

صلى الله عليه وسلم



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده شیمی

روابط کمی ساختار-فعالیت (QSAR) بر مبنای ساختار پروتئین و استفاده از مدل سازی همسانی، داکینگ مولکولی و شبیه سازی دینامیک مولکولی طراحی داروهای جدید بر مبنای قطعات مولکولی (Fragment) با تاثیر همزمان بر پروتئین های استیل کولین استراز و آمین اکسیداز حساس به سمی کاربازید

رساله دکتری شیمی تجزیه

سجاد قرقانی

استاد راهنما

دکتر تقی خیامیان

اکنون که به لطف حق مراحل تحقیق به پایان رسیده، لازم می‌دانم مراتب سپاس قلبی خود را به تمامی بزرگواران و اساتیدی که مشوق و راهنمای من بوده‌اند تقدیم دارم.

با تشکر فراوان از استاد بزرگوار و ارجمندم جناب آقای دکتر خیامیان که همواره از راهنمایی و محبت‌های بی‌دریغ ایشان بهره‌مند گردیدم. بدینوسیله از زحمات و راهنمایی‌های بی‌شائبه ایشان که در حین مشغله زیاد علمی و اجرائی، اینجانب را به کرات و به گرمی پذیرا شده‌اند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از اساتید گرامی جناب آقای دکتر سراجی و جناب آقای دکتر جعفری که زحمت مشاوره این پایان‌نامه را به عهده داشتند کمال تشکر را دارم.

از اساتید محترم جناب آقای دکتر فاطمی، جناب آقای دکتر عبداللهی، جناب آقای دکتر انصافی و جناب آقای دکتر رضایی که زحمت مطالعه پایان‌نامه و شرکت در جلسه دفاع را تقبل نمودند، صمیمانه قدردانی و تشکر می‌نمایم.

کلیه حقوق مترتب بر نتایج مطالعات،  
ابتکارات و نوآوریهای ناشی از تحقیق  
موضوع این پایان نامه (رساله) متعلق به  
دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم به:

پدر بزرگوار

مادر مهربان

و همسر عزیزم

و به تمام آزاد مردانی که نیک می‌اندیشند و عقل و منطق را پیشه خود نموده و جز رضای الهی و پیشرفت و سعادت جامعه، هدفی ندارند.

## فهرست مطالب

| صفحه   | عنوان         |
|--------|---------------|
| هشت    | فهرست مطالب   |
| سیزده  | فهرست شکل ها  |
| پانزده | فهرست جدول ها |

## فصل اول: مقدمه

|       |   |
|-------|---|
| ۱-۱   | مقدمه   |
| ۲-۱   | کمو متریکس مولکولی  |
| ۱-۲-۱ | QSAR مبتنی بر لیگاند  |
| ۲-۲-۱ | QSAR مبتنی بر ساختار پروتئین  |
| ۳-۱   | اسید آمینه  |
| ۱-۳-۱ | پروتئین   |
| ۲-۳-۱ | ساختار پروتئین ها   |
| الف   | ساختار نوع اول پروتئین ها   |
| ب     | ساختار نوع دوم پروتئین ها   |
| ج     | ساختار نوع سوم پروتئین ها   |
| د     | ساختار نوع چهارم پروتئین ها   |
| ۴-۱   | مقدمه ای بر فعالیت های انجام شده در این رساله   |
| ۱-۴-۱ | اهمیت پیش بینی مهارکننده های CYP2A6   |
| ۲-۴-۱ | اهمیت پیش بینی داروهای آلزایمر  |
| الف   | گابا  |
| ب     | استیل کولین   |
| ۳-۴-۱ | اهمیت مطالعه برهمکنش آمودیاکین با سرم آلبومین انسانی  |
| ۴-۴-۱ | اهمیت بررسی مهارکننده های پی-گلیکوپروتئین   |
| ۵-۴-۱ | اهمیت طراحی داروهای جدید مبتنی بر قطعات مولکولی با تاثیر همزمان بر پروتئین های استیل کولین استراز و آمین اکسیداز حساس به سمی کاربازید |

## فصل دوم: روش های مورد استفاده

|       |                                 |
|-------|---------------------------------|
| ۱-۲   | اصول مدل سازی QSAR              |
| ۱-۱-۲ | جمع آوری و انتخاب سری داده ها   |
| ۲-۱-۲ | رسم و بهینه سازی ساختار ترکیبات |
| ۳-۱-۲ | محاسبه و انتخاب توصیف کننده ها  |

|    |   |
|----|---|
| ۱۹ | ۴-۱-۲ تجزیه و تحلیل و ارزیابی آماری توصیف کننده‌ها و انتخاب موثرترین آنها |
| ۲۱ | ۵-۱-۲ ایجاد مدل‌های آماری   |
| ۲۱ | الف) رگرسیون خطی چندگانه  |
| ۲۱ | ب) ماشین بردار پشتیبان  |
| ۲۷ | ۶-۱-۲ تجزیه و تحلیل و ارزیابی آماری مدل‌ها و انتخاب مناسب‌ترین مدل        |
| ۲۹ | ۲-۲ مدل‌سازی همسانی   |
| ۳۲ | ۳-۲ داکینگ مولکولی  |
| ۳۲ | ۱-۳-۲ انواع داکینگ مولکولی  |
| ۳۲ | ۲-۳-۲ کاربردهای داکینگ مولکولی  |
| ۳۳ | ۳-۳-۲ نرم افزارهای داکینگ مولکولی   |
| ۳۳ | الف) نرم افزار ArgusLab   |
| ۳۳ | ب) نرم افزار AutoDock   |
| ۳۴ | ج) نرم افزار AutoDock Vina  |
| ۳۵ | ۴-۲ الگوریتم BINANA   |
| ۳۶ | ۵-۲ شبیه سازی دینامیک مولکولی   |
| ۳۶ | ۱-۵-۲ مقدمه‌ای بر مبانی شبیه سازی دینامیک مولکولی                         |
| ۳۷ | ۲-۵-۲ دینامیک مولکولی   |
| ۳۷ | الف) شرایط اولیه  |
| ۳۷ | ب) میدان نیرو   |
| ۳۸ | ۳-۵-۲ حرکات پروتئین   |
| ۳۸ | ۴-۵-۲ نرم افزارهای شبیه سازی دینامیک مولکولی                              |
| ۳۹ | الف) نرم افزار NAMD   |
| ۳۹ | ب) نرم افزار GROMACS  |

