

تحلیل مولکولی و مقایسه اثر دو ایزومر (E و Z) سیترال جدا شده از اسانس گیاه به لیمو روی آنزیم Diaminopimelate Decarboxylase از بروسلا ملی تنسیس با توجه به کاربردهای دارویی سیترال

عرفان صلاح زاده^۱ مهدی رضاوردی نژاد^۱ جاوید تقی نژاد^{۱*} فاطمه عطائی مسجدلو^۲

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- گروه بیولوژی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران

*نشانی برای مکاتبه: jataghinejad@gmail.com

پذیرش برای چاپ: بهار ۱۴۰۴

دریافت مقاله: زمستان ۱۴۰۳

چکیده

زمینه و هدف: بروسلوز یک بیماری باکتریایی مهم ناشی از گونه های جنس *بروسلا* می باشد که به دلیل بروز مقاومت های آنتی بیوتیکی، توسعه ترکیبات ضدباکتری جدید ضروری به نظر می رسد. آنزیم Diaminopimelate Decarboxylase (DAPDC) به عنوان یکی از آنزیم های کلیدی در مسیر بیوسنتز لیزین، هدف مناسبی برای طراحی مهارکننده های جدید محسوب می شود.

روش کار: در این مطالعه، اتصال دو ایزومر سیترال E و Z به ساختار کریستالوگرافی آنزیم (PDB ID: 3VAB) با استفاده از نرم افزار اتوداک وینا بررسی شد. همچنین از Pyridoxal 5'-phosphate (PLP) به عنوان لیگاند کنترل استفاده گردید. **نتایج:** نتایج نشان داد هر دو ایزومر سیترال توانایی قرارگیری در جایگاه فعال آنزیم را دارند، اما مقادیر انرژی اتصال آن ها (حدود ۳- کیلوکالری بر مول) کمتر از لیگاند کنترل PLP بود (حدود ۴.۵- کیلوکالری بر مول). با توجه به اینکه PLP کوفاکتور طبیعی این آنزیم است، تمایل اتصال بالاتر آن قابل انتظار بود.

نتیجه گیری: به طور کلی، یافته ها نشان می دهد سیترال دارای توانایی اتصال اولیه به جایگاه فعال آنزیم DAPDC است، اما قدرت اتصال آن در مقایسه با لیگاند مرجع کمتر بوده و برای دستیابی به ترکیبات مهار قوی تر، بهینه سازی ساختاری ضروری است.

واژگان کلیدی: سیترال- E، سیترال- Z، بروسلا ملی تنسیس، Diaminopimelate Decarboxylase، داکینگ مولکولی

مقدمه

یکی از اهداف مولکولی امیدوارکننده برای توسعه داروهای جدید در بروسلا، آنزیم Diaminopimelate Decarboxylase (DAPDC) است. این آنزیم در مسیر سنتز L-لیسین نقش حیاتی دارد. مسیری که در باکتری وجود دارد اما در انسان یافت نمی شود. و به دلیل نقش کلیدی اش در بقا و ساختار دیواره سلولی باکتری هدف جذابی برای طراحی مهارکننده های آنتی بیوتیکی به شمار می آید. علاوه بر این، مطالعات نشان داده اند که مهار DAPDC می تواند رشد باکتری را مهار کند و ترکیبات هدفمند علیه این آنزیم پتانسیل ضدباکتریایی قابل توجهی داشته باشند (۲). با وجود این پتانسیل، تا کنون هیچ گونه مطالعه مشخصی بر روی اثر دو ایزومر سیترال (E و Z)، که ترکیبات طبیعی موجود در اسانس به لیمو با فعالیت های ضدباکتریایی

بروسلوز (Brucellosis) یک بیماری مهم باکتریایی زoonotیک است که توسط گونه های مختلف بروسلا ایجاد می شود و همچنان یکی از مشکلات جدی بهداشت عمومی و دامپزشکی در مناطق جهان به ویژه خاورمیانه و آسیا باقی مانده است. درمان استاندارد این بیماری با استفاده از رژیم های ترکیبی آنتی بیوتیکی انجام می شود، اما طولانی بودن دوره درمان، بازگشت بیماری و گزارش های رو به افزایش مقاومت دارویی از جمله نگرانی های مهم در کنترل بروسلوز هستند. مطالعات اخیر نشان داده اند که مقاومت به آنتی بیوتیک های رایج مانند ریفامپین و برخی کینولون ها در سویه های بروسلا ملی تنسیس افزایش یافته است، که نیاز به اهداف درمانی و ترکیبات جدید را برجسته می سازد (۱).

