# Investigating the Ability of Drug Candidates to Bind to the HO-1 Enzyme to Reduce Pain Caused by Temporomandibular Joint Disorders (TMD) Using Molecular Docking

**Payam Younesi Baneh[1], Hamzeh Salehzadeh[2], Shadieh Mohammadi[3], Hadi Mohammadi[4], Omid Zarei[5]**

1. Dentistry Student, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID: 0009-0005-2733-1496
2. Assistant Professor, AI in Health and Medical Sciences Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0002-1057-0707
3. Assistant Professor, Environmental Health Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID 0000-0002-0711-4305
4. Associate Professor, Cancer and Immunology Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran., (Corresponding Author), Tel: +98-912-0321086, Email: Hadi.mohammadi6160@gmail.com. ORCID ID: 0009-0007-8932-1028
5. Assistant Professor, Cancer and Immunology Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran., (Co-Corresponding Author), Tel: +98-918-8722031, Email: o.zarei@muk.ac.ir. ORCID ID: 0000-0002-9362-9240

## ABSTRACT

**Background and Aim:** HO-1 is an important enzyme involved in regulating pain and inflammation associated with temporomandibular joint disorders. This study aimed to identify pharmaceutical compounds effective on HO-1 using molecular docking drug modeling.

**Materials and Methods:** This study was conducted as a basic science. The study population included drugs available in the drug information database. The inclusion criterion involved initial screening to identify drugs with greater efficacy, while the exclusion criterion involved removing drugs with the highest side effects based on database information. Initially, the structure of the HO-1 enzyme was extracted from the Protein Data Bank. Then, using various software and servers, such as Discovery Studio, YASARA Energy Minimization, and Chimera, the structures of additional ligands were extracted from the protein structure, and the protein structure was subsequently optimized. Based on the DrugBank and PubChem databases, drugs that could have the greatest impact were identified and screened, and then the pharmaceutical compounds were extracted and optimized using ChemBio3D and Augadroo software (version 2.0.0). Molecular docking was performed using Molegro Virtual Docker software (version 2019).

**Results:** Among the pharmaceutical compounds used to interact with HO-1, the following had the highest interactions in order: NADH > alpha-Tocopherol succinate > Vitamin E > Tryptophan > Isopropyl Alcohol, with their interaction energy levels being -192.9050, -142.1080, -133.146, -95.7108, and -43.6045, respectively. The number of hydrogen bonds corresponding to these compounds and HO-1 was 10, 1, 2, 2, and 3, respectively.

**Conclusion:** The pharmaceutical compound NADH exhibited the highest interaction with the HO-1 enzyme. The compounds alpha-Tocopherol succinate and Vitamin E showed significant interactions with the HO-1 enzyme. Tryptophan and Isopropyl Alcohol showed suitable interactions with the HO-1 enzyme. HO-1 is a suitable enzyme for controlling pain and inflammation associated with TMD.

**Keywords:** Drug Modeling, HO-1, Molecular Docking, Molegro Virtual Docker, Temporomandibular Joint Disorders

**Received:** Jan 24, 2025 **Accepted:** Nov 1, 2025

**How to cite the article:** Younesi Bane P, Salehzadeh H, Mohammadi Sh, Mohammadi H, Zarei O. Investigating the Ability of Drug Candidates to Bind to the HO-1 Enzyme to Reduce Pain Caused by Temporomandibular Joint Disorders (TMD) Using Molecular Docking. SJKU 2026;30(6):46-61

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

# بررسی توانایی اتصال کاندیدهای دارویی با آنزیم HO-1 جهت کاهش درد ناشی از اختلالات مفصل گیجگاهی فکی (TMD) با استفاده از داکینگ مولکولی

**پیام یونسی بانه[۱]، حمزه صالح‌زاده[۲]، شادیه محمدی[۳]، هادی محمدی[۴]، امید زارعی[۵]**

۱. دانشجوی دندان‌پزشکی، کمیتهٔ تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۹۰۰۰۵۲۷۳۳۱۴۹۶

۲. استادیار، مرکز تحقیقات هوش مصنوعی در علوم بهداشتی و پزشکی، پژوهشکدهٔ توسعهٔ سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰۰۰۰۲۱۰۵۷۰۷۰۷

۳. استادیار، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰۰۰۰۲۰۷۱۱۴۳۰۵

۴. دانشیار، مرکز تحقیقات سرطان و ایمونولوژی، پژوهشکدهٔ توسعهٔ سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.، (نویسندهٔ مسئول اول)، ایمیل: hadi.mohammadi6160@gmail.com، تلفن: ۰۹۱۲۰۳۲۱۰۸۶، کد ارکید: ۰۰۰۹۰۰۰۷۸۹۳۲۱۰۲۸

۵. استادیار، مرکز تحقیقات سرطان و ایمونولوژی، پژوهشکدهٔ توسعهٔ سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.، (نویسندهٔ مسئول دوم)، ایمیل: o.zarei@muk.ac.ir، شماره تماس: ۰۹۱۸۸۷۲۲۰۳۱، کد ارکید: ۰۰۰۰۰۰۰۲۹۳۶۲۹۲۴۰

## چکیده

**زمینه و هدف:** HO-1 آنزیم مهمی در کنترل درد و التهاب ناشی از اختلالات مفصل گیجگاهی فکی است. این مطالعه با هدف شناسایی ترکیبات دارویی مؤثر در HO-1 با استفاده از مدل‌سازی دارویی داکینگ مولکولی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه به‌صورت علوم پایه انجام شد. جامعهٔ مورد مطالعه شامل داروهای موجود در پایگاه اطلاعات دارویی بود. معیار ورود داروهای با تأثیرگذاری بیشتر و معیار خروج داروهای با بیشترین عوارض بود. ابتدا ساختار آنزیم HO-1 از دیتابیس «پروتئین دیتا بانک» استخراج شد. سپس، با استفاده از نرم‌افزارها و سرورهای دیسکاوری استودیو، یاسارا انرژی مینیمایزیشن و کایمرا، ابتدا ساختار لیگاندهای اضافی حذف و سپس ساختار پروتئین بهینه‌سازی شد. براساس دراگ بانک، داروهایی که می‌توانند بیشترین اثرگذاری را داشته باشند شناسایی شدند. سپس ترکیبات دارویی استخراج و با نرم‌افزار کم‌بایو تری‌دی و آوگادروو بهینه‌سازی شد. داکینگ مولکولی با نرم‌افزار مولگرو ویرچوال داکر ۲۰۱۹ انجام شد.

**یافته‌ها:** از بین ترکیبات دارویی مورد استفاده برای انجام برهمکنش با HO-1، به‌ترتیب alpha-Tocopherol <NADH Isopropyl Alcohol < Tryptophan <Vitamin E <succinate بیشترین برهمکنش را داشتند که سطح انرژی برهمکنش آن‌ها به‌ترتیب برابر بود با ۱۹۲/۹۰۵۰- < -۱۴۲/۱۰۸۰- < ۱۳۳/۱۴۶- < ۹۵/۷۱۰۸- < ۴۳/۶۰۴۵. همچنین، تعداد پیوندهای هیدروژنی مربوط به آن‌ها با HO-1 به‌ترتیب برابر با ۱۰ پیوند هیدروژنی، ۱ پیوند، ۲ پیوند، ۲ پیوند و ۳ پیوند هیدروژنی بود.

**نتیجه‌گیری:** ترکیب دارویی NADH بالاترین برهمکنش را با آنزیم HO-1 داشت. ترکیبات دارویی alpha-Tocopherol succinate و Vitamin E با آنزیم HO-1 برهمکنش بالایی داشتند. ترکیبات دارویی Tryptophan و Isopropyl Alcohol برهمکنش مناسبی با آنزیم HO-1 داشتند. HO-1 آنزیم مناسبی برای کنترل درد و التهاب ناشی از TMD است.

