

مقاله پژوهشی

طراحی محاسباتی، مطالعه داکینگ مولکولی و پیش‌بینی سمیت تعدادی از مشتقات جدید پرایدوکسیم به‌عنوان فعال‌کننده مجدد آنزیم استیل کولین استراز

ابوذر روئین تن*

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه افسری و تربیت پاسداری امام حسین (ع)، تهران، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۸/۲۸

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۴/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: اکسیم‌ها به‌عنوان فعال‌کننده‌های مجدد آنزیم استیل کولین استراز (AChE) برای درمان مسمومیت ترکیبات ارگانوفسفره (OPCs) توسعه‌یافته‌اند. آن‌ها همچنین به جایگاه فعال آنزیم (AChE) متصل شده و به‌عنوان مهارکننده‌های برگشت‌پذیر عمل می‌کنند. ترکیبات ارگانوفسفره (OPCs) مانند سومان، سارین به‌عنوان عوامل عصبی به‌طور برگشت‌ناپذیر با استیل کولین استراز واکنش می‌دهند. در این تحقیق، طراحی و مطالعات داکینگ روی تعدادی از مشتقات جدید پرایدوکسیم با اثر فعال‌سازی مجدد آنزیم استیل کولین استراز انجام و سپس خطر سمیت آن‌ها ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به شیوه توصیفی - تحلیلی انجام شد. برای بررسی نحوه اتصال مشتقات جدید پرایدوکسیم به جایگاه فعال آنزیم، در ابتدا ساختار شیمیایی ترکیبات با استفاده از نرم‌افزار ۱۴۰ ChemBioDraw Ultra ترسیم شد. سپس به‌منظور بهینه‌سازی انرژی، به نرم‌افزار Hyperchem انتقال یافت. مطالعات داکینگ به‌وسیله نرم‌افزار Auto Dock-Vina-1-1-2-win32.msi انجام گرفت و نتایج با استفاده از نرم‌افزار Molegro مورد آنالیز قرار گرفت. در مرحله نهایی ارزیابی خطر سمیت ترکیبات به‌وسیله برنامه OSIRIS انجام گردید.

نتایج: بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از مطالعات داکینگ مهم‌ترین پیوندهای درگیر در اتصال دارو با گیرنده، پیوند هیدروژنی و اتصالات هیدروفوبیک می‌باشند. در میان تمام ترکیبات مورد مطالعه، بهترین نتایج داکینگ مربوط به ترکیب شماره ۹ (ترکیب حاوی ۴-متیل بنزیل) است. در حقیقت این ترکیب با منفی‌ترین سطح انرژی اتصال (۱۱/۱۴- کیلوکالری برمول) تمایل بیشتری برای اتصال به آمینواسیدهای کلیدی جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز دارد. **نتیجه‌گیری:** در پایان با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از مطالعات داکینگ و ارزیابی خطر سمیت، می‌توان نتیجه گرفت که ترکیب شماره ۹ (ترکیب حاوی ۴-متیل بنزیل) در مقایسه با ترکیب مرجع پرایدوکسیم می‌تواند به‌عنوان فعال‌کننده مجدد آنزیم استیل کولین استراز مطرح شود.

کلمات کلیدی: داکینگ مولکولی، آزمون سمیت، فعال‌کننده، پرایدوکسیم، استیل کولین استراز

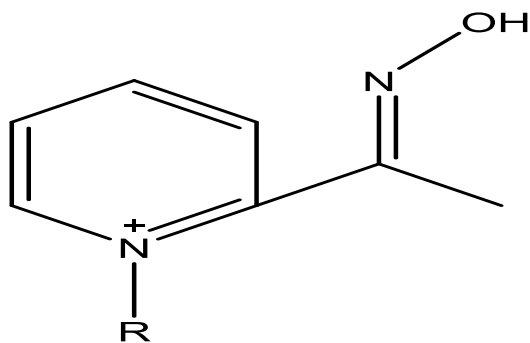
مقدمه

می‌باشند و قادرند با تأثیر بر سیستم عصبی مرکزی از فعالیت آنزیم استیل کولین استراز جلوگیری نمایند (۳). در سه دهه گذشته مکانیسم عملکرد اکسیم‌های پیریدین در فعال‌سازی مجدد آنزیم استیل کولین استراز مورد بررسی قرار گرفته است (۴). مطالعات گذشته نشان می‌دهد که مشتقات اکسیم پیریدین در واکنش با عوامل اعصاب کمپلکس شده با آنزیم استیل کولین استراز، باعث فعال‌سازی مجدد آنزیم و آزاد شدن آن می‌شوند (۵-۷). اعتقاد بر این است که مسمومیت حاد با ترکیبات ارگانوفسفره در پستانداران به‌طور کلی به دلیل مهار برگشت‌ناپذیر آنزیم استیل کولین استراز است (۸-۱۰).

