مقاله پژوهشی

بررسی داکینگ مولکولی تعدادی از مشتقات هیدروکسی نیترو دی فنیل اتر به‌عنوان مهارکننده آنزیم تیروزیناز

فاطمه شعله ور [۱]، عزیزه اسدزاده [۲*]، حوریا سیدحسینی قهه [۳]

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد زرقان، دانشگاه آزاد اسلامی، زرقان، ایران
۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، موسسه آموزش عالی نور دانش، میمه، اصفهان، ایران
۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۳/۱۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۷/۰۷

چکیده

زمینه و هدف: تیروزیناز یک آنزیم کلیدی در تولید رنگ‌دانه است. اختلالات مربوط به افزایش رنگ‌دانه در نتیجه تولید بیش‌ازحد ملانین در پوست ایجاد می‌شود؛ بنابراین گسترش مهارکننده‌های این آنزیم در زمینه‌های پزشکی، آرایشی و کشاورزی حائز اهمیت است. هدف این پژوهش بررسی بیوانفورماتیکی مهار آنزیم تیروزیناز به‌وسیله‌ی تعدادی از مشتقات هیدروکسی نیترو دی فنیل اتر است.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به روش توصیفی- تحلیلی انجام گرفت. برای بررسی نحوه اتصال ترکیبات به جایگاه فعال آنزیم، در ابتدا ساختار شیمیایی ترکیبات با استفاده از نرم‌افزار ChemDraw ترسیم شد سپس به‌منظور بهینه‌سازی انرژی، به نرم‌افزار Hyperchem انتقال یافت. مطالعات داکینگ به‌وسیله نرم‌افزار AutoDock 4.2 انجام گرفت و در مرحله نهایی، نتایج با استفاده از سه برنامه AutoDockTools، DS Visualizer و Ligplot مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج: در میان تمام ترکیبات موردمطالعه، بهترین نتایج داکینگ مربوط به ترکیب 4-Hydroxy- 2'-nitrodiphenyl ether است. در حقیقت این ترکیب با منفی‌ترین سطح انرژی اتصال (۱۲/۷۹ Kcal/mol-) تمایل بیشتری برای اتصال به آمینواسیدهای کلیدی جایگاه فعال تیروزیناز دارد. محل برهم‌کنش این ترکیب مشابه مولکول کوکریستال (تروپولن) است. در این ترکیب، اتم اکسیژن در گروه نیترو، با دو یون مس جایگاه فعال، پیوند فلزی مؤثری برقرار می‌کند.

نتیجه‌گیری: در پایان با توجه به اثربخشی بالا و نتایج داکینگ می‌توان نتیجه گرفت که ترکیب 4-Hydroxy- 2'-nitrodiphenyl ether می‌تواند به‌عنوان مهارکننده مؤثر آنزیم تیروزیناز مطرح شود.

کلمات کلیدی: بیوانفورماتیک، داکینگ، هیدروکسی نیترو دی فنیل، تیروزیناز

مقدمه

تیروزیناز (EC: 1,14,18,1) یک آنزیم دارای مس است. نام‌های دیگر آن پلی فنول اکسیداز (PPO)، تیروزین L - دوپا: اکسیژن اکسیدوردوکتاز، کاتکولاز و دی فنول اکسیداز است (۱). دلیل انتخاب واژه تیروزیناز برای این آنزیم نام سوبسترای معمول آن یعنی تیروزین است (۲).

این آنزیم برای تولید ملانین ترکیبات فنولی را در دو مرحله اکسید می‌کند. تیروزیناز در مرحله نخست نقش کرسولازی یا منواکسیژنازی دارد که گروه هیدروکسیل را به موقعیت ارتو حلقه آروماتیک اضافه می‌کند و در مرحله بعد نقش دی فنولاز یا کاتکولازی دارد که در این مرحله محصول واکنش اول را اکسید می‌کند و به ارتو-کوئینون تبدیل می‌کند. در هر دو واکنش ذکر شده نیاز به حضور مولکول اکسیژن است (۱، ۳). اگرچه تیروزیناز به‌طور گسترده در میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و حیوانات وجود دارد ولی به دلیل شباهت زیاد آنزیم تیروزیناز قارچی به نوع انسانی، مطالعات زیادی بر روی آنزیم تیروزیناز در قارچ خوراکی *Agaricus bisporus* انجام گرفته است (۱). این آنزیم قارچی، در ساختار کریستالی دارای دو تترامر H2L2 است که زیرواحدهای آن توسط یون‌های هالمیوم به هم متصل شده‌اند. زیرواحدهای H دومین تیروزینازی و هرکدام از آن‌ها به دو یون مس و یک مولکول تروپولن (مهارکننده آنزیم تیروزیناز) متصل شده است. یون‌های مس در کئوردینانس با ۶ اسیدآمینه هیستیدین His85،His61، His94، His259، His263 و His296 در جایگاه

* **نویسنده مسئول: عزیزه اسدزاده**، گروه زیست‌شناسی، موسسه آموزش عالی نور دانش، میمه، اصفهان، ایران
Email: az.asadzadeh@yahoo.com

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.6.4.10.2]

فعال می‌باشند. زیرواحدهای L دارای تاخوردگی Lectin-like با عملکرد نامشخص می‌باشند (۴).

