Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 35, No. 4, Wintwr 2026 ORIGINAL ARTICLE

Investigating dimethyl fumarate derivatives as drugs against oxidative stress using the molecular docking with KEAP1 protein

***Saeedreza Emamian*[1], *Javad Hosseini*[2], *Safa Ali-Asgari*[2]**
[1] *Associate Professor, Department of Chemistry and Biochemistry, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran*
[2] *Assistant Professor, Department of Chemistry and Biochemistry, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran*

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.3.5]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.406]

Abstract

Background: Oxidative stress is the starting point of many chronic diseases, including diabetes, cancer, and the cause of Alzheimer's, Parkinson's, and multiple sclerosis. KEAP1-NRF2 pathway is the principal protective response to oxidative and electrophilic stresses. The presence of KEAP1-NRF2 system in multiple cellular and metabolic message pathways suggests NRF2 activation as a critical regulatory factor in many disease phenotypes. In this research, the molecular docking of DMF and its three derivatives DMNBF, DMCBF and DMBBF with Keap1 protein to activate NRF2 with the aim of dealing with oxidative and electrophilic stresses was investigated.
Materials and methods: The affinity energy value for DMF and its three derivatives, DMNBF, DMCBF and DMBBF, with Keap1 protein in the three active regions of the protein was calculated using the molecular docking method and the type of interactions was determined.
Results: The results showed that DMNBF binds to Keap1 protein with affinity energy of 5.9, 5.7 and 3.7 kcal in all three active regions more effectively than DMF and other derivatives.
Conclusion: DMF is an approved drug for the treatment of psoriasis and multiple sclerosis. It interacts with Keap1 to activation of NRF2 in order to protective response against oxidative stress. Similarly, the DMNBF molecule may be able to be studied in lower doses and with fewer side effects for the treatment of psoriasis and multiple sclerosis or for the activation of NRF2 in the treatment of diseases that are somehow related to the KEAP1-NRF2 system.
Keywords: *Molecular docking, Oxidative stress, Reactive oxygen species, KEAP1-NRF2 pathway, Dimethyl fumarate derivatives.*

Cited as: Emamian S, Hosseini J, Ali-Asgari S. Investigating dimethyl fumarate derivatives as drugs against oxidative stress using the molecular docking with KEAP1 protein. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2025; 35(4): **406-414.**

Correspondence to: Saeedreza Emamian
Tel: *+98 2332394320*
E-mail: s_emamian@iau-shahrood.ac.ir
ORCID ID: 0000-0001-8223-1264
Received: 19 Nov 2024; **Accepted:** 21 Jan 2025

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۵، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۴، صفحات ۴۰۶ تا ۴۱۴

Original Article

بررسی مشتقات دی‌متیل فومارات به عنوان دارو در برابر تنش‌های اکسایشی با استفاده از داکینگ مولکولی با پروتئین KEAP1

سعیدرضا امامیان[۱]، سید جواد حسینی[۲]، صفا علی‌عسگری[۲]

[۱] دانشیار گروه شیمی و بیوشیمی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران
[۲] استادیار گروه شیمی و بیوشیمی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *تنش اکسایشی نقطهٔ شروع بسیاری از بیماری‌های مزمن از جمله دیابت، سرطان و عامل بیماری‌های آلزایمر، پارکینسون و ام اس است. مسیر KEAP1-NRF2 دفاع القایی اصلی در برابر تنش‌های اکسایشی و الکتروندوستی است. وجود سیستم KEAP1-NRF2 در مسیرهای پیام سلولی و سوخت‌وسازی متعدد، فعالسازی NRF2 را به عنوان یک عامل تنظیم کنندهٔ حیاتی در مواجهه با بسیاری از فنوتیپهای بیماری مطرح می‌کند. در این تحقیق داکینگ مولکولی DMF و سه مشتق DMNBF، DMCBF و DMBBF با پروتئین KEAP1 برای فعالسازی NRF2 با هدف مقابله با تنش‌های اکسایشی و الکتروندوستی مورد بررسی قرار می‌گیرد.*

روش بررسی: *مقدار انرژی میل ترکیبی برای برهم‌کنش DMF و سه مشتق DMNBF، DMCBF و DMBBF با پروتئین KEAP1 در سه ناحیهٔ فعال پروتئین با استفاده از روش داکینگ مولکولی محاسبه و نوع برهم‌کنش‌ها مشخص شد.*

یافته‌ها: *نتایج نشان داد DMNBF با انرژی میل ترکیبی ۵/۹، ۵/۷ و ۳/۷ کیلوکالری بر مول در هر سه ناحیهٔ فعال، مؤثرتر از DMF و سایر مشتقات به پروتئین KEAP1 متصل می‌شود.*

نتیجه‌گیری: *از آنجایی که DMF به عنوان یک داروی تأیید شده برای درمان پسوریازیس و ام اس تجویز می‌شود و مسیر عمل آن برهم‌کنش با KEAP1 و فعالسازی NRF2 در جهت مقابله با تنش اکسایشی است، به طور مشابه مولکول DMNBF ممکن است بتواند در دوزهای کمتر و عوارض جانبی کمتر برای درمان پسوریازیس و ام اس یا برای فعالسازی NRF2 در مواجهه با بیماری‌هایی که به نوعی با سیستم KEAP1-NRF2 مرتبط هستند مورد مطالعه قرار گیرد.*

واژگان کلیدی: *داکینگ مولکولی، تنش اکسایشی، گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر، مسیر KEAP1-NRF2، مشتقات دی‌متیل فومارات.*

