Å)	تعداد دفعات الگوریتم ژنتیکی	ثابت مهارتی محاسبه شده (K <sub>i</sub> ) (μm)	تعداد کنفورم‌اسیون‌های موجود در بهترین خوشه	ساختار لیگاند کریستالوگرافی	کد PDB	ردیف
-۸/۸۹	۳/۰۵	۳/۰۴۸	۱۰۰	۰/۳۰	۴۹		2BXD	۱
-۸/۲۲	۲/۹۵	۰/۵۵۴	۱۰۰	۰/۹۳	۱۰۰		2BXF	۲

انرژی آزاد ۵/۹۰- تا ۹/۰۱- کیلوکالری بر مول به سایت ۱ و ۵/۶۷- تا ۹/۸۹- کیلوکالری بر مول به سایت ۲ اتصال می‌یابند. بنابراین در حالت کلی، تمایل اتصال داروهای ضد قارچ مورد مطالعه به سایت ۲ بیش از سایت ۱ آلومین است. در سایت ۱، اُکسیکونازول بهترین اتصال را به آلومین نشان داد در حالی که بهترین داروی متصل شونده به سایت ۲،

<sup>2</sup> Kollman

### محاسبات انرژی اتصال

تمامی لیگاندهای دارویی مورد مطالعه در جایگاه‌های فعال آلومین با کد 2BXD (به عنوان مدل اتصال به سایت ۱) و 2BXF (به عنوان مدل اتصال به سایت ۲) داک شدند و داده‌های حاصل در جداول ۳ و ۴ گنجانده شدند. نتایج به دست آمده نشان دهنده این مطلب بودند که داروهای ضد قارچ در محدوده

<sup>1</sup> AutoDock Tools



مولکول فنیتیکونازول بود. نقشه‌های اتصال دارو- پروتئین وجود یک پیوند هیدروژنی بین نیتروژن ایمینی و گروه NH ایمیدازول زنجیره جانبی His242 را نشان دادند (شکل ۲) در حالی که در مورد فنیتیکونازول هیچ گونه پیوند هیدروژنی مشاهده نشد (شکل ۳) ولی در حدود ۱۷ اسید آمینه آلومین در برقراری برهمکنش‌های هیدروفوب مشارکت داشتند (جدول ۴). در مورد آکسیکونازول، تعداد ۱۴ اسید آمینه در برهمکنش‌های هیدروفوب مشاهده گردیدند (جدول ۴).

جدول ۳. نتایج داکینگ داروهای ضد قارچ در جایگاه فعال آلومین با کد 2BXD pdb (سایت ۱ اتصال)

ردیف	نام دارو	ثابت مهارتی محاسبه شده (K <sub>i</sub> ) (μm)	انرژی آزاد اتصال (kcal/mol)	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در برهمکنش هیدروفوبی	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در پیوند هیدروژنی	طول پیوند هیدروژنی (Å)	تعداد پیوندهای قابل چرخش
۱	کلریمیدازول	۹/۸۶	-۶/۸۳	Phe211/Trp214/Leu219/Arg222/Leu238/His242/Arg257/Leu260/Ile264/Ala291	Tyr150	۲/۹۳	۲
۲	سیکلوپیروکس	۶/۳۶	-۷/۰۹	Leu219/Arg222/Phe223/Leu234/Leu238/Arg257/Leu260/Ala261/Ile264/Ser287/Ile290/Ala291	Arg222	۳/۰۴	۲
۳	کلوتریمازول	۷/۷۳	-۶/۹۷	Tyr150/Lys195/Lys199/Phe211/Trp214/Ala215/Arg218/Leu219/Arg222/Leu238/His242/Ile290/Ala291	Tyr150	۲/۸۹	۴
۴	اِکونازول	۱/۹۸	-۷/۷۸	Tyr150/Lys195/Lys199/Phe211/Trp214/Ala215/Leu219/Arg222/Leu238/Ile290/Ala291	Arg222	۳/۰۴	۶
۵	فنیتیکونازول	۰/۴۱	-۸/۷۰	Tyr150/Ser192/Lys195/Gln196/Lys199/Trp214/Ala215/Leu219/Phe223/Leu238/His242/Arg257/Leu260/Ile264/Ile290/Ala291	Ser192	۲/۹۹	۸
۶	فلوکونازول	۴۷/۳۶	-۵/۹۰	Tyr150/Lys199/Leu219/Arg222/Phe223/Leu238/His242/Arg257/Leu260/Ala261/Ile264/Ala291	Arg222 Arg257	۲/۹۳ ۳/۱۹	۶
۷	فلوتریمازول	۹/۷۵	-۶/۸۴	Tyr150/Lys199/Phe211/Trp214/Ala215/Leu219/Arg222/Leu238/His242/Ile290/Ala291	Tyr150	۲/۹۲	۴
۸	فسفلوکونازول	۷/۴۹	-۶/۹۶	Tyr150/Lys199/Phe211/Trp214/Ala215/Arg218/Leu219/Arg222/Phe223/Leu238/His242/Ile290/Ala291	His242 Arg222 Ala291 Lys199	۲/۸۳ ۲/۳۴, ۲/۹۳ ۲/۹۶ ۲/۴۵	۹
۹	گریزئوفولویین	۵/۳۹	-۷/۱۹	Tyr150/Gln196/Lys199/Leu238/Val241/His242/Arg257/Leu260/Ala261/Ile264/Ser287/Ile290/Ala291	Lys199	۳/۰۶	۳
۱۰	هالوپروژین	۲۶/۱۹	-۶/۲۵	Arg222/Phe223/Leu238/Arg257/Ala261/Ile264/Ile290/Ala291	-	-	۴

