

# مطالعه نظری برهمکنش مشتقات ایساتین استخلاف شده در ناحیه ۳ و ۱ با خواص ضد التهابی بر آنزیم‌های سیکلواکسیژناز ۱ و ۲ به روش داکینگ مولکولی

الهام جعفری<sup>۱\*</sup>، فرشید حسن‌زاده<sup>۱</sup>، نهال خیام‌باشی<sup>۱</sup>، ولی‌اله حاج‌هاشمی<sup>۲</sup>

## مقاله پژوهشی

**مقدمه:** التهاب به‌عنوان پاسخ دفاعی بدن به همراه بیماری‌های مختلف دیده می‌شود. پروستاگلندین‌های واسطه‌های اصلی التهاب هستند که توسط آنزیم سیکلواکسیژناز تولید می‌شوند. پس مهارکنندگان این آنزیم می‌توانند در درمان التهاب موثر باشند. گزارشاتی مبنی از مهار این آنزیم توسط مشتقات ایساتین به‌منظور کنترل التهاب وجود دارد. ایساتین ترکیبی هتروسیکل می‌باشد که مشتقات آن پروفایل بیولوژیکی برجسته‌ای در مطالعات شیمی دارویی به‌ویژه اثرات ضد التهابی نشان داده‌اند. در این مطالعه مشتقاتی از ایساتین از نظر برهمکنش با آنزیم‌های سیکلواکسیژناز مورد بررسی قرار گرفتند تا از تطابق نتایج عملی با تئوری بتوان مکانیسم احتمالی را پیشنهاد داد.

**روش بررسی:** در این طرح تعدادی از مشتقات سنتز شده ایساتین که اثرات ضد التهابی در آزمایشات برون‌تن نشان داده‌اند از نظر برهمکنش با آنزیم‌های سیکلواکسیژناز ۱ و ۲ توسط نرم‌افزار داکینگ ارزیابی شدند هم‌چنین خواص فارماکوکینتیک و پیروی از قانون لیپینسکی ترکیبات سنتز شده توسط برنامه Swiss ADME مورد بررسی قرار گرفت.

**نتایج:** نتایج نشان داد که ترکیبات  $I_2$  و  $I_3$  کمترین مقادیر انرژی اتصال به هر دو فرم از آنزیم سیکلواکسیژناز را دارا می‌باشند. ترکیبات مطالعه شده همگی از قانون لیپینسکی پیروی می‌کنند.

**نتیجه‌گیری:** ترکیبات  $I_2$  و  $I_3$  در مطالعات ضد التهاب برون تن اثرات ضدالتهاب متوسطی نشان دادند که در تطابق با مطالعات داکینگ می‌باشد و می‌تواند تاییدی بر مکانیسم احتمالی این ترکیبات از طریق مهار این آنزیم باشد. مطالعات مهار آنزیم توسط این مشتقات از طریق کیت‌های تشخیصی نیز برای تایید بیشتر لازم می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** ایساتین، التهاب، سیکلواکسیژناز، داکینگ مولکولی

**ارجاع:** جعفری الهام، حسن‌زاده فرشید، خیام‌باشی نهال، حاج‌هاشمی ولی‌اله. مطالعه برهمکنش مشتقات ایساتین استخلاف شده در ناحیه ۳ و ۱ با خواص ضد التهابی بر آنزیم‌های سیکلواکسیژناز ۱ و ۲ به روش داکینگ مولکولی. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۰؛ ۲۹ (۱۲): ۴۳۸۲-۹۲.

۱- گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲- گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

\* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۳۳۲۷۱۸۵۳، پست الکترونیکی: jafari@pharm.mui.ac.ir، صندوق پستی: ۷۳۴۶۱-۸۱۷۴۶

مشتق ایندول شامل گروه‌های کتو (در موقعیت ۲ و ۳ حلقه) لاکتام می‌باشد این ماده یک ترکیب طبیعی و تنظیم‌کننده بیولوژیک اندوژن است که در مغز بافت‌های محیطی و مایعات بدن یافت می‌شود. مشتقات ایساتین به دلیل فعالیت‌های قوی بیولوژیکی و دارویی مورد توجه علم شیمی دارویی قرار گرفته‌اند (۲). از خواص بیولوژیک آن‌ها می‌توان به خواص ضد سرطان (۱۱، ۱۲)، ضد میکروبی (۱۶-۱۳)، ضد التهاب، ضد درد (۲)، و ضد تشنج (۱۷) اشاره کرد. گزارشاتی مبنی از مهار آنزیم‌های سیکلو اکسیژناز توسط مشتقات ایساتین وجود دارد (۱۱). جاراپولا و همکارانش در مطالعه‌ای مشتقات بنزوهیدرازید - ایساتین را از نظر برهمکنش با آنزیم‌های سیکلو اکسیژناز ۱ و ۲ به‌وسیله داکینگ مولکولی مورد بررسی قرار دادند که بین نتایج تئوری و *in-vivo* ارتباط قابل توجهی مشاهده شد (۲). مشتقات شیف-باز و مانیش باز از ایساتین خواص ضد میکروبی و التهاب نشان داده‌اند (۲۱-۱۷). مطالعه رابطه ساختار-فعالیت مشتقات ایساتین نشان داده است که استخلاف زنجیری الکیل با حداکثر ۲ اتم کربن در موقعیت ۱ باعث افزایش فعالیت بیولوژیک ترکیبات می‌شود (۲۲). هم‌چنین در مطالعات دیده شده است که طبیعت استخلاف در موقعیت ۳ حلقه ایندولی نقش مهمی در تنظیم خواص ضد التهاب دارد (۲۳). داکینگ مولکولی پیش‌بینی ساختار پیچیده لیگاند -رسپتور با استفاده از روش محاسبه است در این روش مولکول‌های کوچک درون جایگاه فعال ماکرومولکول‌های هدف داک شده و به اتصال آن‌ها در این جایگاه امتیاز داده می‌شود (۲۴). در این مطالعه تعدادی از مشتقات سنتز شده ایساتین که اثرات ضد التهابی در آزمایشات برون تن نشان داده‌اند (شکل ۲) (۲۳) از نظر چگونگی برهمکنش با آنزیم‌های سیکلو اکسیژناز به روش داکینگ مولکول مورد بررسی قرار گرفتند (شکل‌های ۴ و ۳). هم‌چنین خواص فارماکوکینتیک و پیروی از قانون لیپینسکی این مشتقات ارزیابی شد. امید است تا از تطابق نتایج عملی با تئوری بتوان مکانیسم احتمالی را برای این مشتقات پیشنهاد داد. نتایج به‌دست آمده از مطالعات داکینگ و خواص فارماکوکینتیک بتواند در طراحی ترکیبات موثرتر در آینده مفید واقع شود.