در طی پنج دهه گذشته مشتقات اکسیم‌های پیریدین به‌عنوان عوامل بالقوه دارویی توسعه پیدا کرده‌اند و در درمان مسمومیت‌های ناشی از مسمومیت با ترکیبات ارگانوفسفره مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱). ترکیبات ارگانوفسفره سمی در کشاورزی به‌عنوان آفت‌کش، در پزشکی به‌عنوان دارو و در عرصه‌های نظامی به‌عنوان عوامل اعصاب به کار می‌روند (۲). عوامل اعصاب شامل سارین، سیکلوسارین، تابون، سومان و VX

*نویسنده مسئول: ابوذر روئین تن، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه افسری و تربیت پاسداری امام حسین (ع)، تهران، ایران
Email: abroeintan@yahoo.com
https://orcid.org/0000-0001-9471-591X

پرایدوکسیم به عنوان ترکیب مرجع انتخاب گردید. ساختار کلی، جزئیات ساختاری و نام ترکیبات مورد مطالعه در شکل ۱ و جدول ۱ آورده شده است. ساختار کریستالی آنزیم استیل کولین استراز انسانی از پایگاه بانک PDB انتخاب و دانلود گردید. کد شناسایی



شکل ۱- ساختار کلی ترکیبات مورد مطالعه

این آنزیم در PDB بانام ۸ EY ۴ ثبت گردیده است (۴).

آماده کردن لیگاندها و پروتئین برای داکینگ

ساختار دو بعدی لیگاندهای مورد نظر توسط برنامه ChemBioDraw Ultra 14.0 ترسیم و سپس به منظور به حداقل رساندن انرژی مولکولها از نرم افزار Hyperchem و روشهای MM⁺Field و semi-empirical (PM) استفاده گردید. الگوریتم Polak-Ribiere برای بهینه کردن ساختارهای مولکولی مورد استفاده قرار گرفت. سپس کانفورمیری که دارای کمترین انرژی بود انتخاب و جهت مطالعات داکینگ به برنامه Auto Dock منتقل شد. در ادامه با استفاده از Gasteiger-Marsili بار جزئی برای مولکولهای مهارکننده محاسبه شد.

با استفاده از نرم افزار مولگرو -MVD 2007.2.2.5 (Docker Molegro Virtual Aug 27)، لیگاند و کوفاکتورهای اضافی و مولکولهای آب موجود در ساختار کریستالی پروتئین حذف شدند (۱۴). بعد از حذف قسمت‌های غیرضروری در عملیات داکینگ، پروتئین به عنوان ورودی نرم افزار Auto Dock Vina استفاده شد. تا بعد از اضافه شدن اتم‌های هیدروژن به پروتئین، بار کلی آن با استفاده از Kollman Charge تعیین گردد سپس هیدروژن‌های غیر یونیزه در اتم کربن مجاور ادغام شوند.

انجام داکینگ مولکولی

از آنجاکه میزان دقت برنامه اتوداک ۶۸ درصد است، شبیه‌سازی اتصال مولکول به وسیله نرم افزار اتوداک وینا

علی‌رغم تلاش‌های زیادی که برای سنتز و توسعه مشتقات جدید اکسیم پیریدین به عنوان عامل بالقوه علیه ترکیبات ارگانوفسفره صورت گرفته است، فقط کاربرد دو ترکیب (پرایدوکسیم، تریمیدوکسیم) در طب انسانی توسعه یافته است (۱۰). با گسترش روزافزون مطالعات شبیه‌سازی و دینامیک مولکولی در تمامی شاخه‌های علوم و استفاده از کامپیوترها در مطالعات، بهره‌گیری از علم بیوانفورماتیک نسبت به دهه‌های گذشته بیش‌ازپیش شده است (۳). بیوانفورماتیک، علمی است که با ایجاد توسعه و الگوریتم‌ها، تکنیک‌های محاسباتی و آماری، عمل محاسبه پیشرفته و پیچیده را در علوم پایه به‌ویژه در شیمی دارویی به راحتی امکان‌پذیر می‌سازد (۱۱). در این راستا، غربالگری مجازی، روشی محاسباتی و تأیید شده برای تشخیص بهترین و پایدارترین ترکیب از کتابخانه‌های شیمیایی عظیم است (۱۲). غربالگری مجازی از لحاظ اقتصادی، روشی کاملاً مقرون‌به‌صرفه جهت تحقق و دستیابی به بهترین و پایدارترین ترکیب مهارکننده است (۱۲). با بهره‌گیری از علم بیوانفورماتیک و درک عمق رفتار مولکولها، مهارکننده‌ها و نیز کمپلکس گیرنده - لیگاند، می‌توان داروهای طراحی کرد که علاوه بر داشتن امتیازات و خواص داروهای فعلی، بسیار اختصاصی‌تر عمل کنند و از داشتن عوارض جانبی آن‌ها عاری باشند (۳، ۱۱).

در این مطالعه، از روش‌های کامپیوتری مانند داکینگ به منظور کشف ترکیباتی جدید به عنوان عوامل بالقوه فعال ساز آنزیم استیل کولین استراز و پیش‌بینی خطر سمیت ترکیبات طراحی شده استفاده شده است (۳، ۴). با هدف بررسی و شناسایی دقیق مکانیسم اتصال ۱۰ ترکیب با اسکلت ساختاری به سایت فعال آنزیم، روش مولکولار داکینگ اجرا و نتایج به دست آمده از آن مورد تجزیه و تحلیل و در نهایت پیش‌بینی خطر سمیت ترکیبات طراحی شده توسط مرورگر OSIRIS انجام گرفت (۱۲). برای انجام روش داکینگ از نرم افزار Auto Dock vina استفاده شده است (۱۳).

