

## ارتباط کمی ساختار-فعالیت و داکینگ مولکولی بازدارنده‌های مشتقات پیرازولین بر سیکلواکسیژناز ۲ با استفاده از روش‌های کموانفورماتیک

مهنوش محمدنظری و محمد اسداللهی بابلی\*

ایران، بابل، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، دانشکده علوم پایه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۷



### چکیده

در پژوهش حاضر مطالعه کمی ساختار-فعالیت خواص بازدارندگی مشتقات پیرازولین به عنوان بازدارنده‌های ضد التهابی سیکلواکسیژناز-۲ با استفاده از روش‌های مختلف کموانفورماتیک انجام پذیرفته است. یکی از مهم‌ترین استراتژی‌ها در طراحی ترکیبات ضد التهابی قوی با کاهش قابل توجه اثرات جانبی، بازدارندگی انتخابی آنزیم سیکلواکسیژناز-۲ است. از روش‌های انتخاب متغییر طبقه‌بندی و رگرسیون درختی و روش رگرسیون خطی چندگانه قدم به قدم جهت انتخاب مهم‌ترین توصیف‌کننده‌های مولکولی استفاده گردید. مدل نهایی توسط سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر و شبکه عصبی مصنوعی با استفاده از توصیف‌کننده‌های مولکولی انتخابی گسترش یافت. نتایج روش‌های ارزیابی مختلفی همچون ارزیابی مقاطع یکتایی، ارزیابی مقاطع چندتایی و سری پیش‌بینی نشان‌دهنده معتبر بودن مدل بدست آمده می‌باشد. در مرحله بعدی، مطالعات داکینگ مولکولی برای بدست آوردن الگوی اتصال گیرنده - لیگاند انجام شد. نتایج داکینگ مولکولی نشان داد آمینواسیدهای Arg<sup>44</sup>، Glu<sup>46</sup>، Glu<sup>465</sup> و Cys<sup>41</sup> مهم‌ترین نقش را در برهمکنش گیرنده-لیگاند دارند. در مطالعه حاضر، تکنیک‌های مطالعه ارتباط کمی ساختار-فعالیت و داکینگ مولکولی قابل تفسیری برای پیش‌بینی غلظت بازدارندگی مشتقات پیرازولین استفاده گردید. با استفاده از نتایج حاضر می‌توان برای پیش‌بینی غلظت بازدارندگی‌های آنزیم سیکلواکسیژناز-۲ در طراحی دارو با صرف هزینه و زمان کمتر استفاده نمود.

**واژه‌های کلیدی:** مطالعه کمی ساختار-فعالیت، داکینگ مولکولی، بازدارنده‌های سیکلواکسیژناز-۲، پیرازولین، طبقه‌بندی و رگرسیون درختی

\* نویسنده مسوول، تلفن: ۰۱۱۳۵۵۰۱۷۳۲، پست الکترونیکی: [asadollahi@nit.ac.ir](mailto:asadollahi@nit.ac.ir)

### مقدمه

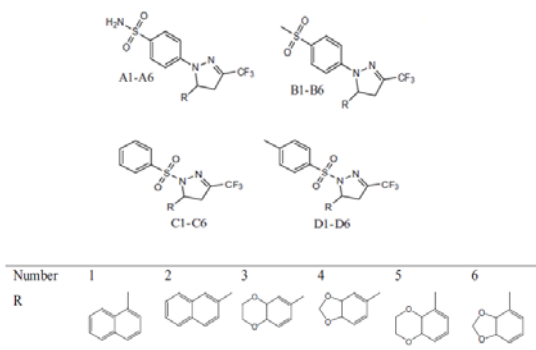
یافت می‌شود و تولید آن ناشی از تحریک است. مهار سیکلواکسیژناز باعث اختلال در انعقاد خون می‌شود. داروهای قدیمی این گروه مانند: آسپرین، بروفن، دیکلوفناک، پیروکسیکام و ایندومتاسین هردو ایزوفرم آنزیم سیکلواکسیژناز را مهار می‌کنند. لذا هرچند کمی اختلال در انعقاد خون ایجاد می‌کنند ولی بیشتر اثرات ضد التهابی و تب بر دارند. داروهای جدید این خانواده مانند سلوکسیب و رافلوکسیب مهارکننده اختصاصی سیکلواکسیژناز ۲ هستند و بنابراین عوارض گوارشی کمتری

آنزیم سیکلواکسیژناز (Cyclooxygenase) (COX) از مهم‌ترین آنزیم‌ها در تولید میانجی‌های التهابی بدن است که مسئول التهاب و درد می‌باشد. عملکرد داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی بازدارندگی این آنزیم شامل آنزیم سیکلواکسیژناز ۱ (COX-1) و سیکلواکسیژناز ۲ (COX-2) است (۳ و ۱۶). سیکلواکسیژناز ۱ عمدتاً در سلول‌های غیرالتهابی مانند سلول‌های معده یافت می‌شود و تولید آن یک فرآیند مداوم است، در حالی که سیکلواکسیژناز ۲ در سلول‌های التهابی و گلبول‌های سفید

در این مقاله، یک مطالعه نظری بر روی خواص مشتقات پیرازولین و پیش‌بینی خواص بازدارندگی آن‌ها بعنوان بازدارنده‌های موثر آنزیم سیکلوآکسیژناز با استفاده از روش‌های طبقه‌بندی و رگرسیون درختی، رگرسیون خطی چندگانه قدم به قدم، سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق-پذیر، شبکه عصبی مصنوعی و داکینگ مولکولی انجام شده است. جزئیات محاسبات بطور خلاصه در بخش دوم و نتایج حاصل از آنها در بخش سوم ارائه گردید و در آخرین بخش نتیجه‌گیری شد.