### فصل سوم: بخش تجربی و نتایج

|    |   |
|----|---|
| ۴۰ | ۱-۳ مدل‌سازی QSAR بر پایه ساختار پروتئین، داکینگ مولکولی و شبیه سازی دینامیک مولکولی برای محاسبه فعالیت مهار کننده‌ی مشتقات بنزودیازپین |
| ۴۱ | ۱-۱-۳ سری داده‌ها   |
| ۴۳ | ۲-۱-۳ روش‌های مورد استفاده  |
| ۴۳ | ۳-۱-۳ نتایج   |
| ۴۳ | الف) مدل‌سازی همسانی  |
| ۴۴ | ب) ارزیابی مدل همسانی   |

|    |  |
|----|--|
| ۴۴ | ..... (ج) شبیه سازی دینامیک مولکولی  |
| ۴۷ | ..... (د) داکینگ مولکولی   |
| ۴۹ | ..... (ه) محاسبه و انتخاب توصیف کننده‌ها   |
| ۵۴ | ..... (ی) مدل‌های MLR و LS-SVR   |
| ۵۹ | ..... ۳-۱-۴ نتیجه گیری   |
|    | ۳-۲ مطالعه داکینگ مولکولی، شبیه سازی دینامیک مولکولی و مدل QSAR مبتنی بر ساختار پروتئین بر روی |
| ۵۹ | ..... مهار کننده‌های سیتو کروم P450 2A6  |
| ۶۰ | ..... ۳-۲-۱ روش‌های مورد استفاده   |
| ۶۰ | ..... الف) سری داده‌ها   |
| ۶۰ | ..... ب) شبیه سازی دینامیک مولکولی CYP2A6  |
| ۶۲ | ..... ج) داکینگ مولکولی  |
| ۶۳ | ..... (د) شبیه سازی دینامیک مولکولی کمپلکس CYP2A6-۲-برومونفتالن                                |
| ۶۳ | ..... (ه) محاسبه توصیف کننده‌ها  |
| ۶۳ | ..... ۳-۲-۲ نتایج  |
| ۶۳ | ..... الف) شبیه سازی دینامیک مولکولی CYP2A6  |
| ۶۴ | ..... ب) داکینگ مولکولی مهار کننده‌ها به CYP2A6  |
| ۶۶ | ..... ج) شبیه سازی دینامیک مولکولی کمپلکس CYP2A6-مهار کننده                                    |
| ۶۷ | ..... (د) محاسبه و انتخاب توصیف کننده‌ها   |
| ۷۰ | ..... (ه) مدل LS-SVR   |
| ۷۲ | ..... ۳-۲-۳ نتیجه گیری   |
|    | ۳-۳ مطالعات داکینگ مولکولی، شبیه سازی دینامیک مولکولی و مدل QSAR مبتنی بر ساختار بر            |
| ۷۲ | ..... مهار کننده‌های استیل کولین استراز با استفاده از توصیف کننده‌های داکینگ مولکولی           |
| ۷۳ | ..... ۳-۳-۱ روش‌های مورد استفاده   |
| ۷۳ | ..... الف) سری داده‌ها   |
| ۷۶ | ..... ب) شبیه سازی دینامیک مولکولی   |
| ۷۶ | ..... ج) داکینگ مولکولی  |
| ۷۷ | ..... (د) محاسبه توصیف کننده‌ها  |
| ۷۸ | ..... ۳-۳-۲ نتایج  |
| ۷۸ | ..... الف) شبیه سازی دینامیک مولکولی استیل کولین استراز  |
| ۷۸ | ..... ب) داکینگ مولکولی  |
| ۸۲ | ..... ج) شبیه سازی دینامیک مولکولی کمپلکس مهار کننده-استیل کولین استراز                        |



|     |  |
|-----|--|
| ۸۳  | ..... (د) محاسبه و انتخاب توصیف کننده‌ها   |
| ۸۳  | ..... (ه) مدل LS-SVR   |
| ۸۸  | ..... (ن) دامنه کاربرد   |
| ۸۹  | ..... ۳-۳-۳ نتیجه گیری   |
| ۸۹  | ..... ۴-۳ شبیه سازی دینامیک مولکولی و مطالعه برهمکنش آمودیاکین با آلبومین سرم انسانی               |
| ۹۰  | ..... ۱-۴-۳ روش‌های مورد استفاده   |
| ۹۱  | ..... ۲-۴-۳ نتایج  |
| ۹۱  | ..... الف) شبیه سازی دینامیک مولکولی HSA   |
| ۹۲  | ..... ب) داکینگ مولکولی  |
| ۹۳  | ..... ج) شبیه سازی دینامیک مولکولی کمپلکس آمودیاکین - HSA  |
| ۹۴  | ..... ۳-۴-۳ نتیجه گیری   |
|     | ..... ۵-۳ مطالعه برهمکنش مهار کننده‌های پی-گلیکوپروتئین با استفاده از داکینگ و شبیه سازی دینامیک   |
| ۹۴  | ..... مولکولی  |
| ۹۵  | ..... ۱-۵-۳ روش‌های مورد استفاده   |
| ۹۵  | ..... ۲-۵-۳ نتایج  |
| ۹۵  | ..... الف) مدل سازی همسانی   |
| ۹۶  | ..... ب) ارزیابی مدل همسانی  |
| ۹۹  | ..... ج) شبیه سازی دینامیک مولکولی پی-گلیکوپروتئین   |
| ۱۰۲ | ..... د) شبیه سازی دینامیک مولکولی CYP3A4  |
| ۱۰۳ | ..... ه) داکینگ مولکولی  |
| ۱۰۴ | ..... ۳-۵-۳ نتیجه گیری   |
|     | ..... ۶-۳ طراحی داروی موثر بر AChE و SSAO/VAP-1 با استفاده از قطعات مولکولی بر پایه ساختار پروتئین |
| ۱۰۶ | .....  |
| ۱۰۷ | ..... ۱-۶-۳ روش‌های مورد استفاده   |
| ۱۰۷ | ..... الف) شبیه سازی دینامیک مولکولی   |
| ۱۰۷ | ..... ب) انتخاب مهار کننده‌ها  |
| ۱۰۸ | ..... ج) داکینگ مولکولی  |
| ۱۰۸ | ..... ۲-۶-۳ نتایج  |
| ۱۰۸ | ..... الف) شبیه سازی دینامیک مولکولی استیل کولین استراز  |
| ۱۰۸ | ..... ب) شبیه سازی دینامیک مولکولی SSAO/VAP-1  |
| ۱۱۰ | ..... ج) ایجاد قطعات مولکولی   |

