

بررسی مهارکننده بالقوه علیه آنزیم پروتئاز اصلی سارس-کوو-۲ (عامل ایجاد کووید-۱۹) با کمک شبیه سازی دینامیک مولکولی

سید محمد حسین رحمتی^{۱*}، سیف اله جلیلی^۲، آتنا پاک‌زادیان^۳

۱ و * - نویسنده مسئول: دانشجوی دکتری، رشته شیمی فیزیک، گروه شیمی فیزیک، دانشکده شیمی و دانشگاه خواجه نصیرالدین طوسی، s.rahmati@email.kntu.ac.ir

۲ - استاد تمام، رشته شیمی فیزیک، گروه شیمی فیزیک، دانشکده شیمی و دانشگاه خواجه نصیرالدین طوسی، sjalili@kntu.ac.ir

۳ - پسادکتری، رشته شیمی فیزیک، گروه شیمی فیزیک، دانشکده شیمی و دانشگاه خواجه نصیرالدین طوسی، a.pakzadiyan@email.kntu.ac.ir

واژگان کلیدی: کووید-۱۹، سارس-کوو-۲، مهارکننده‌های پروتئاز اصلی، ايسولفور، بنزیروتیازولینون، گزینش‌پذیری

۱- مقدمه

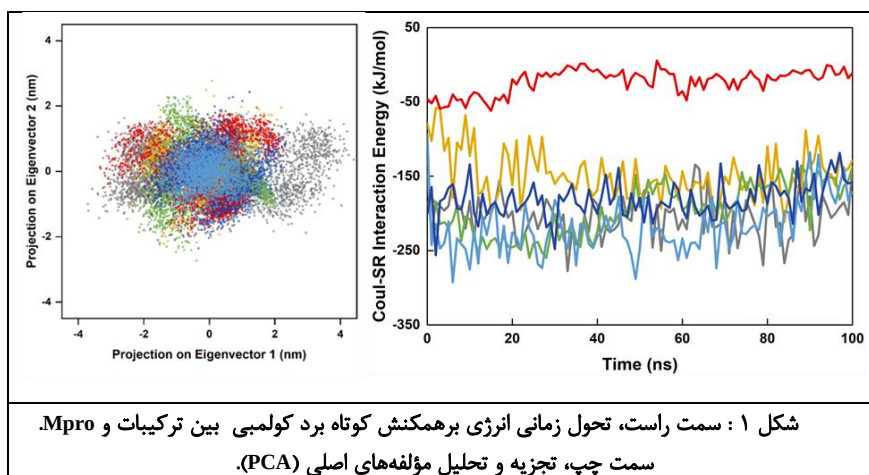
آنزیم پروتئاز اصلی ویروسی (Mpro) را می‌توان به عنوان یک هدف دارویی مهم در نظر گرفت که در نقاط کلیدی مربوط به چرخه حیات ویروس سارس-کوو-۲ عامل ایجاد بیماری کووید-۱۹ است. پس از ورود ویروس به سلول میزبان و آزاد شدن ژنوم آن، دو پلی پروتئین ایجاد شده، که ۱۶ پروتئین‌های غیر ساختاری را در بردارند. در این میان، Mpro با شروع از کلیواژ اتولیتیک خود، و به تنهایی، با کلیواژ حداقل ۱۱ جایگاه از جایگاه‌های این پلی پروتئین‌ها، پروتئین‌های غیر ساختاری ۴ تا ۱۶ را تولید می‌کند (1). توسعه درمان‌های موثرتر و ایمن‌تر برای کووید-۱۹ به شدت مورد نیاز است (2). در این پژوهش، بر اساس ویژگی‌های مهارکنندگی، فارماکولوژیک و ساختاری ما چهار ترکیبات جدید، b0، b1، b2 و b3 را طراحی کرده و سپس به کمک شبیه سازی دینامیک مولکولی مورد ارزیابی قرار دادیم. این ترکیبات به طور ویژه از طریق مهار فعالیت آنزیمی Mpro، عفونت سارس-کوو-۲ را می‌تواند بالقوه مسدود کند و انتخاب‌پذیری را برای این ترکیبات به ارمغان آورند. به طور برجسته، ترکیب b3 دارای برهمکنش‌های کلیدی می‌باشد.

