مقاله پژوهشی

مطالعات داکینگ بر روی گروهی از مشتقات سالیسیل آلدهید به‌منظور دستیابی به ترکیبات ضد ملانوژنز

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

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

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۱/۱۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۴/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: تولید غیرعادی رنگ‌دانه ملانین که سبب ایجاد ملاسما، کک‌ومک، لکه‌های پوستی، لکه‌های سن می‌شود، از مسائل زیبایی می‌باشند. پلی فنول اکسیداز یک آنزیم دارای مس است که در سنتز و تجمع غیرعادی ملانین نقش دارد. هدف از این مطالعه بررسی تعدادی از مشتقات سالیسیل آلدهید به‌عنوان مهارکننده‌های آنزیم پلی فنول اکسیداز است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش ۳۵ مهارکننده از مشتقات سالیسیل آلدهید موردمطالعه داکینگ مولکولی قرار گرفت. برای بررسی نحوه اتصال ترکیبات به جایگاه فعال آنزیم پلی فنول اکسیداز، از نرم‌افزار AutoDock 4.2 استفاده شد 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-isopropylsalicylaldehyde است. در حقیقت این ترکیب با منفی‌ترین سطح انرژی اتصال (۴/۰۱ Kcal/mol-) تمایل بیشتری برای اتصال به آمینواسیدهای کلیدی جایگاه فعال پلی فنول اکسیداز دارد. محل برهم‌کنش این ترکیب مشابه مولکول کوکریستال (تروپولن) است. در این ترکیب، اکسیژن گروه کربونیل، با یون مس جایگاه فعال، پیوند فلزی مؤثری برقرار می‌کند.

نتیجه‌گیری: حضور بخش غیر قطبی در ترکیبات مشتق سالیسیل آلدهید سبب افزایش خصلت مهاری ترکیب می‌شود.

کلمات کلیدی: مطالعات مولکولی، مشتقات سالیسیل آلدهید، پلی فنول اکسیداز، ضد ملانوژنز

مقدمه

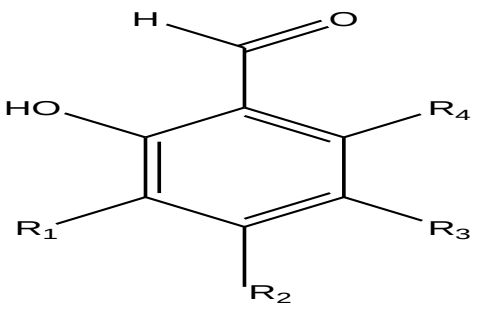
رنگ‌دانه‌ها از ویژگی‌های بارز فنوتیپی می‌باشند. از میان رنگ‌دانه‌ها، ملانین در محدوده وسیع از موجودات زنده وجود دارد و نقش‌های متفاوتی را ایفا می‌کند. ملانین یک بیو پلیمر هتروژن با ساختار پیچیده بوده که رنگ آن از زرد تا سیاه متغیر است. عملکرد اصلی آنزیم پلی فنول اکسیداز (PPO) در ارتباط با سنتز ملانین است. این آنزیم یک آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز ملانین است و مرحله محدودکننده سرعت در تشکیل ملانین را کاتالیز می‌کند (۱). پلی فنول اکسیداز یک متالوآنزیم است که در جایگاه فعال خود دارای دو یون مس است. این آنزیم با شماره آنزیمی EC: 1,14,18,1 جزء گروه اکسیدوردوکتازها است (۲). نام‌های دیگر این آنزیم تیروزیناز، تیروزین L- دوپا، اکسیژن اکسیدوردوکتاز، کاتکولاز و دی فنول اکسیداز است (۳). Ismaya و همکاران برای اولین بار در سال ۲۰۱۱ ساختار کریستالوگرافی پلی فنول اکسیداز *Agaricus bisporus* را به دست آورند. در ساختار کریستالی، این آنزیم به‌صورت اکتامر H2L2 به هم متصل است؛ بنابراین دارای ۸ زنجیر بوده که در سایت PDB نام این زنجیرها A, B, C, D, E, F, G, H است. زنجیر A تا D جزء سابیونیت H بوده و محصول ژن ppo3