مقدمه

موجودات زنده به طور معمول در معرض اکسنده‌های فعال و الکترون‌دوست‌های حاصل از سوخت‌وساز داخلی و عوامل محیطی هستند. تولید کنترل شدهٔ گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (reactive oxygen species (ROS)) که می‌تواند منجر به تنش اکسایشی (oxidative stress) مضر شود، جزء ضروری سیستم پیام‌دهی سلولی است و کنترل تولید این گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر نیازمند یک شبکهٔ تنظیمی پیچیدهٔ ضداکسنده است. تنش اکسایشی که ناشی از عدم تعادل بین تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر و دفاع ضداکسنده است، نقطهٔ شروع و پیشرفت بسیاری از بیماری‌های مزمن از جمله دیابت و سرطان است. همچنین تنش اکسایشی یک عامل غیرمستقیم در ایجاد پیری و بیماری‌های نورودژنراتیو ((neurodegenerative diseases (NDDs)) مانند آلزایمر، پارکینسون و آمیوتروفیک اسکلروز جانبی است (۵-۱). این سؤال که بدن یا سلول‌های ما چگونه محرک‌های مخرب

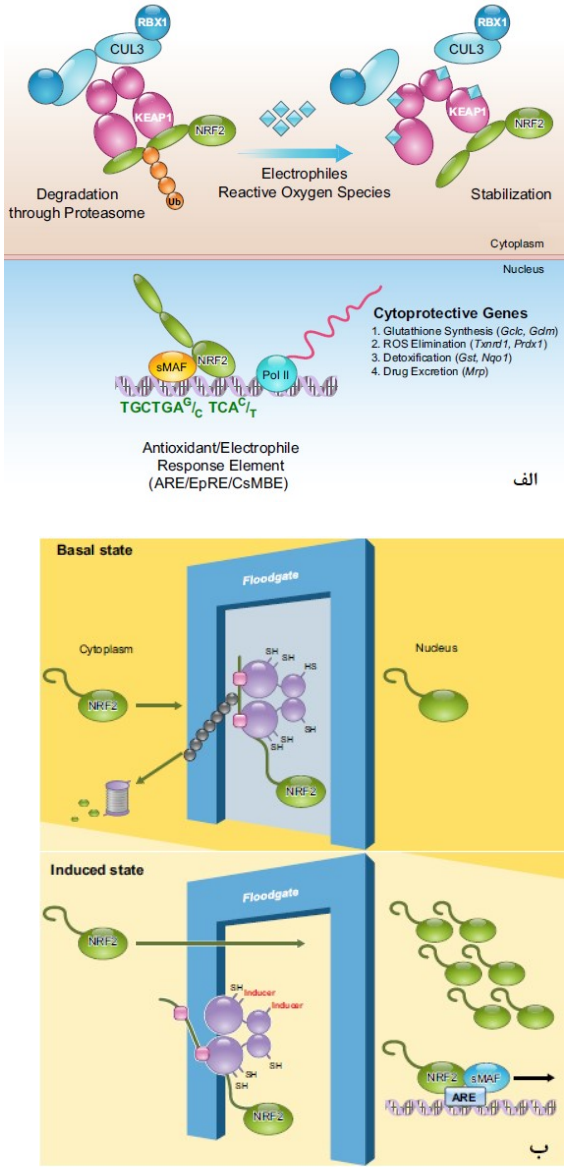
آدرس نویسنده مسئول: شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی شاهرود، دانشکدهٔ علوم پایه، گروه شیمی و بیوشیمی، سعیدرضا امامیان (**email**: s_emamian@iau-shahrood.ac.ir)
ORCID ID: 0000-0001-8223-1264
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۸/۲۹
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۱۱/۲

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.3.5]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.406]

اکسنده و الکتروندوست را حس می‌کنند و به طور مؤثر به آنها پاسخ می‌دهند مدت‌ها مطرح بوده است. مطالعات گسترده نشان داد بدن انسان دارای مکانیسم دفاعی ذاتی برای مهار تنش اکسایشی سلولی از طریق بسیاری از مسیرها است.

فاکتور هسته‌ای اریتروئید۲ (nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2)) یکی از عوامل اصلی مقاومت سلولی در برابر اکسنده‌ها است که مسیر تولید آنزیم‌ها و پروتئین‌های محافظ سلولی را فعال می‌کند (۹-۶). فعالیت NRF2 خود توسط پروتئینی به نام Kelch-like ECH-associated *protein* 1 (KEAP1) تنظیم می‌شود (۱۰). این پروتئین غنی از تیول دارای چهار ناحیه است: الف) ناحیهٔ KEAP1-BTB (Kelch-like ECH-associated *protein* 1 (KEAP1)) و ناحیهٔ پشتی (BACK domain) یا ناحیهٔ مداخله‌کننده (Intervening Region (IVR)) در پایانهٔ N (N-terminal) که به عنوان مبدل برای لیگاز یوبیکوئیتین (ubiquitin ligase) E3 عمل می‌کنند. ب) ناحیهٔ KEAP1-DC (C-terminal Kelch repeat domain) متشکل از دو ناحیهٔ DGR و CTR در پایانهٔ C (C- terminal) که یک ماژول برای تشخیص پروتئین NRF2 و اتصال به آن است (۱۴-۱۱).