با اینکه نقش اصلی آنزیم تیروزیناز در تولید ملانین است (۱، ۵) و این رنگ‌دانه‌ها از پوست در مقابل آسیب‌های نور فرابنفش اشعه خورشید حفاظت می‌کند اما تغییر در تولید ملانین با تظاهرات کلینیکی و پاتولوژیکی فرم بدخیم ملانوما ارتباط دارد. علاوه بر این تولید بیش‌ازحد ملانین در لایه‌های اپیدرم منجر به تیرگی پوست می‌گردد؛ لذا استفاده از مهارکننده‌های تیروزیناز به‌عنوان عوامل مداخله‌گر در پیشرفت ملانوما و یا به‌عنوان عوامل سفیدکننده در صنعت آرایشی- بهداشتی بسیار مهم است (۲، ۴، ۶ و ۷).

ظهور رنگ‌دانه‌های قهوه‌ای در برخی دیگر از محصولات کشاورزی مانند قارچ، سیب، گلابی و موز ناشی از عملکرد این آنزیم بوده و سبب کاهش کیفیت و ارزش تجاری این محصولات می‌گردد. به همین دلیل کاربرد مهارکننده‌های تیروزیناز در صنایع غذایی و کشاورزی بسیار با ارزش است (۱، ۶).

از طرفی نباید عملکرد آنزیم تیروزیناز را در تشکیل پوسته کیتینی حشرات مضر برای محصولات کشاورزی (۸-۱۱) نادیده گرفت؛ بنابراین مهارکننده‌های این آنزیم نیز می‌توانند در تولید آفت‌کش‌ها کاربرد داشته باشند. با توجه به موارد گفته‌شده می‌توان به اهمیت مهارکننده‌های آنزیم تیروزیناز پی برد. تا به امروز تعداد زیادی از مهارکننده‌های طبیعی و سنتزی گزارش شده است اما سمیت، حساسیت‌زایی و ناپایداری مهارکننده‌ها از جمله مشکلاتی است که در زمینه مهار آنزیم تیروزیناز در صنعت پزشکی، کشاورزی و غذایی وجود دارد؛ بنابراین توسعه مهارکننده‌های جدید پایدار و غیر سمی برای آنزیم تیروزیناز ضروری به نظر می‌رسد (۱۲).

در مطالعات قبلی اثر مهاری ۴۲ ترکیب از مشتقات کوجیک اسید به‌صورت *in silico* (۱۳، ۱۴) و *in vitro* (۱۵) مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعات، ترکیبات دارای گروه نیترو اثر مهاری خوبی را در بررسی‌های *in silico* و *in vitro* نشان دادند. در این ترکیبات گروه نیترو با یون‌های مس موجود در جایگاه فعال آنزیم تیروزیناز پیوند فلزی برقرار کرده و آن را غیرفعال می‌کند. به همین دلیل در این تحقیق داکینگ مولکولی تعدادی از مشتقات هیدروکسی نیترو دی فنیل اتر به‌عنوان مهارکننده آنزیم تیروزیناز مورد بررسی قرار گرفته است. ترکیبات هیدروکسی دی فنیل اترها حدواسطهای مهمی در سنتز ترکیبات بیولوژیکی فعال هستند. اخیراً تعدادی ازاین‌گونه ترکیبات با فعالیت‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی، آنتی‌اکسیدانی، سرکوب‌کننده سیستم ایمنی و مهارکننده‌های تقسیم میتوز شناخته شده است اما در مورد فعالیت آنتی تیروزینازی این دسته از ترکیبات گزارش‌های کمتری موجود است (۱۶).

