



مقاله پژوهشی

طراحی محاسباتی، مطالعه داکینگ مولکولی و پیش‌بینی سمیت تعدادی از مشتقات جدید پرالیدوکسیم به عنوان فعال‌کننده مجدد آنزیم استیل کولین استراز

ابودر رؤین 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 به عنوان فعال‌کننده‌های مجدد آنزیم استیل کولین استراز (AChE) برای درمان مسمومیت ترکیبات ارگانوفسفره (OPCs) توسعه یافته‌اند. آن‌ها همچنین به جایگاه فعال آنزیم (AChE) متصل شده و به عنوان مهارکننده‌های برگشت‌پذیر عمل می‌کنند. ترکیبات ارگانوفسفره (OPCs) مانند سومان، سارین به عنوان عوامل عصبی به طور برگشت‌ناپذیر با استیل کولین استراز واکنش می‌دهند. در این تحقیق، طراحی و مطالعات داکینگ روی تعدادی از مشتقات جدید پرالیدوکسیم 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 پرالیدوکسیم به جایگاه فعال آنزیم، در ابتدا ساختار شیمیایی ترکیبات با استفاده از نرم‌افزار ChemBioDraw Ultra ۱۴.۰ ترسیم شد. سپس به منظور بهینه‌سازی انرژی، به نرم‌افزار Hyperchem انتقال یافت. مطالعات داکینگ به وسیله نرم‌افزار Auto Dock- Vina-1-1-2-win32.msi انجام گرفت و نتایج با استفاده از نرم‌افزار Molegro گرفت. در مرحله نهایی ارزیابی خطر سمیت ترکیبات به وسیله برنامه OSIRIS انجام گردید.

نتایج: بر اساس نتایج به دست آمده 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 منفی ترین 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 به دست آمده از مطالعات داکینگ و ارزیابی خطر سمیت، می‌توان نتیجه گرفت که ترکیب شماره ۹ (ترکیب حاوی ۴-متیل بنزیل) در مقایسه با ترکیب مرجع پرالیدوکسیم می‌تواند به عنوان فعال‌کننده مجدد آنزیم استیل کولین استراز مطرح شود.

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

مقدمه

می‌باشند و قادرند با تأثیر بر سیستم عصبی مرکزی از فعالیت آنزیم استیل کولین استراز جلوگیری نمایند (۳).

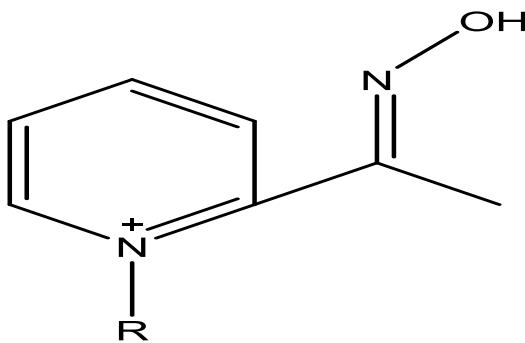
در سه دهه گذشته مکانیسم عملکرد اکسیم‌های پیریدین در فعال‌سازی مجدد آنزیم استیل کولین استراز موردنبررسی قرار گرفته است (۴). مطالعات گذشته نشان می‌دهد که مشتقات اکسیم پیریدین در واکنش با عوامل اعصاب کمپلکس شده با آنزیم استیل کولین استراز، باعث فعال‌سازی مجدد آنزیم و آزاد شدن آن می‌شوند (۵). اعتقاد براین است که مسمومیت حد با ترکیبات ارگانوفسفره در پستانداران به طور کلی به دلیل مهار برگشت‌ناپذیر آنزیم استیل کولین استراز است (۶-۸).

