

راهبردهای جدید طراحی و تولید آنتاگونیست برای سیتوکین‌ها و هورمون‌ها، با تاکید بر لپتین و هورمون رشد

فاطمه علمی، دکتر سید حمید زرکش اصفهانی، ستاره پژوه نیا، عباس سلیمانی، نیلوفر ساسانی، رویا دانش‌آذری
 گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه
 اصفهان، دانشکده علوم، دکتر حمید زرکش اصفهانی؛ e-mail: s.h.zarkesh@sheffield.ac.uk

چکیده

مقدمه: آنتاگونیست به طور کلی ماده‌شیمیایی قابل پیوند با اتصال به گیرنده‌ی سلولی و یا نوعی دارو است که در سلول با اتصال به گیرنده‌های آن سلول عمل پیوند لیگاند-گیرنده را انجام می‌دهد ولی باعث پاسخ و واکنش از سوی سلول نمی‌شود. آنتاگونیست در داروشناسی، تقلیدکننده‌ی عمل آگونیست در سلول است ولی با مسدود کردن محل اتصال مانع از اتصال و عمل آگونیست می‌شود. در گذشته یافتن آنتاگونیست معمولا از طریق آزمون و خطا و به دنبال آزمایش‌های فراوان صورت می‌گرفته است. در حال حاضر با پیشرفت علم و شناسایی ساختار مولکول‌ها و روش‌های انتقال پیام، امکان طراحی هوشمند و هدف‌مند برای آنتاگونیست‌ها در کوتاه‌ترین زمان به وجود آمده است. طراحی این فرآیند بر پایه‌ی دو دیدگاه کلی پایه‌گذاری شده است که عبارتند از: ۱) طراحی دارو بر اساس هدف مورد نظر، که می‌تواند یک گیرنده باشد و ۲) طراحی بر اساس ساختار یک مولکول کوچک دارویی، که می‌تواند از انتقال پیام جلوگیری کند. ساختار پایه‌ی آگونیست در فرآیند طراحی دارو، دچار تغییراتی می‌شود که باعث تبدیل به آنتاگونیست می‌شود که آن را به مولکولی با سطح بالایی از فعالیت آنتاگونیستی و کمترین میزان عوارض جانبی بر روی سلول‌های زنده، تبدیل می‌کند. در این مقاله‌ی مروری به انواع راهبردهای جدید طراحی آنتاگونیست برای سیتوکین‌ها و هورمون‌ها (با تاکید بر لپتین و هورمون رشد به عنوان نمونه) پرداخته شده است. از آنجایی که هورمون‌ها دارای نقش‌های متعدد در شرایط فیزیولوژیک مختلف هستند و سیتوکین‌ها به عنوان تعدیل‌کننده‌های ایمنی عمل می‌کنند، طراحی آنتاگونیست برای آن‌ها و یا گیرنده آن‌ها می‌تواند نقش به‌سزایی در درمان بیماری‌های خودایمن، التهابی، بیماری‌های بدخیم و غیره داشته باشد.

واژگان کلیدی: آنتاگونیست، راهبردهای طراحی، سیتوکین، هورمون

دریافت مقاله: ۹۶/۷/۱۱ - دریافت اصلاحیه: ۹۶/۱۲/۹ - پذیرش مقاله: ۹۶/۱۲/۲۶

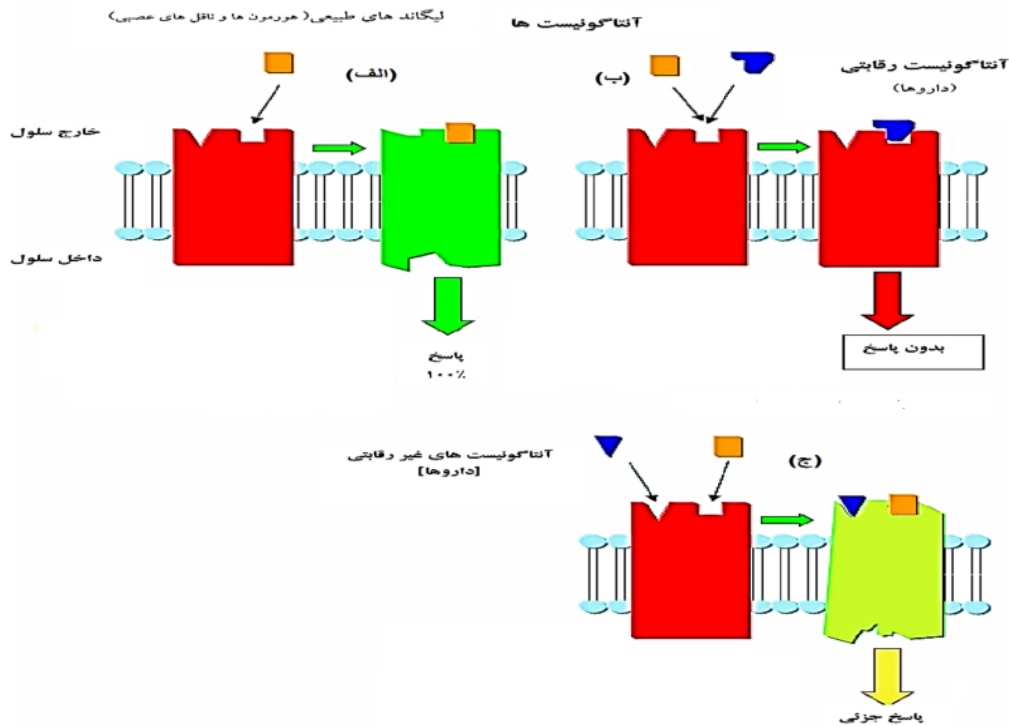
مقدمه

فضائی آنتاگونیستی قرار می‌گیرند. یک آنتاگونیست مولکولی است که باعث ممانعت از فعالیت گیرنده و یا مولکول آگونیست آن می‌شود. این آگونیست ممکن است از مولکول‌های طبیعی در موجود زنده منشأ گرفته باشد و یا یک عامل خارجی باشد. مولکول‌های آنتاگونیستی می‌توانند به دو زیر گروه آنتاگونیست‌های وابسته به گیرنده و آنتاگونیست‌های غیروابسته به گیرنده تقسیم‌بندی شوند. یک آنتاگونیست مربوط به گیرنده می‌تواند به ناحیه فعال و یا ناحیه آلوستریک بر روی گیرنده متصل شود. اتصال آنتاگونیست به ناحیه فعال در گیرنده باعث ممانعت از اتصال آگونیست به این ناحیه می‌شود. اتصال آنتاگونیست به ناحیه

بسیاری از گیرنده‌های موجود در سطح بدن می‌توانند دو حالت را در مواجهه با داروها فراهم آورند. این دو حالت در مجموع به صورت حالات فعال و غیرفعال تقسیم‌بندی می‌شوند. بر این اساس داروها و مولکول‌های طبیعی و یا سنتزی به دو دسته مولکول‌های آگونیست یا فعال‌کننده گیرنده و آنتاگونیست یا ممانعت‌کننده تقسیم‌بندی می‌شوند. یک آگونیست، مولکولی است که به یک گیرنده متصل شده و گیرنده را در پیکربندی مشخصی فعال می‌کند (پیکربندی فعال)، اما در مقابل این دسته از مولکول‌ها، ساختارهای

مختلف عملکرد خود را انجام دهند، اما به صورت کلی این عملکرد به واسطه اشغال محل گیرنده و جلوگیری از اتصال مولکول آگونیست انجام می‌شود.^۲ آنتاگونیست‌های غیروابسته به گیرنده به دو گروه آنتاگونیست‌های شیمیایی و آنتاگونیست‌های فیزیولوژیکی طبقه‌بندی می‌شوند. آنتاگونیست‌های شیمیایی مولکول آگونیست را پیش از این که فرصتی برای فعالیت پیدا کنند، غیر فعال می‌کنند که این عمل بواسطه غیرفعال‌سازی شیمیایی انجام می‌شود، در مقابل آنتاگونیست‌های فیزیولوژیک باعث ایجاد روند فیزیولوژی بر خلاف اثرات ایجاد شده به وسیله آگونیست می‌شوند^۱ که در شکل ۱ قابل مشاهده است.

