

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی استان اردبیل
دانشکده داروسازی

پایان نامه برای دریافت درجه دکترای داروسازی

عنوان:

بررسی مشتقات با اسکلت‌های اصلی باربیتورات و اوره به عنوان مهارکننده‌های احتمالی آنزیم

اوره آز توسط تکنیک غربالگری مجازی

استاد راهنما:

دکتر ساقی سپهری

نگارش:

سید کیا شاهگلی

شماره پایان نامه: د-۱۶۲

بهمن ۱۴۰۱

تقدیم به : پدر، مادر و برادر عزیزم

تقدیر و تشکر

از استاد گرانقدرم خانم دکتر ساقی سپهری،
مشوق همیشگی و بی منت بنده در تمامی دوران
تحصیل بسیار سپاسگزارم چرا که بدون
راهنمایی‌های ایشان تکمیل این پایان نامه
بسیار دشوار می‌بود؛ برای ایشان از خداوند
سلامت، سعادت و توفیقات روز افزون خواهانم
و لطف و مهربانی بی شائبه شان همیشه در
خاطرم خواهد ماند.

چکیده

مقدمه و هدف

بیماری‌های عفونی اختلالاتی‌اند که توسط پاتوژن‌های مختلفی مثل باکتری‌ها قارچ‌ها و ... ایجاد می‌شوند. امروزه برخی از این بیماری‌ها را به عنوان ریسک فاکتور برای بروز انواع سرطان‌ها می‌شناسند. یکی از مهمترین پاتوژن‌هایی که باعث افزایش احتمال بروز سرطان می‌شود، هلیکوباکترپیلوری است. این باکتری یک باکتری اوره‌از مثبت است که بیان این آنزیم به بقا آن در محیط اسیدی معده کمک می‌کند؛ ابتلا به این باکتری در اغلب موارد فاقد علامت است ولی گاه‌ا‌ابتلا به آن با علایمی مثل زخم‌های گوارشی و در موارد نادرتر با سرطان همراه است. رژیم‌های درمانی که بر علیه این باکتری استفاده می‌شوند دارای محدودیت‌هایی از قبیل دوره درمانی طولانی و تنوع زیاد دارویی است به طوری که این محدودیت‌ها تبعیت بیماران را از این رژیم‌ها دشوار می‌کنند. از طرفی گزارشات مبنی بر مقاومت این باکتری به انواع داروهای موجود دائماً رو به افزایش است. بنابراین اهمیت یافتن روش‌های درمانی جایگزین به صورت روزافزون افزایش پیدا می‌کند. بدین منظور در این مطالعه تلاش گردیده است که با استفاده از روش‌های کامپیوتری و غربالگری مجازی مهارکننده‌های جدید احتمالی علیه آنزیم اوره‌از معرفی گردند.

مواد و روش‌ها

در پروژه حاضر، ساختار کریستالی آنزیم اوره‌از از بانک داده‌های پروتئینی (کد: 1E9Y) به دست آمد. سپس، تعداد ۲۹۶۳ ترکیب شیمیایی بر اساس اسکلت اصلی اوره و باربیتورات از پایگاه‌های داده‌ای PubChem و Mcule دریافت گردیدند. سپس با استفاده از سرورهای SwissADME، admetSAR و Molinspiration و همچنین با استفاده از نرم‌افزار PyRx0/8 فیلترهای مختلف دارو همانندی و غربالگری مجازی بر این ترکیبات اعمال شد. و در نهایت انرژی اتصال و نحوه برهمکنش ترکیبات انتخاب شده در مراحل قبلی با استفاده از نرم‌افزار Autodock4.2 مشخص شدند.

یافته‌ها

از بین ۲۹۶۳ ترکیب ذکر شده ۵۵ ترکیب توانستند با موفقیت از فیلترهای ذکر شده عبور کنند. در مرحله بعدی به منظور بررسی نحوه برهمکنش‌ها و و انرژی اتصال بر روی ترکیبات مذکور مطالعات داکینگ مولکولی صورت گرفت و در نهایت مشخص شد که چهار ترکیب با کدهای شناسایی CID_ 5200099، CID_ 3685685، CID_ 60623984 و CID_ 4978894 به ترتیب با انرژی‌های آزاد اتصال ۱۱/۵۴-، ۱۱/۰۲-، ۶/۵۹- و ۶/۴۲- کیلوکالری بر مول بیشترین اتصال را به آنزیم اوره‌از در بین ترکیبات منتخب دارند.