یکی از مشکلات اساسی همراه با بیماری‌های مختلف درد و التهاب می‌باشد. التهاب یک نوع پاسخ دفاعی بدن است که در اثر آسیب بافتی، عوامل شیمیایی و میکروبی ایجاد می‌شود. در این واکنش واسطه‌های التهابی مختلفی مانند پروستاگلاندین‌ها که واسطه‌های اصلی در التهاب، درد و افزایش دمای بدن هستند آزاد می‌شوند. آنزیم‌های سیکلو اکسیژناز (COX) آنزیم کلیدی در تبدیل آراشیدونیک اسید به پروستاگلاندین‌ها هستند (۳-۱). سیکلو اکسیژناز یک پروتئین داخل غشایی گلیکوزیله و یک هومودیمر می‌باشد. این آنزیم از طریق سطح هیدروفوبیک هلیکس‌های آمفی‌پاتیک در یک لایه از غشای فسفولیپید قرار می‌گیرد. آنزیم با استفاده از تیروزین ۳۸۵ دو اکسیژن رادیکالی را به آراشیدونیک اسید انتقال می‌دهد تا واسطه‌های التهابی از آن ساخته شود. از طرفی اکسیژن‌های موجود در آراشیدونیک اسید با آرژنین ۱۲۰ که در مجاورت کانال هیدروفوب وجود دارد پیوند برقرار می‌کنند و آراشیدونیک اسید به درون جایگاه فعال آنزیم وارد می‌شود. مطالعات نشان داده است که آرژنین ۱۲۰، تیروزین ۳۸۵ و سرین ۵۳۰ اسید آمینه‌های ضروری در ساختار آنزیم سیکلو اکسیژناز هستند. در پستانداران دو ایزوفرم از این آنزیم به نام‌های سیکلو اکسیژناز ۱ و ۲ وجود دارد که ژن‌های مستقل و الگوی بیان متفاوت دارند. دو ایزوآنزیم از لحاظ اندازه توالی اسیدهای آمینه تا حدود زیادی مشابهند ولی از نظر الگوی بیان و عملکرد سلولی متفاوتند (۷-۴). ایزو آنزیم ۱ مسئول تشکیل واسطه‌های بیولوژیکی مهم مانند پروستاگولین‌ها (پروستاگلاندین‌ها، پروستا سیکلین‌ها، ترومبوکساین) و هم‌چنین موکوس در لوله گوارش است برای همین مصرف مهارکنندگان این ایزو آنزیم به‌عنوان دارو سبب تحریک لوله گوارش خواهد شد. سیکلو اکسیژناز ۲ در دردهای التهابی دخیل است و نقش مهمی در بیوسنتز پروستاگلاندین در سلول‌های التهابی دارد (۲). داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی از طریق مهار ایزوآنزیم ۱ یا مهار هر دو ایزوآنزیم عمل می‌کنند. مهارکنندگان این ایزوآنزیم‌ها می‌توانند در کنترل و بهبود التهاب موثر باشند (۱۰-۸). ایساتین یا (Indole-1H-2,3-dione) (شکل ۱) یک ترکیب هتروسیکل و

## روش بررسی

## آماده‌سازی پروتئین

ساختار کریستالوگرافی سیکلواکسیژناز (PDB Id:3KK6) با قدرت تفکیک ۲/۷۵ انگستروم و سیکلواکسیژناز ۲ (PDB Id:3LN1) با قدرت تفکیک ۲/۴ انگستروم از بانک اطلاعات پروتئین دانلود گردید. سلوکوسیب به‌عنوان لیگاند کوکریستال به همراه مولکول‌های آب، (بتا اکتیل گلوکوزید BOG) و (N-استیل-D-گلوکز آمین NAG) در ساختار به‌طور همزمان حذف شدند. ساختار با استفاده از برنامه اتوداک تولز پروتونه شد و بعد از تعیین بار و تهیه فایل PDBQT برای مطالعه داکینگ استفاده شدند.

## آماده‌سازی لیگاند

تعدادی از مشتقات جدید سنتز شده ایساتین توسط همین گروه تحقیقاتی که در آزمایشات برون تن به روش ادم گوش القا شده با کروتون اثرات ضد التهابی نشان داده‌اند ( $I_1-I_4$ ) در این مطالعه استفاده شدند (۲) (۲۳) ساختار ترکیبات با استفاده از نرم افزار هیپرکم (hyperchem) ترسیم شد و با استفاده از روش نیمه تجربی PM3 بهینه‌سازی شدند. بعداز تعیین بار و مشخص کردن چرخش زاویه‌ای با استفاده از برنامه اتوداک تولز فایل PDBQT لیگاندها برای داکینگ مورد استفاده قرار گرفتند.

