

پیش‌بینی برهمکنش بین ترکیبات موجود در بره‌موم زنبور عسل و بخش آنتی‌ژن حفاظت‌کننده موجود در سم سیاه زخم با استفاده از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیک

چکیده

دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۲۷ ویرایش: ۱۳۹۵/۱۰/۲۳ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۲۹ آنلاین: ۱۳۹۵/۱۰/۳۰

زمینه و هدف: آنتی‌ژن حفاظت‌کننده از بخش‌های ساختاری در یکی در سم سیاه زخم می‌باشد و پس از تاثیر سم برگیرنده سلولی، نقش مهمی در بیماری‌زایی سم ایفا می‌کند. هدف از این مطالعه بررسی برهمکنش بیوانفورماتیکی آنتی‌ژن حفاظت‌کننده سیاه زخم و چهار ترکیب مهم موجود در بره‌موم زنبور عسل شامل کافنیک اسید، بنزیل کافنات، سینامیک اسید و کامپرفول با استفاده از نرم‌افزارها و وبگاه‌های بیوانفورماتیکی بود.

روش بررسی: این پژوهش با استفاده از الگوریتم‌های مختلف موجود در پایگاه‌های بیوانفورماتیکی در سال ۱۳۹۳ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان انجام گرفت. برهمکنش گیرنده با هر کدام از لیگاندها، با استفاده از وب سرورهای (<http://www.swissdock.ch/>) SwissDock و BSP-SLIM (<http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/BSP-SLIM/>) به‌دست آمد. نتایج داکینگ (Docking) به‌صورت عدد بر حسب کیلوکالری بر مول (kcal/mol) مشخص شد.

یافته‌ها: بررسی برهمکنش ترکیبات موجود در بره‌موم و آنتی‌ژن حفاظت‌کننده با استفاده از سرور BSP-SLIM نشان داد که بیشترین برهمکنش به‌ترتیب مربوط به ترکیبات کافنیک اسید، بنزیل کافنات، سینامیک اسید و کامپرفول بود. نتایج مربوط به برهمکنش لیگاندهای مورد نظر و آنتی‌ژن حفاظت‌کننده با استفاده از سرور SwissDock نشان داد که ترکیب کافنیک اسید، ΔG برابر با ۹/۱۰ kcal/mol و FullFitness برابر با ۹۹۳/۱۶ kcal/mol داشت. بررسی و تحلیل برهمکنش لیگاندها با آمینواسیدهای آنتی‌ژن حفاظت‌کننده نشان داد که بیشترین برهمکنش در ترکیب کافنیک اسید مربوط به اسید آمینه گلوتامیک اسید ۱۱۷ با انرژی برابر با ۱۵/۵۴۲۹ kcal/mol بود.

نتیجه‌گیری: گلوتامیک اسید ۱۱۷ در اتصال آنتی‌ژن حفاظت‌کننده و گیرنده سلولی آن و در پی آن بیماری‌زایی سم تاثیر چشمگیری دارد.

کلمات کلیدی: سم سیاه زخم، آنتی‌ژن حفاظت‌کننده، بره‌موم، کافنیک اسید، برهمکنش مولکولی.

المیرا محمدی^۱، شاهین گوانجی^{۲*}
فائزه خزیمه^۳، زهرا گلستان‌نژاد^۳
محمدرضا گلستان‌نژاد^۴، مهین بخشی^۵
هژیر یوسف شاهی^۶، محسن دوست
محمدی^۲

۱- گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران.
۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان، اصفهان، ایران.
۳- مرکز تحقیقات دندانپزشکی، گروه بیماری‌های دهان فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۴- گروه ارتوپدی، بیمارستان عیسی ابن مریم، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۵- گروه بیماری‌های دهان فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
۶- دانشجوی دندانپزشکی، کمیته پژوهش‌های دانشجویان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

* نویسنده مسئول: باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان، خیابان جی شرقی، بلوار دانشگاه

