

طراحی و ارزیابی بازدارنده‌های موثر جدید پذیرنده‌های کیناز جفت شده با پروتئین‌های G با استفاده از روش‌های غربالگری مجازی

سعید عظیمی⁺، لیلا حیدری

گروه شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

چکیده: آنزیم‌های پروتئین کیناز جفت شده با پذیرنده‌های پروتئینی نوع G جزو موثرترین آنزیم‌ها در بروز و ظهور چند بیماری مهم مانند بیماری‌های قلبی عروقی، فشارخون بالا و آلزایمر هستند. یکی از این آنزیم‌ها پروتئینی با کد اختصاصی 3V5W در بانک اطلاعاتی پروتئین‌ها است. مطالعه *in silico* بر روی برهمکنش لیگاندهای مختلف بازدارنده بر این آنزیم صورت گرفت. با استفاده از غربالگری مولکولی با روش شبیه سازی داکینگ مولکولی نتایج برهمکنش‌های لیگاندهای بازدارنده انتخاب شده و پروتئین هدف با محاسبه مواردی مانند انرژی اتصال لیگاندها با پروتئین هدف، بررسی برهمکنش‌های غیرپیوندی لیگاندها در جایگاه فعال آنزیم و تحلیل نتایج امتیازدهی داکینگ مولکولی انجام و با نتایج لیگاندهای بازدارنده استاندارد (پاروکستین) مقایسه شد. همچنین برای ارزیابی بهتر و انتخاب مناسب تر از میان لیگاندهای با امتیاز داکینگ بهتر خواص وابسته به جذب، توزیع، متابولیسم، دفع و سمیت (ADMET) لیگاندهای برگزیده و پاروکستین بعنوان بازدارنده استاندارد با استفاده از پلتفرم دیتا سرور ADMETLab 2.0 انجام شد. در نتیجه ترکیب (5S، 4R) -5- (3 و 1) - بنزودی اوکسول -5- ایل اوکسی متیل) -4- (4- فلوروفنیل) پی پیریدین -2- اون) به عنوان لیگاندهای بازدارنده جدید با پتانسیل عملکرد بهتر، مقدار قدرمطلق انرژی اتصال بزرگتر و خواص فارماکوکینتیکی مناسب تر معرفی گردید.

کلمات کلیدی: شبیه سازی داکینگ مولکولی، بازدارنده جدید پروتئین کیناز، غربالگری مولکولی، پاروکستین، خواص فارماکوکینتیکی

KEYWORDS: Molecular docking simulation, Novel inhibitor of protein kinase, Molecular screening, Paroxetine, Pharmacokinetic properties.

مقدمه

یا گوانوزین تری فسفات^۲ و افزودن آن بر دنباله‌های پروتئینی دارای اسید آمینه‌های سرین، ترئونین، تیروزین و هیستیدین انجام می‌دهند. کینازها بر اساس سوبسترا یا ماده اولیه واکنش آنزیمی به سه دسته کینازهای پروتئینی، کینازهای لیپید و کینازهای قند تقسیم می‌گردند.

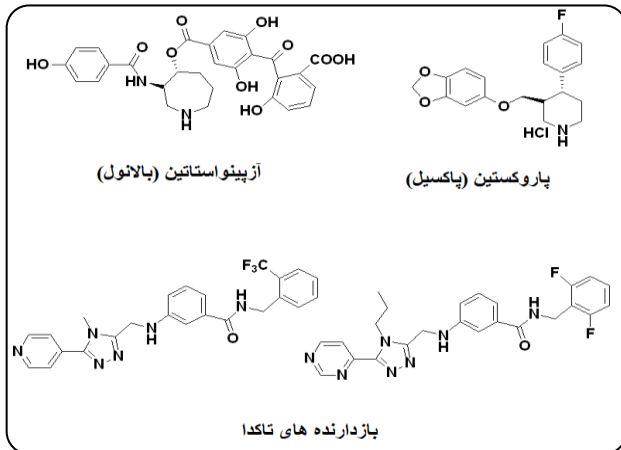
آنزیم‌های کیناز یکی از اصلی ترین و مهمترین گروه‌های بزرگ یا ابرخانواده‌های آنزیمی هستند. مکانیسم عمل اصلی این آنزیم‌ها کاتالیز کردن واکنش فسفریله کردن سوبستراهای خاص است [۱-۳]. بطور کلی این عمل را با گرفتن یک واحد فسفات از آدنوزین تری فسفات^۱

+E-mail: s_azimi@pnu.ac.ir

* عهده‌دار مکاتبات

(۱) ATP

(۲) GTP



شکل ۱- ساختار مولکولی چند بازدارنده پروتئین کیناز جفت شده با پروتئین‌های G

داشته باشند. به همین دلیل مطالعات طراحی دارو بر روی این هدف درمانی همچنان مهم و مورد نیاز است [۱۹].

در این کار با استفاده از رویکرد *In silico* با استفاده از فنون غربالگری مجازی و استفاده از بانک‌های اطلاعات پروتئین و لیگاند و سایر پلتفرم‌های نرم افزاری تخصصی اقدام به شناسایی لیگاند‌های جدیدی با عملکرد بازدارندگی قابل رقابت و بالاتر از بازدارنده استاندارد مورد استفاده شده است. در نهایت دو مورد از لیگاند‌هایی با قدرت بازدارندگی بهتر معرفی شده‌اند و ارزیابی خواص وابسته به فاکتورهای جذب، توزیع، متابولیسم، حذف و سمیت مولکولی برای لیگاند‌های مورد استفاده صورت گرفته است.

