



## بررسی برهم کنش ایزومرهای مختلف کور کومین و چند ساختار مشابه آن با پروتئین آلبومین با استفاده از روش داکینگ مولکولی

معصومه ایقائی<sup>۱</sup>، جابر جهان بین سردودی<sup>۱</sup>، فرامرز مهرنژاد<sup>۲</sup>، علیرضا راستکار ابراهیم زاده<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>آزمایشگاه شبیه سازی مولکولی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان  
<sup>۲</sup>گروه علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۵/۳/۱۷، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۵/۰۵/۲۲، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۵/۶/۱۴

### چکیده

کور کومین دارای دامنه‌ی وسیعی از فعالیت‌های فارموکولوژیک می‌باشد که باعث می‌شود خواص خارق العاده دارویی داشته باشد ولی دو مشکل حلالیت پایین در محلول‌های آبی و تجزیه سریع مولکول‌های حل شده در pH زیستی، اهداف دارویی آن را محدود می‌سازد. یکی از راه‌حل‌های مطرح شده در منابع علمی، برای حل مشکل حلالیت و ثبات و فراهمی زیستی پایین کور کومین، استفاده از پروتئین آلبومین بعنوان حامل است. در این کار پژوهشی، برهمکنش دو ایزومر مهم کور کومین و سه کور کومینوئید دیگر با پروتئین آلبومین با استفاده از داکینگ مولکولی مورد بررسی قرار گرفته و میزان برهمکنش تمام ساختارهای مذکور با هم مقایسه شد. بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که از میان دو ایزومر کور کومین، ایزومر دی کتون آن برهمکنش قویتری با آلبومین دارد و در میان تمام ساختارهای بررسی شده، بیس دمتوکسی کور کومین و هگزا هیدرو کور کومین به ترتیب قویترین و ضعیف‌ترین برهمکنش را با آلبومین دارند. با توجه به مقادیر انرژی برهمکنش، در برهمکنش بین کور کومین با آلبومین، پیوندهای دو گانه مزدوج نقش اساسی دارند و همچنین گروه‌های هیدروکسی فنول کور کومین نقش مهمتری نسبت به گروه‌های متوکسی آن دارند.

**واژه‌های کلیدی:** کور کومین، کور کومینوئید، داکینگ مولکولی، پروتئین آلبومین.

### ۱. مقدمه

کور کومین (دی فرلوئیل متان) یک ترکیب پلی فنولی لیپوفیلیک با وزن مولکولی پایین بوده که از ریزوم‌های زردچوبه (*Curcuma longa*) استخراج و جداسازی می‌شود. همراه با کور کومین ترکیبات شناخته شده دیگری در زردچوبه موجود است که به آنها کور کومینوئید گفته

\*عهده‌دار مکاتبات: معصومه ایقائی

نشانی: آزمایشگاه شبیه سازی مولکولی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

تلفن: ۰۹۱۴۹۹۱۸۳۴۳، پست الکترونیک: E-mail: ighaei@azaruniv.edu

می‌شود. کورکومین یک دایمر همسان از فرولوئیل متان شامل یک گروه متوکسی و یک گروه هیدروکسیل و یک هپتایدین با دو مایکل گیرنده و یک دی کتون می‌باشد [۱]. در بخش دی کتون کورکومین یک انتقال هیدروژن درون مولکولی ممکن است اتفاق افتاده و توتومریزاسیون انول-کتو شکل بگیرد. با توجه به این توتومریزاسیون، دو ایزومر ساختاری مهم برای کورکومین در نظر گرفته می‌شود، ایزومر دی کتون و ایزومر انول-کتون (شکل ۱).