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

*نویسنده مسئول: ابوذر رؤین 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



پرالیدوکسیم 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 با نام EY ۸ 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 نرم‌افزار Hyperchem و روش‌های semi-empirical(PM) و MM⁺/Field استفاده گردید. الگوریتم Polak-Ribiere برای بهینه کردن ساختارهای مولکولی مورد استفاده قرار گرفت. سپس کانفورمی 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 نرم‌افزار Molgro-Docker (MVD 2007.2.2.5) (Molegro Virtual Aug 27) لیگاند و کوفاکتورهای اضافی و مولکول‌های آب موجود در ساختار کریستالی پروتئین حذف شدند (۱۴). بعد از حذف قسمت‌های غیر ضروری در عملیات داکینگ، پروتئین به عنوان ورودی نرم‌افزار 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 اتودادک ۶۸ درصد است، شبیه‌سازی اتصال مولکول به وسیله نرم‌افزار اتودادک 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 (پرالیدوکسیم، تریمیدوکسیم) در طب انسانی توسعه یافته است (۱۰). با گسترش روزافزون مطالعات شبیه‌سازی و دینامیک مولکولی در تمامی شاخه‌های علوم و استفاده از کامپیوتراها در مطالعات، بهره‌گیری از علم بیوانفورماتیک نسبت به دهه‌های گذشته بیش از پیش 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 تائید شده برای تشخیص بهترین و پایدارترین ترکیب از کتابخانه‌های شیمیابی عظیم است (۱۲). غربالگری مجازی از لحاظ اقتصادی، روشی کاملاً مقرن به صرفه جهت تحقیق و دستیابی به بهترین و پایدارترین ترکیب مهارکننده است (۱۲). با بهره‌گیری از علم بیوانفورماتیک و درک عمق رفتار مولکول‌ها، مهارکننده‌ها و نیز کمپلکس‌گیرنده – 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).

در این مطالعه، از روش‌های کامپیوترا مانند داکینگ به منظور کشف ترکیباتی جدید به عنوان عوامل بالقوه فعال‌ساز آنزیم استیل کولین استراز و پیش‌بینی خطر سمیت ترکیبات طراحی شده استفاده شده است (۳، ۴). باهدف 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 درنهایت پیش‌بینی خطر سمیت ترکیبات طراحی شده توسط مرورگر OSIRIS انجام گرفت (۱۲). برای انجام روش داکینگ از نرم‌افزار 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 نرم‌افزار اتودادک وینا Auto Dock- Vina-1-1-2-win32.msi با دقت ۷۳ درصد انجام گرفت (۱۳). در این تحقیق ۱۰ ترکیب از مشتقات پرالیدوکسیم مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش ترکیب



جدول ۱- جزئیات ساختار کلی ترکیبات مورد مطالعه

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

با استفاده از مرورگر OSIRIS (یک ابزار اینترنیتی مبتنی بر جاوا) سمیت، حلایت، وزن مولکولی و همانندی دارویی لیگاندهای طراحی شده پیش‌بینی گردید. در این مرورگر کدبندی نتایج بارنگ است. به عنوان مثال ترکیبات بسیار جهش‌زا بارنگ قرمز و ترکیبات بی‌خطر بارنگ سبز نشان داده می‌شوند. از آنجاکه فاکتورهای تأثیرگذار در خطر سمیت یک ترکیب دارویی عبارت‌اند از میزان حلایت، وزن مولکولی، LogP، همانندی دارویی، بعد از رسم ساختار مولکول در نرمافزار OSIRIS و محاسبه پارامترهای مختلف، این نرمافزار بر اساس نتایج به دست آمده خطر سمیت دارو را پیش‌بینی می‌کند (۱۲).

