

مطالعه محاسباتی برخی از مشتقات بنزن سولفونامید به عنوان مهارکننده های آنزیم پروتئاز HIV-1: رابطه ساختار - فعالیت کمی سه بعدی و اتصال مولکولی

رحمان عبدی زاده^۱، طوبی عبدی زاده^{۲*}

^۱مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۲مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، پژوهشکده علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

*نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، پژوهشکده علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران. ایمیل: t.abdizadeh@gmail.com

دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۹ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۱۷

چکیده

مقدمه: شیوع عفونت ویروس نقص ایمنی انسانی نوع ۱ [human immunodeficiency virus (HIV-1)] به دلیل عدم وجود درمان قطعی همچنان یک نگرانی جهانی محسوب می شود. پروتئاز HIV-1 یک آنزیم آسپارتیک پروتئاز همودیمراست که در فرآیند بلوغ پروتئین HIV ضروری است و می تواند یک هدف امیدوارکننده برای درمان عفونت های رتروویروسی باشد.

اهداف: هدف این مطالعه استفاده از روش های روابط کمی ساختار-فعالیت سه بعدی (کیوسار سه بعدی) و داکینگ مولکولی جهت طراحی مهارکننده های پروتئاز HIV-1 است.

مواد و روش ها: روش کیوسار سه بعدی روی مجموعه ای از مهارکننده های پروتئاز HIV-1 براساس مدل های تحلیل مقایسه ای میدان مولکولی (کومفا) و تحلیل مقایسه ای شاخص های شباهت مولکولی (کومسیا) مورد مطالعه قرار گرفت. روش Distill برای هم ترازی مولکول ها در نظر گرفته شد و مدل های کیوسار سه بعدی تولید و نقشه های کانتور آنالیز شدند. تعدادی مولکول جدید با استفاده از نقشه های کانتوری به دست آمده از مدل کومسیا طراحی و فعالیت آن ها با استفاده از ابزار کیوسار پیش بینی شدند. علاوه بر این، پروتکل داکینگ مولکولی برای تعیین حالت های اتصال و به دست آوردن بهترین ترکیبات مولکولی استفاده گردید و مشخصات فارماکوکینتیک این ترکیبات توسط مطالعه ADMET (in silico absorption, distribution, metabolism, and excretion) پیش بینی شد.

نتایج: پارامترهای آماری هر دو مدل کومفا ($R^2_{pred}=0/789$ و $R^2_{ncv}=0/692$) و کومسیا ($R^2_{pred}=0/721$ و $R^2_{ncv}=0/953$) به دست آمد. با توجه به یافته های مدل کومسیا، یک سری مهارکننده جدید پروتئاز با فعالیت قوی تر از فعال ترین ترکیب بنزن سولفونامیدی معرفی گردید و نتایج داکینگ برهمکنش های گسترده ای از پیوندهای هیدروژنی و هیدروفوب را در اتصال مولکول های طراحی شده به پروتئاز HIV-1 نشان داد. علاوه بر این، مولکول های جدید طراحی شده دارای خواص فارماکوکینتیک مطلوبی هستند.

نتیجه گیری: تکنیک های کیوسار سه بعدی و داکینگ مولکولی به طراحی منطقی مهارکننده های جدید که پروتئاز HIV-1 را هدف قرار می دهند، کمک خواهد کرد.

کلمات کلیدی: کیوسار سه بعدی، پروتئاز HIV-1، شبیه سازی داکینگ مولکولی، مشتقات بنزن سولفونامید

۱. مقدمه

لنفوسیت T و ماکروفاژها آلوده می شوند و ایمنی افراد آلوده کاهش می یابد. ویروس براساس ویژگی های ژنتیکی و تفاوت در آنتی ژن های ویروسی به دو نوع اصلی HIV نوع ۱ (HIV-1) و HIV نوع ۲ (HIV-2) طبقه بندی می شود. ویروس نقص ایمنی انسانی نوع ۱ (HIV-1) بیماریزاتر و خطرناک تر از HIV-2 است و مسئول بیشتر عفونت های انسانی است (۲، ۳). ویروس نقص ایمنی انسانی نوع یک رتروویروس است و با اتصال به سلول های لنفوسیت CD4⁺ موجود در سیستم ایمنی، چرخه

سندرم نقص ایمنی اکتسابی (ایدز) [acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)] یک بیماری مزمن تهدیدکننده زندگی است که بر اثر عفونت با ویروس نقص ایمنی انسان [human immunodeficiency virus (HIV)] به وجود می آید (۱). ویروس نقص ایمنی انسان متعلق به جنس لنتی ویروس (Lentivirus) از خانواده Retroviridae. زیرخانواده Orthoretrovirinae است و سیستم ایمنی را هدف قرار می دهد. سلول های سیستم ایمنی از جمله سلول های

مهارکننده‌های پروتئاز HIV-1 است (۱۳، ۱۴). در این راستا، تحقیقات اخیر با هدف پیشنهاد عوامل ضد پروتئاز جدید با حداقل عوارض جانبی و توانایی به تأخیر انداختن ظهور مقاومت انجام شده است.

کشف اثرات درمانی یک ترکیب شیمیایی، تازه آغاز راهی است که ممکن است تحقیق، توسعه و اجرای آن سالیان زیادی به طول بیانجامد. در حقیقت زمان‌بر بودن، پرهزینه بودن و عدم دسترسی آسان به مواد اولیه دارویی جهت سنتز و داشتن عوارض جانبی متعدد داروهای شیمیایی از معایب داروهای شیمیایی است. امروزه روش‌های *in silico* به‌عنوان یکی از کم‌هزینه‌ترین و سریع‌ترین راهکارها به‌منظور رسیدن به ترکیب الگو یا دارو موثر مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۵). رابطه کمی ساختار-فعالیت، کیوسار (quantitative structure-activity relationship, QSAR)، ابزار بسیار مهمی برای طراحی منطقی دارو است و می‌تواند برای پیش‌بینی برهمکنش‌های لیگاند-هدف (ligand-target) و برای کشف رابطه بین فعالیت بیولوژیکی و ساختارهای مولکولی استفاده شود (۱۶-۱۸). مدل‌سازی کیوسار سه‌بعدی (3D-QSAR) شامل روش‌های تحلیل مقایسه‌ای میدان مولکولی، کومفا (comparative molecular field analysis, CoMFA) و تحلیل مقایسه‌ای شاخص‌های تصویر مولکولی، کومسیا (Comparative Molecular Similarity Index, CoMSIA analysis) برای پیش‌بینی خواص داروهای جدید و بهینه‌سازی ترکیبات دارویی به‌کار می‌رود (۱۹). در مدل کومفا پیشنهاد شده توسط کرامر و همکارانش، ساختار سه‌بعدی مولکول در راستای یک شبکه توسط میدان‌های انرژی فضایی (لنارد-جونز) و الکترواستاتیکی (کولن) تقسیم‌بندی شده و ویژگی‌های مختلف مولکول در این شبکه مورد بررسی قرار می‌گیرد (۲۰). در مدل کومسیا که توسط کلب و همکارانش پیشنهاد شده، یک اتم کاوشگر برای محاسبه شاخص‌های مشابه، در نقاط شبکه به‌طور منظم برای مولکول‌های تراز شده استفاده می‌شود (۲۱).

۲. اهداف

در این مطالعه، روش‌های سه‌بعدی کومفا و کومسیا برای فعالیت برخی مشتقات بنزن-سولفونامیدی حاوی فنیل‌اکسازولیدینون‌ها به‌عنوان مهارکننده‌های آنزیم پروتئاز HIV-1 مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین داکنیگ مولکولی، برای یافتن صورت‌بندی فعال زیستی، بررسی و شناسایی دقیق برهمکنش‌های کلیدی دارو با پروتئین استفاده شده است. هدف از این مطالعه معرفی مهارکننده‌های جدید آنزیم پروتئاز و ویروس HIV-1 با چارچوب‌های جدید مولکولی و معرفی اسیدآمین‌های کلیدی در روند مهار پروتئاز HIV-1 است.

عفونی خود را شروع می‌کند (۴). در سال ۱۹۸۵، سازمان غذا و داروی آمریکا [Food and Drug Administration (FDA)] اولین داروی خود، آزیدوتیمیدین [azidothymidine (AZT)] را برای درمان عفونت HIV-1 تأیید کرد (۵). با این وجود، کاهش این عفونت و ویروسی هنوز یک چالش است. استراتژی‌های فعلی شامل طراحی مؤثر دارو روی سه آنزیم ضروری تمرکز دارند، یعنی پروتئاز (protease)، ترانس کریپتاز معکوس (reverse transcriptase) و اینتگراز (integrase) (۶).

در میان پروتئین‌های HIV، پروتئاز به‌دلیل اهمیت عملکرد آن در تکثیر ویروس مورد توجه زیادی قرار گرفته است. پروتئاز HIV-1 یک آسپارتيک پروتئاز همودیمری است که از نود و نه اسیدآمین در هر مونومر با یک باقیمانده Asp25 کاتالیزوری و دو صفحه بتا ناهمسو و یک مارپیچ آلفا تشکیل شده است. جایگاه فعال این آنزیم بین دو مونومر قرار داشته که دارای توالی حفاظت‌شده Gly27-Thr26-Asp25 است و توسط دو ساختار β -hairpin (حلقه سنجاق سر) که معمولاً فلاپ (flap) نامیده می‌شود پوشیده شده است (۴). جهت دسترسی به جایگاه فعال پروتئاز HIV-1، فلاپ‌ها باید باز شوند تا مهارکننده/سوبسترا وارد پروتئین و متعاقباً ساختار بسته آن را بازبایی کنند تا مهارکننده/سوبسترا در جایگاه فعال خود باقی بماند (۷). این آنزیم پلی‌پروتئین‌های ویروسی را در مکان‌های خاص می‌شکافد و به ساختار بالغ و عملکرد پروتئین‌های HIV-1 کمک می‌کند. مسدود کردن جایگاه فعال پروتئاز توسط مهارکننده‌های پروتئاز جهت جلوگیری از تجمع ذرات ویروسی بالغ، تکثیر ویروس و افزایش بار ویروسی بسیار مهم است (۴، ۸) و به همین دلیل: این آنزیم به‌عنوان یک هدف اصلی در درمان ایدز شناخته شده و موضوع مطالعات متعدد طراحی دارو بوده است.