مواد و روش‌ها

این پژوهش به شیوه توصیفی - تحلیلی انجام شد. برای انجام عملیات داکینگ، شبیه‌سازی اتصال مولکول به وسیله نرم افزار اتوداک وینا Auto Dock - Vina-1-1-2-win32.msi با دقت ۷۳ درصد انجام گرفت (۱۳). در این تحقیق ۱۰ ترکیب از مشتقات پرایدوکسیم مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش ترکیب

جدول ۱- جزئیات ساختار کلی ترکیبات مورد مطالعه

شماره ترکیب	استخلاف (R)	نام ترکیب
۱	CH ₃	(E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-methylpyridin-1-ium
۲	C ₂ H ₅	(E)-1-ethyl-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)pyridin-1-ium
۳	CH ₃ CH ₂ CH ₂	(E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-propylpyridin-1-ium
۴	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂	(E)-1-butyl-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)pyridin-1-ium
۵	CH ₂ Ph	(E)-1-benzyl-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)pyridin-1-ium
۶	Ph-O-CH ₂	(E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(phenoxyethyl)pyridin-1-ium
۷	4-NO ₂ -PhCH ₂	(E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(4-nitrobenzyl)pyridin-1-ium
۸	4-Cl-PhCH ₂	(E)-1-(4-chlorobenzyl)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)pyridin-1-ium
۹	4-CH ₃ -PhCH ₂	(E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(4-methylbenzyl)pyridin-1-ium
۱۰	4-OCH ₃ -PhCH ₂	(E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(4-methoxybenzyl)pyridin-1-ium

با استفاده از مرورگر OSIRIS (یک ابزار اینترنتی مبتنی بر جاوا) سمیت، حلالیت، وزن مولکولی و همانندی دارویی لیگندهای طراحی شده پیش‌بینی گردید. در این مرورگر کدبندی نتایج بارنگ است. به‌عنوان مثال ترکیبات بسیار جهش‌زا بارنگ قرمز و ترکیبات بی‌خطر بارنگ سبز نشان داده می‌شوند. از آنجا که فاکتورهای تأثیرگذار در خطر سمیت یک ترکیب دارویی عبارت‌اند از میزان حلالیت، وزن مولکولی، cLogP، همانندی دارویی، بعد از رسم ساختار مولکول در نرم‌افزار OSIRIS و محاسبه پارامترهای مختلف، این نرم‌افزار بر اساس نتایج به‌دست‌آمده خطر سمیت دارو را پیش‌بینی می‌کند (۱۲).

کمیت LogP (لگاریتم ضریب تقسیم اکتانول/ آب) میزان حلالیت در آب و چربی است (به‌منظور پیش‌گویی میزان حلالیت از آن استفاده می‌شود). این ضریب علاوه بر آزمایش‌های تجربی، از طریق محاسبات کامپیوتری نیز قابل تعیین است که در آن صورت cLogP نامیده می‌شود معیاری از آب‌دوستی ترکیبات است. آب‌دوستی پایین (cLogP بالا) موجب جذب ضعیف دارو می‌شود (۱۵). با توجه به توزیع مقدار cLogP محاسباتی بیش از ۳۰۰۰ داروی موجود در بازار، cLogP نباید بیشتر از ۵ باشد (۱۵). با افزایش cLogP تمام خصوصیات فارماکوکینتیک دارو

(Autodock-vina-1-1-2-win32.msi) با دقت ۷۳ درصد انجام گرفت. با توجه به این‌که ساختار گیرنده در دمای ۳۱۰ کلون به تعادل رسیده و در پایدارترین حالت خود بود و شبیه‌سازی اتصال با اعمال انعطاف‌پذیری گیرنده هدف، از نظر زمانی و محاسباتی بسیار هزینه‌بر است، در این مطالعه ساختار مولکول گیرنده صلب (در مطالعات داکینگ مولکولی ساختار گیرنده می‌تواند حالت انعطاف‌پذیر و صلب داشته باشد) فرض می‌شود. شبیه‌سازی دینامیک مولکولی گیرنده توسط نرم‌افزار گرومکس انجام شد. از آنجا که ابعاد جعبه گرید (فضایی که عملیات داکینگ در آن انجام می‌گیرد) می‌تواند از ۱ تا ۴۰ آنگستروم باشد، به‌منظور تنظیم فضای جستجو جعبه گرید، مکعب حاوی نقاط جستجو (spacing) با ابعاد ۰/۳۷۵ آنگستروم استفاده شد به‌نحوی که گرید، تمامی ساختار گیرنده را در بر گرفته بود. پس از تنظیم گرید، اعداد مربوط به مراکز و اندازه کارتزینی جعبه گرید (۶۸×۶۸×۶۸) انتخاب شد. در نهایت آمینواسیدهای درگیر در تشکیل پیوند هیدروفوبی و هیدروژنی توسط نرم‌افزار مولگرو (MVD) مشخص شدند.