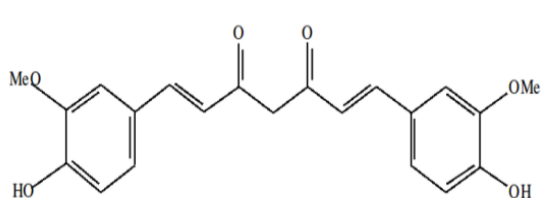
کورکومین دارای سمیت ذاتی اندکی بوده ولی دارای دامنه‌ی وسیعی از فعالیت‌های فارموکولوژیک شامل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، آنتی‌آمیلوئیدی و خواص ضدتوموری است. کورکومین به صورت بالقوه بعنوان یک عامل محافظ در برابر بیماریهای مزمن از جمله سرطان، بیماریهای قلبی و عروقی، بیماریهای عصبی و پوستی است. کورکومین همچنان در درمان زخم، دیابت، آلزایمر، پارکینسون، بیماریهای میکروبی و ریوی و آرتریت نیز موثر می‌باشد. همچنین کورکومین می‌تواند مانع از لخته شدن خون شده و پایین آورنده کلسترول خون است، از طرفی هم موجب بهبود عملکرد کبد و دستگاه گوارش می‌شود. طبق پژوهش‌های اخیر، کورکومین باعث زیاد شدن تاثیر داروهای شیمی درمانی شده و سلولهای سالم را از صدمه در برابر اشعه محفوظ می‌دارد. روند مصرف طولانی و آزمایشات بالینی نشان می‌دهد که کورکومین حتی در دوزهای بالا سمیت خیلی پایین دارد [۲-۶].

متأسفانه با وجود خواص خارق‌العاده کورکومین، دو چالش اساسی در استفاده از کورکومین وجود دارد که اهداف دارویی آن را محدود می‌سازد. چالش اول، حلالیت پایین در محلول‌های آبی است که مانع از دستیابی به غلظت مورد نظر در سیستم‌های بیولوژیکی می‌شود. چالش دوم عبارتست از تجزیه سریع مولکول‌های حل شده در pH زیستی [۷-۱۰]. در منابع علمی، چندین روش برای حل مشکل حلالیت و ثبات و فراهمی زیستی پایین کورکومین پیشنهاد شده است که شامل اصلاح ساختاری کورکومین، استفاده از فناوری نانو تکنولوژی و استفاده از پروتئین آلبومین به عنوان یک حامل می‌باشد.

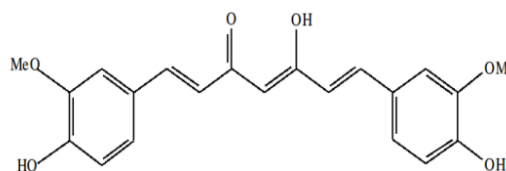
آلبومین عمده‌ترین پروتئین محلول خون است که جزء اصلی و سازنده سیستم گردش خون بوده و در عملکرد فیزیولوژیک، به عنوان یک پروتئین حامل، مشارکت بسیار مشخصی دارد. خصوصیت منحصر بفرد آن توانایی در اتصال بسیار گسترده به ترکیبات متعددی از قبیل متابولیتها، داروها، رنگها و اسیدهای چرب (بانام عمومی لیگاند) است که براساس مطالعات مبتنی بر پراش اشعه ایکس و فلوروسانس و دورنگ نمای دورانی، بخاطر سطوح هیدروفوب سطح آن می‌باشد. آلبومین یک پروتئین مونومر بوده و حاوی ۵۸۵ اسید آمینه است. آرایش و چهره‌بندی سه بعدی آن از سه ناحیه همسان و همولوگ تشکیل شده است. هر ناحیه به دو زیر واحد تقسیم می‌شود. آلبومین دارای توانایی تطبیق فرم فضایی برای اتصال به لیگاندهای متعددی است. ساختار سوم این پروتئین متشکل از سه ناحیه است که نهایتاً شش محل اتصال برای لیگاندهای مختلف ایجاد می‌کند. بنابراین طبیعت برهم کنش لیگاند با آلبومین برای لیگاندهای مختلف متفاوت است. هر لیگاند جایگاه اختصاصی خاصی بر روی پروتئین دارد که به خواص فیزیکی و مولکولی آن لیگاند بستگی دارد و این دلیلی است که چرا اتصال تمام داروها در یک ناحیه خاصی از آلبومین صورت نمی‌گیرد. ظرفیت شگفت انگیز آن در برهم کنش با طیف گسترده‌ای از داروها باعث شده است که نقش ممتازی در فارماکوکینیتیک و فارمودینامیک داروها داشته باشد. عملکرد اولیه فارماکوکینیتیک آن در مشارکت، جذب، توزیع، متابولیسم و دفع داروهاست. اما توزیع دارو اولین و مهمترین چیزی است که آلبومین آن را کنترل می‌کند زیرا بسیاری از داروها در پلاسما بوسیله برهمکنش با آلبومین به بافت هدف منتقل می‌شوند [۱۱].