### مواد و روشها

ساختارهای مولکولی ۲۴ ترکیب از مشتقات پیرازولین و میزان بازدارندگی ( $IC_{50}$ ) این مشتقات بر روی آنزیم سیکلوآکسیژناز در چهار گروه A، B، C و D در شکل شماره ۱ آورده شده است (۱۵).



شکل ۱- ساختار مشتقات پیرازولین مهارکننده آنزیم سیکلوآکسیژناز

قبل از محاسبه توصیف‌کننده‌ها، ساختار فضایی مولکول‌ها شامل ۲۴ بازدارنده به وسیله نرم‌افزار HyperChem ترسیم شد و توسط روش محاسباتی نیمه تجربی AMI ساختار سه بعدی آن‌ها بهینه شد. با استفاده از ساختارهای سه بعدی بهینه شده و نرم‌افزار Dragon توصیف‌کننده‌های مولکولی مختلف شامل توصیف‌کننده‌های ساختاری، هندسی، توپولوژیکی، الکترونی، هیبریدی و... توسط این نرم‌افزار محاسبه گردید. قبل از انتخاب مهم‌ترین توصیف‌کننده‌های مولکولی، توصیف‌کننده‌هایی که برای همه

دارند، هرچند عوارض کلیوی آن‌ها مشابه مهارکننده‌های غیراختصاصی بوده و عوارض قلبی عروقی آن‌ها حتی ممکن است بیشتر باشد. بنابراین دلایل کافی برای کشف - ترکیبات جدید به عنوان بازدارنده‌های سیکلوآکسیژناز ۲ با اثرات جانبی کمتر وجود دارد (۱۰ و ۱۳).

مطالعه ارتباط کمی ساختار- فعالیت بعنوان یکی از روش‌های کموانفورماتیک، خواص مولکول‌ها را به ویژگی ساختاری آن‌ها نسبت می‌دهد. امروزه مطالعه ارتباط کمی ساختار- فعالیت در بسیاری از زمینه‌ها به ویژه در زمینه طراحی دارو، یافتن نوع ارتباط بین ساختار مولکولی و فعالیت بیولوژیکی و همچنین بررسی برهمکنش‌های پروتئین - لیگاند به کار گرفته می‌شود (۴ و ۱۴). یکی از مراحل کلیدی در هر مطالعه ارتباط کمی ساختار- فعالیت انتخاب توصیف‌کننده‌های مولکولی مناسب از بین مجموعه توصیف‌کننده‌های مولکولی محاسبه شده می‌باشد. روش‌های انتخاب متغییر طبقه‌بندی و رگرسیون درختی (CART) و روش رگرسیون خطی چندگانه قدم به قدم (Stepwise MLR) بعنوان روش‌های نسبتاً ساده و قابل تفسیر در فرایند انتخاب توصیف‌کننده‌های مولکولی مهم امروزه استفاده گسترده ای دارند. روش طبقه‌بندی و رگرسیون درختی دارای مزایایی همچون ایمن بودن نسبت به داده‌های پرت، همبستگی توصیف‌کننده‌ها و ناهمسانی توصیف‌کننده‌ها برخوردار است (۱۲). قابل ذکر است روش گفته شده در بسیاری از تحقیقات طبقه بندی دارویی، تجزیه و تحلیل زمان‌های بازداری، مطالعات ارتباط کمی ساختار- فعالیت و تشخیص پزشکی توسط گروه‌های تحقیقاتی مختلفی استفاده گردیده است (۷ و ۵). امروزه استفاده از روش‌های مختلف یادگیری ماشین مانند سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر (ANFIS) و شبکه عصبی مصنوعی (ANN) (۸ و ۱۱) جهت مدل سازی غیرخطی با کارآرایی مناسب استفاده می‌شود.