پیش‌بینی سمیت

جدول ۲- انرژی اتصال و برهم کنش های موجود بین ترکیبات مورد مطالعه و اسید آمینه های جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز انسانی

شماره ترکیب	نام ترکیب	انرژی اتصال (کیلوکالری برمول)	برهم کنش های هیدروژنی	برهم کنش های هیدروفوبی
۱	E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(methylpyridin-1-ium	-۷/۲۴	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲ Tyr ۱۳۳	Tyr ۴۴۹ .Tyr۳۳۷ .His۴۴۷ .Ala۷۳ .Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲
۲	E)-1-ethyl-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)pyridin-1-ium	-۸/۱۹	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲ Tyr۷۶	۲۰۲ . Tyr ۴۴۹ .Tyr۳۳۷ .His ۴۴۷ .Gly ۱۲۰ .Glu
۳	E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(propylpyridin-1-ium	-۷/۷۶	Tyr ۱۳۳ .Gly ۱۲۰	Phe۲۵۵ .Tyr۷۶ .Glu ۲۰۲ . Trp۸۶ .Tyr۳۳۷ .His۴۴۷
۴	(E)-1-butyl-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)pyridin-1-ium	-۸/۳۷	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲	.Tyr۳۳۷ .His۴۴۷ .Tyr۷۶ .Trp۸۶ Thr۲۶۰ .Gly۲۸۱ Tyr ۴۴۹
۵	E)-1-benzyl-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)pyridin-1-ium	-۹/۳۲	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲ Tyr ۱۳۳	۱۳۳ .Leu۳۲۱ .Glu ۲۰۲ .Tyr۷۶ Tyr۴۴۹ .Tyr۳۳۷ .His۴۴۷ .Tyr
۶	(E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(phenoxymethyl)pyridin-1-ium	-۹/۱۷	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲ Tyr ۱۳۳	Phe۲۵۵ .Tyr۷۶ .Glu ۲۰۲ .Ala۷۳ Tyr۳۳۷ .His۴۴۷ .Trp۸۶
۷	E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(4-(nitrobenzyl)pyridin-1-ium	-۱۰/۲۵	Tyr ۱۳۳ .Glu ۲۰۲	Val۵۴ .Tyr۷۶ .Phe۷۸ .Gly۲۸۱ Tyr۴۴۹ .Tyr۳۳۷ .His۴۴۷
۸	(E)-1-(4-chlorobenzyl)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)pyridin-1-ium	-۱۰/۴۸	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲ Met۴۳۳	.His۴۴۷ .Trp۸۶ .Phe۸۳ .Ala۷۳ Met۴۳۳ .Tyr۳۳۷
۹	E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(4-(methylbenzyl)pyridin-1-ium	-۱۱/۱۴	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲ Tyr ۱۳۳	.Tyr۴۴۹ .Tyr۳۳۷ .His۴۴۷ .Trp۸۶ Tyr ۱۳۳ .Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲
۱۰	(E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(4-methoxybenzyl)pyridin-1-ium	-۱۰/۸۱	Tyr ۱۳۳ .Glu ۲۰۲	.Tyr۳۳۷ .His۴۴۷ .Phe۸۳ Tyr ۱۳۳ .Gly ۱۲۰ .Ala۷۳ .Tyr۴۴۹
رفرنس	پرایدوکسیم	-۵/۲۰	Lys ۳۳۲ .Val ۳۳۱	۵۱۰ .Val ۴۲۹ .Leu ۵۲۴ .Arg۵۲۵ Val ۴۰۸ .Glu ۳۳۴ .Tyr

دارند، اما لزوماً به این معنا نیست که قطعات رفتاری ایده آل دارد. به عبارتی ممکن است یک مولکول همانندی دارویی بالایی داشته باشد اما واجد شرایط دارو نباشد (۱۷).

در نهایت به هر ترکیب امتیازی تعلق گرفت. امتیاز دارو ترکیبی از همانندی دارویی، $cLogP$ ، $LogS$ ، وزن مولکولی و خطرات سمیت است. بیشتر بودن امتیاز ترکیبات، بیانگر فعالیت بیشتر آن‌ها است (۱۲)؛ بنابراین به منظور مقایسه، امتیاز ترکیب مرجع نیز مورد محاسبه قرار گرفت.

نتایج

در ابتدا به منظور اعتبار سنجی عملیات داکینگ، لیگاند فاسیکلن از جایگاه فعال آنزیم برداشته شد و پس از انجام داکینگ مورد مقایسه قرار گرفت. بعد از اعتبار سنجی داکینگ ساختار سه بعدی ترکیبات فعال کننده در جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز انسانی داک شدند.

(جذب، پخش، دفع، متابولیسم و سمیت) کاهش می یابد (۱۵). میزان حلالیت نیز جذب و توزیع دارو را تحت تأثیر قرار می دهد. میزان حلالیت ($LogS$) تخمینی ۸۰ درصد داروهای موجود در بازار بزرگ تر از ۴- است (۱۶).