## داکینگ مولکولی

برای بررسی برهم‌کنش لیگاندها با آنزیم‌های سیکلواکسیژناز از نرم افزار اتوداک (Auto Dock 1.5.6) استفاده شد. جعبه‌گرید با ابعاد  $60 \times 60 \times 60$  برای هر دو آنزیم در نظر گرفته شد. با توجه به موقعیت سلوکوسیب در ساختار کریستالوگرافی برای سیکلواکسیژناز نوع ۲ ابعاد  $x(30.82)$   $y(-21.18)$   $z(-15.92)$  و برای ایزو آنزیم سیکلواکسیژناز نوع ۱ ابعاد  $x(-32.41)$   $y(-5.54)$   $z(43.37)$  انتخاب شد. پارامترهای شبکه و داکینگ مطابق با پارامترهای پیش فرض برنامه تنظیم شد. پس از انجام داکینگ بهترین کنفورماسیون با پایین‌ترین میزان انرژی اتصال به عنوان نتیجه انتخاب شد. فایل‌های نتایج به‌دست آمده با استفاده از برنامه Accelrys Discovery Studio Visualizer 4 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با اتصال مجدد سلوکوسیب

به عنوان یک مهارکننده کوکریستالیزه به آنزیم‌های مربوطه با پروسه داکینگ مولکولی اعتبار سنجی شد. انرژی آزاد اتصال ( $\Delta G$ )، ثابت مهار ( $K_i$ ) و برهمکنش پیوند هیدروژنی که از مطالعات داکینگ با استفاده از اتوداک به‌دست آمده است در جدول ۱ و شکل‌های ۳ و ۴ ارائه شده است.

تخمین پارامترهای فارماکوکینتیک با استفاده از Swiss

## ADME

قانون لیپینسکی (Lipinski's "rule of five") شامل وزن مولکولی ترکیب (MW)، تعداد اتم‌های دهنده باند هیدروژنی (NHBD)، تعداد اتم‌های پذیرنده باند هیدروژنی (NHBA) و ( $\log P$ ) برای ارزیابی اینکه ترکیب جدید می‌تواند خواص دارو داشته باشد به‌کار می‌رود. امروزه چندین برنامه آنلاین در دسترس است که در پیش‌بینی خواص فارماکوکینتیک کاندیدای دارویی کمک می‌کند. پیش‌بینی خواص فارماکوکینتیک برای مشتقات ایساتین با استفاده از (SwissADME website) انجام شد (۲۵).

## تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه برهم‌کنش بین ترکیبات سنتز شده و آنزیم سیکلواکسیژناز ۱ و ۲ به کمک داکینگ ارزیابی شد.

## ملاحظات اخلاقی

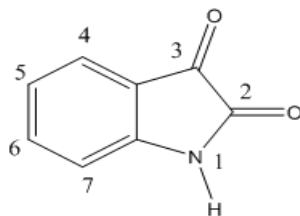
پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، تایید شده است (کد اخلاق: IR.MUL.RESEARCH.REC.1397.145)

## نتایج

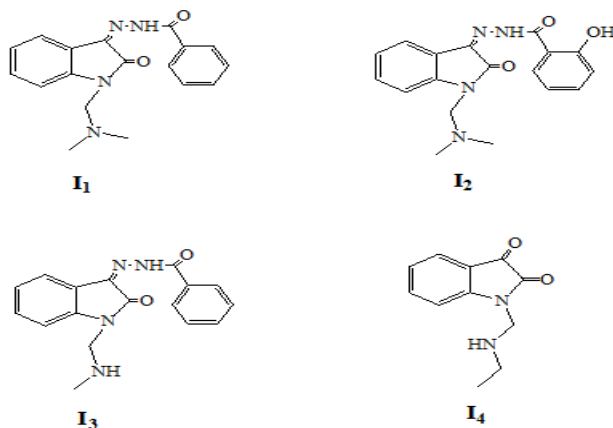
انرژی آزاد اتصال ( $\Delta G$ )، ثابت مهار ( $K_i$ ) و برهمکنش پیوند هیدروژنی که از مطالعات داکینگ با استفاده از اتوداک به‌دست آمده است در جدول ۱ و شکل‌های ۳ و ۴ ارائه شده است. ترکیبات  $I_2$  و  $I_3$  کمترین مقادیر را در اتصال به هردو فرم از آنزیم سیکلواکسیژناز نشان دادند. هرچه مقدار انرژی کمتر باشد تمایل لیگاند به جایگاه اتصال بیشتر می‌باشد و ثابت مهار برای این دو ترکیب، به‌ویژه ترکیب  $I_3$  در محدوده نانو مولار برای هردو فرم از آنزیم می‌باشد. اسیدامینه‌های لوسین ۳۳۸ و سرین

از آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ با قسمت مانیش -باز ترکیب برهمکنش به صورت پیوند هیدروژنی داشتند و هیستیدین ۹۰ و ترئونین ۹۴ از آنزیم سیکلواکسیژناز ۱ به ترتیب با گروه کربونیل حلقه ایساتین و گروه مانیش-باز ترکیب پیوند هیدروژنی تشکیل دادند (شکل ۳ و ۴) ترکیب I<sub>1</sub> در مطالعه تجربی (اثر ضد التهاب) و تئوری (از نظر تداخلات با آنزیمها) اثرات بارزی نشان داد. نتایج حاصل از پیش بینی خواص برای مشتقات ایساتین با استفاده از SwissADME website در جدول ۲ نشان داده شده است. مطابق با پارامترهای جدول ۲ ترکیبات مطالعه شده همگی از قانون ۵ لیپینسکی پیروی می کنند.