تلفن: ۰۳۱-۳۵۰۲۵۴۹
E-mail: shahin.gavanji@yahoo.com

مقدمه

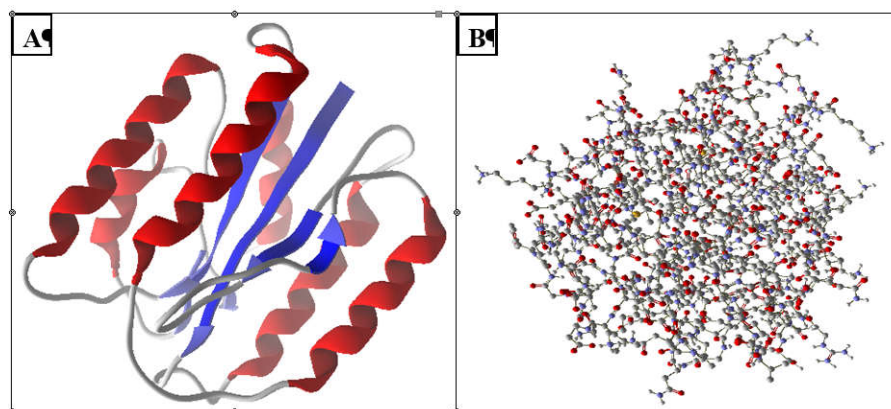
باکتری عامل سیاه زخم (*Bacillus anthracis*)، عامل تولید کننده سمی موسوم به سم سیاه زخم (Anthrax toxin) است که علت اصلی ابتلا به بیماری می‌باشد. بیماری سیاه زخم از بیماری‌های مشترک بین انسان و دام بوده و افزون بر این اهمیت خاص آن به دلیل جنگ‌های

بیولوژیک است. این بیماری شامل انواع تنفسی و پوستی است و نوع گوارشی آن کمتر شایع است. سم سیاه زخم از سه جزء ساختاری تشکیل شده است: آنتی‌ژن حفاظت‌کننده (Protective antigen (PA)، عامل ادم (Edema factor (EF) و عامل کشنده (Lethal factor (LF). آنتی‌ژن حفاظت‌کننده به گیرنده‌های خاصی در سلول اتصال می‌یابد و فعالیت پروتئولیتیکی آن موجب تشکیل کانالی در غشا شده که از

از ۱۰۰ هزار ماکرومولکول زیستی شامل پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک است. در شکل ۲ توالی اسید آمینه‌ای گیرنده و شماره شناسایی مربوط به آن در سایت NCBI و همچنین شماره شناسایی مربوط به ساختار سه بعدی در بانک داده‌های پروتئین، نشان داده شده است که با شماره P13423 از این بانک گرفته شد (شکل ۳). از میان ترکیبات موجود در برهموم زنبور عسل، چهار ترکیب به‌عنوان لیگاند انتخاب گردید. سپس ساختار سه بعدی لیگاندها توسط وبگاه‌های اینترنتی ChemSpider (<http://www.chemspider.com>) و ZINC (<http://zinc.docking.org>) به‌دست آمد (شکل ۴).

برهمکنش گیرنده با هر کدام از لیگاندها، با استفاده از وب سرور SwissDock (<http://www.swissdock.ch>) مورد بررسی قرار گرفت. این وب سرور جهت بررسی برهمکنش بین لیگاند و پروتئین‌ها به‌صورت آنلاین طراحی شده است که بر اساس سیستم داکینگ EADock DSS عمل می‌کند. در این وب سرور بایستی ساختار سه بعدی یا شماره هر پروتئین و لیگاند در این سایت وارد شود و بر اساس اندازه لیگاند و اندازه پروتئین، داکینگ انجام گرفته و مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد. نتایج داکینگ به‌صورت عدد FullFitness برای هر برهمکنش و Estimated ΔG با انرژی kcal/mol در دسترس قرار می‌گیرد. امتیاز منفی نشان‌دهنده وجود برهمکنش بوده به‌طوری که امتیاز منفی تر،