این نرم افزار کمیتی به نام همانندی دارویی را تعیین می کند. همانندی دارویی یا شباهت دارویی یک مفهوم کیفی است که در مبحث طراحی دارو از آن استفاده می شود (۱۷). نرم افزار با توجه به قانون ۵ لیپینسکی و استفاده از پارامترهایی مانند وزن مولکولی، تعداد اتم های دهنده پیوند هیدروژنی، تعداد اتم های پذیرنده پیوند هیدروژنی و $cLogP$ ، همانندی دارویی را تعیین می نماید. میزان همانندی دارویی محاسبه شده توسط این نرم افزار در محدوده ۱۰- تا ۱۰۰ است. با توجه به ساختار یک مولکول، قبل از سنتز و تست آن، می توان قابلیت استفاده و فعالیت زیستی آن را تخمین زد. مثبت بودن این کمیت نشان می دهد مولکول دارای قطعات برجسته ای است که اغلب در داروهای تجاری وجود

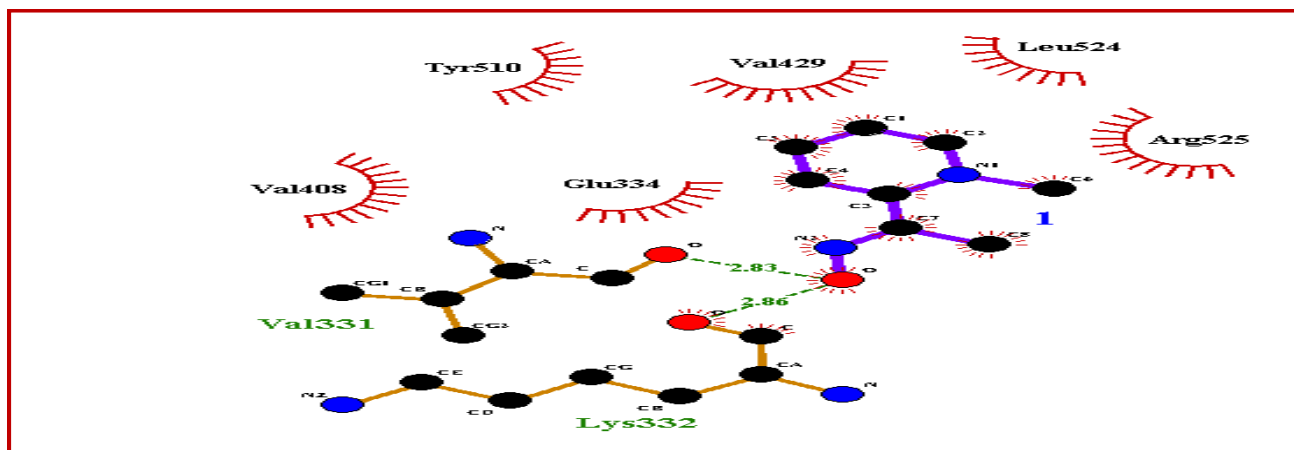
همین روش ۵/۲۰- کیلوکالری بر مول محاسبه گردیده است). انرژی اتصال نشان‌دهنده قدرت اتصال بین ترکیبات مولکولی طراحی شده و جایگاه فعال آنزیم است. نتایج داکینگ مولکولی نشان می‌دهد که قسمت‌های غیر قطبی ترکیب‌های طراحی شده (حلقه‌های آروماتیک، گروه متیل ترکیب‌ها) عمدتاً با قسمت‌های غیرقطبی آنزیم استیل کولین استراز انسانی، مشتمل بر آمینواسیدهای Tyr۴۴۹، Tyr۳۳۷، His۴۴۷، Trp۸۶، Tyr۱۳۳، Glu ۱۲۰، Tyr ۱۳۳ برهم‌کنش‌های هیدروفوبیک و با Tyr ۱۳۳، Glu ۱۲۰، Glu ۲۰۲ برهم‌کنش‌های

داده‌های مربوط به تغییرات انرژی اتصال، برهم‌کنش‌های لیگاندها شامل پیوندهای هیدروژنی، برهم‌کنش‌های هیدروفوبی، در جدول ۲ ذکر شده است.

نتایج این بررسی‌ها نشان داد که مشتقات مورد مطالعه می‌توانند با اتصال به جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز انسانی موجب فعال‌سازی مجدد آن گردند. نتایج داکینگ مشخص نمود که تمامی ترکیبات مورد مطالعه عملکرد خوبی داشته و انرژی پیوندی قابل قبولی دارند. مطالعات داکینگ نشان می‌دهد، ترکیب شماره ۹ (ترکیب حاوی ۴- متیل بنزیل) با انرژی



شکل ۲- بررسی رزیدوهای (آمینواسیدهای) درگیر در تشکیل پیوند آنزیم با ترکیب شماره ۹ توسط نرم‌افزار مولگرو (MVD): همان‌طور که در شکل مشخص است این ترکیب با آمینواسیدهای Glu ۲۰۲، Tyr ۱۳۳، Gly ۱۲۰، Tyr ۱۳۳ پیوند هیدروژنی (خط چین آبی‌رنگ) و با آمینواسیدهای Trp۸۶، His۴۴۷، Tyr۳۳۷، Tyr۴۴۹، Glu ۱۲۰، Tyr ۱۳۳ در تشکیل پیوند هیدروفوبی (خط چین قرمز رنگ) شرکت می‌کند.