**کلمات کلیدی:** اختلالات مفصل گیجگاهی فکی، HO-1، داکینگ مولکولی، مدلسازی دارویی، مولگروویرچوال داکر

وصول مقاله: ۱۴۰۳/۱۱/۰۵ اصلاحیه نهایی:۱۴۰۴/۰۷/۱۶ پذیرش:۱۴۰۴/۰۸/۱۰

**مقدمه**

اختلالات گیجگاهی فکی (TMD) شامل تعدادی از شرایط بالینی است که عضلات جونده، مفصل گیجگاهی فکی (TMJ) و ساختارهای مجاور را درگیر می‌کند. مشخصهٔ اولیه TMD درد است. TMD علت اصلی درد با منشأ غیردندانی در ناحیهٔ دهان و صورت است و اغلب با درد مداوم صورت و افزایش حساسیت به محرک‌های دردناک در چندین ناحیه مشخص می شود (۱). بین ۳ تا ۷ درصد از جمعیت جهان به‌دنبال درمان برای درد و اختلال عملکرد TMJ یا ساختارهای مرتبط هستند که افراد بین بیست تا چهل سال و اغلب زنان را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (۲). TMD منشأ چندعاملی دارد و متغیرهای متعددی، ازجمله تروما و عوامل ساختاری و روانی اجتماعی، ممکن است در اتیولوژی آن‌ها دخیل باشند. همچنین، شواهد نشان می‌دهند که التهاب می‌تواند محرک رایجی برای شروع و حفظ آن باشد (۳).

داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDs) ازجمله رایج‌ترین داروهای مورد استفاده برای درمان درد TMD هستند (۴، ۵). بااین‌حال، شواهد مبنی بر اثربخشی این داروها در درمان TMDs بسیار محدود است و ادامهٔ استفاده از NSAIDها با چندین عارضهٔ جانبی نامطلوب، مانند عوارض کلیوی و گوارشی همراه است که ضرورت توسعهٔ مولکول‌های جدید برای درمان درد و التهاب TMJ را افزایش می‌دهد (۴، ۶).

از بین ماکرومولکول‌های زیستی، هم اکسیژناز-۱ (HO-1) آنزیمی است که در کنترل درد و التهاب نقش مهمی ایفا می‌کند و عملکرد ضداکسیداتیو و ضدالتهابی دارد. با کاهش فراهمی زیستی هِم‌آزاد، HO-1 نوعی عملکرد مهم ضداکسیداتیو و ضدالتهابی در بیماری ایجاد می‌کند. در نتیجه این آنزیم در محافظت از بافت‌ها و اندام‌های مختلف در برابر استرس اکسیداتیو و واکنش‌های التهابی نقش اساسی دارد. HO-1 چندین مولکول را با استرس آنتی اکسیداتیو و عملکردهای ضدالتهابی آزاد می‌کند. همچنین، چرخهٔ سلولی را تعدیل، آپوپتوز را مهار و اتوفاژی را تنظیم می‌کند، در همودینامیک تأثیر می‌گذارد و ایمنی را تنظیم می‌کند. در زمینهٔ درد القای آنزیم HO-1 نشان داده شده است که در جانداران مبتلابه درد استئوآرتریت، آثار ضد درد ایجاد می‌کند. بنابراین، HO-1 در کنترل درد و التهاب نقش بسزایی دارد (۷، ۸). همچنین، این آنزیم به‌سبب عملکردی که در کاهش درد و التهاب دارد، در TMD اثر می‌گذارد و موجب کاهش درد و التهاب TMD می‌شود (۹).

HO-1 در تجزیهٔ هم، نوعی مولکول پیش‌اکسیدان، به بیلیوردین، مونوکسید کربن (CO) و آهن دو ظرفیتی ($Fe_2O_3$) نقش مهمی ایفا می‌کند. این محصولات جانبی در آثار مفید آن نقش اساسی دارند (۱۰). در مسیرهای بیوشیمیایی مرتبط با التهاب و درد، HO-1 آثار خود را از طریق چندین مکانیسم اعمال می‌کند: ۱. تجزیهٔ هم: تجزیه هم با HO-1 خود با حذف مولکولی که می‌تواند به‌عنوان عامل پیش‌التهابی عمل و نوتروفیل‌ها را فعال کند، به اقدامات ضدالتهابی کمک می‌کند (۱۰، ۱۱)؛ ۲. سیگنالینگ CO، CO، محصول فعالیت HO-1، آثار ضدالتهابی قوی دارد و می‌تواند در رویدادهای بیولوژیکی مختلف، ازجمله رفع التهاب، تأثیر بگذارد (۱۰)؛ ۳. خواص آنتی‌اکسیدانی بیلی‌وردین (BV) و بیلی‌روبین (BR): بیلی‌وردین، که متعاقباً به بیلی‌روبین تبدیل می‌شود، خواص آنتی‌اکسیدانی قوی دارد که به آثار ضدالتهابی HO-1 کمک می‌کند (۱۰). نشان داده شده است که بیلیوردین در مدل‌های اندوتوکسمی از التهاب محافظت می‌کند و بقا را بهبود می‌بخشد (۱۲)؛ ۴. جداسازی آهن: آهن فروس آزادشده در طول تخریب هم توسط فریتین جدا می‌شود و بیشتر به آثار ضد التهابی و محافظت سلولی HO-1 کمک می‌کند (۱۰).

داکینگ مولکولی (اتصال مولکولی) نوعی روش مبتنی‌بر ساختار محاسباتی است که در کشف دارو استفاده می‌شود.

این امکان شناسایی اهداف دارویی بالقوه و پیش‌بینی فعل و انفعالات لیگاند-هدف مولکولی را در سطح اتمی فراهم می‌کند. ازاین‌رو، رفتار مولکول‌ها در محل اتصال و همچنین فرایندهای بیوشیمیایی را می‌توان مشخص کرد. اتصال مولکولی ابزار مفیدی برای کمک به کشف دارو بوده است (۱۳، ۱۴). بنابراین، مطالعهٔ حاضر به‌منظور غربالگری داروهایی انجام شد که ممکن است بیشترین واکنش را با HO-1 داشته باشند. همچنین، مدل‌سازی برهمکنش ترکیبات دارویی با HO-1 با استفاده از نرم‌افزار مولگروورچوال داکر انجام شد.

## مواد و روش‌ها

### نوع مطالعه، جامعه و نمونهٔ مورد مطالعه

این مطالعه به‌صورت علوم پایه از طریق بررسی داکینگ مولکولی ترکیبات شیمیایی و دارویی مختلف با آنزیم HO-1 انجام شد. جامعهٔ مورد مطالعه داروهای موجود در پایگاه اطلاعات دارویی (Drug Bank) بود. معیار ورود غربالگری اولیه برای یافتن داروهای با تأثیرگذاری بیشتر و معیار خروج حذف داروهای با بیشترین عوارض براساس پایگاه‌های اطلاعات بود. پس از استخراج داروهای مؤثر در اتصال به HO-1، ساختارهای مشابه با ساختارهای دارویی که اثر دارویی آن‌ها در HO-1 اثبات شد، غربالگری شدند و مجموعهٔ این داروها با استفاده از روش داکینگ مولکولی مدل‌سازی شد.

### روش جمع‌آوری اطلاعات

این مطالعه به‌صورت علوم پایه از طریق بررسی داکینگ مولکولی ترکیبات شیمیایی و دارویی مختلف با آنزیم HO-1 انجام شد. ابتدا ساختار HO-1 از دیتابیس «پروتئین دیتا بانک» استخراج شد. سپس با استفاده از نرم‌افزارها و سرورهای مختلفی نظیر دیسکاوری استودیو، یاسارا، انرژی مینیمایزیشن و کایمرا، ابتدا ساختار لیگاندهای اضافی از ساختار پروتئین استخراج و سپس ساختار پروتئین بهینه‌سازی شد و از لحاظ انرژی در پایین‌ترین سطح قرار گرفت. براساس دیتابیس‌های دراگ بانک و پابکم داروهایی که می‌توانند بیشترین اثرگذاری را داشته باشند، شناسایی و غربالگری شد. ترکیبات دارویی شناسایی‌شده در مرحلهٔ قبل، در این مرحله استخراج و سپس با نرم‌افزارهایی نظیر کم‌بایو تری‌دی و آوگادرو بهینه‌سازی و از لحاظ سطح انرژی، مینیمایز شدند. فرایند داکینگ مولکولی بین HO-1 و ترکیبات دارویی با نرم‌افزار مولگرو ویرچوال داکر انجام شد. نتایج حاصل از داکینگ با مولگرو مولکولار ویور بررسی و تحلیل شد (۱۳، ۱۴).

در مرحلهٔ اول، اپتیمایز انرژی آنزیم و ترکیبات دارویی انجام شد. در ادامه، نتایج داکینگ مولکولی HO-1 با ترکیبات دارویی مختلف آمده است. نتایج به ترتیب داروهای مختلف آمده است.