بخش تجربی

مواد و روش‌ها و نرم افزارهای مورد استفاده

ساختار سه بعدی و فایل بلورسنجی پراش اشعه ایکس مربوط به پروتئین هدف مولکولی درمانی از وب گاه بانک اطلاعات پروتئین اخذ گردید. (کد PDB پروتئین 3v5w) از این ساختار بعنوان هدف غربالگری مولکولی و پذیرنده داکینگ مولکولی استفاده گردید (<http://www.rcsb.org/pdb>; pdb code: 3v5w) ساختارهای دوبعدی و سه بعدی لیگاند‌های طراحی شده همگی از بانک اطلاعات ساختارهای مولکولی PubChem بعنوان دیتابانک شیمی منبع آزاد متعلق به انستیتوی ملی سلامت دریافت شد [۲۰]. از پلتفرم نرم افزاری PyRx بعنوان نرم افزار غربالگری مجازی که در طراحی محاسباتی دارو به کار می‌رود، استفاده شد. پلتفرم نرم افزاری PyRx از نرم افزارهای منبع باز

کینازهای لیپید تبدیل گلیسرول به گلیسرول ۳-فسفات را کاتالیز می‌نمایند. همچنین کینازهای قند فرایند هگزوکیناز یعنی تبدیل گلوکز به گلوکز-۶-فسفات را کاتالیز می‌کنند. اما در میان انواع کینازهای پروتئین، پروتئین کیناز اختصاصی سرین/ترونین^۱ و نیز پروتئین کینازهای جفت شده با انواع پذیرنده‌های پروتئینی نوع G موثرترین آنزیم‌ها در بروز و ظهور چند بیماری مهم هستند [۴-۶]. تنظیم یا ناتنظیمی این آنزیم‌ها می‌تواند باعث بیماری‌های قلبی عروقی، فشار خون بالا و گاهی بروز اختلال‌های شناختی مانند بیماری آلزایمر گردد. بنابراین شناخت مکانیسم و نحوه عملکرد این آنزیم‌ها برای دسترسی به مولکول‌های بازدارنده موثری که بتوانند با اتصال به ساختار آنزیم نقش بازدارندگی آنزیم و در نتیجه بازدارندگی بروز بیماری را سبب شوند، بسیار ضروری است. از میان روش‌ها و رویکردهای نوین طراحی موادموثره دارویی که مشخصاً برای آنزیم‌های کیناز جفت شونده با پروتئین‌های خانواده G در سطح سلول طراحی و سنتز میشوند، رویکردهای غربالگری مجازی^۲ به عنوان یکی از روش‌های بر پایه محاسبات در یافتن مولکول‌های بازدارنده آنزیم‌های هدف بسیار مورد توجه قرار گرفته اند [۷-۱۴]. تحقیقات مهمی در زمینه شناخت ساختار و عملکرد پذیرنده‌های کیناز سطحی غشا سلولی که از نوع جفت شده با پروتئین‌های خانواده G هستند انجام شده تا برای راهیابی به مولکول‌های بازدارنده موثر مورد استفاده قرار گیرند [۶، ۱۵، ۱۶]. از میان مولکول‌های بازدارنده که عملکرد موثری در بازدارندگی پروتئین کینازهای جفت شده با پروتئین‌های خانواده G دارند میتوان به بازدارنده بالانول^۳ و بازدارنده‌های تاکادا^۴ و پاکسیل^۵ اشاره کرد. این بازدارنده‌ها هم اکنون مراحل تحقیقات نهایی برای ورود گسترده به بازار دارویی را طی کرده اند [۵، ۱۷، ۱۸]. در شکل ۱ ساختار مولکولی چند نمونه از بازدارنده‌های مورد استفاده که مراحل کلینیکی و آزمون‌های مربوطه را گذرانده‌اند و هم اکنون به عنوان دارو تجویز می‌شوند نمایش داده شده است. یکی از اهداف مولکولی مناسبی که اخیراً مورد توجه محققین این حوزه قرار گرفته است پذیرنده کیناز نوع ۲ جفت شده با پروتئین G است^۶ که بعنوان هدف درمانی برای برخی از بیماری‌های قلبی مورد استفاده قرار گرفته است [۵]. مطالعه بلورسنجی این پروتئین هدف در برهمکنش با لیگاند بازدارنده‌ای که مطالعات دقیق روی آن صورت گرفته نشان می‌دهد که پیچیدگی‌هایی که در ساختار جایگاه فعال اصلی دیده می‌شود باعث شده تا حتی بازدارنده‌های مناسبی مانند پاروکستین^۷ هم عملکرد بازدارندگی نسبی

(۱) Serine Threonine kinas (STK)

(۳) Balanol

(۵) Paxil

(۷) Paroxetine

(۲) Virtual Screening

(۴) Takada Inhibitors

(۶) G protein-coupled receptor kinase 2 (GRK2)



شکل ۲- ساختار بلوری شده برهمکنش پروتئین 3v5w و لیگاند بازدارنده پاروکستین (بانک اطلاعات پروتئین با شناسه PDB : 3v5w باز تولید شده با پلتفرم Chimera 1.8.1)

انتخاب لیگاندهای مناسب برای برهمکنش بازدارندگی روی پروتئین

بعد از مطالعه جایگاه فعال و سایر حفره‌های پروتئین هدف، ساختار لیگاند بازدارنده اصلی یعنی مولکول پاروکستین مورد بررسی دقیق قرار گرفت. با استفاده از الگوریتم شباهت یابی تانیموتو^۳ در دیتا سرور PubChem مولکول‌های با حداقل شباهت ۹۷ درصد به ساختار بازدارنده اصلی انتخاب شدند. معیار انتخاب توجه به الگوریتم تانیموتو و شباهت ساختاری به بخش موثر دارویی مولکول پاروکستین بوده است [23]. در نتیجه ۱۰ مولکول انتخاب شد و این مولکولها بعنوان لیگاندهای پیشنهادی مورد بررسی و غربالگری مولکولی مجازی به روش شبیه سازی داکینگ مولکولی قرار گرفتند. ساختار مولکولی لیگاندها و مشخصات آنها به همراه کدشناسایی مولکولی در دیتا سرور PubChem و مشخصات ساختار پاروکستین جهت مقایسه در جدول ۱ نشان داده شده است.