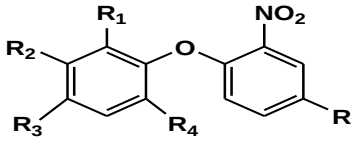
استفاده از روش‌های محاسباتی برای تخمین فعالیت مولکول‌های مختلف به‌عنوان کاندیداهای دارویی پیش از سنتز آن‌ها، فرایند کشف داروهای جدید را تسریع می‌بخشد. امروزه ابزار محاسباتی و سریع داکینگ برای طراحی منطقی داروها ضروری به نظر می‌رسد. این تکنیک بر اساس ساختار اتمی و میان کنش اتم‌ها با یکدیگر است. در این تکنیک لیگاند یا دارو به‌طور تصادفی یا با الگوریتم‌های خاص در سطح یک ماکرومولکول جابجا می‌شود، به‌طوری‌که یک جایگاه ایده‌آل برای اتصال به آن پیدا شود. در این روش از مکانیک مولکولی برای محاسبه انرژی لیگاند در هنگام میان کنش با ماکرومولکول استفاده می‌شود. (۱۷ و ۱۸). در این طرح، با هدف بررسی و شناسایی دقیق مکانیزم اتصال ۹ ترکیب با اسکلت ساختاری هیدروکسی نیترو دی فنیل به سایت فعال آنزیم تیروزیناز، روش مولکولار داکینگ اجرا و نتایج به‌دست‌آمده از آن مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. برای انجام روش داکینگ از نرم‌افزار AutoDock 4.2 استفاده شد. لازم به ذکر است که قابلیت مهاری این دسته از ترکیبات طی بررسی‌های عملی ثابت شده و درصد مهاری آن‌ها گزارش شده است (۱۶).

مواد و روش‌ها

این پژوهش به شیوه توصیفی – تحلیلی انجام شد. برای انجام روش داکینگ از الگوریتم ژنتیک موجود در نرم‌افزار AutoDock استفاده شد. بدین منظور نرم‌افزار AutoDock در کامپیوتر ۵ هسته‌ای که تحت سیستم‌عامل لینوکس بود، نصب گردید. در این تحقیق ۹ ترکیب از مشتقات هیدروکسی نیترو دی فنیلی مورد بررسی قرار گرفت. ساختار کلی، جزئیات ساختاری و نام ترکیبات موردمطالعه در جدول ۱ آورده شده است. با توجه به این‌که ساختار کریستالی آنزیم تیروزیناز انسانی گزارش نشده است و تشابه زیادی بین آنزیم تیروزیناز قارچی *A. bisporus* و نوع انسانی است (۱۹) بنابراین ساختار کریستالوگرافی مناسب از این آنزیم تیروزیناز حاوی بخش کاتالیتیکی مرکزی از پایگاه اینترنتی PDB انتخاب و دانلود شد. کد شناسایی این آنزیم در این پایگاه 2Y9X است.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.6.4.10.2]

جدول ۱- ساختار کلی و جزئیات ساختاری ترکیبات موردمطالعه



شماره ترکیب	نام ترکیب	R	R_1	R_2	R_3	R_4
۱	4'-Bromo-2-hydroxy-2'-nitrodiphenyl ether	Br	OH	H	H	H
۲	4-bromo-3-hydroxy-2'-nitrodiphenyl ether	H	H	OH	Br	H
۳	4',6-Dibromo-3-hydroxy-2'-nitrodiphenyl ether	Br	H	OH	H	Br
۴	4'-bromo-3-hydroxy-2'-nitrodiphenyl ether	Br	H	OH	H	H
۵	4-Hydroxy-2'-nitrodiphenyl ether	H	H	H	OH	H
۶	4'-Bromo-4-hydroxy-2'-nitrodiphenyl ether	Br	H	H	OH	H
۷	6-bromo-3-hydroxy- 2'-nitrodiphenyl ether	H	H	OH	H	Br
۸	2-Hydroxy-2'-nitrodiphenyl ether	H	OH	H	H	H
۹	3-Hydroxy-2'-nitrodiphenyl ether	H	H	OH	H	H

آماده کردن لیگاندها برای داکینگ

ساختار دوبعدی لیگاندهای موردنظر توسط برنامه ChemDraw Ultra 8.0ترسیم شدند و سپس با استفاده از نرم‌افزار Hyperchem و توسط الگوریتم Polak-Ribiere از نظر انرژی بهینه شدند در مرحله بعد لیگاندهای بهینه‌شده به‌عنوان ورودی نرم‌افزار AutoDockTools استفاده شد و سپس با استفاده از Gasteiger-Marsili بار جزئی برای مولکول‌های مهارکننده محاسبه شد، هیدروژن‌های غیر یونیزه ادغام گردید و بعد از مشخص کردن مرکز ثقل مولکول تمامی باندهای قابل چرخش تعیین گردید.