آلوستریک در گیرنده باعث می‌شود که تغییرات پیکربندی برای فعال‌سازی گیرنده انجام نشود (پیکربندی غیرفعال). آنتاگونیست غیر وابسته به گیرنده به ناحیه گیرنده متصل نمی‌شود اما با این حال باعث ممانعت از توانایی آگونیست در شروع پاسخ مناسب می‌شود. در سطوح مولکولی این عمل می‌تواند بوسیله اثر ممانعت‌کنندگی مستقیم بر روی یک آگونیست اتفاق بیفتد.^۱ داروهای تنظیم‌کننده‌ی عملکرد گیرنده را می‌توان بر اساس اثرات بر روی لیگاند‌های درون زاد طبقه‌بندی کرد. مولکول‌های آنتاگونیست می‌توانند باعث کاهش و یا عدم پاسخ‌گویی گیرنده به داروها و یا مولکول‌های لیگاند درون زاد شوند. ساختارهای دارویی با خواص آنتاگونیستی می‌توانند به واسطه‌ی چندین فرآیند



شکل ۱- ساختار اتصال مولکول‌های لیگاند طبیعی، آنتاگونیست رقابتی و آنتاگونیست غیررقابتی: (الف) جایگاه اتصال مولکول لیگاند طبیعی که شامل هورمون‌ها و ناقل‌های عصبی می‌باشد، در این حالت لیگاند به صورت کامل بر روی جایگاه خود در گیرنده متصل شده و پاسخ خود را به صورت بیشینه به درون سلول منتقل می‌نماید. (ب) آنتاگونیست‌های رقابتی به جایگاه‌های مشابهی که لیگاند‌های طبیعی، آگونیست‌ها یا آگونیست‌های نسبی متصل می‌شوند اتصال یافته و باعث ممانعت از بروز سیگنال در داخل سلول می‌شوند، در این حالت با افزایش غلظت آنتاگونیست و اشغال جایگاه توسط آن از ایجاد پاسخ درون سلولی به صورت کامل ممانعت می‌نماید که با افزایش غلظت آنتاگونیست میزان پاسخ با نسبت مستقیمی کاهش می‌یابد. (ج) آنتاگونیست‌های غیر رقابتی دارو هائی هستند که به جایگاه متفاوتی بر روی گیرنده به غیر از جایگاه اتصال لیگاند متصل می‌شوند و از اثرات طبیعی این لیگاند‌ها ممانعت به عمل می‌آورند، در این نوع آنتاگونیست‌ها با افزایش غلظت تا حدودی از پاسخ درون سلولی کاسته می‌شود و با افزایش غلظت آنتاگونیست، بخشی از پیام ایجاد شده توسط آگونیست یا لیگاند طبیعی به درون سلول هدایت می‌شود.

قسمت فعال گیرنده متصل می‌شود، یک آنتاگونیست غیر رقابتی احتیاجی به پایداری پیکربندی برای فعال‌سازی گیرنده ندارد. بنابراین، این نوع آنتاگونیست باعث جلوگیری

آنتاگونیست‌های رقابتی گیرنده:

آنتاگونیست‌های رقابتی به صورت برگشت‌پذیر به قسمت فعال گیرنده متصل می‌شوند. بر خلاف آگونیست که به

آدرنرژیک به عنوان آنتاگونیست‌های فیزیولوژی، جهت مهار اثرات افزایشی هورمون تیروئید بر تعداد ضربان قلب مورد استفاده قرار می‌گیرند.^۱

در حال حاضر انواع آنتاگونیست‌ها به عنوان یکی از عوامل کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها در درمان به کار گرفته می‌شوند. امروزه، راهبردهای مناسبی جهت طراحی یک ترکیب آنتاگونیست یا آگونیست با بالاترین سطح فعالیت و کمترین میزان عوارض جانبی بر روی دیگر اجزاء موجود زنده به کار گرفته شود. در این مقاله مروری، انواع کلی این راهبردهای طراح و چگونگی استفاده از آن‌ها جهت طراحی آنتاگونیست برای سیتوکین‌ها و هورمون‌ها مورد بررسی قرار گرفته است.

راهبردهای تولید آنتاگونیست:

طراحی مدرن داروهای پپتیدی و پروتئینی در دو نکته مهم خلاصه می‌شود. الف: طراحی بر اساس هدف یا لیگاند. ب: طراحی بر اساس ساختار. در اولین مرحله‌ی فرآیند طراحی آنتاگونیست اطلاعاتی از ساختار پپتید متصل شونده یا لیگاند در دسترس نمی‌باشد. در طراحی بر اساس هدف یا لیگاند، اطلاعات ساختاری در مورد گیرنده و یا قسمتی از گیرنده که به مولکول لیگاند متصل می‌شود، در دسترس است. در طراحی بر اساس ساختار، تعیین ساختار و قرارگیری ساختارهای فضائی مولکول مولکول دارای عملکرد بر روی گیرنده از اصول اساسی طراحی است که باعث اطمینان از تعامل صحیح بین گیرنده و لیگاند می‌شود.^۲ در هر دو مورد، طراحی مولکولی با فعالیت و تمایل ویژه به گیرنده‌ی هدف می‌باشد.

در طراحی بر اساس هدف، یکی از اهداف، تعیین محل دقیق اتصال هر لیگاند به جایگاه اتصال آن در گیرنده است.^۳ در طراحی داروها بر اساس ساختار و نیز بر اساس لیگاند و هدف با روش مدل‌سازی رایانه‌ای، دو موضوع اصلی باید مورد توجه قرار گیرند: (۱) طراحی آنتاگونیست بر اساس مدل‌سازی رایانه‌ای و (۲) روش‌های محاسبه‌ای.^۴

شیوه‌ی عمومی در طراحی پپتیدها و پروتئین‌ها در روش محاسبه‌ای نیز شامل دو مرحله‌ی اصلی است. در مرحله اول، طراحی و تولید ساختاری مولکولی با پیکربندی مناسب و جهت‌گیری مولکول‌های درگیر با این ساختار طراحی شده مدنظر است. در مرحله دوم، ارزیابی کلی در رابطه با انرژی‌های ایجاد شده بین ساختار مورد طراحی و مولکول‌های در تعامل با این ساختارها محاسبه می‌شود و

از ایجاد اتصال آگونیست به گیرنده آن می‌شود، این عمل تا زمانی که آنتاگونیست گیرنده را به شکل نامتعارف اشغال نماید، ادامه دارد. یک مثال از داروهائی با فعالیت آنتاگونیستی رقابتی داروی آتورواستاتین است که در کاهش کلسترول خون نقش دارد.^۱

آنتاگونیست‌های غیر رقابتی گیرنده:

آنتاگونیست‌های غیر رقابتی می‌توانند به هر دو جایگاه فعال و یا جایگاه آلوستریک گیرنده متصل شوند. یک آنتاگونیست غیر رقابتی که به جایگاه فعال گیرنده متصل می‌شود می‌تواند با تمایل بسیار بالا و به صورت کوالانسی به این نواحی به صورت برگشت‌ناپذیر متصل شود. این پیوندهای برگشت‌ناپذیر حتی در غلظت‌های بالای مولکول آگونیست نیز از جایگاه فعال گیرنده گسسته نمی‌شود. یک آنتاگونیست آلوستریک غیر رقابتی حتی در زمانی که آگونیست به جایگاه فعال گیرنده متصل شده باشد از فعال شدن گیرنده جلوگیری به عمل می‌آورد. یک مثال بسیار معروف در مورد آنتاگونیست‌های غیر رقابتی گیرنده، داروی آسپرین است. این عامل به صورت برگشت‌ناپذیر آنزیم‌های سیکلواکسیژناز (مسئول تولید ترومبوکسان A_2 در پلاکت‌ها) را استیله کرده و از فعالیت آن‌ها ممانعت به عمل می‌آورد.^{۱۳}

آنتاگونیست‌های غیر وابسته به گیرنده:

آنتاگونیست‌های غیر وابسته به گیرنده به دو دسته آنتاگونیست‌های شیمیائی و فیزیولوژیک تقسیم‌بندی می‌شوند. آنتاگونیست‌های شیمیائی مولکول آگونیست مورد نظر را به واسطه تغییر در سطح آن و یا قطعه قطعه کردن و جداسازی مولکول غیر فعال می‌کنند، بنابراین آگونیست برای مدت زمان زیادی در دسترس نمی‌باشد تا به جایگاه اتصال خود در گیرنده متصل شود. پروتامین یک مثال از آنتاگونیست‌های شیمیائی غیر وابسته به گیرنده است. این پروتئین به دسته‌ای از هپارین‌های اسیدی ضد انعقادی متصل و باعث غیر فعال سازی این عامل می‌شود. به همین دلیل از پروتامین جهت مهار فعالیت هپارین استفاده می‌شود.^۴ آنتاگونیست‌های غیر وابسته به گیرنده فیزیولوژی نیز می‌توانند هم باعث ممانعت گیرنده‌ای شوند که پاسخ فیزیولوژی گیرنده برای آگونیست را ایجاد می‌کند و هم باعث فعال شدن گیرنده دیگری می‌شود که عملکرد فیزیولوژیکی بر خلاف گیرنده آگونیست مورد نظر را دارد. مثالی از این نوع آنتاگونیست‌ها در درمان هیپرتیروئیدیسم مورد استفاده قرار می‌گیرد. آنتاگونیست‌های بتا

ارتباط کمی ساختار-فعالیت روش بسیار گسترده‌ای در پروسه طراحی دارو و به خصوص آنتاگونیست‌ها است. در این روش از ابزارهای آماری و تجزیه و تحلیل ساختارها برای پی بردن به ساختار لیگاندها و اثرات وابسته به آنها استفاده می‌شود.^۹

۲-۱ شبیه سازی پویای مولکولی لیگاند طراحی شده

یکی از اصلی‌ترین مراحل در مطالعات تئوری طراحی دارو یا یک لیگاند، بررسی پویا مولکولی ترکیب مورد نظر است. به علت این که سیستم‌های مولکولی عموماً حاوی اجزای متعددی می‌باشند در واقع ارزیابی این مجموعه‌های پیچیده غیر ممکن به نظر می‌آید. در طی شبیه‌سازی، به اتم‌ها و مولکول‌ها اجازه داده می‌شود که در دوره‌ای از زمان آزمایش با یکدیگر تعامل داشته باشند.^{۱۰}