فرایند شبیه سازی داکینگ مولکولی

بعد از آماده سازی پروتئین هدف و لیگاندها، شبیه سازی داکینگ مولکولی با استفاده از پلتفرم PyRx بعنوان یک پلتفرم غربالگری مجازی و محاسباتی برای کشف دارو انجام شد. ساختار تمام مولکول‌های لیگاند بوسیله نرم افزارهای مجموعه ChemDraw و ChemSketch ACD lab بررسی مجدد گردید. سپس پروسه داکینگ مولکولی با لیگاندهای L1 تا L10 و مولکول پاروکستین بعنوان بازدارنده استاندارد بر روی مولکول پروتئین هدف انجام شد. نتایج و داده‌های تحلیلی بدست آمد. خلاصه نتایج بدست آمده در جدول ۲ نمایش داده شده است.

متنوعی همچون AutoDock Tools، AutoDock Vina، AutoDock برای ساختن فایل‌های ورودی داکینگ مولکولی و از نرم افزار برنامه نویسی پایتون^۱ برای زبان اسکریپت نویسی^۲ استفاده می‌کند. برای تبدیل فرمت‌های مختلف مولکول‌های شیمیایی از نرم افزار جامع OpenBabel استفاده شده است. همچنین در بستر نرم افزاری PyRx از این نرم افزار برای بهینه سازی و بدست آوردن کمینه مقدار انرژی مولکول‌ها استفاده شده است [۲۱، ۲۲].

آماده سازی مولکول پروتئین هدف

مراحل آماده سازی مولکول پروتئین بعنوان هدف مولکولی با استفاده از پلتفرم نرم افزاری کایمرا انجام شد. پس از دریافت فایل اطلاعات بلورسنگی پراش اشعه X مربوط به پروتئین هدف با کد 3v5w در بانک اطلاعاتی پروتئین با رزولوشن 2.07 آنگستروم مطالعه کامل برهمکنش لیگاند اصلی و زنجیر پروتئینی صورت گرفت. در ابتدا موقعیت لیگاند پاروکستین و یون Mg^{2+} مورد مطالعه قرار گرفت. تمامی مولکول‌ها و اتم‌های غیر استاندارد شامل مولکول‌های آب، مولکول‌های احتمالی حلال، یون‌های فلزی بغیر از یون‌های کوفاکتور بوسیله نرم افزار حذف گردید سپس تمامی آمینو اسیدها، پیوندهای هیدروژنی و برهمکنش‌های غیر کووالانسی لیگاند-پروتئین در نظر گرفته شد.

شکل ۲ ساختار کمپلکس لیگاند پاروکستین و پروتئین هدف را نشان می‌دهد که با استفاده از پلتفرم نرم افزاری کایمرا ویرایش و بازتولید شده است.

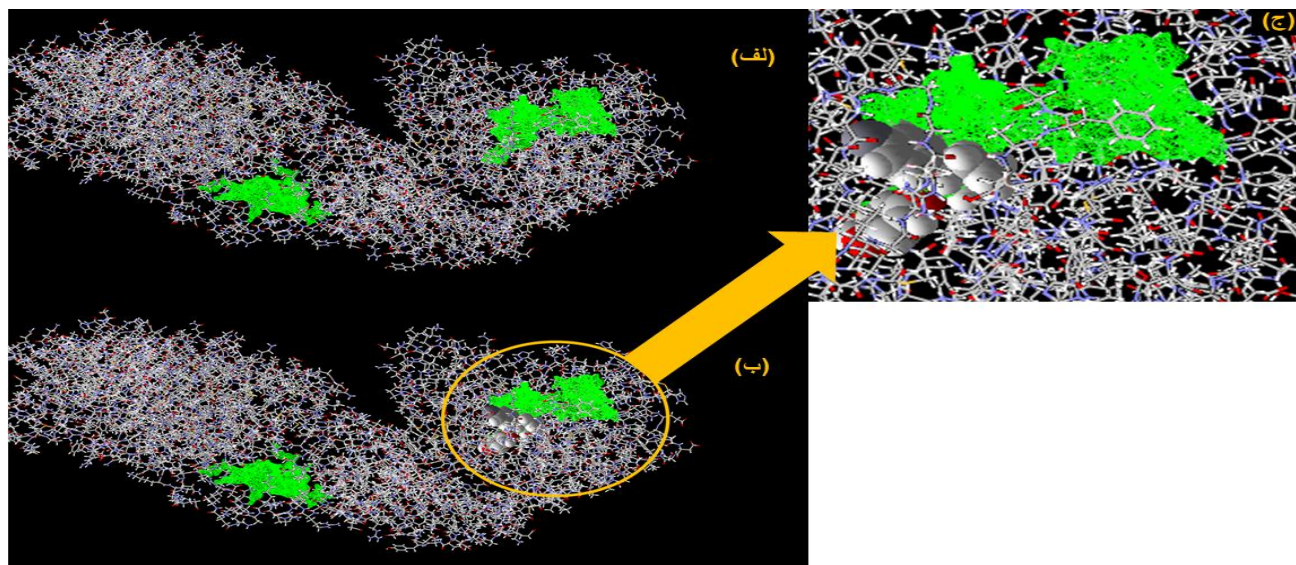
مشخص کردن جایگاه فعال آنزیم

برای مطالعه و ارزیابی برهمکنش لیگاندهای بازدارنده با پروتئین هدف بررسی جایگاه‌های فعال پروتئین که محل برهمکنش‌های اصلی لیگاند و آنزیم هستند ضروری است. از میان تمام حفره‌های ساختار سه بعدی پروتئین که توسط پلتفرم نرم افزاری MVD اسکن شده و شناسایی می‌گردند فقط آنهایی حائز اهمیت هستند که به لحاظ برهمکنش‌های الکترووالانسی خصوصاً تشکیل پیوندهای هیدروژنی و موقعیت هندسی و فضایی مناسب و گاهی اختصاصی برای قرارگیری لیگاند هستند. در شکل ۳ محل وجود حفره‌های فعال و همچنین جایگاه فعال اصلی و برهمکنش لیگاند پاروکستین و پروتئین بر روی ساختار سه بعدی آنزیم مشخص شده است.