کمیت LogP (لگاریتم ضریب تقسیم اکتانول / آب) میزان حلایت در آب و چربی است (به منظور پیش‌گویی میزان حلایت از آن استفاده می‌شود). این ضریب علاوه بر آزمایش‌های تجربی، از طریق محاسبات کامپیوتوری 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 پیش از ۳۰۰۰ داروی موجود در بازار، cLogP نباید بیشتر از ۵ باشد (۱۵). با افزایش cLogP تمام خصوصیات فارماکوکنیتیک دارو

گرفت. با توجه به این که ساختار گیرنده در دمای ۳۱۰ کلوین 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 گیرنده می‌تواند حالت (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 آنجاکه 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 × ۰/۳۷۵ است. انتگستروم استفاده شد به‌نحوی که گرید، تمامی ساختار گیرنده را در بر گرفته بود. پس از تنظیم گرید، اعداد مربوط به مراکز و اندازه کارترینی جعبه گرید (۶۸×۶۸×۶۸) انتخاب شد. درنهایت آمینواسیدهای در گیر در تشکیل پیوند هیدروفوبی و هیدروژنی توسط نرم‌افزار مولگرو (MVD) مشخص شدند.

پیش‌بینی سمیت



جدول ۲- انرژی اتصال و برهمکنش‌های موجود بین ترکیبات موردمطالعه و اسیدآمینه‌های جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز انسانی

شماره ترکیب	نام ترکیب	انرژی اتصال (کیلوکالری برمول)	برهمکنش‌های هیدروژنی	برهمکنش‌های هیدروفوبی
۱	E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(methylpyridin-1-ium	-۷/۲۴	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲ Tyr ۱۳۳	Tyr ۴۴۹ .His ۴۴۷ .Ala ۷۳ .Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲
۲	E)-1-ethyl-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)pyridin-1-ium	-۸/۱۹	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲ Tyr ۷۶	۲۰۲ .Tyr ۴۴۹ .Tyr ۳۳۷ .His ۴۴۷ .Gly ۱۲۰ .Glu
۳	E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(propylpyridin-1-ium	-۷/۷۶	Tyr ۱۳۳ .Gly ۱۲۰	Phe ۲۵۵ .Tyr ۷۶ .Glu ۲۰۲ .Trp ۸۶ Tyr ۳۳۷ .His ۴۴۷
۴	(E)-1-butyl-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)pyridin-1-ium	-۸/۳۷	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲	.Tyr ۳۳۷ .His ۴۴۷ .Tyr ۷۶ .Trp ۸۶ Thr ۲۶۰ .Gly ۲۸۱ .Tyr ۴۴۹
۵	E)-1-benzyl-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)pyridin-1-ium	-۹/۳۲	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲ Tyr ۱۳۳	۱۳۲ .Leu ۳۲۱ .Glu ۲۰۲ .Tyr ۷۶ Tyr ۴۴۹ .Tyr ۳۳۷ .His ۴۴۷ .Tyr
۶	(E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(phenoxyethyl)pyridin-1-ium	-۹/۱۷	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲ Tyr ۱۳۳	Phe ۲۵۵ .Tyr ۷۶ .Glu ۲۰۲ .Ala ۷۳ Tyr ۳۳۷ .His ۴۴۷ .Trp ۸۶
۷	E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(4-(nitrobenzyl)pyridin-1-ium	-۱۰/۲۵	Tyr ۱۳۳ .Glu ۲۰۲	Val ۵۴ .Tyr ۷۶ .Phe ۸۸ .Gly ۲۸۱ Tyr ۴۴۹ .Tyr ۳۳۷ .His ۴۴۷
۸	(E)-1-(4-chlorobenzyl)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)pyridin-1-ium	-۱۰/۴۸	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲ Met ۴۳۳	.His ۴۴۷ .Trp ۸۶ .Phe ۸۳ .Ala ۷۳ Met ۴۳۳ .Tyr ۳۳۷
۹	E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(4-(methylbenzyl)pyridin-1-ium	-۱۱/۱۴	.Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲ Tyr ۱۳۳	Tyr ۴۴۹ .Tyr ۳۳۷ .His ۴۴۷ .Trp ۸۶ Tyr ۱۳۳ .Gly ۱۲۰ .Glu ۲۰۲
۱۰	(E)-2-(1-(hydroxyimino)ethyl)-1-(4-methoxybenzyl)pyridin-1-ium	-۱۰/۸۱	Tyr ۱۳۳ .Glu ۲۰۲	.Tyr ۳۳۷ .His ۴۴۷ .Phe ۸۳ Tyr ۱۳۳ .Gly ۱۲۰ .Ala ۷۳ .Tyr ۴۴۹
رفنس	براليدوكسيم	-۵/۲۰	Lys ۳۳۲ .Val ۳۳۱	۵۱۰ .Val ۴۲۹ .Leu ۵۲۴ .Arg ۵۲۵ Val ۴۰۸ .Glu ۳۳۴ .Tyr