۱۱۳..... ۳-۶-۳ نتیجه گیری

### فصل چهارم: نتیجه گیری و آینده نگری

۱۱۸..... پیوست‌ها

۱۴۸..... مراجع

## فهرست شکل‌ها

| عنوان   | صفحه |
|---|------|
| شکل (۱-۱) ساختار شیمیایی ۲۰ نوع اسید آمینه موجود در ساختار پروتئین‌ها                                   | ۵    |
| شکل (۱-۲) نگاشت داده‌ها به فضایی با ابعاد بالاتر توسط تابع کرنل   | ۲۶   |
| شکل (۲-۲) زوایای دوجوهی $\Phi$ و $\Psi$ مربوط به اسکلت اصلی پروتئین در زنجیره پلی پپتیدی                | ۳۱   |
| شکل (۳-۲) نمودار رامچاندردان  | ۳۱   |
| شکل (۱-۳) ساختار پایه مشتقات بنزودیازپین  | ۴۱   |
| شکل (۲-۳) توالی اسید آمینه‌های $GABA_A A5$  | ۴۴   |
| شکل (۳-۳) هم ترازوی دوگانه بین $GABA_A A5$ و 2VL0E  | ۴۵   |
| شکل (۴-۳) نمودار رامچاندردان مدل $GABA_A A5$  | ۴۶   |
| شکل (۵-۳) مقادیر RMSD برای مدل $GABA_A A5$ در زمان شبیه سازی دینامیک مولکولی                            | ۴۶   |
| شکل (۶-۳) جایگاه دارو (ترکیب ۱۱) در ساختار $GABA_A A5$  | ۴۷   |
| شکل (۷-۳) فعال ترین ترکیب (ترکیب ۱۱) در سایت اتصال $GABA_A A5$  | ۴۸   |
| شکل (۸-۳) نمودار تغییرات گزینش پذیری پیش بینی شده با مدل MLR بر حسب مقادیر تجربی                        | ۵۶   |
| شکل (۹-۳) مقادیر RMSD، $CYP2A6$ و کمپلکس پروتئین در زمان شبیه سازی                                      | ۶۴   |
| شکل (۱۰-۳) مقادیر $R_g$ ، $CYP2A6$ و کمپلکس پروتئین در زمان شبیه سازی                                   | ۶۵   |
| شکل (۱۱-۳) سایت اتصال $CYP2A6$  | ۶۵   |
| شکل (۱۲-۳) نمودار $pIC_{50}$ پیش بینی شده با مدل LS-SVR بر حسب مقادیر تجربی برای مهارکننده‌های $CYP2A6$ | ۷۱   |
| شکل (۱۳-۳) ساختار پایه مهارکننده‌های استیل کولین استراز   | ۷۳   |
| شکل (۱۴-۳) مقادیر RMSD استیل کولین استراز و کمپلکس استیل کولین استراز در زمان شبیه سازی                 | ۷۹   |
| شکل (۱۵-۳) مقادیر $R_g$ استیل کولین استراز و کمپلکس استیل کولین استراز در زمان شبیه سازی                | ۷۹   |
| شکل (۱۶-۳) مقایسه موقعیت تاکرین برهمکنش داده شده با موقعیت تاکرین در ساختار کریستال                     | ۸۰   |
| شکل (۱۷-۳) شکل سه بعدی مهارکننده ۲۶ در سایت اتصال آنزیم استیل کولین استراز                              | ۸۰   |
| شکل (۱۸-۳) جزئیات برهمکنش بین مهارکننده ۲۶ با استیل کولین استراز  | ۸۱   |
| شکل (۱۹-۳) جزئیات برهمکنش بین مهارکننده ۶۴ با استیل کولین استراز  | ۸۲   |