(۱) Python

(۳) Tanimoto Scoring

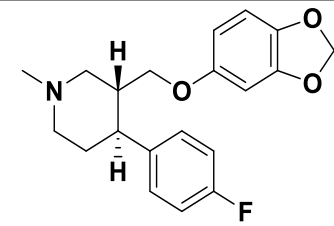
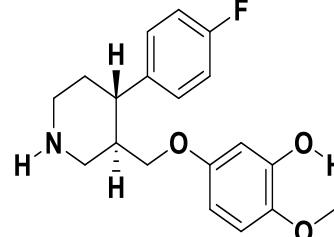
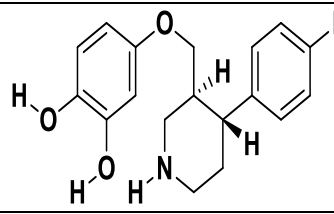
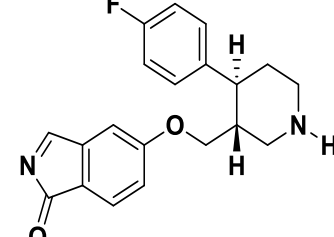
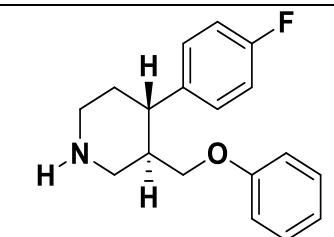
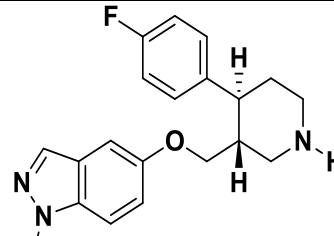
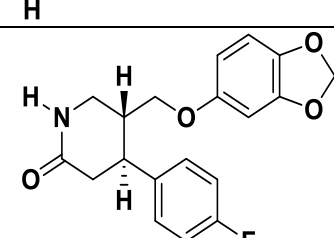
(۲) Scripting Language

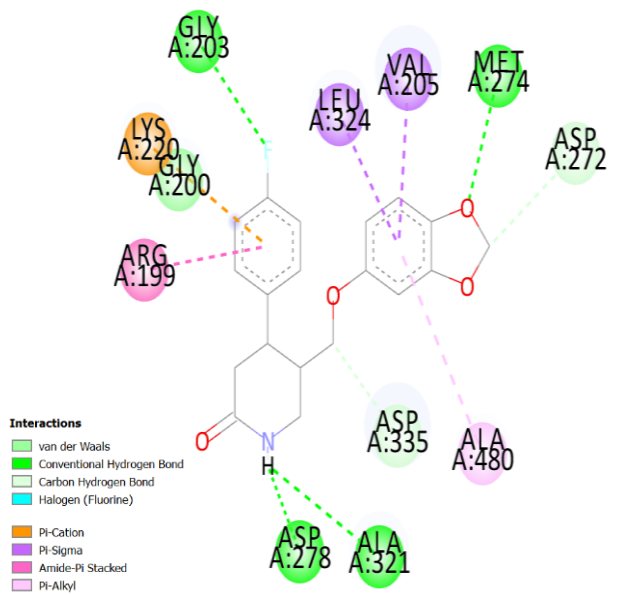


شکل ۳- جایگاه حفره‌های اصلی ساختار سه بعدی پروتئین 3v5w بازتولید شده با استفاده از نرم افزار *MVD*. (الف) مکان حفره‌های موجود بر روی ساختار آنزیم. (ب) جایگاه اصلی برهمکنش لیگاند- پروتئین نسبت به جایگاه‌های دیگر. (ج) لیگاند پاروکستین در جایگاه فعال آنزیم.

جدول ۱- ساختار شیمیایی نام آیوپاک و مشخصات ترکیبات به کار رفته بعنوان لیگاند.

لیگاند	کد اختصاصی در PubChem	نام آیوپاک	ساختار شیمیایی
paroxetine	۴۳۸۱۵	(3S,4R)-3-(1,3-benzodioxol-5-yloxymethyl)-4-(4-fluorophenyl) piperidine	
L۱	۱۲۷۵۵۹	(3S,4R)-4-(4-fluorophenyl)-3-[(4-methoxyphenoxy)methyl]piperidine	
L۲	۶۱۰۱۹۱۳	(3S,4R)-3-[(4-methoxyphenoxy)methyl]-1-methyl-4-phenylpiperidine	
L۳	۲۵۱۱۰۷۱۵	(3S,4R)-3-[(5-bromo-2-chlorophenoxy)methyl]-4-(4-fluorophenyl)piperidine	

L۴	۴۴۵۴۱۱۵۲	(3S,4R)-3-[(2,2-dideuterio-1,3-benzodioxol-5-yl)oxymethyl]-4-(4-fluorophenyl)-1-methylpiperidine	
L۵	۵۳۴۱۶۰۷۱	5-[[4-(4-fluorophenyl)piperidin-3-yl]methoxy]-2-methoxyphenol	
L۶	۵۹۲۱۵۱۸۲	4-[[[(3S,4R)-4-(4-fluorophenyl)piperidin-3-yl]methoxy]benzene-1,2-diol	
L۷	۷۳۷۰۶۱۱۰	5-[[[(3S,4R)-4-(4-fluorophenyl)piperidin-3-yl]methoxy]isoindol-1-one	
L۸	۷۷۸۵۸۷۴۰	4-(4-fluorophenyl)-3-(phenoxy)methylpiperidine	
L۹	۱۳۱۹۵۳۴۷	5-[[[(3S,4R)-4-(4-fluorophenyl)piperidin-3-yl]methoxy]-1H-indazole	
L۱۰	۱۳۴۹۴۳۱۵۱	(4R,5S)-5-(1,3-benzodioxol-5-yloxymethyl)-4-(4-fluorophenyl)piperidin-2-one	



شکل ۴- دیاگرام دوبعدی برهمکنشهای لیگاند L10 در جایگاه پروتئین هدف.