وانگ و همکاران استفاده از پروتئین آلبومین را بعنوان یک حامل برای کورکومین پیشنهاد کرده‌اند [۱۲]. نتایج تجربی نشان می‌دهد که اتصال کورکومین با آلبومین باعث افزایش پایداری آن می‌شود [۱۱-۱۵].

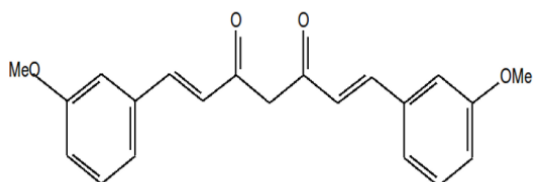
در کار پژوهشی حاضر، ابتدا دو ایزومر مختلف کورکومین و سه ساختار مشابه آن، کورکومینوئید، با استفاده از تئوری تابعی چگالی به منظور بدست آوردن ساختار هندسی پایدار و بررسی ساختار الکترونی آنها مورد مطالعه قرار گرفتند. در مرحله بعد برهم کنش این ساختارها با پروتئین آلبومین با استفاده از داکینگ مولکولی مورد بررسی قرار گرفته و انرژی این برهم کنش و اسید آمینه‌های درگیر در پیوندهای هیدروژنی مشخص شد. میزان برهمکنش تمام ساختارهای مذکور باهم مقایسه شده است.



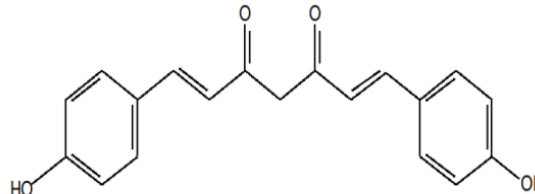
فرم سین دی کتون کورکومین



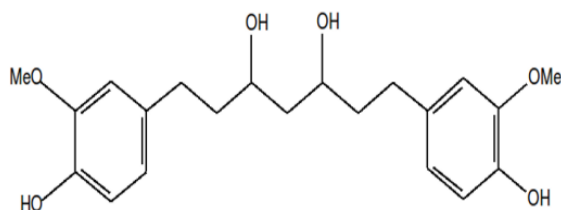
فرم سین انول-کتون کورکومین



بیس دهیدروکسی کورکومین



بیس دمتوکسی کورکومین



هگزاهیدرو کورکومین

شکل ۱. ساختار شیمیایی مولکولهای مورد بررسی

## ۲. روش محاسبات

## ۱-۲. جزئیات محاسبات DFT

در تمام محاسبات DFT از مجموعه پایه 6-311G(2d,2p) [۱۶-۱۸] با تابع هیبریدی B3LYP [۱۹-۲۰] استفاده شده است. برای انجام محاسبات نرم افزار GAMESS-US [۱۶] مورد استفاده قرار گرفت.

## ۲-۲. جزئیات محاسبات داکینگ مولکولی

تمام محاسبات مربوط به داکینگ با استفاده از نرم افزار اتوداک تولز ۴,۲ انجام شده است [۲۱]. در مرحله نخست فایل مورد استفاده پروتئین و لیگاندها با فرمت مخصوص اتوداک و عبارت PDBQT تولید شدند. در این مرحله ابتدا اتم‌های هیدروژن اضافه شده سپس بارهای جزئی نیز اضافه گردید. در مورد لیگاند، هیدروژنهای غیر قطبی پاک شده و بارهای آنها روی اتم کربن ادغام شدند. نوع اتمها مشخص شده و پیوندهای هیدروژنی پذیرنده و دهنده و اتمهای کربن آروماتیک و آلیفاتیک تعریف شدند. اتمی بعنوان ریشه و مبنای تعریف محدوده پیچش و انعطاف پذیری انتخاب گردید و در مرحله بعد، پیوندهای قابل چرخش تعریف و محدودیت پیچش مشخص گردید. در داکینگ‌های صورت گرفته اندازه شبکه طبق پیش فرض ۰/۳۷۵ قرار داده شده است. در مرحله آخر با کمک autodock یک محاسبه داکینگ نرمال اجرا شد.