تعامل پروتئین-پروتئین KEAP1 و NRF2 که مسیر KEAP1-NRF2 نامیده می‌شود، دفاع القایی اصلی در برابر تنش‌های اکسایشی و الکتروندوستی است (۱۵). تحت شرایط هومئوستاتیک، در سیتوپلاسم، KEAP1 یک کمپلکس لیگاز E3 یوبیکوئیتین را با پروتئین کولین ۳ (Cullin 3 (CUL3)) تشکیل می‌دهد و NRF2 را پلی‌یوبیکوئیتین می‌کند، که طی آن NRF2 را برای تخریب سریع از طریق سیستم پروتئازوم نشاندار می‌کند. بنابراین در شرایط بدون تنش، NRF2 سنتز شده اما به طور مداوم تخریب می‌شود. در مواجهه با گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر و الکتروندوست‌ها، ریشه-های سیستئین فعال KEAP1 مستقیماً اصلاح می‌شوند که فعالیت لیگاز یوبیکوئیتین E3 در کمپلکس KEAP1-CUL3 را کاهش داده، منجر به تثبیت NRF2 می‌شود. در نتیجه NRF2 می‌تواند در داخل سلول تجمع نموده و مستقیماً به هسته منتقل شود (۱۹-۱۶). این انتقال، عامل پاسخ ضداکسنده (antioxidant response element (ARE)) و عامل پاسخ الکتروندوست (electrophile responsive element (EpRE)) را فعال می‌کند، شکل۱(الف). به بیان دیگر، KEAP1 به عنوان یک درگاه سیال برای NRF2 عمل می‌کند، در حالت معمول ورود NRF2 به هسته را با تسهیل تخریب آن مسدود می‌کند اما زمانی که سلول‌ها توسط عوامل تنش مورد حمله قرار می‌گیرند باز می‌شود و NRF2 به هسته منتقل شده تا بیان ژن محافظ سلولی را فعال کند. شکل۱(ب) (۲۴-۲۰).



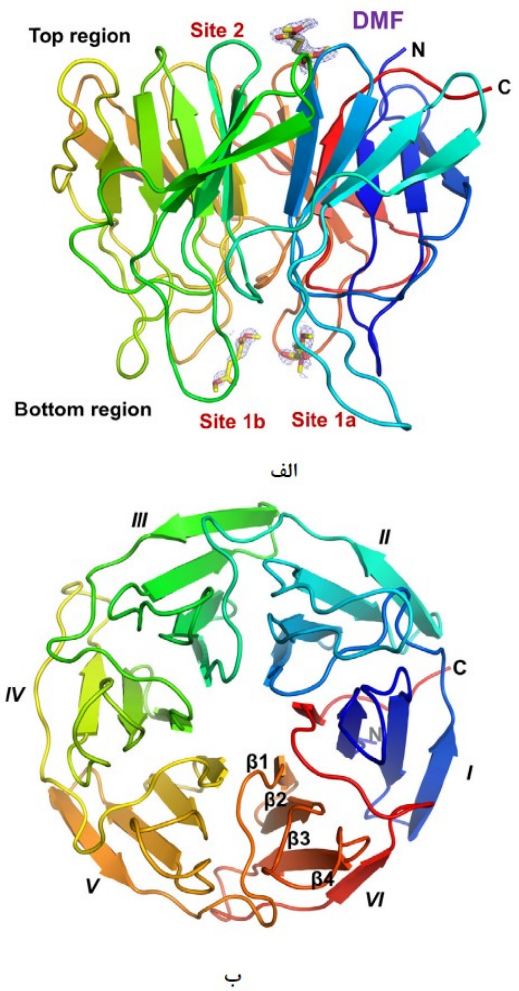
شکل ۱. سیستم دو جزئی KEAP1-NRF2. (الف) نمایش تثبیت NRF2، انتقال آن به هسته و فعالسازی ژن‌های محافظ سلولی. (ب) نمایش عمل KEAP1 به عنوان یک دریچه سیال در حالت معمول و در حالت القا شده (۲۴).

وجود سیستم KEAP1-NRF2 در مسیرهای پیام سلولی و سوخت‌وسازی متعدد، فعالسازی NRF2 را به عنوان یک عامل تنظیم کنندهٔ حیاتی در مواجهه با بسیاری از فنوتیپ‌های بیماری مطرح می‌کند. از اینرو مطالعه و بررسی سیستم KEAP1-NRF2 یک هدف جذاب برای توسعهٔ داروهایی است که برای درمان طیف گسترده‌ای از بیماری‌های غیرواگیر مفید خواهند بود.

دی‌متیل فومارات (dimethyl fumarate (DMF)) با نام تجاری تکفیدرا (Tecfidera) یک داروی تأیید شده برای درمان پسوریازیس و مولتیپل اسکلروزیس (MS) عودکننده است (۲۷-

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.3.5]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.406]

۲۵) و در تحقیقات اخیر برای درمان کووید-۱۹ در بریتانیا مورد ارزیابی قرار گرفته است (۲۸).



شکل ۲. حالت‌های اتصال مولکول DMF در کمپلکس بلوری با پروتئین KEAP1. (الف) نمایش نمای جانبی از پروتئین KEAP1 کمپلکس شده با مولکول‌های DMF (نشان داده شده با خط‌های زرد) در مکان‌های ۱a، ۱b و ۲.. (ب) نمایش دومن β در پروتئین KEAP1 از نمای بالا که از شش تیغه تشکیل شده است و هر تیغه شامل چهار صفحهٔ β (β1, β2, β3, and β4) است (۳۳).