از نوع پیوند پی-کاتیون مابین لیزین ۲۲۰ و حلقه فلئوئوروبنزن لیگاند L10 وجود دارد سایر برهمکنشها در دیاگرام دوبعدی ارائه شده در شکل ۴ مشخص گردیده است. همچنین به منظور بررسی دقیقتر فضای سه بعدی جایگاه فعال و برهمکنشهای پاکت جایگاه فعال با لیگاند برگزیده شده با بالاترین امتیاز انرژی اتصال بعنوان بازدارنده برتر با استفاده از پلتفرم Discovery studio Client میزان سطح قابل دسترس حلال^۳ بر حسب \AA^2 (آنگستروم مربع) استخراج گردید. همچنین نقشه سطح جایگاه فعال پروتئین از نظر تشکیل انواع پیوندهای هیدروژنی مستخرج گردید. در شکل ۵-الف میزان سطح قابل دسترس حلال با در نظر گرفتن آب بعنوان حلال محاسبه شده و با راهنمای رنگی تصویر شده است. در این شکل بخشهای قابل دسترس تر توسط حلال با رنگهای آبی مشخص شدهاند و بخشهای غیرقابل دسترس تر توسط حلال با رنگهای سبز تصویر شده اند. بعلاوه در شکل ۵-ب نقشه نقاط مختلف پاکت جایگاه فعال از نظر تشکیل پیوندهای هیدروژنی با لیگاند بازدارنده نشان داده شده است. بخشهای سبزرنگ ناحیههای هستند که جایگاه فعال پذیرنده (پروتئین هدف) دهنده پیوند هیدروژنی است و بخشهای بنفش رنگ ناحیههایی هستند که از نظر نوع اسید آمینههای آن دارای گروههای دهنده پیوند هیدروژنی هستند.

جدول ۲. خلاصه نتایج بدست آمده داکینگ مولکولی. شماره پوز لیگاند، انرژی اتصال^۱ و مقادیر کرانه بالا و پایین انحراف مربع ریشه میانگین^۲.

Entry	Ligand	Binding Affinity	RMSD (Upper Bound/ Lower Bound)
۱	L10	-۱۰/۸	۰/۰
۲	paroxetine	-۹/۸	۰/۰
۳	L9	-۹/۵	۰/۰
۴	L8	-۹/۴	۰/۰
۵	L1	-۹/۱	۰/۰
۶	L6	-۹/۱	۰/۰
۷	L2	-۸/۱	۰/۰
۸	L5	-۸/۱	۰/۰
۹	L7	-۷/۷	۰/۰
۱۰	L3	-۷/۴	۰/۰
۱۱	L4	-۷/۱	۰/۰

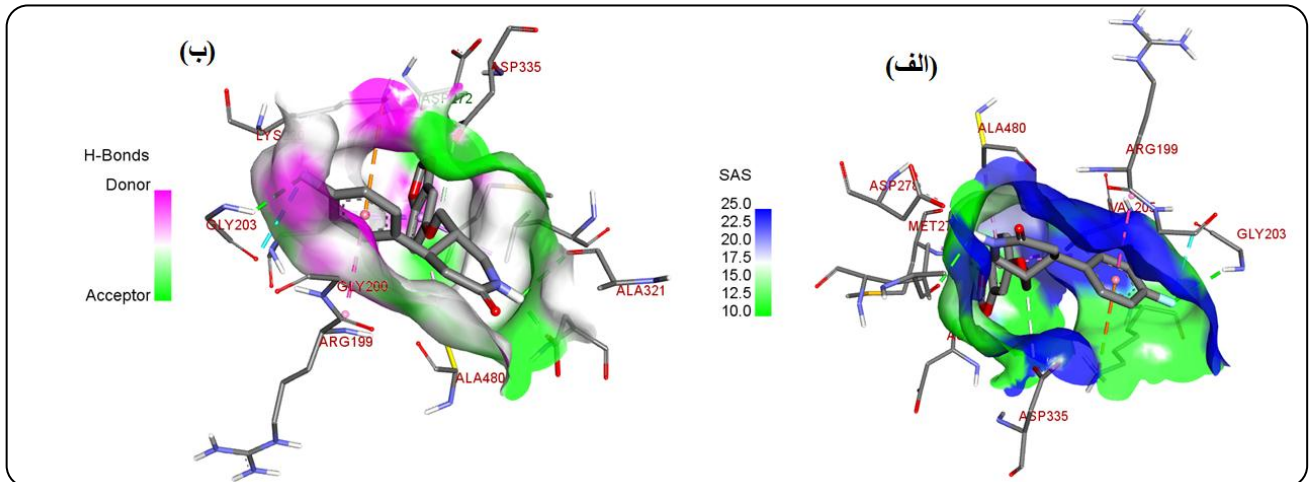
نتایج شبیه سازی داکینگ مولکولی نشان داد که ترکیب L10 (جدول ۲ مدخل ۱) دارای بهترین امتیاز داکینگ و بیشترین مقدار قدر مطلق انرژی اتصال نسبت به سایر لیگاندها و ترکیب پاروکستین را دارا می باشد. همچنین لیگاندهای L8 و L9 هم با اختلاف کمی در مقدار انرژی اتصال قابل مقایسه و رقابت با پاروکستین بعنوان بازدارنده استاندارد هستند. مقادیر برخی از لیگاندها به مقدار انرژی اتصال پاروکستین نزدیک است اما بهترین مقدار و بالاترین مقدار قدر مطلق انرژی اتصال نسبت به بازدارنده استاندارد مربوط به ترکیب L10 می باشد. بنابراین ترکیب (4R,5S)-5-(1,3-benzodioxol-5-yloxymethyl)-4-(4-(4-fluorophenyl)piperidin-2-one بهترین ترکیب پیشنهادی بازدارنده پروتئین 3v5w بعنوان پروتئین آزیم هدف درمانی در بیماریهای قلبی عروقی معرفی می گردد. با توجه به نتایج انرژی اتصال بدست آمده دیاگرام دو بعدی برهمکنشهای مختلف غیر پیوندی ترکیب L10 در جایگاه فعال پروتئین هدف استخراج گردید. شکل ۴ انواع برهمکنشهای مذکور را نمایش می دهد.