۲- طراحی بر اساس ساختار

طراحی بر پایه ساختار راهبردی است که در طراحی ترکیبات شیمیایی جدید بر اساس ساختار سه بعدی هدف مورد نظر استفاده می‌شود. ساختار سه بعدی از مطالعاتی چون اشعه ایکس یا رزونانس هسته‌ای-مغناطیسی (NMR)ⁱⁱⁱ ناشی شده است. این طراحی هم‌چنین می‌تواند بر اساس مدل‌های همسانی پروتئینی نیز انجام شود.^۲ فرض اصلی در طراحی بر پایه ساختار این است که ممانعت‌کننده‌ای خوب باید ساختارهایی را که تصرف می‌کند از لحاظ شیمیایی مکمل گیرنده هدف باشد و اتصال بدون نقصی را فراهم آورد.^{۱۱} طراحی دارو بر اساس ساختار، فرآیندی چند مرحله‌ای است تا یک ترکیب مناسب را پیش از تولید و استفاده در مرحله اول ارزیابی کند. مرحله اول شامل کلونینگ، خالص سازی و تعیین پروتئین هدف یا اسید نوکلئیک به وسیله یکی از سه روش بلورشناسی اشعه ایکس، NMR و یا مدل‌سازی همسانی است.^{۱۰} در مرحله دوم ساختار مولکول هدف به همراه مولکول‌های انتخابی از مرحله اول با یکدیگر تقابل داده می‌شوند و در نهایت بهترین ترکیب یا ترکیباتی که اثرات مهاری را در شرایط آزمایشگاهی بروز می‌دهند، انتخاب می‌شوند و جایگاه‌هایی که قابلیت بهینه‌سازی را دارند در جهت افزایش پتانسیل اتصال لیگاند مورد تغییر قرار می‌دهند. مراحل بعدی شامل ساختن محصولات بهینه، تعیین ساختار یک هدف جدید و مجموعه محصولات به

پایدارترین پیکربندی انتخاب می‌شود.^۵ با در نظر گرفتن این دو نکته روش‌های مختلفی جهت طراحی آنتاگونیست بکار گرفته می‌شود که به طور مختصر در ذیل به آنها پرداخته خواهد شد.

۱- طراحی دارو بر اساس لیگاند

زمانی که ساختار سه بعدی گیرنده ناشناخته باشد و یا نتوان به وسیله روش‌های مدل‌سازی آنها را پیش‌بینی کرد روش طراحی دارو بر اساس لیگاند کاربردی‌تر به نظر می‌رسد و یکسری از ترکیباتی که در این طراحی دارای فعالیت شناخته می‌شوند، در مراحل بعدی مورد توجه و ارزیابی قرار می‌گیرند،^۷ این روش با استفاده از دیدگاه‌های آماری در مورد فعالیت لیگاندها و اطلاعات ساختاری است. برای استفاده از این روش به صورت موثر باید ترکیبات مشابه که دارای فعالیت بالا می‌باشند و هم‌چنین ترکیباتی که فاقد فعالیت و یا دافعه متوسطی هستند را از یکدیگر جدا کرد. در تشخیص نقشه‌برداری از جایگاه، هدف طراحی مولکول فارماکوفور است، همان‌طور که کروموفور بخشی از یک مولکول و مسوول رنگ‌زایی است فارماکوفور نیز یک چهارچوب مولکولی است که ویژگی‌های ضروری مسئول ایجاد فعالیت‌های زیستی یک دارو را حمل می‌کند که الگوی مشتق شده از ساختار این ترکیبات است و هندسه جایگاه گیرنده را به عنوان گروه‌های عملکردی در یک فضای سه بعدی ارائه می‌دهد. به علت اینکه پیکربندی فعال زیستی ترکیبات به دست آمده به صورت عمومی شناخته شده نیست، قرارگیری یک پیکربندی با سطح پائین انرژی در مورد هر ترکیب باید رعایت شود. در نهایت گروه‌های عملکردی اصلی مانند گروه‌های آبگریز و حلقه‌های آروماتیک نیز با توجه به همه پیکربندی‌های یک ترکیب باید مورد ارزیابی قرار گیرند، سپس آرایه‌های سه بعدی اصلی از مراکز توصیف‌کننده جایگاه اتصال باید به عنوان فارماکوفور در نظر گرفته شود. مدل فارماکوفور می‌تواند یک تصویرسازی خوبی از جایگاه اتصال گیرنده را در اختیار پژوهشگر قرار دهد. این الگو ممکن است به منظور توسعه‌ی ترکیبات جدید با گروه‌های عملکردی موثر مورد استفاده قرار گیرد.^۸

۱-۱ فعالیت کمی ساختار و روابط بین آنها

(QSAR)ⁱⁱ

iii-Nuclear magnetic resonance

i-Pharmacophore

ii-Quantitative structure-activity relationship

قرار می‌گیرد محاسبه می‌کند.^{۲۰} بدین طریق ساختارهایی با بالاترین کیفیت و احتمال اتصال در مدل پروتئینی معرفی می‌گردد.

۲-۳- پیش‌بینی ساختار بر اساس نقاط حساس مولکول:

روش دیگری در طراحی دارو بر اساس ساختار، تعیین جایگاه فعال آن ساختار است. جایگاه فعال می‌تواند به وسیله محل قرارگیری لیگاند در شبکه بلوری که در بلورشناسی اشعه ایکس مشخص است، اثبات شود. البته این روش برای پروتئین‌هایی که نمی‌توانند کریستاله شوند کاربرد چندانی ندارد. چندین روش همانند روش FTMAPⁱⁱⁱ برای شناسایی جایگاه‌های فعال مورد استفاده قرار می‌گیرد.^{۲۱} راهبرد اولیه این روش استفاده از قطعات کوچک پپتید مولکولی به عنوان شناساگر می‌باشد تا سطح پروتئینی را مورد پوشش قرار دهد. پیوندهای هیدروژنی مشخص و تعاملات بدون پیوند نیز می‌توانند بین پروب و پروتئین به خوبی مورد بررسی قرار بگیرد.^{۲۲،۲۳}

با توجه به تجربه و علائق نویسندگان در این قسمت طراحی آنتاگونیست برای دو هورمون لپتین و هورمون رشد و سیتوکین‌ها به صورت خلاصه مورد بررسی قرار می‌گیرد.

طراحی آنتاگونیست برای هورمون لپتین:

ویژگی‌های هورمون لپتین:

لپتین هورمونی غیرگلیکوزیله با ۱۴۶ اسیدآمین، وزن ملکولی ۱۶ کیلودالتون و ساختاری استوانه‌ای متشکل از چهار زنجیره موازی ناهمسو با اتصالات عرضی و دو لوپ متقاطع AB و CD است. این هورمون محصول کدشده ژن *ob* می‌باشد^{۲۴،۲۵،۲۶،۲۷}. گیرنده آن نیز با ۱۱۶۲ اسیدآمین توسط ژن *db* بیان می‌شود و عضوی از کلاس I خانواده گیرنده سایتوکین‌هاست و تا به حال ۶ ایزوفرم برای آن مشخص شده که از میان آن‌ها ایزوفرم LRb قادر به پیام‌رسانی کارآمد در هیپوتالاموس است و به میزان فراوان در این ناحیه از مغز که در کنترل اشتها و وزن نقش دارد، بیان می‌شود.^{۲۸،۲۹،۳۰،۳۱،۳۲،۳۳}

همچنین بررسی‌های ساختاری نشان دادند که لپتین تشابه ساختاری بالایی با سایتوکین‌های خانواده اینترلوکین ۶ و فاکتور محرک کلونی گرانولوسیت‌ها^{iv} و به میزان کمتری با دیگر سایتوکین‌های بلندزنجیره مانند هورمون رشد دارد.

دست آمده و بهینه‌سازی‌های بعدی در ترکیب اصلی دارویی است.^{۱۲} بسیاری از هدف‌های دارویی، ساختارهای پروتئینی دارند ولی طراحی آنتاگونیست بر علیه اهدافی که ساختار RNA دارند مانند ریبوزوم باکتریایی و ژنوم ویروس HIV نیز می‌تواند بسیار موثر باشد.^{۱۴،۱۳}

۱-۲- داکینگ انعطاف‌پذیرⁱ:

روش داکینگ انعطاف‌پذیر میزان انعطاف‌پذیری گیرنده را در زمان اتصال به یک لیگاند منعطف بررسی می‌کند.^{۱۵} پیکربندی زنجیره جانبی گیرنده هدف در اولین مرحله به وسیله الگوریتم ویژه به نام Chiflex محاسبه می‌شود. این الگوریتم پیکربندی‌های متفاوتی از پروتئین‌های زنجیره جانبی را پیشنهاد می‌کند. در مرحله دوم هدف فراهم آوردن پائین‌ترین سطح انرژی برای لیگاندهای موثر در فرآیند داکینگ است که در این مرحله از نرم‌افزاری مانند LibDock استفاده می‌شود.^{۱۰} مرحله‌ی بعدی حذف حالات لیگاندهای مشابه است و در مرحله آخر بهینه‌سازی و پالایش محصول نهایی مد نظر قرار می‌گیرد. در این روش می‌توان انعطاف زنجیره جانبی را به بهترین حالت پیش‌بینی کرد.^{۱۶}

۲-۲- مدل‌سازی همسانیⁱⁱ:

مدل‌سازی همسانی روشی بسیار سریع برای تعیین ساختار یک پروتئین است که نه تنها می‌تواند در طراحی منطقی دارو مورد استفاده قرار گیرد، بلکه در تعاملات پروتئین-پروتئین و جهش‌زائی مستقیم در جایگاه نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد.^{۱۰} در این روش حتی اگر ۳۰ درصد از اطلاعات ساختاری پروتئین هدف با الگو همسانی داشته باشد می‌توان همسانی را بین دو مولکول برقرار کرد. این روش طراحی در مطالعات بی‌شماری مورد استفاده قرار گرفته است.^{۱۷،۱۸} ساختار مدل‌سازی شده می‌تواند به وسیله‌ی نرم‌افزارهای مدل‌سازی فضائی به منظور بهینه‌سازی انرژی و ساختار فضائی، مورد تغییر قرار گیرد. از این قبیل نرم‌افزارها می‌توان به نرم‌افزارهای شبیه‌سازی مکانیکی مولکولی دانشگاه هاروارد (CHarm)، بسته‌ی نرم‌افزاری amber و بسته‌ی نرم‌افزاری GROMOS اشاره کرد.^{۱۹} شناخت تاخوردگی‌ها در این مرحله از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. شناخت تاخوردگی‌ها احتمالات ایجاد ساختار سه بعدی را که به وسیله توالی پروتئین در دسترس

iii - Extended protein mapping with user-selected probe molecules

iv-G-CSF: Granulocyte-Colony Stimulating Factor

i -Flexible docking

ii -Simulation modeling

در سال ۲۰۰۶ اولین کاربرد موفقیت‌آمیز آنتی‌بادی مونوکلونال به صورت آنتاگونیست علیه گیرنده‌ی لپتین انسانی در شرایط *in vivo* را گزارش کنند.^{۲۷} از سویی دیگر پیشرفت‌های اخیر در زمینه‌ی تهیه تغییر یافته‌های لپتین با ویژگی‌های آنتاگونیستی و نیز پروتئین‌هایی که مهارکننده فعالیت آن است، نیز افق نوینی در گسترش راهبردهای تهیه آنتاگونیست جهت تحقیقات و درمان فراهم آورده است.^{۲۴،۴۰} بنابراین به‌طور خلاصه و بر اساس مطالعه‌ی گزارش شده توسط زابیو و همکاران در ۲۰۱۴ می‌توان این‌گونه استنباط کرد که درحال حاضر ۴ راهبرد جهت تولید آنتاگونیست‌های لپتین استفاده می‌شود. در بخش بعدی این مطالعه‌ی مروری، به برخی از مطالعات انجام گرفته در این زمینه اشاره خواهد شد.^{۲۹}

۱- **جهش یافته‌های لپتین:** در هورمون لپتین انسانی می‌توان با استفاده از جهش‌زایی نقطه‌ایⁱⁱ SDM در توالی اسیدآمینه‌های ضروری در جایگاه اتصال هورمون به گیرنده یا فعالیت زیستی، مولکول جهش یافته ایی با ویژگی آنتاگونیستی تهیه کرد. بنابراین آنتاگونیست لپتین قادر به رقابت با لپتین درون زاد بدون فعالسازی گیرنده است.^{۲۴،۴۰} وریپلوژنⁱⁱⁱ و همکاران اولین آنتاگونیست لپتین را پیش از هرگونه اطلاع از مکانیسم پیام‌رسانی گیرنده‌ی آن طراحی کردند. آن‌ها توانستند نشان دهند که لپتین انسانی R128Q فعالیت لپتین را بدون هرگونه اتصالی در سلول‌های Ba/F3 مهار کرده است و در *in vivo* موجب افزایش وزن و هیپرانسولینمی می‌شود. البته با توجه به آن‌که جهش‌های مشابه در گوسفند و جوجه منجر به نتایج آنتاگونیستی نشد، این نظریه مطرح شد که ویژگی‌های آنتاگونیستی این جایگزینی، ویژه‌ی گونه است.^{۲۹،۴۰}

۲- **آنتاگونیست‌های پپتیدی لپتین:** تعدیل‌کننده‌های پپتیدی لپتین، پپتیدهای کوتاه مشتق شده از توالی اولیه لپتین است که می‌توانند همچون آگونیست قوی عمل کنند و یا به‌عنوان یک آنتاگونیست مورد استفاده قرار گیرند.^{۲۹،۴۰} اولین پپتید ۳۵ اسیدآمینه‌ای مشتق از لپتین، OBGRP22-56، توسط سامسون^{iv} و همکاران در ۱۹۹۶ طراحی شد.^{۴۰} گراسو^v و همکاران نیز براساس مشاهداتی که نشان‌دهنده ایجاد

گیرنده این هورمون نیز تشابه بالایی در توالی با گیرنده‌های خانواده اینترلوکین ۶ و عامل محرک کلنی گرانولوسیت نشان می‌دهد. از این رو لپتین به عنوان سایتوکین با ویژگی‌های شبه‌هورمون نیز شناخته می‌شود.^{۲۹،۳۱} که به طور عمده از آدیپوسیت‌ها (بافت سفید چربی) ترشح می‌شود.^{۲۸،۳۲،۳۸}

این هورمون به عنوان کلید مرکزی در سوخت و ساز بدن عمل می‌کند و به علت اثری که کمبود آن در اضافه وزن مفرط دارد، می‌تواند در بروز انواع سرطان از جمله پروستات، روده بزرگ، کلیه، سینه و میلوما تاثیرگذار باشد. به علاوه در رگ‌زایی، بازسازی عروق، ایمنی ذاتی و اکتسابی، فشار خون، تشکیل استخوان، میزان انسولین و تولیدمثل نیز مؤثر است.^{۳۱-۳۳، ۳۵، ۳۸، ۴۰}

از آنجایی که لپتین هورمون چندمنظوره با نقش‌های متعدد در شرایط فیزیولوژی مختلف است، طراحی آگونیست یا آنتاگونیست مناسب برای این هورمون یا گیرنده آن می‌تواند نقش ارزشمندی در درمان بیماری‌ها از جمله پاسخ‌های ایمنی کنترل‌نشده در بیماری‌های خودایمن، سرطان، فشارخون بالا و بیماری‌های قلبی و عروقی ایفا کند.^{۳۲،۳۴،۳۸} مطالعات جهش‌زایی دقیق، مدل‌سازی هومولوژی، میکروسکوپ الکترونی و SAXSⁱ انواعی از روش‌های کاربردی است که علی‌رغم عدم اطلاع دقیق از ساختار بلوری پیچیده لپتین-گیرنده، منجر به ارائه اطلاعات ارزشمند در زمینه‌ی مکانیسم فعالسازی گیرنده لپتین شد و این اطلاعات امکان طراحی انواع مختلفی از آنتاگونیست‌های لپتین و گیرنده‌ی آن را با اثربخشی در دو سطح *in vivo* و *in vitro* فراهم کرده است.^{۳۶،۳۷،۳۹،۴۱}

اما علاوه بر آگاهی از مکانیسم دقیق فعالسازی، ویژگی عملکرد متنوع ذکرشده برای این هورمون یکی دیگر از نکات قابل‌توجه در طراحی آنتاگونیست مناسب است و هرگونه تلاش جهت مهار عملکرد خاصی از آن باید به گونه‌ای دقیق برنامه‌ریزی شود که دیگر فعالیت‌های آن را تحت تاثیر قرار ندهد و منجر به عوارض نامطلوب نشود. بر این اساس تکنولوژی آنتی‌بادی نو ترکیب و توانایی دست‌کاری ژنتیکی به‌منظور هدف قرار دادن اپی‌توپ‌های اختصاصی در بافت هدف و عدم اثرگذاری بر دیگر گیرنده‌های هورمونی، می‌تواند یکی از راهبردهای مهم در طراحی آنتاگونیست مناسب در نظر گرفته شود.^{۲۴} به‌طوری‌که فاضلی و همکاران توانستند

ii-Site-directed mutagenesis

iii-Verploegen

iv-Samson

v-Grasso

i-Small-angle X-ray Scattering (SAXS)

ماکروفازها واسطه‌ی فعالیت‌های لپتین می‌باشند، در حالی که تصور بر آن است که گیرنده‌ی لپتین محلول^۱ (Ob-Re) که توسط چندین نوع سلول در بدن بیان می‌شود واسطه‌ی انتقال و تخریب لپتین است.^{۳۰} ارتباط معکوس قوی میان سطوح گیرنده‌ی لپتین محلول پلاسمایی و خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ در میان بیماران اشاره به نقش مهم این گیرنده در تعدیل فعالیت لپتین دارد.^{۳۴} به علاوه بررسی اثر مهار گیرنده‌ی لپتین در خون بر فعالیت زیستی لپتین در مدل‌های حیوانی و سلولی مختلف بیانگر امکان بهره‌گیری از تغییر یافته‌های محلول قابل رقابت با گیرنده غشایی به عنوان یکی از راهبرد-های مهار عملکرد لپتین است که با توجه به مشاهدات اندک در زمینه بررسی این اثر آنتاگونیستی، مطالعات بیشتر در این زمینه می‌تواند به تعیین قطعیت این اثر مهار کمکی نماید.^{۳۴،۳۹،۴۰}

طراحی آنتاگونیست برای هورمون رشد:

هورمون رشد: هورمون رشد یک پلی‌پپتید متشکل از ۱۹۱ اسید آمینه است که در ساختمان آن دو پیوند دی سولفیدی وجود دارد. ساختمان هورمون رشد در گونه‌های مختلف جانوران متفاوت است. هورمون رشد از قسمت قدامی غده هیپوفیز ترشح می‌شود. این بخش قدامی در انسان ۷۰ درصد وزن غده را تشکیل می‌دهد و محل سنتز و ترشح چندین هورمون است که بیشتر عمل تحریک و تنظیم ترشحات سایر غدد درون‌ریز را به عهده دارند و به همین جهت آن‌ها را هورمون‌های محرک می‌نامند.^{۴۲} عوامل موثر در ترشح هورمون رشد عبارتند از: شوک و تنش‌های عصبی، درد، سرما، عمل جراحی، گرسنگی، هیپوگلیسمی، ورزش، خوردن غذاهای پروتئینی و نهایتاً اسید آمینه آرژینین. اثرات کلیه‌ی عوامل مورد اشاره با توجه به خاصیت فیزیولوژی بسیار مهم هورمون رشد که همواره از مصرف گلوکز در بدن جلوگیری می‌کند، توجیه‌پذیر است، زیرا به هنگام وقوع شوک عصبی، هیپوگلیسمی، گرسنگی و خواب، هورمون رشد از یک سو با بکار انداختن واکنش‌های لیپولیز مقدار بیشتری اسیدهای چرب آزاد را به سلول می‌رساند و از سوی دیگر ورود اسیدهای آمینه به داخل سلول را افزایش می‌دهد تا به این ترتیب از مصرف گلوکز جلوگیری کند و آن را برای نیازهای سلول‌های مغزی حفظ کند.^{۴۴،۵۵}

پروتئین نابالغ طی جهش در کدون ۱۰۵ مربوط به اسید آمینه آرژینین است، با انتخاب توالی اسید آمینه‌های ۱۰۶ تا ۱۶۷ موفق به طراحی ۶ پپتید شدند که از میان آن‌ها -LEP-116 در 130 حیوانات با کمبود لپتین موجب کاهش جذب مواد غذایی، سطح گلوکز و وزن بدن می‌شود. مطالعات تکمیلی بر رت‌های *db/db* نشان داد که مشاهده این اثرات نیازمند میانکنش با فرم طویل گیرنده لپتین نمی‌باشد و نقش -LEP-116-130 در تشکیل هورمون جسم زرد (LH) و ترشح پرولاکتین (PRL) در رت‌های دارای رژیم غذایی به اثبات رسید.^{۴۰}

۳- نانوبادی و آنتی‌بادی‌های گیرنده لپتین: استفاده

مستقیم از آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده علیه لیگاند یا گیرنده هورمون‌ها، روش مؤثر و کلاسیک تداخل با پیام‌رسانی آن‌ها به‌شمار می‌رود چراکه با میل ترکیبی و اختصاصیت بالا اتصال می‌یابند.^{۳۹،۴۰} به طوری که این روش در طراحی ترکیبات با ویژگی‌های آنتاگونیستی برای لپتین به عنوان گزینه‌ای درمانی جهت بیماری‌های خودایمن و دیگر اختلالات گسترش یافته^{۳۴،۴۰} و طراحی آنتی‌بادی علیه لپتین یا گیرنده آن از ابزارهای قدرتمند در مطالعه‌ی نقش لپتین در مولتیپل اسکروزیس است. آنتی‌بادی‌ها با خاصیت ممانعت‌کنندگی گیرنده لپتین و جلوگیری از اثرات آن بر روی سلول‌های حساس به لپتین برای اولین بار توسط فاضلی و همکاران معرفی شدند.^{۳۷}

نانوبادی‌ها، از ناحیه متغیر زنجیره‌ی سنگین آنتی‌بادی-های منحصراً به فرد شتر جداسازی و کلون شده می‌باشند. این ترکیبات جایگزین بارزنی برای آنتی‌بادی‌های کلاسیک محسوب می‌شوند.^{۳۸-۴۰} از مزیت‌های آن‌ها نسبت به آنتی-بادی‌های کلاسیک می‌توان به نفوذ بافتی، پایداری، سهولت دستکاری ژنتیکی و بیان در باکتری‌ها اشاره کرد.^{۳۸-۴۰} در این میان بابائی و همکاران با استفاده از قطعات کوچک آنتی‌بادی بر علیه گیرنده‌ی لپتین و گیرنده‌ی CD4 انسانی طراحی و تولید یک آنتی‌بادی با ویژگی دوگانه بر علیه این دو گیرنده را ارائه کردند. این ترکیب می‌تواند باعث مهار فعالیت لپتین به طور کاملاً اختصاصی بر روی گروهی از سلول‌های مورد نظر شود و به این ترتیب مانع اثرات جانبی غیر اختصاصی یک آنتاگونیست عمومی لپتین می‌شود.^{۴۱}

۴- تغییر یافته‌های گیرنده لپتین محلول: مطالعات

مختلف حاکی از آن بوده که گیرنده لپتین بیان شده در سلول-های اندوتلیال، لکوسیت‌ها، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و

هورمون در رشد بدن با دخالت پروتئین واسطی به نام فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1) و یا سوماتومدین-C اعمال اثر می‌کند. این پروتئین واسطی از خانواده‌ی عوامل شبه انسولین و از نظر ساختمانی شبیه پروانسولین است.^{۴۷} کمبود ترشح هورمون رشد به ویژه در دوران کودکی، حائز اهمیت زیادی است زیرا سبب متوقف شدن رشد طبیعی کودک و کوتاه قدیⁱ می‌شود. افزایش ترشح هورمون رشد اگر در سنین کودکی رخ دهد یعنی در زمانی که هنوز انتهای اپی فیزی استخوان‌های طویل بسته نشده‌اند، سبب رشد مازاد استخوان‌های طویل و رشدی بیشتر از حالت طبیعی خواهد شد و بیماری بلند قدی و یا غول پیکریⁱⁱ بروز می‌کند. اگر افزایش ترشح هورمون رشد پس از دوران بلوغ رخ دهد موجب رشد غیر طبیعی قطری استخوان‌های جمجمه، صورت، پیشانی، فک‌ها و دست که ممکن است منجر به برخی عوارض متابولسمی و درشت پیکریⁱⁱⁱ شود و همچنین با برخی عوارض متابولسمی و حتی دیابت قندی همراه باشد.^{۴۲}

آنتاگونیست‌های هورمون رشد: درک درست از وقایع مولکولی درگیر در تعامل بین هورمون رشد و گیرنده آن منجر به طراحی و تولید سریع یک آنتاگونیست هورمون رشد برای استفاده در بیمارانی با ترشح بیش از حد هورمون رشد شده است. طراحی و استفاده از آنتاگونیست و آگونیست‌های هورمون رشد تابع فهم اولیه از مناطق خاص این مولکول است که از طریق homolog-scanning mutagenesis شناسایی و سه ناحیه اصلی در هورمون رشد تشخیص داده شد.^{۴۰} هم‌اکنون آنتاگونیست طراحی شده بر علیه هورمون رشد برای درمان بیماری ناشی از افزایش تولید هورمون رشد در بدن مانند آکرومگالی در بیماران مصرف می‌شود.^{۴۲}

آکرومگالی یک اختلال ناتوان کننده مزمن ناشی از ترشح بیش از حد هورمون رشد و در نتیجه افزایش در تولید فاکتور رشد شبه انسولین (IGF- I) است. بیماران آکرومگال با جراحی، پرتودرمانی، و دارو برای کاهش ترشح زیاد هورمون رشد درمان می‌شوند اما در برخی موارد درمان ممکن است بی‌اثر و دارای عوارض جانبی باشد.^{۴۰} ترکیب Pegvisomant یک هورمون رشد جهش یافته و آنتاگونیست

گیرنده هورمون رشد است و یک پروتئین با منشأ DNA نوترکیب حاوی ۱۹۱ اسید آمینه که چند پلیمر پلی اتیلن گلیکول به صورت کووالان به آن متصل شده‌اند. این اتصال سبب می‌شود پاک‌سازی آن‌ها از خون به کندی انجام شود. علاوه بر آن رخداد تغییر اسید آمینه در محل اتصال نشان ۲ (G120R) سبب افزایش میل اتصال می‌شود. این پروتئین تغییر یافته به صورت نوترکیب در باکتری *E.coli* تولید شده است و پلیمرهای پلی اتیلن گلیکول به صورت شیمیایی اضافه شده‌اند.^{۴۹}

جهت بررسی اولیه عملکرد Pegvisomant در مطالعات جداگانه‌ای بر روی میمون‌های رزوس و خرگوش صورت گرفت و نتیجه‌ی عمل، کاهش زیاد IGF-I و دیگر عوامل وابسته به هورمون رشد بودند.^{۵۳،۵۴}

سوماتواستاتین^{iv}، هورمونی است که باعث مهار ترشح بسیاری از هورمون‌ها از جمله هورمون رشد از غده هیپوفیز می‌شود. این هورمون، یک هورمون پپتیدی دارای ۱۴ تا ۲۸ اسیدآمینه است که در دستگاه گوارش از معده، روده و لوزالمعده و همچنین در سیستم عصبی مرکزی (مغز و هیپوتالاموس) ترشح می‌شود. سوماتواستاتین یا هورمون مهارکننده هورمون رشد (GHIH)^v، با تاثیر بر گیرنده‌های خود در هیپوفیز موجب مهار ترشح هورمون رشد و هورمون محرکه تیروئید می‌شود. آنالوگ سوماتواستاتین برای اولین بار در دهه ۱۹۸۰، به طور گسترده‌ای در درمان آکرومگالی استفاده شده است. پنج زیرگروه گیرنده سوماتواستاتین مختلف شناسایی شده است که با عنوان sst1-sst5 بیان می‌شوند.^{۵۰} ترشح هورمون رشد در جنین انسان توسط سلول‌های سوماتوتورف توسط گیرنده sst2 و sst5 تنظیم می‌شود. اولین آنالوگ سوماتواستاتین که جهت استفاده کلینیکی مطرح شد Octreotide SC بوده است.^{۴۸}