## ۳. نتایج و تجزیه تحلیل داده‌ها

در محاسبات داکینگ، ۱۰۰ کنفورماسیون شبیه سازی شد در طول شبیه سازی دارو تغییر مکان داده و میان کنش‌هایی را با اسید آمینه‌ها انجام می‌دهد. بعد از اتمام شبیه سازی داکینگ، اتوداک برای هر یک از کنفورماسیون‌ها مختصاتی را در فایل خروجی (لاگ) می‌نویسد که در آن دسته بندی‌ها و اطلاعات مربوط به انرژی‌های برهم کنش موجود است. نتایج مربوطه آنالیز شده و کنفورماسیون‌هایی را که بیشترین میان کنش را با دارو دارند به بیان دیگر انرژی برهم کنش مقدار منفی بیشتری است بدست آمد. در این کنفورماسیون اسید آمینه‌های شرکت کننده در پیوند هیدروژنی نیز مشخص شدند.

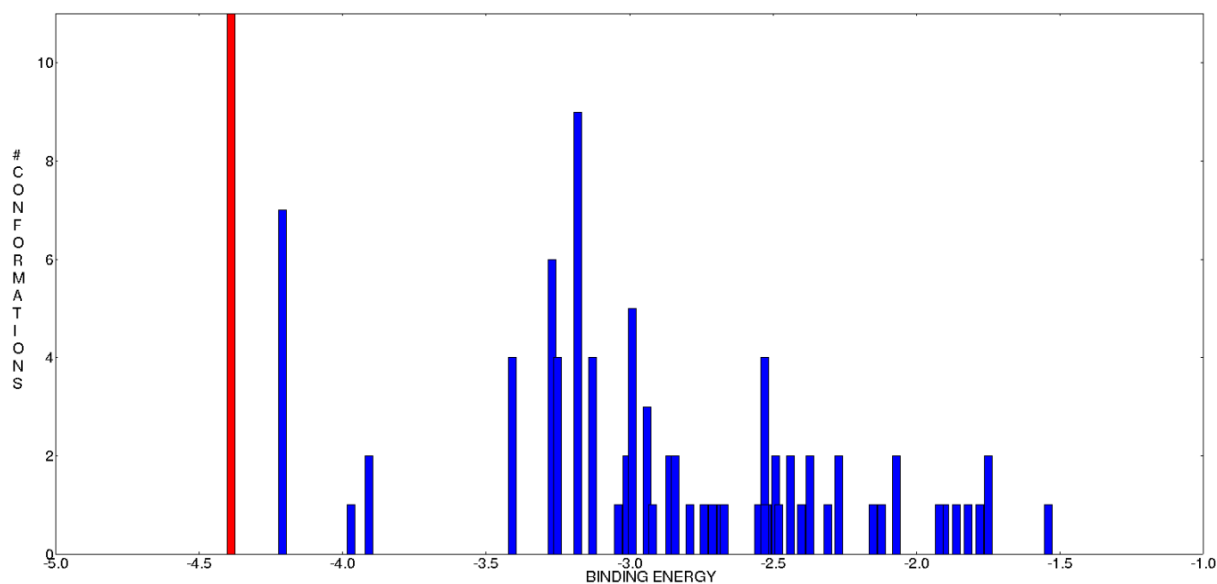
در فایل ورودی برای شبیه سازی پارامتری به نام تفرانس، ریشه میانگین مربع انحرافات وارد می‌شود که اتوداک کنفورماسیون‌ها را براساس انرژی اتصال مرتب کرده و کنفورماسیون‌هایی که اختلاف ریشه میانگین مربع انحرافات آنها از مقدار داده شده برای تفرانس کمتر باشد در خوشه‌هایی قرار می‌دهد بعبارت دیگر در برنامه اتوداک روش دسته بندی نتایج براساس شباهت ساختاری می‌باشد. بدین ترتیب که ساختاری که کمترین انرژی را دارد بعنوان اولین ساختار در اولین دسته انتخاب می‌شود. ساختار دوم در ردیف انرژی که پس از آن قرار دارد از لحاظ ساختاری با آن مقایسه می‌شود. اگر اختلاف دو ساختار در محدوده قابل قبول تفرانس باشد، آن ساختار بعنوان دومین عضو دسته اول در نظر گرفته می‌شود، در غیر اینصورت بعنوان اولین ساختار از دسته دوم در نظر گرفته شده و این کار برای تمام صد کنفورماسیون مورد مطالعه انجام می‌شود. هرچقدر دسته اول منفی تر بوده و از سوی دیگر اعضای آن بیشتر باشد بهتر است. در شبیه سازی‌های انجام شده مقدار تفرانس دو انگستر در نظر گرفته شده است. میزان برهم کنش دو ایزومر مهم کورکومین و سه ساختار مشابه کورکومین (کورکومینوئید) با آلبومین با روش داکینگ مولکولی مورد بررسی قرار گرفت.