اعتقاد بر این است که مهارکننده‌ها، پروتئاز HIV-1 را غیرفعال می‌کنند که منجر به ایجاد ذرات نابالغ و غیرعفونی ویروسی می‌شود (۹). بیشتر مهارکننده‌های پروتئاز HIV-1، مولکول‌های پپتیدومیمتیک (peptidomimetic) هستند. اشکال اصلی ترکیبات پپتیدومیمتیک، فراهمی زیستی خوراکی پایین آن‌ها است که ناشی از وزن مولکولی بالا و حلالیت ضعیف است (۱۰). با توجه به این محدودیت، بسیاری از محققان روی مهارکننده‌های غیرپپتیدی پروتئاز HIV-1 تمرکز کرده‌اند (۱۱). داروهای آمپرنایر (amprenavir)، آتازانایر (atazanavir)، دارونایر (darunavir)، ایندینایر (indinavir)، لوپینایر (lopinavir)، نفلینایر (nelfinavir)، ساکونایر (saquinavir)، فوسامپرنایر (fosamprenavir)، ریتونایر (ritonavir) و تیپرانایر (tipranavir) توسط FDA به‌عنوان مهارکننده‌های پروتئاز HIV-1 تأیید شده‌اند. این داروها در حال حاضر در درمان ترکیبی با مهارکننده‌های ترانس کریپتاز معکوس استفاده می‌شوند (۱۲). اگرچه چندین داروی موفق علیه ایدز ایجاد شده است، وضعیت فعلی نشان‌دهنده ظهور سریع مقاومت دارویی در برابر بیشتر

۳. مواد و روش‌ها

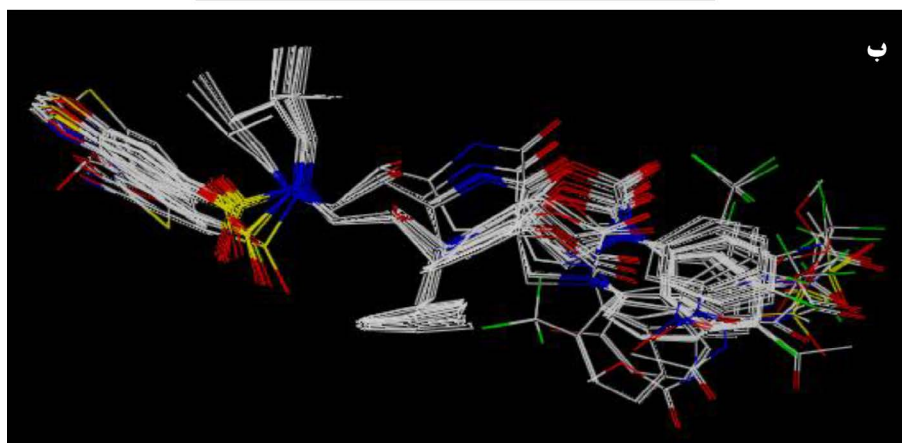
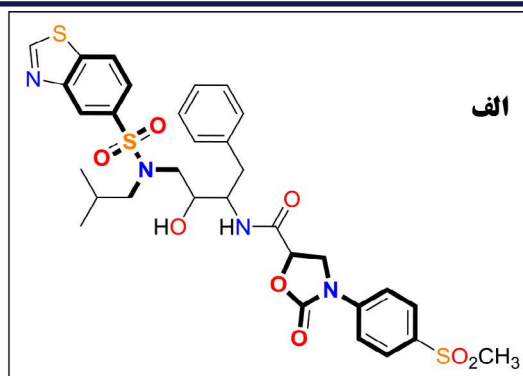
۱.۳. مجموعه داده‌ها

مجموعه‌ای از ۵۱ مولکول مهارکننده پروتئاز HIV-1 با مقادیر ثابت مهارکنندگی یا inhibitory constant (K_i) از مقالات گرفته شدند (۲۲). مقادیر K_i بر حسب نانومولار [nanomolar] برای همه این ترکیبات ابتدا به مولار و سپس با گرفتن $\log(K_i)$ به pK_i تبدیل شدند. جهت انجام مدل‌سازی مجموعه مهارکننده‌ها به دو مجموعه آموزش (Training set) و آزمون (Test set) تقسیم شدند. مجموعه داده‌ها به‌طور تصادفی به مجموعه آموزش شامل ۳۸ مولکول (۷۵ درصد) برای تولید مدل کیوسار سه‌بعدی و مجموعه آزمون شامل ۱۳ مولکول (۲۵ درصد) برای اعتبارسنجی خارجی و تأیید پایایی مدل‌ها تقسیم شدند. ساختار شیمیایی ترکیبات و مقادیر pK_i در ضمیمه ۱ نمایش داده شده‌اند.

۲.۳. مدل‌سازی مولکولی و برخط نمودن

همه مدل‌های کومفا و کومسیا توسط نرم‌افزار مدل‌سازی مولکولی (SYBYL-X 1.2 (Tripos, Inc, St. Louis, MO) انجام گردید. ساختار سه‌بعدی ترکیبات توسط نرم‌افزار Chem Bio

12.0 Draw standard ترسیم شد و بهینه‌سازی انرژی تمام ترکیبات با استفاده از میدان نیروی مکانیک مولکولی استاندارد (molecular mechanics force field) با دی‌الکتریک وابسته به فاصله (distance-dependent dielectric) و الگوریتم گرادیان مزدوج پاول (Powell conjugate gradient algorithm) با معیار همگرایی (convergence criterion) 0.5 kcal/mol با استفاده از حداکثر تکرار روی ۵۰۰۰ انجام شد (۲۳). بارهای اتمی جزئی ترکیبات برای برهمکنش‌های الکترواستاتیکی با روش گاستیگر-هوکل (Gasteiger-Hückel) محاسبه شد. برخط نمودن مولکولی به‌عنوان یک عامل اساسی برای تولید مدل‌های کیوسار سه‌بعدی در نظر گرفته شده است، زیرا دقت قدرت پیش‌بینی مدل‌ها به قابلیت اطمینان وابسته به نقشه‌های کانتور براساس هم‌ترازی ساختاری مولکول‌ها است. در تحقیق حاضر، برخط شدن مولکول‌ها در پایگاه داده Mol2 با استفاده از حداکثر زیرمجموعه ساختاری مشترک با هم‌ترازی دیستیل (Distill) (بدون در نظر گرفتن هیبریداسیون اتم‌ها) انجام شد (۲۴). ترکیب شماره ۳۹ به‌عنوان الگو انتخاب شد، زیرا فعال‌ترین ترکیب مجموعه داده‌ها است و سایر ترکیبات براساس ساختار مشترک، روی آن برخط شدند. ساختار ترکیب شماره ۳۹ با زیرساخت مشترک پرنرنگ و برخط شدن نهایی ترکیبات در تصویر ۱ نشان داده شده است.



تصویر ۱. الف، ساختار ترکیب شماره ۳۹، ساختار مشترک به‌صورت پرنرنگ نشان داده شده است، ب، مولکول‌های برخط شده روی مولکول مبنا به روش دیستیل

۳.۳. محاسبه میدان های کومفا و کومسیا

در روش کومفا، مولکول های ترازبندی شده در یک شبکه مکعبی با فاصله گریدی ۲ آنگستروم در جهات X، Y و Z قرار گرفتند که به اندازه ۴ آنگستروم در اطراف مولکول های برخط شده در تمام جهات دکارتی گسترش یافت (۲۵، ۲۶). میدان های فضایی (لنارد-جونز) و الکترواستاتیک (کولمب) مدل کومفا در نقاط شبکه توسط یک اتم کربن با هیبرید sp³ توسط شعاع واندروالس ۱/۵۲ آنگستروم و بار +۱ ایجاد شدند. توابع کولمب و لنارد جونز به ترتیب برای محاسبه برهمکنش های الکترواستاتیکی و فضایی استفاده شدند. مقادیر پارامتر حد برش مربوط به این میدان ها ۳۰ کیلوکالری برمول تعیین شد. به منظور کاهش نویز و بهبود کارایی، فیلتر کردن ستونی (column filtering) در محدوده ۰ تا ۲ کیلوکالری برمول و مقدار فیلتر آستانه ستون (threshold column filtering) ۲ کیلوکالری برمول قرار داده شد (۲۰). در مدل کومسیا، پیشنهاد شده توسط کلب و همکارانش، پنج توصیف کننده فیزیکوشیمیایی، شامل میدان های فضایی، الکترواستاتیک، آبگریز، دهندگی و پذیرندگی پیوند هیدروژنی از طریق یک اتم پروب با بار +۱، شعاع ۱ آنگستروم، آبگریزی +۱، دهندگی پیوند هیدروژنی +۱، پذیرندگی پیوند هیدروژنی +۱ با فاکتور تضعیف $\alpha = 0.3$ و فاصله شبکه ۲ آنگستروم محاسبه شد (۲۱).

۴.۳. آنالیز حداقل مربعات جزئی و اعتبارسنجی مدل

در مطالعات کیوسار سه بعدی، روش آنالیز حداقل مربعات جزئی (partial least-square, PLS) (۲۷) به عنوان یک روش آنالیز رگرسیونی چندمتغیره برای ساختن مدل استفاده می شود. توصیف کننده های کومفا و کومسیا به عنوان متغیرهای مستقل با مقادیر PK_i به عنوان متغیرهای وابسته در آنالیز رگرسیون PLS مورد استفاده قرار گرفتند. قبل از تجزیه و تحلیل PLS، به منظور کاهش تعداد متغیرها، ستون هایی از میدان های محاسبه شده در کومفا و کومسیا با استفاده از مقدار فیلتر کردن ستون (column filtering) برابر با ۲ کیلوکالری درمول فیلتر شدند. توانایی پیش بینی مدل ها با روش کنار گذاشتن یکی (leave-one-out, LOO) ارزیابی شد. روش اعتبارسنجی متقاطع LOO به عنوان یک اعتبارسنجی داخلی برای تولید تعداد بهینه مولفه (number of components, NOC) با کمترین خطای استاندارد پیش بینی (standard error of prediction, SEP) و بالاترین ضریب اعتبارسنجی متقاطع یا coefficient q² استفاده می شود. پس از اعتبارسنجی متقاطع،

تجزیه و تحلیل نهایی PLS با استفاده از تعداد بهینه مؤلفه ها بدون اعتبارسنجی متقاطع برای تولید مدل نهایی کیوسار انجام می شود. برای آنالیز غیر متقاطع، بالاترین ضریب همبستگی (noncross-validated correlation coefficient, r²) کمترین خطای استاندارد (Standard error of estimation, SSE) و مقادیر آماره نسبت فیشر (Fisher's ratio, F) با همان مجموعه فیلتر شدن ستونی محاسبه شده است. مقادیر بالای q² و r² (۶/۰ > r² و ۵/۰ > q²) به عنوان دلیلی بر توانایی پیش بینی بالای مدل ساخته شده در نظر گرفته می شود (۲۷).