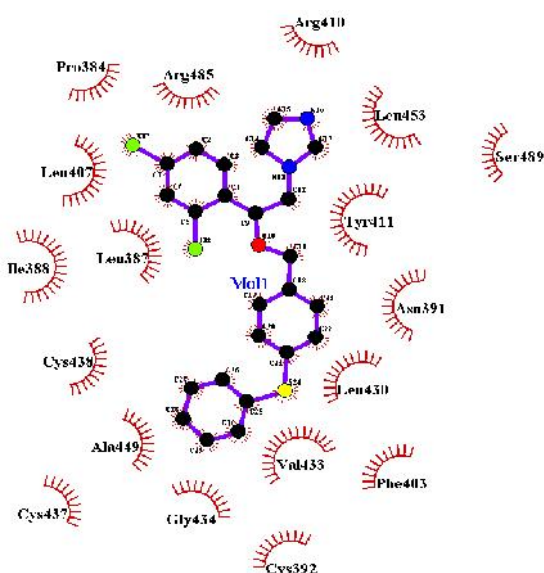
۳	۲/۸۸	Arg222	Lys199/Trp214/Arg218/Arg222/ Leu238/His242/Arg257/Leu260/ Ala261/Ser287/Ile290/Ala291	-۷/۸۱	۱/۸۷	لانوکونازول	۱۱
۵	۳/۲۳	Tyr150	Tyr150/Lys199/Phe211/Trp214/Ala2 15/Leu219/Leu238/Val241/His242/ Arg257/Leu260/Ala261/Ser287/Ile2 90/Ala291	-۷/۷۵	۲/۰۹	نفتیفین	۱۲
۶	۲/۹۳	His242	Gln196//Ser192/Lys195/Tyr150 /Lys199/Phe211/Trp214/Leu238 /Ser287/His242/Arg257/Ala261 Ile290/Ala291	-۹/۰۱	۰/۲۴	اُکسیکونازول	۱۳
۶	-	-	Tyr150/Lys199/Phe211/Trp214/ Arg222/Leu238/His242/Arg257/ Leu260/Ala261/Ser287/Ile290/ Ala291	-۸/۸۴	۰/۳۳	سرتاکونازول	۱۴
۷			Tyr150/Ser192/Gln196/Lys199/ Leu238/Val241/His242/Arg257/ Leu260/Ala261/Ser287/Ile290/ Ala291	-۷/۴۰	۳/۴۷	ترینافین	۱۵
۸	۲/۹۴ ۲/۲۰	His242 Lys199	Tyr150/Lys195/Lys199/Trp214 Leu219/Arg222/Leu238/His242/ Arg257/Leu260/Ala261/Ile264/ Ser287/Ile290/Ala291	-۸/۴۴	۰/۶۵	ترکونازول	۱۶
۶	۲/۹۸ ۲/۶۵ ۲/۹۹	Arg222 His242 Arg257	Tyr150/Gln196/Lys199/Phe211/Leu 219/Arg222/Leu238/His242/Arg257/ Ala291	-۶/۲۰	۲۸/۵۱	وُریکونازول	۱۷
۸	۲/۹۱ ۳/۲۶	Arg218 Lys199	Tyr190/Lys195/Gln196/Lys199/ Trp214/Arg218/Leu219/Arg222/ Leu238/His242/Arg257/Leu260/Ala 261/Ser287/Ile290/Ala291/ Glu292	-۶/۹۰	۸/۸۰	کتوکونازول	۱۸

جدول ۴. نتایج داکینگ داروهای ضد فارچ در جایگاه فعال آلبومین با کد 2BXF pdb (سایت ۲ اتصال)

ردیف	نام دارو	ثابت مهارتی محاسبه شده (K <sub>i</sub> ) (μm)	انرژی آزاد اتصال (kcal/mol)	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در برهمکنش هیدروفوبی	اسیدهای آمینه مشارکت کننده در پیوند هیدروژنی	طول پیوند هیدروژنی (Å)	تعداد پیوندهای قابل چرخش
۱	کلرمیدازول	۱/۴۱	-۷/۹۸	Pro384/Leu387/Ile388/Asn391/ Cys392/Phe403/Leu430/Val433/ Gly434/Cys438/Ala449/Glu450/ Leu453/Arg485	-	-	۲
۲	سیکلو پیروکس	۱۵/۵۹	-۶/۵۶	Ile388/Asn391/Cys392/Phe403/ Leu407/Leu430/Val433/Gly434/ Cys438/Ala449/Leu453	Leu430	۲/۷۰	۲