همانطور که در شکل ۴ مشخص است برهمکنشهای وان دروالسی بین گلایسین ۲۰۰ و اسپارژین ۲۷۲ با لیگاند L10 برقرار است. همچنین برهمکنشهایی از نوع پیوندهای هیدروژنی قراردادی (کلاسیک) بین لیگاند L10 و آمینواسیدهای اسپارژیل ۲۷۸، آلانین ۳۲۱، متیونین ۲۷۴ و گلایسین ۲۰۳ وجود دارد. برهمکنشهایی

(۱) Binding Affinity

(۳) Solvent Accessibility Surface (SAS)

(۲) Root Mean Square Deviation



شکل ۵- نمای نزدیک از جایگاه فعال پروتئین هدف. (الف) سطح قابل دسترس حلال آبی (ب) نقشه قابلیت تشکیل پیوندهای هیدروژنی جایگاه فعال در برهمکنش با لیگاند بازدارنده.

بهتر بوده و قابل رقابت است. همچنین مقادیر مربوط به لیگاندهای منتخب در مرتبه‌های بعدی یعنی L9 و L8 نشان می‌دهد که از نظر فاکتورهای وابسته به جذب دارو ترکیب L8 بازدارنده مناسب‌تری نسبت به L9 و قابل مقایسه و رقابت با پاروکستین است. در اندازه گیری فاکتورهای مربوط به خاصیت توزیع دارو در بدن هرچه میزان اتصال به پروتئین‌های پلاسما نزدیک به ۹۰ درصد یا کمتر از آن باشد ترکیب مورد نظر به لحاظ توزیع دارویی ترکیب مناسب‌تری است. با توجه به این موضوع از میان سه لیگاند منتخب و پاروکستین بهترین نتیجه مربوط به لیگاند L9 است. ترکیبات L8 و L10 نتایج قابل مقایسه و رقابتی با پاروکستین دارند. در فاکتور مرتبط با نفوذ به سد خونی مغز پاروکستین نتیجه بهتری نسبت به L9 و L10 و نتیجه ضعیف‌تری نسبت به L8 دارد. در طبقه خواص مربوط به متابولیسم بازدارندگی آنزیم‌های مختلف کبدی مورد مطالعه قرار می‌گیرد از میان آنها دو فاکتور مهار آنزیم CYP1A2 و مهارشدن توسط آنزیم CYP1A2 مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که از داده‌های جدول ۳ مشخص است نتایج میزان بازدارندگی آنزیم‌های مذکور برای ترکیبات پاروکستین و L10 بسیار نزدیک و قابل رقابت است. به همین صورت فاکتورهای مربوط به دفع و سمیت دارو نیز تا حد زیادی شباهت بین لیگاند L10 و با دارنده استاندارد پاروکستین را تایید می‌کنند. در نتیجه از پیش بینی خواص وابسته به فاکتورهای جذب، توزیع، متابولیسم، دفع و سمیت لیگاند L10 بهترین و مناسب‌ترین بازدارنده پروتئین هدف می باشد.

پیشینی و ارزیابی خواص وابسته به جذب، توزیع، متابولیسم، دفع و سمیت^۵ لیگاندهای بازدارنده

به منظور ارزیابی بیشتر و انتخاب بهترین بازدارنده از بین لیگاندهایی که دارای امتیاز داکینگ مولکولی بهتر و انرژی اتصال با قدرمطلق بالاتر بودند ارزیابی و پیشینی خواص وابسته به جذب، توزیع، متابولیسم، دفع و سمیت (ADMET) لیگاندهای برگزیده و پاروکستین بعنوان بازدارنده استاندارد با استفاده از پلتفرم دیتا سرور ADMETLab 2.0 انجام شد [۲۴، ۲۵]. این ارزیابی‌ها بر مبنای الگوهای پیشرفته پیشینی بر اساس چارچوب گراف چند دستوره با عملکرد بالا صورت گرفت. خلاصه نتایج مقادیر پیشینی شده برای لیگاندهای برگزیده بخش داکینگ مولکولی و مولکول پاروکستین جهت مقایسه در جدول ۳ نمایش داده شده است.

پارامترهای فارماکوکینتیکی نقش مهمی در میزان تاثیر پاسخ زیستی به مولکول‌های دارویی دارند. بنابراین مقادیر برخی از فاکتورهای مهم فیزیکی-شیمیایی و جذب، توزیع، متابولیسم، دفع و سمیت بمنظور مقایسه بین داروی پاروکستین بعنوان بازدارنده استاندارد و لیگاندهای منتخب با استفاده از سرور ADMETLab 2.0 پیش بینی گردید. فاکتورهای مربوط به خواص فیزیکی-شیمیایی مربوط به پاروکستین و لیگاند L10 کم و بیش نتایج یکسان و هم اندازه‌ای را نشان می‌دهند. در فرایند جذب دو تا از فاکتورهای مهم قابل پیش بینی Pgp-substance و Pgp-inhibitor هستند. مقدار بدست آمده برای لیگاند L10 نسبت به مقدار مربوط به پاروکستین

- (۱) Absorption
(۳) Metabolism
(۵) Toxicity

- (۲) Distribution
(۴) Excretion
(۶) high-quality prediction models trained by multi-task graph attention framework

جدول ۳- خلاصه نتایج ارزیابی بیولوژیکی از طریق پیش بینی خواص وابسته به جذب، توزیع، متابولیسم، دفع و سمیت (ADMET). مقایسه بین پاروکستین و لیگاندهای منتخب.