پروتئین Diaminopimelate decarboxylase bound to PLP نقش کلیدی در مسیر بیوسنتز لیسین دارد که برای ساختار دیواره سلولی باکتری حیاتی است. مهار این آنزیم موجب توقف رشد باکتری و مرگ سلولی می شود و انتخاب هدف دارویی مناسبی برای مهار بروسلاز است (۳).

تهیه ساختار لیگاند

ساختار شیمیایی ایزومرهای E-citral و Z-citral از پایگاه
PubChem داده

استخراج (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

گردید. کد PubChem مربوط به Z-citral عدد ۶۴۳۷۷۹ و کد E-citral ۶۳۸۰۱۱ است. ساختارها به فرمت SMILES استخراج و مطابق با ایزومر مورد نظر تنظیم شدند:

E-citral: `CC(=CCC/C(=C/C=O)/C)C`
Z-citral: `CC(=CCC/C(=C\C=O)/C)C`

گزارش شده هستند، روی مهار DAPDC در بروسلا ملی تنسیس انجام نشده است. بررسی های مولکولی، به ویژه از نوع داکینگ می توانند تعاملات مولکولی این ترکیبات با سایت فعال آنزیم را پیش بینی کنند و به شناساندن پتانسیل آن ها به عنوان مهارکننده های بالقوه کمک نمایند. از این رو، تحقیق حاضر با هدف پر کردن این شکاف پژوهشی، قدرت اتصال دو ایزومر E و Z سیترال به DAPDC از بروسلا ملی تنسیس را با استفاده از داکینگ مولکولی مورد بررسی قرار داده است.

مواد و روش ها

تهیه ساختار پروتئین

از پایگاه داده RCSB PDB (<https://rcsb.org>)، چند ساختار پروتئینی متعلق به بروسلا ملی تنسیس استخراج شدند. پس از بررسی ویژگی های عملکردی، ساختار پروتئینی با کد PDB 3VAB انتخاب شد. این ساختار مربوط به



شکل ۱. ساختار کریستالی دی آمینوپیمیلات دکربوکسیلاز (DAPDC) از بروسلا ملی تنسیس.

لیگاند کنترل

به عنوان لیگاند مرجع از Pyridoxal 5'-phosphate (PubChem CID: 1051) استفاده شد. PLP کوفاکتور طبیعی آنزیم های PLP-dependent است و در آنزیم Diaminopimelate Decarboxylase نقش ساختاری و کاتالیتیکی مستقیم دارد. انتخاب این ترکیب به عنوان کنترل انجام شد که شامل؛ حضور طبیعی در جایگاه فعال آنزیم، داشتن گروه فسفات با بار منفی، دارا بودن حلقه آروماتیک پیریدینی، توانایی ایجاد پیوندهای هیدروژنی متعدد، قابلیت برهم کنش های الکترواستاتیک قوی می باشد.

اجرای داکینگ

داکینگ مولکولی به منظور بررسی نحوه اتصال ایزومرهای سیترال به آنزیم Diaminopimelate Decarboxylase با استفاده از نرم افزار AutoDock Vina انجام شد. داکینگ با پارامترهای زیر انجام شد:

Box center: (0, -26, -25) •

خروجی ها و تحلیل

• Box size: (20 × 20 × 20 Å)
• Sampling exhaustiveness: 4
• الگوریتم جستجو: Lamarckian Genetic Algorithm (در چارچوب AutoDock Vina)
جعبه جستجو به گونه ای تعریف شد که کل جایگاه فعال آنزیم را پوشش دهد.

انرژی اتصال (Binding affinity) بر حسب kcal/mol گزارش شد. کمترین انرژی منفی به عنوان پایدارترین کمپلکس انتخاب گردید. لازم به ذکر است که مقدار انرژی گزارش شده در AutoDock Vina یک تابع امتیازدهی (scoring function) تجربی است و نمایانگر انرژی آزاد ترمودینامیکی واقعی نیست، بلکه برای مقایسه نسبی تمایل اتصال بین لیگاندها به کار می رود (۵۴).