شکل ۳- بررسی آمینواسیدهای درگیر در تشکیل پیوند هیدروژنی (خط چین سبز رنگ) و هیدروفوبی () ترکیب مرجع پرایدوکسیم با گیرنده توسط نرم‌افزار Lig plot

هیدروژنی را نشان می‌دهند (شکل ۲). نتایج داکینگ مولکولی ترکیب مرجع پرایدوکسیم با آنزیم استیل کولین استراز انسانی نشان داد که گروه هیدروکسیل موجود، با آمینواسیدهای Val ۳۳۱، Lys ۳۳۲ در برهم‌کنش

پیوندی ۱۱/۱۴- کیلوکالری بر مول نسبت به ترکیب رفرنس پرایدوکسیم فعالیت بیشتری را جهت فعال‌سازی مجدد آنزیم، از خود نشان می‌دهد و به‌عنوان بهترین فعال‌کننده در بین ۱۰ ترکیب برتر انتخاب گردید (انرژی پیوندی پرایدوکسیم بر مبنای

آن‌ها اشاره نمود. یک فرآیند استاندارد به‌منظور یافتن ترکیبات فعال در برابر یک هدف زیستی شناخته‌شده، آزمایش هزاران یا میلیون‌ها مولکول کوچک (لیگاند‌ها) است. اگرچه این روش بسیار مفید است اما به امکانات آزمایشگاهی بسیار، همچنین صرف مدت‌زمان زیادی نیاز دارد. شبیه‌سازی اتصال مولکولی یک برنامه‌ی کامپیوتری است که می‌تواند جایگزین روش ذکرشده گردد (۱۸). امروزه روش‌های کامپیوتری که مولکول‌های کوچک را در ساختار مولکول هدف پروتئینی داک می‌کنند و به میزان جفت شدن لیگاند با سایت فعال شناخته‌شده امتیاز می‌دهند، در معرفی و بهینه کردن ترکیبات رهبر مشهور شده‌اند (۱۹). با این برنامه کنفورمر صحیح لیگاند و گیرنده تعیین می‌شود. اتصال گیرنده به یک مولکول کوچک، فرآیند ساده‌ای نیست،

هیدروژنی شرکت می‌کند. همچنین با آمینواسیدهای Arg ۵۲۵، Val ۵۲۴، Leu ۴۲۹، Tyr ۵۱۰، Glu ۳۳۴، Val ۴۰۸، برهم‌کنش‌های هیدروفوبی را نشان می‌دهد (شکل ۳). نتایج مربوط به پیش‌بینی خطر سمیت ترکیبات طراحی‌شده نشان داد که ترکیبات شماره ۱ و ۳ و ۴ دارای خطرات سمیت جهش‌زا می‌باشند. نتایج مربوط به ارزیابی خطر سمیت در جدول ۳ ذکر شده است. از آنجاکه در تحقیقات پیشین فقط به مطالعات داکینگ مولکولی مشتقات اکسیمی اعم از محاسبه انرژی اتصال، نحوه قرار گرفتن آن‌ها در جایگاه فعال آنزیم و برهم‌کنش‌های موجود پرداخته‌شده و نسبت به خواص فارماکوکینتیک (جذب، پخش، سمیت) مطالعه‌ای صورت نگرفته است نتایج حاصل از این مطالعه دستاورد جدیدی است.

جدول ۳- نتایج ارزیابی خطر سمیت لیگاندهای طراحی‌شده با ترکیب مرجع توسط مرورگر OSIRIS

امتیاز دارو	هماندی دارویی	وزن مولکولی	حلالیت	cLogP	خطرات سمیت	شماره ترکیب
۰/۵۵	-۱/۸۱	۱۵۱/۱۸	-۱/۵۶	-۲/۷۱	Mutagenic	۱
۰/۵۴	-۲	۱۶۵/۲۱	-۱/۵۷	-۲/۴۶	-	۲
۰/۵۳	-۲/۱۵	۱۷۹/۲۴	-۱/۸۴	-۲	Mutagenic	۳
۰/۴۸	-۴/۱۳	۱۹۳/۲۶	-۲/۱۱	-۱/۵۵	Mutagenic	۴
۰/۵۳	-۱/۹۶	۲۲۷/۲۸	-۲/۳۵	-۲/۳۶	-	۵
۰/۵۱	-۱/۸۵	۲۴۳/۲۸	-۳/۰۵	-۰/۸۴	-	۶
۰/۴۶	-۶/۷۸	۲۷۲/۲۹	-۲/۸۱	-۲/۲۸	-	۷
۰/۵۱	-۱/۸۰	۲۶۱/۷۳	-۳/۰۹	۰/۷۵	-	۸
۰/۵۴	-۱/۹۶	۲۴۱/۳۱	-۲/۷۰	-۲/۴۱	-	۹
۰/۵۴	-۱/۶۹	۲۵۷/۳۱	-۲/۳۷	-۱/۴۳	-	۱۰
۰/۵۲	-۱/۲۲	۱۳۷/۱۶	-۱/۲۰	-۲/۶۵	-	پرالیدوکسیم

cLogP: لگاریتم ضریب تقسیم اکتانول / آب

هماندی دارویی: پتانسیل یک مولکول شیمیایی برای تبدیل شدن به مولکولی با خاصیت دارویی است. امتیاز دارو: ترکیبی از هماندی دارویی، cLogP، LogS، وزن مولکولی و خطرات سمیت است.