### دریافت ساختار و اپتیمایزیشن HO-1

آنزیم HEME OXYGENASE-1 (HO-1) با کد 1n45 از دیتابیس PDB (پروتئین دیتا بانک) استخراج شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار کایمرا در ۱۰۰ گام با فاصلهٔ ۰/۰۲ آنگستروم اپتیمایزیشن شد. دستور اپتیمایز انرژی در شکل S1 در بخش supplementary data آمده است. سپس، فرایند اپتیمایزیشن انرژی با سرور آنلاین Yasara Energy Minimization انجام شد که نتایج آن در شکل S2 آمده است. براساس شکل S2، سطح انرژی آنزیم HO-1 پس از کاهش سطح انرژی و رسیدن به پایداری در Yasara، از مقدار ۲۱۹۵۹۲/۷ Kj/mol، به مقدار ۲۸۷۵۲۷/۰Kj/mol رسید.

### دریافت ساختار و اپتیمایزیشن ترکیبات دارویی

لیگاندی که در ساختار HO-1 حضور داشت و پیوندهای خوبی با آنزیم برقرار کرده بود، ترکیب Protoporphyrin IX بود. براساس پایگاه اطلاعات دارویی (Drug Bank)، این ترکیب جزو داروهای تأییدشدهٔ سازمان غذاو داروی

آمریکا و سازمان‌های دارویی بین‌المللی نبود. بنابراین، ساختار مشابه با این ترکیب با درصد تشابه بیش از ۶۰ درصد، که جزو داروهای تأییدشدهٔ سازمان غذا و داروی آمریکا و بین‌المللی بود، غربال شد که به ترکیب دارویی Tryptophan دست یافتیم. پس از مراجعه به دراگ بانک و سرچ تارگت HO-1، ترکیبات دارویی تأییدشدهٔ alpha-Tocopherol succinate، Isopropyl Alcohol، VITAMIN E و NADH یافت شد.

با استفاده از نرم‌افزار ChemBio 3D، ساختار ترکیبات دارویی اپتیمایز شد. برای اپتیمایز، ابتدا از دستور Molecular Dynamics در ۱۰۰۰۰ گام با فاصلهٔ ۲/۰ fs بین گام‌ها استفاده شد. سپس دستور Minimize Energy با حداقل گرادیان RMS برابر با ۰/۰۱۰۰ اجرا شد (شکل S3 و S4). نتایج دینامیک مولکولی و کاهش سطح انرژی ترکیبات دارویی در جدول T1 آمده است.

براساس جدول T1، انرژی جنبشی انتقالی برای کل ترکیبات دارویی برابر با ۰/۰۰۰۰، انرژی جنبشی دورانی برای Tryptophan، alpha-Tocopherol succinate و NADH برابر با ۰/۰۰۰۱ و برای Isopropyl Alcohol و VITAMIN E برابر با ۰/۰۰۰۰ بود. همچنین، میزان سطح انرژی کل پس از کاهش سطح انرژی برای هر ترکیب دارویی مشخص شد.

در نرم‌افزار Molegro Virtual Docker (MVD) ، تابع امتیازدهی اصلی و پیش‌فرض MolDock Score است. این تابع در نتایج نیز منعکس شده؛ جایی که انرژی برهمکنش کل (مانند -۱۹۲/۹۰۵۰ برای NADH) گزارش شده و نشان‌دهندهٔ امتیاز منفی‌تر برای برهمکنش قوی‌تر است.

دلایل استفاده از MolDock Score عبارت‌اند از:

۱- دقت زیاد در پیش‌بینی حالت‌های اتصال: MolDock Score براساس نوعی روش بهینه‌سازی نوین مانند الگوریتم MolDock Optimizer طراحی شده است که در شناسایی حالت‌های اتصال صحیح ( binding poses) دقت زیادی دارد. مطالعات نشان می‌دهند که MVD با این تابع، دقت حدود ۸۷ درصد در شناسایی binding modes صحیح دارد که از نرم‌افزارهای مشابه مانند Glide (۸۲ درصد)، Surflex (۷۵ درصد) یا FlexX (۵۸ درصد) بالاتر است. این دقت آن را برای غربالگری داروها و پیش‌بینی برهمکنش‌های پروتئین ـ لیگاند مناسب می‌کند.

۲- سرعت و کارایی محاسباتی: این تابع empirical (تجربی) است و براساس داده‌های تجربی، از کمپلکس‌های پروتئین ـ لیگاند در PDB calibrate شده است که اجازه می‌دهد محاسبات، بدون ازدست‌دادن دقت، سریع‌تر انجام شوند؛ به‌ویژه برای مطالعات علوم پایه که شامل غربالگری چندین ترکیب دارویی است.

۳- تمرکز بر پروتئین ـ لیگاند: این تابع مخصوص کمپلکس‌های پروتئین ـ لیگاند calibrate شده و برای سیستم‌هایی مانند HO-1 و ترکیبات دارویی (مانند NADH یا Vitamin E) مناسب است؛ زیرا برهمکنش‌های کلیدی مانند پیوندهای هیدروژنی را به‌خوبی مدل‌سازی می‌کند.

۴- ادغام با ابزارهای MVD: MVD چهار تابع امتیازدهی native دارد (MolDock Score، MolDock Grid، ReRank Score و Plants Score)، اما MolDock Score پیش‌فرض است و برای ارزیابی بهترین حالت قرارگیری (با بیشترین پیوند هیدروژنی و انرژی منفی‌تر) استفاده شده است. ReRank Score گاهی برای تصحیح poses استفاده می‌شود، اما در نتایج این مطالعه تمرکز روی MolDock Score است.

پارامترهایی که MolDock Score در محاسبهٔ انرژی برهمکنش لحاظ می‌کند:

MolDock Score انرژی کل (E_score) را به‌صورت مجموع انرژی‌های intermolecular (بین مولکولی، یعنی بین لیگاند و پروتئین) و intramolecular (درون مولکولی، یعنی درون لیگاند) محاسبه می‌کند:

$$E_{score}=E_{inter}+E_{intra}$$

(intermolecular) E_inter انرژی: این بخش برهمکنش‌های بین لیگاند و پروتئین را ارزیابی می‌کند و شامل موارد زیر است:

- برهمکنش‌های (steric (van der Waals: با استفاده از Piecewise Linear Potential (PLP) برای محاسبه نیروهای جاذبه و دافعه بین اتم‌ها براساس فاصله؛
- پیوندهای هیدروژنی (PLP (Hydrogen bonding: برای ارزیابی قدرت و به‌منظور پیوندهای H-bond؛
- برهمکنش‌های الکترواستاتیک (Electrostatics): محاسبه بر اساس فرمول $\frac{q1*q2}{4r^2}$ :Coulomb-like، جایی که q1 و q2 بارهای جزئی اتم‌ها و r فاصله است.

## یافته‌ها

### داکینگ مولکولی ترکیبات دارویی با آنزیم HO-1

پس از انجام داکینگ مولکولی بین HO-1 و ترکیبات دارویی مختلف، برای هر ترکیب دارویی پنج حالت از بهترین حالات قرارگیری ترکیب دارویی در محل اکتیوسایت HO-1 مشخص شد. از بین این پنج حالت، بهترین حالت قرارگیری با بیشترین تعداد پیوند هیدروژنی و منفی‌ترین انرژی پیوندی انتخاب و نتایج آن گزارش شد. در ادامه، نتایج و تصاویر آن برای هر ترکیب دارویی آمده است.

### Tryptophan

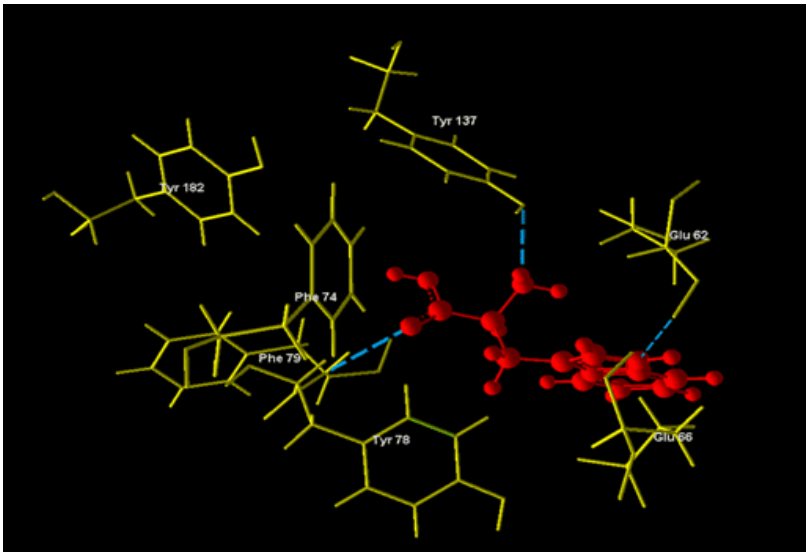
نتایج داکینگ Tryptophan با HO-1 در جدول ۱ آمده است.