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

می‌باشند. این زنجیرها دارای تاخوردگی و عملکرد مشابه پلی فنول اکسیداز هستند و ۳۹۱ آمینواسید دارند. هرکدام از این زنجیرها به دو یون مس و یک مولکول تروپولن (مهارکننده آنزیم پلی فنول اکسیداز) متصل شده‌اند؛ بنابراین ساختار کریستالی آنزیم دارای ۸ یون مس و ۴ مولکول مهارکننده است. زنجیرهای E تا H جزء سابیونیت L بوده و محصول ژن orf239342 می‌باشند. این زنجیرها دارای تاخوردگی Lectin-like با عملکرد نامشخص هستند و هرکدام ۱۵۰ آمینواسید دارند. لازم به ذکر است زیرواحدهای آنزیم توسط یون‌های هالمیوم به هم متصل شده‌اند (۴). این آنزیم با اضافه کردن گروه هیدروکسیل به حلقه آروماتیک فعالیت منواکسیژنازی دارد و سپس با اکسیداسیون مجدد محصول واکنش فعالیت دی فنولازی انجام می‌دهد (۵، ۶). اختلالات پوستی مختلف ازجمله ملاسما، لکه‌های پوستی از تجمع بیش‌ازحد ملانین در سلول‌های اپیدرمی پوست به وجود می‌آیند. علاوه بر این واکنش‌های نامطلوب قهوه‌ای شدن میوه‌ها و سبزی‌ها توسط این آنزیم انجام می‌شود که باعث کاهش کیفیت مواد غذایی می‌شود. آنزیم پلی فنول اکسیداز در سنتز کیتین در حشرات نقش مهمی دارد؛ بنابراین مهار این آنزیم در کنترل جمعیت حشرات و ساخت بعضی از آفت‌کش‌ها تأثیر بسزایی دارد (۷). در حال حاضر ناکافی بودن روش‌های معمول برای جلوگیری از فعالیت پلی فنول اکسیداز ما را تشویق به پیدا کردن ترکیبات جدید برای مهار این آنزیم می‌کند (۸) در این تحقیق داکینگ مولکولی تعدادی از مشتقات سالیسیل آلدهید به‌عنوان مهارکننده آنزیم پلی فنول اکسیداز بررسی شده است. سالیسیل آلدهید یک ترکیب آلی با فرمول عمومی $C_6H_4CHO\text{-}2\text{-}OH$ است. این ترکیب شامل یک حلقه فنولی با گروه عاملی آلدهیدی است. این ترکیب در درختچه گیاه اسپیریا پیدا شده است. ترکیب سالیسیل آلدهید بانام دیگر ۲-هیدروکسی بنزآلدهید اثرمهار کنندگی خوبی روی این آنزیم نشان داده (۱۱-۹) و ما امید داریم که مشتقات این ترکیب هم بتواند همین اثر را باکیفیت بالا القا کند تا در جهت پیشرفتی در صنایع مختلف باشد. در بررسی‌های گذشته تحقیقاتی روی ترکیبات ۲-هیدروکسی بنزآلدهید، آنیسالدهید، بیس-سالیسیل آلدهید، ۲-هیدروکسی ۴-متوکسی بنزآلدهید، ترانس-سینمالدهید و دی هیدروکسی بنزآلدهید به‌عنوان مهارکننده‌های آنزیم پلی فنول اکسیداز انجام شد و مشاهده‌شده این ترکیبات فعالیت مهاری و آنتی‌اکسیدانی خوبی از خود نشان می‌دهد (۱۱-۹). ترکیب ۲-هیدروکسی ۴-ایزوپروپیل بنزآلدهید یک مهارکننده قوی پلی فنول اکسیداز شناخته شد که از گیاهان دارویی آفریقا استخراج شد. این ترکیب که از یک نوع قارچ استخراج‌شده تا حدی مانع از اکسیداسیون L-DOPA می‌شود (۱۲). در سال‌های اخیر تمرکز اصلی تحقیقات روی فعالیت تنظیمی آنزیم پلی فنول اکسیداز در صنعت پزشکی، کشاورزی و لوازم‌آرایشی و بهداشتی بوده است. نرم‌افزارهای محاسباتی یک روش جدید است که پیدایش و عمومیت آن با پیشرفت قدرت محاسبات در طی چندین دهه اخیر همراه بوده است. به‌طوری‌که همراه با دیگر روش‌ها برای درک واکنش‌ها و فرایندهای بیوشیمیایی استفاده می‌شود. روش‌های محاسباتی برای بیان و پیشگویی نحوه اتصال لیگاند به گیرنده، ارزیابی اختلاف انرژی بین حالت‌های مختلف و توضیح مسیرها و مکانیسم‌های واکنش در سطح اتمی است. در این طرح، باهدف بررسی و شناسایی دقیق مکانیسم اتصال ۳۵ ترکیب با اسکلت ساختاری سالیسیل آلدهید به سایت فعال آنزیم پلی فنول اکسیداز، روش مولکولار داکینگ اجرا و نتایج به‌دست‌آمده از آن مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت (۱۳، ۱۴).

مواد و روش ها

در این تحقیق از نرم‌افزار اتوداک (AutoDock 4.2) برای انجام داکینگ مولکولی استفاده شد. بدین منظور نرم‌افزار اتوداک در کامپیوتر ۵ هسته‌ای که تحت سیستم‌عامل لینوکس بود، نصب شد. در این تحقیق ۳۵ ترکیب از مشتقات سالیسیل آلدهید موردبررسی قرار گرفت. مشتقات سالیسیل آلدهید از سایت https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov به دست آمد. ساختار



شکل۱- ساختار کلی ترکیبات موردمطالعه

کلی در شکل۱ و جزئیات ساختاری ترکیبات موردمطالعه در جدول۱ آورده شده است. با توجه به این‌که ساختار کریستالی آنزیم پلی فنول اکسیداز انسانی گزارش نشده است و تشابه زیادی بین آنزیم پلی فنول اکسیداز قارچی *Agaricus bisporus* و نوع

جدول ۱- ساختار کلی و جزئیات ساختاری ترکیبات موردمطالعه

شماره ترکیب	نام ترکیب	R1	R2	R3	R4
۱	Salicylaldehyde	H	H	H	H
۲	4-(diethylamino)salicylaldehyde	H	N(C2H5)2	H	H
۳	5-chlorosalicylaldehyde	H	H	Cl	H
۴	3,5-dibromosalicylaldehyde	Br	H	Br	H
۵	5-bromosalicylaldehyde	H	H	Br	H
۶	2-hydroxy-5-(hydroxymethyl)benzaldehyde	H	H	CH2OH	H
۷	4-(dimethylamino)-2-hydroxybenzaldehyde	H	N(CH3)2	H	H
۸	2-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde	H	OCH3	H	H
۹	4-(dibutylamino)salicylaldehyde	H	N(C4H9)2	H	H
۱۰	2-hydroxy-5-(trifluoromethoxy)benzaldehyde	H	H	OCF3	H
۱۱	5-(chloromethyl)-2-hydroxybenzaldehyde	H	H	CH2CL	H
۱۲	2-hydroxy-5-methoxybenzaldehyde	H	H	OCH3	H
۱۳	2,4-dihydroxybenzaldehyde	H	OH	H	H
۱۴	5-(benzyloxy)-2-hydroxybenzaldehyde	H	H	OCH2(C6H5)	H
۱۵	2-hydroxy-6-(trifluoromethyl)benzaldehyde	H	H	H	CF3
۱۶	2-hydroxy-3-(trifluoromethyl)benzaldehyde	CF3	H	H	H
۱۷	3-allyl-2-hydroxybenzaldehyde	C3H5	H	H	H
۱۸	5-aminosalicylaldehyde	H	H	NH2	H
۱۹	5-(dimethylamino)-2-hydroxybenzaldehyde	H	H	N(CH3)2	H
۲۰	5-bromo-2-hydroxy-3-(trifluoromethyl)benzaldehyde	CF3	H	Br	H
۲۱	2-hydroxy-4-methylbenzaldehyde	H	CH3	H	H
۲۲	salicylaldehyde, 5-[bis(2-chloroethyl)amino]	H	H	N(C2H4Cl)2	H
۲۳	4-isopropylsalicylaldehyde	H	C3H7	H	H
۲۴	2-hydroxy-4-phenylbenzaldehyde	H	C6H5	H	H
۲۵	2-formyl-6-phenylphenol	C6H5	H	H	H
۲۶	5-acetylsalicylaldehyde	H	H	COCH3	H
۲۷	5-fluoro-2-hydroxybenzaldehyde	H	H	F	H
۲۸	2-hydroxy-5-methylbenzaldehyde	H	H	CH3	H
۲۹	5-(bromomethyl)salicylaldehyde	H	H	CH2Br	H
۳۰	2-hydroxy-5-(methylthio)benzaldehyde	H	H	SCH3	H
۳۱	2-hydroxy-3,5-dimethylbenzaldehyde	CH3	H	CH3	H
۳۲	3-(2-hydroxyethyl)salicylaldehyde	(C2H4)OH	H	H	H
۳۳	5-chloro-3-cyclohexyl salicylaldehyde	C6H11	H	Cl	H
۳۴	5-t-butyl-2-hydroxybenzaldehyde	H	H	C4H9	H
۳۵	3-ethoxysalicylaldehyde	O(C2H5)	H	H	H

