

طراحی مهارکننده‌های جدید پتیدی با گروه‌های عاملی بر پایه بنزن برای پروتئاز ویروس HTLV-1 با روش‌های محاسباتی

جواد ملکی^۱، میترا خیرآبادی^{۲*}، صفیه صوفیان^۳، ریحانه صباغزاده^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه حکیم سبزواری.

^۲ استادیار بیوفیزیک، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه حکیم سبزواری

^۳ استادیار بیوفیزیک، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور اراک

^۴ استادیار بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه حکیم سبزواری

نشانی نویسنده مسئول: سبزواری، دانشگاه حکیم سبزواری، میترا خیرآبادی

E-mail: m.kheirabadi@hsu.ac.ir

وصول: ۹۳/۱۱/۱۳، اصلاح: ۹۳/۳/۲۸، پذیرش: ۹۳/۴/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: ویروس HTLV-1 جز خانواده رتروویروس‌ها می‌باشد، این ویروس در انسان باعث ایجاد بیماری‌هایی نظیر لوسمی T-Cell بزرگسالان (ATL)، HAM/TSP و ... می‌گردد. یکی از پروتئین‌های مهم در این ویروس پروتئاز است که برای بلوغ ویروس نیز ضروری می‌باشد. مهارکننده‌هایی که تاکنون برای پروتئاز ساخته شده‌اند، فعالیت مناسبی را از خود نشان نداده‌اند. در این مطالعه سری جدیدی از مهارکننده‌ها ایجاد و با استفاده از ابزارهای محاسباتی نحوه اتصال آن‌ها به پروتئین پروتئاز سنجیده شد.

مواد و روش‌ها: ترکیبات بر اساس مشابهت با پپتید اصلی و بر پایه پتیدوممیتیک ایجاد گردیدند. ترکیبات بوسیله نرم‌افزار هایپرکم بوجود آمدند و عمل بهینه‌سازی بر روی لیگاندهای طراحی شده و لیگاندهای همراه با پروتئین که دارای ساختار کریستال بودند، بعد از جدا کردن آن‌ها انجام گردید. ADME و ویژگی سمیت ترکیبات با استفاده از برنامه‌های تحت وب <http://www.molinspiration.com> و <http://azar-services.in-silico.ch> تعیین و عمل داکینگ بر روی آن‌ها انجام گردید.

یافته‌ها: بررسی‌های ADME ترکیبات طراحی شده نتایج مناسبی را ارائه دادند. بررسی‌ها حاکی از سمیت نسبتاً مناسبی برای لیگاندهای طراحی شده بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج بدست آمده از داکینگ نیز نشانگر اختصاصی بودن لیگاندهای طراحی شده در مهر پروتئاز بودند. در نهایت این که نتایج نشان دادند مهارکننده‌های طراحی شده می‌توانند به عنوان ترکیبات مشابه، داروی موثری برای مهار این پروتئین بوده و در مقابله با این ویروس بکار روند.

کلمات کلیدی: HTLV-1، پروتئاز، طراحی دارو، مهارکننده

مقدمه

بزرگسالان (ATL)، تشنج گرمسیری فلج‌کننده (HAM/TSP) و اختلالات عصبی وجود دارد (۱، ۲). این ویروس جزء خانواده رتروویروس‌ها با ژنوم RNA تک

ویروس HTLV-1 بصورت وسیعی در بیماری‌های متنوعی در انسان از قبیل لوسمی T-Cell

رشته‌ای با پولارایته مثبت می‌باشد و در گروه دلتاویروس‌ها قرار می‌گیرد. ویروس HTLV-1 برای اولین بار در سال ۱۹۸۰ از لنفوسیت‌های خون محیطی بیمار دارای لنفوم پوستی توسط گالو کشف گردید. (۳-۵)

یکی از آنزیم‌های مهم در چرخه همانندسازی و بلوغ ویروس HTLV-1 پروتئین پروتئاز می‌باشد. این آنزیم یک اسپارتیک پروتئاز است، این نوع از پروتئازها بوسیله وجود دو رزیدو اسیدی در جایگاه فعال خود شناسایی می‌گردند (۶). پروتئاز یک همودیمر است که هر زنجیره آن حاوی ۱۲۵ رزیدو است و بشدت به سوبسترای خود اختصاصی می‌باشد. این پروتئین مسئول پردازش پلی پروتئین Gag-pro-pol و Gag در طی بلوغ بوده و از آن رو، کاتالیز آن مرحله ای ضروری در رونویسی ویروسی می‌باشد. (۷، ۸)