۵۱۶ از آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ به ترتیب با گروه کربونیل حلقه ایساتین ترکیب I<sub>2</sub> و گروه کربونیل پیوند آمیدی ترکیب I<sub>3</sub> باند هیدروژنی شکل می دهند. اسید امینه های پرولین ۱۹۱، سرین ۵۱۶، آسپارژین ۵۱۵ و هیستیدین ۹۰ از سیکلواکسیژناز ۱ با ترکیب I<sub>2</sub> و گلوتامین ۵۲۴ و آرژینین ۱۲۰ از این ایزو آنزیم به ترتیب با آمین و گروه کربونیل حلقه ایساتین از ترکیب I<sub>3</sub> در شکل گیری باندهای هیدروژنی سهم هستند. انرژی اتصال ترکیب I<sub>4</sub> با سیکلواکسیژناز ۲ و ۱ به ترتیب -۶/۷۳- و -۶/۰۶- کیلوکالری بر مول بوده و ثابت مهار آن نیز برای هر دو فرم از آنزیم در محدوده میکرومولار است. سرین ۵۱۶، تیروزین ۳۷۱



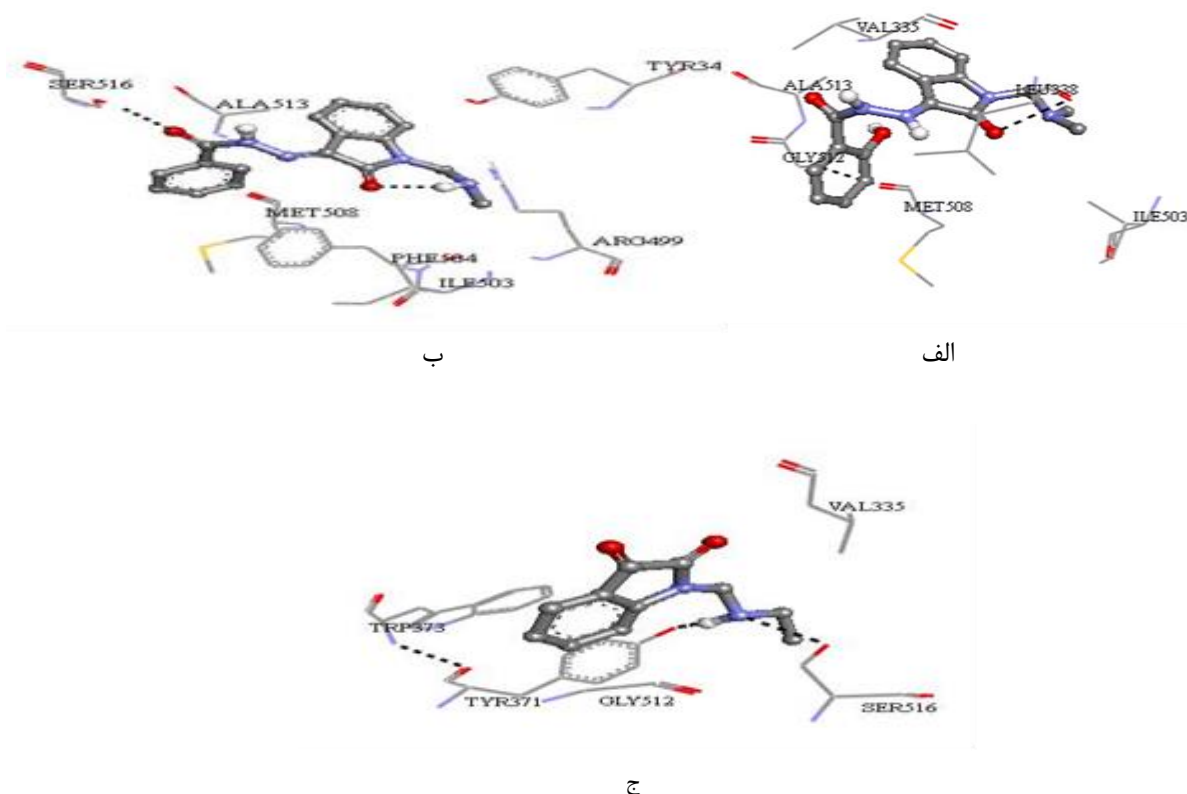
شکل ۱: ساختار ایساتین



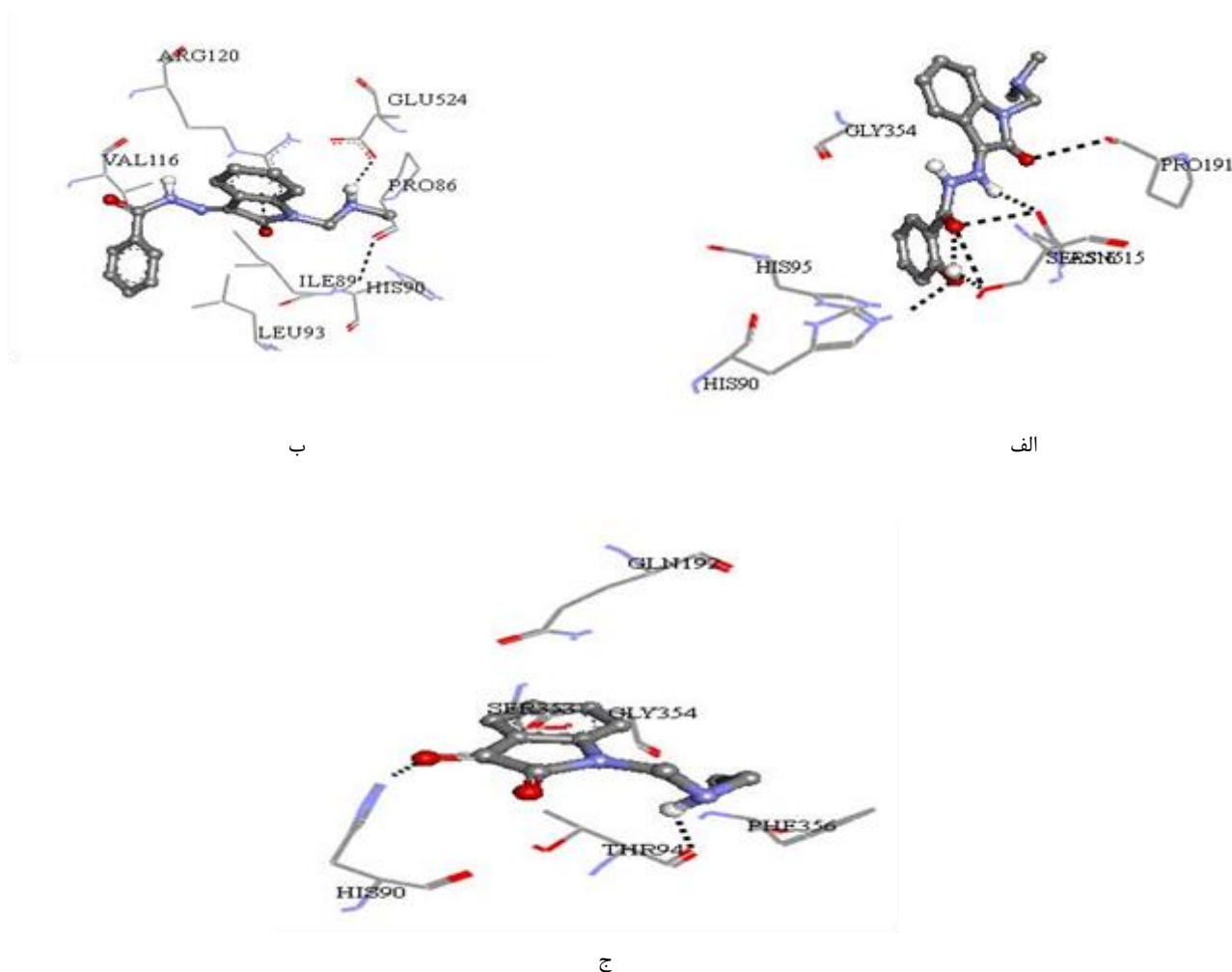
شکل ۲: ساختار مشتقات ایساتین مورد استفاده در بررسی داکینگ مولکولی (۲۳)

جدول ۱: مقادیر انرژی اتصال (کیلوکالری/مول)، تداخلات هیدروژنی با جایگاه فعال، ثابت مهار (Ki) مشتقات جدید ایساتین با آنزیم‌های سیکلو اکسیژناز ۱ و ۲ محاسبه شده توسط اتوداک

سیکلو اکسیژناز ۲			سیکلو اکسیژناز ۱			
شماره ترکیب	انرژی اتصال (کیلوکالری/مول)	(Ki) ثابت مهار	باند هیدروژنی (فاصله: انگستروم)	انرژی اتصال (کیلوکالری/مول)	(Ki) ثابت مهار	باند هیدروژنی
I <sub>1</sub>	-۳/۲۸	۳/۹۵(mM)	Asp ۵۰۱ (۲/۰۴)	-۴/۷۹	۳۰۸/۳۵ (μM)	Gln ۱۹۲ (۲/۰۵)