- شکل (۳-۲۰) نمودار pIC<sub>50</sub> پیش بینی شده بر حسب مقادیر تجربی برای مهارکننده‌های استیل کولین استراز ..... ۸۵
- شکل (۳-۲۱) نتایج آنالیز حساسیت در مدل LS-SVR ..... ۸۵
- شکل (۳-۲۲) مقادیر باقیمانده استاندارد شده بر حسب مقدار حد هشدار ..... ۸۸
- شکل (۳-۲۳) ساختار آمودیاکین ..... ۹۰
- شکل (۳-۲۴) مقادیر RMSD کمپلکس HSA و HSA در مدت شبیه سازی ..... ۹۱
- شکل (۳-۲۵) مقادیر R<sub>g</sub> کمپلکس HSA و HSA در مدت شبیه سازی ..... ۹۲
- شکل (۳-۲۶) سایت اتصال HSA در حضور آمودیاکین ..... ۹۳
- شکل (۳-۲۷) جزئیات برهمکنش بین آمودیاکین با اسید آمینه‌های سایت اتصال HSA ..... ۹۳
- شکل (۳-۲۸) توالی اسید آمینه‌های پی-گلیکوپروتئین ..... ۹۷
- شکل (۳-۲۹) هم ترازوی دوگانه بین پی-گلیکوپروتئین و 3G5U ..... ۹۸
- شکل (۳-۳۰) نمودار رامانچاندران مدل پی-گلیکوپروتئین ..... ۱۰۰
- شکل (۳-۳۱) مقادیر RMSD پی-گلیکوپروتئین در زمان شبیه سازی ..... ۱۰۱
- شکل (۳-۳۲) مقادیر R<sub>g</sub> پی-گلیکوپروتئین در زمان شبیه سازی ..... ۱۰۱
- شکل (۳-۳۳) مقادیر RMSD آنزیم CYP3A4 در زمان شبیه سازی ..... ۱۰۲
- شکل (۳-۳۴) مقادیر R<sub>g</sub> آنزیم CYP3A4 در زمان شبیه سازی ..... ۱۰۳
- شکل (۳-۳۵) مقادیر RMSD استیل کولین استراز در زمان شبیه سازی ..... ۱۰۹
- شکل (۳-۳۶) مقادیر R<sub>g</sub> استیل کولین استراز در زمان شبیه سازی ..... ۱۰۹
- شکل (۳-۳۷) مقادیر RMSD پروتئین SSAO/VAP-1 در زمان شبیه سازی ..... ۱۱۰
- شکل (۳-۳۸) مقادیر R<sub>g</sub> پروتئین SSAO/VAP-1 در زمان شبیه سازی ..... ۱۱۰

## فهرست جدول‌ها

| عنوان   | صفحه |
|---|------|
| جدول (۱-۳) مشخصات ساختاری کامل مشتقات بنزودیازپین و فعالیت تجربی آنها                               | ۴۲   |
| جدول (۲-۳) مشخصات توصیف‌کننده‌های انتخاب شده جهت مدل‌سازی تمایل اتصال                               | ۵۰   |
| جدول (۳-۳) مشخصات توصیف‌کننده‌های انتخاب شده جهت مدل‌سازی گزینش پذیری                               | ۵۱   |
| جدول (۴-۳) ماتریس همبستگی بین توصیف‌کننده‌های انتخاب شده برای تمایل اتصال                           | ۵۱   |
| جدول (۵-۳) ماتریس همبستگی بین توصیف‌کننده‌های انتخاب شده برای گزینش پذیری                           | ۵۲   |
| جدول (۶-۳) پارامترهای آماری مدل‌های MLR و LS-SVR  | ۵۵   |
| جدول (۷-۳) مقادیر پیش‌بینی شده تمایل اتصال و گزینش پذیری به همراه مقادیر تجربی                      | ۵۷   |
| جدول (۸-۳) پارامترهای آماری مدل QSAR بر پایه لیگاند و مدل QSAR بر پایه ساختار پروتئین               | ۵۸   |
| جدول (۹-۳) توصیف‌کننده‌های انتخاب شده برای تمایل اتصال و گزینش پذیری در روش QSAR بر پایه لیگاند     | ۵۹   |
| جدول (۱۰-۳) مشخصات ساختاری کامل مشتقات نفتالن و غیرنفتالن‌ها و فعالیت تجربی و پیش‌بینی شده آنها     | ۶۱   |
| جدول (۱۱-۳) مشخصات توصیف‌کننده‌های انتخاب شده جهت مدل‌سازی فعالیت مهارکننده‌های CYP2A6              | ۶۷   |
| جدول (۱۲-۳) ماتریس همبستگی بین توصیف‌کننده‌های انتخاب شده برای مدل‌سازی فعالیت مهارکننده‌های CYP2A6 | ۶۸   |
| جدول (۱۳-۳) پارامترهای آماری مدل‌های MLR و LS-SVR   | ۷۱   |
| جدول (۱۴-۳) مشخصات ساختاری مهارکننده‌های استیل کولین استراز و فعالیت تجربی و پیش‌بینی شده آنها      | ۷۴   |
| جدول (۱۵-۳) پارامترهای آماری مدل LS-SVR   | ۸۴   |
| جدول (۱۶-۳) مهارکننده‌های پی-گلیکوپروتئین   | ۹۶   |
| جدول (۱۷-۳) برهمکنش مهارکننده‌های پی-گلیکوپروتئین با پی-گلیکوپروتئین                                | ۱۰۴  |
| جدول (۱۸-۳) برهمکنش مهارکننده‌های پی-گلیکوپروتئین با CYP3A4   | ۱۰۵  |
| جدول (۱۹-۳) خواص فیزیکوشیمیایی داروهای طراحی شده  | ۱۱۳  |

