

بررسی بیوانفورماتیکی برخی از ترکیبات گیاهی ضد رگ‌زایی در مقایسه با داروی سورافنیب در درمان سرطان

In silico studies of some phytochemical's anti-angiogenic effects compared to surafenib drug in cancer treatment

فریبا دهقانیان^۱، زهره حجتی^{*}، مریم کی^۱

۱- به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه اصفهان، ایران

Dehghanian F¹, Hojati Z^{*2}, Kay M³

1. PhD Student, Associate Professor and MSc Student, University of Isfahan, Isfahan

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: z.hojati@sci.ui.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۴/۲۹)

چکیده

مسیرهای انتقال پیام فاکتور رشد اندوتیال عروقی از طریق رسپتورهای VEGFR به عنوان یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های رگ‌زایی شناخته شده‌اند. نقص در تنظیم رگ‌زایی به ایجاد رگ‌های خونی جدید که ضروری‌ترین فرآیند در رشد و متاستاز تومور می‌باشد، کمک می‌کند. مهار رسپتور تیروزین کینازی VEGFR2 استراتژی عمومی در درمان سرطان می‌باشد. سورافنیب یکی از مهم‌ترین مهارکننده‌های تیروزین کینازی ضد رگ‌زایی بوده که گرایش اتصال بالایی برای کینازهای رگ‌زایی به خصوص VEGFR2 داشته و اخیراً برای درمان بیماران مبتلا به سرطان‌های پیشرفته استفاده می‌شود. به طور کلی دو مشکل اساسی شامل سمیت بالا و مقاومت دارویی در ارتباط با مهارکننده‌های رگ‌زایی به عنوان داروهای کلینیکی وجود دارد. برای مقابله با این اثرات جانبی، استفاده از ترکیبات گیاهی طبیعی به عنوان مهارکننده‌های رگ‌زایی در مقایسه با داروی سورافنیب از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این مطالعه، با استفاده از چندین ابزار و پایگاه داده ساختارهای سه بعدی ترکیبات گیاهی، سورافنیب و VEGFR2 به دست آمد. سپس به وسیله نرم‌افزار Molegro Virtual Docker نسخه ۶ داکینگ مولکولی میان ترکیبات گیاهی و سورافنیب در برابر رسپتور VEGFR2 انجام شد. در انتها اسید‌آmine‌های کلیدی Lutein در برقراری اتصال‌ها و میانکنش‌های فوق بررسی شد. نتایج نشان داد که ترکیبات گیاهی Curcumin و Homoharringtonine قوی‌ترین اتصال و کم‌ترین سطح انرژی را در میانکنش با VEGFR2 داشته و می‌توانند دارای اثرات دارویی در درمان سرطان باشند. بر اساس داده‌های موجود ترکیبات Curcumin و Homoharringtonine Lutein کاندیدهای مناسب جهت ارزیابی‌های آزمایشگاهی پیشنهاد شدند.

واژه‌های کلیدی

ترکیبات گیاهی
VEGFR2
رسپتور
رگ‌زایی
سرطان
سورافنیب

مقدمه

انواعی از سلطان‌ها از جمله سلطان‌های شبکیه، معده و کبد تایید شده است (Faivre et al. 2007; Wilhelm et al. 2007). دمین کاتالیتیک VEGFR2 یک حفره باریک و طولانی میان دو بخش C-lope و N-lope بوده به طوری که جایگاه اتصال ATP درون این حفره عمیق واقع شده است. کیناز VEGFR2 واحد یک ساختار لوپ فعال‌ساز محافظت شده بوده که به صورت موتیف‌های DFG و APE موجود در ابتدا و انتهای لوپ نشان داده می‌شوند. تفاوت عمده میان مهارکننده‌های نوع I و II از تغییرات DFG کنفورماسیونی ناشی شده که در اثر توالی حفاظت شده DFG (Asp-Phe-Gly) ایجاد می‌شود. در اثر موقعیت و نحوه قرارگیری اسیدآمینه Phe دو کنفورماسیون DFG-in و DFG-out ایجاد می‌شوند. مطالعات نشان داده که DFG-in در کنفورماسیون فعال و DFG-out در کنفورماسیون غیرفعال کینازها عملکرد دارند. بنابراین مسیر اصلی مهار عملکرد VEGFR2، جایگاه اتصال Pargellis et al. 2002; Zhang et al. 2009) موجود در حفره می‌باشد (.