با استفاده از نرم‌افزار DS Visualizer 3.5 تمامی زنجیره‌های پروتئین به‌جز یک زنجیر H، لیگاندهای کوکریستال، مولکول‌های آب و یون‌های هالمیوم حذف شدند. بعد از حذف قسمت‌های غیرضروری در عملیات داکینگ، پروتئین به‌عنوان ورودی نرم‌افزار AutoDock استفاده شد. تا بعد از اضافه شدن اتم‌های هیدروژن به پروتئین، بار کلی آن با استفاده از Kollman charge تعیین گردد سپس هیدروژن‌های غیر یونیزه در اتم کربن مجاور ادغام شدند.

انجام داکینگ مولکولی

با استفاده از Autogrid به‌عنوان بخشی از نرم‌افزار AutoDock، برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک برای هر اتم پروتئین مورد بررسی قرار گرفت. برای داکینگ مهارکننده از اندازه باکس ۴۰×۴۰×۴۰ استفاده و Point spacing برای هر مهارکننده عدد ۰/۳۷۵ (معادل یک‌چهارم طول پیوند کربن – کربن) انتخاب شد. سپس مرکز دو یون مس موجود در جایگاه فعال به‌عنوان مرکز گرید باکس تعیین شد. از الگوریتم ژنتیک لامارکین موجود در

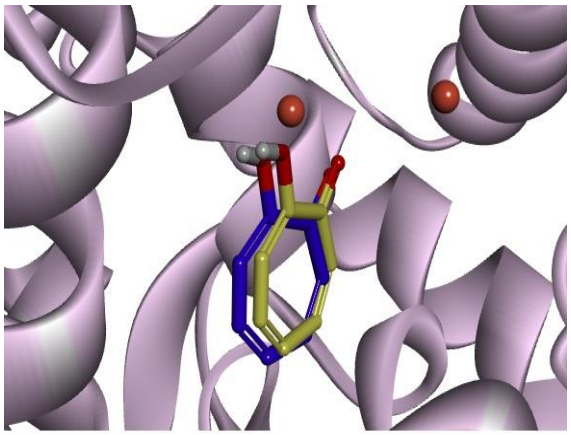
[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.6.4.10.2]

نرم‌افزار AutoDock برای انجام داکینگ استفاده گردید. در نهایت نتایج حاصل با سه نرم‌افزار DS Visualizer 3.5، Autodock toolsو Ligplot مورد آنالیز گرفت.

نتایج

در ابتدا برای اعتبارسنجی عملیات داکینگ، مولکول کوکریستال تروپولن از جایگاه فعال آنزیم تیروزیناز برداشته شد و پس از داکینگ مورد مقایسه قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود مولکول کوکریستال و داک شده تروپولن در مکان تقریباً مشابه قرارگرفته‌اند.

بعد از اعتبار سنجی پروتکل داکینگ، ساختار سه‌بعدی ترکیبات مهارکننده به داخل جایگاه فعال آنزیم تیروزیناز داک شدند. نتایج نشان می‌دهد که مولکول‌های فعال در فضای مشابه با تروپولن قرار می‌گیرند. داده‌های مربوط به تغییرات انرژی آزاد، انرژی درون‌مولکولی، انرژی الکترواستاتیک، انرژی کل درونی و انرژی پیچشی در جدول ۲ آورده شده است. در جدول ۳ کلیه



شکل ۱- داکینگ مجدد مولکول تروپولن در جایگاه فعال آنزیم تیروزیناز، مولکول کوکریستال تروپولن (زرد)، مولکول داک شده تروپولن (آبی) و یون‌های مس (قرمز).

برهم‌کنش‌های لیگاندها شامل پیوندهای هیدروژنی، برهم‌کنش‌های هیدروفوبی، انواع برهم‌کنش‌های π، برهم‌کنش با یون‌های مس ذکرشده است.

جدول ۲- انرژی ترکیبات داک شده. واحد انرژی تمامی داده‌ها kcal/mol است.

شماره ترکیبات	تغییرات انرژی آزاد اتصال	انرژی درون‌مولکولی	انرژی الکترواستاتیک	انرژی کل درونی	انرژی پیچشی
۱	-۴/۱۱	-۵/۲۱	-۴/۵۵	-۰/۲۲	۱/۱
۲	-۳/۷۲	-۴/۸۲	-۶/۴۸	-۰/۲	۱/۱
۳	-۴/۱۷	-۵/۲۷	-۶/۵۴	-۰/۳۳	۱/۱
۴	-۳/۸۲	-۴/۹۲	-۲/۷۷	-۰/۳۲	۱/۱
۵	-۱۲/۷۹	-۱۳/۸۹	-۱۲/۷۴	-۰/۰۶	۱/۱
۶	-۱۱/۳۱	-۱۲/۴۱	-۱۳/۲۷	۰/۴۵	۱/۱
۷	-۷/۰۸	-۸/۱۸	-۶/۹۲	-۰/۳۸	۱/۱
۸	-۲/۷۹	-۳/۸۹	-۱/۵۴	-۰/۵۵	۱/۱
۹	-۲/۳۹	-۳/۴۹	-۱/۴۲	-۰/۴۳	۱/۱
تروپولن	-۳/۱۱	-۳/۳۸	-۱/۵۱	-۰/۰۳	۰/۲۷