تعداد خوشه‌ها، تعداد کنفورماسیون خوشه‌ی دارای بیشترین انرژی برهم کنش حاصل از شبیه سازی صد کنفورماسیون داکینگ این ساختارها با آلبومین، در جدول ۱ آورده شده است.

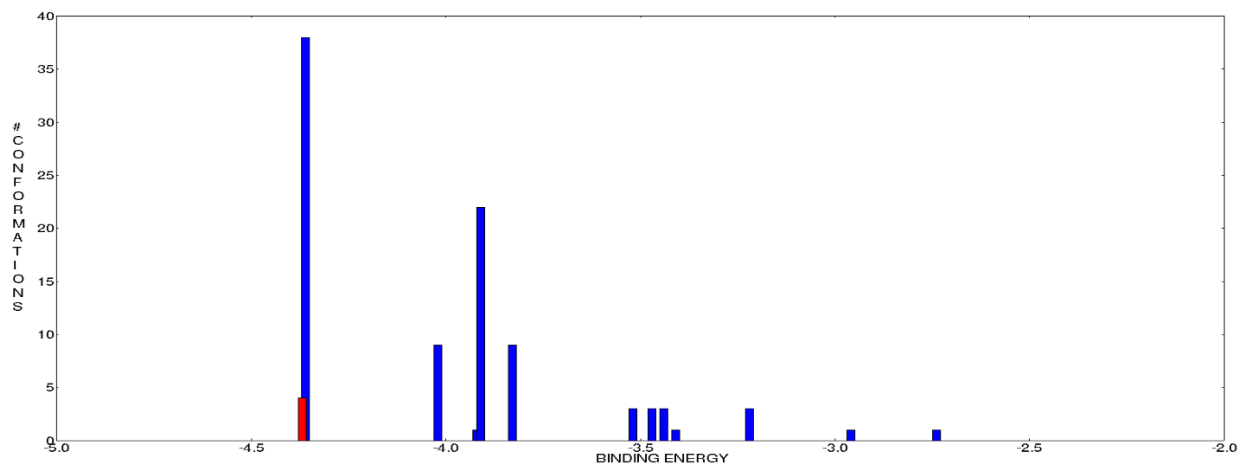
اشکال مربوط به آرایش این خوشه ها در شکل ۲ الی ۶ آورده شده است. برخی نتایج این محاسبات نیز در جدول ۲ خلاصه شده، که عبارتند از: انرژی اتصال (کیلو کالری بر مول)، کارایی لیگاند، اسید آمینه‌هایی که در کنفورماسیونی که بیشترین انرژی برهم کنش دارد در پیوند هیدروژنی شرکت کرده‌اند.

جدول ۱. تعداد خوشه‌ها، تعداد کنفورماسیون خوشه‌ی دارای بیشترین انرژی برهم کنش بین ساختارهای مورد بررسی و پروتئین آلبومین