برهمکنش گیرنده با هر کدام از لیگاندها، با استفاده از وب سرور



شکل ۲: A: ساختار دو بعدی (PA). B: ساختار سه بعدی PA

```

MKKRKVLIPLMALSTILVSSGTGNLEVIQAEVKQENRLLNESESSSQGLLGYFSDLNFQAPMVVTSSTTGDLSIPSSSEL
ENIPSENQYFQSAIWSGFIKVKKSDEYTFATSADNHVTMWVDDQEVINKASNSNKIRLEKGRLYQIKIQYQRENPTKEG
LDFKLYWTDSDQNKKEVISDNLQLPELKQKSSNSRKKRSTASGPTVPDRDNDGIPDSLEVEGYTVDVKNKRTFLSPWIS
NIHEKKGLTKYKSSPEKWSTASDPYSDFEKVTGRIDKNVSPEARHPLVAAYPIVHVDMENIILSKNEDQSTQNTDSQTR
TISKNTSTSRHTSEVHGNAEVHASFDFDGGSVSAGFSNSNSSTVAIDHSLSLAGERTWAETMGLNTADTARLNANIRY
VNTGTAPIYVNLPTTSLVLGKNQTLATIKAKENQLSQILAPNNYPSKNLAPIALNAQDDFSSTPTIMNYNQFLELEKT
KQLRLDTDQVYGNIAATYNFENGRVVRVDTGSNWSEVLPQIQETARIIFNGKDLNLVERRIAAVNPSDPLETTKPDMTLKE
ALKIAFGFNEPNGNLQYQGKDI TEFDFNFQQT SQNIKNQLAELNATNIYTVLDKIKLNAKMNIILIRDKRFHYDRNNIA
VGADSVVKEAHREVINSSTEGLLNIDKDIRKILSGYIVEIEDTEGLKEVINDRYDMLNIISSLRQDGKTFIDFKKYND
KI.PI.YT.SNPNYKVNVYAVTKENTTINPSENGDTSSTNGTKKTI.I.FSKKGYR.TG

```

شکل ۳: توالی اسید آمینه‌ای گیرنده و شماره شناسایی مربوطه در سایت NCBI و در بانک داده‌های پروتئین

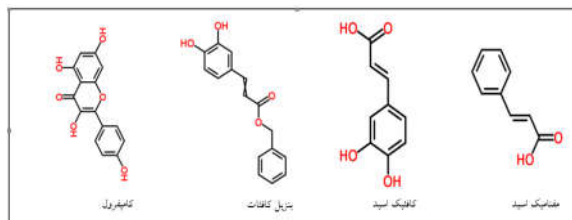
کافئیک اسید با ΔG برابر با $-۷/۰۶$ kcal/mol و FullFitness برابر با $-۹۹۴/۸۰$ kcal/mol و ترکیب کافئیک اسید با ΔG برابر با $-۹/۱۰$ kcal/mol و FullFitness برابر با $-۹۹۳/۱۶$ kcal/mol و در پایان ترکیب بنزیل کافئات با ΔG برابر با $-۷/۰۸$ kcal/mol و FullFitness برابر با $-۹۹۳/۱۶$ kcal/mol بود (جدول ۱). نتایج بررسی اینتراکشن این ترکیبات با استفاده از سرور BSP-SLIM server (<http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/BSP-SLIM>) نشان داد که بیشترین برهمکنش به ترتیب مربوط به ترکیبات بنزیل کافئات، کافئیک اسید، کامپرفول و سینامیک اسید بود (جدول ۲).

نتایج حاصل از آنالیز برهمکنش لیگاندها با آمینواسیدهای آنتیژن حفاظت‌کننده (Protective antigen, BSP-SLIM server) (<http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/BSP-SLIM>) نشان داد که ترکیب کافئیک اسید با ۸ آمینواسید برهمکنش داد که بیشترین آن مربوط به گلوتامیک اسید ۱۱۷ با انرژی برابر با $-۱۵/۵۴۲۹$ kcal/mol بود و پس از آن 54 Ser و 52 Ser دارای بیشترین انرژی بود.