مطالعات، برهم‌کنش DMF با پروتئین KEAP1 را در سه ناحیه نشان می‌دهد. الف) اتصال به دومن KEAP1-BTB (Tramtrack and Bric-à-Brac domain (BTB domain)) و برهم‌کنش با سیستئین‌های فعال در ناحیهٔ IVR و BTB، به ویژه با سیستئین ۱۵۱ (Cys151 KEAP1)، ب) اتصال به دومن KEAP1-DC در دو ناحیه (محل اتصال NRF2)، (شکل۲) (۳۱-۲۹). همچنین مطالعات نشان می‌دهد که DMF در محدودهٔ نانومولاری به دامنهٔ KEAP1-DC و به دامنهٔ KEAP1-BTB متصل می‌شود. همچنین سنجش اتصال رقابتی در حضور پپتید NRF2 ، اتصال مستقیم DMFرا در ناحیهٔ اتصال NRF2 به KEAP1-DC تأیید می‌کند. بنابراین مولکول داروی DMF با عملکردی دوگانه نه تنها از طریق اصلاح کووالانسی سیستئین‌های فعال در دامنهٔ KEAP1-BTB تخریب NRF2 را متوقف می‌کند بلکه با رقابت با NRF2 در اتصال به KEAP1 موجب تثبیت و تجمع NRF2 در سلول می‌شود. در نتیجه NRF2 تجمع یافته در سلول با انتقال به هسته مسیر مقابله با تنش اکسایشی را فعال می‌کند (۳۵-۳۲).

اخیراً روشی ساده و سریع برای سنتز برخی مشتقات DMF را گزارش کردیم (۳۶) که می‌توانند به عنوان مولکول دارو بررسی شوند. تحقیق حاضر، برهم‌کنش‌های این مشتقات با پروتئین KEAP1 را به منظور مقابله با تنش اکسایشی در مقایسه با مولکول داروی DMF ارزیابی کرد. همانطور که ذکر شد DMF از سه ناحیه با پروتئین KEAP1 برهم‌کنش دارد. در این تحقیق، انرژی میل ترکیبی (affinity energy) یا انرژی اتصالی (binding energy) و نوع تعاملات هر یک از سه مشتق DMF یعنی دی‌متیل ۲-(۴-نیتروبنزوئیل) فومارات (dimethyl 2-(4-nitrobenzoyl)fumarate (DMNBF))، دی‌متیل ۲-(۴-کلروبنزوئیل) فومارات (dimethyl 2-(4-chlorobenzoyl)fumarate (DMCBF))، دی‌متیل ۲-(۴-برموبنزوئیل) فومارات (dimethyl 2-(4-bromobenzoyl)fumarate (DMBBF)) در هر سه ناحیه از پروتئین KEAP1 با استفاده از داکینگ مولکولی بررسی شده و با DMF مقایسه شد.

مواد و روشها

رویکردهای شبیه‌سازی مولکولی در مطالعهٔ واکنش‌های شیمیایی و مکانیسم‌های اتصال در طیف گسترده‌ای از سیستمهای زیست‌شناختی و شیمیایی با موفقیت به کار گرفته شده است. داکینگ مولکولی بستر مناسبی برای درک مکانسیم مولکولی حاکم بر مهار آنزیم‌ها و پروتئین‌ها فراهم می‌آورد. همانطور که ذکر شد DMF از طریق هم از طریق اصلاح کووالانسی سیستئین‌های فعال در دامنهٔ KEAP1-BTB و هم از طریق رقابت با NRF2 در اتصال به KEAP1، مقابله با تنش اکسایشی را فعال می‌کند. در این تحقیق، داکینگ مولکولی DMF و سه مشتق DMNBF، DMCBF وDMBBF با پروتئینKEAP1 بررسی شد. ساختار بلوری KEAP1 به عنوان هدف (target) یا پذیرندهٔ (receptor) داکینگ مولکولی از پایگاه دادهٔ *RCSB PDB* (The Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (PDB) (RCSB)) با شناسهٔ 6Lrz استخراج

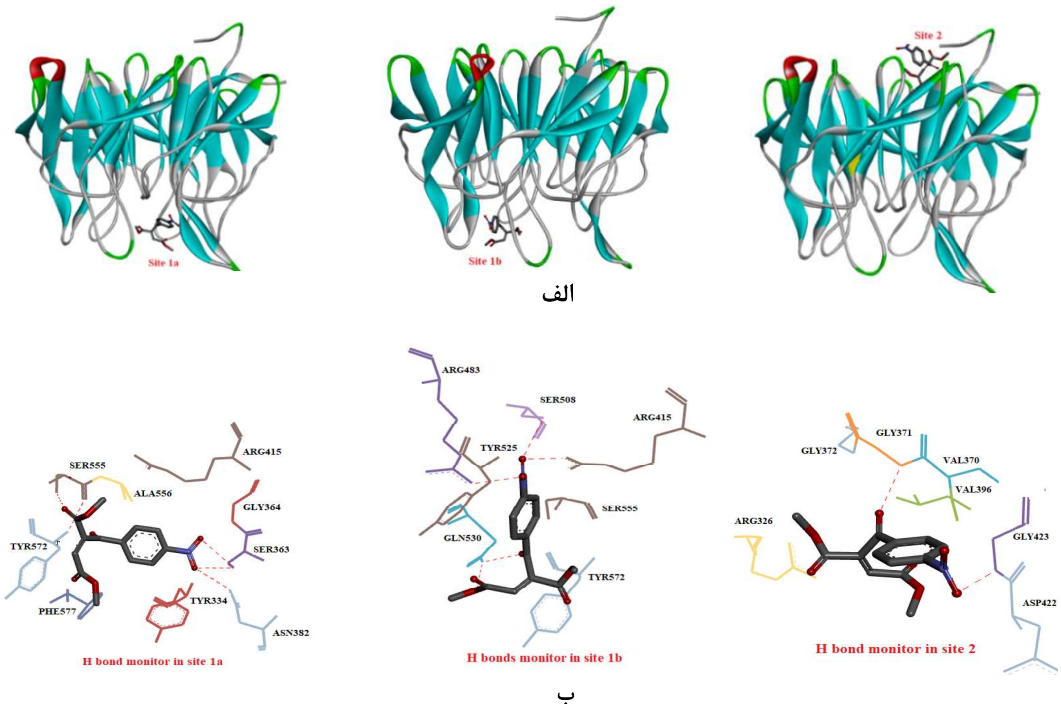
[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.3.5]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.406]