بحث

چندین فاکتور آنتالپیک و آنتروپیک برهم‌کنش بین آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. تولید مجموعه‌ی جامعی از کنفورمرهای

روش‌های کامپیوتری نقش به‌سزایی در فرآیند اکتشاف دارو دارند. از آن جمله می‌توان به معرفی ترکیبات رهبر و بهینه کردن

داد که ترکیبات شماره ۱ و ۲ و ۹ و ۱۰ و ۳ و ۵ به ترتیب دارای بیشترین امتیاز دارویی می‌باشند، اما ملاک ما در این تحقیق یافتن ترکیبات انتخابی با اثرات جانبی کمتر است؛ بنابراین ترکیبات شماره ۴ و ۶ و ۸ و ۱۰ به دلیل cLogP پایین و ترکیبات شماره ۱ و ۳ و ۴ به دلیل سمیت کنار گذاشته شدند. مقایسه نتایج داکینگ مولکولی و پیش‌بینی خطر سمیت ترکیبات طراحی شده نشان داد که ترکیب شماره ۹ (ترکیب حاوی ۴- متیل بنزیل) در مقایسه با ترکیب مرجع پراپیلدوکسیم به دلیل امتیاز دارویی و cLogP بالاتر در کنار مینیمم انرژی اتصال پایین‌تر، بهترین کاندید مناسب برای فعال‌سازی مجدد آنزیم استیل کولین استراز انسانی است. در مطالعات آینده ترکیبات پراپیلدوکسیم متصل به زنجیره‌های جانبی مانند حلقه‌های هتروسیکل به‌عنوان کاندیدهای فعال‌کننده مجدد آنزیم استیل کولین استراز انسانی مورد ارزیابی قرار خواهند گرفت.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با کد ۹۶۱۲۱۰ در دانشگاه امام حسین (ع) انجام گردید. نویسندگان مقاله از تمامی همکاران در آزمایشگاه محاسباتی و انفورماتیک تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی را اعلام نکرده‌اند.

لیگاند - گیرنده و سپس رتبه‌بندی آن‌ها بر طبق میزان پایداری، ایده ایست که پشت این تکنیک نهفته است (۲۰). در بسیاری از مشتقات طراحی شده، بخشی از مولکول که شامل حلقه پیریدین است با آمینواسیدهای تریپتوفان ۸۶، گلیسین ۱۲۰ برهمکنش هیدروفوبی تشکیل می‌دهند. نیتروژن متصل به گروه هیدروکسیل با آمینواسید گلیسین ۱۲۰ و تیروزین ۱۳۳ پیوند هیدروژنی می‌دهد. گروه هیدروکسیل موجود در ترکیبات طراحی شده با آمینواسید گلوتامیک ۲۰۲ در تشکیل پیوند هیدروژنی شرکت می‌کند (شکل ۱). مطالعه اتصالات دارو - گیرنده نشان داد که هیچ تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای میان گروه‌های الکترون کشنده و الکترون دهنده که روی حلقه فنیل قرار می‌گیرند وجود ندارد که این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه داکینگ مولکولی مشتقات جدید اکسیمی به‌عنوان فعال‌کننده مجدد آنزیم استیل کولین استراز توسط ایمان و همکاران صورت گرفت مطابقت دارد (۳). با این حال، به نظر می‌رسد استخلاف‌های الکترون دهنده بر روی حلقه فنیل ترکیبات می‌تواند قدرت پیوند میان دارو و گیرنده را افزایش دهد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضرمی‌توان نتیجه گرفت که ترکیب شماره ۹ (ترکیب حاوی ۴- متیل بنزیل) می‌تواند ضمن میان‌کنش با آمینواسیدهای مهم واقع در جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز انسانی باعث فعال‌سازی مجدد آن شود. نتایج پیش‌بینی خطر سمیت ترکیبات طراحی شده نشان

References

1. Jokanovic M, Milica P. Pyridinium oximes as cholinesterase reactivators. Structure-activity relationship and efficacy in the treatment of poisoning with organophosphorus compounds. *Current. med. Chem* 2009; 16:2177.
2. Delfino RT, Ribeiro TS and Figueroa-Villar JD. Organophosphorus compounds as chemical warfare agents: a review. *J. Braz. Chem. Soc.* 2009; 20: 407- 28.
3. Iman M, Hosseini SA, Moghimi A. Docking Studies, Synthesis, and In-vitro Evaluation of Novel Oximes Based on Nitrones as Reactivators of Inhibited Acetylcholinesterase. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2017; 16 (3): 880-92.
4. Ramanjaneyulu G, Srinivasulu C, Seenaiiah R, Ramya A. Docking studies of Endosulfan and its analogues on Human Acetylcholine esterase. *International Journal of Research in Biological Sciences* 2014; 4(2): 49-54.
5. Luo C, Saxena A, Smith M, Garcian G, Radi Z, Taylor P and et al. Phosphoryl oxime inhibition of acetylcholinesterase during oxime reactivation is prevented by edrophonium. *Biochem* 1999; 38: 9937.
6. Ashani Y, Bhattacharjee A.K, Leader H, Saxena A, Doctor B.P. Inhibition of cholinesterases with cationic phosphonyl oximes highlights distinctive properties of the charged pyridine groups of quaternary oxime reactivators. *Biochem. Pharmacol* 2003; 66:191.