استفاده گردید. جهت ارزیابی مدل‌های بدست آمده از روش‌های اعتبارسنجی به عنوان یک مرحله بسیار مهم در مطالعه ارتباط کمی ساختار- فعالیت استفاده شده است. مدل‌های بدست آمده با استفاده از مجذور ضریب رگرسیون ارزیابی تقاطعی یکتایی ( $Q^2_{LOO}$ ) و چندتایی ( $R^2_{LMO}$ )، مجذور ضریب همبستگی ( $R^2$ )، ریشه میانگین مربع خطا (RMSE) و اعتبارسنجی ( $\Gamma^2_m$ ) مورد ارزیابی قرار گرفتند (۴ و ۷). از ارزیابی تقاطعی یکتایی ( $>0.6$ ) و چندتایی برای بررسی قدرت پیش‌بینی داخلی مدل‌ها و از مجذور ضریب رگرسیون سری پیش‌بینی ( $R^2 > 0.6$ ) برای بررسی قدرت پیش‌بینی خارجی مدل‌ها و از اعتبارسنجی ( $\Gamma^2_m > 0.5$ ) برای پیش‌بینی توانایی مدل ارتباط کمی ساختار- فعالیت استفاده شد. همچنین از ریشه میانگین مربع خطا برای اندازه‌گیری میزان خطای مدل استفاده شد، هرچه میزان این خطا کوچکتر باشد مدل از اعتبار بیشتری برخوردار است.

در انتها برهمکنش فعال‌ترین مولکول‌های این سری با آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ (با کد 4PH9 در پایگاه داده [www.pdb.org](http://www.pdb.org)) مورد بررسی قرار گرفت. برای این کار از نرم‌افزار Molegro Virtual Docker و Molecular Operating Environment استفاده شد. از روش داکینگ مولکولی جهت انتخاب مهم‌ترین حفره پروتئین جهت قرارگرفتن بازدارنده‌ها (مشتقات پیرازولین) و بررسی برهمکنش‌های مهم بین آمینواسیدها (باقی‌مانده‌ها) و مشتقات پیرازولین استفاده شد. با استفاده از این روش می‌توان آمینواسیدهای برهمکنش‌کننده با مولکول مورد نظر را شناسایی کرد و از این طریق میزان تاثیرگذاری دارو را پیش‌بینی نمود.

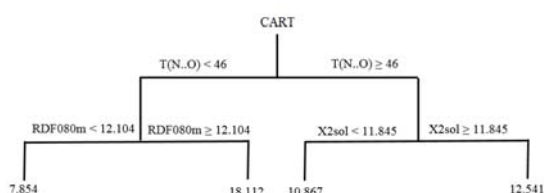
## نتایج و بحث

از میان ۱۴۹۷ توصیف‌کننده محاسبه شده توسط نرم افزار Dragon، ۴۰۵ توصیف‌کننده بعد از حذف توصیف‌کننده‌های غیرضروری بدست آمد. از بین این توصیف‌کننده‌ها،

ترکیبات مقادیر صفر، ثابت و یا تقریباً ثابت داشتند حذف شدند، زیرا نمی‌توانستند تفاوت در ساختار مولکول را به تفاوت در فعالیت مرتبط سازند. همچنین همبستگی تمامی توصیف‌کننده‌های مولکولی با یکدیگر و به صورت دوجه‌دو بررسی گردید و از بین دو توصیف‌کننده با همبستگی بیشتر از ۰/۹ یکی نگه داشته شد.

پس از ارزیابی اولیه توصیف‌کننده‌ها، از روش‌های طبقه‌بندی و رگرسیون درختی و رگرسیون خطی چندگانه قدم به قدم جهت انتخاب توصیف‌کننده‌های مناسب توسط برنامه MATLAB استفاده گردید. همچنین قابل ذکر است انتخاب متغیرها توسط سری کالیبراسیون (۷۵٪ داده‌ها) و ارزیابی اعتبار مدل با استفاده از سری پیش‌بینی (۲۵٪ داده‌ها) انجام پذیرفت. سری کالیبراسیون و پیش‌بینی به نحوی انتخاب می‌شوند که نماینده کل سری داده باشند و در ضمن تصادفی نیز باشند. توسعه مدل توسط سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر و شبکه عصبی مصنوعی با استفاده از برنامه MATLAB و الگوریتم پس انتشار انجام شد. در توسعه مدل‌های گفته شده از توصیف‌کننده‌های انتخاب شده در مرحله قبلی استفاده گردید. در توسعه مدل‌های گفته شده سری کالیبراسیون به دو سری آموزش (۵۰٪ داده‌ها) و تست (۲۵٪ داده‌ها) تقسیم شد. بدین ترتیب تعداد مولکول‌ها در سری‌های آموزش، تست و پیش‌بینی به ترتیب ۱۲، ۶ و ۶ می‌باشد. قابل ذکر است انتخاب مولکول‌ها در هر سری به نحوی انجام شد که شامل مقادیر مختلف میزان بازدارندگی باتوجه به تنوع ساختارهای شیمیایی مختلف باشد. پارامترهای سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر و شبکه عصبی مصنوعی شامل تعداد گره‌های پنهان، توابع انتقال، توابع تجدیدکننده وزن‌ها، مقادیر مومنتوم، سرعت آموزش و توابع عضویت برای حصول نتیجه بهتر بهینه شدند. در این مرحله سری داده‌ها به سه سری آموزش، تست و پیش‌بینی تقسیم شدند. قابل ذکر است از سری پیش‌بینی در هیچ یک از مراحل مدل‌سازی استفاده نشد و صرفاً جهت بررسی مدل نهایی

گفته شده به همراه میزان همبستگی توصیف‌کننده‌ها در جدول شماره ۱ آورده شده است.