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.6.4.10.2]

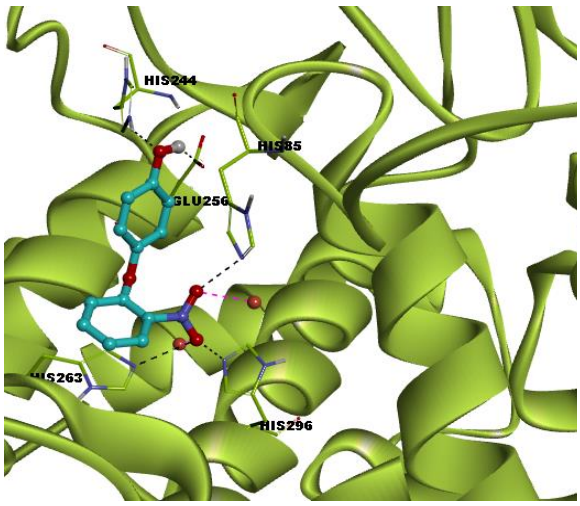
جدول ۳- برهم‌کنش‌های موجود بین ترکیبات موردمطالعه و اسیدآمینه‌های جایگاه فعال آنزیم تیروزیناز

شماره ترکیبات	برهم‌کنش با یون فلزی	اسیدآمینه‌های درگیر در تشکیل برهم‌کنش‌ها		
		برهم‌کنش‌های هیدروژنی	برهم‌کنش‌های Pi	برهم‌کنش‌های هیدروفوبی
۱	-	Asn_{260}, His_{85}	-	Gly_{281}, Met_{280} His_{85}, His_{61}, Phe_{264}, Val_{283}, Ser_{282},His_{259}, His_{263}
۲	-	Asn_{81}, His_{85}	-	His_{85}, His_{61}, Asn_{260}, Val_{283}
۳	-	Met_{280}, His_{85}	-	His_{85},His_{61},His_{259}, His_{263}, Phe_{264}, Ala_{286}, Asn_{260}, Gly_{281}, Val_{283}, Ser_{282}
۴	OH... Cu^{2+} (۲/۳۳۴)	Met_{280}	-	Asn_{260}, Gly_{281}, Val_{283}, Ser_{282}, His_{61}, His_{259}, His_{85}, Phe_{264}, Phe_{292}, Met_{280}
۵	N=O... Cu^{2+} (۲/۳۳۳) N=O... Cu^{2+} (۲/۱۰)	His_{85}, His_{296}, Glu_{256},, His_{263},, His_{244}	-	Asn_{260}, Val_{283}, Ser_{282}, His_{61}, His_{259}, Phe_{292}, Met_{280}, Ala_{286}
۶	-	Met_{280}, His_{85}, Asn_{260}	–	His_{85}, His_{259}, His_{263}, Phe_{264}, Gly_{281}, Val_{283}
۷	-	His_{85}, His_{296}, Glu_{256},, His_{244}	–	Asn_{260}, Val_{283}, Ser_{282}, His_{263}, His_{259}, Phe_{292}, Phe_{90}, Ala_{286}
۸	-	Asn_{260}, His_{263}	–	Asn_{260}, Val_{283}, Ser_{282}, His_{85}, His_{259}, Phe_{264}, Phe_{90}
۹	-	His_{244}, His_{61}	–	Asn_{260}, Val_{283}, Ser_{282}, His_{85}, His_{259}, Phe_{264}
تروپولن	C=O... Cu^{2+} (۲/۵۱۹)	Asn_{260}	His_{263} (cation-π) (π -π)	Gly_{281}, His_{259}, Val_{283}, Ser_{282}, His_{61}, His_{263}, Ala_{286}, Met_{280}

بحث و نتیجه گیری

نتیجه این بررسی نشان داد که مشتقات هیدروکسی نیترو دی فنیلی مورد مطالعه می‌توانند با اتصال به جایگاه فعال آنزیم تیروزیناز موجب مهار این آنزیم گردند. بر اساس نتایج داکینگ، پتانسیل مهاری ترکیبات موردمطالعه با هم فرق می‌کنند و قوی‌ترین اتصال با بیشترین پتانسیل مهاری مربوط به ترکیب 4-Hydroxy- 2'-nitrodiphenyl ether است. این ترکیب با ΔG_{bind}= -۱۲/۷۹ kcal/mol منفی‌ترین سطح انرژی اتصال را در بین کلیه ترکیبات موردمطالعه دارد. ΔG_{bind} نشان‌دهنده قدرت اتصال بین ترکیبات مولکولی و جایگاه فعال آنزیم است. در واقع ΔG_{bind} حاصل جمع دو فاکتور انرژی درون‌مولکولی و انرژی پیچشی است (۱۷ و ۱۸).