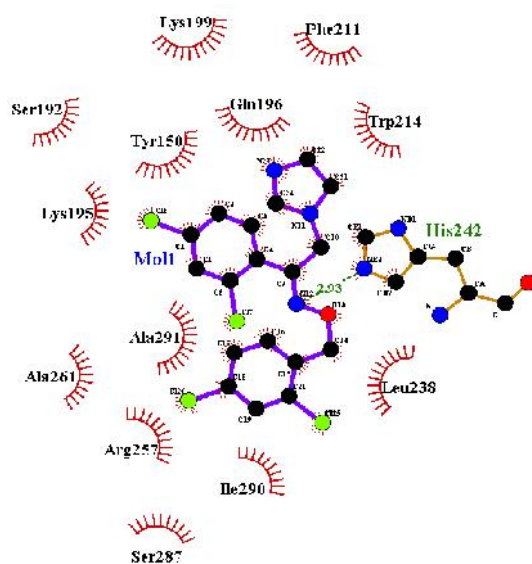
۴	-	-	Leu387/Ile388/Asn391/Leu407/ Tyr411/Leu430/Leu453/Arg485/ Phe488/Ser489	-۷/۴۸	۳/۲۷	کلوتریمازول	۳
۶	۳/۰۹	Leu430	Pro384/Leu387/Ile388/Asn391/ Cys392/Leu407/Tyr411/Leu430/ Val433/Gly434/Cys437/Cys438/ Arg445/Ala449/Gly450/Ler453  /Asn391/Ile388/Leu387/Pro384 /Leu430/Tyr411/Phe403/Cys392 /Cys438/Cys437/Gly434/Val433	-۸/۹۰	۰/۲۹	اِکونازول	۴
۸	-	-	Arg485/Ser489//Leu453/Ala449 Leu497	-۹/۸۹	۰/۰۵	فنتیکونازول	۵
۶	۲/۸۸ ۳/۱۵	Arg485 Asn391	Leu387/Ile388/Asn391/Leu407/ Leu430/Val433/Gly434/Cys437 Cys438/Ala449/Gly450/Leu453/ Arg485	-۵/۷۷	۵۹/۴۳	فلوکونازول	۶
۴	-	-	Leu387/Ile388/Asn391/Leu407/ Tyr411/Leu430/Leu453//Arg485/Phe4 88/Ser489	-۷/۳۳	۴/۲۷	فلوتریمازول	۷
۹	۲/۹۰ ۲/۸۴	Asn391 Arg485	Leu387/Ile388/Asn391/Cys392/ Phe403/Leu407/Leu430/Val433/ Gly434/Cys438/Ala449/Glu450/ Leu453/Arg485	-۵/۶۷	۶۹/۶۶	فسفو کونازول	۸
۳	-	-	Leu387/Ile388/Asn391/Cys392/ Phe403/Leu407/Tyr411/Leu430/ Val433/Gly434/Cys438/Leu453/ Ser489	-۷/۰۹	۶/۳۱	گریزئوفولویین	۹
۳	-	-	Ile388/Asn391/Cys392/Phe403/ Leu430/Val433/Gly434/Cys438/ Ala449/Glu450/Leu453	-۶/۸۲	۱۰/۰۹	هالوپروژین	۱۰
۳	۲/۷۳ ۳/۲۷	Asn391 Cys438	Ile388/Asn391/Cys392/Phe395/ Phe403/Tyr411//Leu430/Val433/ Gly434/Cys437/Cys438/Ala449/ Leu453/Ser489	-۷/۷۵	۲/۰۹	لانو کونازول	۱۱
۵	-	-	Pro384/Leu387/Ile388/Asn391/ Cys392/Phe403/Leu407/Leu430/ Val433/Gly434/Cys438/Glu450/ Leu453/Arg485	-۸/۱۳	۱/۰۹	نفتیفین	۱۲
۶	۲/۸۵ ۳/۲۰	Val433 Cys438	Pro384/Leu387/Ile388/Asn391/ Cys392/Phe403/Leu407/Tyr411/ Leu430/Val433/Gly434/Cys437/ Cys438/Ala449/Leu453/Arg485	-۸/۹۰	۰/۲۹	اُکسیکونازول	۱۳
۶	-	-	Leu387/Ile388/Asn391/Cys392/ Phe403/Leu407/Leu430/Val433/ Gly434/Cys438/Ala449/Leu453/ Arg485	-۹/۰۴	۰/۲۳	سرتاکونازول	۱۴

۷	-	-	Leu387/Ile388/Asn391/Cys392/ Phe403/Leu407/Leu430/Val433/ Cys437/Cys438/Ala449/Glu450/ Leu453/Arg485	-۸	۱/۳۶	تربینافین	۱۵
۸	۲/۷۲	Val433	Leu387/Ile388/Asn391/Cys392/ Phe403/Leu407/Tyr411/Leu430/ Val433/Gly434/Cys437/Cys438/ Ala449/Leu453/Arg485/Ser489	-۸/۴۰	۰/۶۹	ترکونازول	۱۶
۶	-	-	Pro384/Leu387/Ile388/Asn391/ Cys392/Phe403/Leu407/Leu430/ Val433/Gly434/Cys438/Ala449/ Glu450/Leu453/Arg485	-۶/۵۶	۱۵/۴۴	وَریکونازول	۱۷
۸	۳/۰۱	Cys438	Leu387/Ile388/Asn391/Cys392/ Leu394/Leu407/Arg410/Tyr411/ Leu430/Val433/Gly434/Cys437/ Cys438/Ala449/Ser489	-۸/۸۵	۰/۳۲	کتوکونازول	۱۸



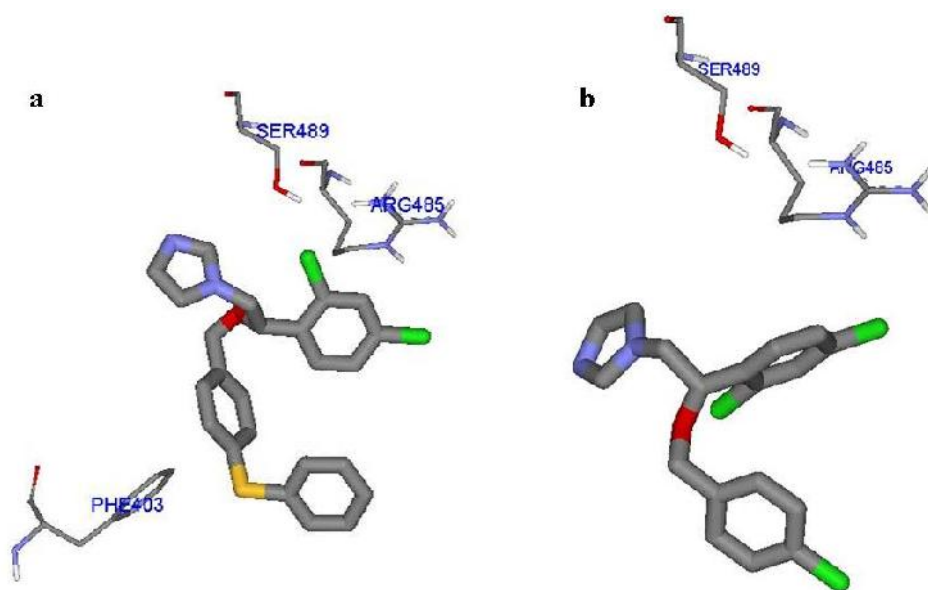
شکل ۳. الگوی شماتیک برهمکنش‌های دو بعدی فنتیکونازول با جایگاه فعال آلبومین (کُد 2BXF)