قابل توجه است که گلوتامیک اسید ۱۱۷ نقش کلیدی در این بیماری‌زایی PA دارد. در مورد ترکیب بنزیل کافئات تعداد ۹ آمینواسید دارای برهمکنش با این پروتیین بودند که قویترین آن مربوط به تیروزین ۱۵۸ با انرژی برابر با $-۱۴/۵۵۷$ kcal/mol بود و پس از آن گلوتامیک اسید ۱۶۲ و لیزین ۱۲۵ دارای بیشترین انرژی پیوندی با این پروتیین بودند و در ترکیب سینامیک اسید بیشترین انرژی مربوط به لیزین ۱۲۱ برابر با $-۱۴/۰۶۳۴$ kcal/mol به دست آمد و پس از آن بیشترین انرژی مربوط به آمینواسیدهای تیروزین ۱۵۸ و هیستیدین ۱۲۱ بود و در ترکیب کامپرفول آمینواسید سرین ۵۲ دارای بیشترین پیوند برهمکنش با این آمینواسید با انرژی برابر با $-۱۵/۵۴۲۹$ kcal/mol بود و پس از آن آمینواسیدهای ترئونین ۱۱۸ و سرین ۵۴ دارای بیشترین انرژی پیوندی بود (جدول ۳).

بحث

در مطالعه حاضر برهمکنش بین چهار لیگاند موجود در بره‌موم زنبور عسل را با پروتیین آنتی‌ژن حفاظت‌کننده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد ترکیب کافئیک اسید با اسید آمینه گلوتامیک اسید ۱۱۷ در پروتیین آنتی‌ژن حفاظت‌کننده با انرژی $-۱۵/۵۴۲۹$



شکل ۴: ساختار لیگاندها

نشان‌دهنده برهمکنش قوی‌تر بین پروتیین و لیگاند خواهد بود.^{۱۲} پس از یافتن لیگاندهایی که با انرژی مناسب به گیرنده متصل می‌شوند، شناسایی اسید آمینه‌های دخیل در اتصال با استفاده از UCSF Chimera program (<http://www.cgl.ucsf.edu/chimera>) انجام شد. Chimera یک نرم‌افزار بسیار کاربردی برای آنالیز ساختارهای مولکولی از لحاظ نقشه چگالی، کنفورماسیون‌های احتمالی، برهمکنش پروتیین-لیگاند و هم‌ترازسازی توالی‌های پروتیینی (Protein sequence alignment) است. نتایج داکینگ به صورت اعدادی به نام Fullfitness که بر حسب کیلوکالری بر مول می‌باشد، برای هر اسید آمینه در دسترس قرار می‌گیرد، که نشان‌دهنده میزان دخالت هر اسید آمینه در اتصال به لیگاند است. هرچه این عدد منفی‌تر باشد، نشان‌دهنده نقش بیشتر اسید آمینه مربوطه در برهمکنش می‌باشد.^{۱۳}

یافته‌ها

نتایج حاصل از آنالیز برهمکنش لیگاندها با گیرنده، با استفاده از وب سرور SwissDock نشان داد که سبزه ترکیب قابلیت اتصال به گیرنده با انرژی مناسب را دارند. این ترکیبات و انرژی اتصال هر کدام در جدول ۱ نشان داده شده است.

نتایج مربوط به برهمکنش لیگاندهای مورد نظر و پروتیین آنتی‌ژن حفاظت‌کننده (Protective antigen) با استفاده از سرور SwissDock نشان می‌دهد که بالاترین FullFitness به ترتیب مربوط به Ferulic acid با ΔG برابر با $-۹/۰۵$ kcal/mol و FullFitness برابر با $-۹۹۷/۳۶$ kcal/mol بود و پس از آن Rhamnetin با ΔG برابر با

موثر برهموم می‌تواند به‌عنوان مداخله‌کننده در برهمکنش آنتیژن حفاظت‌کننده و گیرنده سلولی آن مورد توجه قرار گرفته شود. در مطالعات گوناگون اثرات دارویی مختلفی برای کافئیک اسید در