پروتئاز دارای جایگاه‌های برش زیادی نظیر کپسید/ماتریکس، نوکلئوکپسید/کپسید، پروتئاز/Gag و پروتئاز P3/ می‌باشد. (۹)

مشخص گردیده است که ۲۸٪ توالی HTLV-1 پروتئاز همسان با پروتئاز ویروس ایدز می‌باشد. مدل مولکولی آنزیم نشان داده است که ناحیه اتصال سوبسترا که حفاظت شده‌تر است ۴۵٪ همسانی در ساختار را نشان می‌دهد. از اینرو، ویژگی سوبسترا و خصوصیات مهار هر دو آنزیم اساساً متفاوت از هم می‌باشند (۸)، ولی بدلیل اختصاصی‌تر بودن پروتئاز HTLV-1، ترکیبات دارویی که برای این آنزیم ساخته می‌شود به احتمال فراوان برای آنزیم مشابه آن در ویروس ایدز نیز کاربردی خواهد بود.

اگرچه تاکنون مهارکننده‌های بسیاری برای آنزیم پروتئاز ساخته شده است ولی این ترکیبات که یکی از آنها، مهارکننده‌های بر پایه استاتین (۱۰، ۱۱) است فعالیت مناسبی را از خود بروز نمی‌دهند و نوع دیگری از مهارکننده‌ها که بعد از مهارکننده‌های بر پایه استاتین بوجود آمدند تحت عنوان مهارکننده‌های سری KNI،

مهارکننگی خوبی را از خود نمایش می‌دهند ولی از نظر مشابهت دارویی (بالا بودن وزن مولکولی در بعضی از مهارکننده‌های این سری و دیگر موارد) و همچنین مقاومت دارویی و ویژگی بالای پروتئاز ویروس دارای مشکلاتی هستند. (۱۲)

بدلیل وجود مشکلاتی که در بالا به آن‌ها اشاره گردید، تصمیم به ایجاد سری جدیدی از ترکیبات با استفاده از داده‌های بیوانفورماتیکی و روش داکینگ گرفته شد که از نظر سمیت نسبت به سری‌های قبلی، سمیت کمتری از خود بروز دهند و همچنین بر اساس قواعد دارویی نیز مشابهت بیشتری به دارو داشته باشد.

روش کار

بر پایه مشابهت سنجی که تاکنون بین پپتید اصلی قرار گیرنده در جایگاه فعال آنزیم و پپتیدهای مصنوعی انجام شد، مشخص گردید که ترکیبات پپتیدوممیتیک (peptidomimetics) بر پایه پپتید، اسکلت مناسبی برای قرار گرفتن در جایگاه فعال آنزیم می‌باشند و می‌توان با اضافه نمودن گروه‌های عاملی ویژه‌ای بر آن، ترکیباتی کاملاً موثر ایجاد نمود. (۱۳، ۱۴)

مهارکننده‌های Kni-10683، Kni-10729، Kni-10681 و Kni-10673 از سری مهارکننده‌های KNI که ساختار کریستالوگرافی شده از آن‌ها موجود بودند با کدهای PDB بترتیب ۳LIV، 3LIX، 3LIT و 3LIQ از پایگاه داده‌های پروتئینی (PDB) انتخاب گردیدند

دلیل انتخاب این نوع از مهار کننده به جای مهارکننده‌های بر پایه استاتینی، نداشتن ساختار منظم و کامل پروتئاز حاوی مهار کننده بر پایه استاتین بود و همچنین ترکیبات طراحی شده در این تحقیق، مشابه این سری از مولکول‌ها و تقلیدی از پپتیدهای طبیعی هستند (۱۳).

ساختار مهارکننده‌های Kni-10683، Kni-10729، Kni-10681 و Kni-10673 از ساختار کریستالی آن جدا

ترکیبات بر اساس تحلیل اطلاعات بدست آمده از پایگاه‌های بالا طراحی و بوسیله نرم‌افزار هایپرکم ایجاد و بهینه سازی شدند. سه نمونه از ترکیباتی که ویژگی‌های مناسبی از خود بروز داده بودند برای انجام مرحله بعدی انتخاب گردیدند.

ساختار پروتئین پروتاز با کد LIT³ و با رزولوشن ۲.۱۹ آنگستروم از پایگاه داده‌های پروتئینی PDB برای این کار انتخاب و اصلاحات مناسب بر روی آن اعمال گردید و سپس مولکول‌های آب از ساختار حذف و اتم‌های هیدروژن به ساختار اضافه گردیدند.