Leu430 را اسیدهای آمینه کلیدی در برهمکنش با داروهای ضد قارچ معرفی نمودند. از طرف دیگر، نقشه‌های اتصال وانداولس برقراری برهمکنش‌های هیدروفوب با اسیدهای آمینه Arg485 و Ser489 در جایگاه فعال ۲ آلبومین توسط فنتیکونازول را نشان دادند (شکل ۳).



شکل ۴. الگوی شماتیک برهمکنش‌های دو بعدی آکسیکونازول با جایگاه فعال آلبومین (کُد 2BXD)

داده‌های کیفی اتصال دارو- پروتئین نشان داد که Ala291 و Leu238 مهم‌ترین اسیدهای آمینه موجود در جایگاه فعال اول آلبومین از نظر برهمکنش با داروهای ضد قارچ تحت مطالعه بودند زیرا در برقراری برهمکنش‌های هیدروفوبی با تمامی مولکول‌های داک شده مشارکت داشتند. نقشه‌های اتصال در سایت اتصال دوم آلبومین، Ile388، Asn391 و



شکل ۴. نمایش سه بعدی برهمکنش‌های هیدروفوب (a) فنتیکونازول و (b) اِکونازول در جایگاه فعال ۲ آلبومین

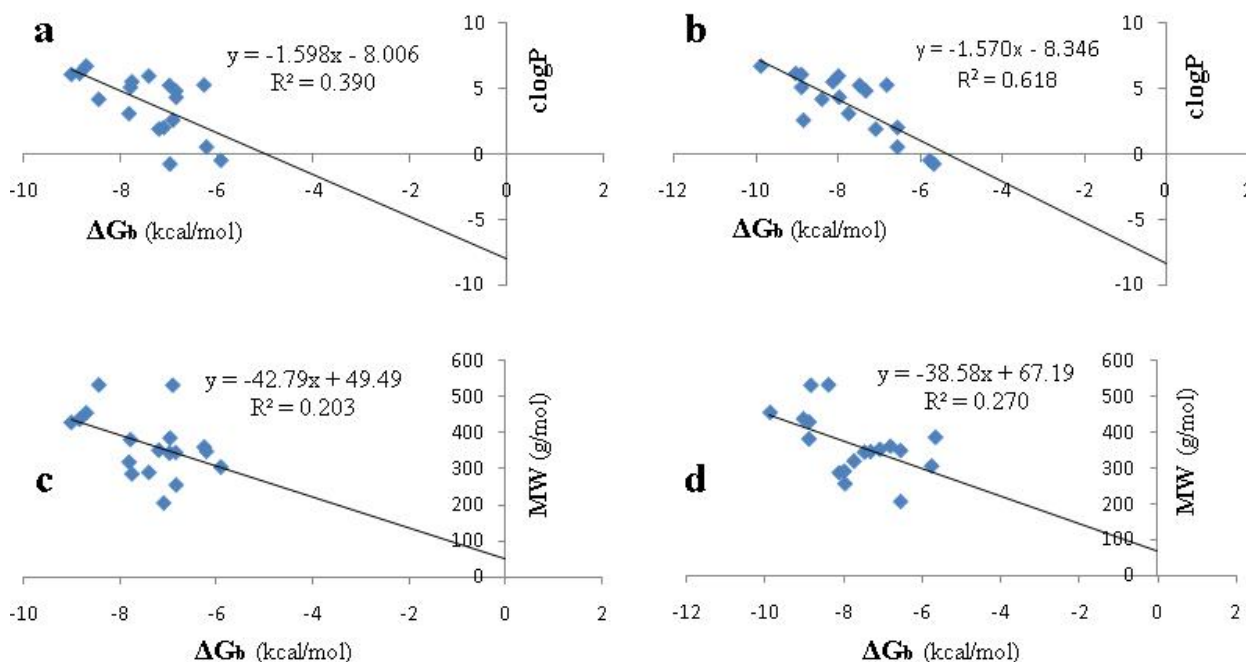
جدول ۵. مقایسه تمایل اتصال داروهای ضد قارچ داک شده به جایگاه‌های فعال ۱ و ۲ آلبومین

ردیف	نام دارو	انرژی آزاد اتصال (kcal/mol)	انرژی آزاد اتصال (kcal/mol)
		به سایت ۱	به سایت ۲
۱	کلرمیدازول	-۶/۸۳	-۷/۹۸
۲	سیکلو پیروکس	-۷/۰۹	-۶/۵۶
۳	کلوتریمازول	-۶/۹۷	-۷/۴۸
۴	اِکونازول	-۷/۷۸	-۸/۹۰
۵	فنتیکونازول	-۸/۷۰	-۹/۸۹
۶	فلوکونازول	-۵/۹۰	-۵/۷۷
۷	فلوتریمازول	-۶/۸۴	-۷/۳۳
۸	فسفوکونازول	-۶/۹۶	-۵/۶۷
۹	گریزئوفولوبین	-۷/۱۹	-۷/۰۹
۱۰	هالوپروژین	-۶/۲۵	-۶/۸۲
۱۱	لانوگونازول	-۷/۸۱	-۷/۷۵
۱۲	نفتیفین	-۷/۷۵	-۸/۱۳
۱۳	اُکسیکونازول	-۹/۰۱	-۸/۹۰
۱۴	سرتاکونازول	-۸/۸۴	-۹/۰۴
۱۵	ترینافین	-۷/۴۰	-۸
۱۶	ترکونازول	-۸/۴۴	-۸/۴۰
۱۷	وَریکونازول	-۶/۲۰	-۶/۵۶
۱۸	کتوکونازول	-۶/۹۰	-۸/۸۵