شکل ۲- ساختار درختی بهینه در روش طبقه‌بندی و رگرسیون درختی

سه توصیف‌کننده موثر توسط روش رگرسیون خطی چندگانه قدم به قدم و سه توصیف‌کننده توسط روش طبقه‌بندی و رگرسیون درختی انتخاب شدند. ساختار درختی بهینه حاصل از اجرای روش انتخاب متغیر طبقه-بندی و رگرسیون درختی در شکل شماره ۲ آورده شده است.

همچنین نام توصیف‌کننده‌های انتخاب شده در دو روش

جدول ۱- توصیف‌کننده‌های انتخاب شده توسط روش‌های طبقه‌بندی و رگرسیون درختی و رگرسیون خطی چندگانه قدم به قدم

	T(N..O)	RDF080m	P2s	X2sol
T(N..O) <sup>a,b</sup>	۱			
RDF080m <sup>a,b</sup>	۰/۵۲	۱		
P2s <sup>b</sup>	۰/۰۳	۰/۰۷	۱	
X2sol <sup>a</sup>	۰/۳۵	۰/۴۷	۰/۱۶	۱

<sup>a</sup> توصیف‌کننده‌های انتخاب شده توسط روش طبقه‌بندی و رگرسیون درختی

<sup>b</sup> توصیف‌کننده‌های انتخاب شده توسط روش رگرسیون خطی چندگانه قدم به قدم

T(N..O) در سری توصیف‌کننده‌های توپولوژیکی است. این توصیف‌کننده نشان دهنده فاصله توپولوژیکی هترواتم‌های اکسیژن و نیتروژن می‌باشد. در واقع انتخاب این توصیف‌کننده نشان دهنده اهمیت وجود هترواتم‌ها و موقعیت نسبی آنها نسبت به یکدیگر است. اطلاعاتی همچون میزان شاخه‌ای بودن یا زنجیری بودن مولکول و محل قرار گرفتن اتم‌های اکسیژن و نیتروژن در شاخه‌ها یا حلقه بر مقدار این توصیف‌کننده اثرگذار است. جهت بررسی بیشتر نتایج، آماره‌های دو روش استفاده شده در جدول شماره ۲ آورده شده است.

همانطور که نتایج این جدول نشان می‌دهد، دو مورد از توصیف‌کننده‌های انتخاب شده توسط این روش‌ها یکسان هستند. همچنین میزان همبستگی این توصیف‌کننده‌ها با یکدیگر قابل توجه نیست، یعنی هر یک از این توصیف‌کننده‌ها جنبه‌های متفاوتی از خواص شیمیایی و بیوشیمیایی بازدارنده‌های مورد نظر را کد می‌کنند. اولین توصیف‌کننده انتخاب شده، توصیف‌کننده RDF080m است. این توصیف‌کننده تابع توزیع شعاعی است که براساس توزیع فاصله در نمایش فضای مولکول تعریف می‌شوند. انتخاب این توصیف‌کننده نشان‌دهنده تاثیر حجم و اندروالسی بر میزان بازدارندگی است. توصیف‌کننده انتخاب شده دیگر،

جدول ۲- آماره‌های روش‌های طبقه‌بندی و رگرسیون درختی و رگرسیون خطی چندگانه قدم به قدم

روش انتخاب متغیر	توصیف‌کننده‌ها	$R_p^2$	RMSE	F	$Q_{LOO}^2$
روش طبقه‌بندی و رگرسیون درختی	T(N..O), RDF080m, P2s	۰/۷۸۴	۰/۵۴۵	۴۴/۶	۰/۸۶۲
رگرسیون خطی چندگانه قدم به قدم	T(N..O), RDF080m, X2sol	۰/۸۲۰	۰/۵۰۲	۵۱/۸	۰/۸۸۶

پذیر و شبکه عصبی مصنوعی مدلی با پارامترهای آماری بهتری حاصل شده‌است. مشخصات سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر و شبکه عصبی مصنوعی حاصل با توجه به پارامترهای بهینه شده در جدول شماره ۳ بیان شده است. قابل ذکر است هر یک از پارامترهای بیان شده در جدول ۳ برای مقادیر مختلف بررسی شد و بهترین نتیجه حاصل با خطای کمتر بعنوان شرایط بهینه در نظر گرفته شد. همچنین استفاده از تابع تجدیدکننده وزن لونیبرگ-مارکوات علاوه بر عملکرد بهتر از سرعت آموزش بالاتری نیز نسبت به دیگر توابع تجدید کننده وزن برخوردار است.