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه اخیر که جهت شناسایی و معرفی مهارکننده‌های جدید آنزیم اوره‌از صورت گرفت با بررسی نتایج داکینگ و همچنین مقایسه آن با مطالعات گذشته مشخص شد که اسیدآمینوهای His221، Asn168، Gly279، His322، Met366، Cy321، Arg338 و Ala169 از اهمیت زیادی در برهمکنش با لیگاندها برخوردارند. همچنین در این مطالعه مشخص گردید که برهمکنش‌های هیدروفوب، هیدروژنی و یونی نسبت به برهمکنش‌های π - π و π -کاتیون از اهمیت بیشتری در مهار آنزیم اوره‌از برخوردار است.

کلمات کلیدی: هلیکوباکترپیلوری، غربالگری مجازی، آنزیم اوره‌از

فهرست مطالب

شماره صفحه

عنوان

۱	فصل اول: مقدمه
۲	۱-۱- بیماری‌های عفونی و ارتباط آن‌ها با سرطان
۳	۱-۲- هلیکوباکتری پیلوری (<i>H. pylori</i>)
۳	۱-۲-۱- راه انتقال هلیکوباکتری پیلوری
۴	۱-۲-۲- اپیدمیولوژی در جهان
۵	۱-۲-۳- اپیدمیولوژی در ایران
۵	۱-۲-۴- راه‌های تشخیصی
۶	۱-۲-۵- مقاومت آنتی بیوتیکی
۷	۱-۲-۶- درمان
۷	۱-۲-۶-۱- درمان سه دارویی
۸	۱-۲-۶-۲- درمان چهار دارویی
۸	۱-۲-۶-۳- درمان متوالی
۹	۱-۲-۶-۴- درمان‌های خط دوم
۹	۱-۲-۶-۵- درمان نجات بخش
۱۰	۱-۳- آنزیم اوره آز
۱۱	۱-۳-۱- آنزیم اوره آز در هلیکوباکتری پیلوری
۱۲	۱-۳-۲- نقش اوره آز در عفونت مجاری ادراری
۱۴	۱-۳-۳- مهارکننده‌های آنزیم اوره آز
۱۴	۱-۳-۳-۱- هیدروکسامیک اسیدها
۱۴	۱-۳-۳-۲- فسفرآمیدات‌ها
۱۵	۱-۳-۳-۳- کینون‌ها
۱۵	۱-۳-۳-۴- مشتقات اوره
۱۶	۱-۳-۳-۵- ترکیبات سولفور
۱۶	۱-۳-۳-۶- پلی فنول‌ها
۱۷	۱-۴- باربیتورات‌ها
۱۷	۱-۵- طراحی دارو به کمک کامپیوتر (CADD)
۱۸	۱-۵-۱- طراحی دارو مبتنی بر لیگاند (LBDD)
۱۹	۱-۵-۲- طراحی دارو مبتنی بر ساختار (SBDD)
۱۹	۱-۶- مطالعات پیشین مشتقات اوره و باربیتورات به عنوان مهارکننده‌های آنزیم اوره آز

۲۸	فصل دوم: مواد دستگاه‌ها و روش‌ها
۲۹	۲-۱- سرورها و نرم‌افزارهای استفاده شده
۲۹	۲-۲- تشکیل کتابخانه مجازی از ترکیبات شیمیایی
۳۱	۲-۳- غربالگری مجازی
۳۲	۲-۴- بررسی خواص داروهمانندی ترکیبات
۳۳	۲-۵- بررسی خواص فارماکوکینتیکی
۳۶	۲-۶- شبیه‌سازی داکینگ مولکولی
۳۶	۲-۶-۱- آماده‌سازی ترکیبات لیگاند
۳۶	۲-۶-۲- آماده‌سازی پروتئین هدف
۳۶	۲-۶-۳- اعتبار سنجی فرایند داکینگ
۳۷	۲-۶-۴- آماده‌سازی فایل‌های مربوط به پارامترهای شبکه داکینگ
۳۷	۲-۶-۵- آماده‌سازی فایل مربوط به پارامترهای داکینگ (dpf)
۳۸	۲-۶-۶- انجام شبیه‌سازی مولکولی داکینگ