شد. با استفاده از نرم افزارهای AutoDockTools، ViewerLite و Discovery Studio مولکول‌های آب موجود در ساختار بلور و سایر لیگاندها حذف و اتم‌های هیدروژن ضروری، بارهای اتمی کولمن و پارامترهای انحلال به آن اضافه شد. ساختار DMF از بستر طبیعی آن یعنی ساختمان بلوری KEAP1 به دست آمد. ساختار سه مشتق از افزایش گروه‌های مورد نظر به ساختار DMF با استفاده از نرم افزار GaussView 6.0 و بهینه‌سازی آنها در نرم افزار Gaussian 09به دست می‌آید. این ساختارها به عنوان لیگاند با ادغام اتم‌های هیدروژن غیرقطبی، اضافه کردن بارهای جزئی و تعیین پیوندهای قابل چرخش برای داکینگ مولکولی آماده شدند.

داکینگ مولکولی با استفاده از AutoDock Vina انجام شد. اندازه و مختصات مرکز جعبه در سه ناحیهٔ برهم‌کنش‌کنندهٔ پروتئین و هر یک از لیگاندها با فاصلهٔ ۱Å با استفاده از AutoGrid تعریف شد. پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش‌های آبگریز بین پروتئین و لیگاند با استفاده از نرم افزار LigPlus مشخص شدند. برای ارزیابی صحت انجام داکینگ، مقایسهٔ صورتبندی هر لیگاند داکت شده با ساختار لیگاند موجود در ساختار بلوری با استفاده از نرم افزار Discovery Studio انجام و مجذور انحراف مربع میانگین (root-mean-square deviation (RMSD)) بین ساختار بلوری و ساختار پیش‌بینی شده محاسبه شد.

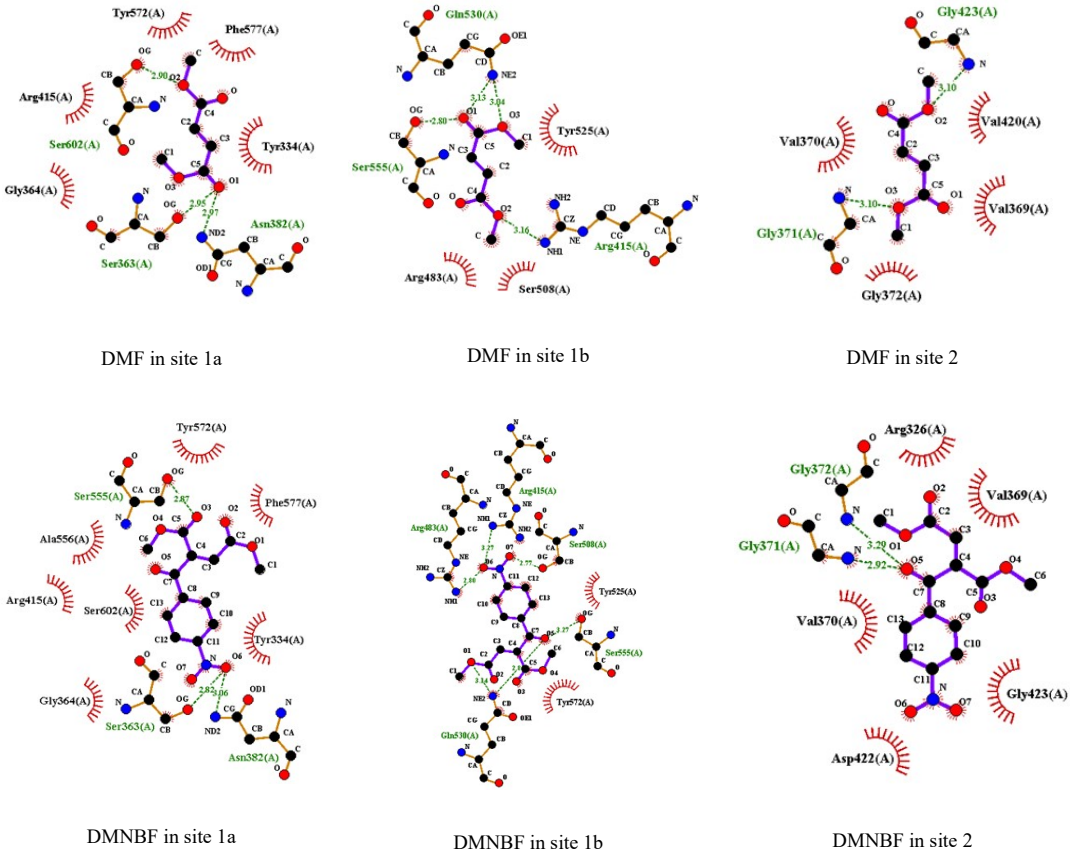
جدول ۱. مقدار انرژی میل ترکیبی برحسب کیلوکالری بر مول حاصل از داکینگ DMF و سه مشتق DMNBF، DMCBF و DMBBF با پروتئین KEAP1 در site 1a، site 1b و site 2 همرا با نام آمینو اسید شرکت کننده در تشکیل پیوند هیدروژنی