انسانی است؛ بنابراین ساختار کریستالی مناسب از آنزیم پلی فنول اکسیداز حاوی بخش کاتالیتیکی مرکزی از سایت http://www.rcsb.org/pdb انتخاب و دانلود شد. کد این آنزیم در این سایت 2Y9X با وضوح 2.78 Å است.

آماده کردن لیگاندها و پروتئین 2Y9X برای داکینگ

ساختار دوبعدی لیگاندهای موردنظر توسط برنامه ChemDraw Ultra 8.0ترسیم و سپس با استفاده از نرم‌افزار Hyperchem و توسط الگوریتم Polak-Ribiere ازنظر انرژی

بهینه شدند در مرحله بعد لیگاندهای بهینه‌شده به‌عنوان ورودی نرم‌افزار اتوداک تولز استفاده 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 اتوداک تولز 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

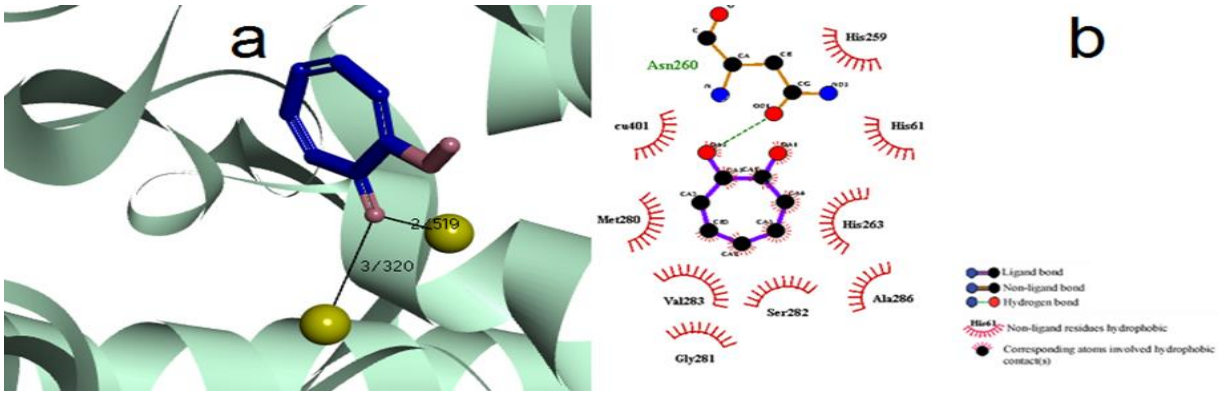
به‌منظور دستیابی به نحوه اتصال ترکیبات موردمطالعه با جایگاه فعال آنزیم از داکینگ مولکولی استفاده شد. برای داکینگ مهارکننده‌ها از اندازه باکس ۴۰ ×۴۰ ×۴۰ استفاده شد. به‌منظور به دست آوردن اندازه مناسب باکس برای هر مهارکننده از نرم‌افزار DS Visualizer 3.5 استفاده گردید. به‌این‌ترتیب که دورترین دونقطه در مهارکننده انتخاب و سپس فاصله آن‌ها محاسبه شد و درنهایت ۴ برابر فاصله به دست آمد. در این مرحله به‌منظور چرخش آزادانه مهارکننده در جایگاه فعال بیشترین عدد انتخاب می‌شود. Point spacing عدد 0.375 (معادل یک‌چهارم طول پیوند کربن – کربن) انتخاب شد. سپس مرکز دو یون مس موجود در جایگاه فعال به‌عنوان مرکز گرید باکس تعیین شد. از ژنتیک الگوریتم لامارکین موجود در نرم‌افزار اتوداک برای انجام داکینگ استفاده گردید.

مشاهده و آنالیز نتایج داکینگ

پس از انجام عملیات داکینگ، نتایج شامل کنفورماسیون‌های ترکیب، خوشه‌ها، انرژی اتصال لیگاندها (ΔG_{bind})، انرژی درونی مولکول، انرژی الکترواستاتیک، انواع برهم‌کنش‌های لیگاند با پروتئین شامل برهم‌کنش‌های هیدروژنی، برهم‌کنش‌های هیدروفوبی، انواع برهم‌کنش‌های π، برهم‌کنش با یون‌های مس موجود در جایگاه فعال آنزیم پلی فنول اکسیداز و سایر موارد قابل‌مشاهده و تجزیه‌وتحلیل می‌باشند. به‌منظور دستیابی به اطلاعات مذکور از هر سه نرم‌افزار DS Visualizer 3.5، Autodock tools و Ligplot استفاده شد.