عمل داکینگ با نرم‌افزار اتوداک انجام و فضای شبکه ۰.۳۷۵ آنگستروم و محفظه مکعبی شکل با ابعاد ۵۰×۵۰×۵۰ انتخاب شد. از الگوریتم ژنتیک لامارکی (LGA) بدلیل این که نسبت به بقیه الگوریتم‌ها دارای اعتبار و دقت بالاتری می‌باشد، استفاده شد و هم‌همی پیوندهای آمیدی غیر قابل چرخش انتخاب و داکینگ برای صد دور انجام شد. (۱۷)

نتایج

مهارکننده‌های سری KNI توسط روش‌های بیوانفورماتیکی مورد مطالعه قرار گرفتند و بر اساس ویژگی‌هایی که بدست دادند ترکیبات جدید نیز طراحی شدند.

جدول زیر ۱ توسط سایت <http://www.molinspiration.com> برای ترکیبات سری KNI موجود و ترکیباتی که در این تحقیق طراحی گردیدند با نام‌های ترکیب اول (Me-B)، ترکیب دوم (Cl-B) و ترکیب سوم (OH-Cl-B) بدست آمدند.

برنامه molinspiration برای توصیف برخی از صفات مولکولی استفاده می‌گردد. این برنامه حاوی توصیف‌گرهای قوانین ۵ گانه لپینسکی (۱۸)، TPSA که سطح قطبی مولکول را مورد ارزیابی قرار می‌دهد و برای مقایسه و بررسی جذب روده‌ای، فراهمی زیستی و

گردید و بوسیله نرم‌افزار هایپرکم عمل بهینه‌سازی یا کمینه سازی انرژی بر روی آن‌ها با استفاده از میدان نیروی OPLS به مدت یک پیکوثانیه انجام شد. هدف از این عمل، ایجاد ساختاری با ویژگی‌های توپولوژیک و انرژی مناسب برای بدست آوردن پایدارترین حالت و پایین ترین انرژی مولکول می‌باشد (۱۵). ساختار مهارکننده‌های بالا برترتیب با نرم‌افزار هایپرکم باز و بهینه سازی هندسی انجام شد و سپس جعبه محلولی برای هرکدام ایجاد و عمل دینامیک مولکولی تحت دمای ۳۰۰ کلوین با زمان اجرای ۰.۵ پیکوثانیه و شرایط دوره‌ای مرزی با step size ۰.۰۰۵ پیکوثانیه انجام گردید و مولکول‌ها، بهینه‌ترین ساختار خود را بدست آوردند. بر اساس مشابهت و توانایی‌هایی که ترکیبات پپتویدی از خود نشان داده‌اند، ترکیبات پپتویدی بعنوان اسکلت اصلی کار انتخاب گردیدند و فقط گروه‌های عاملی تغییر پیدا نمودند. ترکیب اول (Me-B) شامل حلقه بنزن متیله در ابتدا، یک پنج ضلعی بعنوان دومین گروه عاملی و یک بنزن در انتها می‌باشد. ترکیب دوم (Cl-B) مشابه ترکیب اول ایجاد گردید با این تفاوت که به بنزن انتهایی دو اتم کلر اضافه گردید. در ترکیب پپتویدی سوم (OH-Cl-B) نیز به بنزن انتهایی ترکیب دوم یک گروه هیدروکسیل نیز اضافه گردید. دلیل اضافه کردن اتم کلر، افزایش خصوصیات دارویی ترکیب می‌باشد. خصوصیت مشابهت دارویی و چند مورد دیگر از خصوصیات ترکیبات تازه طراحی شده و سری KNI بوسیله سایت <http://www.molinspiration.com> نیز مورد ارزیابی قرار گرفتند. این سایت قوانین لپینسکی و مقدارمهارتی که مولکول می‌تواند بر روی انواع پروتئین‌های سلولی ایجاد کند را بر اساس مقایسه ترکیب با داده‌های تجربی موجود بدست می‌دهد (۱۶). خصوصیات سمیت این ترکیبات نیز بوسیله پایگاه قبلی بر اساس مقایسه مولکول با داده‌های موجود در پایگاه بدست آمد که برای این کار از سایت <http://lazar-services.in-silico.ch> استفاده شد.

نفوذپذیری ترکیبات کاربرد فراوانی دارد. با این برنامه تحت وب، violation و حجم مولکولی نیز بدست آمد. همچنین توانایی مهار پروتئازها نیز مورد بررسی قرار گرفت.

نرم‌افزار lazar، برنامه‌ای رایگان بوده و به دو صورت تحت وب و لینوکس موجود می‌باشد. این برنامه بر پایه الگوریتم‌های آماری و مشابهت شیمیایی قطعات ترکیب با قطعات سمی، خواصی نظیر جهش‌زایی، سمیت کبدی انسان، سرطان‌زایی در موش و همستر و... با صحت و دقت بالایی بدست می‌دهد. همچنین نتایجی که بوسیله پایگاه <http://lazar-services.in-silico.ch>

بدست می‌آیند پتانسیل سرطان‌زایی و جهش‌زایی ترکیب را نسبت به چند نوع بافت موجود، مورد ارزیابی قرار می‌دهد که نتایج حاصل از این بررسی‌ها در جدول ۲ خلاصه شده است.