ترکیبات شیمیایی و داروهایی که در حال حاضر به منظور مهار عملکرد VEGFR2 تولید شده، سبب ایجاد عوارض مختلفی در افراد شده است (Gotink and Verheul 2010). ترکیبات مشتق شده از گیاهان تاثیر برابر و حتی بیشتری در درمان بسیاری از بیماری‌ها داشته و به دلیل ماهیت طبیعی، عوارض جانبی کمتری را به همراه دارند. تا به امروز تحقیقات انجام شده در طب سنتی، ترکیبات گیاهی دخیل در رگزایی معرفی کرده است. انتخاب هر یک از این ترکیبات به عنوان کاندید اصلی در روند تولید یک دارو نیازمند تحقیقات گسترش به منظور بررسی چگونگی و میزان تاثیرگذاری هر یک در روند رگزایی می‌باشد (Govind 2011; Kaur et al. 2011). در واقع، ترکیبات گیاهی مختلفی وجود داشته که واجد اثرات ضد رگزایی و ضدسرطانی بوده ولی مکانیسم عملکرد آن‌ها در مهار رگزایی ناشناخته می‌باشد. بنابراین با بررسی نحوه تاثیر آن‌ها در مهار رگزایی و گسترش سلول‌های سرطانی می‌توان به راهکاری نوین جهت تولید داروی موثر با عوارض جانبی محدود دست یافت. از سوی دیگر بسیاری از ترکیبات شیمیایی گیاهی در مهار رگزایی نقش داشته اما تاکنون به عنوان عوامل ضد رگزایی معرفی نشده‌اند. در مجموع،

رگزایی یک فرآیند بسیار حیاتی در رشد و توسعه تومورها بوده به طوری که رگ‌های خونی جدید برای تامین اکسیژن و مواد غذی مورد نیاز به منظور رشد و تکثیر سلول‌های توموری و همچنین متاستاز به سایر نواحی بدن ضروری می‌باشند (Bergers and Benjamin 2003; Verheul et al. 2004). کینازهای مختلف مسیرهای انتقال پیام، از مهمترین گروه‌های پروتئینی بوده که در القای مسیر رگزایی نقش داشته و به عنوان اهداف دارویی شناخته می‌شوند. کینازها نقش برجسته‌ای در القای سیگنال‌های رشد، رگزایی و متابولیسم داشته، لذا کنترل فعالیت و عملکرد این گروه از پروتئین‌ها یک هدف مهم در درمان سرطان محسوب می‌شود (Weinstein and Joe 2006). یکی از مهمترین عوامل در گیر در مسیر رگزایی رسپتورهای عامل رشد اندوتیال عروقی (VEGF-R) بوده که در خانواده تیروزین کیناز جای می‌گیرد. به منظور مهار فعالیت و عملکرد این کینازها، از مولکول‌های کوچک مهارکننده کینازها استفاده می‌شود (Wissner et al. 2007). تاکنون مهارکننده‌های مختلفی به منظور مهار عملکرد کینازها تولید شده است. مهارکننده‌های نوع I شامل مهارکننده‌هایی است که عملکرد و فعالیت ATP را تقلید کرده و فرم فعال کیناز را شناسایی می‌کنند (Liu and Gray 2007). مهارکننده‌های نوع II فرم غیرفعال کیناز را مورد شناسایی قرار می‌دهند (Zhang et al. 2009). مهارکننده‌های آلوستریک یا گروه سوم از مهارکننده‌ها به جایگاهی خارج از محل اتصال ATP به نام جایگاه آلوستریک متصل شده و سبب مهار عملکرد کیناز می‌شوند (Ohren et al. 2004). مهارکننده‌های کووالان یا گروه چهارم از مهارکننده‌ها، قادر به برقراری پیوند کووالان غیر قابل برگشت با جایگاه فعال کیناز (به ویژه اسیدآمینه سیستئن) بوده و از اتصال ATP ممانعت به عمل می‌آورند (Cohen and Zhang 2005).

قابل توجه‌ترین مهارکننده‌های رگزایی دارای کاربردهای بالینی مربوط به مهار مسیر انتقال پیام عامل رشد اندوتیال عروقی می‌باشند. دو مهارکننده تیروزین کینازی Sorafenib و Sunitinib که امروزه به طور گسترده برای درمان سرطان‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته، رسپتورهای VEGFR و به طور ویژه VEGFR2 را مورد هدف قرار داده و کارآیی کلینیکی آن‌ها برای