7. Worek F, Eyer P, Aurbek N, Szinicz L, Thiermann H. Recent advances in evaluation of oxime efficacy in nerve agent poisoning by *in vitro* analysis. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 2007;219: 226.
8. Kiderlen D, Eyer P, Worek F. Formation and disposition of diethylphosphoryl-obidoxime, a potent anticholinesterase that is hydrolysed by human paraoxonase (PON1). *Biochem. Pharmacol* 2005; 69(12): 1853-67
9. Worek F, Eyer P, Kiderlen D, Thiermann H, Szinicz L. Effect of human plasma on the reactivation of sarin-inhibited human erythrocyte acetylcholinesterase. *Arch. Toxicol* 2000; 74: 21.
10. Kuca K, Petr S, Martina H, Petra H, Daniel J, and Bohumil D. Preparation of Oxime HI-6 (Dichloride and Dimethanesulphonate) Antidote against Nerve Agents. *Defence. Sc. J* 2008; 58(3): 399.
11. Reddy NM, Kleeberger SR, Kensler TW, Yamamoto M, Hassoun PM, Reddy SP. Disruption of NRF2 impairs the resolution of hyperoxia-induced acute lung injury and inflammation in mice. *J Immunol* 2009; 182:7264-71.
12. Molecular Property Predictions Osiris Property Explorer, From: <http://www.cheminformatics.ch/propertyExplorer/>, Accessed 6 July 2013.
13. Trott O, and Olson A. J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem* 2010; 31(2): 455.
14. Thomsen R. a new technique for high-accuracy molecular docking. *J Med Chem* 2006; 49:3315. 24.
15. Schultes S, de Graaf C, Haaksma E. E, Esch I. J, Leurs R. and Kramer O. Ligand efficiency as a guide in fragment hit selection and optimization. *Drug Discov. Today*. 2010; 7(3): 157-62.
16. Lipinski C. A, Lombardo F, Dominy B. W, and Feeney P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Del. Rev.* 1997; 23(1): 3-25.
17. Lipinski CA. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *J Pharmacol Tox Meth.* 2000; 44:235-49.
18. Huang SY, Zou X. Advances and challenges in protein-ligand docking. *International journal of molecular sciences* 2010;11(8):3016-34.
19. Mukesh B, Rakesh K. Molecular docking: a review. *Int J Res Ayurveda Pharm* 2011; 1746-51.
20. Alonso H, Bliznyuk A. A, and Gready J. E. Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design. *Med Res Rev* 2006; 26(5):531.



Original Article

Computational Design, Molecular Docking Study and Toxicity Prediction of Some Novel Pralidoxime Derivatives as Reactivators of Acetyl Cholinesterase Enzyme

Roeintan A*

Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Imam Hossein Officer and Guard Training, Tehran, Iran

Received: 18 Jul 2018

Accepted: 19 Nov 2018

Abstract

Background & Objective: oximes as Acetylcholinesterase (AChE) reactivators were developed for the treatment of organophosphate compounds (OPCs) intoxication. Oximes also bind to the active site of AChE, simultaneously acting as reversible inhibitors. Organophosphorus compounds (OPCs) such as soman, sarin, or VX react with acetyl cholinesterase irreversibly. In this research, a group of Pralidoxime derivatives with acetyl cholinesterase enzyme reactivator activity was subjected to a docking study, followed by a Toxicity Risk Assessment.

Materials & methods: This is a descriptive-analytic study. In order to investigate the mode of the pralidoxime derivatives coupling with enzyme active site, at first the chemical structures of all compounds were designed by ChemBioDraw Ultra14.0 software. Then so as to carry out energy minimization, it transferred into a Hyperchem software. Docking study was performed by Auto Dock Vina program. Then the results were analyzed utilizing Molegro Virtual Docking software. At the final stage, the toxicity risk assessment of compounds was performed by the OSIRIS program.

Results: Docking results revealed the hydrogen bond and hydrophobic interactions were involved in the drug-receptor interactions. Among the all studied compounds, the best docking results were related to No. 9 (4-methylbenzyl group- pathic compound) displayed. In fact, this compound had the most negative ΔG_{bind} (-11.14 Kcal/mol) that indicated favorable interactions with the key amino acid residues at active site of acetyl cholinesterase.

Conclusion: In conclusion, According to the results of Docking studies and the evaluation of toxicity risk, it can be concluded that combination No. 9 (4-methylbenzyl group- phatic compound) in comparison with pralidoxime reference compound might be considered as a more reactivator of the acetyl cholinesterase enzyme.

Keywords: Molecular Docking, Toxicity Test, reactivator, pralidoxime, acetyl cholinesterase

*Corresponding Author: :Roeintan Abozar, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Imam Hossein Officer and Guard Training, Tehran
Email: abroeintan@yahoo.com
<https://orcid.org/0000-0001-9471-591X>