برهمکنش دارد. با توجه به اهمیت اسید آمینه گلوتامیک اسید ۱۱۷ در برهمکنش آنتیژن حفاظت‌کننده (PA) و گیرنده و نیز با ترکیب کافئیک اسید در برهموم که در پژوهش کنونی مشخص شد، این ماده

جدول ۱: برهمکنش ترکیبات برهموم زنبور عسل و آنتیژن حفاظت‌کننده (Protective antigen) با استفاده از سرور SwissDock

شماره	لیگاندها	گیرنده	شماره کلاستر در SwissDock	رتبه کلاستر	میزان انرژی (kcal/mol)	تخمین ΔG (kcal/mol)
۲	کافئیک اسید	PA	۳۰ (250 runs)	۱	-۹۹۳/۱۶	-۹/۱۰
				۲	-۹۹۲/۴۷	-۹/۰۳
				۳	-۹۹۱/۰۶	-۸/۷۲
				۴	-۹۸۶/۵۸	-۷/۱۶
				۵	-۹۸۵/۲۴	-۷/۱۴
۴	بنزیل کافئات	PA	۳۰ (250 runs)	۱	-۹۹۳/۱۶	-۷/۰۸
				۲	-۹۸۴/۴۷	-۷/۰۱
				۳	-۹۸۱/۰۶	-۶/۹۳
				۴	-۹۷۳/۵۸	-۶/۹۰
				۵	-۹۷۲/۲۴	-۶/۸۲
۵	سینامیک اسید	PA	۳۰ (250 runs)	۱	-۹۷۸/۲۹	-۸/۳۱
				۲	-۹۷۲/۹۰	-۸/۷۰
				۳	-۹۷۲/۸۷	-۸/۷۰
				۴	-۹۶۹/۵۱	-۸/۷۰
				۵	-۹۶۹/۱۹	-۸/۷۰
۸	کامپفرول	PA	۳۰ (250 runs)	۱	-۹۷۵/۹۳	-۶/۹۸
				۲	-۹۷۴/۸۲	-۶/۹۲
				۳	-۹۶۲/۵۱	-۶/۹۱
				۴	-۹۶۱/۱۲	-۶/۷۰
				۵	-۹۶۰/۲۴	-۶/۴۲

جدول ۲: برهمکنش ترکیبات برهموم زنبور عسل و (PA) Protective antigen با استفاده از سرور BSP-SLIM

شماره	پروتئین	لیگاند	قدرت برهمکنش				
			امتیازات ۱	امتیازات ۲	امتیازات ۳	امتیازات ۴	امتیازات ۵
۱	PA	کافئیک اسید	۵/۵۴۶	۲/۵۶۲	۲/۵۳۷	۲/۳۷۱	۲/۰۲۷
۲	PA	بنزیل کافئات	۶/۲۲۸	۵/۸۶۳	۴/۷۷۷	۴/۵۳۴	۴/۲۵۱
۳	PA	سینامیک اسید	۲/۸۲۰	۲/۱۶۱	۲/۱۵۳	۱/۸۴۷	۱/۶۷۱
۴	PA	کامپفرول	۵/۲۷۰	۴/۶۴۶	۴/۵۷۵	۳/۲۱۵	۳/۱۹۴

Protective antigen (PA)

جدول ۳: برهمکنش ترکیبات بره‌موم زنبور عسل و آمینواسیدهای موجود در Protective antigen (PA)