Luteolin که واجد اثرات ضد سرطانی بوده بررسی شد (جدول ۱). به منظور استفاده از این نرمافزار لازم است که ساختار سه بعدی ترکیبات گیاهی مورد نظر و رسپتور VEGFR2 تهیه PDB، PumChem و NCBI (Structure) استفاده شد. در ابتدا ساختار سه بعدی پروتئین VEGFR2 (PDB ID: 3V2A) با استفاده از پایگاه داده PDB تهیه شد. در ادامه ساختار سه بعدی داروی سورافنیب و ترکیبات گیاهی مختلف نیز از طریق پایگاه داده PubChem به دست آمد. سرانجام میانکنش داروی سورافنیب و ترکیبات گیاهی با رسپتور VEGFR2 از طریق انجام داک‌های متعدد بررسی شد. در راستای بررسی دقیق اطلاعات حاصل از نرمافزار MVD دسترسی به موقعیت دقیق اسیدآمینه‌های درگیر در میانکنش لیگاند و رسپتور لازم و ضروری بوده و مطالعات گستره‌ای به منظور دسترسی به این داده‌ها با استفاده از بخش ligand map نرمافزار MVD انجام گرفت. اطلاعات به دست آمده نشان داد که ATP از طریق اسیدآمینه‌های Val916، Glu917 و Cys919 با دمین متصل شونده به ATP رسپتور VEGFR2 میانکنش می‌دهد، که این نتایج توسط مطالعه Huang et al. (2012) تایید شد. از طرف دیگر، داروی سورافنیب (مهار کننده نوع II) که به عنوان کترل در این مطالعه استفاده می‌شود با اسیدآمینه‌های Cys919، Glu885، Phe1047 و Asp1046 از Rspceptor VEGFR2 میانکنش می‌دهد. در این میان مهار کننده‌های نوع I علاوه بر اسیدآمینه‌های فوق با نیز میانکنش برقرار می‌کند. با توجه به اطلاعات موجود اسیدآمینه‌های درگیر در میانکنش با انواع مختلف مهار کننده‌ها شامل Phe 840، Leu 846، Ala 866، Leu 889، Lys 868، Cys 919، Cys 918، Asp 1046، Cys 1045، Leu 1035، Leu 1019، Phe 1047 می‌باشد (Schmidt et al. 2008). در ادامه داده‌های مطالعه انتقال ترکیبات گیاهی به جایگاه متصل شونده به ATP رسپتور VEGFR2، پیشنهاد مسیرهای مولکولی تاثیر ترکیبات گیاهی مورد نظر و مقایسه انرژی انتقال هر یک از ترکیبات گیاهی با انرژی انتقال داروی سورافنیب که به عنوان نمونه کترل انتخاب شد، تجزیه و تحلیل شد.

شناسایی ترکیبات گیاهی واجد اثرات ضد رگزایی و همچنین درک نحوه تاثیر ترکیبات گیاهی که از قبل خاصیت ضد رگزایی آنها مشخص شده، مسیر پیشنهاد داروهایی کارآمد در درمان انواع بدخیمی‌ها را هموار می‌کند. بدین منظور، در مطالعه حاضر داروی سورافنیب به عنوان یک مهار کننده نوع II که در درمان برخی از سلطان‌ها مورد استفاده قرار گرفته، به عنوان کترل انتخاب شد. در ادامه مجموعه‌ای از ترکیبات گیاهی شامل ترکیبات گیاهی با اثرات ضد رگزایی شناسایی شده و ترکیبات گیاهی که تاکنون اثر ضد رگزایی از آنها گزارش نشده، تهیه شد. پس از آن با انجام مطالعات بیوانفورماتیکی چگونگی تاثیر هر یک از آنها و میزان تاثیرگذاری بر رسپتور VEGFR2 در مقایسه با داروی سورافنیب بررسی شد. هدف کلی تحقیق حاضر مطالعه بررسی تاثیر احتمالی هرکدام از ترکیبات واجد خاصیت رگزایی شناسایی شده بر روی دمین متصل شونده به ATP رسپتور VEGFR2 و پیشنهاد مکانیسم خاصیت ضد رگزایی ترکیب موردنظر می‌باشد. به علاوه میزان تعایل سایر ترکیبات قادر اثر ضد رگزایی گزارش شده تاکنون نیز برای اتصال به دمین متصل شونده به ATP رسپتور VEGFR2 بررسی می‌شود. در انتها ضمن مقایسه سطح انرژی به دست آمده از نرمافزار Molegro برای داروی سورافنیب و سایر ترکیبات گیاهی، برخی از این ترکیبات به عنوان کاندیدهای دارویی ضد رگزایی نوین برای بررسی‌های آزمایشگاهی پیشنهاد می‌شوند.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی میانکنش‌های میان سورافنیب و ترکیبات گیاهی با دمین متصل شونده به ATP رسپتور VEGFR2 از نرمافزار MVD (Molegro Virtual Docker) مدل ۶ استفاده شد. این نرمافزار یک ابزار ارزشمند برای کشف و شناسایی داروهای جدید بر مبنای روش‌های بهینه‌سازی دقیق می‌باشد. داده‌های به دست آمده از نرمافزار MVD در مقایسه با سایر نرمافزارها از Thomsen and Christensen (2006) در ضمن این مطالعه ۱۰ ترکیب گیاهی شامل Gossypol، Licoagrochalcone، Limonin، Homoharingtonin و Lutein، Curcumin، Bergenin، Psoralidin، Ginkgetin