نام لیگاند	انرژی میل ترکیبی (آمینو اسید شرکت کننده در تشکیل پیوند هیدروژنی)		
	site 1a	site 1b	site 2
DMF	-۴/۵(SER602, ASN382, SER363)	-۴/۲(ARG415, SER555, GLN530, GLN530)	-۲/۸(GLY423, GLY371, ---------)
DMNBF	-۵/۹(SER555, ASN382, SER363)	-۵/۷(ARG483, ARG415, SER508, GLN530)	-۳/۷(GLY423, GLY371, ---------)
DMCBF	-۵/۷(SER602, SER602----------)	-۵/۳(ARG415 SER555, GLN530, ----------)	-۳/۵(Val370, GLY371, ----------)
DMBBF	-۵/۷(SER602, SER602----------)	-۵/۳(ARG415 SER555, GLN530, ----------)	-۳/۲(GLY371, GLY372, ---------)



شکل ۳. داکینگ DMNBF با پروتئین KEAP1. (الف) نمایش اتصال DMNBF به عنوان لیگاند به پروتئین KEAP1 در site 1a، site 1b و site 2. (ب) نمایش پیوندهای هیدروژنی تشکیل شده بین DMNBF و ریشه‌های آمینو اسیدی موجود در پروتئین KEAP1 در site 1a، site 1b و site 2.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.3.5]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.406]



شکل ۴. نمایش پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش‌های آبگریز برای اتصال DMF و DMNBF به پروتئین KEAP1 در site 1a، site 1b و site 2.

یافته‌ها

مقدار انرژی میل ترکیبی حاصل از داکینگ DMF و سه مشتق DMNBF، DMCBF و DMBBF با پروتئین KEAP1 در سه ناحیه (site 1a، site 1b و site 2) در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که انرژی حاصل از اتصال هر سه مشتق DMNBF، DMCBF و DMBBF به پروتئین KEAP1 در site 1a، site 1b و site 2 از DMF بیشتر است و مشتق DMNBF بیشترین انرژی را آزاد می‌کند.

شکل۳ داکینگ DMNBF با پروتئین KEAP1 در site 1a، site 1b و site 2 را نشان می‌دهد. در قسمت ب پیوندهای هیدروژنی تشکیل شده بین لیگاند و ریشه‌های آمینو اسیدی موجود در رشتهٔ پلی پپتیدی، با خط چین‌های قرمز نمایش داده شده است.

نتایج نشان می‌دهد DMNBF با انرژی میل ترکیبی ۵/۹، ۵/۷ و ۳/۷ کیلوکالری بر مول به ترتیب در site 1a، site 1b و site 2 بهتر از DMF و سایر مشتقات به پروتئین KEAP1 متصل می‌شود. این مولکول در site 1a با یک آمینو اسید آسپاراژین و دو آمینو اسید سرین، در site 1b با دو آمینو اسید آرژینین، یک آمینو اسید سرین و یک آمینو اسید گلوتامین و در site 2 با دو آمینو اسید گلیسین از طریق تشکیل پیوند هیدروژنی برهم‌کنش دارد. شکل۴ پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش‌های آبگریز را برای اتصال DMF و DMNBF به پروتئین KEAP1 در site 1a، site 1b و site 2 نشان می‌دهد.

بحث

همان طور که اشاره شد DMF با تاثیر بر مسیر KEAP1-NRF2، تجمع و رهایش NRF2 در سلول را تسهیل نموده و مسیر مقابله با تنش اکسایشی را فعال می‌کند. اثر DMF از طریق رقابت مستقیم با NRF2 در اتصال بهKEAP1 و همچنین از طریق اصلاح سیستئین‌های فعال در دامنهٔ

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.3.5]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.406]

KEAP1-BTB اعمال می‌شود. بررسی امکان و نحوه اتصال مشتقات DMNBF، DMCBF و DMBBF به‌KEAP1 به عنوان جایگزینی برای DMF با استفاده از داکینگ مولکولی نشان می‌دهد که تعداد پیوندهای هیدروژنی و همچنین تعداد و نوع آمینو اسیدهای شرکت کننده در برهم‌کنش‌های آبگریز که تعیین کننده مقدار انرژی میل ترکیبی یا انرژی اتصالی هستند با اتصال این مشتقات به KEAP1 نسبت به DMF تغییر می‌کند.