آنتاگونیست‌های سیتوکین‌ها

ویژگی سیتوکین: سیتوکین‌ها خانواده‌ی بزرگی از پروتئین‌های محلول و گلیکوپروتئینی هستند که به عنوان تعدیل‌کننده سیستم ایمنی بدن عمل می‌کنند.^{۵۱} سیتوکین‌ها به عنوان واسطه‌های تمایز سلولی، التهاب، و تنظیم‌کنندگان پاسخ ایمنی می‌باشند.^{۵۷} آن‌ها شامل اینترلوکین‌ها (ILs)، اینترفرون‌ها (IFNs)، فاکتورهای رشد، عوامل محرک کلونی (CSF)، خانواده فاکتورهای نکروزکننده توموری

i- Dwarfism
ii-Gigantism
iii-Acromegaly

iv-Somatostatin
v-Growth hormone- inhibiting hormone (GHIH)

4R) می‌شود که هیچ‌گونه فعالیت زیستی ندارد و بطور کامل سیگنالینگ IL-4 را مهار می‌نماید. بنابراین به طور کلی می‌توان گفت آنتاگونیست‌های سیتوکین با بکارگیری تغییرات بسیار کوچک در مولکول اصلی قابل طراحی است به طوری‌که به یک قسمت از گیرنده متصل شود ولی به قسمت‌های دیگر گیرنده که برای ارسال عملکرد ضروری است متصل نشود.^{۶۱}

۲- آنتی‌بادی‌های مهارتی

بر هم کنش بین سیتوکین- گیرنده با اتصال آنتی‌بادی‌های اختصاصی در محل یا نزدیکی محل اتصال سیتوکین و گیرنده قابل جلوگیری است. این آنتی‌بادی‌های مهارتی ممکن است علیه لیگاند یا گیرنده تهیه شوند و تاکنون آنتی‌بادی‌های مهارتی علیه اینترلوکین ۴ (IL-4) و زنجیره آلفا گیرنده اینترلوکین ۴ (IL-4Rα) توسعه یافته است که در *in vitro* و در مدل‌های موشی آلوده به انگل و آلرژی موثر بوده‌اند. آنتی‌بادی ضد اینترلوکین ۴ می‌تواند موجب افزایش اثر زیستی اینترلوکین ۴ شوند. اتصال به این گونه آنتی‌بادی‌ها موجب جلوگیری از تماس اینترلوکین ۴ با گیرنده خود می‌شود اما این مهار اتصال برگشت‌ناپذیر نمی‌باشد به طوری‌که سیتوکین و آنتی‌بادی ممکن است دوباره از یکدیگر جدا شوند. اتصال آنتی‌بادی نیمه عمر اینترلوکین ۴ را با جلوگیری از تجزیه پروتئولیتیک سیتوکین و اهرسته کردن پاکسازی آن به تاخیر می‌اندازد. در مقابل، مهارکننده گیرنده اینترلوکین ۴ همیشه مهار کننده است مگر این که یک تلاش آگاهانه برای القاء هوموایمیزاسیون گیرنده صورت گیرد که ممکن است منجر به فعال شدن غیرفیزیولوژیکی گیرنده شود.^{۶۲}

۳- آنتاگونیست‌های پپتیدی و غیرپپتیدی

مولکول‌های غیرپپتیدی کوچک و احتمالاً خوراکی فعال به عنوان آنتاگونیست‌های ایده‌آل در نظر گرفته می‌شوند باوجوداین، تا به امروز تنها آنتاگونیست موثر تولید شده ایزوتیازولون A است که با تداخل در مسیر انتقال پیام IL-5 به گیرنده‌ی آن متصل می‌شود.^{۶۴}

علاوه بر این تعدادی از پروتئین‌های مهارکننده فعالیت زیستی سیتوکین‌ها گزارش شده است. این پروتئین‌ها به یکی از دو روش زیر عمل می‌کنند: آن‌هایی که به طور مستقیم به گیرنده سیتوکین متصل شده ولی موفق به فعال کردن سلول نیستند و دسته دوم به طور مستقیم به یک سیتوکین متصل می‌شوند و مهار فعالیت آن را موجب می‌شوند. بهترین

(TNF) و کموکاین‌ها می‌باشند. سیتوکین‌ها می‌توانند به صورت اتوکراین، پاراکراین و یا اندوکراین سبب تحریک و یا سرکوب فعالیت جمعیت سلول‌های هدف گردند. در واقع پیام‌های تولید شده توسط سیتوکین‌ها برای تولید، بقا و هموستاز سلول‌های ایمنی، و همچنین برای ایجاد پاسخ ایمنی برعلیه محرک‌های خارجی ضروری است.^{۶۵} به علت نقش حیاتی آن‌ها به عنوان تعدیل کننده‌های ایمنی، بسیاری از سیتوکین‌ها کاندیدای درمانی مناسبی برای تعدادی از عفونت‌ها، التهاب، خودایمنی و بیماری‌های بدخیم شناخته شده‌اند.^{۶۸}

توسعه‌ی آنتاگونیست سیتوکین:

سیتوکین‌ها به گیرنده‌های اختصاصی بر روی غشاء سلول‌های هدف متصل می‌شوند و با تحریک مسیرهای انتقال‌دهنده پیام در نهایت موجب تغییر بیان ژن در سلول‌های هدف خواهند شد،^{۶۹} از این رو اختلال در اتصال سیتوکین به زیرواحدهای گیرنده‌ی سیگنالینگ روشی مفید برای توسعه‌ی آنتاگونیست با پتانسیل درمانی است.^{۶۸} این امر با اتخاذ راهبردهای ذکر شده در ذیل قابل انجام است:

۱- تهیه‌ی سیتوکین‌های تغییر یافته

در این روش آنتاگونیست سیتوکین به وسیله‌ی ایجاد جهش در خود سیتوکین و در محل اتصال سیتوکین به گیرنده آن تولید می‌شود. به طوری‌که سیتوکین قادر به اتصال به زیر واحد گیرنده هستند، اما قادر به اتصال به زیرواحدهای دیگری نیستند و این جهش یافته‌های آنتاگونیستی موجب فعال شدن گیرنده نمی‌شوند و مهارکننده‌های بسیار اختصاصی هستند به طوری‌که مانع تعامل بین سیتوکین و گیرنده آن خواهند شد. این کار نیاز به شناخت کافی از ساختار و نحوه اتصال سیتوکین و گیرنده آن دارد.^{۶۷} تا کنون با این روش (جهش در اسید آمینه مربوط به جایگاه اتصال) در مورد اینترلوکین ۴ (IL-4) یک تغییر یافته‌ی آنتاگونیستی با نام Pitracinra طراحی شده است. آزمایشات نشان داد که این آنتاگونیست به زنجیره آلفا گیرنده‌ی اینترلوکین ۴ یا IL-4Rα متصل شده‌اند اما به زیرواحد دیگری از این گیرنده متصل نمی‌شوند. جهت طراحی این تغییر یافته، جهش در ۳ اسید آمینه واقع در نزدیکی انتهای C صورت گرفته شده است که شامل: R121، Y124 و S125 هستند. جهش همزمان R121 و Y124 به اسید آمینه آسپارتیک (R121D/ Y124D) موجب ایجاد پروتئینی با میل ترکیب بالای اتصال برای گیرنده IL-4 (IL-

نتیجه‌گیری

با توجه به مطالب ارائه شده در بخش مقدمه و راهبردهای معرفی شده در جهت طراحی یک آنتاگونیست مناسب بر علیه گیرنده‌های موجود در سطح بدن به آسانی می‌توان دریافت که طراحی آنتاگونیست در محیط‌های شبیه‌سازی شده نقش اساسی در طراحی دارو را بر عهده دارد. پیچیدگی‌ها و انعطاف‌های موجود در طراحی دارو بر اساس ساختار و داکینگ مولکولی و همچنین طراحی آنتاگونیستی بر اساس لیگاند مورد نظر این امکان را به محقق می‌دهد که به واسطه این فناوری در حال پیشرفت بتواند از یک اسکلت دارویی طراحی شده ساختارهایی را بر علیه گیرنده‌های مختلف مانند گیرنده‌های برخی سایتوکاین‌ها و برخی هورمون‌ها مانند لپتین و یا بر علیه خود سایتوکاین ترشح شده مشتق شود. این حقیقتی غیرقابل انکار است که طراحی دارو در سال‌های آتی به وسیله سیستم‌های رایانه‌ای حرف اول را در صنعت داروسازی و به خصوص در طراحی آنتاگونیست‌ها، سوپراآنتاگونیست‌ها و آگونیست‌ها خواهد زد. در حال حاضر انواع مختلفی از آنتاگونیست‌ها و آگونیست‌ها برای هورمون و سایتوکاین‌ها در دسترس است تفاوت اندکی بین آن‌ها از نظر میزان اثر و ایمنی وجود دارد. این آنتاگونیست‌ها به صورت مولکول‌های متصل شونده به گیرنده از قبیل: IL-1ra برای سایتوکین و یا آنتی‌بادی‌های ضدگیرنده است. این عوامل می‌توانند به طور بالقوه روشی را جهت حفاظت و درمان انسان را در شرایط و بیماری‌هایی که ناشی از درگیری یک هورمون یا سایتوکین مشخصی است را فراهم کند.

آنتاگونیست‌هایی که با روش‌های گفته شده طراحی و تولید شده‌اند هم اکنون با قیمت‌های بسیار بالا برای درمان تعدادی از بیماری‌ها در بازار وجود دارد. با توجه به موفقیت درمانی آن‌ها و ارزش افزوده فراوان، گروه‌های تحقیقاتی زیادی در دنیا در حال کار برای تولید آنتی‌آگونیست‌های جدید می‌باشند. به طور قطعی در آینده نه چندان دور نسل جدیدی از آنتی‌آگونیست‌ها برای درمان بیماری‌های مختلف در دسترس بشر قرار خواهد گرفت.