برنامه‌های داکینگ با استفاده از الگوریتم‌های جستجوی ویژه خود، تمایل و نحوه اتصال ۲ ترمیب به هم را بررسی می‌کنند که میتوان با استفاده از این برنامه‌ها، بهترین حالت اتصال ۲ ترکیب به هم را بدست آورد. اتصالات کئورماسیونی آزمایشگاهی ترکیبات سری KNI و ترکیبات طراحی شده توسط برنامه اتوداک مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند. مقادیر انرژی اتصال، ثابت

جدول ۱: نتایج بدست آمده بوسیله پایگاه بیوانفورماتیکی <http://www.molinspiration.com>

ویژگی‌های زیستی	Kni-10681	Kni-10673	Kni-10729	Kni-10683	Me-B	Cl-B	OH-Cl-B
milogP	۱.۵۵	۱.۲۲۵	۴.۰۸	۲.۱۳۵	۱.۰۲۸	۲.۸۵۹	۱.۳۳۴
TPSA	۱۵۳.۸۵۴	۱۵۳.۸۵۴	۱۶۹.۴۰۱	۱۵۳.۸۵۴	۱۹۵.۰۷۳	۱۵۴.۶۱۷	۱۵۴.۴۵۵
natoms	۴۶	۴۵	۵۶	۴۷	۴۳	۴۱	۳۹
MW	۶۵۳.۸۹	۶۳۹.۸۶۳	۷۹۵.۰۶	۶۶۷.۹۱۷	۶۳۶.۹۰۱	۶۰۴.۹۰۳	۵۷۴.۸۷
nON	۱۰	۱۰	۱۳	۱۰	۱۳	۱۱	۹
nOHNH	۶	۶	۵	۶	۹	۷	۹
nviolations	۲	۲	۲	۲	۳	۳	۲
nrotb	۱۳	۱۳	۱۶	۱۳	۱۵	۱۵	۱۴
volume	۶۲۴.۸۲۳	۶۰۸.۲۷۶	۷۵۶.۳۳	۶۴۱.۱	۶۱۲.۰۸	۵۹۵.۹۹۷	۵۶۶.۶۰۱
Protease inhibitor	۰.۷۷	۰.۸۵	-۰.۴۱	۰.۶۵	۰.۳۵	۰.۲۴	۰.۴۵

جدول ۲: نتایج بدست آمده بوسیله <http://lazar-services.in-silico.ch>

سمیت در انواع سلول‌ها	Kni-10681	Kni-10673	Kni-10729	Kni-10683	Me-B	Cl-B	OH-Cl-B
DSSTox Carcinogenic Potency DBS MultiCellCall	۰.۰۷۴۵	۰.۰۷۴	۰.۰۷۹۳	۰.۰۷۴۵	۰.۱۹۴	۰.۱۹۴	۰.۰۷۹۹
DSSTox Carcinogenic Potency DBS Mutagenicity	۰.۱۱۸	۰.۱۱۸	۰.۱۱۸	۰.۱۱۸	۰.۰۸۵۶	۰.۰۶۷	۰.۰۶۴
DSSTox Carcinogenic Potency DBS Rat Kazius-Bursi Salmonella mutagenicity	۰.۰۶۸۸	۰.۰۶۸۸	۰.۰۶۵۸	۰.۰۶۸۸	۰.۰۸۲۳	۰.۰۸۲۳	۰.۰۲۸
DSSTox Carcinogenic Potency DBS SingleCellCall	۰.۰۵۶۴	۰.۰۵۶۴	۰.۰۵۶۲	۰.۰۵۶۴	۰.۱۱۹	۰.۱۱۹	۰.۰۹۰۴
DSSTox ISSCAN v3a Canc	۰.۰۷۸۸	۰.۰۷۸۸	۰.۰۷۲۳	۰.۰۷۸۸	۰.۱۲۱	۰.۱۹۸	۰.۰۴۰۹
DSSTox Carcinogenic Potency DBS Hamster	۰.۲۳۹	۰.۲۳۹	۰.۲۳۴	۰.۲۳۹	۰.۰۰۰۲۵۶	۰.۱۳۶	۰.۱۳۶
DSSTox Carcinogenic Potency DBS Mouse	۰.۰۸۱۶	۰.۰۸۱۶	۰.۰۷۸۶	۰.۰۸۱۶	۰.۰۶۲۹	۰.۱۰۳	۰.۰۷۷۸