در بررسی که در سال ۲۰۱۰ توسط Sapkota و همکاران انجام شد، این ترکیب در بررسی مهار آنزیمی با درصد مهاری ۸۲/۶۷ ±۰/۳۹ بیشترین خاصیت آنتی تیروزینازی را نسبت به سایر ترکیبات نشان داده است (۱۶)؛ بنابراین نتایج *in silico* به‌دست‌آمده توسط این تحقیق کاملاً منطبق بر نتایج *in vitro* گزارش‌شده، است. تیروزین سوبسترای اصلی آنزیم تیروزیناز، در موقعیت پارا دارای بخش هیدروکسیلی است. با اینکه تمامی ترکیبات مورد مطالعه دارای گروه هیدروکسیل می‌باشند اما تنها در ترکیب 4-Hydroxy- 2'-nitrodiphenyl ether گروه هیدروکسیل در موقعیت پارا قرار گرفته است. گروه NO_2 موجود در این ترکیب در فاصله ۲/۱۰-۲/۳۳ آنگستروم از دو یون مس موجود در جایگاه فعال آنزیم تیرزیناز قرار گرفته و با جهت‌گیری



شکل ۲. پیوندهای هیدروژنی (خط‌چین سیاه) و فلزی (خط‌چین صورتی) لیگاند ۵ با جایگاه فعال آنزیم تیروزیناز

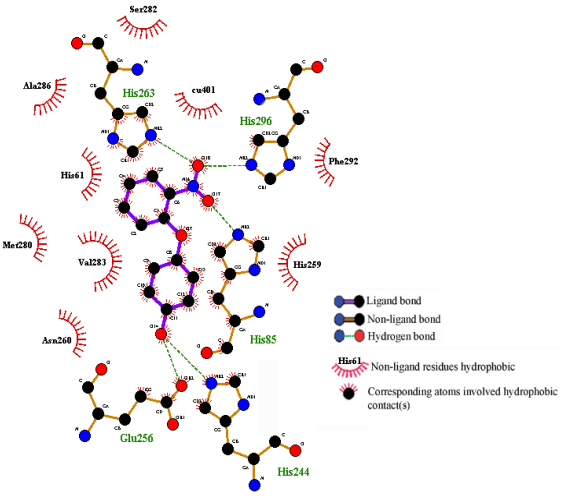
[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.6.4.10.2]

مناسبی که دارد می‌تواند با این دو یون پیوند فلزی برقرار کند. درحالی‌که در بقیه ترکیبات بخش نیترو در فاصله دورتر از یون‌های مس قرار گرفته و با آن‌ها برهم‌کنش فلزی ندارند.

این ترکیب از طریق برهم‌کنش با اسیدآمینه‌های کلیدی جایگاه فعال تیروزیناز می‌تواند مانع از اتصال سوبسترا به جایگاه فعال آنزیم می‌شود. در شکل ۲ تمامی پیوندهای هیدروژنی محتمل این لیگاند با جایگاه فعال آورده شده است. پیوندهای هیدروژنی که توسط ترکیب 4-Hydroxy- 2'-nitrodiphenyl ether ایجادشده‌اند مشابه با برهم‌کنش‌هایی هستند که در مطالعات داکینگ سایر مهارکننده‌های آنزیم تیروزیناز گزارش شده‌اند (۱۹-۲۳). از ۶ اسیدآمینه هیستیدین که در جایگاه فعال با یون‌های فلزی در کئوردیناس هستند (۴)، سه اسیدآمینه‌ی His85، His296 و His263 در تشکیل پیوند هیدروژنی با این ترکیب شرکت می‌کنند. در شکل ۳ تمامی اسیدآمینه‌هایی که در تشکیل پیوند هیدروفوبی با این لیگاند شرکت می‌کنند، آورده شده است.