**جدول ۱. تعداد پیوند و سطح انرژی داکینگ مولکولی ترکیب Tryptophan**

| نوع پیوند | انرژی | طول پیوند |
|---|---|---|
| هیدروژنی | -۱/۳۴۹۷۵ | ۲/۹۱۹۰ |
| هیدروژنی | -۲/۵ | ۳/۰۴۰۲ |
| هیدروژنی | -۲/۲۸۷۵۹ | ۲/۵۷۴۵ |
| سطح انرژی کل | -۹۵/۷۱۰۸ | |
| محل اکتیو سایت | Glu62, Glu63, Glu66, Glu81, His84, Ile65, Leu83, Phe74, Phe79, Pro80, Tyr78, Tyr137, Val77 | |

براساس جدول ۱، پس از داکینگ بین Tryptophan با HO-1 در بهترین حالت قرارگیری Tryptophan در HO-1، سه پیوند هیدروژنی تشکیل شد که میزان انرژی و طول پیوند هر پیوند مشخص شده است. سطح انرژی کل داکینگ ۹۵/۷۱۰۸- بود. همچنین، آمینواسیدهای محل اکتیوسایتی که Tryptophan با آن وارد برهمکنش شده، مشخص شده است.

تصویر دو بعدی پیوندهای هیدروژنی ایجادشده بین Tryptophan و HO-1 در شکل S5 آمده است. همچنین تصویر سه‌بعدی قرارگیری Tryptophan در محل اکتیوسایت HO-1 و پیوندهای هیدروژنی ایجادشده بین Tryptophan و HO-1 در شکل ۱ آمده است. براساس شکل ۱، سه پیوند هیدروژنی بین گروه‌های NH، $NH_2$ و O از مولکول Tryptophan به‌ترتیب با آمینواسیدهای Glu62، Tyr137 و Phe79 در زنجیرهٔ B آمینواسیدی، آنزیم HO-1 ایجاد شده است.




**شکل ۱. تصویر سه‌بعدی پیوند هیدروژنی بین Tryptophan و HO-1**

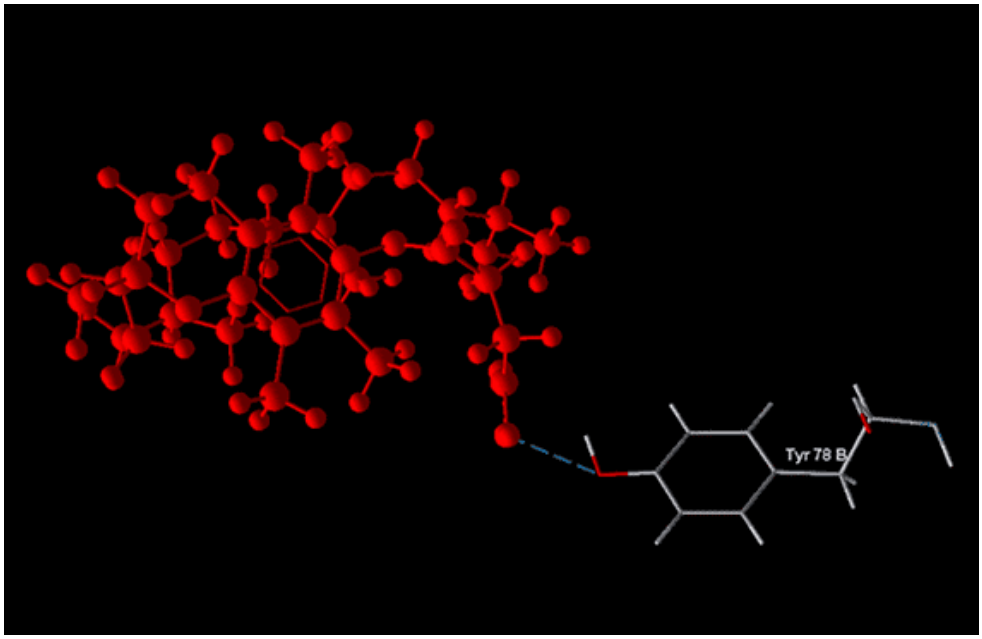
**Alpha-Tocopherol succinate**

نتایج داکینگ alpha-Tocopherol succinate با HO-1 در جدول ۲ آمده است.

**جدول ۲. تعداد پیوند و سطح انرژی داکینگ مولکولی ترکیب alpha-Tocopherol succinate**

| نوع پیوند | انرژی | طول پیوند |
|---|---|---|
| هیدروژنی | -۱/۳۸۲۰ | ۲/۴۶۵۸ |
| سطح انرژی کل | -۱۴۲/۱۰۸۰ | |
| محل اکتیو سایت | Ala87, Arg85, Glu62, Glu66, Glu81, Glu90, His84, Lys86, Pro80, Tyr78, Ala87, Glu63, Lys69 | |

براساس جدول ۲، پس از داکینگ بین alpha-Tocopherol succinate با HO-1 در بهترین حالت قرار گیری alpha-Tocopherol succinate در HO-1 یک پیوند هیدروژنی تشکیل شد که میزان انرژی و طول پیوند مشخص شده است. سطح انرژی کل داکینگ ۱۴۲/۱۰۸۰- بود. همچنین، آمینواسیدهای محل اکتیوسایتی که alpha-Tocopherol succinate با آن وارد برهمکنش شده، مشخص شده است. تصویر دوبعدی پیوند هیدروژنی ایجاد شده بین alpha-Tocopherol succinate و HO-1 در شکل S6 و تصویر سه‌بعدی پیوند هیدروژنی ایجادشده بین alpha-Tocopherol succinate و HO-1 در شکل ۲ آمده است.




**شکل ۲. تصویر سه بعدی پیوند هیدروژنی بین alpha-Tocopherol succinate و HO-1**

براساس شکل ۲، یک پیوند هیدروژنی بین گروه OH از مولکول alpha-Tocopherol succinate با آمینواسید Tyr78 در زنجیرهٔ B آمینواسیدی، آنزیم HO-1 ایجاد شده است.

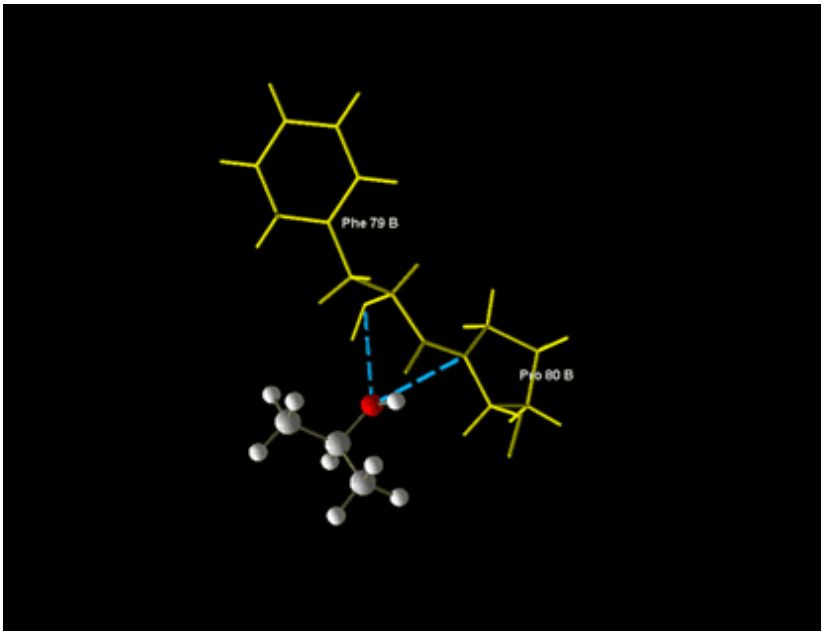
**Isopropyl Alcohol**

نتایج داکینگ Isopropyl Alcohol با HO-1 در جدول ۳ آمده است.