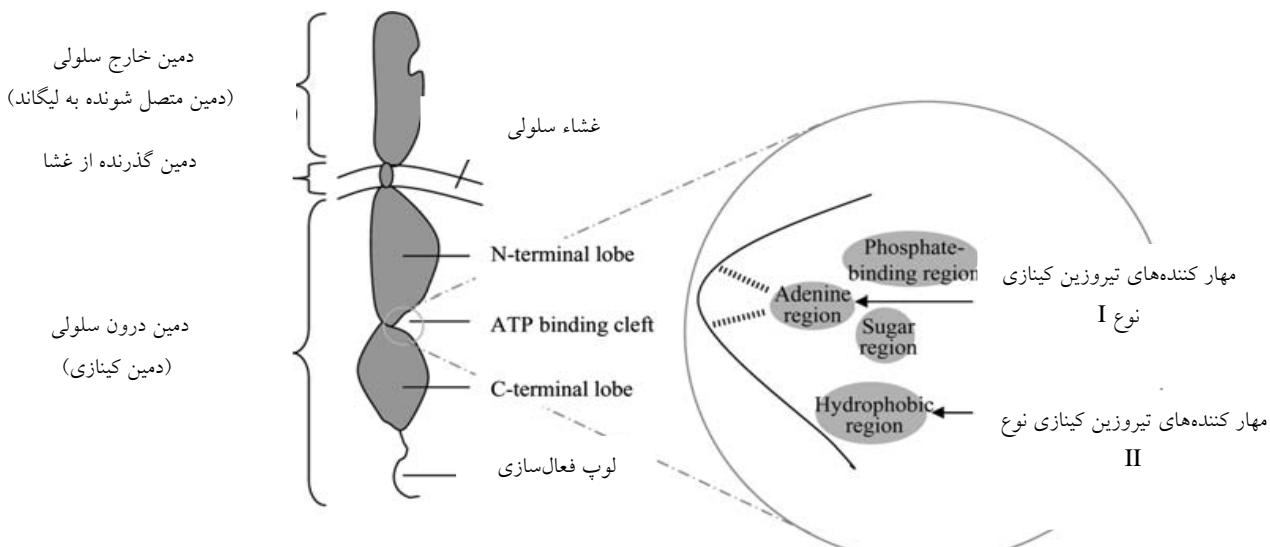
جدول ۱- نتایج داکینگ به دست آمده از نرم افزار MVD مربوط به ATP، داروی سورافنیب و ترکیبات گیاهی در این مطالعه

Pubchem ID	نام لیگاند	MolDock Score (Kcal/mol)	اسیدآمینه های کلیدی در برقراری اینترکشن میان لیگاند و رسپتور VEGFR2	سطح انرژی پیوند هیدروژنی مربوط به هر اسیدآمینه
۵۹۵۷	ATP	-۱۸۵	Val 916 /Glu 917/ Cys 919	[-۵/۸۸] [-۴/۲] [-۷/۱۹]
۲۱۶۲۳۹	Sorafenib	-۱۸۳/۳	Asp 1046/ Cys 919/ Glu 885	[-۲۴/۵] [-۱۴/۸] [-۱۱/۵]
۵۳۸۳۹۶	Lutein	-۱۷۲/۵	His 1026/ Cys 1045/ Asp 1046	[-۱۷] [-۱۶/۸] [-۱۴/۸]
۲۸۰۰۳۳	Homoharringtonine	-۱۷۰	Asp 1046/Ser 884	[-۹/۲۱] [-۱۸/۹۵]
۹۶۹۵۱۶	Curcumin	-۱۶۵/۵	Asp 1046/ Cys 1045/ Cys 919	[-۱۹/۸] [-۱۴/۴] [-۱۲/۸]
۱۱۰۹۹۳۷۵	Licoagrochalcone	-۱۳۵/۵	Asp 1046/ Cys 919/ Leu 840	[-۱۸/۶۲] [-۱۴/۷۹] [-۶/۴۰]
۶۶۰۶۵	Bergenin	-۱۳۵/۳	Glu 885/ Cys 1045	[-۲۳] [-۱۶/۴]
۵۲۸۰۶۳۷	Luteolin	-۱۳۱/۵	Leu 1035/ Cys 919 // Asp 1046	[-۱۱/۴] [-۱۱] [-۸/۷]
۵۲۸۱۸۰۶	Psoralidin	-۱۲۷/۵	Phe 1047/ Glu 885/ Cys 919	[-۲۲/۴] [-۹] [-۶]
۱۷۹۶۵۱	Limonin	-۱۱۵	Asp 1046/ Ser 884/ Arg 1027	[-۵/۶۵] [-۶/۸۱] [-۱۴/۹۰]
۵۲۷۱۸۰۵	Ginkgetin	-۱۰۳	Cys 1045/ Cys 919/ His 1026	[-۱۸/۴] [-۷] [-۵]
۳۵۰۳	Gossypol	-۹۹/۵	Glu 885/ Ile 1025	[-۵/۲۳] [-۹/۲۱]