یک اعتبارسنجی داخلی خوب فقط q² بالایی را در مجموعه آموزشی ترکیبات نشان می دهد، اما توانایی پیش بینی بالای مدل های ایجاد شده را نشان نمی دهد، بنابراین اعتبارسنجی خارجی ضروری است. توانایی پیش بینی مدل های کیوسار سه بعدی با محاسبه فعالیت های بیولوژیکی ترکیباتی که در مجموعه آموزشی گنجانده نشده اند و به عنوان مجموعه آزمون استفاده می شوند، تأیید می شود. مجموعه آزمون با علامت * ضمیمه ۱ مشخص شده است. ضریب همبستگی پیش بینی predictive correlation coefficient (r²_{pred}) (۲۸) براساس مجموعه آزمون با استفاده از معادله زیر محاسبه می شود.

$$r_{pred}^2 = \left(\frac{SD - PRESS}{SD} \right)$$

در این معادله مقدار predicted residual sums of squares (PRESS)، مجموع مربع انحرافات بین مقادیر واقعی و پیش بینی شده PK_i، برای ترکیبات مجموعه آزمون است و standard deviation (SD) مجموع انحرافات بین مقادیر واقعی PK_i ترکیبات در مجموعه آزمون و میانگین مقادیر PK_i ترکیبات مجموعه آموزش است. نتایج کومفا و کومسیا به صورت گرافیکی توسط نقشه های گرافیکی (Contour maps) مطرح می شوند.

۵.۳. داکینگ مولکولی

ساختار سه بعدی ترکیبات مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار Chem 3D 12.0 رسم گردید و بهینه سازی ساختارها توسط نرم افزار Hyperchem7 در میدان نیروی مکانیک مولکولی [molecular mechanics (MM+)] تا زمان به دست آمدن گرادیان ریشه میانگین مربعی کمتر از ۰/۰۱ کیلوکالری بر آنگستروم مول انجام شد. کنفورماسیون نهایی ساختارها با روش نیمه تجربی AM1 محاسبه شد و با استفاده از الگوریتم Polak-Ribiere از نظر انرژی بهینه

جای پلاسما در بافت‌ها توزیع می‌شد. مقدار VDSS زیر ۰/۷۱، پایین و بیشتر از ۲/۸۱ بالا در نظر گرفته می‌شود. مولکول‌های طراحی‌شده ارزیابی می‌شوند تا مشخص شود که آیا احتمالاً توسط سیتوکروم P450 متابولیزه می‌شوند یا یک مهارکننده سیتوکروم P450 هستند. نرخ دوز برای دستیابی به غلظت حالت پایدار توسط کل پاکسازی (Total Clearance) تعیین می‌شود که مربوط به فراهمی زیستی است. همچنین، به‌منظور بررسی خطر سمیت (جهش‌زایی، تومورزایی، اثرات سمی روی تولید مثل و اثرات التهاب‌زا) ترکیبات طراحی‌شده از پایگاه OSIRIS استفاده شد (۳۳).

۴. نتایج

۴.۱. یافته‌های آماری مدل‌های کومفا و کومسیا

تجزیه و تحلیل PLS برای مدل کومفا مقدار بالای ۰/۶۹۲ برای Q^2 با شش جزء و مقدار SEP برابر با ۰/۳۶۹ را نشان داد، که بر این اساس، مدل کومفا قابلیت پیش‌بینی مطلوبی را دارد. نتایج ارزیابی PLS اعتبارسنجی غیرمقاطع شامل $r^2_{pred} = ۰/۷۲۱$ و $F = ۵۱/۵۹۴$ ، $SEE = ۰/۲۱۵$ ، $r^2_{nvc} = ۰/۹۱۰$ است که از اعتبار آماری مدل کومفا پشتیبانی می‌کند. سهم توصیف‌کننده‌های میدان‌های فضایی و الکترواستاتیک برای مدل کومفا به ترتیب ۰/۸۷۲ و ۰/۱۲۸ از واریانس کل بوده که نشان‌دهنده اهمیت اثر فضایی در مقایسه با سهم الکترواستاتیک است. مدل کومسیا با ترکیب سه میدان فضایی، گیرنده و دهنده پیوند هیدروژنی با شش جزء و بالاترین مقدار $Q^2 = ۰/۷۱۵$ به‌عنوان بهترین مدل انتخاب شد. سهم میدان‌های ذکر شده به ترتیب ۰/۲۱۱، ۰/۴۶۶ و ۰/۳۲۳ می‌باشد. آنالیز PLS با اعتبارسنجی غیرمقاطع، مقدار $r^2_{pred} = ۰/۷۸۹$ و $F = ۱۰۳/۸۸۸$ ، $SEE = ۰/۱۵۵$ ، $r^2_{nvc} = ۰/۹۵۳$ را به دست آورد که نشان‌دهنده توانایی پیش‌بینی خوبی برای مدل کومسیا است. بنابراین، بهترین مدل کومسیا نشان داد که عوامل فضایی، برهمکنش‌های هیدروژنی به شدت به فعالیت مهارکننده‌ها کمک می‌کنند. نمودار ارتباط بین فعالیت‌های پیش‌بینی‌شده و تجربی براساس مدل‌های کومفا و کومسیا در تصویر ۲ نشان داده شده‌اند. اکثر ترکیبات روی خط یا نزدیک به خط در مدل‌های کیوسار قرار گرفتند که تأیید می‌کند این مدل‌ها توانایی پیش‌بینی خوبی برای ترکیبات جدید دارند. البته، نتایج موجود نشان می‌دهد که مدل کومسیا به دلیل ضریب همبستگی بالاتر و خطای مدل‌سازی پایین‌تر، توانایی پیش‌بینی بالاتری نسبت به مدل کومفا دارد.

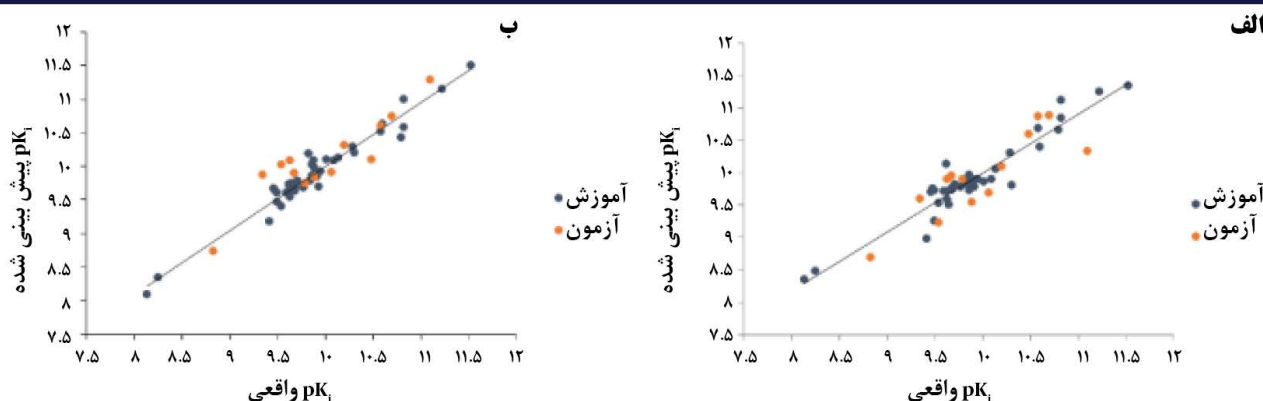
شدند. ساختار سه‌بعدی پروتئاز HIV-1 با شماره دسترسی 6B36 با قدرت تفکیک ۱/۶۳ آنگستروم (۲۹) از پایگاه داده پروتئین [Protein Data Bank (PDB)] دریافت شد. در طول فرآیند آماده‌سازی پروتئین با استفاده از نرم‌افزار Chimera UCSF (۳۰) لیگاند اصلی از پروتئین حذف شد. اتم‌های هیدروژن قطبی و بارهای گسستگی به پروتئین اضافه شدند و مولکول‌های آب حذف شدند. ساختار پروتئین توسط الگوریتم کمینه‌سازی انرژی با استفاده از میدان نیروی AMBER ff14SB به حداقل رسید و در قالب PDB برای مطالعات داکینگ مولکولی ذخیره شد.

سپس با استفاده از نرم‌افزار AutoDock vina در برنامه PyRx (۳۱) فرایند داکینگ مولکولی برای تعیین نحوه اتصال پروتئین هدف با لیگاند انجام شد. در طول فرایند شبیه‌سازی داکینگ مولکولی، پروتئین پروتئاز HIV-1 به‌عنوان یک ساختار صلب در نظر گرفته شد، در حالی که لیگاندها کاملاً انعطاف‌پذیر بودند و داکینگ مولکولی با استفاده از الگوریتم ژنتیک لامارکین صورت گرفت. آماده‌سازی فایل‌های پروتئین و لیگاند به فرمت PDBQT و محل اتصال بین پروتئین و لیگاند با استفاده از بررسی محل حفره توسط نرم‌افزار PyRx انجام شد و جعبه شبکه با ابعاد $x = ۳۸/۲۰$ ، $y = ۴۹/۵۰$ و $z = ۵۳/۳۵$ برای داکینگ مولکولی استفاده شد. کمپلکس‌هایی با کمترین انرژی اتصال (کیلوکالری بر آنگستروم مول) و بهترین کنفورماسیون برای تجزیه و تحلیل انتخاب و برهمکنش بین لیگاندها و پروتئین توسط نرم‌افزار BIOVIA (۲۰۱۶) Discovery Studio به صورت دوبعدی و سه‌بعدی نمایش داده شد.

۴.۳. بررسی خصوصیات فارماکوکینتیکی و سمیت ترکیبات طراحی‌شده

به‌طور کلی، دارا بودن خصوصیات فیزیکوشیمیایی مطلوب در کنار اثر بخشی دارویی از شاخص‌های مهم جهت ارزیابی یک مولکول به‌عنوان یک کاندید دارویی مناسب است. در این مطالعه، پارامترهای فارماکوکینتیکی شامل جذب (absorption)، توزیع (distribution, D)، متابولیسم (metabolism)، دفع (excretion, E) و سمیت (toxicity, T) ترکیبات طراحی‌شده برای پروتئاز HIV-1 با استفاده از سرور pkCSM پیش‌بینی گردیدند (۳۲).

