دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده داروسازی اردبیل

پایان نامه رساله ی دکترای داروسازی

عنوان:

شناسایی و معرفی مهارکننده های نوکلئوپروتئین به عنوان عوامل ضد ویروسی تب کریمه کنگو با استفاده از غربالگری مجازی و تکنیک های محاسباتی طراحی دارو

استاد راهنما

دکتر ساقی سپهری

نگارش

سحر نصیرزاد

شماره پایان نامه

د-۶۶ ۹۹/۱۱

ماحصل آموخته هایم را تقدیم می کنم به آنان که مهر آسمانی شان آرام بخش آلام زمینی ام است.

تقدیم به
پدر و مادر عزیز و مهربانم
که در سختی‌ها و دشواری‌های زندگی همواره یاوری دلسوز و فداکار و پشتیبانی محکم و مطمئن برایم بوده‌اند.

تقدیم به خواهرم

که وجودش شادی بخش و صفایش مایه آرامش من است.

شکر و سپاس خدا را که بزرگترین امید و یاور در لحظه لحظه زندگیست.

تشکر قلبی و لسانی خود را از استاد راهنمای عالی قدر سرکار خانم دکترساقی سپهری که زحمت راهنمایی این پایان نامه را عهده دار گردیدند و در تمامی مراحل انجام رساله از راهنمایی های مدبّرانه ایشان استفاده نمودم ابراز می دارم و توفیقات روز افزون ایشان را توأم با صحت و سعادت خواستارم.

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم، پدر و مادری فداکار نصیبم ساخته تا در سایه درخت پربار وجودشان بیاسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم.

چکیده فارسی

مقدمه

تب کریمه کنگو یک بیماری خونریزی دهنده تب دار حاد است که توسط کنه ها منتقل می شود. برای درمان این بیماری در حال حاضر هیچ داروی تایید شده وجود ندارد اما داروی ریباورین به عنوان یک داروی ضد ویروسی می تواند مفید باشد. با توجه به نبود داروهای تایید شده و احتمال مقاومت ویروس به ریباورین، امروزه نیاز به پژوهش های گسترده ای برای کشف و طراحی داروهای موثر بر این بیماری نیاز است. در این مطالعه، ترکیبات با شباهت ساختاری گالیک اسید جمع آوری و با نوکلئوپروتئین تب کریمه کنگو داک شدند تا بهترین ترکیبات انتخاب شوند.

مواد و روش ها

در این پروژه، ساختار کریستالی نوکلئوپروتئین ویروس تب کریمه کنگو از بانک داده پروتئین به دست آمد. قبل از شروع غربالگری مجازی، کتابخانه داده ای براساس شباهت ساختاری ۵۰٪ با گالیک اسید از پایگاه داده PubChem در فرمت SDF جمع آوری شد. بر روی ۳۰۰۰ ترکیب جمع آوری شده فیلترهای مختلف PyRx0.8، Rule of 5، ADMET و PASS انجام گرفت. در نهایت، به منظور آنالیز کیفی و کمی ترکیبات انتخاب شده شبیه سازی داکینگ مولکولی انجام شد.

یافته ها

از میان کل ترکیبات کتابخانه، ۱۳ ترکیب توانستند کل فیلترها را با موفقیت بگذرانند. سپس داکینگ مولکولی ترکیبات انجام شد. در مرحله بعد، ترکیبات براساس انرژی آزاد اتصال و برهمکنشهای مختلف با اسیدهای آمینه جایگاه فعال مورد بررسی قرار گرفتند. چهار ترکیب با کدهای CID_8409، CID_65760، CID_5161 و CID_188481 به ترتیب با انرژی آزاد اتصال ۹/۳۲-، ۹/۱۰-، ۸/۶۵- و ۸/۵۶- کیلوکالری بر مول از مرحله داکینگ مولکولی به عنوان بهترین ترکیبات معرفی شدند.

بحث و نتیجه گیری

تمام ۱۳ ترکیب تایید شده از فیلترهای مختلف، اثر مهارکنندگی نوکلئوپروتئین ویروس تب کریمه کنگو را نشان می دهند. با توجه به نتایج داکینگ ترکیبات و مقایسه آنها با ریباورین و گالیک اسید و همچنین مقالات قبلی، اسیدهای آمینه Ile304، Lys462، Gln457، Lys411، Gln303، His456، Ala469 و Ala302 به نظر می رسند برای برهمکنش با ترکیبات در جایگاه اتصال مهم و ضروری می باشند. با توجه به بررسی ها، برهمکنشهای هیدروژنی بهینه، هیدروفوب و π-کاتیون از برهمکنشهای مهم و ضروری می باشند.