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

درنهایت به هر ترکیب امتیازی تعلق گرفت. امتیاز دارو ترکیبی از همانندی دارویی، LogS، eLogP، وزن مولکولی و خطرات سمیت است. بیشتر بودن امتیاز ترکیبات، بیانگر فعالیت بیشتر آن‌ها است (۱۲)؛ بنابراین به منظور مقایسه، امتیاز ترکیب مرجع نیز موردمحاسبه 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 فعل کننده در جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز انسانی داک شدند.

(جذب، پخش، دفع، متابولیسم و سمیت) کاهش می‌یابد (۱۵). میزان حلالیت نیز جذب و توزیع دارو را تحت تأثیر قرار می‌دهد. میزان حلالیت (LogS) تخمینی ۸۰ درصد داروهای موجود در بازار بزرگ‌تر از -۴ است (۱۶).

این نرمافزار کمیتی به نام همانندی دارویی را تعیین می‌کند. همانندی دارویی یا شباهت دارویی یک مفهوم کیفی است که در مبحث طراحی دارو از آن استفاده می‌شود (۱۷). نرمافزار با توجه به قانون ۵ لیپینسکی و استفاده از پارامترهایی مانند وزن مولکولی، تعداد اتم‌های دهنده پیوند هیدروژنی، تعداد اتم‌های پذیرنده پیوند هیدروژنی و LogP، همانندی دارویی را تعیین می‌نماید. میزان همانندی دارویی محاسبه شده توسط این نرمافزار در محدوده ۱۰ - تا ۱۰ است. با توجه به ساختار یک مولکول، قبل از سنتز و تست آن، می‌توان قابلیت استفاده و فعالیت زیستی آن را تخمین زد. مثبت بودن این کمیت نشان می‌دهد مولکول دارای قطعات برجسته‌ای است که اغلب در داروهای تجاری وجود