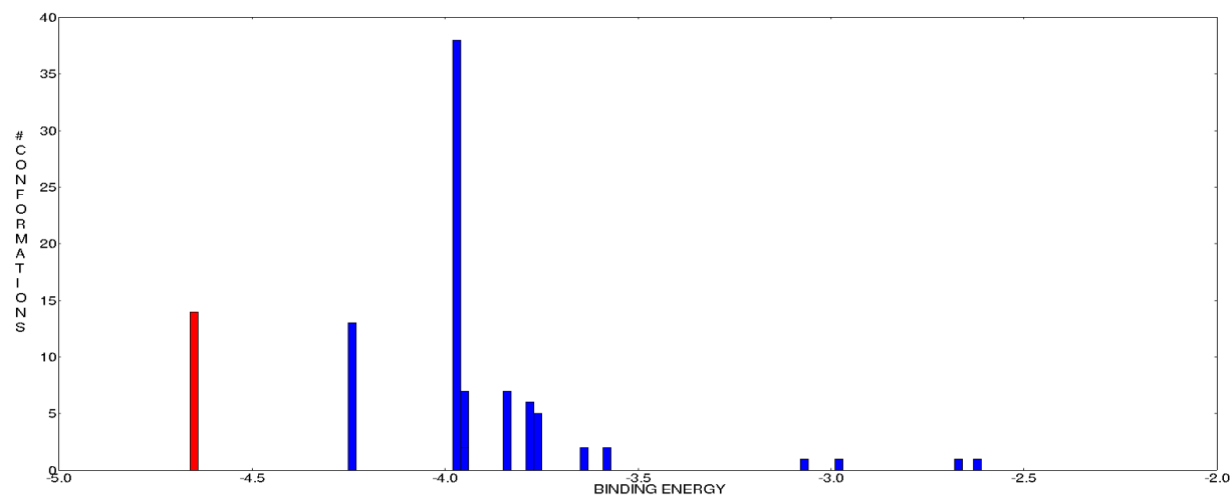
ساختار	تعداد خوشه‌ها	تعداد کنفورماسیون در خوشه‌ی دارای انرژی برهم‌کنش بیشتر
فرم سین دی کتون کورکومین	۳۹	۱۴
فرم سین انول-کتون کورکومین	۱۳	۴
بیس دمتوکسی کورکومین	۱۳	۱۴
بیس دهیدروکسی کورکومین	۲۰	۴۲
هگزا هیدرو کورکومین	۵۳	۶



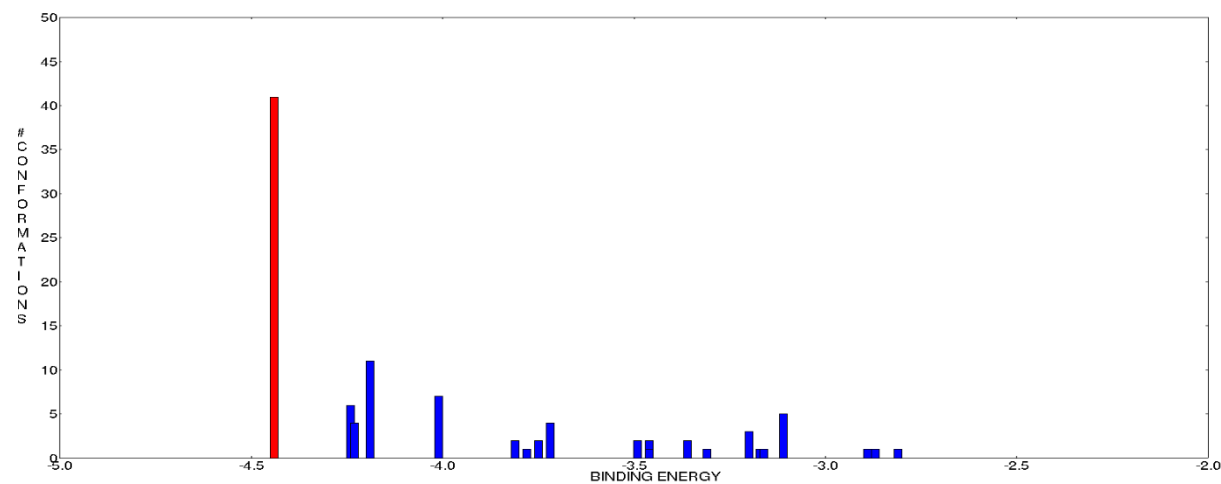
شکل ۲. آرایش خوشه‌ها در داکینگ مولکولی فرم سین دی کتون کورکومین و آلبومین