I <sub>2</sub>	-۹/۲۷	۱۶۰/۸۸(nM)	Leu ۳۳۸ (۲/۱۵)	-۷/۱۶	۵/۶۱(μM)	Ser ۵۱۶, Asn ۵۱۵ Pro ۱۹۱, His ۹۰
I <sub>3</sub>	-۸/۶۸	۴۳۲/۲۹(nM)	Ser ۵۱۶ (۲/۱۲)	-۸/۲۲	۹۴۰/۶۸(nM)	Glu ۵۲۴ (۱/۸۱), Arg ۱۲۰
I <sub>4</sub>	-۶/۷۳	۱۱/۶۶(μM)	Ser ۵۱۶ (۱/۸۵), Tyr ۳۷۱	-۶/۰۶	۳۶/۱۲(μM)	His ۹۰ (۲/۰۳), Thr ۹۴ (۲/۰۱)



شکل ۳: برهمکنش احتمالی مشتقات ایساتین با آنزیم سیکلو اکسیژناز ۲. (الف) ترکیب I<sub>2</sub>, (ب) ترکیب I<sub>3</sub>, (ج) ترکیب I<sub>4</sub>



شکل ۴: بر همکنش احتمالی مشتقات ایساتین با آنزیم سیکلو اکسیژناز ۱. (الف) ترکیب I<sub>2</sub>، (ب) ترکیب I<sub>3</sub> (ج) ترکیب I<sub>4</sub>

جدول ۲: تخمین پارامترهای فارماکوکینتیک مشتقات ایساتین با استفاده از (SwissADME website)

شماره ترکیب	وزن مولکولی (g/mol)	<sup>1</sup> Logp	<sup>2</sup> HBD	<sup>3</sup> HBA	<sup>4</sup> TPSA(A)	Lipinski's RO5	Lead likeness	GI absorption	Rotatable bonds	Pg-S
I <sub>1</sub>	۳۲۲/۳۶	۲/۶۲	۱	۴	۶۵/۰۱	بله	بله	بالا	۵	خیر
I <sub>2</sub>	۳۳۸/۳۶	۳/۱۶	۲	۵	۸۵/۲۴	بله	بله	بالا	۵	خیر
I <sub>3</sub>	۳۰۸/۳۳	۲/۵	۲	۴	۷۳/۸	بله	بله	بالا	۵	خیر
I <sub>4</sub>	۲۰۴/۲۳	۱/۷۹	۱	۳	۴۹/۴۱	بله	خیر	بالا	۳	خیر

<sup>1</sup>Octanol-water partition coefficient

<sup>2</sup>Number of hydrogen-bond donors (OH and NH groups)

<sup>3</sup>Number of hydrogen-bond acceptors (O and N atoms)