**جدول ۳. تعداد پیوند و سطح انرژی داکینگ مولکولی ترکیب Isopropyl Alcohol**

| نوع پیوند | انرژی | طول پیوند |
|---|---|---|
| هیدروژنی | -۲/۵ | ۳/۰۷۰۲ |
| هیدروژنی | -۲/۲۸۶۵ | ۲/۷۵۷۵ |
| سطح انرژی کل | -۴۳/۶۰۴۵ | |
| محل اکتیو سایت | Glu62, His84, Ile65, Leu83, Phe74, Phe79, Pro80, Tyr78, Tyr137, Val77, Tyr182 | |

براساس جدول ۳، پس از داکینگ بین Isopropyl Alcohol با HO-1 در بهترین حالت قرارگیری Isopropyl Alcohol در HO-1، دو پیوند هیدروژنی تشکیل شد که میزان انرژی و طول پیوند هر پیوند مشخص شده است. سطح انرژی کل داکینگ ۴۳/۶۰۴۵- بود. همچنین آمینواسیدهای محل اکتیوسایتی که Isopropyl Alcohol با آن وارد برهمکنش شده مشخص شده است. تصویر دوبعدی پیوندهای هیدروژنی ایجادشده بین Isopropyl Alcohol و HO-1 در شکل S7 و تصویر سه‌بعدی در شکل ۳ آمده است. براساس شکل ۳، دو پیوند هیدروژنی بین گروه OH از مولکول Isopropyl Alcohol با آمینواسیدهای Pro80 و Phe79 در زنجیرهٔ B آمینواسیدی، آنزیم HO-1 ایجاد شده است.




**شکل ۳. تصویر سه‌بعدی پیوند هیدروژنی بین Isopropyl Alcohol و HO-1**

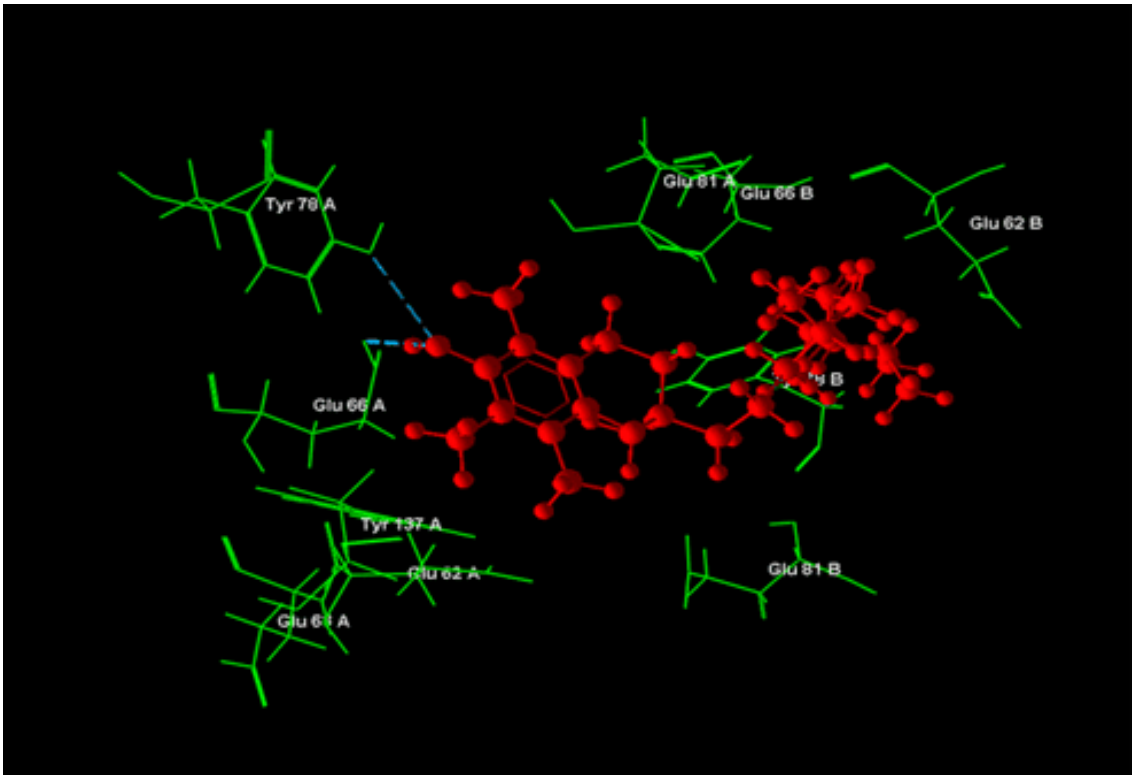
**Vitamin E**

نتایج داکینگ Vitamin E با HO-1 در جدول ۴ آمده است.

**جدول ٤. تعداد پیوند و سطح انرژی داکینگ مولکولی ترکیب Vitamin E**

| نوع پیوند | انرژی | طول پیوند |
|---|---|---|
| هیدروژنی | -۲/۵ | ۲/۶۷۵۵ |
| هیدروژنی | -۱/۴۵۹۳ | ۳/۳۰۸۱ |
| سطح انرژی کل | -۱۳۳/۱۴۶ | |
| محل اکتیو سایت | Glu62, His84, Ile65, Leu83, Pro80, Tyr78, Ala87, Glu66, Glu81, Lys86, Arg85, Glu90, | |

براساس جدول ۴، پس از داکینگ بین Vitamin E با HO-1 در بهترین حالت قرارگیری Vitamin E در HO-1، دو پیوند هیدروژنی تشکیل شد که میزان انرژی و طول پیوند هر پیوند مشخص شده است. سطح انرژی کل داکینگ ۱۳۳/۱۴۶۰- بود. همچنین، آمینواسیدهای محل اکتیوسایتی که Vitamin E با آن وارد برهمکنش شده مشخص شده است. تصویر دوبعدی پیوندهای هیدروژنی ایجادشده بین Vitamin E و HO-1 در شکل S8 و تصویر سه‌بعدی آن در شکل ۴ آمده است. براساس شکل ۴، دو پیوند هیدروژنی بین گروه OH از مولکول Vitamin E با آمینواسیدهای Glu66 و Tyr78 در زنجیرهٔ A آمینواسیدی، آنزیم HO-1 ایجاد شده است.




**شکل ٤. تصویر سه‌بعدی پیوند هیدروژنی بین Vitamin E و HO-1**

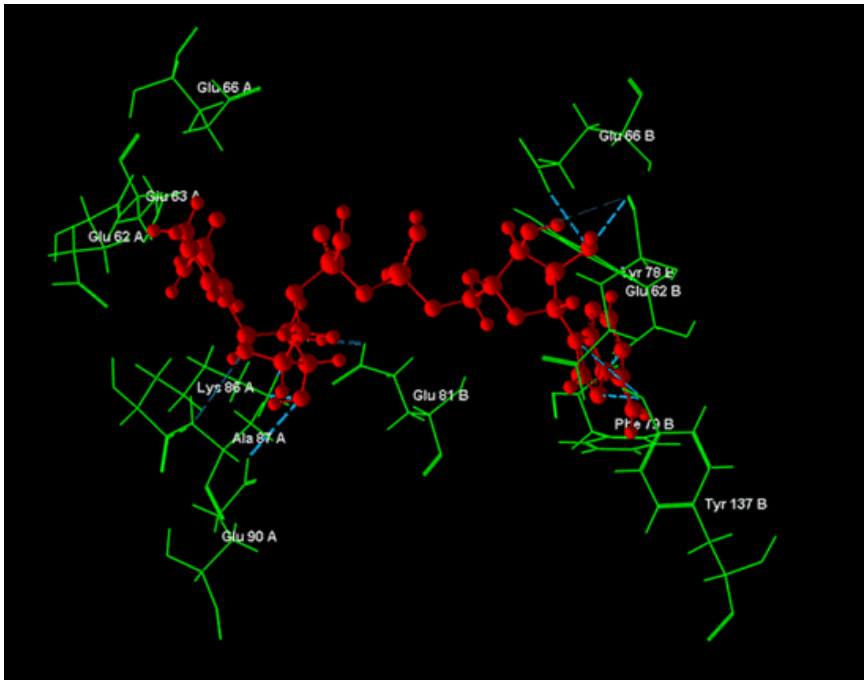
**NADH**

نتایج داکینگ NADH با HO-1 در جدول ۵ آمده است.