کلمات کلیدی

تب کریمه کنگو، گالیک اسید، غربالگری مجازی، داکینگ مولکولی

فهرست مطالب

فصل اول..... ۱
۱-۱- مقدمه و تاریخچه..... ۲
۱-۲- مشخصات ویروس..... ۲
۱-۳- راه انتقال بیماری..... ۳
۱-۳-۱- انتقال بیماری از طریق گزش کنه..... ۳
۱-۳-۲- تماس با خون، ترشحات و بافت های آلوده دام..... ۳
۱-۳-۳- انتقال انسان به انسان (عفونت بیمارستانی)..... ۴
۱-۴- ناقلین تب کریمه کنگو..... ۴
۱-۴-۱- کنه مارجیناتوم..... ۵
۱-۴-۲- کنه آسیاتیکوم..... ۵
۱-۴-۳- کنه آناتولیکوم..... ۶
۱-۴-۴- کنه درومداری..... ۶
۱-۵- اپیدمیولوژی تب کریمه کنگو..... ۶
۱-۵-۱- اپیدمیولوژی تب کریمه کنگو در جهان..... ۶
۱-۵-۲- اپیدمیولوژی تب کریمه کنگو در ایران..... ۷
۱-۶- علایم و نشانه های بیماری..... ۸
۱-۷- پیشگیری..... ۸
۱-۸- درمان..... ۹
۱-۹- نیاز به داروهای جدید..... ۱۰
۱-۱۰- واکسن..... ۱۱
۱-۱۱- طراحی دارو به روش کامپیوتری..... ۱۲
۱-۱۲- غربالگری مجازی..... ۱۲
۱-۱۳- نوکلئوپروتئین ویروس تب کریمه کنگو..... ۱۳
۱-۱۴- خصوصیات ترکیب گالیک اسید..... ۱۶

۱-۱۵- مطالعه پیشین بر روی مهارکننده های تب خونریزی دهنده کریمه کنگو..... ۱۹
فصل دوم..... ۲۵
۲-۱- نرم افزارها و سرورهای استفاده شده در بخش داکینگ..... ۲۶
۲-۲- روش کار..... ۲۶
۲-۲-۱- غربالگری مجازی..... ۲۶
۲-۲-۲- قاعده پنج لیپنسکی (خواص دارو همانندی)..... ۳۰
۲-۲-۳- بررسی ویژگی های فارماکوکینتیک ترکیبات..... ۳۱
۲-۲-۴- پیش بینی فعالیت بیولوژیکی و اثرات دارویی..... ۳۲
۲-۲-۵- مطالعات شبیه سازی داکینگ مولکولی..... ۳۳
فصل سوم..... ۳۶
۳-۱- غربالگری مجازی..... ۳۷
۳-۲- بررسی ویژگی دارو همانندی..... ۳۷
۳-۳- بررسی ویژگی های فارماکوکینتیک ترکیبات..... ۴۰
۳-۴- پیش بینی فعالیت بیولوژیکی و اثرات دارویی..... ۴۲
۳-۵- تفسیر نتایج حاصل از داکینگ مولکولی..... ۴۳
۳-۶- بررسی خصوصیات چهار ترکیب CID_5161، CID_8409، CID_65760 و CID_188481..... ۴۷
۳-۷- بررسی برهمکنشهای ترکیب گالیگ اسید..... ۵۱
۳-۸- مقایسه چهار ترکیب (CID_5161، CID_8409، CID_65760 و CID_188481) با گالیک اسید..... ۵۲
۳-۹- مقایسه چهار ترکیب (CID_5161، CID_8409، CID_65760 و CID_188481) با ریباورین..... ۵۳
۳-۱۰- بررسی نتایج داکینگ مولکولی سایر ترکیبات..... ۵۵
فصل چهارم..... ۶۰
منابع و مآخذ..... ۶۳
پیوست ها..... ۶۹