<sup>4</sup>topological polar surface area

## بحث

مشتقات ایساتین خواص بیولوژیکی متفاوتی نشان داده‌اند (۱۷-۱۴) که یکی از مهم‌ترین آن اثر ضد التهاب می‌باشد که به‌ویژه از مشتقات ایساتین با گروه‌های شیف- باز و مانیش باز مشاهده شده است (۲۰، ۲۶). مشتقاتی از ایساتین سنتز شدند و از نظر خواص ضد التهاب با روش croton oil-induced ear edema. مورد بررسی قرار گرفتند این ترکیبات در دو دوز ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ مورد آزمایش قرار گرفتند که ترکیب I<sub>2</sub> (\*\*P<0.01) و ترکیب I<sub>3</sub> (\*\*\*) (P<0.001) در مقایسه با کنترل (نرمال سالین) نشان دادند. ترکیب I<sub>1</sub> در این دو دوز تفاوت معناداری با گروه کنترل در تست تجربی نشان نداد ترکیب I<sub>4</sub> با توجه به اسکرین اولیه در تست ضد التهاب در دوز پایین تر ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg مورد بررسی قرار گرفت که اثر ضد التهابی قوی با (\*\*\*) (P<0.001) داشت (۲۳) در این مطالعه برهمکنش مشتقات ایساتین با آنزیم‌های سیکلو اکسیژناز ۱ و ۲ توسط برنامه داکینگ مورد ارزیابی قرار گرفت. همانطور که مقادیر انرژی اتصال بر حسب کیلوکالری بر مول در جدول ۱ نشان می‌دهد ترکیبات I<sub>2</sub> و I<sub>3</sub> کمترین مقادیر را در اتصال به هر دو فرم از آنزیم سیکلو اکسیژناز نشان دادند. ثابت مهار برای این دو ترکیب، به‌ویژه ترکیب I<sub>3</sub> در محدوده نانومولار برای هر دو فرم از آنزیم می‌باشد. در مطالعات ضد التهاب برون تن این دو ترکیب تفاوت معناداری با گروه کنترل نشان دادند (۲۳). که در تطابق با مطالعات داکینگ می‌باشد و می‌تواند تا حدودی تاییدی بر مکانیسم ضد التهابی این ترکیبات از طریق مهار این آنزیم باشد که البته مطالعات مهار آنزیم توسط این مشتقات از طریق کیت‌های تشخیصی نیز برای تایید لازم می‌باشد. انرژی اتصال ترکیب I<sub>4</sub> که فقط حاوی گروه مانیش باز بوده و در مطالعات برون تن به‌عنوان قویترین ترکیب شناخته شده بود با سیکلو اکسیژناز ۲ و ۱ به ترتیب ۶/۷۳- و ۶/۰۶- کیلوکالری بر مول بوده و ثابت مهار آن نیز بر ای هر دو فرم از آنزیم در محدوده میکرومولار است که می‌توان به فقدان گروه شیف-باز در این ترکیب نسبت داد یا اینکه اثرات ضد التهابی این

ترکیب ممکن است از مسیرهای دیگری غیر از مهار آنزیم‌های سیکلو اکسیژناز باشد. با مقایسه نتایج تئوری و تجربی در این تحقیق می‌توان فهمید که از روش تئوری داکینگ تنها می‌توان به‌عنوان ابزاری برای تعیین مکانیسم احتمالی ترکیبات استفاده کرد که برای تایید بیشتر مطالعات مهار آنزیمی به‌صورت تجربی حتماً توصیه می‌شود. نکته دیگر اینکه اگر ترکیبی از روشی غیر از تاثیر بر رسپتور یا آنزیم اثر داشته باشد ممکن است در مطالعات داکینگ و تجربی تناقض دیده شود چنانچه در مورد ترکیب I<sub>4</sub> در این مطالعه دیده شد. جاپولا و همکارانش در مطالعه‌ای مشتقات بنزوئیدرازید - ایساتین را از نظر برهمکنش با آنزیم‌های سیکلو اکسیژناز ۱ و ۲ به‌وسیله داکینگ مولکولی مورد بررسی قرار دادند که بین نتایج تئوری و *in-vivo* ارتباط قابل توجهی مشاهده شد و در مطالعه توسط آن‌ها نیز مانند طرح حاضر گروه کربونیل حلقه ایساتین و گروه کربونیل پیوند آمیدی با اسیدهای آمینه آنزیم تداخلات هیدروژنی نشان دادند (۲). در مطالعات خواص فارماکوکینتیک، مقادیر نواحی سطح قطبی توپولوژیکال (TPSA) یک فاکتور مهم برای پیش‌بینی استفاده خوراکی دارو می‌باشد که از نواحی سطحی همه اتم‌های قطبی مانند اکسیژن، نیتروژن و هیدروژن‌های متصل شده به آن‌ها به‌دست می‌آید. اگر ترکیبی مقدار (TPSA) کمتر از ۱۴۰ انگستروم دارد این ترکیب باید نفوذپذیری روده‌ای مناسبی داشته باشد و (TPSA) کمتر از ۶۰ انگستروم نفوذپذیری خوبی از سد خونی- مغزی دارد (۲۷) که مطابق با جدول ۲ تمام ترکیبات نفوذ پذیری گوارشی بالایی داشتند. لیپوفیلیسیته یک مولکول فاکتور فیزیکو-شیمیایی مهم برای تخمین انتشار غیر فعال ترکیب از طریق غشای روده می‌باشد که به‌عنوان logP شناخته می‌شود که تمام ترکیبات مقادیر کمتر از ۵ نشان دادند که نشان‌دهنده لیپوفیلیسیته مناسب برای جذب روده‌ای است. توانایی تشکیل باند هیدروژنی پارامتر دیگری برای نفوذپذیری دارو است. که برای جذب ایده آل تعداددهنده باند هیدروژنی و پذیرنده باند هیدروژنی باید به ترتیب کمتر از ۵ و ۱۰ باشد. زیست دستیابی خوراکی مناسب هم‌چنین متاثر از

بیشتر لازم می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل از داکینگ، تداخلات گروه‌های عاملی با اسیدهای آمینه آنزیم، نتایج تجربی و فارماکوکینتیک امید است این تحقیق بتواند در طراحی ترکیبات موثرتر در آینده مفید واقع شود.