نتایج

جدول ۱: جدول مقایسه نهایی داکینگ (AutoDock Vina)

ترکیب	بهترین Binding Energy (kcal/mol)	RMSD (Å)	Inter (kcal/mol)	Intra (kcal/mol)
لیگاند کنترل PLP	-4.540	0.000	-6.000	-0.492
E-citral	-3.249	0.000	-4.008	-0.622
Z-citral	≈ -3.10	0.000	≈ -3.9	≈ -0.6

تحلیل انرژی اتصال

نتایج داکینگ مولکولی با استفاده از الگوریتم AutoDock Vina نشان داد که هر سه ترکیب توانایی اتصال به جایگاه فعال آنزیم Diaminopimelate Decarboxylase را دارند. لیگاند کنترل PLP، کمترین انرژی اتصال را با مقدار -4.540 kcal/mol نشان داد که بیانگر تمایل اتصال بالاتر نسبت به ایزومرهای سیترال است. ایزومر E-citral دارای انرژی اتصال -3.249 kcal/mol و ایزومر Z-citral دارای انرژی حدود -3.1 kcal/mol بود. اختلاف انرژی بین دو ایزومر ناچیز بوده و هر دو در یک بازه انرژی مشابه قرار دارند. مقادیر RMSD پایین در پوزهای اول هر سه ترکیب نشان دهنده پایداری کانفورماسیون غالب در خوشه اصلی اتصال است.

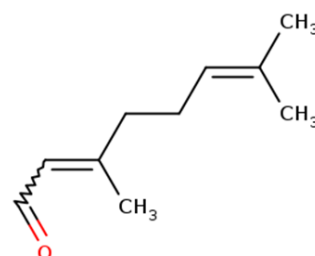
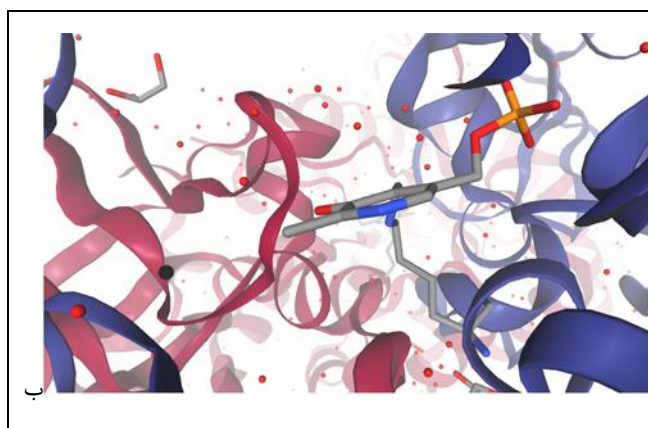
نتایج نشان داد که PLP انرژی اتصال منفی تری نسبت به ایزومرهای سیترال دارد. این موضوع از نظر ساختاری کاملاً قابل انتظار است، زیرا: الف) اندازه مولکولی بزرگ تر PLP دارای وزن مولکولی بالاتر و سطح تماس گسترده تری با جایگاه فعال است، در حالی که سیترال یک مونوترپن کوچک و عمدتاً هیدروفوبیک می باشد. ب) وجود گروه فسفات: گروه فسفات دارای بار منفی بوده و قادر به ایجاد برهم کنش های الکترواستاتیک قوی با باقی مانده های باردار مثبت مانند Lys و Arg در جایگاه فعال است. این نوع برهم کنش ها نقش مهمی در کاهش انرژی اتصال دارند. ج) تعداد بیشتر پیوندهای هیدروژنی PLP دارای چندین اتم اکسیژن دهنده و گیرنده پیوند هیدروژنی است، در حالی که سیترال تنها یک گروه

آلدهیدی دارد. د) مکمل بودن ساختاری از آنجا که آنزیم مورد مطالعه ذاتاً وابسته به PLP است، جایگاه فعال آن به طور تکاملی برای اتصال پایدار این کوفاکتور طراحی شده است. بنابراین مشاهده انرژی اتصال پایین تر برای PLP کاملاً منطقی و مورد انتظار است.