نتایج

در ابتدا برای اعتبارسنجی عملیات داکینگ، مولکول کوکریستال تروپولن از جایگاه فعال آنزیم پلی فنول اکسیداز برداشته شد و مجدد مورد داکینگ قرار گرفت. در شکل ۲_ a نتایج بررسی نرم‌افزار Discovery Studio و در شکل ۲_ b نرم‌افزار lig plot نشان داده شده است. همان‌طوری که در شکل ۲_ a مشخص است تروپولن در فاصله ۳/۳۲ و ۲/۵۱ آنگسترومی از دو یون مس موجود در جایگاه فعال قرار گرفته است و در شکل ۲_ b این مهارکننده با آمینواسیدهای Gly_{281}, His_{259}, Val_{283}, Ser_{282}, His_{61}, His_{263}, Ala_{286} و Met_{280} در تشکیل پیوند هیدروفوبی و با آمینواسید Asn260 در تشکیل پیوند هیدروژنی شرکت می‌کند. بعد از اعتبارسنجی پروتکل داکینگ، ساختار سه‌بعدی ترکیبات مهارکننده به داخل جایگاه فعال آنزیم پلی



شکل ۲– a) داکینگ مجدد لیگاند تروپولن در جایگاه فعال آنزیم پلی فنول اکسیداز. یون‌های مس به رنگ زرد، فاصله‌های بین تروپولن با یون‌های مس با خط سیاه نشان داده شده است. شکل ۲_ b) بررسی اسیدآمینه‌های درگیر در تشکیل پیوند هیدروفوبی با نرم‌افزار lig plot

فنول اکسیداز 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، انرژی پیچشی و کلیه برهم‌کنش‌های لیگاندها شامل پیوندهای هیدروژنی، برهم‌کنش‌های هیدروفوبی، انواع برهم‌کنش‌های π، برهم‌کنش با یون‌های مس در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲- برهم‌کنش‌های موجود بین ترکیبات موردمطالعه و اسیدآمینه‌های جایگاه فعال آنزیم پلی فنول اکسیداز و انرژی ترکیبات داک شده. واحد انرژی تمامی داده‌ها kcal/mol است.

شماره ترکیبات	تغییرات انرژی آزاد اتصال	انرژی پیچشی	برهم‌کنش با یون فلزی	اسیدآمینه‌های درگیر در برهم‌کنش‌ها		
				برهم‌کنش‌های هیدروژنی	برهم‌کنش‌های Pi	برهم‌کنش‌های هیدروفوبی
۱	-۳/۲۳	۰/۶	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۵۱۷)	His259, His263 Asn260, His296	-	Gly_{281}, His_{94}, Val_{283}, Ser_{282}, His_{61}, His_{263}, Asn_{260}, His_{259}, Phe_{264}, Phe_{90}, Phe_{292}, Ala_{286}
۲	-۲/۷۱	۱/۴۹	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۴۷۲)	Asn260, His259 His263, His296	-	His_{85},His_{61},His_{259}, His_{263}, Phe_{264}, Ala_{286}, Asn_{260}, Gly_{281}, Val_{283}, Ser_{282}
۳	-۳/۲۴	۰/۶	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۶۱۴)	His259, His263 His296, Asn260	-	Val_{283}, Ser_{282}, His_{85},His_{259}, Ala_{286}, Pro_{284}, His_{263}, Phe_{264}, Phe_{292}, His_{85}, His_{85}
۴	-۲/۸۶	۰/۶	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۴۶۱)	His259, His263 His296	-	Gly_{281}, Asn_{260}, His_{85}, His_{244}, Ser_{282}, Glu_{256}, His_{259}, His_{263}, Phe_{264}
۵	-۳/۲۱	۰/۶	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۶۴۷)	His259, His263 His296, Asn260	His263 (Pi-Sigma)	His_{259}, Ala_{286}, Pro_{284}, His_{263}, Phe_{264}, Phe_{292}, His_{85}, His_{85}
۶	-۳/۱۱	۱/۱۹	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۵۴۵)	Met280, His259 His263, His296 Asn260	-	His_{85}, His_{244}, Ser_{282}, Glu_{256}, His_{259}, His_{263}, Phe_{264}
۷	-۳/۳۷	۰/۸۹	C=O…Cu2+ (۱/۵۵۷)	Asn260, His259 His263, His296	-	His_{85}, His_{259}, His_{263}, Phe_{264}, Gly_{281}, Val_{283}
۸	-۳/۱۸	۰/۸۹	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۵۱۵)	His259, His263 His296, Asn260	-	Asn_{260}, Val_{283}, Ser_{282}, His_{61}, His_{259}, Phe_{292}, Ala_{286}
۹	-۱/۹۵	۲/۶۸	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۴۳۲)	His259, His263 His296	His263 (Pi-Sigma)	Val_{283}, Ser_{282}, His_{85},His_{259}, Ala_{286}, Pro_{284}, His_{263}, Phe_{264}, Phe_{292}, His_{85}, His_{85}
۱۰	-۲/۰۱	۱/۱۹	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۴۷۵)	Ser282, His259 His263, His296	His263 (Pi-Sigma)	His_{259}, His_{263}, Ala_{286}, Phe_{264}, His_{85}, Val_{248}, His_{244}, Gly_{281}
۱۱	-۲/۴۹	۰/۸۹	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۴۶۷)	His259 His263 His296	-	Ser_{282}, His_{61}, His_{259}, His_{263}, Ala_{286}, Phe_{264}, His_{244}, Gly_{281}, Asn_{260}, Glu_{256}
۱۲	-۲/۶۵	۰/۸۹	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۵۵۳)	His259, His263 His296, Asn260	His263 (Pi-Sigma)	Ser_{282}, His_{61}, His_{259}, His_{263}, Ala_{286}, Phe_{264}, His_{85}, Val_{248}, His_{244}, Gly_{281}, Asn_{260}, Glu_{256}
۱۳	-۳/۱۷	۰/۸۹	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۵۸۰)	Ser282, His259 His263, His296 Asn260, Met280	-	His_{85},His_{259}, Ala_{286}, Pro_{284}, His_{263}, Phe_{264}, Phe_{292}, His_{85}, His_{85}
۱۴	-۲/۵۹	۱/۴۹	-	Val283, Asn260	Phe264 (Pi-Sigma)	Met_{280}, Ser_{282}, His_{61}, His_{259},His_{263}, Ala_{286}, Phe_{264}, Phe_{284}, Pro_{277}
۱۵	-۱/۹۳	۰/۸۹	-	His259, Asn260	-	His_{259}, His_{263}, Ala_{286}, Phe_{264}, His_{85}, Val_{248}, His_{244}, Gly_{281}, Asn_{260},
۱۶	-۲/۹	۰/۸۹	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۵۲۶)	Asn260, His259 His263, His296	-	Ser_{282}, His_{61}, His_{259}, Pro_{277}, His_{263}, Phe_{264}, Ala_{286}, Phe_{292}, Arg_{268}
۱۷	-۳/۳۱	۱/۱۹	$C=O\ldots Cu^{2+}$ (۱/۶۲۵)	Asn260, His259 His263, His296	-	His_{85}, Val_{283}, Ser_{282}, His_{61}, His_{259}, Pro_{277}, His_{263}, Phe_{264}, Ala_{286}, Phe_{292}, Arg_{268}