### سیاس‌گذاری

این مقاله منتج از پایان‌نامه داروسازی دکترای عمومی به شماره طرح ۳۹۷۱۳۲ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است. حامی مالی: ندارد. تعارض در منافع: ندارد.

تعداد باندهای قابل چرخش می‌باشد که باید کمتر از ۱۰ باشد (۲۸). مطابق با پارامترهای جدول ۲ ترکیبات مطالعه شده همگی از قانون ۵ لیپینسکی پیروی می‌کنند.

### نتیجه‌گیری

ترکیبات  $I_2$  و  $I_3$  در مطالعات ضد التهاب برون تن تفاوت معناداری با گروه کنترل نشان دادند که در تطابق با مطالعات داکینگ می‌باشد و می‌تواند تاییدی بر مکانیسم احتمالی این ترکیبات از طریق مهار این آنزیم باشد. مطالعات مهار آنزیم توسط این مشتقات از طریق کیت‌های تشخیصی نیز برای تایید

### References:

- 1-Szczukowski Ł, Krzyżak E, Zborowska A, Zajac P, Potyrak K, Peregrym K, et al. *Design, Synthesis and Comprehensive Investigations of Pyrrolo [3, 4-d] pyridazinone-Based 1, 3, 4-Oxadiazole as New Class of Selective COX-2 Inhibitors*. Intl J Mol sci 2020; 21(24): 9623.
- 2-Jarapula R, Gangarapu K, Manda S, Rekulapally S. *Synthesis, in Vivo Anti-Inflammatory Activity, and Molecular Docking Studies of New Isatin Derivatives*. Int J Med Chem 2016; 2016: 1-9.
- 3-Babu GS, Rajani N, Malathy PS, Srinivas B, Kulandaivelu U, Rao JV. *Synthesis, Characterization and Evaluation of Novel N-(1H-Benzimidazol-2-Yl)-2-Isatinylidene-Hydrazinecarboxamide Derivatives as Anti-Inflammatory Agents*. Der Pharma Chemica 2010; 2(3): 196-204.
- 4-Rouzer CA, Marnett LJ. *Cyclooxygenases: Structural and Functional Insights*. J Lipid Res 2009; 50 (Suppl): S29-34.
- 5-Rieke CJ, Mulichak AM, Garavito RM, Smith WL. *The Role of Arginine 120 of Human Prostaglandin Endoperoxide H Synthase-2 in the Interaction with Fatty Acid Substrates and Inhibitors*. J Biol Chem 1999; 274(24): 17109-14.
- 6-Rowlinson SW, Kiefer JR, Prusakiewicz JJ, Pawlitz JL, Kozak KR, Kalgutkar AS, et al. *A Novel Mechanism of Cyclooxygenase-2 Inhibition Involving Interactions with Ser-530 and Tyr-385*. J Biol Chem 2003; 278(46): 45763-9.
- 7-Arora M, Choudhary S, Singh PK, Sapra B, Silakari O. *Structural Investigation on the Selective COX-2 Inhibitors Mediated Cardiotoxicity: A Review*. Life Sci 2020; 251: 117631.
- 8-Eren G, Ünlü S, Nuñez MT, Labeaga L, Ledo F, Entrena A, et al. *Synthesis, Biological Evaluation, and Docking Studies of Novel Heterocyclic Diaryl Compounds as Selective COX-2 Inhibitors*. Bioorg Med Chemistry 2010; 18(17): 6367-76.
- 9-Consalvi S, Alfonso S, Di Capua A, Poce G, Pirolli A, Sabatino M, et al. *Synthesis, Biological Evaluation and Docking Analysis of A New Series of Methylsulfonyl and Sulfamoyl Acetamides And*