نتایج حاصل از جدول ۲ برای پارامترهای آماری مختلف قابل قبول می‌باشد. برای مثال، میزان  $R_p^2$  در دو روش انتخاب متغییر رگرسیون خطی چندگانه قدم به قدم و طبقه‌بندی و رگرسیون درختی برای سری پیش‌بینی بترتیب ۰/۷۸۴ و ۰/۸۲۰ بدست آمد. آماره‌های بالای  $F$  و پایین  $RMSE$  نشان دهنده مناسب بودن نتایج روش انتخاب متغییر است. همچنین نتایج مجذور ضریب رگرسیون ارزیابی تقاطعی یکتایی ( $Q_{LOO}^2$ ) در هر دو روش رگرسیون خطی چندگانه قدم به قدم و طبقه‌بندی و رگرسیون درختی قابل قبول است. هرچند با استفاده از روش‌های مدل‌سازی سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق-

جدول ۳- مشخصات بهینه سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر و شبکه عصبی مصنوعی

سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر	تعداد تابع عضویت در هر گره	۲
شبکه عصبی مصنوعی	متد بهینه سازی	Grid partitioning
	تعداد گره‌ها در لایه پنهان	۲
	تابع انتقال	سیگموئیدی
	تعداد گره‌ها در لایه پنهان	۳
	تابع انتقال	سیگموئیدی
	تابع تجدیدکننده وزن‌ها	لونیبرگ-مارکوات
	مومتوم	۰/۹
	سرعت آموزش	۰/۲

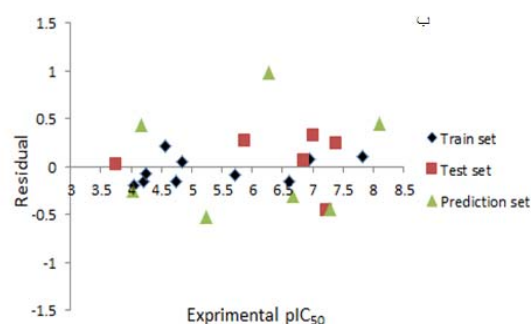
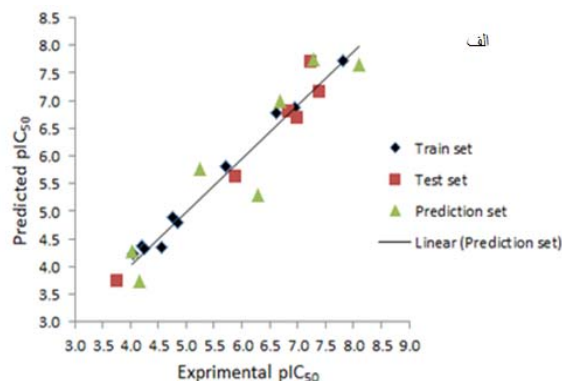
نتایج حاصل از روش‌های سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر و شبکه عصبی مصنوعی شامل پارامترهای آماری مجذور ضریب رگرسیون ارزیابی تقاطعی یکتایی ( $Q_{LOO}^2$ ) و چندتایی ( $R_{LMO}^2$ )، مجذور ضریب همبستگی ( $R^2$ )، ریشه میانگین مربع خطا ( $RMSE$ ) و اعتبارسنجی ( $r_m^2$ ) در جدول شماره ۴ آورده شده است.

جدول ۴- آماره‌های حاصل از توسعه مدل توسط روش‌های سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر و شبکه عصبی مصنوعی

پارامتر آماری	سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر	شبکه عصبی مصنوعی
$R_{train}^2$	۰/۹۰۵	۰/۸۹۲
$R_{test}^2$	۰/۹۲۷	۰/۹۱۲
$R_{prediction}^2$	۰/۹۱۵	۰/۹۰۴
$RMSE_{train}$	۰/۳۳۸	۰/۳۴۵
$RMSE_{test}$	۰/۳۴۶	۰/۳۴۸
$RMSE_{prediction}$	۰/۳۶۰	۰/۳۸۲
$Q_{LOO}^2$	۰/۹۲۲	۰/۹۱۳
$R_{LMO}^2$	۰/۸۵۶	۰/۸۰۳
$r_m^2$	۰/۸۳۲	۰/۸۱۸

عصبی مصنوعی بترتیب برابر با ۰/۹۲۲ و ۰/۹۱۳ شده است که نشان از معتبر بودن و قابل اعتماد بودن مدل است. همچنین آماره‌های دیگر مانند ارزیابی تقاطعی چندتایی و اعتبارسنجی در محدوده رضایت بخشی قرار دارند. مقادیر بازدارندگی ( $plC_{50}$ ) محاسبه شده برحسب مقادیر تجربی در شبکه عصبی مصنوعی برای سری‌های آموزش، تست و پیش‌بینی در شکل شماره ۳ (الف) نشان داده شده است که نشان دهنده همبستگی خوبی بین نتایج محاسبه شده و مقادیر تجربی می‌باشد. نتایج فوق نشان دهنده مناسب بودن روش‌های مورد استفاده در مدل سازی نهایی می‌باشد. جهت بررسی بیشتر و وجود داده یا داده‌های پرت در فرآیند توسعه مدل، منحنی باقیمانده برحسب مقدار تجربی در شکل ۳ (ب) نشان داده شده است.