بررسی سه بعدی محل اتصال

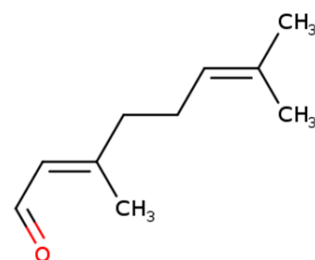
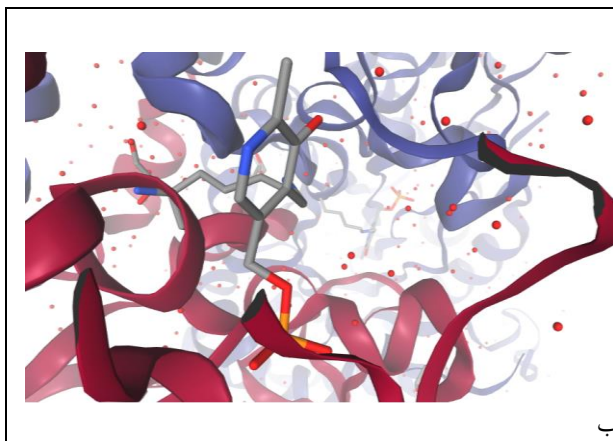
با استفاده از سایت NGL Viewer

(<https://nglviewer.org/ngl/>)، محل اتصال لیگاندها به صورت سه بعدی مورد بررسی قرار گرفت. هر دو ایزومر در محل فعال آنزیم مستقر شده و احتمالاً با اسیدهای آمینه کلیدی مانند Lys، Asp و His تعامل دارند. تعاملات هیدروژنی، هیدروفوبیک و π - π stacking در تثبیت اتصال مؤثر بوده اند. این تعاملات تضمین کننده تثبیت لیگاند در سایت فعال و احتمال مهار فعالیت آنزیم هستند.



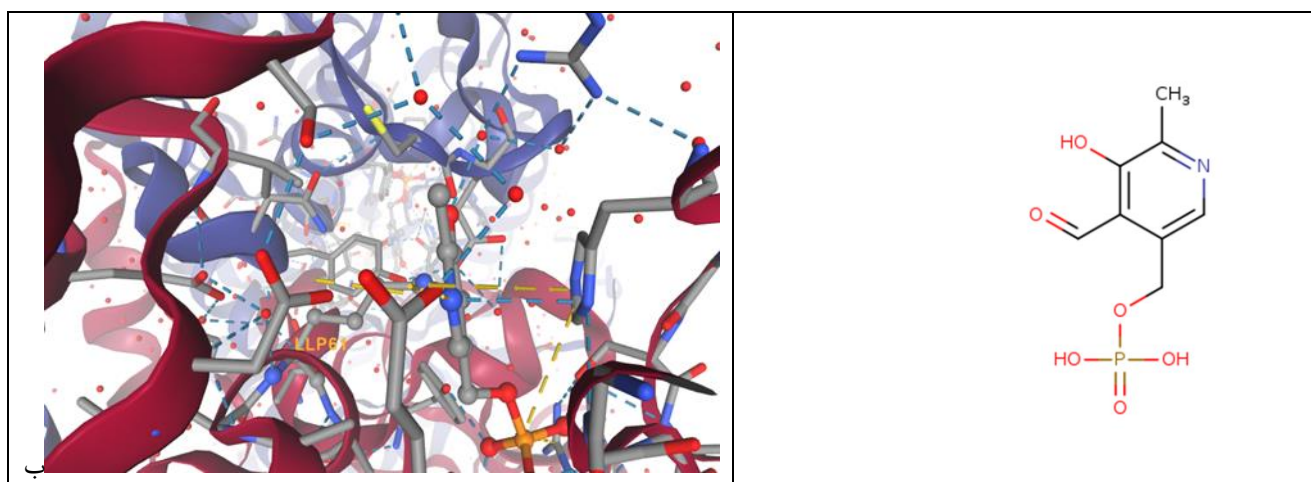
الف

شکل ۲: الف) ساختار شیمیایی لیگاند E-سیترال (ب) تصویر سه بعدی اتصال ایزومر E-citral به پروتئین 3VAB.



الف

شکل ۳: الف) ساختار شیمیایی لیگاند Z-سیترال (ب) تصویر سه بعدی اتصال ایزومر Z-citral به پروتئین 3VAB.



شکل ۴: الف) ساختار شیمیایی لیگاند مرجع Pyridoxal 5'-phosphate (ب) تصویر سه بعدی اتصال لیگاند plp به پروتئین VAB3.