نتایج و بحث

تحقیقات مربوط به مهارکننده‌های رگزایی به عنوان یک استراتژی درمانی به حدود سال‌های ۱۹۷۱ برمنی گردد، زمانی که Folkman (1971) مشخص کرد که رشد و گسترش تومورها به رگزایی وابسته است. در دو دهه اخیر مهارکننده‌های رگزایی برای مصارف کلینیکی مورد استفاده قرار گرفته و مهمترین آن‌ها مربوط به مهار مسیر انتقال پیام فاکتور رشد اندوتیال عروقی VEGF (VEGF) می‌باشد. در بین رسپتورهای VEGF، رسپتور VEGFR2 از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده و لذا از کلیدی‌ترین اهداف Folkman درمانی به منظور مهار رگزایی محسوب می‌شود (2007). مهارکننده تیروزین کینازی سورافنیب که امروزه با نام تجاری Nexavar روانه بازار شده به طور ویژه VEGFR2 را هدف قرار داده و در درمان انواع مختلفی از سرطان‌ها کاربرد دارد. علی‌رغم استفاده گسترده از مهارکننده‌های شیمیایی مانند سورافنیب، مشکلات این داروها باید مدنظر قرار گرفته شود. دو مشکل اساسی در ارتباط با توسعه مهارکننده‌های رگزایی در سطح کلینیکی وجود دارد. مقاومت نسبت به مهارکننده‌های رگزایی یکی از این مشکلات می‌باشد.

پس از انجام داکهای متوالی به منظور بررسی میزان گرایش اتصال ترکیبات گیاهی با دمین متصل شونده به ATP رسپتور VEGFR2 نتایج به دست آمده در جدول ۱ نشان داده شد. به منظور انجام مقایسه دو مولکول ATP و سورافنیب به عنوان موارد کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. سطح انرژی ATP معادل -۱۸۵ و اسیدآمینه‌های درگیر شامل Val916، Glu917 و Cys919 بودند. داده‌های موجود نشان داد که ترکیبات Lutein و Curcumin و Homoharringtonin بیشترین گرایش اتصال به ناحیه مذکور را داشتند. با توجه به اهمیت نوع اسیدآمینه‌های درگیر در میانکش، علاوه بر بررسی سطوح انرژی اتصال و RMSD، نوع اسیدآمینه‌های درگیر در اتصال در هر حالت (Pose) شناسایی شده و سطح انرژی پیوند هر اسیدآمینه برای بررسی‌های بیشتر به صورت مجزا مطالعه شد (جدول ۱). جهت دستیابی به موقعیت اسیدآمینه‌های درگیر از بخش Ligand map نرم‌افزار MVD استفاده شد.