- Ethyl Acetates as Potent COX-2 Inhibitors*. Bioorg Med Chem 2015; 23(4): 810-20.
- 10- Firke SD, Bari SB. *Synthesis, Biological Evaluation and Docking Study of Maleimide Derivatives Bearing Benzenesulfonamide as Selective COX-2 Inhibitors and Anti-Inflammatory Agents*. Bioorg Med Chem 2015 ; 23(17): 5273-81.
- 11- Khan FA, Maalik A. *Advances in Pharmacology of Isatin and its Derivatives: A Review*. Trop J Pharm Res 2015; 14(10): 1937-42.
- 12- Solomon VR, Hu C, Lee H. *Hybrid Pharmacophore Design and Synthesis of Isatin-Benzothiazole Analogs for their Anti-Breast Cancer Activity*. Bioorg Med Chem 2009; 17(21): 7585-92.
- 13- Kumar NS, Pradeep T, Jani G, Silpa D, Vijaya Kumar B. *Design, Synthesis, and Antimicrobial Screening of Novel Pyridyl-2-Amidrazone Incorporated Isatin Mannich Bases*. J Adv Pharm Technol Res 2012; 3(1): 57-61.
- 14- El-Faham A, Hozzein WN, Wadaan MAM, Khattab SN, Ghabbour HA, Fun HK, et al. *Microwave Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Some Novel Isatin Derivatives*. J Chemistry 2015: 1-8.
- 15- Patel A, Bari S, Talele G, Patel J, Sarangapani M. *Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New Isatin derivatives*. Iranian J Pharmaceutical Research 2006; 5(4): 249-54.
- 16- Selvam P, Murgesh N, Chandramohan M, De Clercq E, Keyaerts E, Vijgen L, et al. *In Vitro Antiviral Activity of some Novel Isatin Derivatives against HCV and Sars-CoV Viruses*. Indian J Pharm Sci 2008; 70(1): 91-4.
- 17- Eggadi V, Kulandaivelu U, Sharvanabhava BS, Jupally VR. *Screening of the Anticonvulsant Activity of some Isatin Derivatives in Experimental Seizure Models and its Effect on Brain GABA Levels in Mice*. American J Pharmacological Sciences 2013; 1(3): 42-6.
- 18- Panneerselvam P, Reddy RS, Murali K, Kumar NR. *Synthesis, Analgesic, Anti-Inflammatory and Antimicrobial Activities of some Novel Schiff's Bases of 5-Substituted Isatin*. Der Pharma Chemica 2010; 2(1): 28-37.
- 19- Sharma PK, Balwani S, Mathur D, Malhotra S, Singh BK, Prasad AK, et al. *Synthesis and Anti-Inflammatory Activity Evaluation of Novel Triazolyl-Isatin Hybrids*. J Enzyme Inhib Med Chem 2016; 31(6): 1520-6.
- 20- Sridhar SK, Saravanan M, Ramesh A. *Synthesis and Antibacterial Screening of Hydrazones, Schiff and Mannich Bases of Isatin Derivatives*. Eur J Med Chem 2001; 36(7-8): 615-25.
- 21- Tehrani KHME, Hashemi M, Hassan M, Kobarfard F, Mohebbi S. *Synthesis and Antibacterial Activity of Schiff Bases of 5-Substituted Isatins*. Chin Chem Lett 2016; 27(2): 221-25.
- 22- Ram VJ, Mishra L, Pandey HN, Vlietinck AJ. *Pesticidalmannich Bases Derived from Isatinimines*. J Heterocyclic Chemistry 1986; 23(5): 1367-69.
- 23- Hassanzadeh F, Jafari E, Khayambashi N, Hajhashemi V. *Synthesis and Anti-Inflammatory Effects Evaluation of 1,3 Substituted Isatin Derivatives*. Thai J Pharm Sci 2021; 45 (4): 248-52.
- 24- Hassanzadeh F, Jafari E, Zarabi M, Khodarahmi G, Vaseghi G. *Synthesis, Cytotoxic Evaluation, and*

- Molecular Docking Studies of some New 1, 3, 4-Oxadiazole-Based Compounds*. Res Pharm Sci 2020; 15(5): 454-62.
- 25- Jafari E , Taghi jarah-Najafabadi N, Jahanian-Najafabadi A, Poorirani S, Hassanzadeh F, Sadeghian-Rizi S. *Synthesis and Evaluation of Antimicrobial Activity of Cyclic Imides Derived from Phthalic and Succinic Anhydrides*. Res Pharm Sci 2017; 12(6): 526-34.
- 26- Roman G. *Mannich Bases in Medicinal Chemistry and Drug Design*. Eur J Med Chem 2015; 89: 743-816.
- 27- Ertl P, Rohde B, Selzer P. *Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and its Application to the Prediction of Drug Transport Properties*. J Med Chem 2000; 43(20) : 3714-7.
- 28- Rafiee Pour Z, Nazifi SMR, Afshari Safavi A, Nazifi ZS, Massah AR. *Solvent-Free Synthesis, ADME Prediction, and Evaluation of Antibacterial Activity of Novel Sulfonamide Derivatives*. Russ J Org Chem 2019; 55: 852-9.

## Interaction Study of 1, 3 Substituted Isatin Derivatives with Anti Inflammatory Properties with Cyclooxygenase 1 and 2 Enzymes by Molecular Docking Method

Elham Jafari<sup>\*1</sup>, Farshid Hassanzadeh<sup>1</sup>, Nahal Khayambashi<sup>1</sup>, Valiollah Hajhashemi<sup>2</sup>

### Original Article

**Introduction:** Inflammation as the body's defense response is accompanied with various diseases. Prostaglandins are major mediators of inflammation produced by the cyclooxygenase enzymes. So inhibitors of these enzymes can be effective in treating inflammation. There are reports of inhibition of these enzymes by isatin derivatives to control inflammation. Isatin is a heterocyclic compound whose derivatives have been shown outstanding biological profile in medicinal chemistry studies especially anti-inflammatory effects. In this study, derivatives of isatin were investigated for interaction with cyclooxygenase enzymes in order to confirm the experimental results with theory to suggest a possible mechanism.

**Methods:** In this study, some of the isatin –based synthesized derivatives which have been shown anti-inflammatory effects in *in-vitro* tests, evaluated by docking program for interaction with cyclooxygenase 1 and 2 enzymes. Also, the pharmacokinetic properties and compliance with the Lipinski law of synthesized compounds were investigated.

**Results:** The results showed that compounds I<sub>2</sub> and I<sub>3</sub> have the lowest values of binding energy to both forms of the cyclooxygenase enzymes. All studied compounds followed Lipinski's law.

**Conclusion:** Compounds I<sub>2</sub> and I<sub>3</sub> showed moderate anti-inflammatory activity in *in vitro* anti-inflammatory studies which is in accordance with docking studies. It can be a confirmation of the possible mechanism of these compounds through inhibition of this enzyme. Enzyme inhibition studies by these derivatives through diagnostic kits are also required for more confirmation.

**Keywords:** Isatin, Inflammation; Cyclooxygenase; Molecular docking.

**Citation:** Jafari E, Hassanzadeh F, Khayambashi N, Hajhashemi V. Interaction study of 1, 3 substituted isatin derivatives with anti inflammatory properties with cyclooxygenase 1 and 2 enzymes by molecular docking method. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2022; 29(12): 4382-92.

<sup>1</sup>Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran.

<sup>2</sup>Department of Pharmacology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran.

\*Corresponding author: Tel: 031-37927106, email: jafari@pharm.mui.ac.ir