برای یک ترکیب معین، سرور درصدی را که از طریق روده انسان جذب می‌شود، پیش‌بینی می‌کند. یک مولکول با جذب کمتر از ۳۰ درصد جذب ضعیف در نظر گرفته می‌شود. هر چه حجم توزیع حالت ثابت [steady-state volume of distribution (VDss)] بالاتر بود، داروی بیشتری به

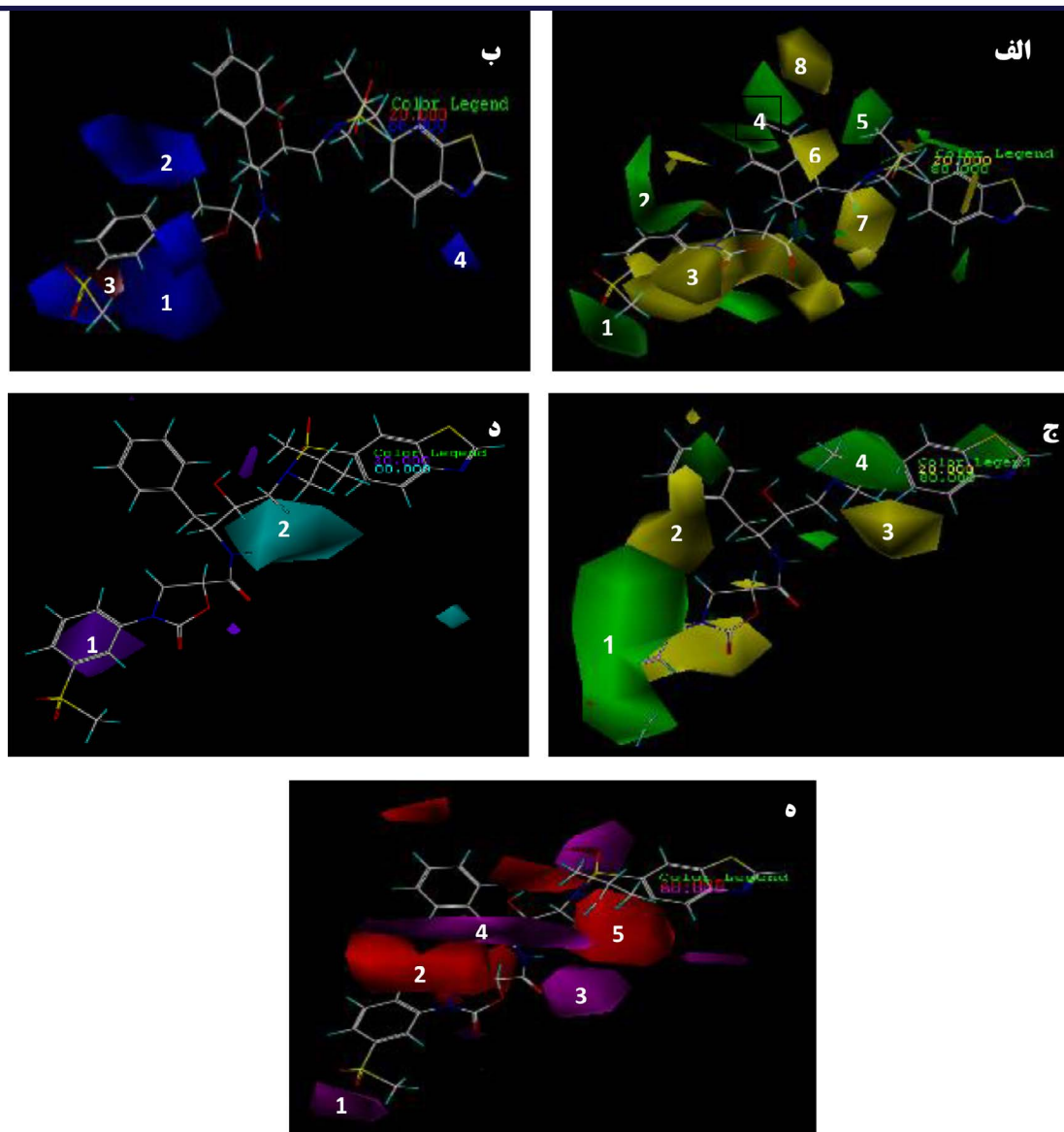


تصویر ۲. ارتباط میان فعالیت‌های PK_1 تجربی در مقابل مقادیر PK_1 پیش‌بینی‌شده برای ترکیبات مجموعه داده‌ها (آموزش و آزمون) توسط مدل‌های الف، کومفا و ب، کومسیا

۲.۴. آنالیز نقشه‌های گرافیکی کومفا و کومسیا

تصویر ۳ الف، نقشه‌های گرافیکی کومفا مربوط به میدان‌های فضایی و الکترواستاتیک را برای موثرترین مهارکننده پروتئاز HIV-1 (ترکیب شماره ۳۹) نشان می‌دهد. میدان فضایی توسط کانتورهای مطلوب به رنگ سبز و کانتورهای نامطلوب به رنگ زرد نشان داده می‌شود که در آن معرفی گروه‌های حجیم ممکن است باعث افزایش یا کاهش فعالیت شود. درحالی‌که، ناحیه آبی برای گروه‌های الکتروپوزیتیو و ناحیه قرمز برای گروه‌های الکترونگاتیو در نقشه‌های گرافیکی الکترواستاتیک کومفا مطلوب است. با توجه به کانتورهای فضایی کومفا، کانتورهای سبز بزرگی ناحیه ۱ و ۲ کنار بخش فنیل اکسازولیدینون و استخلاف‌های R1 را در قسمت فنیل ترکیب پوشانده‌اند که نشان‌دهنده افزایش فعالیت توسط ترکیبات نسبتاً حجیم است. بنابراین، فعالیت ترکیبات ۱۳، ۲۲، ۳۸، ۳۹ و ۵۱ بیشتر از ۱، ۴، ۵ و ۶ است. کانتورهای زرد ناحیه ۶-۸ در کنار کانتورهای سبز در ناحیه ۴ و ۵ نیز نشان‌دهنده کاهش فعالیت توسط ترکیبات با حجم بیشتر از گروه‌های بنزیل و متیل پروپان سولفونامید است. همچنین، کانتور سبز ناحیه ۱ در موقعیت متا، به‌ویژه برای مشتقات $-NH_2$ ، $-Ac$ ، $-SO_2CH_3$ و $-NHAc$ نشان می‌دهد که انتخاب گروه‌های حجیم در این ناحیه برای فعال‌تر کردن لیگاند ضروری است (ترکیبات ۳۹-۳۷، ۴۳، ۳۵ و ۵۱). علاوه‌بر این، یک کانتور آبی بزرگ در همان حلقه فنیل در موقعیت‌های متا و اورتو شناسایی شده است که باعث می‌شود مولکول بیشترین فعالیت را داشته باشد. همچنین در همین موقعیت متای حلقه فنیل مولکول الگو، یک کانتور قرمز مشاهده می‌شود که فعالیت بالای مهارکننده را نشان می‌دهد (**تصویر ۳ ب**). در مدل کومسیا نقشه کانتورهای فضایی تقریباً مشابه کانتورهای فضایی

مدل کومفا است (**تصویر ۳ ج**)، بنابراین نقشه‌های گرافیکی مربوط به میدان‌های دهنده و پذیرنده پیوند هیدروژنی در اینجا شرح داده شده‌اند. نقشه‌های کانتور دهنده و پذیرنده پیوند هیدروژنی با برهمکنش‌های پیوند هیدروژنی لیگاند با گیرنده در ارتباط است. نقشه‌های کانتور فیروزه‌ای و آبی تیره گروه‌های دهنده پیوند هیدروژنی نشان‌دهنده برهمکنش‌های مطلوب (سهیم ۸۰ درصد) و نامطلوب (سهیم ۲۰ درصد) و نقشه‌های کانتور بنفش و قرمز گروه‌های پذیرنده نشان‌دهنده پیوند هیدروژنی مطلوب (سهیم ۸۰ درصد) و نامطلوب (سهیم ۲۰ درصد) است. در **تصویر ۳ د**) کانتور فیروزه‌ای نزدیک به موقعیت آمینو الکل و گروه بنزن سولفونامید (ناحیه ۲) ترکیب شماره ۳۹ نشان می‌دهد که فعالیت بیولوژیکی را می‌توان با معرفی گروه‌های دهنده پیوند هیدروژنی مطلوب در این موقعیت‌ها افزایش داد. کانتور آبی تیره ناحیه ۱ نشان‌دهنده برهمکنش نامطلوب دهنده پیوند هیدروژنی در نزدیکی حلقه فنیل گروه فنیل اکسازولیدینون و باعث کاهش فعالیت ترکیب شماره ۳۹ است. در نزدیکی داربست و موقعیت متای حلقه فنیل (استخلاف R1) در ناحیه‌های ۱، ۳، ۴ و ۶ ترکیب، کانتورهای بنفش وجود دارد که این گروه‌ها به‌طور قابل توجهی باعث افزایش فعالیت بازدارندگی پروتئاز HIV-1 می‌شود (ترکیبات ۳۹، ۴۲، ۴۵ و ۴۸). در مجموعه داده‌ها، بعضی از ترکیبات دارای ساختار مشابهی هستند و تنها جهت‌گیری استخلاف‌های R1 از نظر شیمی فضایی باعث اختلاف در میزان فعالیت مهارتی ترکیبات شده است که نشان‌دهنده اهمیت و تأثیر شیمی فضایی در بروز ثابت مهارتی این ترکیبات است ($11 > 29$ ، $28 > 20$ ، $24 > 22$ و $35 > 23$). علاوه‌بر این، کانتورهای قرمز در ناحیه ۲ و ۵ ترکیب شماره ۳۹ برای برهمکنش‌های پذیرنده پیوند هیدروژنی نامطلوب هستند (**تصویر ۳ ه**).