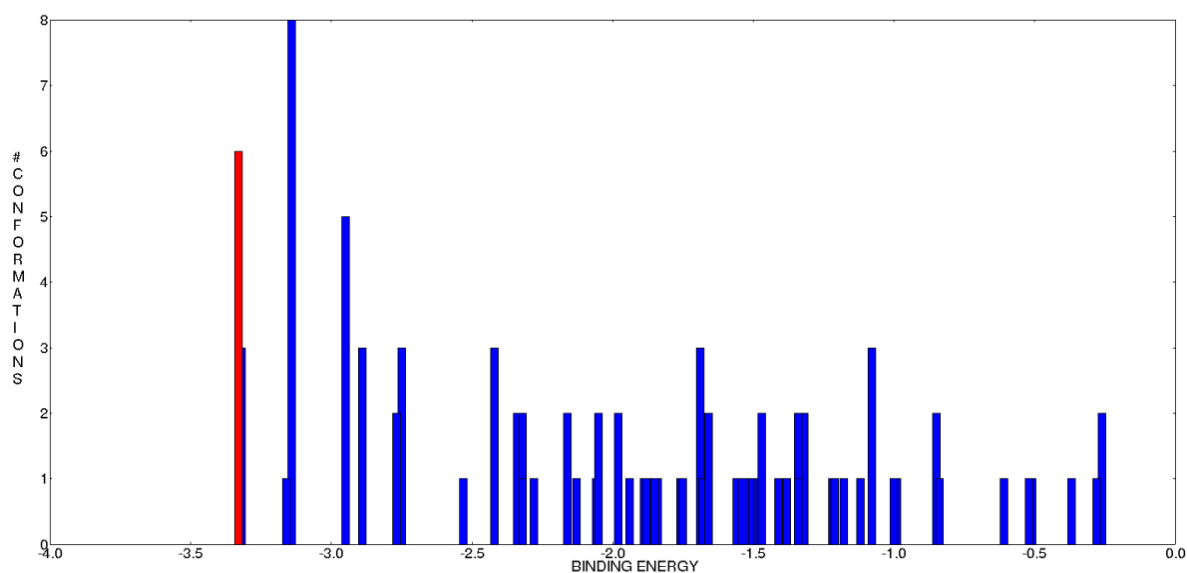
شکل ۳. آرایش خوشه‌ها در داکینگ مولکولی ایزومر فرم سین انول-کتون کورکومین و آلبومین



شکل ۴. آرایش خوشه‌ها در داکینگ مولکولی بیس دمتوکسی کورکومین و آلبومین



شکل ۵. آرایش خوشه‌ها در داکینگ مولکولی بیس دهیدروکسی کورکومین و آلبومین



شکل ۶. آرایش خوشه‌ها در داکینگ مولکولی هگزا هیدرو کور کومین و آلبومین

جدول ۲. برخی نتایج داکینگ مولکولی ساختارهای مورد بررسی و پروتئین آلبومین

اسید آمینه	کارایی لیگاند	انرژی اتصال (کیلو کالری بر مول)	ساختار
SER273, GLN268	-۰/۱۶	-۴/۳۷	فرم سین دی کتون کور کومین
GLU280, ASP269	-۰/۱۴	-۳/۷۵	فرم سین انول-کتون کور کومین
SER273, LYS286	-۰/۲	-۴/۴۶	بیس دمتوکسی کور کومین
CYS279	-۰/۱۷	-۴/۳۳	بیس دهیدروکسی کور کومین
LYS276, ASP269	-۰/۱	-۲/۷۸	هگزا هیدرو کور کومین

#### ۴. نتیجه گیری

با توجه به نتایج جدول فوق،

الف) از میان دو ایزومر کور کومین، ایزومر دی کتون آن برهمکنش قویتری با آلبومین دارد.

ب) در میان ساختارهای بررسی شده، انرژی اتصال بیس دمتوکسی کور کومین با آلبومین مقدار منفی بیشتری است یعنی این لیگاند برهم کنش قویتری با آلبومین دارد.

ج) از میان کور کومینوئیدهای مورد نظر، هگزاهیدرو کور کومین ضعیف ترین برهمکنش با آلومین را دارد که می توان به حذف پیوندهای مزدوج کور کومین در این ساختار اشاره کرد بطوریکه پل میانی بصورت آلکان بوده و تقریباً بی اثر می باشد.

د) اگر بخواهیم لیگاندهای فوق را براساس قدرت میان کنش با آلومین مرتب کنیم به قرار زیر خواهد بود:

بیس دمتوکسی کور کومین < ایزومر سین دی کتون کور کومین < بیس دهیدروکسی کور کومین < ایزومر سین انول- کتون کور کومین < هگزاهیدرو کور کومین.

نتایج فوق نشان می دهد که در برهم کنش بین کور کومین با آلومین، پیوندهای دوگانه مزدوج نقش اساسی دارد. در این برهمکنش، گروههای دهیدروکسی فنول نقش مهمتری نسبت به گروههای متوکسی دارند.