به منظور مقایسه میزان تمایل اتصال هر دارو به جایگاه‌های فعال ۱ و ۲ در آلبومین، مقایسه داده‌های انرژی‌های آزاد اتصال لیگاند- گیرنده انجام گردید (جدول ۵) که در بخش بحث این مقاله مورد تجزیه و تحلیل قرار خواهند گرفت.

نمودارهای مربوط به همبستگی<sup>۱</sup> داده‌های انرژی آزاد اتصال داروهای ضد قارچ در سایت‌های ۱ و ۲ آلبومین با لیپوفیلیسیته و جرم مولکولی در شکل ۴ مشاهده می‌گردد. (سایت ۱:  $R^2=0/39$ ، نمودار a شکل ۵). (سایت ۲:  $R^2=0/618$ ، نمودار b شکل ۵).

<sup>۱</sup> Correlation



شکل ۵. نمودار همبستگی انرژی‌های آزاد اتصال داروهای ضد قارچ در سایت‌های ۱ و ۲ آلومین با لیپوفیلیسیت و جرم مولکولی: (a) انرژی آزاد اتصال به سایت ۱ و لیپوفیلیسیت، (b) انرژی آزاد اتصال به سایت ۲ و لیپوفیلیسیت، (c) انرژی آزاد اتصال به سایت ۱ و جرم مولکولی، (d) انرژی آزاد اتصال به سایت ۲ و جرم مولکولی

### بحث

فرآیند داکینگ مولکولی نیازمند یک اعتبار سنجی اولیه است تا قابلیت و صحت آن برای روش مورد مطالعه تخمین زده شود. در واقع محدودیت مهم این پژوهش در این نکته نهفته است که آیا روش اتوداک به کار رفته قادر به پیشگویی کمی و کیفی برهمکنش داروهای ضدقارچ با هدف آلومین می‌باشد یا نه. در حالت کلی، برای اعتبارسنجی یک روش داکینگ باید لیگاند کریستالوگرافی را از جایگاه فعال گیرنده استخراج نموده و آن را مجدداً داک نمود. در این حالت انحراف ریشه مجذور میانگین<sup>۱</sup> کنفورماسیون داک شده نسبت به کنفورماسیون کریستالوگرافی اولیه (موجود در فایل هولو<sup>۲</sup>) معیاری از قابلیت پیشگویی کنفورماسیون اتصال لیگاند توسط داکینگ و بنابراین مشخص کننده اعتبار فرآیند داکینگ در

پروژه مورد نظر خواهد بود. بر طبق گزارش منابع معتبر علمی، انحراف ریشه مجذور میانگین باید کمتر و یا مساوی ۲ آنگستروم باشد تا اعتبار فرآیند داکینگ به اثبات برسد [۳۴]. اعتبارسنجی روش با استفاده از داکینگ لیگاند استخراج شده در شبکه‌ای متشکل از جایگاه فعال آلومین به منظور ارزیابی قابلیت پیشگویی مُد (کنفورماسیون) بهینه در برهمکنش لیگاند با گیرنده انجام گرفت. همانطور که در بخش یافته‌ها (جدول ۲) گزارش شده است، دقت پیشگویی در اتصال دیازپام به آلومین مناسب تر از وارفارین می‌باشد ولی تکنیک اتوداک به منظور پیشگویی نحوه اتصال آلومین به وارفارین نیز روشی قابل قبول است [۳۵].

بررسی منابع علمی [۳۷،۳۶] نشان می‌دهد که اسیدهای آمینه لوسین، ایزولوسین و آسپارژین در برقراری برهمکنش‌های کلیدی با سایر داروها نیز نقش مهمی دارند. در واقع جایگاه اتصال داروهای ضدقارچ تحت مطالعه با جایگاه استاندارد اتصال سایر

<sup>1</sup> Root Mean Square Deviation (RMSD)

<sup>2</sup> Holo

موارد زیر در ارتباط با رابطه ساختار-اتصال این ترکیبات قابل ذکر است:

(۱) مقایسه ساختار ترکونازول و کتوکونازول نشان می‌دهد که تبدیل گروه  $N$ -ایزوپروپیل به  $N$ -استیل در کتوکونازول اثر چندانی در اتصال به جایگاه فعال ۲ ندارد ولی باعث افت چشمگیر قدرت اتصال به جایگاه فعال ۱ آلومین می‌گردد (جدول ۴).

(۲) اگر در حلقه هتروسیکل شکل ۶،  $X$  اتم نیتروژن باشد، حلقه تری آزول خواهیم داشت (ترکونازول) که نسبت به حلقه ایمیدازول (کتوکونازول) اتصال محکم تری به جایگاه فعال ۱ خواهد داشت و بنابراین احتمال بروز تداخل دارویی با داروهای متصل شونده به جایگاه فعال ۱ همچون وارفارین بیشتر خواهد بود.