بحث

در مطالعه موسوی و همکاران با هدف بررسی اثر ضد باکتریایی پروتئین لاکتوپراکسیداز و پپتیدهای آن بر روی برخی از باکتری های مولد ورم پستان با روش داکینگ مولکولی را انجام دادند. نتایج مطالعه داکینگ نشان داد مناسب ترین موقعیت اتصال در پروتئین لاکتوپراکسیداز حاصل با منفی ترین انرژی به پروتئین سطحی غشاء در دو باکتری /شریشیا کلی و /استافیلوکوکوس /اورئوس متصل می باشد. در بررسی بیوانفورماتیکی هفت پپتید حاصل از این پروتئین نیز نشان داد که پپتید شماره ۳ که شامل: (QGYNNSVDPRISNVFTFAFRFG)،

(QGYSESVDPRISNVFTFAFRFG) و (RGYNKSVDPRISNVFTFAFRFG) بوده که مربوط به بز، گاو، گاو میش و گوسفند عملکرد بهتری را در اتصال و تخریب پروتئین سطحی دو باکتری /شریشیا کلی و /استافیلوکوکوس /اورئوس نیز دارد (۶). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هر دو ایزومر سیترا ل توانایی اتصال به سایت فعال آنزیم را دارند، اما اثبات اثر ضدباکتریایی آن ها نیازمند بررسی های آزمایشگاهی in vitro و in vivo می باشد

نتایج داکینگ مطالعه اتحادپور در مهار پروتئین های موثر در بروز مقاومت آنتی بیوتیکی در /اسینتوباکتر بومانی نشان داد

که داکینگ مربوط به ترکیبات *cis-pinocamphone* و *3,5 difluorophenyl ester 2,6 difluorobenzoic acid* به ترتیب از گیاهان زوفا و مانگرو می باشد. در واقع این ترکیبات با منفی ترین سطح اتصال به ترتیب -8.8 and -9 تمایل بیشتری برای اتصال به آمینواسید های کلیدی جایگاه فعال هر سه پروتئین (3G4P, 4K0X و 1BXW) مورد مطالعه را دارد (۷). نتایج داکینگ مولکولی مطالعه حاضر نشان داد که دو ایزومر E و Z توانایی اتصال به آنزیم را دارند، اما ایزومر E با منفی ترین انرژی اتصال پایداری و قابلیت مهار بالاتری را در مهار پروتئین 3VAB بروسلا ملی تنسیس را داشته است.

مطالعه رضوردی نژاد و تقی نژاد با هدف بررسی داکینگ مولکولی دو ترکیب گیاهی *p-cuminaldehyde* و *Trans-Anethole* بر روی آنزیم بتالاکتامازی تولید شده در سودوموناس آئروژینوزا و /اسینتوباکتر بومانی انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیب *trans-anethole* با ایجاد پیوند هیدروژنی بیشتر و برهم کنش بهتر به آنزیم بتالاکتامازی در هر دو باکتری سودوموناس آئروژینوزا و /اسینتوباکتر بومانی را داشته است (۸). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ایزومر E با منفی ترین انرژی اتصال پایداری و قابلیت بالاتری را در مهار پروتئین دیواره سلولی بروسلا ملی

قرار گیرد. در مقابل، سیترال یک مونوترپن آلدئیدی کوچک با ماهیت عمدتاً هیدروفوبیک است و تنها یک گروه آلدیدی برای برهم کنش قطبی در اختیار دارد. بنابراین انتظار می رود قدرت اتصال آن نسبت به مهارکننده های کلاسیک PLP کمتر باشد.