شکل ۴ نشان می‌دهد DMNBF در site 1a با ریشه‌های آمینو اسیدی Asn382, Ser363 و Ser555 پیوند هیدروژنی و با هفت ریشه آمینواسیدی Try572, Phr577, Ala553, Arg414, Ser602, Gly364 و Try334 برهم‌کنش‌های آبگریز دارد که نسبت به DMF برهم‌کنش‌های آبگریز با Ser602 و Ala556 اضافه شده است. DMNBF در site 1b با ریشه‌های آمینو اسیدی Arg483, Arg415, Gln530 Ser508, Gln530 وSer555 پیوند هیدروژنی و با ریشه‌های آمینواسیدی Try572 و Try525 برهم‌کنش‌های آبگریز دارد که نسبت به DMF دو پیوند هیدروژنی اضافه شده است. این مشتق در site 2 با دو ریشه Gly571 و Gly572 پیوند هیدروژنی با پنج ریشه آمینواسیدی Asp422, Arg326, Val370, Gly423 و Val369 برهم‌کنش‌های آبگریز دارد که نسبت به DMF برهم‌کنش آبگریز با Arg326 اضافه شده است. دو مشتق DMCBFو DMBBF نیز تغییرات مشابهی را نشان می‌دهند (جدول ۱). این تغییرات باعث افزایش میزان انرژی اتصالی برای هر سه مشتق در هر سه ناحیه تعامل (site1a، site 1b و site 2) می‌شود که بویژه در اتصال DMNBF به‌KEAP1 محسوس‌تر هستند. انرژی اتصال برای مشتقDMNBF در site1a، site 1b و site 2 به ترتیب ۵/۹، ۵/۷ و ۳/۷ کیلوکاری برمول است که بطور میانگین نسبت DMF به ۱/۳ کیلوکالری برمول افزایش داشته است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت احتمال اتصال DMNBF به‌KEAP1 نسبت DMF به اندازه ۳۴/۲ درصد بیشتر است. به طور مشابه انرژی اتصال دو مشتق DMCBFو DMBBF در site1a، site 1b و site 2 به ترتیب ۵/۷، ۵/۳ و ۳/۵(۲) کیلوکاری برمول است که بطور میانگین نسبت به DMF ۱ کیلوکالری برمول افزایش داشته است. از اینرو احتمال اتصال این دو مشتق به‌KEAP1 نسبت DMF به اندازه ۲۶/۳ درصد بیشتر است.

از یافته‌های این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که مولکول DMF در سه ناحیه (site 1a، site 1b و site 2) با پروتئین KEAP1 برهم‌کنش می‌کند و با عملکردی دوگانه نه تنها از طریق اصلاح کووالانسی سیستئین‌های فعال در پروتئین KEAP1 بلکه با فعالسازی موازی غیرکووالانسی NRF2 از طریق KEAP1، مقابله با تنش اکسایشی را فعال می‌کند.

در این تحقیق با استفاده از روش داکینگ مولکولی، انرژی میل ترکیبی، پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش‌های آبگریز DMF و سه مشتق DMNBF، DMCBF و DMBBFبا پروتئین KEAP1 در هر سه ناحیه (site1a، site 1b و site 2) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که هر سه مشتق و به ویژه DMNBF در هر سه ناحیه پیوندهای هیدروژنی و برهمکنش‌های آبگریز موثرتری داشته و با انرژی اتصالی بیشتری با پروتئین KEAP1 برهم‌کنش می‌کند و احتمالا این مشتق در رقابت مستقیم با NRF2 در اتصال به‌KEAP1 به اندازه ۳۴/۳درصد بهتر عمل می‌کند. از این رو مولکول DMNBF ممکن است بتواند در دوزهای کمتر و با عوارض جانبی کمتر برای درمان پسوریازیس و ام اس یا برای فعالسازی NRF2 در مواجهه با بیماری‌هایی که به نوعی با سیستم KEAP1-NRF2 مرتبط هستند مورد مطالعه قرار گیرد.

REFERENCES

1. Deshmukh P, Unni S, Krishnappa G, Padmanabhan B. The Keap1-Nrf2 pathway: promising therapeutic target to counteract ROS-mediated damage in cancers and neurodegenerative diseases. Biophys Rev 2017; 9: 41–6.
2. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative stress. Annu Rev Biochem 2017; 86: 715–8.
3. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature 2001; 414: 813–20.
4. Gorrini C, Harris IS, Mak TW. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. Nat Rev Drug Discov 2013; 12: 931–7.
5. Barnham KJ, Masters CL, Bush AI. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. Nat Rev Drug Discov 2004; 3: 205–14.
6. Itoh K, Chiba T, Takahashi S, Ishii T, Igarashi K, Katoh Y, Oyake, et al. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. Biochem Biophys Res Commun 1997; 236: 313-22.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.3.5]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.406]

7. Wakabayashi N, Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Kang MI, Kobayashi A, Yamamoto M, Kensler TW, Talalay P. Protection against electrophile and oxidant stress by induction of the phase 2 response: fate of cysteines of the Keap1 sensor modified by inducers. Proc Natl Acad Sci U S A 2004; 101: 2040-45.

8. Zhang M, An C, Gao Y, Leak RK, Chen J, Zhang F. Emerging roles of Nrf2 and phase II antioxidant enzymes in neuroprotection. Prog Neurobiol 2013;100: 30-47.

9. Moi P, Chan K, Asunis I, Cao A, Kan YW. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region. Proc Natl Acad Sci U S A 1994; 91: 9926-30.

10. Zhang DD, Lo SC, Cross JV, Templeton DJ, Hannink M. Keap1 is a redox-regulated substrate adaptor protein for a Cul3-dependent ubiquitin ligase complex. Mol Cell Biol 2004; 24:10941-53.

11. Cullinan SB, Gordan JD, Jin J, Harper JW, Diehl JA. The Keap1-BTB protein is an adaptor that bridges Nrf2 to a Cul3-based E3 ligase: oxidative stress sensing by a Cul3-Keap1 ligase. Mol Cell Biol 2004; 24:8477-86.

12. Canning P, Cooper CD, Krojer T, Murray JW, Pike AC, Chaikuad A, et al. Structural basis for Cul3 protein assembly with the BTB-Kelch family of E3 ubiquitin ligases. J Biol Chem 2013; 288:7803-14.

13. Li X, Zhang D, Hannink M, Beamer LJ. Crystal structure of the Kelch domain of human Keap1. J Biol Chem 2004; 279:54750-8.