**جدول ۵. تعداد پیوند و سطح انرژی داکینگ مولکولی ترکیب NADH**

| نوع پیوند | انرژی | طول پیوند |
|---|---|---|
| هیدروژنی | -۱/۲۸۶۵ | ۳/۰۵۲۱ |
| هیدروژنی | -۱/۶۵۸۶ | ۲/۴۹۹۰ |
| هیدروژنی | -۰/۸۴۲۹ | ۲/۷۵۰۷ |
| هیدروژنی | -۱/۴۶۷۷ | ۳/۰۷۵۳ |
| هیدروژنی | -۱/۳۴۹۱ | ۳/۳۳۰۲ |
| هیدروژنی | -۲/۵ | ۲/۷۳۳۵ |
| هیدروژنی | -۱/۸۹۳۰ | ۲/۵۲۸۱ |
| هیدروژنی | -۱/۷۵۹۷ | ۳/۲۳۱۴ |
| هیدروژنی | -۰/۳۸۸۰ | ۳/۵۲۲۳ |
| هیدروژنی | -۲/۵ | ۲/۷۴۰۲ |
| سطح انرژی کل | -۱۹۲/۹۰۵۰ | |
| محل اکتیو سایت | Glu62, Glu63, His84, Ile65, Leu83, Ala87, Glu66, Glu81, Lys86, Arg85, Glu90, Val59, Phe74 | |

براساس جدول ۵، پس از داکینگ بین NADH با HO-1 در بهترین حالت قرارگیری NADH در HO-1، ده پیوند هیدروژنی تشکیل شد که میزان انرژی و طول پیوند هر پیوند مشخص شده است. سطح انرژی کل داکینگ ۱۹۲/۹۰۵۰- بود. همچنین، آمینواسیدهای محل اکتیوسایت مشخص شده است. تصویر دوبعدی پیوندهای هیدروژنی ایجادشده بین NADH و HO-1 در شکل S9 و تصویر سه‌بعدی آن در شکل ۵ آمده است. براساس شکل ۵، ده پیوند هیدروژنی بین گروه OH، OH، O، OH، OH، OH، OH، N، N و N از مولکول NADH به‌ترتیب با آمینواسیدهای Glu81 و Lys86، Ala87، Glu90 و Lys86، Glu62، Glu66، Tyr137، Tyr137 و Phe74 در زنجیره‌های A و B آمینواسیدی، آنزیم HO-1 ایجاد شده است.




**شکل ۵. تصویر سه‌بعدی پیوند هیدروژنی بین NADH و HO-1**

## بحث

### انرژی برهمکنش کل

براساس نتایج، بیشترین سطح برهمکنش با توجه به سطح انرژی برهمکنش کل و تعداد پیوندهای هیدروژنی انتخاب شد؛ یعنی برهمکنشی که میزان سطح انرژی کل آن عدد منفی بزرگ‌تری باشد (سطح انرژی منفی‌تر)، به‌عنوان بیشترین سطح برهمکنش انتخاب شد. در واقع، سطح انرژی منفی‌تر نشان می‌دهد که مولکول دارویی و آنزیم بیشترین تمایل را برای اتصال و ایجاد برهمکنش با یکدیگر دارند، به‌طوری‌که برای اتصال و ایجاد برهمکنش به هیچ انرژی محیطی‌ای نیاز ندارند (۱۵).

### پیوندهای هیدروژنی

پیوندهای هیدروژنی در اتصال مولکولی نقش مهمی ایفا می‌کنند که مدل‌سازی محاسباتی برهمکنش بین دو یا چند مولکول است. این فعل‌وانفعالات برای درک نحوهٔ اتصال ترکیبات دارویی به آنزیم HO-1 اساسی هستند. پیوندهای هیدروژنی در تثبیت ساختارهای سه‌بعدی مولکول‌های زیستی و تسهیل برهمکنش‌های اتصال خاص مهم هستند (۱۶). یکی از عملکردهای اولیهٔ پیوندهای هیدروژنی در اتصال مولکولی، افزایش پایداری کمپلکس ترکیب دارویی ـ آنزیم است. وجود پیوندهای هیدروژنی می‌تواند انرژی آزاد اتصال را به میزان قابل توجهی کاهش دهد و برهمکنش را مطلوب‌تر کند. این ویژگی برای طراحی دارو ضروری است؛ زیرا تضمین می‌کند که یک دارو به‌طور مؤثر به هدف خود، بدون تأثیر در پروتئین‌های دیگر، متصل می‌شود و در نتیجه، عوارض جانبی را به حداقل می‌رساند (۱۷). پیوندهای هیدروژنی همچنین در دینامیک ساختاری ترکیب دارویی و آنزیم تأثیر می‌گذارد. در طول فرایند اتصال، انعطاف‌پذیری ترکیب دارویی و مولکول آنزیم در نظر گرفته می‌شود. پیوندهای هیدروژنی می‌تواند به تغییرات ساختاری منجر شود که تناسب بین دو مولکول را بهینه می‌کند و میل پیوند را بیشتر افزایش می‌دهد. این ماهیت دینامیکی پیوند هیدروژنی برای پیش‌بینی دقیق اینکه لیگاند چگونه به هدف خود متصل می‌شود حیاتی است (۱۸).

در الگوریتم‌های اتصال محاسباتی، پیوندهای هیدروژنی

اغلب در توابع امتیازدهی مورد استفاده برای ارزیابی کیفیت موقعیت‌های اتصال پیش‌بینی‌شده قرار می‌گیرند. این توابع امتیازدهی معمولاً مقادیری را براساس تعداد و قدرت پیوندهای هیدروژنی تشکیل‌شده بین دو مولکول دارو و آنزیم اختصاص می‌دهند. هرچه برهمکنش‌های پیوند هیدروژنی مطلوب‌تر باشد، امتیاز بالاتری دارد و محققان را به‌سمت انتخاب امیدوارکننده‌ترین نامزدها برای اعتبارسنجی تجربی بیشتر راهنمایی می‌کند (۱۹، ۲۰). در نهایت، پیوندهای هیدروژنی برای پایداری، ویژگی و برهمکنش‌های دینامیکی مولکول‌ها در مطالعات اتصال ضروری هستند. نقش آن‌ها در شکل‌دهی چشم‌انداز ساختاری و تأثیرگذاری در معیارهای امتیازدهی، آن‌ها را به تمرکز کلیدی در زمینهٔ اتصال مولکولی و کشف دارو تبدیل می‌کند (۲۱).

## انتخاب بهترین ترکیب دارویی از نظر برهمکنش

براساس سطح انرژی برهمکنش کل و تعداد و قدرت پیوندهای هیدروژنی، بیشترین برهمکنش به ترتیب از بیشترین به کمترین مربوط به alpha-<NADH Tryptophan <Vitamin E <Tocopherol succinate < Isopropyl Alcohol بود. در واقع، ترکیب دارویی با بالاترین برهمکنش NADH و ترکیب دارویی با پایین‌ترین برهمکنش Isopropyl Alcohol بود.

## ترکیبات دارویی و تأثیر آن در HO-1

NADH، alpha-Tocopherol succinate، Vitamin E، Tryptophan، Isopropyl Alcohol رویکرد امیدوارکننده‌ای برای تعامل با HO-1 برای درمان TMD ارائه می‌دهد. HO-1 نوعی آنزیم القایی است که در کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو نقش مهمی ایفا می‌کند و هر دو در TMD نقش مهمی دارند. نشان داده شده است که این ترکیبات دارویی فعالیت HO-1 را افزایش می‌دهند و در نتیجه، آثار ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی آن را تقویت می‌کنند (۲۲–۲۵).

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که این ترکیبات دارویی می‌توانند بیان HO-1 را تنظیم کنند و به افزایش تولید محصولات جانبی مفید آن، مانند بیلی‌وردین و مونوکسید کربن، منجر شوند. این محصولات جانبی خواص ضدالتهابی قوی دارند که می‌تواند به کاهش التهاب مزمن مرتبط با TMD کمک کند. علاوه‌بر این، آثار آنتی‌اکسیدانی بیلی‌وردین و بیلی‌روبین، یکی دیگر از محصولات جانبی فعالیت HO-1، می‌تواند در برابر آسیب اکسیداتیو از TMJ و بافت‌های اطراف آن محافظت و به مدیریت علائم TMD کمک کند (۲۵، ۲۶). آثار هم‌افزایی ترکیبات دارویی ذکرشده و HO-1 این ترکیب را به‌ویژه در درمان TMD مؤثر می‌کند. با افزایش فعالیت HO-1، این ترکیبات دارویی می‌توانند به تعدیل پاسخ ایمنی، کاهش تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی و کاهش درد کمک کنند. این رویکرد چندوجهی به هر دو جنبهٔ محیطی و مرکزی درد مربوط به TMD می‌پردازد و استراتژی درمانی جامعی ارائه می‌دهد. پتانسیل این ترکیبات برای افزایش فعالیت HO-1 و آثار درمانی بعدی آن در TMD بر اهمیت تحقیقات بیشتر و آزمایش‌های بالینی برای تأیید این یافته‌ها و توسعهٔ پروتکل‌های درمانی مؤثر تأکید می‌کند (۲۶–۲۸).