۳۹	فصل ۳: نتایج
۴۰	۳-۱- غربالگری مجازی
۴۱	۳-۲- بررسی ویژگی‌های دارو همانندی
۴۳	۳-۳- بررسی ویژگی‌های فارماکوکینتیکی
۴۴	۳-۴- اعتبار سنجی فرایند داکینگ
۴۵	۳-۵- آنالیز نتایج داکینگ
۴۸	۳-۶- بررسی برهمکنش ترکیب کوکریستال (AHA) با جایگاه فعال آنزیم اوره آز هلیکوباکترپیلوری
۴۸	۳-۷- بررسی برهمکنش ترکیب باربیتوریک اسید در جایگاه فعال آنزیم اوره آز
۴۹	۳-۸- بررسی برهمکنش چهار ترکیب با بهترین انرژی اتصال با جایگاه فعال آنزیم اوره آز
۵۲	۳-۹- بررسی برهمکنش‌های ترکیبات منتخب باقی مانده در جایگاه فعال آنزیم اوره آز

۵۴	فصل ۴: بحث و نتیجه‌گیری
	۴-۱- مقایسه برهمکنش چهار ترکیب (CID_5200099، CID_3685685، CID_60623984 و CID_4978894) با ترکیب باربیتوریک اسید و کوکریستال استوهیدروکسامیک اسید
	۴-۲- مقایسه برهمکنش چهار ترکیب (CID_5200099، CID_3685685، CID_60623984 و CID_4978894) با هشت ترکیب باقی مانده، ترکیب کوکریستال استوهیدروکسامیک اسید و باربیتوریک اسید در جایگاه فعال آنزیم اوره آز هلیکوباکترپیلوری
	۴-۳- بررسی رابطه ساختار و اتصالات مشاهده شده در ترکیبات با ساختمان مشابه
	۴-۴- نتیجه‌گیری

۴-۵- پیشنهادات ۶۰

منابع ۶۱

پیوست ها ۶۶

پیوست الف ۶۷

پیوست ب ۹۵

پیوست پ ۱۳۴

پیوست ت ۱۷۳

فهرست جداول

عنوان	شماره صفحه
جدول ۱-۲- لیست نرم افزارها و سرورها.....	۲۸
جدول ۲-۲- پارامتر در نظر گرفته شده در فایل dpf.....	۳۷
جدول ۳-۱- ویژگی های داروهمانندی دوازده ترکیب منتخب.....	۴۱
جدول ۲-۳- ویژگی های فارماکوکینتیکی و سم شناسی دوازده ترکیب منتخب.....	۴۳
جدول ۳-۳- نتایج داکینگ ملکولی ۱۲ ترکیب منتخب در جایگاه فعال آنزیم اوره آز.....	۴۶
جدول ۴-۳- برهمکنش های هیدروفوب ، هیدروژنی ، π -کاتیون و $\pi - \pi$ ترکیبات شیمیایی منتخب با آنزیم اوره آز.....	۴۶