فهرست شکلها

شکل۱-۱- چرخه انتقال ویروس تب کریمه کنگو..... ۴
شکل۱-۲- شیوع تب کریمه کنگو در جهان..... ۷
شکل۱-۳- ساختار شیمیایی ریباورین و فاویپیراویر..... ۱۱
شکل۱-۴- ساختار کریستالی نوکلئوپروتئین تب کریمه کنگو..... ۱۵
شکل۱-۵- ساختار آنزیم RNA پلیمراز وابسته به RNA ویروس تب کنگو..... ۱۶
شکل۱-۶- ساختار شیمیایی گالیک اسید..... ۱۷
شکل۱-۷- ساختار شیمیایی مشتقات گالیک اسید..... ۱۹
شکل۱-۸- ساختار شیمیایی داکسی سایکلین و مینوسایکلین..... ۲۱
شکل۱-۹- ساختار مولکول های MHC-I و MHC-II..... ۲۲
شکل۱-۱۰- ساختار شیمیایی ترکیبات با بهترین مهارکنندگی گلیکوپروتئین..... ۲۳
شکل۲-۱- تصویری از پایگاه داده PubChem..... ۲۸
شکل۲-۲- تصویری از پایگاه داده PDB..... ۲۸
شکل۲-۳- تصویری از نرم افزار PyRx..... ۲۹
شکل۲-۴- تصویری از سرور Molinspiration..... ۳۱
شکل۲-۵- تصویری از سرور admetSAR..... ۳۲
شکل۲-۶- تصویری از سرور Swissadme..... ۳۲
شکل۲-۷- تصویری از سرور PASS..... ۳۳
شکل۲-۸- تصویری از نرم افزار AutoDock4.2..... ۳۶
شکل۳-۱- ساختار شیمیایی ۱۳ ترکیب انتخابی داک شده در نوکلئوپروتئین ویروس تب کنگو..... ۴۵
شکل۳-۲- برهمکنش هیدروژنی اسیدهای آمینه جایگاه فعال آنزیم نوکلئوپروتئین با ترکیب CID_5161..... ۴۸
شکل۳-۳- برهمکنش هیدروژنی اسیدهای آمینه جایگاه فعال آنزیم نوکلئوپروتئین با ترکیب CID_8409..... ۴۹
شکل۳-۴- برهمکنش هیدروژنی اسیدهای آمینه جایگاه فعال آنزیم نوکلئوپروتئین با ترکیب CID_65760..... ۵۰
شکل۳-۵- برهمکنش هیدروژنی اسیدهای آمینه جایگاه فعال آنزیم نوکلئوپروتئین با ترکیب CID_188481..... ۵۱
شکل۳-۶- برهمکنش هیدروژنی اسیدهای آمینه جایگاه فعال آنزیم نوکلئوپروتئین با ترکیب گالیک اسید..... ۵۲

شکل۳-۷- برهمکنش هیدروژنی اسیدهای آمینه جایگاه فعال آنزیم نوکلئوپروتئین با ریباورین..... ۵۴
شکل۳-۸- ساختار شیمیایی ترکیبات CID_10163 و CID_32209..... ۵۷
شکل۳-۹- ساختار شیمیایی ترکیبات CID_72277 و CID_32209..... ۵۸
شکل۳-۱۰- ساختار شیمیایی ترکیبات CID_10207 و CID_32209..... ۵۹

فهرست جدول ها

جدول۲-۱- لیست نرم افزارها و سرورهای مورد استفاده..... ۲۶
جدول۳-۴- ویژگی های ضد ویروسی ترکیبات فیلتر شده از Pass..... ۴۲
جدول۳-۵- نتایج داکینگ ترکیبات داک شده در نوکلئوپروتئین..... ۴۵
جدول۳-۶- برهمکنش های هیدروفوب، هیدروژنی، π-π و کاتیون-π ترکیبات داک شده در نوکلئوپروتئین..... ۴۵

اختصارات

CCHF: Crimean Congo Haemorrhagic Fever

RdRp: RNA dependent RNA polymerase

SBVS: Structure-based virtual screening

LBVS: Ligand-based virtual screening

VS: Virtual screening

FDA: Food and Drug Administration

MHC: Major histocompatibility complex

PDB: Protein Data Bank

NMR: Nuclear Magnetic Resonance

SDF: Scientific Data Format

TPSA: Topological Polar Sarface Area

MW: Molecular Weight

QSAR: Quantitative stucture-activity relationship

ADMET: Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion

CAS: Chemical Abstracts Service

PASS: Prediction of Activity Spectra for Substances

GA: Genetic algorithm

CASRN: Chemical Abstracts Service Registry Number

IUPAC: International Union of Pure & Applied Chemistry

VHDE: Van der Waals-H bond-Desolvation-Energy

EE: Electrostatic Energy

IE: Intermolecular Energy