## چکیده

در این رساله، فعالیت داروها بر اساس ساختار پروتئین هدف و برهمکنش داروها با آن و سپس محاسبه توصیف کننده‌های دارو و ساخت یک مدل ریاضی بین فعالیت دارو و توصیف کننده‌ها (QSAR) پیش‌بینی شد. در این رابطه ساختار سه بعدی پروتئین مورد نیاز بود. در مواردی که ساختار کریستالی پروتئین موجود نبود جهت پیش‌بینی ساختار سه بعدی آن از روش مدل‌سازی همسانی (Homology modeling) استفاده شد. شبیه سازی دینامیک مولکولی ساختار سه بعدی پروتئین را در محیط آبی که شبیه به محیط سلول می‌باشد فراهم نمود و از داکینگ مولکولی برای بررسی برهمکنش‌های موثر و محاسبه انرژی آزاد اتصال بین دارو و پروتئین استفاده شده است. در بخش اول رساله، با استفاده از مدل‌سازی همسانی و شبیه سازی دینامیک مولکولی ساختار سه بعدی گیرنده گاما آمینوبوتیریک اسید ( $GABA_A \alpha 5$ ) پیش‌بینی شد. مطالعات داکینگ مولکولی نشان داد که برهمکنش  $\pi-\pi$  بین اسید آمینه‌های فنیل آلانین و تیروزین با مشتقات بنزودیازپین، نقش مهمی در تعیین فعالیت این داروها دارند. توصیف کننده‌های مولکولی برای داروهای برهمکنش داده شده با پروتئین محاسبه شدند. نتایج مدل‌سازی نشان داد که QSAR مبتنی بر ساختار نسبت به QSAR مبتنی بر لیگاندها قابلیت پیش‌بینی بهتری دارد. در بخش دوم، مکانیسم اتصال مشتقات نفتالن و غیر نفتالن به سیتوکروم P450 2A6 (CYP2A6) مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات داکینگ مولکولی نشان داد برهمکنش  $\pi-\pi$  مهارکننده‌ها با CYP2A6 می‌تواند بطور موثری فعالیت این آنزیم را مهار کند. بررسی توصیف کننده‌ها نشان داد الکترونگاتیویته، قطبش پذیری و مساحت سطح قطبی بر فعالیت مهارکننده‌ها موثر می‌باشند. در بخش سوم، توصیف کننده‌های داکینگ مولکولی از برهمکنش‌های موثر بین آنزیم استیل کولین استراز (AChE) و مشتقات پیریمیدین محاسبه شدند. توصیف کننده‌های انتخاب شده نشان داد که برهمکنش‌های کاتیون- $\pi$ ، آبگریزی، انرژی آزاد پیچشی و مجموع انرژی الکترواستاتیک بین اتم‌های دهنده پیوند هیدروژنی با نیتروژن باعث افزایش فعالیت مهارکننده‌ها و تعداد تماس‌های اتم‌های پذیرنده پیوند هیدروژنی با اتمهای نیتروژن باعث کاهش فعالیت مهارکننده‌ها می‌شود. در نهایت مشخص شد توصیف کننده‌های داکینگ مولکولی، نتایج قابل تفسیری راجع به مکانیسم اتصال مهارکننده‌ها در اختیار قرار می‌دهند. در بخش چهارم، مکانیسم اتصال داروی آمودیپین به سرم آلومین انسانی مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات داکینگ مولکولی نشان داد که پیوند هیدروژنی آمودیپین با اسید آمینه Gln196 نقش مهمی در اتصال این دارو به پروتئین دارد. فاصله بین آمودیپین و Trp214،  $4/6$  آنگستروم محاسبه شد که خاموش شدن فلورسانس را در حضور این دارو تایید کرد. انرژی آزاد گیبس اتصال  $29/58$  - کیلوژول بر مول و ثابت اتصال  $1/43 \times 10^5$  بر مول محاسبه شد. نتایج بدست آمده از داکینگ مولکولی مطابقت بسیار خوبی با مقادیر تجربی گزارش شده داشت. در بخش پنجم، ساختار پی-گلیکوپروتئین توسط مدل‌سازی همسانی و شبیه سازی در غشاء لیپیدی و آب تهیه شد. مهارکننده‌های مختلف پی-گلیکوپروتئین به این ساختار و آنزیم CYP3A4 برهمکنش داده شدند. نتایج نشان داد با افزایش فعالیت مهارکننده‌ها به پی-گلیکوپروتئین، فعالیت نسبت به CYP3A4 نیز افزایش می‌یابد. بررسی برهمکنش‌ها نشان داد مهارکننده‌هایی نسبت به CYP3A4 فعالیت کمتری دارند که برهمکنش هیدروفوب و الکترواستاتیک کمتری با این آنزیم داشته باشند. در بخش ششم این رساله، داروهای جدیدی طراحی شدند که همزمان بر دو پروتئین هدف موثر باشند. جهت طراحی این داروها که بر دو پروتئین AChE و آمین اکسیداز حساس به سمی کاربازید (SSAO/VAP-1) برای درمان آلزایمر و بیماری‌های التهابی موثر باشند، از روش طراحی دارو مبتنی بر قطعات مولکولی (Fragment) استفاده شد. برای تهیه قطعات مولکولی از مهارکننده‌های گزارش شده برای هر دو آنزیم استفاده شد. قطعات مولکولی با آنزیم‌ها برهمکنش داده شد و موثرترین آنها با هم ترکیب شده و در نهایت ۱۲۱ ترکیب جدید طراحی گردید. نتایج داکینگ مولکولی و خواص فیزیکوشیمیایی داروهای طراحی شده نشان داد که از بین این داروها، ۴ دارو توانایی مهار همزمان آنزیم‌های AChE و SSAO/VAP-1 را دارند.

**کلمات کلیدی:** مدل‌سازی همسانی، داکینگ مولکولی، شبیه سازی دینامیک مولکولی، روابط کمی-ساختار فعالیت بر پایه

ساختار پروتئین

## فصل اول

### مقدمه

#### ۱-۱ مقدمه

یکی از مشکلاتی که جامعه بشری همیشه با آن روبرو بوده، مقابله با انواع بیماری‌هایی است که سلامت انسان‌ها را به مخاطره انداخته و همواره یکی از مهمترین دغدغه‌های محققان یافتن داروهای موثر، برای رفع این معضل و یا کاهش عوارض این بیماری‌ها بوده است. بروز انواع بیماری‌ها از قبیل سرطان، آلزایمر، بیماری ایدز، بیماری‌های مشترک انسان و دام و مقاوم شدن ویروس‌ها در برابر آنتی بیوتیک‌ها و ... همه از جمله مواردی می‌باشند که ذهن دانشمندان را در جهت یافتن داروهای موثر و کارآمد برای مقابله با این بیماری‌ها معطوف خود نموده‌اند. در گذشته روند کشف و توسعه داروهای جدید، به روش آزمون و خطا صورت می‌گرفت که روشی وقت‌گیر و هزینه‌بر است. محدودیت دیگری که در این راه دانشمندان با آن مواجه می‌باشند، عدم اطلاع آنها از فعالیت دارویی ترکیبات، قبل از انجام سنتز و بررسی تجربی آنها بوده و به همین دلیل یکی از مهمترین اهداف شیمیدان‌ها و محققان دارویی پیش‌بینی فعالیت ترکیبات، قبل از سنتز و یا انجام آزمایش بر روی آنها می‌باشد. چرا که انجام بسیاری از آزمایشات مستلزم صرف زمان و هزینه‌های زیادی است. از اینرو نیاز به استفاده از روش‌های تئوری و محاسباتی که بدون انجام آزمایش بتواند ویژگی و یا فعالیت ترکیبات جدید را پیش‌بینی کنند ضروری به نظر می‌رسد. کمومتریکس مولکولی که در مطالعات مربوط به یافتن ارتباط کمی بین ساختار و فعالیت، مدل سازی کیفی و دسته بندی سیستم‌های شیمیایی مورد استفاده قرار می‌گیرد توانسته راه حلی برای رفع این محدودیت‌ها باشد.