ادامه جدول۲

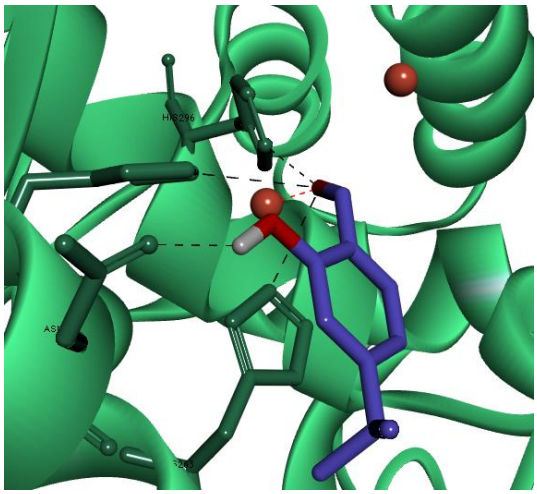
۱۸	**-۳/۰**	**۰/۸۹**	**C=O…Cu^{2+} (۱/۵۶۷)**	**Ser282, Met280 His259, His263 His296, Asn260**	-	Met_{280} His_{85}, His_{61}, Phe_{264}, Val_{283}, Ser_{282},His_{259}, His_{263}
۱۹	-۲/۶۹	۰/۸۹	C=O…Cu^{2+} (۱/۶۵۸)	His259, His263 His296, Asn260	His263 (Pi-Sigma)	Val_{283}, Ser_{282}, His_{85},His_{259}, Ala_{286}, Gly_{281}, His_{263}, Phe_{264}, Phe_{292}, Phe_{90}
۲۰	-۲/۷۳	۰/۸۹	C=O…Cu^{2+} (۱/۴۴۷)	Ser282, Val283 His259, His263 His296	-	Gly_{281}, Met_{280} His_{85}, His_{61}, Phe_{264}, Val_{283}, Ser_{282},His_{259}, His_{263}
۲۱	-۳/۵۹	۰/۶	C=O…Cu^{2+} (۱/۵۱۳)	His259, His263 His296 Asn260	-	Val_{283}, Ser_{282}, His_{61}, His_{263}, Asn_{260}, His_{259}, Phe_{264}, Phe_{90}, Phe_{292}, Ala_{286}
۲۲	-۲/۱۶	۲/۰۹	C=O…Cu^{2+} (۱/۵۷۶)	His259, His263 His296	-	Ser_{282}, His_{61}, His_{259}, His_{263}, Ala_{286}, Phe_{264}, Val_{248}, His_{244}
۲۳	-۴/۰۱	۰/۸۹	C=O…Cu^{2+} (۱/۴۶۷)	Asn260, His259 His263, His296	-	Gly_{281}, His_{94}, Val_{283}, Ser_{282}, His_{61}, His_{263}, Asn_{260}, His_{259}, Phe_{264}, Phe_{90}, Phe_{292}, Ala_{286}
۲۴	-۳/۰۱	۰/۸۹	C=O…Cu^{2+} (۱/۴۲۲)	Asn260, His259 His263, His296	-	Met_{280} His_{85}, His_{61}, Phe_{264}, Val_{283}, Ser_{282},His_{259}, His_{263}
۲۵	-۳/۶۲	۰/۸۹	C=O…Cu^{2+} (۱/۴۲۳)	Asn260, His259 His263, His296	-	Ser_{282}, His_{61}, His_{259}, His_{263}, Ala_{286}, Phe_{264}, Val_{248}, His_{244}
۲۶	-۳/۳۱	۰/۸۹	C=O…Cu^{2+} (۱/۵۹۶)	Met280, Ser282 His259, His263 His296, Asn260	-	Gly_{281}, Met_{280} His_{85}, His_{61}, Phe_{264}, Val_{283}, Ser_{282},His_{259}, His_{263}
۲۷	-۲/۹۸	۰/۶	C=O…Cu^{2+} (۱/۵۰۹)	Ser282, Val283 Asn260, His259 His263, His296	-	His_{85},His_{259}, Ala_{286}, Gly_{281}, His_{263}, Phe_{264}, Phe_{292}, Phe_{90}
۲۸	-۳/۲۳	۰/۶	C=O…Cu^{2+} (۱/۵۴۳)	Asn260, His259 His263, His296	-	Gly_{281}, Met_{280}, His_{85}, Val_{283}, Ser_{282}, His_{259}, His_{263}, Phe_{264}
۲۹	-۲/۵۲	۰/۸۹	C=O…Cu^{2+} (۱/۴۵۹)	His259, His263 His296	-	Gly281, His259, Val283, Ser282, His61, His263, Ala286, Met280
۳۰	-۲/۷۶	۰/۸۹	C=O…Cu^{2+} (۱/۴۶۹)	His259, His263 His296	His263 (Pi-Sigma)	Gly281, Met280, His85, Val283, Ser282, His259
۳۱	-۳/۳۳	۰/۶	C=O…Cu^{2+} (۱/۶۰۶)	His259, His263 His296, Asn260	-	Val283, Ser282, His259, His263, Phe264, Ala286
۳۲	-۳/۲۴	۱/۴۹	C=O…Cu^{2+} (۱/۶۲۵)	His259, His263 His296, Asn260	-	Gly_{281}, Met_{280}, His_{85}, Val_{283}, Ser_{282}, His_{259}, His_{263}, Phe_{264}, Ala_{286}, Phe_{292}, Phe_{90}
۳۳	-۲/۸	۰/۸۹	C=O…Cu^{2+} (۱/۵۵۷)	His61, His85 His94, His296	-	His259,His263, Ala286, Phe264, Phe284
۳۴	-۲/۷۷	۰/۸۹	C=O…Cu^{2+} (۱/۴۵۰)	His259, His263 His296	-	Ser282, His259, His263, Phe264, Ala286
۳۵	-۲/۹۶	۱/۱۹	C=O…Cu^{2+} (۱/۵۱۱)	His259, His263 His296, Asn260	His263 (Pi-Sigma)	Met_{280}, Ser_{282}, His_{61}, His_{259},His_{263}, Ala_{286}, Phe_{264}, Phe_{284}
تروپولن	-۳/۱۱	۰/۲۷	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