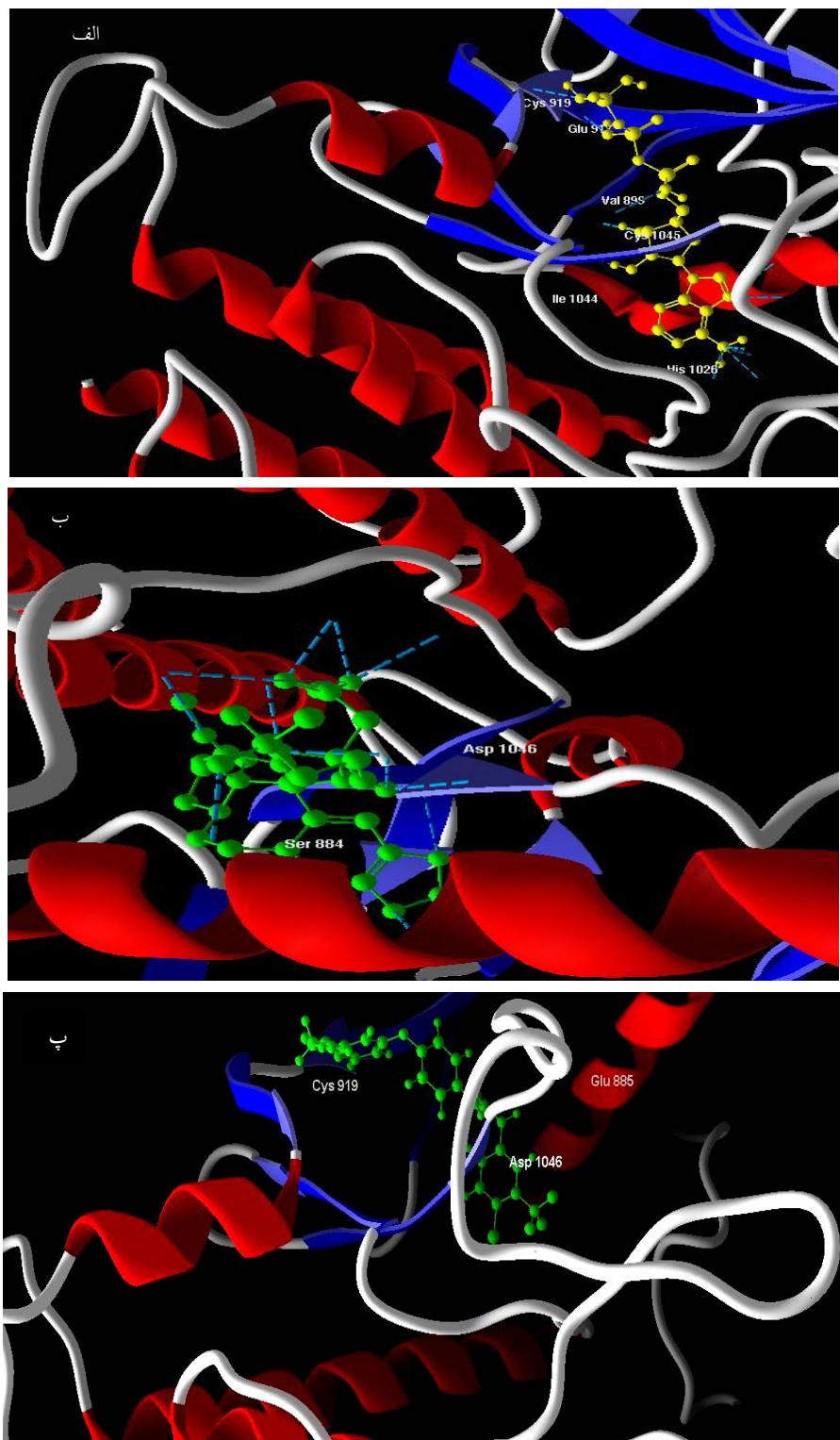


شکل ۱- ساختار دمین متصل شونده به ATP VEGFR2. دمین کاتالیتیک میان دو بخش N-lope و C-lope بوده به طوری که جایگاه اتصال ATP درون این حفره عمیق واقع شده است. جایگاه‌های اختصاصی میانکنش با باز آدنین، گروه فسفات و قند در محل اتصال ATP وجود داشته که هر یک از این جایگاه‌ها می‌تواند هدف گروهی از مهارکننده‌های VEGFR2 باشد (۱۰).

بودند. گرایش بالای اتصال این ترکیب حائز اهمیت بوده و می‌تواند پیشنهاد کننده نقش آن در مهار رگزایی به واسطه مهار Homoharlingtonin عملکرد VEGFR2 باشد. ترکیب گیاهی Asp1046 و دارای انرژی پیوند ۱۷۰- بوده و اسیدآمینه‌های Asp1046 و Ser884 در میانکنش آن با رسپتور VEGFR2 نقش دارند. اسیدآمینه Asp1046 از جمله اسیدآمینه‌هایی است که انواع مهار کننده‌ها با آن میانکنش برقرار می‌کند. این ترکیب گیاهی یک آلالکلولئید بوده و مطابق گزارش‌های گذشته سبب مهار ترجمه پروتئین‌ها می‌شود. این ترکیب ترجمه را به وسیله مهار مرحله نخستین طویل‌سازی سنتز پروتئین بلوکه می‌کند. در حقیقت، نخستین آلالکلولئید میانکنش با جایگاه Homoharlingtonin موجود در ریبوزوم میانکنش داده و موقعیت قرارگیری زنجیره‌های جانبی اسیدآمینه‌هایی که توسط آمینوآسیل tRNA آورده می‌شود را اشغال می‌کند. مطالعات نشان داده که با مهار ترجمه پروتئین VEGF سبب مهار رگزایی (Wetzler and Segal 2011; Balestrieri et al. 2011) می‌شود (Wetzler and Segal 2011; Balestrieri et al. 2011; Asp 1046, Cys 1045, His 1026 و Asp 1046 اسیدآمینه‌ها در محدوده حفره اتصالی ATP بوده و اسیدآمینه‌های درگیر در میانکنش از جمله سرطان پیشنهاد شود.

در برخی از بیماران درمان با یک مهارکننده رگزایی منجر به ایجاد یک پاسخ اولیه شده و در ادامه تومور به رشد خود ادامه می‌دهد (مقاومت اکتسابی). در گروه دیگر به طور کلی یک مقاومت ذاتی نسبت به داروهای مهارکننده رگزایی وجود دارد. دومین مشکل اساسی در ارتباط با استفاده از داروهای مهارکننده رگزایی، سمیت کلینیکی قابل توجه در طی درمان با این داروها می‌باشد. این سمیت شامل خونریزی‌های شدید، سوراخ شدن معده، روده و خستگی می‌باشد (Bergers and Hanahan 2008؛ Engelman and JAIN 2008). با توجه به معایب ذکر شده در تحقیق حاضر، بر آن شدید تا با استفاده از خواص طبیعی گیاهان دارویی مسیر نوینی در مهار رگزایی و درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان پیشنهاد شود.