پیوند با اسیدآمینه‌های Val283، Ser282، His61، His259، Met280 و Ala286 در داکینگ مولکول کوکریستال تروپولن نیز مشاهده می‌شود. دو اسیدآمینه Asn260 وHis263 که در تروپولن به ترتیب در پیوند هیدروژنی و پای با آنزیم در برهم‌کنش هستند، در ترکیب 4-Hydroxy- 2'-nitrodiphenyl ether همان آمینواسیدها به ترتیب در پیوند هیدروفوبی و پیوند هیدروژنی شرکت دارند. در این پژوهش ارتباط مستقیمی بین تمایل اتصال ترکیبات هیدروکسی نیترو دی فنیلی به جایگاه فعال آنزیم و درصد مهاری این ترکیبات مشاهده گردید.

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که ترکیب 4-Hydroxy- 2'-nitrodiphenyl ether می‌تواند ضمن میان کنش با اسیدآمینه‌های مهم واقع در جایگاه فعال آنزیم تیروزیناز، باعث مهار آن شود.



شکل ۳. بررسی اسیدآمینه‌های درگیر در تشکیل پیوند هیدروفوبی با ترکیب 4-Hydroxy- 2'-nitrodiphenyl ether توسط نرم‌افزار ligplot. همان‌طور که در شکل مشخص است این ترکیب با His_{85}،His_{296}،Glu_{256}،His_{263} و His_{244} پیوند هیدروژنی (خط‌چین سبز) و با آمینواسیدهای Asn_{260}، Val_{283}، Ser_{282}، His_{61}،His_{259} ، Phe_{292}، Met_{280} و Ala_{286} در تشکیل پیوند هیدروفوبی شرکت می‌کند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از جناب آقای دکتر محمدرضا زمانی و جناب آقای دکتر مرتضی اسکری از موسسه آموزش عالی نور دانش که نهایت همکاری را در اجرای این پروژه داشتند و جناب آقای دکتر افشین فصیحی از دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که در آموزش نرم‌افزارها ما را یاری کردند، تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. De Faria RO, Moure VR, De Almeida Amazonas ML, Krieger N, Mitchell DA. The biotechnological potential of mushroom tyrosinases. Food Technology and Biotechnology. 2007;45(3):287.

2. Chang TS. An updated review of tyrosinase inhibitors. International journal of molecular sciences. 2009;10(6):2440-75.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.6.4.10.2]

3. Haghbeen K, Tan EW. Direct spectrophotometric assay of monooxygenase and oxidase activities of mushroom tyrosinase in the presence of synthetic and natural substrates. Analytical biochemistry. 2003;312(1):23-32.
4. Ismaya WT, Rozeboom HJ, Weijn A, Mes JJ, Fusetti F, Wichers HJ, et al. Crystal structure of Agaricus bisporus mushroom tyrosinase: identity of the tetramer subunits and interaction with tropolone. Biochemistry. 2011;50(24):5477-86.
5. TH Khan M. Novel tyrosinase inhibitors from natural resources–their computational studies. Current medicinal chemistry. 2012;19(14):2262-72.
6. Muñoz-Muñoz JL, Del Mar García-Molina M, Garcia-Molina F, Berna J, Garcia-Ruiz PA, García-Moreno M, et al. Catalysis and inactivation of tyrosinase in its action on o-diphenols, o-aminophenols and o-phenylendiamines: potential use in industrial applications. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 2013;91:17-24.
7. Hamilton A, Gomez B. Melanins in fungal pathogens. Journal of medical microbiology. 2002;51(3):189.
8. Li ZC, Chen LH, Yu XJ, Hu YH, Song KK, Zhou XW, et al. Inhibition kinetics of chlorobenzaldehyde thiosemicarbazones on mushroom tyrosinase. Journal of agricultural and food chemistry. 2010; 58(23):12537-12540.
9. Guerrero A, Rosell G. Biorational approaches for insect control by enzymatic inhibition. Current medicinal chemistry. 2005;12(4):461-9.
10. Beerntsen BT, James AA, Christensen BM. Genetics of mosquito vector competence. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2000;64(1):115-37.
11. Chai WM, Liu X, Hu YH, Feng HL, Jia YL, Guo YJ, et al. Antityrosinase and antimicrobial activities of furfuryl alcohol, furfural and furoic acid. International journal of biological macromolecules. 2013; 57:151-155.
12. Loizzo M, Tundis R, Menichini F. Natural and synthetic tyrosinase inhibitors as antibrowning agents: an update. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2012;11(4):378-98.
13. Asadzadeh A, Fassihi A, Yaghmaei P, Pourfarzam M. Docking Studies of Some Novel Kojic Acid Derivatives As Possible Tyrosinase Inhibitors. Biomedical and Pharmacology Journal. 2015;8(2):535-45.
14. Asadzadeh A, Fassihi A, Yaghmaei P, Pourfarzam M. In Silico Approach for Designing Potent Inhibitors against Tyrosinase. Biosci Biotechnol Res Asia. 2012;12(Spl. Edn. 2):181-7.
15. Asadzadeh A, Sirous H, Pourfarzam M, Yaghmaei P, Afshin F. In vitro and in silico studies of the inhibitory effects of some novel kojic acid derivatives on tyrosinase enzyme. Iranian journal of basic medical sciences. 2016;19(2):132-144.
16. Sapkota K, Lee E, Yang JH, Kwon Y, Choi J, Na Y. 4-Hydroxy-2'-Nitrodiphenyl Ether Analogues as Novel Tyrosinase Inhibitors. Bull Korean Chem Soc. 2010;31(5): 1319-1325.
17. Huang SY, Zou X. Advances and challenges in protein-ligand docking. International journal of molecular sciences. 2010;11(8):3016-34.
18. Mukesh B, Rakesh K. Molecular docking: a review. Int J Res Ayurveda Pharm. 2011; 1746-51.
19. Wen KC, Chang CS, Chien YC, Wang HW, Wu WC, Wu CS, et al. Tyrosol and its analogues inhibit alpha-melanocyte-stimulating hormone induced melanogenesis. International journal of molecular sciences. 2013;14(12):23420-40.
20. Vontzalidou A, Zoidis G, Chaita E, Makropoulou M, Aligiannis N, Lambrinidis G, et al. Design, synthesis and molecular simulation studies of dihydrostilbene derivatives as potent tyrosinase inhibitors. Bioorganic & medicinal chemistry letters. 2012;22(17):5523-6.
21. Chung KW, Jeong HO, Jang EJ, Choi YJ, Kim DH, Kim SR, et al. Characterization of a small molecule inhibitor of melanogenesis that inhibits tyrosinase activity and scavenges nitric oxide (NO). Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 2013;1830(10):4752-61.
22. Pei CJ, Lee J, Si YX, Oh S, Xu WA, Yin SJ, et al. Inhibition of tyrosinase by gastrodin: An integrated kinetic-computational simulation analysis. Process Biochemistry. 2013;48(1):162-8.
23. Wang ZJ, Lee J, Si YX, Oh S, Yang JM, Shen D, et al. Toward the inhibitory effect of acetylsalicylic acid on tyrosinase :Integrating kinetics studies and computational simulations. Process Biochemistry. 2013;48(2):260-6.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.6.4.10.2]