جدول ۳: نتایج بدست آمده توسط داکینگ

ترکیبات	دهنده پیوند هیدروژنی	گیرنده پیوند هیدروژنی	طول پیوند هیدروژنی A ⁰	ثابت مهار (nM)	انرژی داکینگ (Kcal/mol)
Kni-10673	H3 ترکیب	ASP97:OD1	۲.۱	۱.۱۱	-۸.۱۲
	H42 ترکیب	LEU57: O	۲.۲	(μM)	
	H20 ترکیب	LEU57: O	۱.۹		
Kni-10681	H3 ترکیب	MET37: O	۱.۸	(μM)۳.۱۷	-۷.۵
Kni-10729	H24 ترکیب	LEU57: O	۲.۱	(μM)۱.۶۲	-۷.۹
Kni-10683	H20 ترکیب	ASP32:OD2	۲.۱	۱.۹۷	-۷.۷۸
	HH22 ترکیب	O3 ترکیب	۱.۸		
	H3 ترکیب	MET37: O	۱.۸		
	H46 ترکیب	ASP32: OD1	۲.۰		
OH-Cl-B	H ترکیب	ASP32:OD1	۲.۲	۶۱۸.۳۴	-۸.۴۷
	LEU57HN	O ترکیب	۲.۸		
	H ترکیب	LEU57O	۱.۸		
Cl-B	H ترکیب	ASP32:OD1,OD2	۱.۹	۹۷۲.۵۹	-۸.۲
	H ترکیب	ASP32:OD2	۲.۰		
	H ترکیب	GLY34O	۱.۹		
	H ترکیب	ASP32:OD2	۱.۸		
	TRP98HE1	O ترکیب	۱.۸		
	H ترکیب	ASP32:OD2	۲.۲		
	ASP36HN	O ترکیب	۱.۸		
Me-B	H ترکیب		۱.۸	۱.۰۲	-۸.۱۷
	H ترکیب	ASP32:OD2	۲.۱		
	H ترکیب	ASP32:OD2	۲.۳		
	H ترکیب	ASP32:OD1	۲.۲		
	H ترکیب	MET37O	۲.۲		
	H ترکیب	ASN97O	۱.۹		
	H ترکیب	ASP32:OD1	۱.۸		

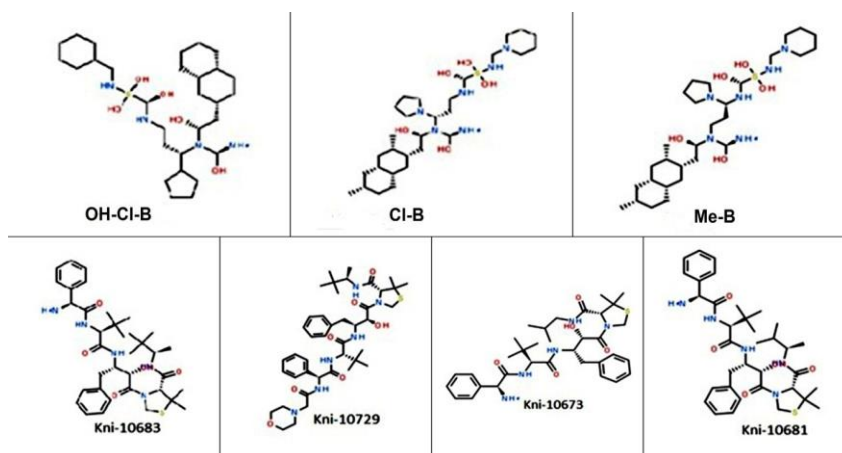
این پروتئین می‌باشند (۱۳، ۱۹، ۲۰) ترکیبات طراحی شده ویژگی‌ها و خصوصیات مناسبی را از خود حین طراحی و ارزیابی بروز دادند. نتایج بدست آمده از <http://www.molinspiration.com> نشان دادند که ترکیبات طراحی شده نیز مهار مناسبی بر روی پروتئین پروتئاز دارند و از نظر وزن، حجم و *milog* نیز نتایج مناسبی را ارائه دادند.