با این حال، هر دو ایزومر E و Z سیترال توانایی قرارگیری در جایگاه فعال را نشان دادند و انرژی اتصال آنها در محدوده ترکیبات طبیعی کوچک قرار دارد. اختلاف انرژی حدود ۱.۳ kcal/mol بین سیترال ها و لیگاند کنترل نشان می دهد که اگرچه سیترال ها مهارکننده قوی محسوب نمی شوند، اما توانایی تعامل اولیه با جایگاه فعال را دارند. از نظر مقایسه ایزومری، اختلاف انرژی بین E و Z ناچیز بوده و برتری قابل توجهی برای هیچ یک مشاهده نشد. این موضوع نشان می دهد که تغییر هندسه دوگانه پیوند تأثیر عمده ای بر الگوی کلی اتصال در این سیستم نداشته است. آنزیم DAPDC یک آنزیم وابسته به کوفاکتور pyridoxal-5'-phosphate (PLP) است که در مرحله نهایی مسیر بیوسنتز لایسین عمل می کند و علی رغم اینکه در انسان وجود ندارد، در باکتری ها برای تقویت ساختار دیواره سلولی و عوامل ویروالانس ضروری است، به همین دلیل هدف خوبی برای طراحی مهارکننده های ضدباکتری محسوب می شود. مطالعات قبلی نشان داده اند که مهارکننده های مشتق از مسیر بیوسنتز لایسین توانسته اند فعالیت DAPDC را کاهش دهند و برخی از آنها حتی اثر ضد-بروسلایی در آزمایش های *in vitro* نشان داده اند، مانند ترکیباتی که از کتابخانه FDA-screened approved شده و پنج ترکیب آنها در غلظت پایین رشد بروسل را مهار کرده اند.

مقایسه با مهارکننده های شناخته شده DAPDC نشان می دهد که بیشتر مهارکننده های گزارش شده ساختارهایی مشابه سوبسترا یا آنالوگ های ساختاری دارند که با سایت فعال و کوفاکتور PLP برهم کنش مستقیم برقرار می کنند. مطالعه کریستالوگرافی نشان داده است که موقعیت فعال DAPDC و چگونگی تشکیل Schiff base با PLP و سوبسترا چقدر برای فعالیت آنزیم اهمیت دارد، و از این اطلاعات می توان برای طراحی مهارکننده های رقابتی استفاده کرد. در مقابل، ترکیبات کوچک و هیدروفوب مانند سیترال ممکن است به نواحی نزدیک به سایت فعال یا حتی نواحی آلوستریک متصل شوند و اثرات مهاری غیررقابتی یا نیمه رقابتی داشته باشند. علاوه بر این، ساختار کوآترنی DAPDC نشان داده است که

تنسیس را دارد که نتایج هر دو مطالعه به دلیل استفاده از ترکیبات گیاهی موثر در داکینگ مولکولی همسو می باشند. در مطالعه فریدون نژاد و نصرتی با انجام داکینگ مولکولی کمپلکس های دی فنیل پیریدین فسفین طلا (I)-تیولات با آنزیم تیوردوکسین ردوکتاز بر روی تعدادی باکتری گرم مثبت، گرم منفی، قارچ و مخمر صورت گرفت. نتایج داکینگ مولکولی نشان داد ترکیب Au³⁺-مرکاپتوپیریمیدین دارای بهترین انرژی اتصال به آنزیم تیوردوکسین ردوکتاز می باشد. این ترکیب به دلیل داشتن حلقه پیریمیدین در ساختار خود نسبت به سایر ترکیبات در اتصال به این آنزیم بهتر عمل کرده و با انرژی اتصال ۶/۸۸- کیلوکالری بر مول به این آنزیم متصل شده است. در مقایسه این ترکیب با سایر ترکیبات، فعالیت ضد میکروبی بهتری را نسبت به بقیه نشان داد (۹). نتایج داکینگ مطالعه حاضر هم نشان داد که ایزومر E بهترین ترکیب از گیاه به لیمو بوده که با منفی ترین انرژی اتصال ۳/۲- کیلوکالری بر مول برای مهار پروتئین 3VAB دیواره سلولی باکتری بروسلای ملی تنسیس عملکرد بهتری را ملاحظه گردید. نتایج مطالعه فریدون نژاد با مطالعه حاضر به دلیل استفاده از ترکیبات شیمیایی همسو نبوده و متناقض می باشد.