تجزیه‌های انجام گرفته بر روی میانکنش ترکیبات گیاهی و دمین متصل شونده به ATP Rspceptor VEGFR2 نتایج قابل توجهی را به همراه داشته است. ترکیب گیاهی Lutein با سطح انرژی ۱۷۲/۵- بیشترین گرایش اتصال را داشته است. اسیدآمینه‌های درگیر در میانکنش شامل Asp 1046، Cys 1045 و His 1026 بودند. این اسیدآمینه‌ها در محدوده حفره اتصالی ATP بوده و اسیدآمینه‌های درگیر در میانکنش انواع مهارکننده‌ها با



شکل ۲- تصویر شماتیک اتصالات اختصاصی ترکیبات با جایگاه اتصال ATP در VEGFR2. قسمت (الف) میانکش ATP با جایگاه اتصال به واسطه اسیدآمینه‌های Val916 و Glu917، Cys919 و Asp1046 به ترتیب در میانکنش ترکیب Homoharlingtonin به ترتیب Ser884 و Asp1046 می‌دهد. قسمت (ب) مهمترین اسیدآمینه‌های درگیر در میانکنش داروی سورافینیپ و VEGFR2 به ترتیب Cys 919، Asp 1046 و Glu 885 می‌باشد. قسمت (پ) مهمترین اسیدآمینه‌های درگیر در میانکنش داروی سورافینیپ و VEGFR2 به ترتیب Cys 919، Asp 1046 و Glu 885 می‌باشد.

طراحی داروهای جدید تاثیر به سزایی در راستای پیشنهاد داروهایی با عMKرد بیولوژیک مناسب‌تر داشته است. مطالعه بیوانفورماتیکی حاضر تلاش کرده تا ضمن معرفی مسیرهای مولکولی جدید در ارتباط با اثرات ضد رگ‌زایی ترکیبات گیاهی مختلف، گامی در جهت اختصاصی‌تر کردن مهارکننده‌های رگ‌زایی و پیشنهاد داروهای جدید بردارد.

منابع

- Balestrieri E, Pizzimenti F, Ferlazzo A, GiofrÃ SV, Iannazzo D, Piperno A, Romeo R, Chiacchio MA, Mastino A, Macchi B (2011) Antiviral activity of seed extract from *Citrus bergamia* towards human retroviruses. *Bioorganism Medical Chemistry* 19: 2084-2089.
- Bergers G, Benjamin LE (2003) Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nature Review Cancer* 3: 401-410.
- Bergers G, Hanahan D (2008) Modes of resistance to antiangiogenic therapy. *Nature Review Cancer* 8:592-603.
- Cohen MS, Zhang C, Shokat KM, Taunton J (2005) Structural bioinformatics-based design of selective, irreversible kinase inhibitors. *Science* 308: 1318-1321.
- Engelman JA, Jalink PA (2008). Mechanisms of acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research* 14: 2895-2899.
- Faivre S, Demetri G, Sargent W, Raymond E (2007) Molecular basis for sunitinib efficacy and future clinical development. *Nature Review Drug Discovery* 6: 734-745.
- Folkman J (1971) Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *New England journal of Medicine* 285: 1182-1186.
- Folkman J (2007) Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery? *Nature Review Drug Discovery* 6: 273-286.
- Gotink KJ, Verheul HM (2010) Anti-angiogenic tyrosine kinase inhibitors: what is their mechanism of action? *Angiogenesis* 13: 1-14.
- Govind P (2011) Some important anticancer herbs: A review. *International Research Journal Pharmacology* 2: 45-52.
- Huang L, Huang Z, Bai Z, Xie R, Sun L, Lin K (2012) Development and strategies of VEGFR-2/KDR inhibitors. *Future Medical Chemistry* 4: 1839-52.
- Kantarjian HM, Talpaz M, Santini V, Murgo A, Cheson B, OBrien SM (2001) Homoharringtonine. *Cancer* 92: 1591-1605
- Kaur R, Singh J, Singh G, kaur H (2011) Anti-cancer plants: A review. *Journal of Nature Products and Plant Resource* 1:131-136.
- Liu Y, Gray NS (2006) Rational design of inhibitors that bind to inactive kinase conformations. *Nature Chemical Biology* 2: 358-364.