با توجه به جدول ۴ مقدار  $R^2$  برای سری‌های آموزش، تست و پیش‌بینی در روش سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر بترتیب برابر ۰/۹۰۵، ۰/۹۲۷ و ۰/۹۱۵ شده است. همچنین مقدار  $R^2$  برای سری‌های آموزش، تست و پیش‌بینی در روش شبکه عصبی مصنوعی بترتیب برابر ۰/۸۹۲، ۰/۹۱۲ و ۰/۹۰۴ شده است. همچنین میزان خطای مدل‌های سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر و شبکه عصبی مصنوعی نسبت به مدل‌های رگرسیون خطی چندگانه قدم به قدم و طبقه‌بندی و رگرسیون درختی حدود ۴۰٪ کاهش نشان می‌دهد. بعلاوه طبق این جدول، میزان خطا برای هر سه سری آموزش، آزمون و پیش‌بینی در محدوده مناسب (کمتر از ۰/۴) قرار دارد که نشان دهنده قدرت پیش‌بینی مناسب مدل است. ارزیابی مقاطع یکتایی در دو روش سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر و شبکه



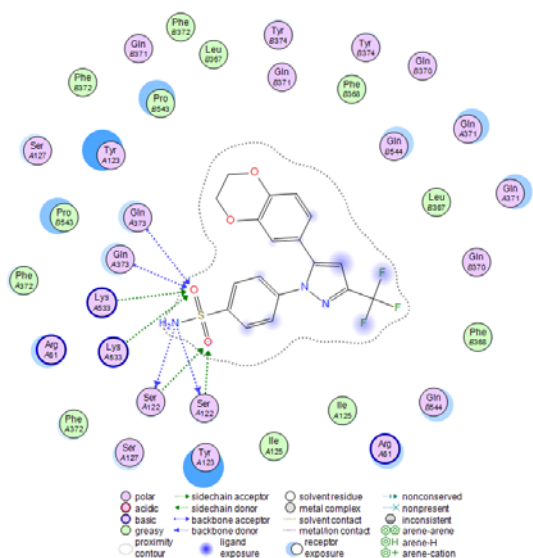
شکل ۳- (الف) منحنی مقادیر محاسبه شده ( $plC_{50}$ ) برحسب مقادیر تجربی و (ب) منحنی باقیمانده برحسب مقادیر تجربی

سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر و شبکه عصبی مصنوعی می‌باشد.

کاربرد روش‌های داکینگ مولکولی بعلت نتایج تفسیری و قابل استفاده آن‌ها روزبروز در حال افزایش است (۱ و ۲). به همین منظور، برای بررسی برهمکنش گیرنده - لیگاند ابتدا حفره‌های آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ (با کد 4PH9) مورد بررسی قرار گرفتند. ساختار سه بعدی آنزیم سیکلو-اکسیژناز ۲ به‌مراه مولکول داک شده (ترکیب A۳ به عنوان فعال‌ترین ترکیب) در شکل شماره ۴ نشان داده شده است.

از مقایسه نتایج شکل ۳ و جدول ۴ با جدول ۲ مشاهده می‌شود که با استفاده از روش‌های مورد استفاده ثانویه اعتبار مدل پیش‌بینی کننده به نحوه چشمگیری افزایش پیدا کرده است. به دلیل وجود مکانیسم‌های پیچیده در فعالیت داروها و همچنین برهمکنش دارو با گیرنده در سیستم بیولوژیکی و رفتار غیرخطی بازدارنده‌های پیرازولین استفاده از روش‌های مدل‌سازی گفته شده الزامی می‌باشد. توزیع متوازن داده‌ها در بالا و پایین نمودار در شکل ۴ نشان - دهنده عدم وجود خطای سیستماتیک در توسعه مدل‌های

قابل ذکر است، بررسی فعالیت بازدارنده‌های آنزیم سیکلوآکسیژناز ۲ و پیش‌بینی مقادیر بازدارندگی آن‌ها با استفاده از توصیف‌کننده‌های مولکولی انتخاب شده و مدل‌های توسعه داده شده امکان‌پذیر است. همچنین میزان برهمکنش بازدارنده‌ها با آنزیم سیکلوآکسیژناز ۲ جهت مقایسه با مقادیر بازدارندگی از نتایج داکینگ مولکولی قابل محاسبه است. از نتایج حاصل در پژوهش حاضر در پیش-بینی خواص دارویی ترکیبات تازه سنتز شده و کاهش هزینه و زمان مورد نیاز برای رسیدن به ترکیباتی با بازدارندگی مناسب می‌توان استفاده نمود.

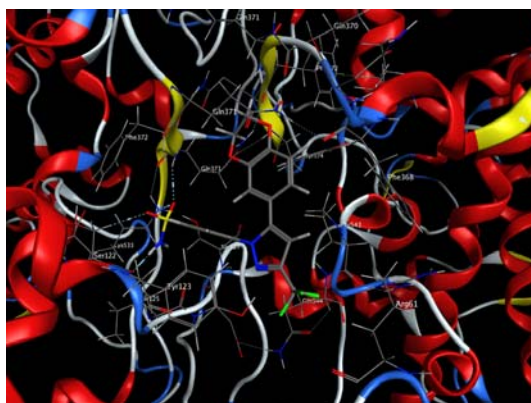


شکل ۵- برهمکنش آنزیم سیکلوآکسیژناز ۲ (4PH9) و فعال‌ترین لیگاند (A۳) بصورت دو بعدی