(۳) الگوی ساختاری متفاوت در ترکیباتی همچون فسفوکونازول، وریکونازول و بافلوکونازول منجر به کاهش چشمگیر اتصال به جایگاه‌های فعال ۱ و ۲ آلومین می‌گردد. بررسی ساختاری هر سه داروی فوق نشان‌دهنده وجود دو حلقه تری آزول در ساختار آنها است که با یک زنجیر سه کربنه به یکدیگر متصل هستند. البته در ساختار وریکونازول به جای یکی از حلقه‌های تری آزول یکی از بیوازیوسترهای آن یعنی حلقه پیریمیدین قرار گرفته است.

(۴) آنالیز داکینگ مولکولی داد که طول زنجیره جانبی پارامتر در میزان اتصال داروهای ضد قارچ آزولی به آلومین مؤثر است. با مقایسه بین داروهای فنتیکونازول، اِکونازول، اُکسیکونازول و سرتاکونازول نتایج قابل توجهی از اثر زنجیره جانبی بر میزان اتصال به آلومین به دست می‌آید زیرا بر اساس الگوی ساختاری نشان داده شده در شکل ۵، هر چهار دارو متشکل از ساختار دی کلرو فن اتیل ایمیدازول می‌باشند. زنجیره جانبی دی فنیل سولفید در فنتیکونازول بهترین نتیجه را در اتصال به جایگاه فعال ۲ ایجاد نموده است. گسترش زنجیره جانبی در فنتیکونازول نسبت به اِکونازول قدرت اتصال به جایگاه‌های فعال ۱ و ۲ آلومین را افزایش می‌دهد.

داروها در سایت ۲ همخوانی قابل قبولی داشته است [۳۶] و این مسئله امکان طراحی فارماکوفورهای مؤثرتر ضد قارچ با عملکرد فارماکودینامیک مطلوب‌تر را مهیا می‌سازد. در برخی از داروهای ضدقارچ همچون ترکونازول، اختلاف انرژی‌های آزاد در اتصال به دو سایت مورد نظر بسیار کم است و این امر نشان‌دهنده این است که تمایل ترکونازول برای اتصال به جایگاه‌های مختلف آلومین تقریباً یکسان است. در مورد داروهای دیگری همچون کتوکونازول، اختلاف معنی‌داری بین میزان اتصال به جایگاه‌های فعال آلومین مشاهده گردید. بر اساس نتایج داکینگ مولکولی مشخص گردید که اتصال کتوکونازول به سایت دوم آلومین مستحکم‌تر از اتصال آن به سایت اول آلومین بوده است. بررسی نقشه‌های اتصال دارو- آلومین مشارکت بیشتر باندهای الکترواستاتیک را با اتم‌های قطبی مولکول کتوکونازول در سایت اتصال دوم را نشان دادند.

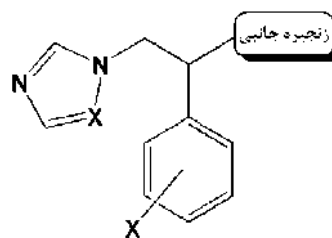
همچنین آنالیز نمودارهای مربوط به همبستگی داده‌های انرژی آزاد اتصال داروهای ضد قارچ در سایت‌های ۱ و ۲ آلومین با لیپوفیلیسیت و جرم مولکولی نشان‌دهنده این مطلب بود که بین اتصال داروهای ضد قارچ به سایت اول آلومین و لیپوفیلیسیت این داروها ارتباط معنی‌داری وجود ندارد. آنالیز رگرسیون<sup>۱</sup> نشان‌دهنده این بود که بر خلاف الگوی اتصال به جایگاه فعال اول آلومین، بین میزان اتصال داروهای ضد قارچ به جایگاه فعال دوم و لیپوفیلیسیت آنها ارتباط نسبتاً معنی‌داری وجود دارد و در واقع انرژی آزاد اتصال به جایگاه فعال دوم با افزایش لیپوفیلیسیت داروها روند افزایشی دارد.

#### بررسی رابطه ساختار- اتصال

الگوی کلی ساختاری داروهای آزول ضد قارچ در شکل ۵ مشاهده می‌گردد. با توجه به نتایج به دست آمده از مدل سازی مولکولی داروهای ضد قارچ آزولی،

<sup>1</sup> Regression Analysis

ساختار دی فنیل سولفیدی گسترش یافته در فنتیکونازول امکان برقراری برهمکنش‌های هیدروفوب با اسیدهای آمینه ای همچون Phe403 را محقق می‌سازد (شکل ۶). از طرف دیگر، انعطاف پذیرتر بودن دی فنیل سولفید در فنتیکونازول نسبت به بنزو تیوفن در سرتاکونازول مولکول را در وضعیتی قرار می‌دهد که برقراری برهمکنش‌های هیدروفوب با اسیدهای آمینه ای همچون Arg485 و Ser489 در جایگاه فعال ۲ آلومین امکان پذیر می‌گردد (مراجعه به شکل ۴ در بخش قبلی). بررسی منابع علمی [۳۶] نشان می‌دهد که داروهایی همچون ایوپروفن نیز که جزء عوامل مشخصه متصل‌شونده به سایت ۲ آلومین می‌باشند، در برقراری برهمکنش‌های هیدروفوبی با اسیدهای آمینه ای همچون Ser489, Arg410, Lys414 و Tyr411 در محل ورود به سایت ۲ مشارکت داشته و این در حالی است که بخش هیدروفوبی (حلقه آروماتیک) دارو در قسمت میانی تر سایت ۲ آلومین قرار می‌گیرد.