آنزیم Diaminopimelate Decarboxylase یک آنزیم وابسته به PLP است که در مسیر بیوسنتز لیزین در باکتری ها نقش کلیدی دارد. مهار این آنزیم می تواند هدف مناسبی برای توسعه عوامل ضدباکتریایی باشد. در این مطالعه، لیگاند کنترل یعنی Pyridoxal 5'-phosphate (PLP) کمترین مقدار انرژی اتصال را نشان داد که با توجه به نقش آن به عنوان کوفاکتور طبیعی آنزیم Diaminopimelate Decarboxylase کاملاً قابل انتظار است. اندازه مولکولی بزرگ تر PLP، حضور گروه فسفات با بار منفی و قابلیت ایجاد شبکه ای از پیوندهای هیدروژنی و برهم کنش های الکترواستاتیک قوی موجب افزایش پایداری کمپلکس آنزیم-لیگاند شده است. در مقابل، سیترال به عنوان یک مونوترپن کوچک با ماهیت عمدتاً هیدروفوبیک، فاقد گروه های عاملی متعدد برای ایجاد برهم کنش های قوی بوده و در نتیجه انرژی اتصال بالاتری (کمتر منفی) نشان داده است. این یافته نشان می دهد که اگرچه سیترال توانایی ورود به جایگاه فعال را دارد، اما قدرت اتصال آن به طور قابل توجهی کمتر از کوفاکتور طبیعی آنزیم است. بنابراین سیترال را نمی توان مهارکننده ای قوی در مقایسه با PLP در نظر گرفت، بلکه می تواند به عنوان یک اسکفلد اولیه برای طراحی مشتقات قوی تر مورد بررسی

سیستمیک ممکن است نیاز به بهینه سازی جهت کاهش اثرات ناخواسته مرکزی وجود داشته باشد. همچنان بین مولکول، پیش بینی شده که با آنزیم های کبدی مهم CYP450 تداخل ندارد که این نکته احتمال بروز عوارض جانبی کمتری را نشان می دهد. از نظر قابلیت انحلال در آب، این ترکیب در دسته "قابل حل" قرار می گیرد، که عاملی مهم برای داروهای خوراکی است. ارزیابی های داروشناسی نشان می دهد که مولکول از نظر خواص دارویی، مطابق قانون rule of five است و از نظر Ghose و Muegge چند نقض جزئی دارد که قابل پذیرش است. هشدارهای شیمیایی مرتبط با وجود گروه های آلدهیدی و ساختارهای فعال مایکل آکپتر (Michael acceptor) وجود دارد که باید در طراحی دارو با دقت بررسی شوند. امتیاز قابلیت سنتز (Synthetic accessibility) ۲/۴۹ است که نشان دهنده امکان پذیری نسبی سنتز این مولکول در آزمایشگاه است. در مجموع، ترکیب مورد بررسی با توجه به خواص داروشناسی و فارماکوکینتیکی، پتانسیل خوبی برای توسعه به عنوان یک داروی ضدباکتری طبیعی با قابلیت جذب مناسب و سمیت کم دارد.

نتیجه گیری

نتایج داکینگ مولکولی نشان داد که لیگاند کنترل وابسته به PLP دارای بیشترین تمایل اتصال به آنزیم Diaminopimelate Decarboxylase است. هر دو ایزومر E و Z سیترا ل نیز قادر به اتصال به جایگاه فعال بودند، اما با انرژی اتصال کمتر نسبت به لیگاند مرجع. با توجه به اندازه کوچک و ماهیت هیدروفوبیک سیترا ل، این ترکیب را نمی توان به عنوان مهارکننده قوی این آنزیم در نظر گرفت، اما نتایج حاصل می تواند نشان دهنده ظرفیت اولیه این اسکفلد طبیعی برای طراحی و بهینه سازی مشتقات قوی تر در مطالعات آینده باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از خانم مهدیه عمادی بخاطر کمک های بی شائبه ایشان در این مطالعه تقدیر و تشکر می گردد.

این آنزیم در بسیاری از باکتری ها به صورت دیمری فعال است و تعاملات میان زنجیره های پلیمری نقش حیاتی در عملکرد کاتالیزوری آن دارد؛ با این حال، در بیشتر پروتکل های داکینگ این حالت انعطاف پذیری ساختاری کامل لحاظ نمی شود. با وجود اینکه داکینگ مولکولی ابزاری قدرتمند برای پیش بینی اولیه برهم کنش لیگاند-پروتئین است، این روش دارای محدودیت هایی می باشد. نخست، در اغلب الگوریتم های داکینگ، پروتئین به صورت ساختار صلب (rigid) در نظر گرفته می شود و انعطاف پذیری دینامیکی آن لحاظ نمی گردد. دوم، انرژی های اتصال گزارش شده مقادیر تقریبی بوده و لزوماً بیانگر انرژی آزاد واقعی در شرایط فیزیولوژیک نیستند. سوم، اثرات حلال، یونها و شرایط درون سلولی به طور کامل مدل سازی نمی شوند. بنابراین نتایج این مطالعه باید به عنوان یک غربالگری اولیه در نظر گرفته شوند و تأیید آن ها نیازمند شبیه سازی دینامیک مولکولی و آزمون های تجربی مهار آنزیمی می باشد. شبیه سازی دینامیکی مولکولی (MD) می تواند پایداری کمپلکس در طول زمان، تغییرات ساختاری، پارامترهایی مانند RMSD و RMSF و همچنین انرژی آزاد اتصال را در شرایط نزدیک تر به محیط فیزیولوژیک بررسی نماید. بنابراین، انجام مطالعات MD برای تأیید پایداری برهم کنش ایزومر Z سیترا ل با آنزیم DAPDC در تحقیقات آینده ضروری به نظر می رسد.