شماره	پروتیین	لیگاند	برهمکنش
۱	PA	کافئیک اسید	برای آمینواسیدهای مختلف تخمین (kcal/mol) Asp ۱۴۸(-۰/۳۰۰۸), Asp ۱۵۲(-۱/۰۹۹۱), Glu ۱۱۷(-۱۵/۵۴۲۹), Lys ۵۱(-۱/۳۷۰۱), Lys ۱۵۰(-۴/۰۶۴۷), pro ۱۱۴(-۱/۵۲۹۰), Ser ۵۲(-۱۰/۱۰۶۷), Ser ۵۴(-۸/۷۹۰۷).
۲	PA	بنزیل کافئات	Ala ۱۵۹(-۰/۴۷۸۳), Asn ۱۲۸(-۴/۵۹۹۲), Glu ۱۲۲(-۳/۴۶۵۶), Glu ۱۲۹(-۵/۲۳۴۷), Glu ۱۶۲(-۱۰/۹۱۰۱), Ile ۱۶۵(-۵/۴۴۸۶), Leu ۱۶۹(-۰/۳۴۳۵), Lys ۱۲۵(-۸/۵۳۱۱), Tyr ۱۵۸(-۱۴/۵۵۷).
۳	PA	سینامیک اسید	His ۱۲۱(-۴/۷۸۷۳), Lys ۱۲۱(-۱۴/۰۶۳۴), Lys ۱۳۳(-۰/۳۱۴۴), Lys ۱۶۱(-۲/۴۴۳۷), Lys ۱۶۴(-۰/۴۳۲۷), Tyr ۱۵۸(-۷/۶۱۸۱).
۴	PA	کامپفرول	Asp ۱۴۸(-۰/۳۰۰۸), Asp ۱۵۲(-۲/۰۲۷۱), Glu ۱۸۲(-۰/۸۱۰۴), Gly ۱۴۹(-۲/۸۲۵۷), Leu ۱۵۱(-۲/۲۳۴۳), Ser ۵۲(-۱۱/۲۰۶۴), Ser ۵۴(-۱۰/۹۴۳۴), Thr ۱۱۸(-۱۱/۷۰۱۷), Va ۱۱۵(-۳/۲۸۷۳).

سرطان می‌باشد.^{۱۹-۲۵} با وجود نشانه‌های سمیت کافئیک اسید فنیل استر بر سلول‌های سرطانی، این ماده چنین اثری را بر روی سلول‌های طبیعی ندارد.^{۱۶} یافته‌های به‌دست آمده نشان داد که ترکیب کافئیک اسید به صورت قابل توجهی با این اسید آمینه توانایی برهمکنش دارد. از این رو این ترکیب می‌تواند به‌عنوان عاملی برای جلوگیری از اثرگذاری سم سیاه زخم مورد توجه قرار بگیرد.

سپاسگزار می‌باشم: این تحقیق با استفاده از الگوریتم‌های مختلف موجود در پایگاه‌های بیوانفورماتیکی در سال ۱۳۹۳ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (باشگاه پژوهشگران جوان) انجام گرفت.

مطالعات In vitro و مدل‌های حیوانی گزارش شده است. اثر ممانعت‌کننده از تکثیر بر روی رده سلولی فیبروسارکومای انسانی HT-1080 به‌تازگی گزارش شده است.^{۱۵} این ماده دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان در In vitro و In vivo می‌باشد.^{۱۶} در مطالعات پیشین همچنین به آثار دارویی مشتقات کافئیک اسید مانند کافئیک اسید فنیل استر (که در بره‌موم نیز وجود دارد) اشاره شده است.^{۱۷} کافئیک اسید فنیل استر یک پلی‌فنل با گروه‌های هیدروکسیل است که در حلقه کاته کول قرار دارند و مسئول بسیاری از فعالیت‌های زیستی مهم کافئیک اسید فنیل است.^{۱۸} این ماده دارای ویژگی‌های مهمی شامل اثرات ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد قارچی، آنتی‌اکسیدان، ضد التهاب و ضد