HO-1 نوعی آنزیم القایی است که در کاهش التهاب و درد از طریق مسیرهای سلولی متنوع نقش محوری ایفا می‌کند و برای شرایطی مانند اختلالات مفصل گیجگاهی فکی، آن را به هدف درمانی امیدوارکننده‌ای تبدیل می‌کند (۷، ۲۹). HO-1 تجزیهٔ هم را به بیلی‌وردین، مونوکسید کربن و آهن دوظرفیتی کاتالیز می‌کند که هر محصول جانبی در آثار محافظت سلولی و ضدالتهابی آن نقش دارد (۷، ۱۰). مشخص داده شده است که القای HO-1 رویدادهای التهابی، مانند ادم، چسبندگی لکوسیت‌ها و تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی، را کاهش می‌دهد (۲۹). به‌طور خاص در زمینهٔ TMD، فعال‌شدن مسیر HO-1 آثار ضددردی و ضدالتهابی را در مدل‌های پیش‌بالینی درد TMJ

نشان داده است (۳۰). علاوه‌بر این، نشان داده شده است که ترکیباتی مانند گلیسیریزین و نانوذرات اکسید سریم با تنظیم استرس اکسیداتیو از طریق مسیر سیگنالینگ Nrf2/HO-1، آرتروز مفصل گیجگاهی فکی (TMJOA) را کاهش می‌دهند (۳۱، ۳۲).

مکانیسم‌های ضدالتهابی HO-1 چندوجهی هستند. مونوکسید کربن، نوعی محصول گازی فعالیت HO-1، با سرکوب سیگنالینگ گیرندهٔ شبه Toll (TLR)، مهار فعال‌سازی NF-κB و کاهش تولید واسطه‌های التهابی مانند TNF-α و IL-6، آثار ضدالتهابی قوی اعمال می‌کند (۳۳-۳۵). بیلی‌وردین و متابولیت آن، بیلی‌روبین، نیز از طریق خواص آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کنندهٔ سیستم ایمنی خود در عملکردهای محافظتی HO-1 نقش دارند (۷). القای HO-1 اغلب با فاکتور رونویسی Nrf2 تنظیم می‌شود که بیان مجموعه‌ای از ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی را هماهنگ می‌کند و در نتیجه، در برابر استرس و التهاب سلولی دفاع قوی ایجاد می‌کند (۷، ۳۲). این شبکهٔ پیچیده از مسیرها، نقش حیاتی HO-1 را در حفظ هموستاز سلولی و رفع پاسخ‌های التهابی برجسته می‌کند.

مطالعهٔ داکینگ مولکولی فعلی، قابلیت‌های اتصال چندین کاندیدای دارویی به آنزیم HO-1 را بررسی کرد و نتایجی که با ادبیات موجود دربارهٔ تعدیل HO-1 و عوامل ضدالتهابی همسو هستند و به کمک آن‌ها پشتیبانی می‌شوند، به دست آورد. نشان داده شده است که تریپتوفان، از طریق متابولیت خود، ایندول-۳-استیک اسید (IAA)، با القای HO-1 در ماکروفاژها، التهاب و استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد که نشان‌دهندهٔ مکانیسم احتمالی برای تعامل بالقوهٔ آن با HO-1 است (۳۶). آلفا-توکوفرول سوکسینات و ویتامین E، هر دو شکل توکوفرول‌ها، به‌دلیل آثار ضدالتهابی خود، ازجمله کاهش سیتوکین‌های پیش‌التهابی و سطح پروتئین واکنشی C، به‌خوبی مستند شده‌اند (۳۷، ۳۸). مطالعات به‌طور قابل توجهی نشان داده‌اند که آلفا - توکوفرول سوکسینات در ترکیب با اسید اورسولیک می‌تواند Nrf2 و HO-1 را افزایش دهد و به کاهش سیتوکین‌های پیش‌التهابی منجر شود (۳۹). به طور مشابه، آلفا و گاما توکوفرول‌ها در پاسخ‌های التهابی مرتبط با NFκB و بیان HO-1 در مدل‌های دیابتی آثار مفیدی نشان داده‌اند (۴۰). درحالی‌که تعامل مستقیم ایزوپروپیل الکل با HO-1 یا خواص ضدالتهابی به‌صراحت در مقالات بررسی‌شده یافت نشد، گنجاندن آن در این مطالعه، بررسی بیشتر مکانیسم‌های بالقوهٔ آن را ضروری می‌کند. NADH گسترده‌ترین پیوند هیدروژنی و انرژی اتصال مطلوب را در تجزیه‌وتحلیل داکینگ نشان داد که نشان‌دهندهٔ تعامل قوی با HO-1 است و می‌تواند به‌طور بالقوه در حالت‌های ردوکس سلولی و مسیرهای التهابی تأثیر بگذارد، اگرچه در جست‌وجوی فعلی شواهد تجربی مستقیمی، که NADH را به القای HO-1 مرتبط می‌کند، مشخص نشد.

## محل اکتیوسایت

با توجه به محل ایجاد پیوندهای هیدروژنی ترکیبات دارویی با آنزیم HO-1، محل اکتیوسایت این آنزیم مشخص شد. محل اکتیوسایت در این آزمایش‌ها شامل آمینواسیدهای Glu62, Glu63, His84, Ile65, Leu83, Ala87, Glu66, Glu81, Lys86, Arg85, Glu90, Val59, Phe74, Pro80, Tyr78, Phe79, Tyr137, Val77, Tyr182 بود.

## نتیجه‌گیری

ترکیب دارویی NADH بالاترین برهمکنش را با آنزیم HO-1 داشت. ترکیبات دارویی alpha-Tocopherol succinate و Vitamin E با آنزیم HO-1 برهمکنش بالایی داشتند. ترکیبات دارویی Tryptophan و Isopropyl Alcohol با آنزیم HO-1 برهمکنش مناسبی داشتند.

## پیشنهادها برای مطالعات آینده

براساس این مطالعه، پایداری ساختار کمپلکس‌های

ligand-HO-1 در شرایط فیزیولوژیک (مانندpH 7.4، دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، حضور یون‌ها و مولکول‌های بیولوژیکی) ارزیابی نشده است. این مطالعه عمدتاً برپایهٔ روش‌های in silico مانند داکینگ مولکولی با نرم‌افزار Molegro Virtual Docker تمرکز دارد که انرژی برهمکنش و پیوندهای هیدروژنی را پیش‌بینی می‌کند، اما این روش‌ها پایداری دینامیک و بلندمدت کمپلکس را در محیط واقعی بدن شبیه‌سازی نمی‌کنند. بنابراین، توصیه می‌شود در مطالعات آینده شبیه‌سازی دینامیک مولکولی (Molecular Dynamics Simulation - MD)، آزمایش‌های in vitro برای اندازه‌گیری میل ترکیبی و پایداری اتصال و آزمایش‌های فعالیت آنزیمی و in vivo انجام شود.

## تشکر و قدردانی

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کردستان برای حمایت از انجام مطالعهٔ حاضر تشکر و قدردانی می‌شود. شایان ذکر است که این مطالعه پایان‌نامهٔ دانشجویی بوده که در کمیتهٔ اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کردستان تأیید شده و کد اخلاق IR.MUK.REC.1403.049 به آن تعلق گرفته است.