شکل ۶. الگوی کلی ساختاری داروهای ضد قارچ آزولی

### نتیجه گیری

نتایج حاصل از تحقیق ارائه شده نشان دهنده این است که داروهای ضد قارچ تحت مطالعه در حالت کلی تمایل بیشتری برای اتصال به جایگاه فعال ۲ (سایت IIIA) آلومین دارند. این امر نشان‌گر این مطلب است که احتمالاً تداخل داروهای ضد قارچ بررسی شده با داروهایی که به سایت ۲ آلومین اتصال می‌یابند جدی تر بوده و لذا تداخل مورد نظر در

تجویز همزمان این داروها باید مورد نظر قرار گیرد. یکی از دستاوردهای مهم این پروژه، آنالیز مقایسه ای داروهای ضد قارچ در اتصال به هر یک از جایگاه‌های فعال آلومین بود که امکان پیش‌بینی تقریبی تداخل داروی ضد قارچ مورد نظر با داروهای مشخصه متصل‌شونده به جایگاه فعال ۱ و ۲ را امکان پذیر می‌سازد. بر اساس آنالیز رگرسیون داده‌های اتصال مشخص گردید که میزان برهمکنش داروهای ضد قارچ با جایگاه فعال ۱ آلومین تابع لیپوفیلیسته ترکیب دارویی نمی‌باشد ولی بین میزان اتصال داروهای ضد قارچ به جایگاه فعال ۲ آلومین و لیپوفیلیسته آنها ارتباط نسبتاً معنی‌داری وجود دارد. نتایج این تحقیق حاکی از این مسئله هستند که در اتصال داروهای ضد قارچ به آلومین، برهمکنش‌های هیدروفوب نقش مهمتری نسبت به پیوندهای هیدروژنی دارند که این مسئله با ماهیت هیدروفوب جایگاه‌های اتصال در مولکول آلومین مطابقت دارد. یافته‌های حاصل از این پروژه نشان دهنده این مطلب هستند که اندازه زنجیره جانبی متصل به حلقه آزولی و فنیل در ضدقارچ‌های آزولی نقش مهمی در برقراری برهمکنش‌های کلیدی با آلومین دارد و ترکیبات دارویی همچون اُکسیکونازول و فنتیکونازول به ترتیب بهترین الگوی اتصال را به جایگاه‌های فعال ۱ و ۲ آلومین از خود نشان دادند. یافته‌های حاصل از این تحقیق امکان طراحی و پیشنهاد ساختارهای دارویی با قدرتهای مختلف در اتصال به آلومین و در نتیجه بهینه‌سازی تقریبی فارماکوکینتیک داروهای مورد نظر را امکان پذیر می‌کند.

### تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم پزشکی اردبیل که محققین را در جهت اجرای این پژوهش یاری دادند، تشکر و قدردانی می‌گردد.



## References

- 1- Raoufinia R, Mota A, Keyhanvar N, Safari F, Shamekhi S, Abdolalizadeh J, Overview of albumin and its purification methods. *Adv Pharm Bull.* 2016 Dec; 6(4): 495-507.
- 2- Yamasaki K, Chuang VT, Maruyama T, Otagiri M, Albumin-drug interaction and its clinical implication. *Biochim Biophys Acta.* 2013 Dec; 1830(12):1830: 5435-43.
- 3- Ghuman J, Zunszain PA, Petitpas I, Bhattacharya AA, Otagiri M, Curry S. Structural basis of the drug binding specificity of human serum albumin. *J Mol Biol.* 2005 Oct; 353(1): 38-52.
- 4- Devine E, Krieter DH, R uth M, Jankovski J, Lemke HD. Binding affinity and capacity for the uremic toxin indoxyl sulfate. *Toxins.* 2014 Jan; 6(2): 416-29.
- 5- Fanali G, di Masi A, Trezza V, Marino M, Fasano M, Ascenzi P. Human serum albumin: from bench to bedside. *Mol Aspects Med.* 2012 Jun;33(3):209-90.
- 6- Taguchi K, Yamasaki K, Shiga A, Otagiri M, Seo H. Interactions of Linezolid with two major serum proteins, human serum albumin and alpha-1 acid glycoprotein. *J Pharmacol Clin Toxicol.* 2015 Jan; 3(2):1045.
- 7- Fal  PLV, Ascens o L, Serralheiro MLM, Haris PI. Interaction between *Plectranthus barbatus* herbal tea components and human serum albumin and lysozyme: Binding and activity studies. *Spectroscopy.* 2011; 26: 79-92.
- 8- Li Y, Jia B, Wang H, Li N, Chen G, Lin Y, et al. The interaction of 2-mercaptobenzimidazole with human serum albumin as determined by spectroscopy, atomic force microscopy and molecular modeling. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2013 Apr; 104: 311-7.
- 9- Sudlow G, Birkett DJ, Wade DN. Further characterization of specific drug binding sites on human serum albumin. *Mol Pharmacol.* 1976 Nov; 12(6): 1052-61.
- 10-Tian J, Liu J, Xie J, Yao X, Hu Z, Chen X. Binding of wogonin to human serum albumin: a common binding site of wogonin in subdomain IIA. *J Photochem Photobiol B: Bio.* 2004 Mar; 74(1): 39-45.
- 11-Sochacka J. Docking of thiopurine derivatives to human serum albumin and binding site analysis with Molegro virtual docker. *Acta Pol Pharm.* 2014 Mar; 71 (2): 343-9.
- 12-Paal K, Shkarupin A, Beckford L. Paclitaxel binding to human serum albumin automated docking studies. *Bioorgan Med Chem.* 2007 Feb; 15: 1323-9.
- 13-Ajmal MR, Nusrat S, Alam P, Zaidi N, Khan MV, Zaman M. Interaction of anticancer drug clofarabine with human serum albumin and human  $\alpha$ -1 acid glycoprotein. Spectroscopic and molecular docking approach. *J Pharmaceut Biomed.* 2017 Feb; 135: 106-15.
- 14-Singh DV, Bharti SK, Agarwal S, Roy R, Misra K. Study of interaction of human serum albumin with curcumin by NMR and docking. *J Mol Model.* 2014 Aug; 20(8): 2365-7.
- 15-Kabir MZ, Mukarram AK, Mohamad SB, Alias Z, Tayyab S. Characterization of the binding of an anticancer drug, lapatinib to human serum albumin. *J Photochem Photobiol.* 2016 Jul; 160: 229-39.
- 16-Zhou J, Lu G, Wang H, Zhang J, Duan J, Ma H, et al. Molecular structure-affinity relationship of bufadienolides and human serum albumin in vitro and molecular docking analysis. *PLoS ONE.* 2015 May; 10 (5): e0126669.
- 17-Rajpoot M, Chaudhry N. Docking studies of human serum albumin with anti-inflammatory drugs. *J Biol Chem Sci.* 2015 Nov; 2 (2): 171-9.
- 18-Keshavarz F, Alavianmehr MM, Yousefi R. Molecular interaction of benzalkonium Ibuprofenate and its discrete ingredients with human serum albumin. *Phys Chem Res.* 2013 Dec; 1(2): 111-6.
- 19-Samari F, Shamsipur M, Hemmateenejad B, Khayamian T, Gharaghani S. Investigation of the interaction between amodiaquine and human serum albumin by fluorescence spectroscopy and molecular modeling. *Eur J Med Chem.* 2012 Aug; 54: 255-63.
- 20-Sun Z, Xu H, Cao Y, Wang F, Mi W. Elucidating the interaction of propofol and serum albumin by spectroscopic and docking methods. *J Mol Liq.* 2016 Jul; 219: 405-10.
- 21-Wang Q, Huang C, Jiang M, Zhu Y, Wang J, Chen J, et al. Binding interaction of atorvastatin with bovine serum albumin: Spectroscopic methods and molecular docking. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2016 Mar; 156: 155-63.