طرافی محاسباتی، مطالعه داکینگ مولکولی تعدادی از مشتقات پرالیدوکسیم

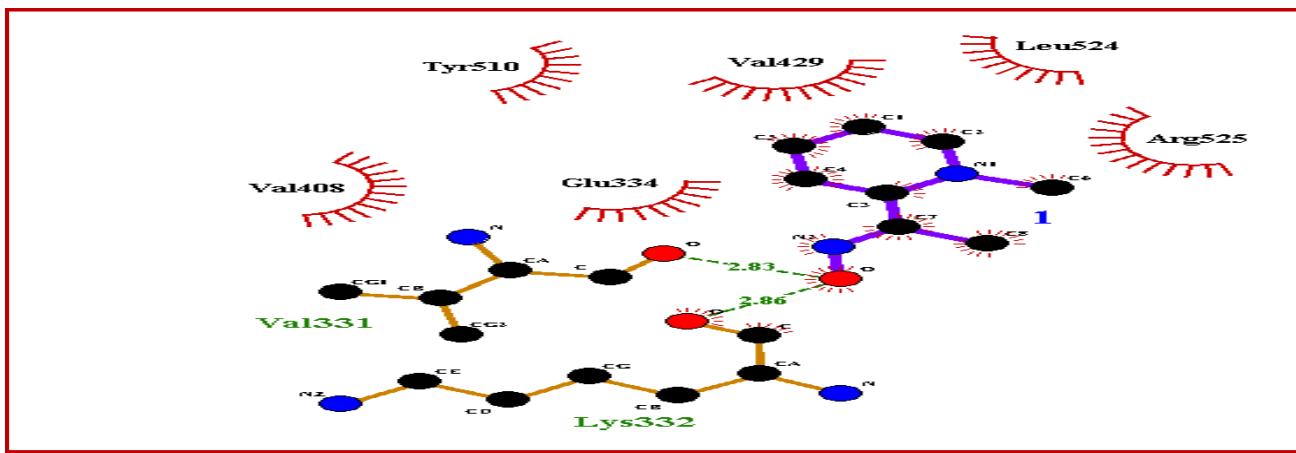
همین روش ۵/۲۰- کیلوکالری بر مول محاسبه گردیده است). اثری اتصال نشان دهنده قدرت اتصال بین ترکیبات مولکولی طراحی شده و جایگاه فعال آنژیم است. نتایج داکینگ مولکولی نشان می دهد که قسمت های غیر قطبی ترکیب های طراحی شده (حلقه های آروماتیک، گروه متیل ترکیب ها) عمدتاً با قسمت های غیرقطبی آنژیم استیل کولین استراز انسانی، مشتمل بر آمینواسیدهای Trp^{۸۶}, His^{۴۴۷}, Tyr^{۳۳۷}, Tyr^{۴۴۹}, Glu^{۱۲۰}, Gly^{۱۳۳} Tyr برهم کنش های هیدروفوبیک و با آمینواسیدهای Glu^{۲۰۲}, Gly^{۱۲۰}, Tyr^{۱۳۳} برهم کنش های

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 موردمطالعه می‌توانند بالاتصال به جایگاه فعال آنژیم استیل کولین استراز انسانی موجب فعال‌سازی مجدد آن گردند. نتایج داکینگ مشخص نمود که تمامی ترکیبات موردمطالعه عملکرد خوبی داشته و انژرژی پیوندی قابل قبولی دارند. مطالعات داکینگ نشان می‌دهند، ترکیب شماره ۹ (ترکیب حاوی ۴-متیل بنزیل) با انژرژی



شکل ۲- بررسی رزیدوهای (آمینواسیدهای) در گیر در تشکیل پیوند آنزیم با ترکیب شماره ۹ توسط نرم افزار مولگرو (MVD): همان طور که در شکل مشخص است این ترکیب با آمینواسیدهای $\text{Glu}^{۲۰۲}$, $\text{Gly}^{۱۲۰}$, $\text{Tyr}^{۱۳۳}$, $\text{Trp}^{۸۶}$, $\text{His}^{۴۴۷}$, $\text{Trp}^{۴۴۷}$, $\text{Tyr}^{۳۳۷}$, $\text{Gly}^{۱۲۰}$, $\text{Glu}^{۲۰۲}$, $\text{Tyr}^{۴۴۹}$ در تشکیل پیوند هیدرووفوبی (خطچین قمزرنگ) شرکت می کند.



شکل ۳-۳- بررسی آمینواسیدهای درگیر در تشکیل پیوند هیدروژنی (خطچین سبزرنگ) و هیدروفوبی (Lig plot) ترکیب مرجع پرالیدوکسیم با گیرنده توسط نرم افزار Lig plot

هیدروژنی را نشان می‌دهند (شکل ۲).

نتایج داکینگ مولکولی ترکیب مرجع پرالیدوکسیم با آنزیم استیل کولین استراز انسانی نشان داد که گروه هیدروکسیل موجود، با آمینواسیدهای ۳۳۱ Val و ۳۳۲ Lys در برهم کشی