مهارکننده مشخص شده در این زمینه آنتاگونیست گیرنده IL-1 (IL-1Ra) است که به گیرنده IL-1 متصل می‌شود اما فعالیتی ندارد. اتصال این آنتاگونیست به گیرنده IL-1 اتصال هر دو IL-1 و IL-1 α را مهار می‌کند. تصور بر این است که تولید این آنتاگونیست نقش مهمی را در تنظیم شدت پاسخ التهابی ایفا می‌کند. این مولکول کلون شده است و به تازگی به عنوان یک درمان بالقوه برای بیماری‌های التهابی مزمن مورد بررسی قرار گرفته است.^۹ در جدول ۱ به آنتاگونیست طراحی شده برای TNF- α و IL-1 با بکارگیری راهبردهای فوق پرداخته شده است زیرا مشاهده شده که برای بسیاری از بیماری‌های التهابی و روماتوئیدی ترکیبات ضد فاکتور نکروزدهنده تومور (TNF) و ضد اینترلوکین ۱ موثر هستند و هم اکنون به عنوان اولین خط دفاعی برای بسیاری از این‌گونه آسیب‌ها پیشنهاد شده‌اند.

جدول ۱- فهرست انواع آنتاگونیست‌های طراحی شده علیه برخی از سایتوکین‌ها

سیتوکین	آنتاگونیست
TNF- α	آنتی‌بادی‌های مونوکلونال علیه TNF- α انسانی نوترکیب (Infiximab, Adalimumab و غیره) ^{۶۰}
	پروتئین فیوژن نوترکیب بین گیرنده TNF- α محلول و ناحیه ثابت ایمونوگلوبولین G1 (Etanercept) ^{۶۰}
	آنتاگونیست گیرنده TNF از نوع آنتی‌بادی تک زنجیره ^{۶۱} و یک کلاس مولکول کوچک قابل نفوذ به غشاء (Triazoloquinolines) ^{۶۰}
IL-1	آنتاگونیست گیرنده اینترلوکین ۱ (IL-1ra) که همچنین به عنوان IL-1RN شناخته شده است. ^{۶۲}
	پروتئین فیوژن Rilonacept ^{۶۳} IL-1R1-IL-1RAcP که همچنین Rilonacept هم نامیده می‌شود.
	چندین آنتاگونیست بر اساس نئوبادی که شامل: آنتی‌بادی ضد IL-1 β (Canakinumab و Gevokizumab نام دارند)، آنتی‌بادی ضد IL-1 α/β ، آنتی‌بادی ضد IL-1 RTI (AMGEN 108) نامیده می‌شود) و آنتی‌بادی ضد IL-1 RAcP ^{۶۴}
	همانند TNF، مولکول‌های کوچک غیر رقابتی و آنتاگونیست گیرنده اینترلوکین ۱ طراحی شده است اما هنوز کاربرد کلینیکی نداشته‌اند

آنتاگونیست‌های TNF- α در حال حاضر روش درمانی استاندارد در روماتولوژی هستند.^{۶۵}

آنتاگونیست‌های اینترلوکین ۱ در درمان در بیماری آرتریت روماتوئید به کار گرفته شده‌اند و استفاده از آن‌ها موجب بهبود قند خون و عملکرد سلول‌های بتا در بیماران دیابتی می‌گردد.^{۶۶}

i -Interleukin-1 receptor accessory protein
ii -Interleukine-1 receptor type I

References

- Golan D, Tashjian A, editors. Principles of pharmacology: the pathophysiologic basis of drug therapy, Lippincott Williams & Wilkins; 2011.
- Shannon M, Borron S, Burns M, editors. Haddad and Winchester's clinical management of poisoning and drug overdose; 2007.
- Van de Waterbeemd H, Carter R, Grassy G, Kubinyi H, Martin Y, Tute M, et al. Glossary of terms used in computational drug design. Pure and applied chemistry 1997; 69: 1137-52.
- Coggin MH, Brecher AS. The Modification of Xa-ATIII-Heparin Dynamics by Protamine Sulfate. ISRN Cell Biology; 2012.
- Jensen KJ. Peptide and protein design for biopharmaceutical applications, Wiley Online Library; 2002.
- Deschamps J. R. and George C. Structural Studies of Opioid Peptides: A Review of Recent. Biopolymers (Peptide Science) 1996; 40: 1-139.
- Cohen NC, Blaney JM, Humblet C, Gund P, Barry D. C. Molecular modeling software and methods for medicinal chemistry. Journal of Medicinal Chemistry 1990; 33: 883-94.
- Stromgaard K, Krogsgaard-Larsen P, Madsen U. Textbook of drug design and discovery. CRC Press; 2009.
- Clayton JM, Purcell WP. Hansch and Free-Wilson analyses of inhibitory potencies of some 1-decyl-3-carbamoylpiperidines against butyrylcholinesterase and comparison of the two methods. Journal of medicinal chemistry 1996; 12: 1087-8.
- Huang HJ, Yu HW, Chen CY, Hsu C, Chen HY, Lee K J. Current developments of computer-aided drug design. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers 2010; 41: 623-35.
- Kuntz ID. Structure-based strategies for drug design and discovery. Science 1992; 257: 1078-82.
- Goodsell DS, Olson AJ. Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics 1990; 8: 195-202.
- Afshar M, Prescott CD, Varani G. Structure-based and combinatorial search for new RNA binding drugs. Current opinion in biotechnology 1999; 10: 59-63.
- Gallego J, Varani G. Targeting RNA with small-molecule drugs: therapeutic promise and chemical challenges. Accounts of Chemical Research 2001; 34: 836-43.
- Koska J, Spassov VZ, Maynard AJ, Yan L, Austin N, Filok PK, et al. Fully automated molecular mechanics based induced fit protein-ligand docking method." Journal of chemical information and modeling 2008; 48: 1965-73.
- Braun GH, Jorge DM, Ramos HP, Alves RM, Da Silva VB, Giuliani S, et al. Molecular dynamics, flexible docking, virtual screening, ADMET predictions, and molecular interaction field studies to design novel potential MAO-B inhibitors. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics 2008; 25: 347-55.
- Chen C. YC. Discovery of novel inhibitors for c-Met by virtual screening and pharmacophore analysis. Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers 2008; 39: 617-24.
- Chen C. YC. Chemoinformatics and pharmacoinformatics approach for exploring the GABA-A agonist from Chinese herb suanzaoren. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers 2009; 40: 36-47.
- Payne MC, Teter MP, Allan DC, Arias TA, Joannopoulos JD. Iterative minimization techniques for ab initio total-energy calculations: molecular dynamics and conjugate gradients. Reviews of Modern Physics 1992; 64: 1045-10.
- Mishra S. Function prediction of Rv0079, a hypothetical Mycobacterium tuberculosis DosR regulon protein. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics 2009; 27: 83-291.
- Brenke R, Kozakov D, Chuang G.-Y, Beglov D, Hall D, Landon M. R, et al. Fragment-based identification of druggable 'hot spots' of proteins using Fourier domain correlation techniques. Bioinformatics 2009; 25: 621-27.
- Allen KN, Bellamacina CR, Ding X, Jeffery CJ, Mattos C, Petsko GA, et al. An experimental approach to mapping the binding surfaces of crystalline proteins. The Journal of Physical Chemistry 1996; 100: 2605-11.
- Mattos C, Bellamacina CR, Peisach E, Pereira A, Vitkup D, Petsko GA, et al. Multiple solvent crystal structures: probing binding sites, plasticity and hydration. Journal of molecular biology 2006; 357: 1471-82.
- Babaei A, Zarkesh-Esfahani H, Bahrami E, J. Ross R. Restricted leptin antagonism as a therapeutic approach to treatment of autoimmune diseases. Hormones 2011; 10: 16-26.
- Beccari S, Kovalszky I, D. Wade J, Otvos L, Surmacz E. Designer peptide antagonist of the leptin receptor with peripheral antineoplastic activity. Peptides 2013; 44: 127-34.
- Catalano S, Leggio A, Barone I, DeMarco R, Gelsomino L, Campana A, et al. A novel leptin antagonist peptide inhibits breast cancer growth in vitro and in vivo. J cell Mol Med 2015; 19: 1122-32.
- Gregoraszcuk EL, Rak A. Superactive human leptin antagonist reverses leptin-induced excessive progesterone and testosterone secretion in porcine ovarian follicles by blocking leptin receptors. J Physiol Pharmacol 2015; 66: 39-46.
- Haghjooy Javanmard Sh, Khorshidi Behzadi M, Amjadi F, Khazaei M, Zarkesh-Esfahani H. Leptin Enhances Melanoma Tumor Growth by Increasing Endothelial Progenitor Cells. J Isfahan Med Sch 2012; 29: 2653-61. [Farsi]
- Moharana K, Zabeau L, Peelman F, Ringler Ph, Stahberg H, Tavernier J, et al. Structural and Mechanistic Paradigm of Leptin Receptor Activation Revealed by Complexes with Wild-Type and Antagonist Leptins. Structure 2014; 22: 866-77.
- Momajadi L, Zarkesh-Esfahani H, Rabbani M, Emamzadeh R, Safari F, Babaei A. Optimization of Production and Characterization of a Tandem Single Chain Fragment Variable (taFv) against Human Leptin Receptor and Anti-Human CD4. J Isfahan Med Sch 2015; 33: 1740-51. [Farsi]
- Peelman F, VanBeneden K, Zabeau L, Iserentan H, Ulrichs P, Defeau D, et al. Mapping of the Leptin Binding Sites and Design of a Leptin Antagonist. J Biol Chem 2004; 279: 41038-46.
- Peelman F, Zabeau L, Moharana K, N. Savvides S, Tavernier J. Insights into signaling assemblies of the leptin receptor. J Endocrinol 2014; 223: 9-23.
- Roujeau C, Jockers R, Dam J. New pharmacological perspectives for the leptin receptor in the treatment of obesity. Frontiers in Endocrinology 2014; 5: 1-13.
- Schaab M, Kausch H, Klammt J, Nowicki M, Anderegg U, Gebhardt R, Rose-John S, et al. Novel Regulatory Mechanisms for Generation of the Soluble Leptin