Original Article

Molecular Docking Studies of Some Hydroxy Nitrodiphenyl Ether Analogues as Tyrosinase Inhibitors

Sholehvar F[1], Asadzadeh A[2]*, Seyedhosseini Ghaheh H[3]

1- Young Researchers and Elites Club, Zarghan Branch, Islamic Azad University, Zarghan, Iran
2- Department of Biology, Faculty of Science, Nour Danesh institute of Higher Education, Meymeh, Isfahan, Iran
3- Young Researchers and Elites Club, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 01 Jun 2016 Accepted: 28 Sep 2016

Abstract

Background & Objective: Tyrosinase is a key enzyme in pigment synthesis.Overproduction of melanin in parts of the skin results in hyperpigmentation diseases. Thus, its inhibitors are highly important in the medical, cosmetic and agricultural fields. The aim of this research is the bioinformatical study of tyrosinase inhibition by a number of hydroxy nitrodiphenyl ether derivatives.

Material & Methods: This is a descriptive-analytic study. In order to investigate the mode of interaction of the compounds with tyrosinase active site, the chemical structures of all compounds were designed using ChemDraw program, then transferred into Hyperchem software for energy minimization. Docking study was performed by AutoDock 4.2 program and the resulting docking poses were analyzed in AutoDockTools, DS Visualizer 3.5 and Ligplot software.

Results: Among the all studied compounds, the best docking results were related to 4-Hydroxy- 2'-nitrodiphenyl etherdisplayed. In fact, this compound had the most negative ΔG_{bind} (-12.79 Kcal/mol) that indicated favorable interactions with the key amino acid residues at active site of tyrosinase. Docking results for this compound are in accordance with those of co-crystallized ligand (tropolone). In this compound, the oxygen of nitro group has an efficient metal-ligand interaction with the Cu^{2+} ions in the active site.

Conclusion: Finally, in respect to high effectiveness and docking results, we can conclude that the compound 4-Hydroxy- 2'-nitrodiphenyl ether may be regarded as an effective anti-tyrosinase inhibitor.

Keywords: Bioinformatic, Docking, Hydroxy Nitrodiphenyl Ether, Tyrosinase

***Corresponding author: Azizeh Asadzadeh,** Department of Biology, Nourdanesh institute of higher education, Meymeh, Iran
Email:az.asadzadeh@yahoo.com

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.6.4.10.2]