## ۲-۱ کمومتریکس مولکولی

کمومتریکس مولکولی با روابط کمی ساختار-فعالیت (QSAR)<sup>۱</sup> و روابط کمی ساختار-خصوصیت (QSPR)<sup>۲</sup> شناخته می‌شود که برای اولین بار به ترتیب توسط هانش<sup>۳</sup> [۱-۲]، فری<sup>۴</sup> [۳] و همکارانشان ارائه شدند. بطور کلی در QSPR خصوصیات فیزیکی ترکیبات و در QSAR فعالیت‌های بیولوژیکی مورد مطالعه قرار می‌گیرند. اگر چه هانش اولین کسی بود که در زمینه QSAR فعالیت کرد، اما برای نخستین بار در سال ۱۸۶۳ کراس<sup>۵</sup> مشاهده کرده بود که در پستانداران میزان سمیت الکل‌ها با کاهش حلالیت آنها در آب افزایش می‌یابد [۴]. گروه وی در سال ۱۸۹۰ دریافتند که سمیت ترکیبات آلی با خصلت چربی دوستی آنها مرتبط است. مدل‌های QSAR از روابط انرژی آزاد خطی<sup>۶</sup> همچون معادله هامت شکل گرفتند که رابطه بین ویژگی‌های الکترونی اسیدها (و بازها)، ثابت تفکیک و واکنش پذیری آنها را معین می‌کرد [۵].

اساس روش‌های QSAR برقراری ارتباط بین فعالیت مشاهده شده و ویژگی‌های ساختاری مولکول است. به این ترتیب با بررسی مجموعه‌ای از مولکول‌ها یک مدل پیشگو توسعه می‌یابد که می‌تواند برای پیش‌بینی فعالیت دیگر مولکول‌ها مورد استفاده قرار گیرد. نکته کلیدی در اینجا ویژگی‌های ساختاری مولکول‌هاست. نمایش دهنده‌های عددی مولکول‌ها را توصیف‌کننده<sup>۷</sup> می‌نامند و دامنه وسیعی از آنها قابل محاسبه است که می‌تواند شامل فرم‌های ساده از قبیل وزن مولکولی و تعداد اتم‌ها یا انواع بسیار پیچیده‌تر آن باشد. با داشتن مجموعه‌ای از توصیف‌کننده‌ها می‌توان رابطه‌ای بین این توصیف‌کننده‌ها (اغلب با عنوان متغیر مستقل شناخته می‌شوند) و فعالیت مشاهده شده (متغیر وابسته) برقرار کرده و یک مدل QSAR ساخت. فرایند مدل‌سازی QSAR یک مسیر مرحله به مرحله برای محاسبه فعالیت یک مولکول است. اگر از طبیعت برهمکنش‌هایی که بر فعالیت یک مولکول تاثیر می‌گذارند اطلاعی وجود نداشته باشد محاسبه صحیح فعالیت مولکولی امکان‌پذیر نیست. پس باید از طریق یک راه غیر مستقیم، با استفاده از اصول QSAR و محاسبه توصیف‌کننده‌ها در نهایت یک مدل جهت پیش‌بینی فعالیت مولکول‌ها ارائه کرد.

بعد از پیش‌بینی فعالیت‌ها به منظور سنجش اعتبار مدل ایجاد شده، باید عملیات ارزیابی بر روی پیش‌بینی‌ها انجام شود. باید این نکته را مد نظر داشت که روش‌های QSAR منحصراً محدود به مولکول‌های دارویی نیست. در واقع

<sup>۱</sup> Quantitative structure-activity relationship

<sup>۲</sup> Quantitative structure-property relationship

<sup>۳</sup> Hansch

<sup>۴</sup> Free

<sup>۵</sup> A.F.A Cros

<sup>۶</sup> Linear free energy relationships

<sup>۷</sup> Descriptor



یک مدل QSAR می‌تواند برای پیش‌بینی خواص فیزیکی و بیولوژیکی بسیاری از مولکول‌ها مورد استفاده قرار بگیرد.

نمونه‌هایی از مدل سازی خصوصیات فیزیکی شامل پیش بینی نقطه جوش [۶-۸]، حلالیت آبی [۹-۱۰]، دمای انتقال شیشه [۱۱] و تحرک یونی [۱۲] است. در محدوده فعالیت‌های بیولوژیکی مدل‌های QSAR می‌توانند برای پیش بینی ژنوتوکسیسیته [۱۳-۱۵]، سرطانزایی<sup>۱</sup> [۱۶-۱۷]، جهش زایی<sup>۲</sup> [۱۸-۱۹] و غیره توسعه یابند. همچنین در بعضی موارد ممکن است یک سری از ترکیبات سنتز شده و مورد ارزیابی قرار گیرند. توسعه یک مدل QSAR برای این سری از ترکیبات، می‌تواند به شیمیدان‌ها ایده‌هایی بدهد که چه ترکیباتی را سنتز کنند تا فعالیت بهتری ارائه کنند. همچنین ویژگی‌های ساختاری مشخص شده با مدل QSAR می‌تواند بینشی در مورد نحوه فعالیت داروها ارائه دهند که ممکن است تشخیص آن با روش‌های تجربی کاری هزینه‌بر، وقت‌گیر و بعضاً بسیار مشکل باشد. روش‌های QSAR را می‌توان به دو دسته QSAR مبتنی بر لیگاند و QSAR مبتنی بر ساختار پروتئین تقسیم‌بندی کرد.