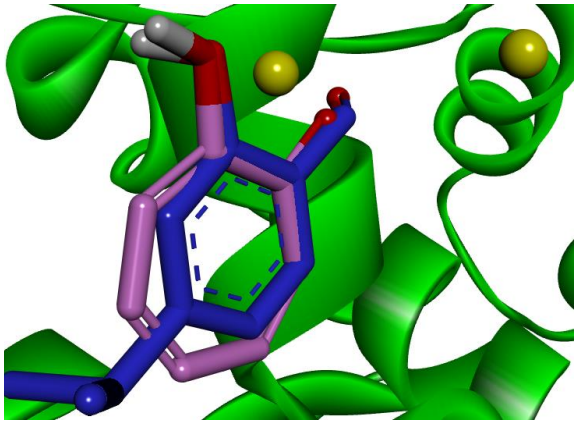
در مطالعات عملی و تئوری قبلی که بر روی مشتقات کوجیک اسید انجام گرفت ترکیباتی شناسایی شدند که اثرات مهاری قوی‌تری نسبت به مهارکننده معمول پلی فنول اکسیداز (کوجیک اسید و تروپولن) نشان دادند، حضور گروه هیدروکسیل و کربونیل در کوجیک اسید و مشتقات آن از عوامل مهمی بودند که با یون‌های مس موجود در جایگاه فعال پیوند فلزی برقرار می‌کردند و به‌این‌ترتیب خاصیت مهاری خود را نشان می‌دادند. با توجه به این‌که سالیسیل آلدهید هم دارای بخش کربونیل آلدهیدی و هیدروکسیلی است بنابراین انتظار می‌رفت که مهارکننده خوبی برای آنزیم پلی فنول اکسیداز باشد، درحالی‌که با مقایسه انرژی اتصال ترکیبات دو مقاله مهارکننده‌های مشتق از کوجیک اسید انرژی اتصال منفی‌تر و تمایل بیشتری برای برهم‌کنش با آمینواسیدهای جایگاه فعال داشتند. بااین‌حال نتایج

حاصل از داکینگ مشتقات سالیسیل آلدهید نشان داد که این ترکیبات نیز توانایی اتصال به جایگاه فعال آنزیم پلی فنول اکسیداز را داشته و تا حدودی موجب مهار این آنزیم می‌گردند. بر اساس نتایج داکینگ، پتانسیل مهاری ترکیبات موردمطالعه باهم فرق می‌کنند و سطح انرژی اتصال از ۱/۹۳- تا ۴/۰۱- کیلوکالری بر مول است. بیشترین پتانسیل مهاری مربوط به ترکیب شماره ۲۳ بانام ۴- ایزوپروپیل سالیسیل آلدهید است و کمترین انرژی اتصال مربوط به ترکیب ۱۵ بانام ۲- هیدروکسی- ۶-(تری فلورومتیل) بنزآلدهید است. ΔGbind نشان‌دهنده قدرت اتصال بین ترکیبات مولکولی و جایگاه فعال آنزیم است (۱۴-۱۷).

در مطالعه‌ای که توسط Nihei و همکاران در سال ۲۰۰۴ انجام شد، نشان داده شد که سالیسیل آلدهید در *in vitro* با IC50 برابر ۳۳۰۰ میکرومولار قادر به مهار آنزیم پلی فنول اکسیداز بود (۱۲). در مطالعه داکینگ نیز این مهارکننده باانرژی اتصال ۳/۲۳- کیلوکالری بر مول آنزیم پلی فنول اکسیداز را مهار می‌کند و با یون مس موجود در جایگاه فعال برهم‌کنش فلزی برقرار می‌کند. سالیسیل آلدهید با آمینواسیدهای His259, His263 در تشکیل پیوند هیدروژنی و با آمینواسیدهای Gly281, His94, Val283, Ser282, His61, His263, Asn260, His259, Phe264, Phe90, Phe292, Ala286 در تشکیل پیوندهای هیدروفوب شرکت می‌کند. منفی‌ترین پتانسیل مهاری در بین ترکیبات مربوط به ترکیب ۴- ایزوپروپیل سالیسیل آلدهید است. در مطالعات *in vitro* این ترکیب با IC50 برابر ۲/۳ میکرومولار بهتر از سالیسیل آلدهید قادر به مهار آنزیم پلی فنول اکسیداز بود (۱۲). در بررسی‌های *in silico* در این تحقیق نیز انرژی اتصال ترکیب مذکور منفی‌تر از سالیسیل آلدهید بود. این مولکول با یون مس موجود در جایگاه فعال برهم‌کنش فلزی برقرار می‌کند. از ۶ اسیدآمینه هیستیدین که در جایگاه فعال با یون‌های فلزی در کئوردیناس هستند (His61, His85, His94, His259, His263 و His296) (۴) سه اسیدآمینه‌ی His259, His296 و His263 در تشکیل پیوند هیدروژنی با این ترکیب شرکت می‌کنند. اسیدآمینه‌های Ser282, His259, Ala286, Val283, His61 که در تشکیل پیوند هیدروفوبی با مولکول ۴- ایزوپروپیل سالیسیل آلدهید شرکت دارند در داکینگ کوکریستال مهارکننده تروپولن نیز مشاهده می‌شود. در شکل۳ داکینگ ترکیب ۴- ایزوپروپیل سالیسیل آلدهید به‌تنهایی و در شکل۴ این ترکیب با مولکول کوکریستال تروپولن در جایگاه فعال آنزیم پلی فنول اکسیداز قابل‌مشاهده است.



شکل۳- نتایج داکینگ ترکیب 4-isopropylsalicylaldehyde (مولکول بارنگ آبی) در جایگاه فعال آنزیم پلی فنول اکسیداز. پیوندهای هیدروژنی (خط‌چین سیاه)، پیوندهای فلزی (خط‌چین قرمز)، یون فلزی به رنگ قرمز.