نتایج بدست آمده توسط <http://lazar-services.in-silico.ch> نیز نشان دهنده برتری نسبی ترکیبات طراحی شده جدید نسبت به ترکیبات قبلی بودند به جز در مورد همستر، که داده‌های بیوانفورماتیکی

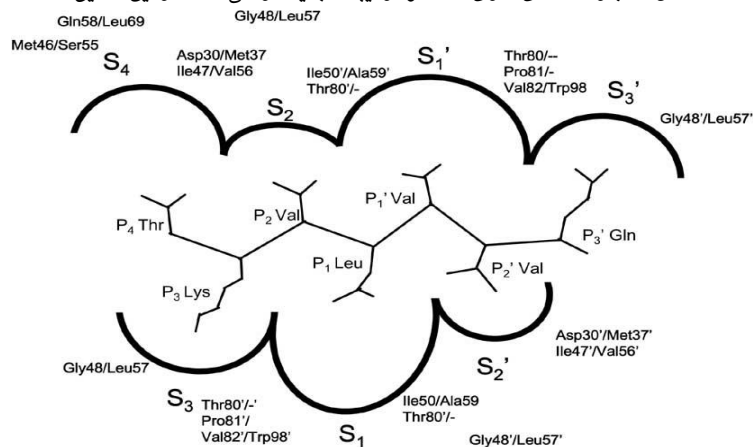
مهار بر اساس نتایج بهترین کنفورماسیونهای حاصل از داکینگ انتخاب گردید، دهنده‌ها و گیرنده‌های پیوندهای هیدروژنی و همچنین طول پیوند ترکیبات متصل شده به پروتئین بدست آمد که در جدول زیر قابل مشاهده می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

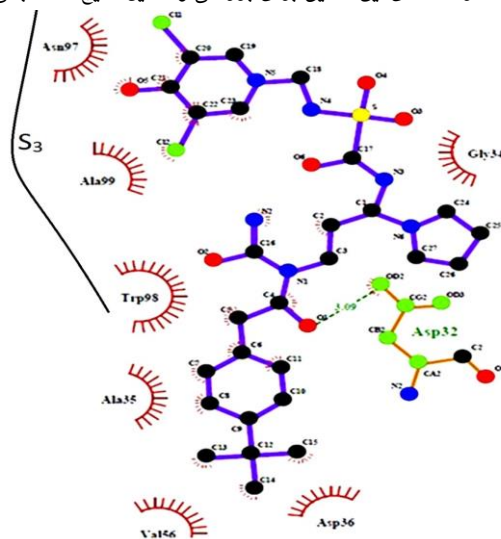
بر اساس پژوهش‌هایی گذشته و داده‌های بیوانفورماتیکی بدست آمده در بالا، محققین این مطالعه چنین نتیجه گرفتند که مولکول‌های بر پایه پپتیدومیمتیک یکی از مناسب‌ترین گزینه برای طراحی منطقی دارو برای



شکل ۱: مهارکننده‌های سری KNI و ترکیبات جدید طراحی شده در این تحقیق



شکل ۲: پاکت اتصالی پروتئین پروتئاز به پپتید طبیعی می‌باشد که جانشینی‌های آمینواسیدی و تاثیری که این کار بر روی فعالیت پروتئاز می‌گذارد را بصورت تجربی مورد بررسی قرار داده است. از داده‌های این تحقیق برای بررسی و تحلیل نتایج محاسباتی مطالعه حاضر استفاده گردید. (۲۱)



شکل ۳: بر همکنش احتمالی مهارکننده OH-Cl-B با پروتئاز

(جایگاه اتصالی که در شکل با S3 در پروتئین مشخص شده است به مکانی اشاره دارد که تمامی تغییرات لیگاند در این ناحیه اعمال شده است.)

نتایج داکینگ ترکیبات طراحی شده نشان دادند که سری مهارکننده‌های ما مسیری مناسب را برای پیشرفت دارند، همچنانکه از سری طراحی شده مشخص است ما

موید سرطان‌زا بودن آن بوده است، ولی در موش که موجود نزدیک‌تری به انسان از نظر تکاملی می‌باشد نتایج به نسبت ترکیبات قبلی رضایت بخش تر بودند.

با هم می‌باشد و همچنین ASP32 نیز با دو مولکول از آب‌هایی که جزئی از پروتئین محسوب می‌شوند پیوند هیدروژنی با طول پیوند ۱.۹ آنگسترومی ایجاد کرده است. بخش S₃ بزرگ می‌باشد و قسمتی از آن در سطح پروتئین و در معرض حلال قرار دارد در نتیجه، زنجیره های جانبی P₃ در لیگاند می‌توانند با رزیدوهای قطبی بیشتری در سطح پروتئین میان کنش دهند یا با رزیدوهای هیدروفوب در داخل پروتئین میان کنش دهند.