#### ۱-۲-۱ QSAR مبتنی بر لیگاند

اکثر مطالعات QSAR انجام گرفته با استفاده از روش مبتنی بر لیگاند<sup>۳</sup> بوده است. این روش به طور معمول از اطلاعات مجموعه‌ای از ترکیبات با فعالیت مشخص استفاده می‌کند. اغلب، این روش در مواردی که اطلاعات ساختاری پروتئین هدف وجود نداشته باشد استفاده می‌شود. مفهوم کلیدی در روش‌های مبتنی بر لیگاند این است که ترکیباتی که ساختار مشابه و یا اجزای ساختاری مشابه نسبت به ترکیبات فعال شناخته شده دارند، به احتمال زیاد فعالیتی همانند ترکیبات مشابه خود دارند.

#### ۱-۲-۲ QSAR مبتنی بر ساختار پروتئین

آگاهی از ساختار هدف بیولوژیکی، به ویژه سایت اتصال پروتئین، از دیدگاه طراحی دارو بسیار حائز اهمیت است، زیرا اطلاعات دقیق برهمکنش اتصال لیگاند می‌تواند در طراحی داروها استفاده شود. استفاده از این روش با عنوان طراحی داروی منطقی<sup>۴</sup> یا طراحی داروی مبتنی بر ساختار پروتئین<sup>۵</sup> شناخته می‌شود. این روش به میزان اطلاعاتی

<sup>1</sup> Carcinogenicity

<sup>2</sup> Mutagenicity

<sup>3</sup> Ligand-based method

<sup>4</sup> Rational drug design

<sup>5</sup> Structure-based drug design

اطلاعاتی که راجع به دارو و پروتئین در دسترس می‌باشد وابسته است. این اطلاعات ممکن است از ساختار سه بعدی دارو، پروتئین و یا کمپلکس دارو-پروتئین که با روش‌های رزونانس مغناطیس هسته (NMR) یا کریستالوگرافی اشعه X فراهم شده باشد در دسترس باشد. اما ممکن است هیچ نوع اطلاعات تجربی راجع به آنها وجود نداشته باشد که در چنین مواردی باید از روش‌های محاسباتی استفاده کرد. روش‌های مدل‌سازی همسانی<sup>۱</sup> در چنین مواقعی مورد استفاده قرار می‌گیرند. با داشتن این اطلاعات مساله پیش رو عبارت است از طراحی دارویی که بطور مناسبی با پروتئین که جایگاه هدف می‌باشد برهمکنش برقرار کند که این نوع طراحی را داکینگ مولکولی<sup>۲</sup> می‌نامند. داکینگ دارو به پروتئین می‌تواند از طریق برهمکنش‌های آبریز<sup>۳</sup>، الکتروستاتیک، پیوندهای هیدروژنی و واندروالس باشد. امروزه استفاده از ابزارهای محاسباتی چون مطالعات داکینگ مولکولی و شبیه سازی دینامیک مولکولی می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در جهت طراحی داروی مفید و موثر در اختیار بگذارند. مطالعات داکینگ مولکولی اطلاعاتی نظیر نحوه برهمکنش دارو و پروتئین، جهت گیری دارو در سایت اتصال پروتئین و انرژی آزاد اتصال دارو به پروتئین را فراهم می‌کنند. مطالعات شبیه سازی دینامیک مولکولی نیز می‌توانند ساختار سه بعدی پروتئین را شبیه سازی نموده و درک و بینش دقیق تری نسبت به ساختار پروتئین ارائه نموده و همچنین می‌تواند پایداری سیستم کمپلکس دارو-پروتئین را مورد بررسی قرار دهند. چون در تمام قسمت‌های این رساله از برهمکنش دارو و پروتئین استفاده شده، نیاز است ساختار پروتئین توضیح داده شود. بنابراین در بخش بعد مختصری راجع به اسید آمینه و سپس در مورد پروتئین‌ها توضیح داده خواهد شد.

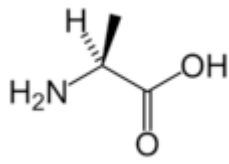
### ۱-۳ اسید آمینه

اسیدهای آمینه، الفبای پروتئین‌ها را تشکیل می‌دهند. بطور کلی پروتئین‌ها از تعدادی اسید آمینه تشکیل شده‌اند که در یک رشته پشت سر هم قرار گرفته‌اند. ترتیب و ماهیت اسیدهای آمینه، ویژگی‌های هر پروتئین را تعیین می‌کند. تعداد کل اسید آمینه‌های موجود در طبیعت ۲۰ عدد می‌باشد که هر کدام از ترکیب‌های متفاوتی به وجود آمده‌اند و با توجه به ترکیب و ترتیب اتم‌ها، هر اسید آمینه خواص خود را داراست. شکل (۱-۱) ساختار شیمیایی ۲۰ نوع اسید آمینه موجود در ساختار پروتئین‌ها را نشان می‌دهد. این بیست اسید آمینه می‌توانند با هر ترکیب و به هر تعداد در ساختار یک پروتئین وجود داشته باشند.