14. Cleasby A, Yon J, Day PJ, Richardson C, Tickle IJ, Williams PA, et al. Structure of the BTB domain of Keap1 and its interaction with the triterpenoid antagonist CDDO. PloS One 2014; 9:e98896.

15. Xue P, Hou Y, Chen Y, Yang B, Fu J, Zheng H, et al. Adipose deficiency of Nrf2 in ob/ob mice results in severe metabolic syndrome. Diabetes 2013; 62:845-54.

16. Zhang DD, Hannink M. Distinct cysteine residues in Keap1 are required for Keap1-dependent ubiquitination of Nrf2 and for stabilization of Nrf2 by chemopreventive agents and oxidative stress. Mol Cell Biol 2003;23:8137-51.

17. Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Cole RN, Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, et al. Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99:11908-13.

18. Rachakonda G, Xiong Y, Sekhar KR, Stamer SL, Liebler DC, Freeman ML. Covalent modification at Cys151 dissociates the electrophile sensor Keap1 from the ubiquitin ligase CUL3. Chemi Res Toxicol 2008; 21:705-10.

19. Eggler AL, Small E, Hannink M, Mesecar AD. Cul3-mediated Nrf2 ubiquitination and antioxidant response element (ARE) activation are dependent on the partial molar volume at position 151 of Keap1. Biochem J 2009; 422:171-80.

20. Linker RA, Lee DH, Ryan S, van Dam AM, Conrad R, Bista P, et al. Fumaric acid esters exert neuroprotective effects in neuroinflammation via activation of the Nrf2 antioxidant pathway. Brain 2011; 134:678-92.

21. Takaya K, Suzuki T, Motohashi H, Onodera K, Satomi S, Kensler TW, et al. Validation of the multiple sensor mechanism of the Keap1-Nrf2 system. Free Radic Biol Med 2012; 53:817-27.

22. Schmidt TJ, Ak M, Mrowietz U. Reactivity of dimethyl fumarate and methylhydrogen fumarate towards glutathione and N-acetyl-L-cysteine—preparation of S-substituted thiosuccinic acid esters. Bioorg Med Chem 2007; 15:333-42.

23. Chin MP, Wrolstad D, Bakris GL, Chertow GM, de Zeeuw D, Goldsberry A, et al. Risk factors for heart failure in patients with type 2 diabetes mellitus and stage 4 chronic kidney disease treated with bardoxolone methyl. J Card Fail 2014; 20:953-8.

24. Yamamoto M, Kensler TW, Motohashi H. The KEAP1-NRF2 system: a thiol-based sensor-effector apparatus for maintaining redox homeostasis. Physiol Rev 2018;98:1169-203.

25. Van Laecke ST, Van Biesen W, Vanholder R. The paradox of bardoxolone methyl: a call for every witness on the stand? Diabetes Obes Metab 2015;17:9-14.

26. Linker RA, Gold R. Dimethyl fumarate for treatment of multiple sclerosis: mechanism of action, effectiveness, and side effects. Curr Neurol Neurosci Rep 2013; 13:1-7.

27. RECOVERY Collaborative Group; Horby PW, Peto L, Staplin N, Campbell M, Pessoa-Amorim G, Mafham M, et al. Dimethyl fumarate in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. Nat Commun 2024;15:924.

28. Brennan MS, Matos MF, Li B, Hronowski X, Gao B, Juhasz P, Rhodes KJ, Scannevin RH. Dimethyl fumarate and monoethyl fumarate exhibit differential effects on KEAP1, NRF2 activation, and glutathione depletion in vitro. PloS One 2015; 10: e0120254.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.3.5]
[DOI: 10.61882/iau.35.4.406]

29. Padmanabhan B, Tong KI, Ohta T, Nakamura Y, Scharlock M, Ohtsuji M, et al. Structural basis for defects of Keap1 activity provoked by its point mutations in lung cancer. Mol Cell 2006; 21:689-700.

30. Tong KI, Kobayashi A, Katsuoka F & Yamamoto M. Two-site substrate recognition model for the Keap1-Nrf2 system: a hinge and latch mechanism. Biol Chem 2006; 387: 1311–20.

31. Linker RA, Haghikia A. Dimethyl fumarate in multiple sclerosis: latest developments, evidence and place in therapy. Ther Adv Chronic Dis 2016; 7:198-207.

32. Longbrake EE, Cross AH. Dimethyl fumarate associated lymphopenia in clinical practice. Mult Scler 2015; 21:796-7.

33. Unni S, Deshmukh P, Krishnappa G, Kommu P, Padmanabhan B. Structural insights into the multiple binding modes of Dimethyl Fumarate (DMF) and its analogs to the Kelch domain of Keap1. FEBS J 2021; 2881599-613.

34. Itoh K, Tong KI, Yamamoto M. Molecular mechanism activating Nrf2–Keap1 pathway in regulation of adaptive response to electrophiles. Free Radic Biol Med 2004; 36:1208-13.

35. Davies TG, Wixted WE, Coyle JE, Griffiths-Jones C, Hearn K, McMenamin R, et al. Monoacidic inhibitors of the Kelch-like ECH-associated protein 1: nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (KEAP1: NRF2) protein–protein interaction with high cell potency identified by fragment-based discovery. J Med Chem 2016; 59:3991-4006.

36. Hosseini SJ, Ali-asgari S. Stereoselective and triphenylphosphine-catalyzed synthesis of 2,2'- azanediyldifumarate and 2-benzoylfumarate: Preparation of the Tekfidra drug derivatives. J Appl Res Chem 2022; 17:91-8.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.4.3.5]

[DOI: 10.61882/iau.35.4.406]