مقادیر پیش بینی شده برای لیگاندها				فاکتورپیش بینی شده	طبقه بندی خواص
L۸	L۹	L۱۰	پاروکستین		
-۳/۷۴۴	-۳/۶۸۳	-۴/۲۸۵	-۴/۲۳۴	logS	خواص فیزیکی-شیمیایی
۳/۸۲۷	۳/۶۶۷	۳/۱۲۴	۳/۷۲۳	logP	
۳/۴۵۱	۳/۲۱۳	۳/۱۸۹	۳/۱۱۵	logD	
-۰/۹۵۸	-۰/۷۷۴	-۰/۹۹۹	-۰/۹۹۸	Pgp-Inhibitor	جذب
-۰/۰۰۶	-۰/۰۱۷	۰	-۰/۰۰۳	Pgp-Substance	
۹۴/۸۲	۹۰/۱۹	۹۹/۰۹	۹۵/۶۹	درصد اتصال به پروتئینهای پلاسما ^۱	توزیع
-۰/۹۰۷	-۰/۶۸۳	-۰/۴۶۱	-۰/۸۸۲	نفوذ به سد خونی مغز ^۲	
-۰/۵۰۶	-۰/۹۲۴	-۰/۹۰۲	-۰/۹۳	مهار آنزیم CYP1A2	متابولیسم
-۰/۶۱۸	-۰/۹۲۷	-۰/۵۲۷	-۰/۳۶۶	مهار توسط آنزیم CYP1A2	
۱۳/۶۹۳	۱۳/۷۵۷	۱۸/۷۳۴	۱۹/۶۲۷	پاکسازی دارو ^۳	دفع
-۰/۰۳۹	-۰/۰۵۵	-۰/۰۹۳	-۰/۰۴۹	نیمه عمر دارو T _{1/2}	
-۰/۹۸۲	-۰/۹۵۹	-۰/۸۰۶	-۰/۹۸۵	hERG ^۴	سمیت
-۰/۷۲۸	-۰/۷۴۴	-۰/۶۵۶	-۰/۶۸۷	H-HT ^۵	

نتیجه گیری

از پلتفرم ADMETLab 2.0 انجام شد و لیگاندهای منتخب داکینگ مولکولی با داروی پاروکستین به عنوان بازدارنده استاندارد مقایسه گردید. نتایج بدست آمده نشان داد که ترکیب (4R,5S)-5-(1,3-benzodioxol-5-yloxymethyl)-4-(4-fluorophenyl)piperidin-2-on (جدول ۱ لیگاند L10) بهترین ترکیب بازدارنده است و نتایج داکینگ مولکولی و ارزیابی خواص ADMET نشان می‌دهد ترکیب مذکور می‌تواند بعنوان لیگاند بازدارنده موثرتری نسبت به موارد گزارش شده قبلی مورد استفاده قرار گیرد.

به منظور بررسی و ارزیابی ترکیبات جدید موثر در بازدارندگی آنزیم های مهم عامل بیماریهایی مانند بیماری های قلبی عروقی، فشارخون بالا و بیماری های اختلال شناختی مانند آلزایمر مطالعه in silico روی پذیرنده های جفت شونده با پروتئین های خانواده G صورت گرفت و پروتئین 3v5w بعنوان پروتئین هدف انتخاب گردید. ساختار کریستالوگرافی پراش اشعه x از بانک اطلاعات پروتئین دریافت شد. با استفاده از روش های غربالگری مولکولی مطالعه بمنظور یافتن لیگاندهای موثر تر در بازدارندگی پروتئین هدف بررسی گردید. نتایج شبیه سازی داکینگ مولکولی نشان داد که سه لیگاند L10، L9 و L8 رتبه بهتری در اتصال به پروتئین هدف و بازدارندگی آن دارند. بمنظور بررسی و ارزیابی بیشتر خواص وابسته به جذب، توزیع، متابولیسم، دفع و سمیت با استفاده

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۰۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۶

مراجع

- [1] Yan Y., Zhou X.E., Novick S.J., Shaw S.J., Li Y., Brunzelle J.S., Melcher K., Structures of AMP-Activated Protein Kinase Bound to Novel Pharmacological Activators in Phosphorylated, Non-Phosphorylated, and Nucleotide-Free States. *Journal of Biological Chemistry*, **294(3)**: 953-967 (2019).

(۱) Plasma Protein Binding (PPB%)