تصویر ۳. نمایش نقشه کانتورهای الف، فضایی؛ ب، الکترواستاتیکی کومفا؛ ج، فضایی؛ د، دهنده؛ و ه، پذیرنده پیوند هیدروژنی؛ مدل کومسیا بر روی مولکول شماره ۳۹

۳.۴. داکینگ مولکولی

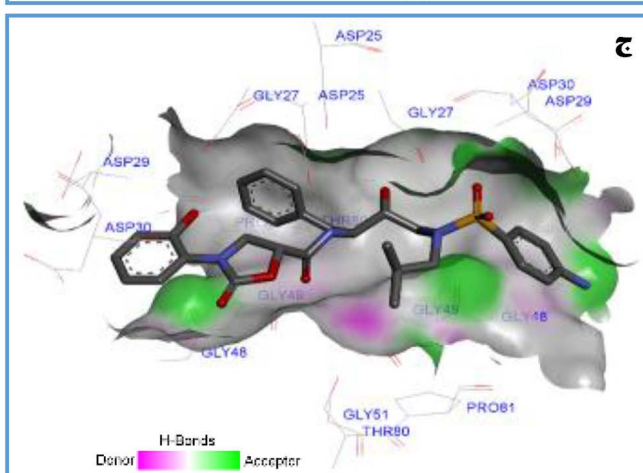
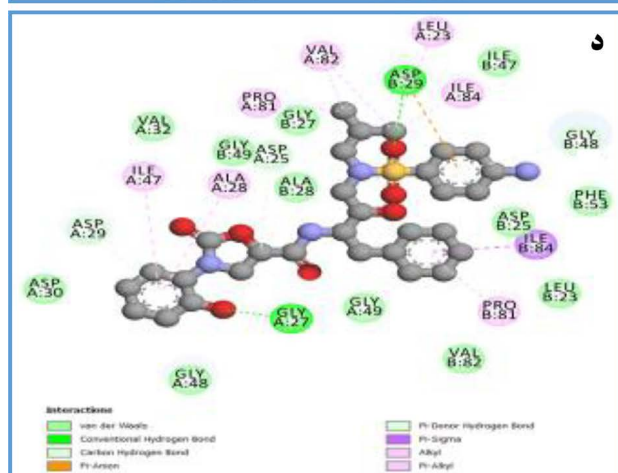
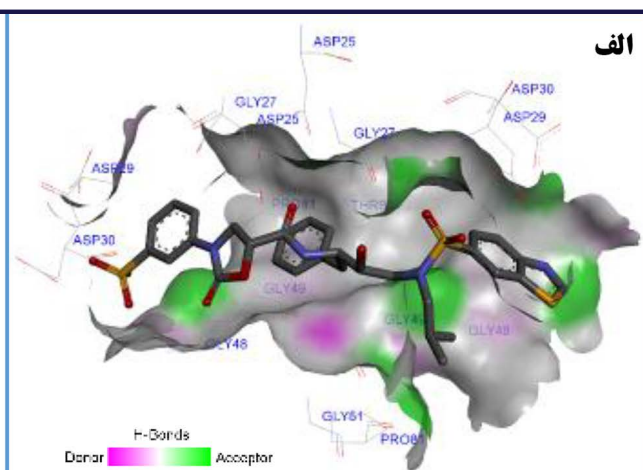
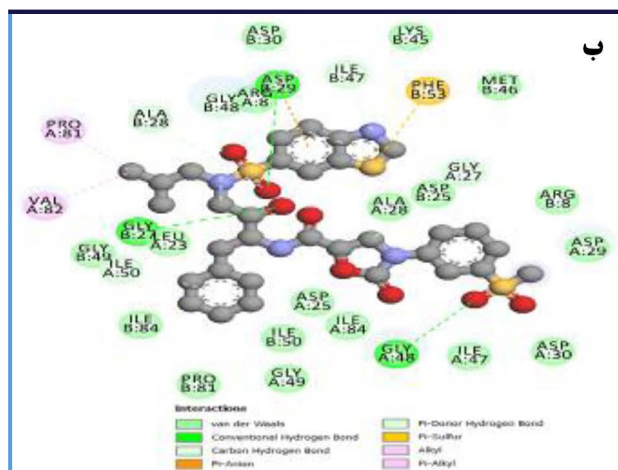
برای به دست آوردن اطلاعات در مورد عملکرد و ساختار پروتئاز HIV-1 (PDB ID: 6B36) در اتصال با ترکیبات مورد بررسی و اعتبارسنجی یافته‌های به دست آمده توسط نقشه‌های کانتوری مدل کیوسار، ارزیابی‌های داکینگ مولکولی روی ترکیبات شماره ۳۹ (فعال‌ترین مهارکننده) و شماره ۴ (ضعیف‌ترین مهارکننده)، با پروتئین هدف انجام شد. برای اعتبارسنجی فرایند داکینگ، لیگاند CKD ((3-N-(S-فلوئورو-۲-۲-۱-فنیل سولفونیل)پیرازین-۲-یل)) اتیل (فنیل)-۳،۳-بیس (۴-فلوروفنیل) پروپانامید)) از جایگاه فعال آنزیم پروتئاز HIV-1 برداشته شد و پس از انجام داکینگ مجدد نتایج مورد مقایسه قرار گرفت. در تصویر S1 می‌توان مشاهده کرد که نتیجه اتصال مجدد

مولکول CDK (سبز) و لیگاند CDK با تصویر کریستالوگرافی اصلی خود (زرد) تقریباً به‌طور کامل روی هم قرار گرفتند و با مقدار $\text{root-mean-square-deviation (RMSD)}$ ۰/۶۳، آنستروم اعتبار روش داکینگ مولکولی تأیید شد.

پس از اعتبارسنجی داکینگ، ساختار سه‌بعدی ترکیبات شماره ۳۹ و ۴ در جایگاه فعال آنزیم پروتئاز HIV-1 داک شدند. یافته‌های داکینگ ترکیبات شماره ۳۹ و ۴ انتخاب‌شده با انرژی مهاری به ترتیب ۱۰/۳- و ۸/۳- کیلوکالری درمول نشان داد که ترکیب شماره ۳۹ اتصال بهتری با پروتئاز HIV-1 دارد (تصویر ۴ الف). نتایج حاصل از این بررسی حاکی از برهمکنش مستحکم ترکیب شماره ۳۹ در سه منطقه حفاظت شده دومین مرکزی، فلاپ آنزیمی و دومین انتهای کربوکسیل است. برهمکنش‌های

Gly48, Val28, Ile50 است (تصویر ۴ ب). ترکیب شماره ۴ با تعداد کمتری از اسیدآمینهای جایگاه فعال پروتئین متصل شده و در مقایسه با ترکیب شماره ۳۹ برهمکنش کمتری با پروتئاز HIV-1 دارد. مولکول شماره ۴ پیوندهای هیدروژنی کمتری با پروتئاز HIV-1 نسبت به مولکول شماره ۳۹ از طریق اسیدآمینهای Asp29 و Gly27 دارد و با اسیدآمینهای دیگر برهمکنشهای هیدروفوب دارد (تصویر ۴ ج و د).

ایجادشده در این نواحی که از نوع واندروالسی و هیدروژنی هستند، در دو منطقه دومین مرکزی و فلاپ قوی تر است و اتصال به نواحی ذکرشده با انرژی کمتری صورت می گیرد. مولکول شماره ۳۹ از طریق سه پیوند هیدروژنی با اسیدآمینهای Asp29, Gly27, Gly48 جایگاه فعال برهمکنش دارد. سایر برهمکنشهای مهم بین مولکول شماره ۳۹ و پروتئاز HIV-1 شامل پیوند Alkyl, pi-Sulfur, pi-Anion و پیوندهای هیدروژن-کربن به ترتیب با Val82, Pro81, Phe53, Asp29.



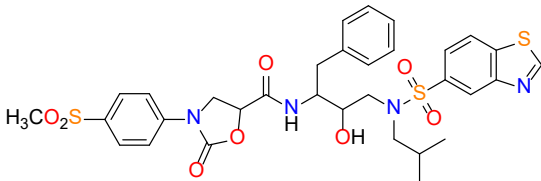
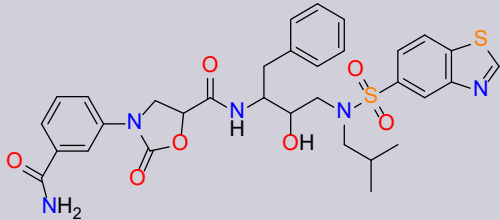
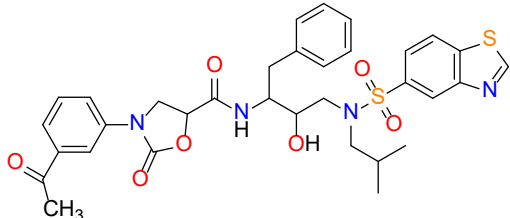
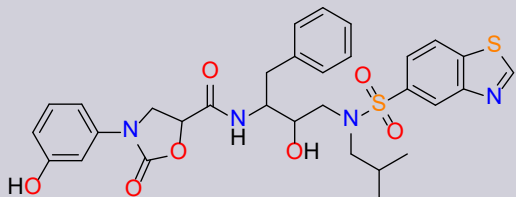
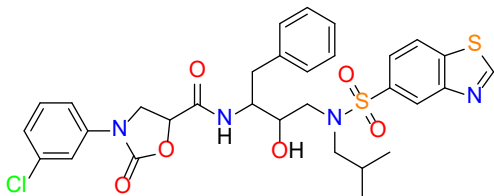
تصویر ۴. نمایش برهمکنشهای مجموعه لیگاند-پروتئین به صورت سه بعدی و دو بعدی، الف و ب، فعال ترین ترکیب، مولکول شماره ۳۹ و ج و د، ضعیف ترین ترکیب، مولکول شماره ۴ با پروتئین پروتئاز HIV-1

شد. این مشتقات بنزن سولفونامید (۵۵-۵۲) که طراحی شده اند، مقادیر pK_i بیشتر از فعال ترین ترکیب (مولکول شماره ۳۹) را نشان می دهند (جدول ۱) و مقادیر پیش بینی شده مدل کومسیا نشان می دهد که مهارکننده های جدید پروتئاز HIV-1 فعال هستند و می توانند به عنوان مهارکننده های بالقوه عمل کنند.