فهرست اشکال

عنوان	شماره صفحه
شکل ۱-۱- مکانیسم مقاوت هلیکوباکتر پیلوری به انواع آنتی بیوتیک ها	۷
شکل ۲-۱- ساختار شیمیایی ترکیبات استفاده شده در درمان هلیکوباکتر پیلوری	۱۰
شکل ۳-۱- مکانیسم عمل آنزیم اوره آز	۱۱
شکل ۴-۱- ساختار و نقش آنزیم اوره آز در بیماری زایی هلیکوباکتر پیلوری	۱۲
شکل ۵-۱- نقش آنزیم اوره آز در پروتئوس میرابیلیس	۱۳
شکل ۶-۱- ساختار شیمیایی استو هیدروکسامیک اسید	۱۴
شکل ۷-۱- فسفر آمید مهار کننده اوره آز پروتئوس مورگانی	۱۴
شکل ۸-۱- ساختار شیمیایی کینون ها	۱۵
شکل ۹-۱- ساختار شیمیایی ترکیب urchym	۱۶
شکل ۱۰-۱- ساختار شیمیایی کاتکول	۱۶
شکل ۱۱-۱- ساختار شیمیایی باربیتوریک اسید	۱۷
شکل ۱۲-۱- مراحل کلی طراحی دارو به کمک کامپیوتر	۱۸
شکل ۱۳-۱- ساختار شیمیایی مشتقات ۵-بنزیلدن باربیتورات ها	۲۰
شکل ۱۴-۱- ساختار شیمیایی مشتقات ۱-آسیل ۳-آریل تیو اوره پالمتیک اسید	۲۱
شکل ۱۵-۱- ساختار شیمیایی مشتقات اوره و تیواوره	۲۱
شکل ۱۶-۱- ساختار شیمیایی مشتقات N,N-dimethylbarbituric-pyridinium	۲۳
شکل ۱۷-۱- ساختار شیمیایی موثرترین مشتق N-(3-trifluoromethyl)benzoyl-N-aryl thiourea علیه آنزیم اوره آز	۲۴
شکل ۱۸-۱- ساختار شیمیایی مشتق تیوباربیتورات با حلقه مورفولین	۲۴
شکل ۱۹-۱- ساختار شیمیایی هیبریدهای 1,2,3-Triazole-(thio)barbituric acid	۲۵
شکل ۱-۲- نمایی از صفحه اول سرور PubChem	۲۹
شکل ۲-۲- نمایی از صفحه اول وب سایت mcule	۳۰
شکل ۳-۲- نمایی از نرم افزار PyRx0/8	۳۱
شکل ۴-۲- نمایی از صفحه اول وب سایت PDB	۳۱
شکل ۵-۲- نمایی از صفحه اول سرور Molinspiration	۳۲
شکل ۶-۲- نمایی از صفحه اول سرور SwissADME	۳۳
شکل ۷-۲- نمایی از صفحه اول سرور admetSAR	۳۴
شکل ۸-۲- نمایی از صفحه اول نرم افزار Autodock	۳۷
شکل ۱-۳- مقایسه نحوه قرارگیری کوکریستال استوهیدروکسامیک اسید(قرمز) با استوهیدروکسامیک اسید مجدداً داک شده(آبی)	۴۴
شکل ۲-۳- ساختار شیمیایی ۱۲ ترکیب منتخب از مرحله داکینگ نهایی	۴۵
شکل ۳-۳- ساختار و نحوه برهمکنش کوکریستال استوهیدروکسامیک اسید در جایگاه فعال آنزیم اوره آز	۴۷
شکل ۴-۳- ساختار و نحوه برهمکنش ترکیب باربیتوریک اسید در جایگاه فعال آنزیم اوره آز	۴۸

- شکل ۵-۳- ساختار و نحوه برهمکنش ترکیب CID_5200099 در جایگاه فعال آنزیم اوره آز..... ۴۹
- شکل ۶-۳- ساختار و نحوه برهمکنش ترکیب CID_3685685 با جایگاه فعال آنزیم اوره آز..... ۴۹
- شکل ۳-۷- ساختار و نحوه برهمکنش ترکیب CID_60623984 با جایگاه فعال آنزیم اوره آز..... ۵۰
- شکل ۳-۸- ساختار و نحوه برهمکنش ترکیب CID_4978894 با جایگاه فعال آنزیم اوره آز..... ۵۱
- شکل ۴-۱- ساختار شیمیایی ترکیبات CID_ 4978894 و CID_ 4978854..... ۵۷
- شکل ۴-۲- ساختار شیمیایی ترکیبات CID_ 2896770 ، CID_ 3157065 ، و CID_3152350..... ۵۸

اختصارات

IARC= International Agency for Research on Cancer

PPI= proton pump inhibitor

PBP= Penicillin binding proteins

AHA=Acetohydroxamic acid

FDA= Food and Drug Administration

JBU= Jack bean urease

CADD= Computer aided drug design

LBDD=Ligand-based drug design

SBDD=Structure-based drug design

PDB= Protein Data Bank

TPSA= Topological polar surface area

RMSD=Root-mean-square deviation