- Receptor: Implications for Leptin Action. *Plos on* 2012; 7: e34787.
35. Shapiro N, V.Khankin E, VanMeurs M, Shih S, Lu Sh, Yano M, et al. Leptin Exacerbates Sepsis-Mediated Morbidity and Mortality. *J Immunol* 2010; 185:517-24.
 36. Shpilman M, Niv-Spector L, Katz M, Varol Ch, Solomon G, Ayalon-Soffer M, et al. Development and Characterization of High Affinity Leptins and Leptin Antagonists. *J Biol Chem* 2011; 286: 4429-42.
 37. Fazeli M, Zarkesh- Esfahani H, Wu ZD, et al. Identification of a monoclonal antibody against the leptin receptor that acts as an antagonist and blocks human monocyte and T cell activation, *Immunology Methods* 2006; 312: 190- 200.
 38. Zabeau I, Verhee A, Catteuw D, Faes L, Seeuws S, Decruy T, et al. Selection of non-competitive leptin antagonists using a random nanobody-based approach. *Biochem J* 2012; 441: 425-34.
 39. Zabeau L, Peelman F, Tavernier J. Antagonizing leptin: current status and future directions. *Biol chem* 2014; 395: 499-514.
 40. Zabeau L, Peelman F, Tavernier J. Leptin: From structural insights to the design of antagonists. *Life Sci J* 2015; 140: 49-56.
 41. Babaei A, Zarkesh-Esfahani H, Gharagozloo M. Production of a Recombinant Anti-Human CD4 Single-Chain Variable Fragment Antibody Using Phage Display Technology and Its Expression in *Escherichia coli*. *Microbiology and Biotechnology*. 2011; 21: 529-35.
 42. Cook DM, Yuen KC, Biller BM, Kemp SF, Vance ML. American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for Growth Hormone Use in Growth Hormone-Deficient Adults and Transition Patients – 2009 Update. *Endocrine Practice*. 2009; 15: 1-29.
 43. Dominici FP, Argentino DP, Munoz MC, Miquet JG, Sotelo AI, Turyn D. Influence of the crosstalk between growth hormone and insulin signalling on the modulation of insulin sensitivity. *Growth Horm IGF Res* 2005; 15: 324-36.
 44. Salgin B, Marcovecchio M, Williams Rachel, et al. Effects of Growth Hormone and Free Fatty Acids on Insulin Sensitivity in Patients with Type 1 Diabetes. *Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 3297–305.
 45. Goosens k. Use of Antagonists or Agonists of Growth Hormone or Growth Hormone Receptor to Prevent or Treat Stress-Sensitive Psychiatric Illness. *Molecular Psychiatry* 2014; 19: 1284-94.
 46. Trainer P, Drake W, Katznelson L, et al. Treatment of acromegaly with the growth hormone–receptor antagonist Pegvisomant. *The New England Journal of Medicine* 2000; 342: 1171-7.
 47. Abs R, Verhelst J, Maiter D, Van Acker K, Nobels F, Coolens JL, et al. Cabergoline in the treatment of acromegaly: a study in 64 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 374–78.
 48. Grass P, Marbach P, Bruns C, Lancranjan I. Sandostatin LAR (microencapsulated octreotide acetate) in acromegaly: pharmacokinetic and pharmacodynamic relationships. *Metabolism* 1996; 45: 127-30.
 49. Kopchick J, Discovery and mechanism of action of pegvisomant. *European Journal of Endocrinology* 2003; 148: 21-5.
 50. Thodou E, Kontogeorgos G, Theodossiou D, Pateraki M. Mapping of somatostatin receptor types in GH or/and PRL producing pituitary adenomas. *J Clin Pathol* 2006; 59: 274-9.
 51. Bass SH, Mulkerrin MG, Wells JA. A systematic mutational analysis of hormone-binding determinants in the human growth hormone receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 4498–502.
 52. Clark R, Olson K, Fuh G, Marian M, Mortensen D, Teshima G, Chang S, et al. Long-acting growth hormones produced by conjugation with polyethylene glycol. *J Biol Chem* 1996; 271: 21969–77.
 53. Bielohuby M, Zarkesh- Esfahani H, Manolopoulou J, Wirthgen E, Walpurgis, K, et al. Variation of serum IGF-1 as a biomarker to monitor the bioactivity of exogenous growth hormone agonists and antagonists in rabbits. *Diseases models& mechanisms* 2014; 7: 1263-73.
 54. Wilson ME. Insulin-like growth factor I (IGF-I) replacement during growth hormone receptor antagonism normalizes serum IGF-binding protein-3 and markers of bone formation in ovariectomized rhesus monkeys. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1557–62.
 55. Bratusch-Marrain PR, Smith D, DeFronzo RA. The effect of growth hormone on glucose metabolism and insulin secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 55: 973–82.
 56. Vazquez- Lombardi R, Roome B, Christ D. Molecular Engineering of Therapeutic Cytokines, *Antibodies*, 2013; 2: 426-51.
 57. Mandrup-Poulsen T. Interleukin-1 Antagonists and Other Cytokine Blockade Strategies for Type 1 Diabetes. *the Review of Diabetic Studies* 2012; 9: 338-47.
 58. Vazquez- Lombardi R, Roome B, Christ D. Molecular Engineering of Therapeutic Cytokines. *Antibodies* 2013; 2: 426- 51.
 59. Kelso A. Cytokines: principles and prospects. *Immunology and Cell Biology* 1998; 76: 300- 17.
 60. Mueller TD, Zhang JL, Sebald W, Duschl A. Structure, binding, and antagonists in the IL-4/IL-13 receptor system, *Biochimica et Biophysica Acta* 2002; 237-50.
 61. A. Duschl Eur. An antagonistic mutant of interleukin-4 fails to recruit yc into the receptor complex. *J. Biochem* 1995; 228: 305 -10.
 62. Feng N, Lugli S.M, Schnyder B, Gauchat J.F, Graber P, Schlagenhauf E, et al. The interleukin-4/interleukin-13 receptor of human synovial fibroblasts: overexpression of the non-signaling interleukin-13 receptor alpha2. *Lab. Invest* 1998; 78: 591- 602.
 63. Heaney M. L, Golde D. W. Soluble cytokine receptors. *Blood*; 1996; 87: 847-57.
 64. Reno D, Huub S. Cytokine antagonists and their potential therapeutic use. *Immunol Today* 1994; 15: 455-8.
 65. James WL, Wright SC. Native cytokine antagonists. *Baillière's Clinical Haematology* 1992; 5: 681-702.
 66. Akeson CA, Woods CW, Hsieh LC, Bohnke RA, Ackermann B.L, Chan KY, et al. A novel low molecular weight antagonist, selectively binds the human type I interleukin (IL)-1 receptor and blocks in vivo responses to IL-1. *J Biol Chem* 1996; 48: 30517-23.
 67. Kok YY, Ong HH, Say YH. Interleukin- 1 Receptor Antagonist and Interleukin-4 Genes variable number tandem repeats are associated with adiposity in Malaysian subjects, *Obesity* 2017; 1-8.

Review Article

New Strategies for Production and Designing of Cytokines and Hormones Antagonists, Focusing on Leptin and Growth Hormone

Elmi F, Zarkesh- Esfahani H, Pazhouhnia S, Daneshazari R, Sasani N, Soleimani A

Departement of Biology, Science Faculty, Isfahan University, Isfahan. I.R. Iran

e-mail: s.h.zarkesh@sheffield.ac.uk

Received: 03/10/2017 Accepted: 17/03/2018

Abstract

Introduction: Antagonist is a chemical substance or drug that has the ability to bind to the cell receptor by the ligand-receptor process, but is not able to trigger a response. Antagonists, pharmacologically, mimic the action of an agonist on the cell. It prevents, however, the attachment and function of the agonist or allows the binding but not the appropriate function by blocking the binding site of the agonist on the cell surface. In the past, antagonist production required much experimentation, trial and error whereas today, with advances in science and identification of molecular structure and signaling techniques, the possibilities of intelligent designs for antagonists in the shortest time possible have arisen. This process is based on two general viewpoints that include: Drug design based on target that can be a receptor or based on the structure of a small molecule as a drug that can block the signaling. The basic structure of an antagonist changes during drug design and hence there could be an antagonist with high levels of activity and minimal side effects. This review studied the new strategies of designing antagonists for cytokines and hormones (focusing on leptin and growth hormone). Since hormones play multiple roles in different physiological conditions and cytokines act as immune modulators, designing antagonists for them or their receptors can play an important role in the treatment of autoimmune-inflammatory-and neoplastic diseases.

Keywords: Antagonist, Design strategy, Cytokine, Hormone