- 22-Faridbod F, Ganjali MR, Larijani B, Riahi S, Saboury AA, Hosseini M, et al. Interaction study of pioglitazone with albumin by fluorescence spectroscopy and molecular docking. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2011 Jan; 78: 96-101.
- 23-Hamishchkar H, Hosseini S, Naseri A, Safarnejad A, Rasoulzadeh F. Interactions of cephalexin with bovine serum albumin: displacement reaction and molecular docking. *Bioimpacts.* 2016; 6 (3): 125-33.
- 24-Naseri A, Hosseini S, Rasoulzadeh F, Rashidi MR, Zakery M, Khayamian T. Interaction of norfloxacin with bovine serum albumin studied by different spectrometric methods; displacement studies, molecular modeling and chemometrics approaches. *J Lumin.* 2015 Jan; 157: 104-12.
- 25-Wang Z, Song Z, Chen D. Study on the binding behavior of bovine serum albumin with cephalosporin analogues by chemiluminescence method. *Talanta.* 2010 Dec; 83(2): 312-9
- 26-Thoppil AA, Sharma R, Kishore N. Complexation of  $\beta$ -lactam antibiotic drug carbenicillin to bovine serum albumin: Energetics and conformational studies. *Biopolymers.* 2008 Oct; 89(10): 831-40.
- 27-Bi S, Song D, Tian Y, Zhou X, Liu Z, Zhang H. Molecular spectroscopic study on the interaction of tetracyclines with serum albumins. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2005 Feb; 61(4): 629-36.
- 28-Zhang Q, Ni Y. Comparative studies on the interaction of nitrofurantoin antibiotics with bovine serum albumin. *RCS Adv.* 2017; 7(63): 39833-41.
- 29-Gowda B, Mallappa M, Gowda JI, Raghavendran Rengasamy, Interaction of ketoconazole with bovine serum albumin: Electrochemical, spectroscopic and molecular modeling studies. *J App Pharm Sci.* 2015; 15: 037-44.
- 30-Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, et al. AutoDock4 & AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem.* 2009 Dec; 30(16): 2785-91.
- 31-Laurie R, Alasdair T, Jackson RM. Methods for the prediction of protein-ligand binding sites for structure-based drug design and virtual ligand screening. *Curr Protein Pept Sci.* 2006 Oct; 7(5): 395-406.
- 32-Jorgensen WL. The many roles of computation in drug discovery. *Science.* 2004 Mar; 303: 1813-8.
- 33-Wallace AC, Laskowski RA, Thornton JM. LIGPLOT-a program to generate schematic diagrams of protein ligand interactions. *Protein Eng.* 1995 Feb; 8(2): 127-34.
- 34-Ravindranath PA, Forli S, Goodsell DS, Olson AJ, Sanner MF. AutoDockFR: advances in protein-ligand docking with explicitly specified binding site flexibility. *PLoS Comput Biol.* 2015 Dec; 11(12): e1004586.
- 35-Ghorban Dadras L, Madadkar SA, Shafiei A, Mahmoudian M. Flexible ligand docking studies of matrix metalloproteinase inhibitors using Lamarckian genetic algorithm. *DARU* 2004; 12(1): 1-10.
- 36-Akito K, Yamasaki K, Enokida T, Miyamoto S, Otagiri M. Crystal structure analysis of human serum albumin complexed with sodium 4-phenylbutyrate. *Biochem Biophys Rep.* 2018 Mar; 13: 78-82.
- 37-Challier C, Beassoni P, Boetsch C, Garcia NA, Biasutti MA, Criado S. Interaction between Human Serum Albumin and antidiabetic compounds and its influence on the O<sub>2</sub>(<sup>1</sup>g)-mediated degradation of the protein. *J Photoch Photobio B.* 2015 Jan; 142: 20-28.