References

- Brooks GF, Butel JB, Omston LN. Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. New York, NY: Appleton and Lange; 2010.
- Drum CL, Yan SZ, Bard J, Shen YQ, Lu D, Soelaiman S, et al. Structural basis for the activation of anthrax adenyl cyclase exotoxin by calmodulin. *Nature* 2002;415(6870):396-402.
- Bhatnagar R, Batra S. Anthrax toxin. *Crit Rev Microbiol* 2001;27(3):167-200.
- Green BD, Battisti L, Koehler TM, Thome CB, Ivins BE. Demonstration of a capsule plasmid in Bacillus anthracis. *Infect Immun* 1985;49(2):291-7.
- Kintzer AF, Thoren KL, Sterling HJ, Dong KC, Feld GK, Tang II, et al. The protective antigen component of anthrax toxin forms functional octameric complexes. *J Mol Biol* 2009;392(3):614-29.
- Abrami L, Reig N, van der Goot FG. Anthrax toxin: the long and winding road that leads to the kill. *Trends Microbiol* 2005;13(2):72-8.
- Friedlander AM, Bhatnagar R, Leppla SH, Johnson L, Singh Y. Characterization of macrophage sensitivity and resistance to anthrax lethal toxin. *Infect Immun* 1993;61(1):245-52.
- Wong TY, Schwarzenbacher R, Robert C. Toward Understanding Anthrax: Structural Basis of Target Recognition By Anthrax Lethal Factor. California, CA: The Burnham Institute, 2002.
- Khalil ML. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Prev* 2006;7(1):22-31.
- Gavanji S, Larki B, Jalali Zand A, Mohammadi E, Mehrasa M, Taraghian AH. Comparative effects of propolis of honey bee on pathogenic bacteria. *Afr J Pharm Pharmacol* 2012;6(32):2408-12.

11. Lee YJ, Liao PH, Chen WK, Yang CY. Preferential cytotoxicity of caffeic acid phenethyl ester analogues on oral cancer cells. *Cancer Lett* 2000;153(1-2):51-6.
12. Grosdidier A, Zoete V, Michielin O. SwissDock, a protein-small molecule docking web service based on EADock DSS. *Nucleic Acids Res* 2011;39(Web Server issue):W270-7.
13. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF Chimera: a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem* 2004;25(13):1605-12.
14. Gavanji S, Doostmohammadi M, Larki B. In silico prediction of interaction between flavonoids of propolis of honey bee and anthrax protective antigen. *Thai J Pharm Sci* 2014;38(3):130-8.
15. Rajendra Prasad N, Karthikeyan A, Karthikeyan S, Reddy BV. Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line. *Mol Cell Biochem* 2011;349(1-2):11-9.
16. Olthof MR, Hollman PC, Katan MB. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *J Nutr* 2001;131(1):66-71.
17. Omene C, Kalac M, Wu J, Marchi E, Frenkel K, O'Connor OA. Propolis and its active component, caffeic acid phenethyl ester (CAPE), modulate breast cancer therapeutic targets via an epigenetically mediated mechanism of action. *J Cancer Sci Ther* 2013;5(10):334-42.
18. Wang X, Stavchansky S, Bowman PD, Kerwin SM. Cytoprotective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and catechol ring-fluorinated CAPE derivatives against menadione-induced oxidative stress in human endothelial cells. *Bioorg Med Chem* 2006;14(14):4879-87.
19. Son S, Lewis BA. Free radical scavenging and antioxidative activity of caffeic acid amide and ester analogues: structure-activity relationship. *J Agric Food Chem* 2002;50(3):468-72.
20. Koltuksuz U, Mutuş HM, Kutlu R, Ozyurt H, Cetin S, Karaman A, et al. Effects of caffeic acid phenethyl ester and epidermal growth factor on the development of caustic esophageal stricture in rats. *J Pediatr Surg* 2001;36(10):1504-9.
21. Michaluart P, Masferrer JL, Carothers AM, Subbaramaiah K, Zweifel BS, Koboldt C, et al. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on the activity and expression of cyclooxygenase-2 in human oral epithelial cells and in a rat model of inflammation. *Cancer Res* 1999;59(10):2347-52.
22. Borrelli F, Izzo AA, Di Carlo G, Maffia P, Russo A, Maiello FM, et al. Effect of a propolis extract and caffeic acid phenethyl ester on formation of aberrant crypt foci and tumors in the rat colon. *Fitoterapia* 2002;73 Suppl 1:S38-43.
23. Frenkel K, Wei H, Bhimani R, Ye J, Zadunaisky JA, Huang MT, et al. Inhibition of tumor promoter-mediated processes in mouse skin and bovine lens by caffeic acid phenethyl ester. *Cancer Res* 1993;53(6):1255-61.
24. Huang MT, Ma W, Yen P, Xie JG, Han J, Frenkel K, et al. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion in mouse skin and the synthesis of DNA, RNA and protein in HeLa cells. *Carcinogenesis* 1996;17(4):761-5.
25. Yang C, Wu J, Zhang R, Zhang P, Eckard J, Yusuf R, et al. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents transformation of human cells by arsenite (As) and suppresses growth of As-transformed cells. *Toxicology* 2005;213(1-2):81-96.