### نتیجه‌گیری

تهیه داروهای ضدالتهابی غیر استروئیدی با عوارض جانبی کمتر از اهمیت شایانی برخوردار می‌باشد. استفاده از روش‌های مبتنی بر ارتباط کمی ساختار-فعالیت بعلاوه شناسایی خواص مولکولی با بیشترین تاثیر مطلوب، کاهش نیاز به تست‌های آزمایشگاهی، تشخیص برهمکنش‌های کلیدی پروتئین-لیگاند و صرفه‌جویی در زمان و هزینه در تهیه داروهای روز بروز اهمیت بیشتری پیدا می‌کند. از این رو هدف اصلی این پژوهش مطالعه ارتباط کمی ساختار-

در این حالت انرژی اتصال بین بازدارنده و آنزیم دارای مقدار مینیمم (پایدارترین حالت) است.



شکل ۴- داکینگ آنزیم سیکلوآکسیژناز ۲ (4PH9) و لیگاند A۳

انرژی برهمکنش آمینواسیدهای مختلف (باقی‌مانده‌ها) با فعال‌ترین مشتق پیرازولین (ترکیب A۳ با توجه به شکل ۱) در جدول شماره ۵ آورده شده است. با توجه به این جدول آمینواسیدهای Gln۳۷۱، Tyr۱۲۳، Pro۵۴۳ و Phe۳۷۲ مهم-ترین آمینواسیدهای موثر در برهمکنش گیرنده-لیگاند می‌باشند. تاثیر و نوع برهمکنش‌های این آمینواسیدها در

جدول شماره ۵- انرژی برهمکنش آمینواسیدها با فعال‌ترین مشتق

پیرازولین ( $\text{kcal.mol}^{-1}$ )

آمینواسید	ترکیب A۳
Gln371	-۲۲/۱۱
Tyr123	-۲۱/۴۴
Pro543	-۲۱/۷۴
Phe372	-۱۲/۱۷
Gln373	-۱۱/۵۷
Ser127	-۹/۰۲
Arg61	-۸/۹۳
Ser122	-۸/۶۸
Ile125	-۸/۰۴
Lys533	-۷/۱۴
Phe368	-۶/۵۷
Gln544	-۶/۲۶
Phe372	-۴/۹۴
Tyr374	-۴/۸۱



برابر ۰/۹۲۲ و ۰/۸۵۶ در سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر هستند. نتایج پارامترهای آماری و روش‌های اعتبارسنجی بدست آمده نشان دهنده معتبر بودن مدل‌های توسعه داده شده هستند. همچنین از داکینگ مولکولی بمنظور بررسی برهمکنش گیرنده - لیگاند و میزان بازداری ترکیبات پیرازولین استفاده شد. نتایج حاصل نشان‌دهنده اهمیت آمینواسیدهای Gln<sup>۳۷۱</sup>، Tyr<sup>۱۲۳</sup>، Pro<sup>۵۴۳</sup> و Phe<sup>۳۷۲</sup> در فرآیند اتصال دارو به آنزیم است. قابل ذکر است می‌توان از روش‌های گفته شده و نتایج بدست آمده در طراحی دارو و محاسبه میزان بازداری بازدارنده‌های آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ با صرف هزینه و زمان کمتر استفاده نمود.

فعالیت و بررسی داکینگ مولکولی برای پیش‌بینی بازدارندگی بازدارنده‌های آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ بود. در مرحله اول با استفاده از روش‌های طبقه‌بندی و رگرسیون درختی و رگرسیون خطی چندگانه قدم به قدم توصیف‌کننده‌های مهم انتخاب گردیدند. توصیف‌کننده‌های مولکولی انتخاب شده RDF080m و T(N..O) خواص متفاوتی از بازدارنده‌های آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ را نشان می‌دهند. جهت توسعه مدل نهایی از روش‌های سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر و شبکه عصبی مصنوعی استفاده گردید. پارامترهای R<sup>۲</sup> و RMSE در سری پیش‌بینی در مدل‌های نهایی سیستم استنتاج فازی عصبی انطباق‌پذیر بترتیب برابر ۰/۹۱۵ و ۰/۳۶ هستند. بعلاوه نتایج روش‌های اعتبارسنجی ارزیابی مقاطع یکتایی و چندتایی بترتیب