## منابع

1. Greene CS. Managing the care of patients with temporomandibular disorders. The Journal of the American Dental Association. 2010;141(9):1086-8.
2. Valesan LF, Da-Cas CD, Réus JC, Denardin ACS, Garanhani RR, Bonotto D, et al. Prevalence of temporomandibular joint disorders: a systematic review and meta-analysis. Clinical Oral Investigations. 2021;25:441-53.
3. Sessle BJ. Peripheral and central mechanisms of orofacial inflammatory pain. International Review of Neurobiology. 2011;97:179-206.
4. Kulkarni S, Thambar S, Arora H. Evaluating the effectiveness of nonsteroidal anti-inflammatory drug (s) for relief of pain associated with temporomandibular joint disorders: a systematic review. Clinical and Experimental Dental Research. 2020;6(1):134-46.
5. Montinaro F, Nucci L, d'Apuzzo F, Perillo L, Chiarenza MC, Grassia V. Oral nonsteroidal anti-inflammatory drugs as treatment of joint and muscle pain in temporomandibular disorders: A systematic review. Cranio. 2024;42(6):641-650.
6. Cairns B. Pathophysiology of TMD pain–basic mechanisms and their implications for pharmacotherapy. Journal of Oral Rehabilitation. 2010;37(6):391-410.
7. Ryter SW. Heme Oxygenase-1: An Anti-Inflammatory Effector in Cardiovascular, Lung, and Related Metabolic Disorders. Antioxidants. 2022;11(3):555.
8. Pérez-Fernández M, Suárez-Rojas I, Bai X, Martínez-Martel I, Ciaffaglione V, Pittalà V, et al. Novel heme oxygenase-1 inducers palliate inflammatory pain and emotional disorders by regulating nlrp3 inflammasome and activating the antioxidant pathway. Antioxidants. 2023;12(10):1794.
9. Funes SC, Rios M, Fernández-Fierro A, Covián C, Bueno SM, Riedel CA, et al. Naturally derived heme-oxygenase 1 inducers and their therapeutic application to immune-mediated diseases. Frontiers in Immunology. 2020;11:1467.
10. Pae HO, Chung HT. Heme oxygenase-1: its therapeutic roles in inflammatory diseases. Immune Network: Official Journal of the Korean Society for Immunology and Biological Response Modifiers. 2009;9(1):12.
11. Graça-Souza AV, Arruda MAB, de Freitas MS, Barja-Fidalgo C, Oliveira PL .Neutrophil activation by heme: implications for inflammatory processes. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2002;99(11):4160-5.

12. Sarady-Andrews JK, Liu F, Gallo D, Nakao A, Overhaus M, Ollinger R, et al. Biliverdin administration protects against endotoxin-induced acute lung injury in rats. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. 2005;289(6):L1131-L7.
13. Saikia S, Bordoloi M. Molecular docking: challenges, advances and its use in drug discovery perspective. Current Drug Targets. 2019;20(5):501-21.
14. Sethi A, Joshi K, Sasikala K, Alvala M. Molecular docking in modern drug discovery: Principles and recent applications. Drug Discovery and Development-New Advances. 2019;2:1-21.
15. Agarwal S, Mehrotra R. An overview of molecular docking. JSM Chemistry. 2016;4(2):1024-8.
16. Jiang X, Tsona NT, Tang S, Du L. Hydrogen bond docking preference in furans: OH⋯ π vs. OH⋯ O. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2018;191:155-64.
17. Vaidyanathan R, Sreedevi SM, Ravichandran K, Vinod SM, Krishnan YH, Babu LK, et al. Molecular docking approach on the binding stability of derivatives of phenolic acids (DPAs) with Human Serum Albumin (HSA): Hydrogen-bonding versus hydrophobic interactions or combined influences? JCIS Open. 2023;12:100096.
18. Zochedh A, Shunmuganarayanan A, Sultan AB. Conformational fidelity and hydrogen bond associability of L-histidine with sulfamate anion studied through XRD, quantum chemical, spectroscopic and molecular docking simulation as a cdk-4 inhibitor against retinoblastoma. Journal of Molecular Structure. 2023;1274:134402.
19. Li J, Fu A, Zhang L. An overview of scoring functions used for protein–ligand interactions in molecular docking. Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences. 2019;11:320-8.
20. Tanchuk VY, Tanin VO, Vovk AI, Poda G. A new, improved hybrid scoring function for molecular docking and scoring based on AutoDock and AutoDock Vina. Chemical Biology & Drug Design. 2016;87(4):618-25.
21. Doytchinova I. Histidine hydrogen bonding in MHC at pH 5 and pH 7 modeled by molecular docking and molecular dynamics simulations. Current Computer-Aided Drug Design. 2014; 10(1):41-9.
22. Bao G, Liu J, Ma B, Liu Y, Ren H, Yu C, et al. NAC facilitates energy metabolism transition toward oxidative phosphorylation in hypoxia-inducible goat temporomandibular joint disc cells; 2022.
23. Keum YS, Han YH, Liew C, Kim JH, Xu C, Yuan X, et al. Induction of Heme Oxygenase-1 (HO-1) and NAD[P]H: Quinone Oxidoreductase 1 (NQO1) by a Phenolic Antioxidant, Butylated Hydroxyanisole (BHA) and Its Metabolite, tert-Butylhydroquinone (tBHQ) in Primary-Cultured Human and Rat Hepatocytes. Pharmaceutical Research. 2006;23(11):2586-94.
24. Collnot EM. Modulation of the apical efflux transporter P-glycoprotein by Vitamin E TPGS: Structure-activity relationships and mechanism of inhibition; 2007.
25. Piriyaprasath K, Kakihara Y, Hasegawa M, Iwamoto Y, Hasegawa Y, Fujii N, et al. Nutritional strategies for chronic craniofacial pain and temporomandibular disorders: current clinical and preclinical insights. Nutrients. 2024;16(17):2868.
26. Minervini G, Franco R, Crimi S, Di Blasio M, D'Amico C, Ronsivalle V, et al. Pharmacological therapy in the management of temporomandibular disorders and orofacial pain :a systematic review and meta-analysis. BMC Oral Health. 2024;24(1):78.

27. Le T, Jia Z, Zhang Y, Le SC ,Chen J, Yang H. An inner activation gate controls TMEM16F phospholipid scrambling. Biophysical Journal. 2019;116(3):25a-6a.
28. Bai H, Liu T, Wang S, Wang Z. Polyunsaturated fatty acids, vitamin E and lycopene alleviate ambient particulate matter organic extracts-induced oxidative stress in canine lung cells via the Nrf2/HO-1 pathway. Veterinary Research Communications. 2023;47(2):791-801.
29. Alcaraz M, Fernandez P, Guillen M. Anti-inflammatory actions of the heme oxygenase-1 pathway. Current Pharmaceutical Design. 2003;9(30):2541-51.
30. Silveira FD, Gomes FIF, do Val DR ,Freitas HC, de Assis EL, de Almeida DKC, et al. Biological and molecular docking evaluation of a benzylisothiocyanate semisynthetic derivative from Moringa oleifera in a pre-clinical study of temporomandibular joint pain. Frontiers in Neuroscience. 2022;16:742239.
31. Hu Z, Zhao J, Liu X, Li Y, Jiang H, Fang W, et al. Glycyrrhizin regulates antioxidation through Nrf2 signaling pathway in rat temporomandibular joint osteoarthritis. Journal of Oral Rehabilitation. 2024;51(3):611-22.
32. Xiong L, Bao H, Li S, Gu D, Li Y, Yin Q, et al. Cerium oxide nanoparticles protect against chondrocytes and cartilage explants from oxidative stress via Nrf2/HO-1 pathway in temporomandibular joint osteoarthritis. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2023;11:1076240.
33. Otterbein LE, Bach FH, Alam J, Soares M, Tao Lu H, Wysk M, et al. Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway. Nature Medicine. 2000;6(4):422-8.
34. Wang XM, Kim HP ,Nakahira K, Ryter SW, Choi AM. The heme oxygenase-1/carbon monoxide pathway suppresses TLR4 signaling by regulating the interaction of TLR4 with caveolin-1. The Journal of Immunology. 2009;182(6):3809-18.
35. Chi PL, Liu CJ, Lee IT, Chen YW, Hsiao LD ,Yang CM. HO-1 induction by CO-RM2 attenuates TNF-α-induced cytosolic phospholipase A2 expression via inhibition of PKCα-dependent NADPH oxidase/ROS and NF-κB. Mediators of Inflammation. 2014;2014(1):279171.
36. Ji Y, Yin W, Liang Y, Sun L, Yin Y, Zhang W. Anti-inflammatory and anti-oxidative activity of indole-3-acetic acid involves induction of HO-1 and neutralization of free radicals in RAW264. 7 cells. International Journal of Molecular Sciences. 2020;21(5):1579.
37. Singh U, Jialal I. Anti-inflammatory effects of α-tocopherol. Annals of the New York Academy of Sciences. 2004;1031(1):195-203.
38. Grammas P, Hamdheydari L, Benaksas EJ, Mou S, Pye QN, Wechter WJ, et al. Anti-inflammatory effects of tocopherol metabolites. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2004;319(3):1047-52.
39. Hu M, Hua X, Xiong W, Zheng E, Yang X, Lu Y, et al. Ursolic acid drug-drug nanocrystals ameliorate cholestatic liver injury via inhibiting oxidative stress and regulating bile acid metabolism. Frontiers in Pharmacology. 2025;16:1586141.
40. Shin H, Eo H, Lim Y. Similarities and differences between alpha-tocopherol and gamma-tocopherol in amelioration of inflammation, oxidative stress and pre-fibrosis in hyperglycemia induced acute kidney inflammation. Nutrition Research and Practice. 2016;10(1):33-41.