با توجه به نقش پر رنگ اسیدآمینه Asp1046 و اختصاصیت اتصال این ترکیب با این اسیدآمینه و همچنین انرژی پیوند بالا، می‌توان مهار مسیر رگ‌زایی به واسطه مهار تیروزین کیناز VEGFR2 را به عنوان مسیر عملکردی این ترکیب گیاهی پیشنهاد کرد. ترکیب گیاهی Curcumin که به واسطه عملکرد خود در مسیر NFkB شناخته شده، انرژی اتصالی معادل ۱۶۵/۳ - داشته و به طور اختصاصی با اسیدآمینه Cys919 میانکنش می‌دهد. میانکنش Curcumin با این اسیدآمینه پیشنهاد کننده نقشی مشابه با مهار کننده‌های رگ‌زایی تیروزین کیناز Cys919 VEGFR2 نقش کلیدی در اتصال مهار کننده‌ها به VEGFR2 (دارد) می‌باشد. بنابراین می‌توان این مسیر را به عنوان یک مسیر مولکولی احتمالی مربوط به ویژگی ضد رگ‌زایی Curcumin پیشنهاد کرد. سایر ترکیبات فوق در میانکنش با دمین متصل شونده به ATP رسپتور VEGFR2 نشان داده و اسیدآمینه‌های مشابه با انواع مهارکننده در این برهمنکش‌ها نقش دارند (جدول ۱). در این بین ترکیب Limonin نیز با سطح انرژی ۱۱۵ - و با اختصاصیت بالای اتصال به عنوان مهار کننده رگ‌زایی پیشنهاد می‌شود. Limonin از ترکیبات مشتق شده از گیاهان خانواده مرکبات بوده و مطالعات گذشته تنها به نقش ضد ویروسی آن اشاره کرده‌اند (جدول ۱). تاکنون گزارشی در ارتباط با خاصیت ضد رگ‌زایی Limonin از طریق مهار رسپتور VEGFR2 اعلام نشده است.

در مجموع، با توجه به سطح انرژی اتصال مناسب سه ترکیب Curcumin و Homoharringtonin، Lutein و همچنین اخصاصیت اتصال آن‌ها در میانکنش با حفره اتصال ATP، این سه ترکیب به عنوان کاندیدهای مناسبی برای مطالعات آزمایشگاهی جهت تایید نتایج به دست آمده در این تحقیق پیشنهاد می‌شوند. در حقیقت، بررسی ایترکشن‌های پروتئین-لیگاند نقش مهمی در طراحی داروهای مختلف کنند. تاکنون مطالعات بیوانفورماتیکی زیادی در حوزه بررسی میانکنش‌های لیگاند-پروتئین به منظور پیشنهاد لیگاندهای جدید با خاصیت ضد رگ‌زایی قوی انجام شده است. بنابراین این گونه مطالعات بیوانفورماتیکی به عنوان اولین گام در جهت تولید و

- Ohren JF, Chen H, Pavlovsky A, Whitehead C, Zhang E, Kuffa P, Yan C, McConnell P, Spessard C, Banotai C, Mueller WT, Delaney A, Omer C, Sebolt-Leopold J, Dudley DT, Leung IK, Flamme C, Warmus J, Kaufman M, Barrett S, Tecle H, Hasemann CA (2004) Structures of human MAP kinase kinase 1 (MEK1) and MEK2 describe novel noncompetitive kinase inhibition. *Nature Structural and Molecular Biology* 11: 1192-1197.
- Pargellis C, Tong L, Churchill L, Cirillo PF, Gilmore T, Graham AG, Grob PM, Hickey ER, Moss N, Pav S, Regan J (2002) Inhibition of p38 MAP kinase by utilizing a novel allosteric binding site. *Nature Structural Biology* 9: 268-272.
- Schmidt U, Ahmed J, Michalsky E, Hoepfner M, Preissner R (2008) Comparative VEGF receptor tyrosine kinase modeling for the development of highly specific inhibitors of tumor angiogenesis. In *Genome Informatics. Genome Information* 243-251.
- Thomsen R, Christensen MH (2006) MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *Journal of Medical Chemistry* 49: 3315-3321.
- Verheul H, Voest E, Schlingemann R (2004) Are tumours angiogenesis-dependent. *Journal of Pathology* 202: 5-13.
- Weinstein IB, Joe AK (2006) Mechanisms of disease: oncogene addiction a rationale for molecular targeting in cancer therapy. *Nature Clinical Practice Oncology* 3: 448-457.
- Wetzler M, Segal D (2011) Omacetaxine as an anticancer therapeutic: what is old is new again. *Current Pharmaceutical Design* 17: 59-64.
- Wilhelm S, Carter C, Lynch M, Lowinger T, Dumas J, Smith RA, Schwartz B, Simantov R, Kelley S. (2006) Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. *Nature Review Drug Discovery* 5: 835-844.
- Wissner A, Fraser HL, Ingalls CL, Dushin RG, Floyd MB, Cheung K, Nittoli T, Ravi MR, Tan X, Loganzo F (2007) Dual irreversible kinase inhibitors: quinazoline-based inhibitors incorporating two independent reactive centers with each targeting different cysteine residues in the kinase domains of EGFR and VEGFR-2. *Bioorganic Medical Chemistry* 15: 3635-3648.
- Zhang J, Yang PL, Gray NS (2009) Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors. *Nature Review Cancer* 9: 28-39.