شکل۴- نتایج داکینگ ترکیب 4-isopropylsalicylaldehyde (مولکول بارنگ آبی) با لیگاند کوکریستال تروپولن (مولکول بارنگ صورتی) نشان می‌دهد که موقعیت قرارگیری دو مولکول در جایگاه فعال آنزیم پلی فنول اکسیداز یکسان است. یون‌های فلزی بارنگ زرد نشان داده شده است.

مقایسه دو ترکیب ۲- هیدروکسی ۴- متوکسی بنزآلدهید و ۴- ایزوپروپیل سالیسیل آلدهید در مطالعات داکینگ نشان داد که ترکیب ۴- ایزوپروپیل سالیسیل آلدهید با سطح انرژی منفی‌تر و اینترکشن‌های بهتر پتانسیل مهاری خوبی برای غیرفعال کردن آنزیم پلی فنول اکسیداز دارد که باز این نتیجه نیز منطبق بر نتایج *in vitro* بود (۱۲). بااینکه هر دو ترکیب

موردمطالعه هر دو قادر به تشکیل باز شیف و شلات کردن دو یون مس موجود در جایگاه فعال می‌باشند اما ترکیب ۴-ایزوپروپیل سالیسیل آلدهید در هر دو مطالعه in *vitro* و *in silico* اثر مهاری خوبی را نشان می‌دهد. مهارکننده ۴-ایزوپروپیل سالیسیل آلدهید نسبت به ترکیب ۲- هیدروکسی ۴-متوکسی بنزآلدهید غیر قطبی‌تر است بنابراین بخش هیدروفوب باعث القای برهم‌کنش‌های هیدروفوب بیشتر و تشکیل باز شیف با آمینواسیدهای نزدیک بخش هیدروفوب می‌شود، این پدیده باعث افزایش پتانسیل مهاری ترکیب ۲۳ می‌شود (۱۲). در بقیه ترکیبات نیز حضور بخش آب‌دوست در کنار بخش آلدهیدی و الکلی سبب کاهش پتانسیل مهاری شده است. ترکیب ۲-هیدروکسی-۶-(تری فلورومتیل) بنزآلدهید ضعیف‌ترین اثر مهاری را نسبت به دیگر ترکیبات موردمطالعه داشت. برخلاف ترکیب ۴- ایزوپروپیل سالیسیل آلدهید که مولکول دارای یک بخش آب‌گریز است، این ترکیب با سه‌اتم فلور دارای بخش قطبی است؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که حضور بخش غیر قطبی در ترکیبات مشتق سالیسیل آلدهید سبب افزایش خصلت مهاری ترکیب می‌شود. لازم به ذکر است این اثر در داکینگ برخی از مشتقات هیدروکسی نیترو دی فنیل اتر نیز قابل‌مشاهده بود (۱۸).

پیوندهای هیدروژنی که توسط مشتقات سالیسیل آلدهید ایجاد شده‌اند مشابه با برهم‌کنش‌هایی هستند که در مطالعات داکینگ سایر مهارکننده‌های آنزیم پلی فنول اکسیداز گزارش شده‌اند (۲۳-۱۹). در پژوهشی که Wen و همکاران در سال ۲۰۱۳ روی ترکیباتی به‌عنوان مهارکننده‌های آنزیم پلی فنول اکسیداز انجام دادند، نشان داده شد ترکیب تایروسول در جایگاه فعال این آنزیم با آمینواسید Ser282 پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند. ترکیب دیگر موردبررسی آنان ۴-هیدروکسی فنیل استیک اسید بوده که همانند تایروسول پیوند هیدروژنی آن با آمینواسید Ser282 بوده است علاوه بر این ترکیب ۲-هیدروکسی فنیل استیک اسید ۳ پیوند هیدروژنی با آمینواسیدهای Gly281, Val283و Ser282 در جایگاه فعال آنزیم پلی فنول اکسیداز برقرار کرده و باعث مهار این آنزیم می‌شود (۱۹).

در سال ۲۰۱۲ پژوهشی توسط Vontzalidou و همکاران وی روی مشتقات ترکیب dihydrostilbene به‌عنوان مهارکننده‌های جدید آنزیم موردنظر ما انجام شد. در این تحقیق ترکیب deoxybenzoinبا گروه‌های مختلف عملکردی هیدروکسی، فلورید و کلرید موردبررسی قرار گرفت که درنتیجه‌ی آن این ترکیب با آمینواسیدهای Asn260، His244 و Val283 در بخش جایگاه فعال آنزیم پیوند هیدروژنی دارد (۲۰). اتصال با آمینواسید Asn260 در نتایج داکینگ ترکیبات سالیسیل آلدهید، ۲-هیدروکسی ۶-تری فلورو متیل بنزآلدهید و ۴-ایزوپروپیل بنزآلدهید نیز مشاهده شد.

در سال ۲۰۱۳ تحقیقی روی خاصیت مهارکنندگی گاسترودین به عمل آمد. نتایج این پژوهش نشان داد آمینواسیدهای Asn260 و His263 با حلقه بنزن، دو یون مس و آمینواسیدهای His85 و His263 با حلقه هگزان در تعامل هستند (۲۲).

در بررسی که بر روی اثر مهاری ترکیب استیل سالیسیلیک اسید انجام شد، نشان داده شد که آمینواسیدهای His61, His85, His94, His259, His263 و Ala286 در تشکیل پیوند هیدروژنی شرکت می‌کنند (۲۳). آمینواسیدهای مشترک در این ترکیب و ترکیبات موردمطالعه در مقاله‌ی حاضر His259 است که در داکینگ هر ۳ ترکیب سالیسیل آلدهید، ۲-هیدروکسی ۶-تری فلورو متیل بنزآلدهید و ۴-ایزوپروپیل بنزآلدهید مشاهده شد و آمینواسید His263 در سالیسیل آلدهید و ۴-ایزوپروپیل بنزآلدهید در تشکیل پیوند هیدروژنی مشترک است.