۴.۴. طراحی مولکول های جدید

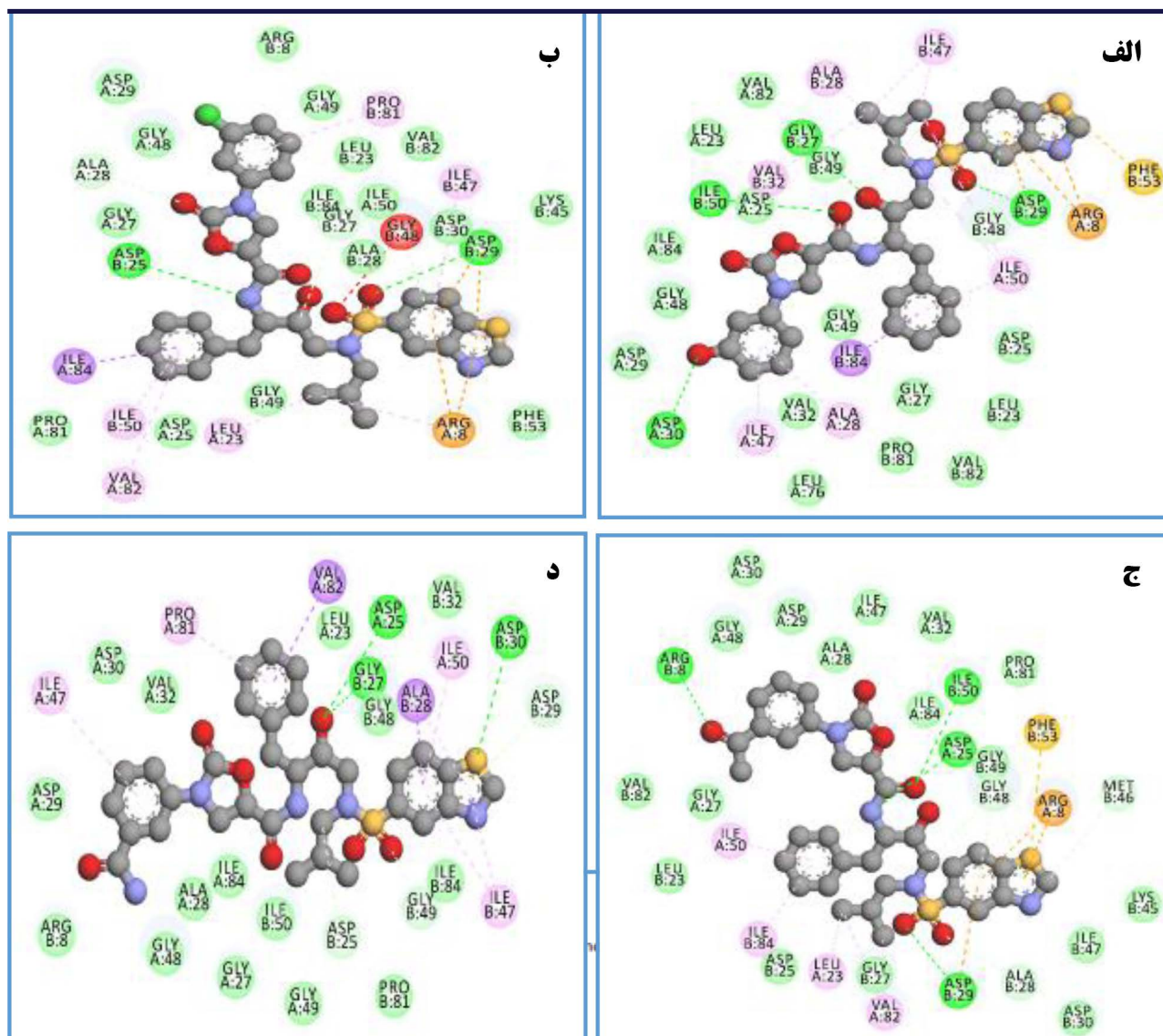
جهت تأیید اثربخشی مطالعه کیوسار سه بعدی و داکینگ مولکولی، داربست بنزن سولفونامید و فنیل اکسازولیدینون به عنوان هسته اصلی انتخاب شدند و استخلاف هایی در این داربست اضافه شد و چهار مهارکننده جدید طراحی شد و مقادیر pK_i آن ها توسط بهترین مدل ساخته شده، کومسیا، پیشگویی

جدول ۱: ساختار، مقادیر pK_i پیش‌بینی شده و انرژی اتصال مولکول‌های طراحی شده با مدل کومسیا

نام مولکول	ساختار مولکول	pK_i	انرژی اتصال (kcal/mol)
۳۹		۱۱/۵۲	-۱۰/۳
۵۲		۱۱/۵۵	-۹/۹
۵۳		۱۱/۶۳	-۱۰/۴
۵۴		۱۱/۷۰	-۱۰/۹
۵۵		۱۱/۵۷	-۱۰/۵

داکینگ مولکولی ترکیبات جدید نشان می‌دهد که اکثر ترکیبات انرژی اتصال بالاتری نسبت به فعال‌ترین ترکیب (شماره ۳۹) دارند (جدول ۱) و بالاترین انرژی مربوط به مولکول طراحی شده ۵۴ با مقدار -۱۰/۹ کیلوکالری برمول است. بهترین کنفورماسیون به‌دست‌آمده از داکینگ مولکولی در تصویر ۵ نشان می‌دهد که همه آن‌ها الگوی اتصال مشابهی با ترکیب شماره ۳۹ دارند و با اسیدآمین‌های Gly27, Asp29, Ile50, Asp30 و Arg8 پیوند هیدروژنی و برهمکنش‌های هیدروفوب با اسیدآمین‌های Leu23, Ala28

Ile84 و Gly48, Phe53, Val32, Ile47 تشکیل می‌دهند. گروه R1 با انتخاب استخلاف بنزوتیازول برای افزایش تعداد برهمکنش‌های هیدروفوب و پیوند هیدروژنی اصلاح شد. براساس اصلاح گروه R1، هنگامی که گروه R2 با -OH، -COCH₃، -CONH₂ و Cl به‌عنوان گیرنده پیوند هیدروژنی معرفی شدند، ترکیبات طراحی شده فعالیت مهارکنندگی قابل توجهی را نشان دادند. بنابراین، قابلیت اطمینان مدل کیوسار سه‌بعدی را کاملاً ثابت می‌کند و نیز پایداری کمپلکس‌ها تأیید می‌شوند.



تصویر ۵. نمایش برهمکنش‌های ترکیبات طراحی شده با پروتئین پروتئاز HIV-1 به صورت دوبعدی، الف، ۵۲؛ ب، ۵۳؛ ج، ۵۴؛ د، ۵۵

۵.۴. آنالیز پارامترهای فارماکوکینتیک و سمیت

برای مطالعه بیشتر قابلیت دارویی ترکیبات طراحی شده، خواص ADME/T نیز با استفاده از سرور آنالیز pkCSM پیش‌بینی شد (ضمیمه ۳). جذب روده‌ای ترکیبات از ۷۴/۸۰ تا ۸۶/۵۸ درصد متغیر است که نشان‌دهنده ویژگی جذب بالا، به‌ویژه برای ترکیب ۵۵ است. حجم توزیع حالت ثابت (VDss) ترکیبات ۵۲ و ۵۳ کمتر از ۰/۱۵ است، که به این معنی است که آن‌ها بیشتر در پلاسما به جای بافت‌ها توزیع می‌شوند و ترکیبات ۵۴ و ۵۵ در بافت‌ها توزیع می‌شوند. برای متابولیسم، همه ترکیبات به‌عنوان سوبسترا برای زیرگروه CYP450 3A4 پیش‌بینی شدند، که به این معنی است که ممکن است توسط CYP 3A4 متابولیزه شوند. علاوه بر این، ترکیبات نمی‌توانند خانواده CYP450 1A2/2D6 را مهار کنند، درحالی‌که ممکن است زیرگروه CYP450 2C19/2C9/3A4 را

مهار کنند. براساس کلیرانس کلی پیش‌بینی شده، تمام ترکیبات می‌توانند توسط بافت کبد و کلیه به روشی ترکیبی پاک شوند. سمیت پیش‌بینی شده نشان داد که همه ترکیبات قدرت جهش‌زایی، تومورزایی و اثرات سمی روی تولید مثل ندارند (ضمیمه ۳).

۵. بحث

پروتئاز HIV-1 یک آنزیم مهم در فرآیند تکثیر ویروس HIV است و به یک هدف جذاب برای طراحی دارو علیه این ویروس تبدیل شده است. هدف از این مطالعه ارائه بینش عمیقی از مهار پروتئاز HIV-1 با توجه به ساختار پروتئین پروتئاز و نحوه انتخاب‌پذیری اتصال مولکول‌های لیگاند است. برای این کار، ۵۱ مولکول از مشتقات بنزن سولفونامیدی با فعالیت تجربی علیه پروتئاز HIV-1

در نظر گرفته شده است. بخش اولیه کار با استفاده از روش های طراحی دارو مبتنی بر لیگاند انجام شده است که شامل کیوسار سه بعدی و مدل فارماکوفور است و نتایج مدل کومفا را با مقدار $r^2_{ncv} = 0/910$ و $r^2_{pred} = 0/721$ و مدل کومسیا را با مقدار $r^2_{ncv} = 0/953$ و $r^2_{pred} = 0/789$ نشان می دهد و به شناسایی مناطق مهم برای برهمکنش های فضایی، هیدروفوب و الکترواستاتیکی منجر شده اند. مقادیر r^2 برای هر دو مجموعه آموزشی و آزمون مدل های ارائه شده کومفا و کومسیا در این مطالعه، بهتر از مدل های گزارش شده توسط Khedkar و همکاران است (۳۴). همچنین، مدل کومسیا به دست آمده، با نقشه کانتورهای فضایی، دهنده و پذیرنده پیوند هیدروژنی بهترین مدل آماری پیش بینی شده برای اعتبارسنجی ترکیبات جدید است و نقشه های کانتوری برای فعال ترین لیگاند (ترکیب شماره ۳۹) مناطق مطلوب بیشتر و مناطق نامطلوب کمتری را نشان می دهد که می تواند برای بهبود فعالیت پروتئاز HIV-1 استفاده شوند.

در مرحله بعد، توانایی اتصال فعال ترین و ضعیف ترین ترکیب با استفاده از داکینگ مولکولی تجزیه و تحلیل شد. به طور کلی، مولکول ها با اسید آمینه های جایگاه فعال آنزیم هدف برهمکنش برقرار می کنند تا فعالیت آنزیم را مهار کنند. همانطور که در تصویر ۴ مشاهده می شود ترکیبات شماره ۳۹ و ۴ با Asp29 و Gly27 دو پیوند هیدروژنی را در جایگاه فعال آنزیم تشکیل می دهند. همچنین، ترکیب شماره ۳۹ داک شده دارای یک پیوند هیدروژنی دیگر با Gly48 است و در مقایسه با ترکیب شماره ۴ دارای انرژی آزاد اتصال بیشتری است. با توجه به نقش این اسید آمینه ها، ترکیبات طراحی شده نیز فعالیت مهاری خاصی از پروتئاز HIV-1 (با انرژی اتصال مطلوب تر را نشان می دهند و پیوند هیدروژنی بین لیگاندهای ۵۵-۵۲ و اسید آمینه های جایگاه فعال (Asp25, Gly27, Asp29, Ile50) آنزیم نقش عمده ای در ترکیب مولکول ها و گیرنده ایفا می کنند. پیش بینی های فارماکوکینتیک و سمیت نیز برای این مولکول ها انجام شد تا ADME و مشخصات ایمنی آن ها اندازه گیری شود. در مطالعه Tong و همکاران، اثر ۳۴ مشتق اوره با استفاده از روش کیوسار سه بعدی و داکینگ مولکولی در مهار پروتئاز HIV-1 بررسی شدند. مدل کیوسار با استفاده از تکنیک کومسیا ساخته شده بود و بهترین مدل کومسیا دارای مقادیر $0/931$ و $0/973$ برای r^2 و r^2_{pred} است که این نتایج نزدیک به نتایج این مطالعه است. مقایسه نتایج داکینگ بین ترکیبات جدید طراحی شده (۵۵-۵۲) با مشتقات اوره نشان می دهد که پیوند هیدروژنی بین لیگاندهای ۵۵-۵۲ و اسید آمینه های Asp25 و Asp29 وجود دارد و این ترکیبات از فعالیت بیولوژیکی بالاتر نسبت به مشتقات اوره برخوردار هستند (۳۵).