## ۵. مراجع

- [1] Gupta, S.C., Prasad, S., Kim, J.H., Patchva, S., Webb, L.J., Priyadarsini, I.K. and Aggarwal, B.B., Multitargeting by curcumin as revealed by molecular interaction studies. *Natural product reports*, 28(12) (2011) 1937-1955.
- [2] Aggarwal, B.B. and Shishodia, S., Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical pharmacology*, 71(10) (2006) 1397-1421.
- [3] Benassi, E. and Spagnolo, F., A theoretical study about the structural, electronic and spectroscopic properties of the ground and singlet excited states of curcuminoidic core. *Theoretical Chemistry Accounts*, 124(3-4) (2009) 235-250.
- [4] Gafner, S., Lee, S.K., Cuendet, M., Barthélémy, S., Vergnes, L., Labidalle, S., Mehta, R.G., Boone, C.W. and Pezzuto, J.M., Biologic evaluation of curcumin and structural derivatives in cancer chemoprevention model systems. *Phytochemistry*, 65(21) (2004) 2849-2859.
- [5] Maheshwari, R.K., Singh, A.K., Gaddipati, J. and Srimal, R.C., Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life sciences*, 78(18) (2006) 2081-2087.
- [6] Sharma, R.A., Gescher, A.J. and Steward, W.P., Curcumin: the story so far. *European journal of cancer*, 41(13) (2005) 1955-1968.
- [7] Kutluay, S.B., Doroghazi, J., Roemer, M.E. and Triezenberg, S.J., Curcumin inhibits herpes simplex virus immediate-early gene expression by a mechanism independent of p300/CBP histone acetyltransferase activity. *Virology*, 373(2) (2008) 239-247.
- [8] Aggarwal, B.B., Surh, Y.J. and Shishodia, S. eds., *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease*. Springer Science & Business Media, (2007).
- [9] Tønnesen, H.H., Solubility, chemical and photochemical stability of curcumin in surfactant solutions. Studies of curcumin and curcuminoids, XXVIII. *Die Pharmazie*, 57(12) (2002) 820-824.
- [10] Shen, L. and Ji, H.F., The pharmacology of curcumin: is it the degradation products?. *Trends in molecular medicine*, 18(3) (2012) 138-144.
- [11] Mandeville, J.S., Froehlich, E. and Tajmir-Riahi, H.A., Study of curcumin and genistein interactions with human serum albumin. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 49(2) (2009) 468-474.
- [12] Leung, M.H. and Kee, T.W., Effective stabilization of curcumin by association to plasma proteins: human serum albumin and fibrinogen. *Langmuir*, 25(10) (2009) 5773-5777.
- [13] Reddy, A.C.P., Sudharshan, E., Rao, A.A. and Lokesh, B.R., Interaction of curcumin with human serum albumin—a spectroscopic study. *Lipids*, 34(10) (1999) 1025-1029.



- [14] Zsila, F., Bikádi, Z. and Simonyi, M., Unique, pH-dependent biphasic band shape of the visible circular dichroism of curcumin–serum albumin complex. *Biochemical and biophysical research communications*, 301(3) (2003) 776-782.
- [15] Barik, A., Mishra, B., Kunwar, A. and Priyadarsini, K.I., Interaction of curcumin with human serum albumin: Thermodynamic properties, fluorescence energy transfer and denaturation effects. *Chemical physics letters*, 436(1) (2007) 239-243.
- [16] Shibata, J.H., Review of Molecular Modeling Basics. *Journal of Chemical Education*, 89(12) (2012) 1489-1490.
- [17] Bode, B.M. and Gordon, M.S., MacMolPlt: a graphical user interface for GAMESS. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 16(3) (1998) 133-138.
- [18]. Krishnan, R.B.J.S., Binkley, J.S., Seeger, R. and Pople, J.A., Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. *The Journal of Chemical Physics*, 72(1) (1980) 650-654.
- [19] Becke, A.D., Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of chemical physics*, 98(7) (1993) 5648-5652.
- [20] Lee, C., Yang, W. and Parr, R.G., Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical review B*, 37(2) (1988) 785.
- [21] Morris, G.M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M.F., Belew, R.K., Goodsell, D.S. and Olson, A.J., AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry*, 30(16) (2009) 2785-2791.