تشکر و قدردانی

مقاله فوق بخشی از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد مصوب موسسه آموزش عالی نور دانش با شماره ثبت ۱۲۹۳۹۶۰ است لذا نویسندگان مقاله مراتب قدردانی و سپاس خود را از جناب آقای دکتر محمدرضا زمانی، جناب آقای دکتر مرتضی اسکری، سرکار خانم دکتر حیدریان، سرکار خانم دکتر ظهرابی و سرکار خانم دکتر زمانزاده اعلام می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Sánchez-Ferrer Á, Rodríguez-López JN, García-Cánovas F, García-Carmona F. Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism. Biochim. Biophys. Acta. 1995; 1247(1):1.
2. Chang TS. An updated review of tyrosinase inhibitors. Int. J. Mol. Sci. 2009;10(6):2440-75.
3. de Faria RO, Moure VR, de Almeida Amazonas ML, Krieger N, Mitchell DA. The biotechnological potential of mushroom tyrosinases. Food Technol. Biotechnol. 2007;45(3):287.
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. Adv. Biochem. 2011;50(24):5477-86.
5. de Faria RO, Moure VR, de Almeida Amazonas ML, Krieger N, Mitchell DA. The biotechnological potential of mushroom tyrosinases.. Food Technol. Biotechnol. 2007;45(3):287
6. Haghbeen K, Tan EW. Direct spectrophotometric assay of monooxygenase and oxidase activities of mushroom tyrosinase in the presence of synthetic and natural substrates. Anal. Biochem. 2003;312(1):23-32.
7. Beerntsen BT, James AA, Christensen BM. Genetics of mosquito vector competence. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2000;64(1):115-37.
8. Kim YJ, Uyama H. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. Cell. Mol. Life Sci. 2005;62(15):1707-23.
9. Delogu G, Podda G, Corda M, Fadda MB, Fais A, Era B. Synthesis and biological evaluation of a novel series of bis-salicylaldehydes as mushroom tyrosinase inhibitors. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2010;20(20):6138-40.
10. Maghsoudi S, Adibi H, Hamzeh M, Ashrafi-Kooshk MR, Rezaei-Tavirani M, Khodarahmi R. Kinetic of mushroom tyrosinase inhibition by benzaldehyde derivatives. J. Rep. Pharm. Sci. 2013;2(2):156-64
11. Xue CB, Luo WC, Chen QX, Ma DY, Wang Q. Inhibitory effects of 2-hydroxybenzaldehyde on the activity of phenoloxidase from Pieris rapae (Lepidoptera) larvae. Indian J. Biochem. Biophys. 2008;45(3):184
12. Nihei KI, Yamagiwa Y, Kamikawa T, Kubo I. 2-Hydroxy-4-isopropylbenzaldehyde, a potent partial tyrosinase inhibitor. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2004;14(3):681-3.
13. Huang SY, Zou X. Advances and challenges in protein-ligand docking. Int. J. Mol. Sci. 2010;11(8):3016-34.
14. Mukesh B, Rakesh K. Molecular docking: a review. Int. J. Res. Ayurveda Pharm. 2011;2(6):746-1751.
15. Asadzadeh A, Fassihi A, Yaghmaei P, Pourfarzam M. Docking Studies of Some Novel Kojic Acid Derivatives As Possible Tyrosinase Inhibitors. Biomed. Pharmacol. J. 2015;8(2):535-45.
16. Asadzadeh A, Fassihi A, Yaghmaei P, Pourfarzam M. In Silico Approach for Designing Potent Inhibitors against Tyrosinase. Biotech. Res. Asia. 2015;12(spl.edn.2):1
17. 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. Iran. J. Basic Med. Sci. 2016;19(2):132.
18. Sholehvar F, Asadzadeh A, Seyedhosseini Ghaheh H. Molecular Docking Studies of Some Hydroxy Nitrodiphenyl Ether Analogues as Tyrosinase Inhibitors. J. Fasa Univ. Med. Sci. 2017 6(4):548-555
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. Int. J. Mol. Sci.2013 Nov;14(12):23420-40.
20. Vontzalidou A, Zoidis G, Chaita E, Makropoulou M, Aligiannis N, Lambrinidis G. Design, synthesis and molecular simulation studies of dihydrostilbene derivatives as potent tyrosinase inhibitors. Bioorg. Med. Chem. Lett. 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). Biochim. Biophys. Acta. 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 Biochem. 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 Biochem. 2013;48(2):260-6.

Original Article

Docking Study on Salicylaldehyde Derivatives as Anti-melanogenesis Agents Anti-melanogenic Potential of Salicylaldehyde Derivatives

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

1. Department of biology, faculty of science, Nour Danesh institute of higher education, Meymeh, Isfahan, Iran
2. Young Researchers and Elites Club, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Young Researchers and Elites Club, Zarghan Branch, Islamic Azad University, Zarghan, Iran

Received: 05 Apr 2017 Accepted: 18 Jul 2017

Abstract

Background & Objective: Abnormal production of melanin pigment which causes melasma, freckles, ephelides, and age spots, are esthetic problems. Polyphenol oxidase (PPO), a copper-containing enzyme, is involved in melanin biosynthesis and the abnormal accumulation of melanin pigments. Thus, its inhibitors are of great importance in the medical and cosmetic fields. The aim of this study was to investigate some salicylaldehyde Analogues as Polyphenol oxidase inhibitors.

Material & Methods: In the present study, thirty five derivatives of salicylaldehyde scaffold were subjected to molecular docking studies to investigate the mode of interaction of the compounds with tyrosinase active site. Docking study was performed by AutoDock 4.2 program and the resulting docking poses were analyzed in AutoDockTools, DS Visualizer 3.5 and Ligplot softwares.

Results: Among the all studied compounds, Ligand 4-isopropylsalicylaldehyde displayed good docking results. In fact, this compound had the most negative ΔG_{bind} (-4.01 Kcal/mol) that indicated favorable interactions with the key amino acid residues at active site of Polyphenol oxidase. Docking results for this compound are in accordance with the docking results of Co-crystallized ligand (tropolone). In this compound, the oxygen of a carbonyl group has an efficient metal-ligand interaction with the Cu^{2+} ion in the active site.

Conclusion: The presence of non-polar moiety in salicylaldehyde Analogues increases the inhibitory property.

Keywords: Docking Study, Salicylaldehyde Derivatives, Polyphenol oxidase, Anti-melanogenesis

***Corresponding Author: Azizeh Asadzadeh,** Department of biology, faculty of science, Nour Danesh institute of higher education, Meymeh, Isfahan, Iran
Email:az.asadzadeh@yahoo.com

Journal of Fasa University of Medical Sciences 8 (2018): 618-627