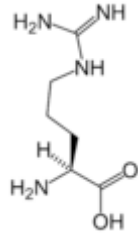
<sup>1</sup> Homology modeling

<sup>2</sup> Molecular docking

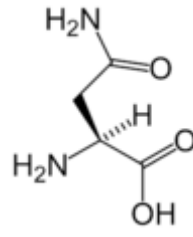
<sup>3</sup> Hydrophobic



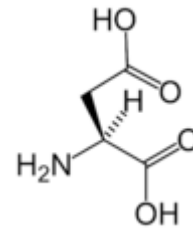
آلانین (Ala / A)



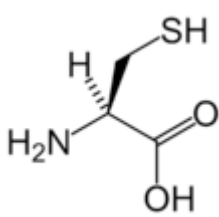
آرژنین (Arg / R)



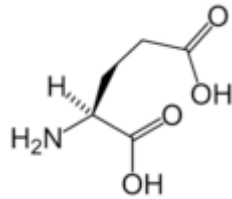
آسپارژین (Asn / N)



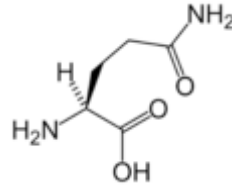
اسید آسپارتیک (Asp / D)



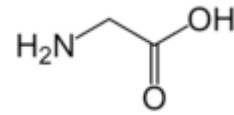
سیستین (Cys / C)



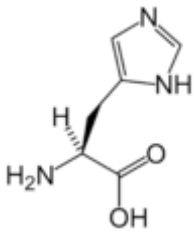
اسید گلوتامیک (Glu / E)



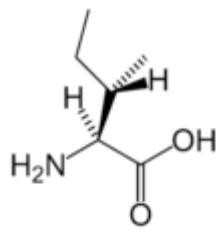
گلوتامین (Gln / Q)



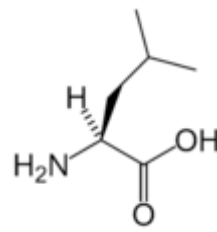
گلیسین (Gly / G)



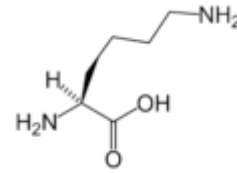
هیستیدین (His / H)



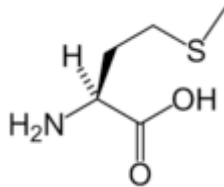
ایزولوسین (Ile / I)



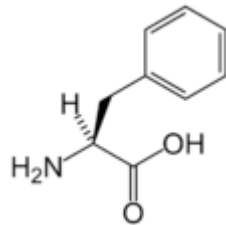
لوسین (Leu / L)



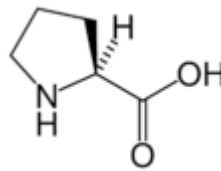
لیزین (Lys / K)



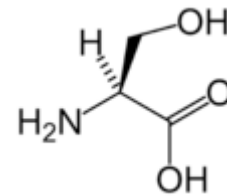
متیونین (Met / M)



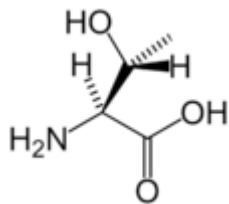
فنیل آلانین (Phe / F)



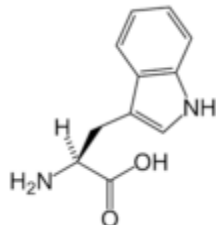
پرولین (Pro / P)



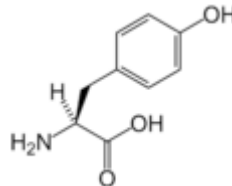
سرین (Ser / S)



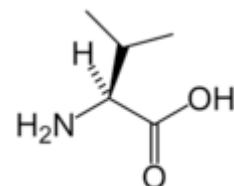
ترئونین (Thr / T)



تریپتوفان (Trp / W)



تیروزین (Tyr / Y)



والین (Val / V)

شکل (۱-۱) ساختار شیمیایی ۲۰ نوع اسید آمینه موجود در ساختار پروتئین‌ها

### ۱-۳-۱ پروتئین

پروتئین‌ها در بخشی از درون سلول به نام ریبوزوم توسط RNA ساخته می‌شوند. رفتار سلولی و تمام فعالیت‌هایی که در سلول انجام می‌شود بر عهده پروتئین‌ها است. همه پروتئین‌ها با هم برهمکنش دارند و تقریباً می‌توان گفت که همه پروتئین‌ها اثر خود را با همکاری پروتئین‌های دیگر در سلول اعمال می‌کنند و هیچ پروتئینی نیست که در سلول به تنهایی عمل کند. مطالعه پروتئین‌ها و عملکرد آنها در واقع موجب فهم بهتر خود سلول‌ها و موجودات می‌شود. در سطح مولکولی، کلیه مکانیسم‌های زیستی سلول‌ها توسط پروتئین‌ها انجام می‌شود. پروتئین‌ها در ارتباط با یکدیگر بطور دقیق و بسیار کنترل شده‌ای وظایف خود را انجام می‌دهند. اساس مولکولی اغلب بیماری‌ها، بروز نقص یا تداخل در کارکرد عادی پروتئین‌ها است که از طریق آن مکانیسم‌های زیستی سلولی را انجام می‌دهند. اگر فعالیت پروتئین‌ها از حالت طبیعی خارج شود می‌تواند باعث بروز بیماری‌های مختلف شوند [۲۰].

### ۲-۳-۱ ساختار پروتئین‌ها

در این بخش به بررسی ساختارهای مختلفی که یک پروتئین، آرایش مولکولی، و عملکرد آن را توصیف می‌کنند پرداخته می‌شود. شناسایی این ساختارها در امر طبقه بندی پروتئین‌ها ضروری است.

#### الف) ساختار نوع اول پروتئین‌ها

به توالی پروتئین که به صورت رشته‌ای از اسیدهای آمینه می‌باشد ساختار نوع اول پروتئین‌ها گفته می‌شود. در ساختار اول، فقط پیوند کووالانس وجود دارد. هنگامی که اسیدهای آمینه به هم متصل می‌شوند و زنجیره پروتئین را تشکیل می‌دهند، به هر یک از آنها یک باقیمانده<sup>۱</sup> و به سری متصل به اتم‌های کربن، نیتروژن و اکسیژن زنجیره اصلی یا اسکلت اصلی<sup>۲</sup> پروتئین گفته می‌شود. به اسیدهای آمینه در قسمت‌های دیگر پروتئین، زنجیر جانبی<sup>۳</sup> گفته می‌شود [۲۰].

<sup>۱</sup> Residue

<sup>۲</sup> Backbone

<sup>۳</sup> Side chain