همچنین، Halder به بررسی ساختاری مهارکننده های پروتئاز HIV-1 با استفاده از مدل سازی چندگانه کیوسار برای شناسایی ترکیبات راهبر پرداختند و اظهار داشتند که این مطالعه

مبتنی بر لیگاند به عنوان یک معیار مهم برای توسعه بیشتر مهارکننده های پروتئاز HIV-1 با فعالیت های بهبود یافته عمل می کند (۳۶). در مطالعه دیگری، Tong و همکاران، کیوسار سه بعدی برای ۳۸ مهارکننده پروتئاز HIV-1 با استفاده از روش Topomer ComFA را بررسی کردند. نتایج نشان داد که مدل به دست آمده از قابلیت پیش بینی خوبی برخوردار است و لیگاندها به طور کلی برهمکنش های پیوند هیدروژنی را با اسید آمینه های Asp25, Asp29, Asp30, Gly48, Ile50 پروتئاز HIV-1 تشکیل می دهند (۳۷). در مطالعه دیگری، Fang و همکاران با به کارگیری روش کیوسار سه بعدی برای مجموعه ای از ۴۲ مشتق از داروناویر (Darunavir)، به طراحی مولکول های جدید با فعالیت آنتی ویروس بالا پرداختند. ترکیبات جدید طراحی شده، دارای فعالیت آنتی ویروس پیش بینی شده مطلوبی توسط مدل CoMSIA-DAH بودند. همه مولکول های جدید طراحی شده با انرژی اتصال بالا در جایگاه فعال پروتئاز HIV-1 قرار داشتند و نشان داده شد که Asp29, Asp30, Ile50 و Asp124 اسید آمینه های حیاتی در روند مهار پروتئاز هستند (۳۸). علاوه بر این، Hamdache و همکاران اثر مهاری ۴۰ مشتق پیراولیل-پیریمیدینون روی پروتئاز HIV-1 را با استفاده از روش کیوسار دوبعدی و داکینگ مولکولی مطالعه کردند. مدل های کیوسار قوی با ظرفیت پیش بینی خوب، تأیید شده توسط چندین شاخص آماری، با هدف مهار HIV-1 به دست آمد و مدل ها قابلیت اطمینان رضایت بخشی را نشان دادند و مطالعات داکینگ مولکولی، برهمکنش های کلیدی بین ترکیبات و جایگاه فعال پروتئاز HIV-1 را تأیید کرد و این ترکیبات به عنوان نامزدهای امیدوار کننده برای توسعه درمان های ضد ویروسی جدید می توانند استفاده شوند (۳۹).

۱.۵. نتیجه گیری

پروتئاز HIV-1 یک آنزیم کلیدی در فرآیند بلوغ پروتئین HIV است. مهارکننده های پروتئاز HIV-1 یک کلاس مهم از داروها هستند که برای مهار عفونت HIV استفاده می شوند و تأثیر مهمی بر تکثیر ویروس دارند. در این مطالعه، روش کیوسار سه بعدی (کومفا و کومسیا) روی یک سری از مهارکننده های پروتئاز HIV-1 به کار برده شده است. نتایج مدل های کومفا و کومسیا با توجه به پارامترهای آماری رضایت بخش بودند و مدل کومفا ($q^2 = 0/692$ ، $r^2_{ncv} = 0/910$ و $r^2_{pred} = 0/721$) و کومسیا (فضایی، $q^2 = 0/715$ ، $r^2_{ncv} = 0/953$ و $r^2_{pred} = 0/789$) قدرت پیش بینی بالایی دارند. براساس نتایج پیش بینی مدل ها، نقشه کانتورهای فضایی و الکترواستاتیکی برای مدل کومفا و کانتورهای فضایی، دهنده و پذیرنده پیوند هیدروژنی برای مدل کومسیا انتخاب شدند که ویژگی های ساختاری ترکیبات مهار فعالیت پروتئاز HIV-1 را نشان می دهند. علاوه بر این، برهمکنش بین مولکول های مورد مطالعه و پروتئین پروتئاز HIV-1 از

حمایت مالی/معنوی:

این پژوهش با حمایت دانشگاه ع.پ.ش (کد مصوب ۳۶۲۹) انجام شده است، لذا نویسندگان مقاله لازم می‌دانند مراتب قدردانی خود از دانشگاه ع.پ.ش را اعلام نمایند.

References

- Weber IT, Wang YF, Harrison RW. HIV Protease: Historical Perspective and Current Research. *Viruses*. 2021;13(5). [PubMed ID:34066370]. [PubMed Central ID:PMC8148205]. <https://doi.org/10.3390/v13050839>.
- Sankaran SV, Krishnan SR, Sayed Y, Gromiha MM. Mechanism of drug resistance in HIV-1 protease subtype C in the presence of Atazanavir. *Curr Res Struct Biol*. 2024;7:100132. [PubMed ID:38435053]. [PubMed Central ID:PMC10907180]. <https://doi.org/10.1016/j.crstbi.2024.100132>.
- Zulfiqar HF, Javed A, Sumbal, Afroze B, Ali Q, Akbar K, et al. HIV Diagnosis and Treatment through Advanced Technologies. *Front Public Health*. 2017;5:32. [PubMed ID:28326304]. [PubMed Central ID:PMC5339269]. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00032>.
- Chuntakaruk H, Hengphasatporn K, Shigeta Y, Aonbangkhen C, Lee VS, Khotavivattana T, et al. FMO-guided design of darunavir analogs as HIV-1 protease inhibitors. *Sci Rep*. 2024;14(1):3639. [PubMed ID:38351065]. [PubMed Central ID:PMC10864397]. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-53940-1>.
- Dakshinamoorthy A, Asmita A, Senapati S. Comprehending the Structure, Dynamics, and Mechanism of Action of Drug-Resistant HIV Protease. *ACS Omega*. 2023;8(11):9748-63. [PubMed ID:36969469]. [PubMed Central ID:PMC10034783]. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c08279>.
- Tozser J. Stages of HIV replication and targets for therapeutic intervention. *Curr Top Med Chem*. 2003;3(13):1447-57. [PubMed ID:14529520]. <https://doi.org/10.2174/1568026033451781>.
- Mahanti M, Bhakat S, Nilsson UJ, Soderhjelm P. Flap Dynamics in Aspartic Proteases: A Computational Perspective. *Chem Biol Drug Des*. 2016;88(2):159-77. [PubMed ID:26872937]. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12745>.
- Meng S, Gao Y, Qiang G, Hu Z, Shan Q, Wang J, et al. Rational design, synthesis and biological evaluation of novel HIV-1 protease inhibitors containing 2-phenylacetamide derivatives as P2 ligands with potent activity against DRV-Resistant HIV-1 variants. *Bioorg Med Chem Lett*. 2024;101:129651. [PubMed ID:38342391]. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2024.129651>.
- Nascimento A, Fernandes RP, Quijia C, Araujo VHS, Pereira J, Garcia JS, et al. Pharmacokinetic Parameters of HIV-1 Protease Inhibitors. *Chem Med Chem*. 2020;15(12):1018-29. [PubMed ID:32390304]. <https://doi.org/10.1002/>

طریق داکینگ مولکولی مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج مدل کیوسار سه‌بعدی بیشتر تأیید شد. براساس مدل کومسیا، تعدادی مهارکننده جدید طراحی شد که فعالیت آن‌ها (pK_i) از فعال‌ترین مولکول در مجموعه داده‌ها بیشتر بود و مقادیر انرژی اتصال آن‌ها مطلوب بود. علاوه‌بر این، برای مولکول‌های جدید، خواص ADMET و شباهت دارویی آن‌ها نیز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج نشان داد که این مولکول‌های جدید نیز فارماکوکینتیک مطلوبی دارند. بنابراین، این نتایج می‌توانند برای طراحی و توسعه مهارکننده‌های جدید پروتئاز HIV-1 موثر باشند.

اگرچه این مطالعه به نتایج خاصی دست یافته است، اما هنوز محدودیت‌هایی وجود دارد. از جمله، این مطالعه عمدتاً مبتنی بر روش‌های محاسباتی است، بنابراین، نیاز به بررسی بیشتر توسط روش‌های برون‌تنی، درون‌تنی و سایر روش‌های تجربی برای توسعه درمان‌های مؤثر علیه آنزیم پروتئاز HIV-1 مورد نیاز است.

فایل ضمیمه

فایل ضمیمه از طریق این لینک در دسترس است (برای دسترسی به این فایل می‌توانید به سایت مجله مراجعه کرده و لینک مقاله را در آنجا باز کنید).

تشکر و قدردانی:

این پژوهش با حمایت دانشگاه ع.پ.ش انجام شده است، لذا نویسندگان مقاله لازم می‌دانند مراتب قدردانی خود از دانشگاه ع.پ.ش را اعلام نمایند.

مشارکت و نقش نویسندگان:

ط.ع.: ایده و طراحی مطالعه، جمع‌آوری داده‌ها و آنالیز و تفسیر نتایج و نگارش نسخه اولیه مقاله؛ ر.ع.: جمع‌آوری داده‌ها و آنالیز و تفسیر نتایج و نگارش نسخه اولیه مقاله. همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله را تأیید نمودند.

تضاد منافع:

نویسندگان اظهار داشتند که فاقد هرگونه تضاد منافع هستند.

بازیابی داده‌ها:

مجموعه داده ارائه شده در مطالعه با درخواست از نویسنده مربوطه در حین ارسال یا پس از انتشار در دسترس است.

کد اخلاق:

IR.SKUMS.REC.1400.092.