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



آنها اشاره نمود. یک فرآیند استاندارد به منظور یافتن ترکیبات فعال در برابر یک هدف زیستی شناخته شده، آزمایش هزاران یا میلیون ها مولکول کوچک (لیگاندها) است. اگرچه این روش بسیار مفید است اما به امکانات آزمایشگاهی بسیار، همچنین صرف مدت زمان زیادی نیاز دارد. شبیه سازی اتصال مولکولی یک برنامه کامپیوتری است که می تواند جایگزین روش ذکر شده گردد (۱۸). امروزه روش های کامپیوتری که مولکول های کوچک را در ساختار مولکول هدف پروتئینی داک می کنند و به میزان جفت شدن لیگاند با سایت فعل شناخته شده امتیاز می دهند، در معرفی و بهینه کردن ترکیبات رهبر مشهور شده اند (۱۹). با این برنامه کنفورمر صحیح لیگاند و گیرنده تعیین می شود. اتصال گیرنده به یک مولکول کوچک، فرآیند ساده ای نیست،

هیدروژنی شرکت می کند. همچنین با آمینواسیدهای Arg ۵۲۵ Val ۴۲۹ Leu ۵۲۴ Val ۴۰۸ Glu ۳۳۴ Tyr ۵۱۰. نتایج مرتبه به پیش بینی خطر سمیت ترکیبات طراحی شده نشان داد که ترکیبات شماره ۱ و ۳ و ۴ دارای خطرات سمیت جهش زا می باشند. نتایج مرتبه 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 فعل آنزیم و برهمکنش های موجود پرداخته شده و نسبت به خواص فارماکوکینتیک (جذب، پخش، سمیت) مطالعه ای صورت نگرفته است نتایج حاصل از این مطالعه دستاوردهای جدیدی است.

جدول ۳- نتایج ارزیابی خطر سمیت لیگاندهای طراحی شده با ترکیب مرجع توسط مروگر OSIRIS

امتیاز دارو	همانندی 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
۰/۵۲	-۲/۱۵	۱۷۹/۲۴	-۱/۸۴	-۲	Mutagenic	۳
۰/۴۸	-۴/۱۳	۱۹۳/۲۶	-۲/۱۱	-۱/۵۵	Mutagenic	۴
۰/۵۲	-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 اکتاونول / آب

همانندی دارویی: پتانسیل یک مولکول شیمیایی برای تبدیل شدن به مولکولی با خاصیت دارویی است.

امتیاز دارو: ترکیبی از همانندی دارویی، LogS، وزن مولکولی و خطرات سمیت است.

بحث

چندین فاکتور آنتالپیک و آنتروپیک برهم کنش بین آنها را تحت تأثیر قرار می دهند. تولید مجموعه‌ی جامعی از کنفورمرهای دارند. از آن جمله می توان به معرفی ترکیبات رهبر و بهینه کردن

روش های کامپیوتری نقش به سزایی در فرآیند اکتشاف دارو دارند. این جمله می توان به سزایی در فرآیند اکتشاف دارو



داد که ترکیبات شماره ۱ و ۲ و ۳ و ۵ و ۶ و ۱۰ 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 ۲ 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 پرالیدوکسیم 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 پرالیدوکسیم متصل به زنجیره‌های جانبی مانند حلقه‌های هتروسیکل به عنوان کاندیدهای فعال‌کننده مجدد آنزیم استیل کولین استراز انسانی مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت.

تشکر و قدردانی

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

تعارض منافع

نویسنده‌گان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

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, Seenaiah 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.

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 تریپتوфан، 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 قابل ملاحظه‌ای میان گروه‌های الکترون کشنه و الکترون دهنده که روی حلقه فنیل قرار می‌گیرند وجود ندارد که این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه داکینگ مولکولی مشتق‌ات جدید اکسیمی به عنوان فعل کننده 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 بدست‌آمده از مطالعه حاضرمی‌توان نتیجه گرفت که ترکیب شماره ۹ (ترکیب حاوی ۴-متیل بنزیل) می‌تواند ضمن میان کنش با آمینواسیدهای مهم واقع در جایگاه فعل آنزیم استیل کولین استراز انسانی باعث فعل سازی مجدد آن شود. نتایج پیش‌بینی خطر سمیت ترکیبات طراحی شده نشان



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) (EAntidote 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- phatic 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>