۲- روش

ساختار کریستال گرافی شده Mpro با پرتوی X (PDB cod: 6LU7) (3) به عنوان پذیرنده در مطالعات داکینگ مولکولی مورد استفاده قرار گرفت. پس از طراحی ترکیبات به عنوان مهارکننده‌ها ساختار سه بعدی آن‌ها در مجموعه پایه hf/6-31+g به وسیله نرم افزار Gaussian 09 ایتیمایز و نیز در فرمت pdb ذخیره شد. همچنین از پکیج نرم افزار GROMACS 2019 برای انجام شبیه‌سازی‌های کلاسیک MD استفاده شده است. فایل‌های توپولوژی و مختصات پروتئین در میدان نیروی Amber99SB در پکیج GROMACS تهیه شد. کمپلکس پروتئین-لیگاندها در جعبه مکعبی به ابعاد $12 \times 12 \times 12$ نانومتر مربع قرار داده و برای حلال، از جعبه با مدل آب TIP3P استفاده گردید. سپس، فاز تعادل رسانی در هنگرد NVT برای ۵۰۰ ps و پس از آن در هنگرد NPT برای ۱ ns اجرا شد. طول پیوندها با استفاده از الگوریتم LINCS محافظت شدند. برهمکنش‌های دوربرد با استفاده از PME محاسبه شد. تمام شبیه سازی‌ها در این مطالعه در ۱۰۰ ns انجام شد.

۳- بحث

در پژوهش حاضر، ما با بهره گیری از توصیف دقیق اتمی از کمپلکس آنزیم - بازدارنده بررسی کردیم که آیا این ترکیبات می‌توانند به صورت انتخابی تر عمل کرده و با جایگاه فعال برهمکنش قابل قبولی داشته و آن را اشغال کنند. در شکل ۱ نمونه‌برداری ساختاری برای هر نگاشت لحظه ای از ۵۰ ns پایانی شبیه سازی در امتداد ویژه بردار ۱ و ویژه بردار ۲ تصویر شده است. نتایج ترسیم شده نشان داد که کمپلکس دارای ترکیب b3 حرکات جمعی کمتری در مقایسه با دیگر کمپلکس‌ها دارد. همچنین، کمپلکس حاوی این ترکیب توزیع نسبتاً متقارن و گوسی در امتداد ویژه بردار ۱ و ۲ دارد که نشان می‌دهد سیستم تقریباً از یک چاه انرژی آزاد بازدید کرده است؛ این نتایج می‌تواند نشان دهنده پایداری قابل توجه کمپلکس حاوی b3 و از عمل ایستادن آن باشد. با توجه به تحول زمانی انرژی برهمکنش کوتاه برد کولمبی در سمت راست شکل ۱ و میانگین داده‌ها، مربوط به ۵۰ ns پایان شبیه سازی، لیگاند b3 بیشترین مقدار مطلق را دارا بوده به طوری که، در اغلب فریم‌های شبیه سازی در محدوده ای پایین‌تر از دیگر کمپلکس‌ها در حال نوسان بوده است. این امر با توجه به کاهش مجموع گروه دهنده‌ها و پذیرنده‌ها پیوندهای هیدروژنی حائز اهمیت است، زیرا با وجود افزایش جذب خوراکی همچنان برهمکنش قطبی قوی‌تری را با پروتئین هدف ایجاد کرده است.



۴- نتیجه گیری

ارزیابی‌های انجام شده ترکیب b3 را یک کاندید نویدبخش معرفی می‌کند که ظرفیت بررسی به عنوان یک ترکیب راهبر در مقابله با کووید-۱۹ را دارد و می‌توان چهارچوب آن را برای بررسی‌های بیشتر مورد استفاده قرار داد. نهایتاً، برای توسعه درمان‌های قوی‌تر و ایمن‌تر ضد سارس-کوو-۲، عبور از مقاومت احتمالی Mpro در مقابل دارو و ارائه داروهای پن-کروناویروس جهت مقابله با ویروس‌های کرونای نوظهور، پیشنهاد می‌شود که چهارچوب ترکیب b3 جهت بهینه سازی مورد ارزیابی‌های محاسباتی و تجربی بیشتر قرار بگیرد.

1. V'kovski P, Gerber M, Kelly J, Pfaender S, Ebert N, Lagache SB, et al. Determination of host proteins composing the microenvironment of coronavirus replicase complexes by proximity-labeling. *Elife*. 2019;8:e42037.
2. V'kovski P, Gerber M, Kelly J, Pfaender S, Ebert N, Lagache SB, et al. Determination of host proteins composing the microenvironment of coronavirus replicase complexes by proximity-labeling. *Elife*. 2019;8:e42037.
3. Jin Z, Du X, Xu Y, Deng Y, Liu M, Zhao Y, et al. Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature*. 2020;582(7811):289–93.