## منابع

- ۱- جواهری مقدم، م.، آریاپور، ح.، دهنوخلجی، ع. ۱۳۹۴. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی. طراحی ترکیبات کرومینی جدید با فعالیت ضد سرطانی و بررسی چگونگی میانکنش آنها با توبولین به روش داکینگ مولکولی. ۲۸(۲). ۱۷۸-۱۹۰.
- ۲- داوری، ک.، نوروزی، ج.، حسینی، ف.، اخوان سپهی، ع.، میرزایی، س. ۱۳۹۸. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی. کشف مهارکننده علیه بتا لاکتاماز CTX-M-9 باکتری E.coli با استفاده از مطالعات داکینگ مولکولی، MM/PBSA و دینامیک مولکولی. ۳۲(۱). ۳۳-۴۶.
- 3- Akanishi, T., Mukai, K., Hosokawa, Y., Takegawa, D. and Matsuo, T. (2015). Catechins inhibit vascular endothelial growth factor production and cyclooxygenase-2 expression in human dental pulp cells. *Int Endontic J* 48: 277-282.
- 4- Asadollahi-Baboli, M., and Dehnavi, S. (2018). Docking and QSAR analysis of tetracyclic oxindole derivatives as  $\alpha$ -glucosidase inhibitors. *Comput Biol Chem* 76: 283-292.
- 5- Asadollahi-Baboli, M. and Seraj, K. (2019). In silico evaluation of 5-hydroxypyrazoles as LSD1 inhibitors based on molecular docking derived descriptors. *J Mol Struct* 1179: 514-524.
- 6- Asadollahi-Baboli, M. (2011). Effect of Weight Updates Functions in QSAR/QSPR Modeling using Artificial Neural Network. *J Artif Intell* 201: 1-10.
- 7- Gasteiger, J. and Engel, T. (2006) "Chemoinformatics: a textbook", Wiley & Sons, London.
- 8- Khoshneviszadeh, M. and Sakhteman, A. (2016). Exploring quantitative structure-activity relationship (QSAR) models for some biologically active catechol structures using PC-LS-SVM and PC-ANFIS. *Appl Biol Chem*, 59: 433-441.
- 9- Kubinyi, H. (2008) "QSAR in drug design, Handbook of Chemoinformatics: From Data to Knowledge", Wiley & Sons, London.
- 10- Roos, J., Groesch, S., Werz, O., Schroeder, P., Ziegler, S, and Fettel, J. (2016). Regulation of tumorigenic Wnt signaling by cyclooxygenase-2, 5-lipoxygenase and their pharmacological inhibitors: A basis for novel drugs targeting cancer cells?. *Pharmacol Ther* 157: 43-64.
- 11- Roy, K. 2017. "Advances in QSAR modeling: Applications in Pharmaceutical, Chemical, Food, Agricultural and Environmental Sciences", Springer, New York.
- 12- Sahebamee, H., Yaghmaei, P., Abdolmaleki, P. and Foroumadi, A. R. (2013). Quantitative structure-activity relationships study of carbonic



- anhydrase inhibitors using logistic regression model. *Iran J Chem Chem Eng* 32: 19-29.
- 13- Vosooghi, M., Amini, M. (2014). The discovery and development of cyclooxygenase-2 inhibitors as potential anticancer therapies. *Expert Opin Drug Discov* 9: 255-267.
- 14- Wang, T., Yuan, X. S., Wu, M. B., Lin, J. P., & Yang, L. R. (2017). The advancement of multidimensional QSAR for novel drug discovery-where are we headed?. *Expert Opin Drug Discov* 12:769-784.
- 15- Yu, M., Yang, H., Wu, K., Ji, Y., Ju, L. and Lu, X. (2014). Novel pyrazoline derivatives as bi-inhibitor of COX-2 and B-Raf in treating cervical carcinoma. *Bioorg Med chem* 22: 4109-4118.
- 16- Zhou, T. J., Zhang, S. L., He, C. Y., Zhuang, Q. Y., Han, P. Y. (2017). Downregulation of mitochondrial cyclooxygenase-2 inhibits the stemness of nasopharyngeal carcinoma by decreasing the activity of dynamin-related protein 1. *Theranostics* 7: 1389-1397.

## Quantitative structure-activity relationship study and molecular docking of pyrazoline derivatives inhibitors on cyclooxygenase - 2 using Chemoinformatic methods

Mohammadnazari M. and Asadollahi-Baboli M.\*

Dept. of Science, Babol Noshirvani University of Technology, Babol, Mazandaran, I.R. of Iran

### Abstract

In the present study, quantitative structure-activity relationship study of inhibition characteristic of pyrazoline derivatives as inflammatory cyclooxygenase-2 inhibitors were performed using different chemoinformatics methods. Selective inhibition of cyclooxygenase-2 is an important strategy in designing of potent anti-inflammatory compounds with significantly reduced side effects. Classification and regression tree and stepwise multiple linear regression were used to select the most important molecular descriptors. The final model was developed using adaptive neuro-fuzzy inference system and artificial neural network with selected molecular descriptors. Results of different validation techniques of leave one out, leave multiple out and prediction set show the validation of acquired model. In the next step, molecular docking studies was performed to obtain receptor-ligand binding pattern. Results of molecular docking revealed that the amino acids of Arg44, Glu46, Glu465 and Cys41 have important role in receptor-ligand interaction. In the present study, interpretable quantitative structure-activity relationship and molecular docking techniques were used to predict inhibitory concentration of pyrazoline derivatives. The present results can be used to predict inhibitory concentration of cyclooxygenase-2 inhibitors in drug design with consuming lower cost and time.

**Key words:** Quantitative structure activity relationship, Molecular docking, Cyclooxygenase-2 inhibitors, Pyrazoline, Classification and regression tree