تحلیل ویژگی های داروشناسی سیترا ل: (Swiss ADME)

براساس نتایج Swiss ADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>)، ترکیب مورد بررسی دارای وزن مولکولی ۱۵۲/۲۳ گرم بر مول بوده که در محدوده مناسب برای داروهای کوچک قرار دارد. این مولکول با ۱۱ اتم سنگین و نسبت Csp3 برابر با ۰/۵، تعادل مناسبی بین ساختار اشباع و غیر اشباع خود دارد. ویژگی های لیپوفیلیک (Log Po/w) آن بین ۲/۴۷ تا ۳/۰۳ گزارش شده که نشان دهنده قابلیت نفوذ خوب در غشاهای سلولی است. پیش بینی عبور از BBB نشان می دهد که مولکول دارای نفوذپذیری غشایی بالاست، اگرچه برای کاربرد ضدباکتری

REFERENCE

1. Lavigne JP, Magnan C, Loubet P, Sotto A, O'Callaghan D, Keriell A. What's new in the diagnosis and treatment of human brucellosis?. Infectious Diseases Now. 2025 Jul 23:105121. <https://doi.org/10.1016/j.idnow.2025.105121>
2. Bie P, Yang X, Zhang C, Wu Q. Identification of small-molecule inhibitors of Brucella diaminopimelate decarboxylase by using a high-throughput screening assay. Frontiers in Microbiology. 2020 Jan 21;10:2936. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02936>
3. Bie P, Yang X, Zhang C, Wu Q. Identification of small-molecule inhibitors of Brucella diaminopimelate decarboxylase by using a high-throughput screening assay. Frontiers in Microbiology. 2020;10:2936. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02936>
4. Bugnon M, Röhrig UF, Goullieux M, Perez MA, Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissDock 2024: major enhancements for small-molecule docking with Attracting Cavities and AutoDock Vina. Nucleic acids research. 2024;52(1): 324-32. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae300>
5. Eberhardt J, Santos-Martins D, Tillack AF, Forli S. AutoDock Vina 1.2. 0: new docking methods, expanded force field, and python bindings. Journal of chemical information and modeling. 2021 Jul 19;61(8):3891-8. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00203>
6. Mousavi, Z., M. Azghandi, M. Tahmourespour, and F. Mohammadi. "Antibacterial effect of lactoperoxidase protein and its peptides on some bacteria causing mastitis in dairy cattle by molecular docking method." 2020: 100-109.[In persian] <https://doi.org/10.22092/vj.2019.124829.1548>
7. Etehadpour M . Bioinformatics evaluation of the compounds effect of medicinal plants Hyssopus officinalis L., Tragopogon graminifolius and Avicennia marina L. on the inhibition of effective proteins against antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii*. Agricultural Biotechnology Journal, 2021; 13(2), 147-170.[In persian] <https://doi.org/10.22103/jab.2021.17570.1315>
8. Rezaverdinejad M., Taghinejad J. Molecular Docking Study of Two Plant-Derived Compounds, p-Cuminaldehyde and Trans-Anethole, targeting β -Lactamase Enzymes produced in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. Applied Molecular Biology, 2025; 4(8): 5-18.[In persian]
9. Fereidoon nezahad M & Nosrati S. [Antimicrobial Activity of Diphenyl Pyridine Phosphine Gold(I)-thiolate Compounds and Their Molecular Docking With Thioredoxin Reductase enzyme (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2022; 21(2):218-233.[In persian] <https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.2.2231>