مطالعات انجام شده بر روی پاکت اتصال پروتئاز (۲۱) (شکل-۲)، موید آن هستند که بخش S₃ اتصالات مناسبی را با رزیدوهای بزرگ هیدروفوب ایجاد می‌نماید و ما با ایجاد تغییرات مناسب در گروه های عملکردی توانستیم نتایج نسبتاً مناسبی را بگیریم. نتایج حاکی از آن است که پپتید های مصنوعی طراحی شده، توانایی ایجاد پیوند هیدروژنی بالاتری را از خود نمایش می‌دهند، همچنین در هر سه ترکیب طراحی شده هر دو رزیدو آسپارتیک، جایگاه فعال با لیگاند هایشان پیوند هیدروژنی با طول پیوند مناسبی را ایجاد کرده اند.

ما این ترکیبات جدید را بعنوان پایه برای طراحی های بعدی خود قرار خواهیم داد تا بتوانیم داروهای بهتری را برای مقابله با این ویروس و ویروس های مشابه آن نظیر ویروس ایدز در آینده طراحی و تولید نماییم.

توانسته‌ایم از نتیجه ۱.۰۲ میکرومول به ۶۱۸.۳۴ نانومول در ترکیب آخر برسیم.

MET37 مهارکننده Me-B از بخش S₄ که بیرونی ترین بخش پاکت اتصال پروتئین محسوب می‌شود با لیگاند پیوند هیدروژنی مناسبی را ایجاد نموده است، همچنین هر دو رزیدو آسپارتیک بوسیله مولکول های آب با طول پیوند مناسبی حدود ۱.۸ آنگستروم توانسته‌اند پیوند هیدروژنی قوی را با لیگاند ایجاد کنند، از طرف دیگر این ترکیب توانسته است با رزیدو ASN97 از بخش S₃ که به سختی در دسترس قرار دارد نیز پیوند ایجاد نماید که در نوع خود، قابل توجه می‌باشد.

در مهارکننده CI-B تغییرات اتصال لیگاند به پروتئین باعث گردیده رزیدو Trp98⁷ که در لوپ ۹۵-۹۸ پروتئاز قرار دارد بوسیله یک مولکول آب با رزیدو آسپارتیک، جایگاه فعال پیوند هیدروژنی ایجاد نماید. این رزیدو توانایی اتصال به رزیدو یا قسمت های بزرگ و هیدروفوب را دارا می‌باشد.

مهارکننده OH-CI-B که بیشترین مهارتی را نیز از خود بروز داد با رزیدو LEU57 در بخش S₃ (شکل-۳)، به خوبی یک پیوند هیدروژنی را ایجاد نموده است. همچنین با رزیدو LEU57 بخش 's₃ نیز پیوندی هیدروژنی می‌دهد. نکته ای حائز اهمیت این است که پیوند مهارکننده با LEU57 در بخش S₃ دارای طول پیوند کوتاهی است که نشان دهنده قدرت پیوندی بالای این دو

References

1. Suhaker SB, Marian VL, Herger BE, Dennison KJ. Understanding HTLV-I Protease. *Chem Biol*, 2003;10(5):373-80.
2. Macera MJ PH, Peddanna N, Szabo P, Gogineni SK, Verma RS. T-cell Receptor Jp1/Jp2 Locus Rearrangements in an HTLV-1 -Positive T-cell Lymphoma With Complex Chromosomal Aberrations. *Am J Hematol*. 1996.
3. BERNARD J. POIESZ FWR, ADI F. GAZDAR, PAUL A. BUNN, JOHN D. MINNA, AND, GALLO RC. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Medical Sciences*, 1980; 77(12): 7415-9.
4. Luiz Cláudio Ferreira Romanelli PC, Anna Barbara de Freitas Carneiro Proietti. human t-cell lymphotropic virus type 1 (htlv-1): when to suspect infection? *Rev Assoc Med Bras*. 2010.
5. Changqing Li, Xianggun Li, Wuyuan Lu. Total chemical synthesis of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) protease via native chemical ligation: Reexamination of the functional effect of C-terminal truncation. *Biopolymers*. 2010; 94(4): 487-94.