- cmdc.202000101.
10. Zephyr J, Kurt Yilmaz N, Schiffer CA. Viral proteases: Structure, mechanism and inhibition. *Enzymes*. 2021;**50**:301-33. [PubMed ID:34861941]. [PubMed Central ID:PMC8595904]. <https://doi.org/10.1016/bs.enz.2021.09.004>.
11. Voshavar C. Protease Inhibitors for the Treatment of HIV/ AIDS: Recent Advances and Future Challenges. *Curr Top Med Chem*. 2019;**19**(18):1571-98. [PubMed ID:31237209]. <https://doi.org/10.2174/1568026619666190619115243>.
12. Aruksakunwong O, Promsri S, Wittayanarakul K, Nimmanpipug P, Lee V, Wijitkosoom A, et al. Current Development on HIV-1 Protease Inhibitors. *Current Computer Aided-Drug Design*. 2007;**3**(3):201-13. <https://doi.org/10.2174/157340907781695431>.
13. Nastro BM, Pagliano P, Zannella C, Folliero V, Masullo A, Rinaldi L, et al. HIV and Drug-Resistant Subtypes. *Microorganisms*. 2023;**11**(1). [PubMed ID:36677513]. [PubMed Central ID:PMC9861097]. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010221>.
14. Rajendran M, Ferran MC, Mouli L, Babbitt GA, Lynch ML. Evolution of drug resistance drives destabilization of flap region dynamics in HIV-1 protease. *Biophys Rep (N Y)*. 2023;**3**(3):100121. [PubMed ID:37662576]. [PubMed Central ID:PMC10469570]. <https://doi.org/10.1016/j.bpr.2023.100121>.
15. Shaker B, Ahmad S, Lee J, Jung C, Na D. In silico methods and tools for drug discovery. *Comput Biol Med*. 2021;**137**:104851. [PubMed ID:34520990]. <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2021.104851>.
16. Verma J, Khedkar VM, Coutinho EC. 3D-QSAR in drug design—a review. *Curr Top Med Chem*. 2010;**10**(1):95-115. [PubMed ID:19929826]. <https://doi.org/10.2174/156802610790232260>.
17. Kubinyi H. QSAR and 3D QSAR in drug design Part 1: methodology. *Drug Discovery Today*. 1997;**2**(11):457-67. [https://doi.org/10.1016/s1359-6446\(97\)01079-9](https://doi.org/10.1016/s1359-6446(97)01079-9).
18. Kubinyi H. QSAR and 3D QSAR in drug design Part 2: applications and problems. *Drug Discovery Today*. 1997;**2**(12):538-46. [https://doi.org/10.1016/s1359-6446\(97\)01084-2](https://doi.org/10.1016/s1359-6446(97)01084-2).
19. Akamatsu M. Current state and perspectives of 3D-QSAR. *Curr Top Med Chem*. 2002;**2**(12):1381-94. [PubMed ID:12470286]. <https://doi.org/10.2174/1568026023392887>.
20. Cramer RD, Patterson DE, Bunce JD. Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. *J Am Chem Soc*. 1988;**110**(18):5959-67. [PubMed ID:22148765]. <https://doi.org/10.1021/ja00226a005>.
21. Klebe G, Abraham U, Mietzner T. Molecular similarity indices in a comparative analysis (CoMSIA) of drug molecules to correlate and predict their biological activity. *J Med Chem*. 1994;**37**(24):4130-46. [PubMed ID:7990113]. <https://doi.org/10.1021/jm00050a010>.
22. Ali A, Reddy GS, Nalam MN, Anjum SG, Cao H, Schiffer CA, et al. Structure-based design, synthesis, and structure-activity relationship studies of HIV-1 protease inhibitors incorporating phenyloxazolidinones. *J Med Chem*. 2010;**53**(21):7699-708. [PubMed ID:20958050]. [PubMed Central ID:PMC2996262]. <https://doi.org/10.1021/jm1008743>.
23. Clark M, Cramer RD, Van Opdenbosch N. Validation of the general purpose tripos 5.2 force field. *J Comput Chem*. 2004;**10**(8):982-1012. <https://doi.org/10.1002/jcc.540100804>.
24. Kearsley SK, Smith GM. An alternative method for the alignment of molecular structures: Maximizing electrostatic and steric overlap. *Tetrahedron Comput Methodol*. 1990;**3**(6):615-33. [https://doi.org/10.1016/0898-5529\(90\)90162-2](https://doi.org/10.1016/0898-5529(90)90162-2).
25. Cramer RD, Bunce JD, Patterson DE, Frank IE. Crossvalidation, Bootstrapping, and Partial Least Squares Compared with Multiple Regression in Conventional QSAR Studies. *Quantitative Structure-Activity Relationships*. 2006;**7**(1):18-25. <https://doi.org/10.1002/qsar.19880070105>.
26. Kellogg GE, Semus SF, Abraham DJ. HINT: a new method of empirical hydrophobic field calculation for CoMFA. *J Comput Aided Mol Des*. 1991;**5**(6):545-52. [PubMed ID:1818090]. <https://doi.org/10.1007/BF00135313>.
27. Waller CL. A comparative QSAR study using CoMFA, HQSAR, and FRED/SKEYS paradigms for estrogen receptor binding affinities of structurally diverse compounds. *J Chem Inf Comput Sci*. 2004;**44**(2):758-65. [PubMed ID:15032558]. <https://doi.org/10.1021/ci0342526>.
28. Golbraikh A, Tropsha A. Beware of q²! *J Mol Graph Model*. 2002;**20**(4):269-76. [PubMed ID:11858635]. [https://doi.org/10.1016/s1093-3263\(01\)00123-1](https://doi.org/10.1016/s1093-3263(01)00123-1).
29. Bungard CJ, Williams PD, Schulz J, Wiscount CM, Holloway MK, Loughran HM, et al. Design and Synthesis of Piperazine Sulfonamide Cores Leading to Highly Potent HIV-1 Protease Inhibitors. *ACS Med Chem Lett*. 2017;**8**(12):1292-7. [PubMed ID:29259750]. [PubMed Central ID:PMC5733263]. <https://doi.org/10.1021/acsmmedchemlett.7b00386>.
30. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*. 2004;**25**(13):1605-12. [PubMed ID:15264254]. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>.
31. Dallakyan S, Olson AJ. Small-molecule library screening by docking with PyRx. *Methods Mol Biol*. 2015;**1263**:243-50. [PubMed ID:25618350]. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7_19.
32. Pires DE, Blundell TL, Ascher DB. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J Med Chem*. 2015;**58**(9):4066-72. [PubMed ID:25860834]. [PubMed Central ID:PMC4434528]. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>.
33. Sander T, Freyss J, von Korff M, Reich JR, Rufener C. OSIRIS, an entirely in-house developed drug discovery informatics system. *J Chem Inf Model*. 2009;**49**(2):232-46. [PubMed ID:19434825]. <https://doi.org/10.1021/ci800305f>.
34. Khedkar VM, Ambre PK, Verma J, Shaikh MS, Pissurlenkar RR, Coutinho EC. Molecular docking and 3D-QSAR studies

- of HIV-1 protease inhibitors. *J Mol Model*. 2010;**16**(7):1251-68. [PubMed ID:20069323]. <https://doi.org/10.1007/s00894-009-0636-5>.
35. Tong J, Wu Y, Bai M, Zhan P. 3D-QSAR and molecular docking studies on HIV protease inhibitors. *J Mol Structure*. 2017;**1129**:17-22. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.09.052>.
36. Halder AK. Finding the structural requirements of diverse HIV-1 protease inhibitors using multiple QSAR modelling for lead identification. *SAR QSAR Environ Res*. 2018;**29**(11):911-33. [PubMed ID:30332922]. <https://doi.org/10.1080/1062936X.2018.1529702>.
37. Tong J-B, Bai M, Zhao X. 3D-QSAR and docking studies of HIV-1 protease inhibitors using R-group search and Surflex-dock. *Med Chem Res*. 2016;**25**(11):2619-30. <https://doi.org/10.1007/s00044-016-1701-0>.
38. Fang R-J, Zhang Y-J, Wang W-X, Wu T-L, Zhang S-J, He Y-Y, et al. The 3D-QSAR Study, Molecular Docking, and ADMET Analysis of Darunavir Derivatives of HIV-1 Protease Inhibitors. *Letters Drug Design Discovery*. 2024;**21**(13):2590-603. <https://doi.org/10.2174/1570180820666230818100059>.
39. Hamdache B, Tabti K, Er-rajy M, Dib M, ElFarouki K, Ouchetto K, et al. QSAR Modeling and Molecular Docking Studies of New Substituted Pyrazolyl-Pyrimidinones as Potent HIV-1 Inhibitors. *Curr Chem Biol*. 2024;**18**(3):157-75. <https://doi.org/10.2174/0122127968317638241014090751>.

Research Article

A Computational Study of Some Benzenesulfonamide Derivatives as HIV-1 Protease Enzyme Inhibitors: Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity relationship and molecular docking

Rahman Abdizade¹, Tooba Abdizadeh²

¹Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

²Clinical Biochemistry Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

*Corresponding Author: Clinical Biochemistry Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. Email: t.abdizadeh@gmail.com

Received 18/01/2025; Accepted 06/04/2025

Abstract

Background: The prevalence of human immunodeficiency virus 1 (HIV-1) infection remains a global concern due to the lack of a definitive treatment. Human immunodeficiency virus 1 protease is a homodimeric aspartic protease enzyme essential in the maturation process of HIV protein and could be a promising target for treating retrovirus infections.

Objectives: This study aims to use three-dimensional quantitative structure-activity relationships (3D-QSAR) and molecular docking methods to design HIV-1 protease inhibitors.

Method: The 3D-QSAR method was studied on a set of HIV-1 protease inhibitors utilizing comparative molecular field analysis (COMFA) and comparative molecular similarity indices analysis (COMSIA) models. The Distill method was employed for molecule alignment, and the 3D-QSAR models were generated, and contour maps were analyzed. Several new molecules were designed using contour maps obtained from the CoMSIA model, and their activities were predicted using the QSAR tool. Additionally, a molecular Docking protocol was used to determine the binding modes and to obtain the best molecule conformations. The pharmacokinetic profile of these compounds was predicted through an in silico absorption, distribution, metabolism, and excretion (ADMET) study.

Results: The statistical parameters of both the CoMFA ($q^2 = 0.692$, $r^2_{ncv} = 0.910$, $r^2_{pred} = 0.721$) and CoMSIA ($q^2 = 0.715$, $r^2_{ncv} = 0.953$, $r^2_{pred} = 0.789$) models exhibit high predictive ability. According to the CoMSIA model findings, a series of novel HIV-1 protease inhibitors was introduced with more potent activity than the most active phenyl sulfonamide compound, and docking results revealed extensive hydrogen and hydrophobic interactions in the binding of the designed molecules to the HIV-1 protease. Moreover, they possess favorable pharmacokinetic properties.

Conclusions: The 3D-QSAR and molecular docking techniques will help rationalize the design of the novel inhibitors targeting the HIV-1 protease.

Keywords: 3D-Quantitative Structure-Activity Relationship, HIV-1 Protease, Molecular Docking Simulation, Benzenesulfonamides