(۳) Clearance

(۵) Human hepatotoxicity

(۲) Blood Brain Barrier

(۴) human ether-a-go-go blockers

- [2] Rozpędek W., Pytel D., Nowak-Zduńczyk A., Lewko D., Wojtczak R., Diehl J.A., Majsterek, I., [Breaking the DNA Damage Response Via Serine/Threonine Kinase Inhibitors to Improve Cancer Treatment](#). *Current medicinal chemistry*, **26(8)**: 1425-1445 (2019).
- [3] Uitdehaag J.C., de Man J., Willemsen-Seegers N., Prinsen M.B., Libouban M.A., Sterrenburg J.G., Zaman G.J., [Target Residence Time-Guided Optimization on TTK Kinase Results in Inhibitors with Potent Anti-Proliferative Activity](#). *Journal of Molecular Biology*, **429(14)**: 2211-2230 (2017).
- [4] Guccione M., Ettari R., Taliani S., Da Settimo F., Zappalà M., Grasso S., [G-Protein-Coupled Receptor Kinase 2 \(GRK2\) Inhibitors: Current Trends and Future Perspectives](#). *Journal of medicinal chemistry*, **59(20)**: 9277-9294 (2016).
- [5] Thal D.M., Homan K.T., Chen J., Wu E.K., Hinkle P.M., Huang Z.M., Tesmer J.J., [Paroxetine is a Direct Inhibitor of G Protein-Coupled Receptor Kinase 2 and Increases Myocardial Contractility](#). *ACS chemical biology*, **7(11)**: 1830-1839 (2012).
- [6] Yao H., Uras G., Zhang P., Xu S., Yin Y., Liu J., Xu J., [Discovery of Novel Tacrine–Pyrimidone Hybrids as Potent Dual AChE/GSK-3 Inhibitors for the Treatment of Alzheimer’s Disease](#). *Journal of Medicinal Chemistry*, **64(11)**: 7483-7506 (2021).
- [7] Lian X., Xia Z., Li X., Karpov P., Jin H., Tetko I.V., Wu S., [Anti-MRSA Drug Discovery by Ligand-Based Virtual Screening and Biological Evaluation](#). *Bioorganic Chemistry*, **114**: 105042 (2021).
- [8] Mahdian S., Zarrabi M., Moini A., Shahhoseini M., Movahedi M., [In Silico Evidence for Prednisone and Progesterone Efficacy in Recurrent Implantation Failure Treatment](#). *Journal of Molecular Modeling*, **28(4)**: 105 (2022).
- [9] Glaab E., [Building a Virtual Ligand Screening Pipeline Using Free Software: A Survey](#). *Briefings in Bioinformatics*, **17(2)**: 352-366 (2016).
- [10] Azeez S., Babu R.O., Aykkal R., Narayanan, R., [Virtual Screening and in Vitro Assay of Potential Drug Like Inhibitors from Spices Against Glutathione-S-Transferase of Filarial Nematodes](#). *Journal of molecular modeling*, **18**: 151-163 (2012).
- [11] Mahdian S., Zarrabi M., Panahi Y., Dabbagh, S., [Repurposing FDA-Approved Drugs to Fight COVID-19 Using in Silico Methods: Targeting SARS-CoV-2 RdRp Enzyme and Host Cell Receptors \(ACE2, CD147\) Through Virtual Screening and Molecular Dynamic Simulations](#). *Informatics in medicine unlocked*, **23**: 100541 (2021).
- [12] Azmian Moghadam F., Kefayati H., Evazalipour M., Ghasemi S., Design, Synthesis, [Biological Evaluation, and Docking Study of Novel 4-Anilinoquinazolines Derivatives as Anticancer Agents](#), *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, **41**: 353-367 (2022).
- [13] Ibeji C.U., Oguejiofo U., Chukwuma Chime C., Akpomie K.G., Anarado C.J.O., Odewole O.A., Grishina M., Potemkin V., Dehydroacetic [Acid-Phenylhydrazone as a Potential Inhibitor for Wild-Type HIV-1 Protease: Structural, DFT, Molecular Dynamics, 3D QSAR and ADMET Characteristics](#), *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, **40**: 215-230 (2021).

- [14] Zuo K., Qian J., Gong J., Zhang J., Li H., Zhou G., [Synthesis, Characterization, Molecular Docking and Cytotoxicity Studies of Bagasse Xylem Ferulate-Acrylamide/Methyl Methacrylate Composite](#), *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, **38**: 107-116. (2019).
- [15] Liu Z., Liu Q., Zhang B., Liu Q., Fang L., Gou S., [Blood-Brain Barrier Permeable and No-Releasing Multifunctional Nanoparticles for Alzheimer's Disease Treatment: Targeting NO/cGMP/CREB Signaling Pathways](#). *Journal of Medicinal Chemistry*, **64(18)**: 13853-13872 (2021).
- [16] Roskoski Jr R., [Properties of FDA-Approved Small Molecule Protein Kinase Inhibitors: A 2021 Update](#). *Pharmacological research*, **165**: 105463 (2021).
- [17] Setyawan J., Koide K., Diller T.C., Bunnage M.E., Taylor S.S., Nicolaou K.C., Brunton L.L., [Inhibition of Protein Kinases by Balanol: Specificity Within the Serine/Threonine Protein Kinase Subfamily](#). *Molecular pharmacology*, **56(2)**: 370-376 (1999).
- [18] Thal D.M., Yeow R.Y., Schoenau C., Huber J., Tesmer J.J.G., [Molecular Mechanism of Selectivity among G Protein-Coupled Receptor Kinase 2 Inhibitors](#), *Molecular Pharmacology*, **80**: 294-303 (2011).
- [19] Homan K.T., Larimore K.M., Elkins J.M., Szklarz M., Knapp S., Tesmer J.J., [Identification and Structure-Function Analysis of Subfamily Selective G Protein-Coupled Receptor Kinase Inhibitors](#). *ACS chemical biology*, **10(1)**: 310-319 (2015).
- [20] Kim S., Chen J., Cheng T., Gindulyte A., He J., He S., Bolton E.E., [PubChem in 2021: New Data Content and Improved Web Interfaces](#). *Nucleic acids research*, **49(D1)**: D1388-D1395 (2021).
- [21] O'Boyle N.M., Banck M., James C.A., Morley C., Vandermeersch T., Hutchison G.R., [Open Babel: An Open Chemical Toolbox](#). *Journal of cheminformatics*, **3(1)**: 1-14 (2011).
- [22] Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S., Olson A.J., [AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility](#). *Journal of computational chemistry*, **30(16)**: 2785-2791 (2009).
- [23] Baldi P., Nasr R., [When is Chemical Similarity Significant? The Statistical Distribution of Chemical Similarity Scores and Its Extreme Values](#). *Journal of chemical information and modeling*, **50(7)**: 1205-1222 (2010).
- [24] Xiong G., Wu Z., Yi J., Fu L., Yang Z., Hsieh C., Cao D., [ADMETlab 2.0: an Integrated Online Platform for Accurate and Comprehensive Predictions of ADMET Properties](#). *Nucleic Acids Research*, **49(W1)**: W5-W14 (2021).
- [25] Dong J., Wang N.N., Yao Z.J., Zhang L., Cheng Y., Ouyang D., Cao D.S., [ADMETlab: a Platform for Systematic ADMET Evaluation Based on a Comprehensively Collected ADMET Database](#). *Journal of cheminformatics*, **10**: 1-11 (2018).
- [26] Azimi S., Mohammadi B., Babadoust S., Vessally E., [In Silico Study and Design of Some New Potent Threonine Tyrosine Kinase Inhibitors Using Molecular Docking Simulation](#). *Molecular Simulation*, **49(5)**: 517-524 (2023).