6. Zhou J, Termin A, Wayland M, Tarby CHM. Solid-Phase Synthesis of Potential Aspartic Acid Protease Inhibitors Containing aHydroxyethylamine Isostere. *Tetrahedron Lett*, 1999; 40(14): 2729-32.
7. Nguyen JT, Kato K, Hidaka K, Kumada HO, Kimura T, Kiso Y. Design and synthesis of several small-size HTLV-I protease inhibitorswith different hydrophilicity profiles. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011; 21(8): 2425-9.
8. Kádas J, Weber IT, Bagossi P, Miklóssy G, Boross P, Tözsér J. Narrow substrate specificityand sensitivity towards ligand binding site mutationsof human T-cell leukemia virus type-1 protease. *J Biol Chem*, 2004; 279(26):27148-57.
9. Naka H, Teruya K, Bang JK, Aimoto S, Tatsumi T, Konno H, Nosaka K, Akaji K. Evaluations of substrate specificity and inhibition at PR/p3 cleavagesite of HTLV-1 protease. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006; 16(14): 3761-4.
10. Satoh T, Li M, Nguyen JT, Kiso Y, Wlodawer A. Crystal Structures of Inhibitor Complexes of HumanT-Cell Leukemia Virus (HTLV-1) Protease. *J Mol Biol*, 2010; 401(4): 626-41.
11. Ha JJ, Gaul DA, Mariani VL, Ding YS, Ikeda RA, Shuker SB. HTLV-I Protease Cleavage of P19/24 Substrates Is Not Dependenton NaCl Concentration. *Bioorg Chem*, 2002; 30(2): 138-44.
12. Kumada H-O,Nguyen J-T, Kakizawa T, Hidaka K, Kimura T, Hayashi Y, Kiso Y. Development of [Ile40]HTLV-I proteaseinhibition assay using novel fluorogenicand chromogenic substrate. *Journal of Peptide Science*, 2011; 17(8): 569-75.
13. Kharb R, Rana M, Sharma PC, Shahar Yar M. Therapeutic importance of peptidomimetics in medicinal chemistry. *J Chem Pharm Res*. 2011; 3(6): 173-86.
14. Ruzza P. Peptides and Peptidomimeticsin Medicinal Chemistry 2012.
15. Caffery ML, Dobosh PA, Richardson DM. *Laboratory Exercises Using HyperChem: Hypercube*; 1998.
16. •AJJFMM, •TBHJSZC, Parvez A. Petra, Osiris and Molinspiration (POM) together as a successful support in drug design: antibacterial activityand biopharmaceutical characterization of some azo Schiff bases. *Med Chem Res*, 2011.
17. Emrah Atilgan JH. Improving Protein Docking Using Sustainable Genetic Algorithms. *International Journal of Computer Information Systems and Industrial Management Applications*. 2011.
18. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv*, ۲۰01; 46(1-3): 3-26.
19. Löwik DWPM, Mulders SJE, Cheng Y, Shao Y, Liskamp RMJ. Synthetic Receptors Based on Peptidosulfonamide Peptidomimetics. *Tetrahedron Letters*. 1999;37(45): 8253-6.
20. Izzo I, Cola CH De, Riccardis F De. Properties and Bioactivities of Peptoids Tagged with Heterocycles, 2011; 82(2): 981-1006.
21. Tözsér J, Weber IT. The Protease of Human T-Cell Leukemia Virus Type-1 is a Potential Therapeutic Target. *Curr Pharm Des*, 2007; 13(12): 1285-94.

Design the new virus HTLV-1 protease peptide inhibitors based on Benzene functional group by computational methods

Javad Maleki.,

MSc student of Biochemistry, Biology department, Faculty of Basic Science, Hakim Sabzevari University

Mitra Kheirabadi.,

Assistant Professor of Biophysic, Biology department, Faculty of Basic Science, Hakim Sabzevari University

Safieh Soufian.,

Assistant Professor of Biophysic, Biology department, Faculty of Basic Science, Payame Noor university of Arak.

Reihaneh Sabaghzadeh

Assistant Professor of Biochemistry, Biology department, Faculty of Basic Science, Hakim Sabzevari University

Received:02/02/2014, Revised:18/06/2014, Accepted:12/07/2014

Corresponding author:

Mitra Keyrabad, Sabzevar,
Hakim Sabzevari University.
E-mail: m.kheirabadi@hsu.ac.ir

Abstract

Background: Virus htlv-1 is in the retrovirus family; the virus causing human diseases such as adult T-Cell Leukemia (ATL), HAM / TSP and etc... One of the major proteins in the virus is protease that is essential for virus maturation. Inhibitors that ever made for the protease didn't show any properly activity. We have created a new series of inhibitors and with using of computational tools to calculate the way of interactions to the protease protein.

Materials and Methods: The compounds based on the similarity of the original peptide and based on peptidomemitics were created. Compounds were created by software Hyperchem and optimization act on designed ligand and ligand with the protein crystal structure were performed after separating them. ADME and toxicity characteristics of the compounds were obtained by using Web applications in <http://lazar-services.in-silico.ch> and <http://www.molinspiration.com> and docking were performed on them.

Results: The results of studies on ADME designed compounds already showed a good result. Toxicity studies also indicate relatively good results; also the docking results were showed good specificity.

Conclusion: Our studies showed that designed inhibitors can be effective drug-like compounds to inhibiting the protein and therefore use to contrast with this virus.

Key Words: HTLV-1, Protease, Drug Design, Inhibitors