Forecasting of interaction between bee propolis and protective antigenic domain in anthrax using the software and bioinformatics web servers

Elmira Mohammadi Ph.D.
Student¹
Shahin Gavanji M.Sc.^{2*}
Faezeh Khozimeh DDS.OM.³
Zahra Golestannejad
DDS.OM.³
Mohammadreza Golestannejad
M.D.⁴
Mahin Bakhshi DDS.OM.⁵
Hazhir Yousefshahi Dental
Student⁶
Mohsen Doostmohammadi
M.Sc.²

1- Department of Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

2- Young Researchers and Elite Club, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

3- Dental Research Center, Department of oral Medicin, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

4- Department of Orthopedic, Isa Ben Maryam Hospital, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

5- Department of Oral and Maxillofacial Medicine, School of Dentistry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

6- Dental Student, Students Research Center, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

* Corresponding author: Young Researchers and Elite Club, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, East Jey St., University Blvd., Isfahan, Iran.
Tel: +98- 31- 35002549
E-mail: shahin.gavanji@yahoo.com

Abstract

Received: 16 May 2016 Revised: 12 Jan. 2017 Accepted: 18 Jan. 2017 Available online: 19 Jan. 2017

Background: Protective antigen of anthrax toxin, after touching the cell receptors, plays an important role in the pathogenesis of toxin. The purpose of this study was to investigate the interaction of anthrax toxin protective antigen and four great combination propolis included caffeic acid, benzyl caffeate, cinnamic acid and kaempferol using the softwares and bioinformatics web servers.

Methods: Three-dimensional structure of protective antigen (receptor) obtains from Protein Data Bank (PDB). Four of the main components from propolis were selected as ligand and their 3D-structures were obtained from ChemSpider and ZINC compound database. The interaction of each ligand and receptor was assessed by SwissDock server (<http://www.swissdock.ch/>) and BSP-SLIM server (<http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/BSP-SLIM>). Docking results appears with Fullfitness numbers (in kcal/mol). Identification of amino acids involved in ligand and receptor interaction, was performed using the Chimera software; UCSF Chimera program (<http://www.cgl.ucsf.edu/>).

Results: The results of interaction between propolis components and protective antigen by BSP-SLIM server showed that the most interaction was related with benzyl caffeate, caffeic acid, kaempferol and cinnamic acid, respectively. Results for the desired ligand Interaction with protective antigen genes using SwissDock server showed that the caffeic acid had ΔG equals -9.10 kcal/mol and FullFitness equal to -993.16 kcal/mol respectively. The analysis of interaction between ligands with amino-acids of protective antigen indicated that the interaction of Caffeic acid whit Glutamic acid 117 had energy -15.5429 kcal/mol.

Conclusion: Finding strong and safe inhibitors for anthrax toxin is very useful method for inhibiting its toxicity to cell. In this study the binding ability of four flavonoids to protective antigen was studied. Glutamic acid 117 is very effective in protective antigen binding and cell receptor and subsequent in virulent of anthrax toxin. Effective interaction of caffeic acid in propolis and glutamic acid 117 can be as useful in preventing the toxic effect on cell. According to our results, all four flavonoids tested in this study have binding activity to protective antigen and are good choices for fighting against anthrax.

Keywords: anthrax toxin, caffeic acid, molecular interaction, propolis, protective antigen.