

Docking and QSAR Study on Triazole Derivatives as More Potent and Effective Antifungal Agents

Iman M. ¹ PhD, Asna Ashari B. ² PhD, Davood A. ^{2*} PhD

¹ Chemical Injuries Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Aims: In this research, a group of triazole derivatives with CYP51 inhibitory activity was subjected to a docking study followed by a quantitative structure-activity relationship (QSAR) analyses.

Methods: Desired azoles were built using the HyperChem program and conformational studies were performed through a semi-empirical method. A docking study on all of the compounds was performed using the AutoDock program. For this QSAR study, different descriptors were calculated.

Results: Docking results revealed theazole-heme coordination, hydrogen bond, π - π and π -cation interactions were involved in the drug-receptor interactions. The developed QSAR model indicated the importance of atomic van der Waals volumes and atomic electro statistics volume on the potency of this group of ligands. The sum of the IDDE, SAA, P1s, Mor17m and DX were identified as the most significant descriptors that affected the biological response. The developed QSAR model was statistically significant according to the validation parameters.

Conclusion: According to the results of the docking and QSAR studies, the entire designed compound showed a good inhibition effect on the active site of the enzyme.

Keywords: Antifungal, CYP51 Inhibitor, Docking, QSAR, Triazole

مطالعات داکینگ و QSAR بر روی گروهی از مشتقات تری آزول به منظور دستیابی به عوامل ضد قارچ قوی تر و مؤثرتر

مریم ایمان^۱ PhD، بهاره اثنی عشری^۲ PhD، اصغر داود^{۳*} PhD

^۱ مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، تهران، ایران

^۲ دپارتمان شیمی دارویی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

اهداف: در این مطالعه، بر روی یک دسته از مشتقات تری آزول با اثر مهارکنندگی آنزیم CYP51 مطالعات داکینگ و به دنبال آن آنالیز رابطه فعالیت و ساختار کمی (QSAR) انجام گرفت.

روش‌ها: با استفاده از برنامه‌ی Hyperchem ساختار مولکولی آزول‌های طراحی شده ساخته شد. برای انجام مطالعات داکینگ از برنامه AutoDock استفاده شد. در مطالعات QSAR، توصیف‌گرهای مختلفی محاسبه گردیدند.

یافته‌ها: بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعات داکینگ مهم‌ترین پیوندهای درگیر در اتصال دارو با رسپتور کوئوردیناسیون حلقه آزول با پروتئین هم، باند هیدروژنی و اتصالات هیدروفوبیک پای-پای و پای-کاتیونیک می‌باشند. مدل QSAR نهایی نشان داد که افزایش اتصالات اتمی واندروالس و الکترواستاتیک در افزایش قدرت این گروه از ترکیبات مؤثر می‌باشند. همچنین این مدل نشان داد توصیف‌گرهای IDDE، SAA، P1s، Mor17m و DX؛ در مجموع مؤثرترین توصیف‌گرها در پاسخ‌های بیولوژیک این قبیل ترکیبات می‌باشند. مدل QSAR به دست آمده از این روش از نظر آماری به طور کامل با پارامترهای معتبرسازی مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده از مطالعات داکینگ و QSAR، تمامی ترکیبات طراحی شده تأثیرات مهارتی خوبی را در جایگاه فعال آنزیم از خود نشان می‌دهند.

کلیدواژه‌ها: ضد قارچ، مهارکننده CYP51، داکینگ، QSAR، تری آزول

مقدمه

میزان بروز عفونت‌های قارچی سیستمیک با افزایش تعداد بیماران دارای نقص سیستم ایمنی مانند بیماران تحت شیمی‌درمانی، دریافت‌کنندگان پیوند اعضا و بیماران با نقص اکتسابی سیستم ایمنی یا ایدز در حال افزایش است [۱]. در این میزبانان با سیستم ایمنی معیوب، پاتوژن‌های قارچی به‌آسانی می‌توانند به بافت‌ها حمله کرده و عفونت‌های جدی با میزان بالای بیماری و مرگ را ایجاد کنند [۲]. در مقایسه با تعداد زیاد آنتی‌بیوتیک‌های ضد باکتری، تعداد کمی عوامل ضد قارچ وجود دارند [۱]. در بین این عوامل، داروهای آزول در اولین خط درمان قرار دارند زیرا که گستره درمانی وسیعی علیه قارچ‌های پاتوژن از خود نشان می‌دهند. [۳-۷]

لانسترول ۱۴ آلفا دمتیلاز (CYP51) یک آنزیم حیاتی در چرخه زندگی قارچ می‌باشد و این آنزیم اولین هدف برای عوامل ضد قارچ آزول محسوب می‌شود [۷-۹]. مهار آنزیم سایتوکروم ۵۱ باعث از هم گسستگی غشاء پلاسمایی سلول قارچ شده که این امر موجب آسیب‌پذیر شدن سلول قارچ در برابر عوامل محیطی می‌شود [۸، ۱۰].

متأسفانه استفاده گسترده از داروهای ضد قارچ آزول باعث بروز مقاومت‌های شدید در مقابل این ترکیبات گشته است که این امر زمینه را برای تحقیقات برای ساخت آزول‌های جدید فراهم آورده است [۷].

در این مطالعه، ما از متدهای کامپیوتری مانند داکینگ [۱۱] و QSAR جهت برقراری ارتباط میان ساختار و فعالیت ترکیبات [۱۲]، کشف ترکیبات جدید و پیش‌بینی فعالیت‌های بیولوژیک ترکیبات طراحی شده استفاده کرده‌ایم. رابطه فعالیت و ساختار کمی یا همان QSAR به‌طور گسترده‌ای در پروسه‌های طراحی دارو به‌منظور بهبود شاخص‌های درمانی ترکیبات طراحی شده استفاده می‌شود [۱۳]. مدل‌های QSAR در واقع معادلات ریاضی هستند که بر مبنای رابطه‌ی ساختار شیمیایی ترکیبات با فعالیت بیولوژیک آن‌ها نوشته می‌شوند. اولین جزء در تعریف یک مدل QSAR، محاسبه توصیف‌گرهای ساختاری بر اساس ساختار مولکولی سه‌بعدی ترکیب می‌باشد. به‌طور کلی، طیف گسترده‌ای از این توصیف‌گرها در مدل‌سازی QSAR مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۴]. این توصیف‌گرها به گروه‌های مختلفی از جمله گروه‌های ساختاری، هندسی، مکانی، کوانتومی، شیمیایی و مانند آن‌ها تقسیم‌بندی می‌شوند. در این مقاله در حدود ۳۲۲۴ توصیف‌گر جهت ساخت مدل QSAR مورد استفاده قرار گرفته است [۱۵].

در اینجا ما از ترکیبی از مدل داکینگ و QSAR جهت رسیدن به یک مدل برای تعریف فعالیت ضد قارچ مشتقات آزول استفاده کرده‌ایم. در واقع در این مطالعه، یک سری از مشتقات تری‌آزول که در مطالعات قبلی به‌عنوان عوامل ضد قارچ مورد ارزیابی قرار گرفته بودند [۱۶] به‌منظور دستیابی به خواص فیزی‌کوشیمیایی ایده آل

برای ساخت آزول‌های قوی‌تر مورد بررسی و مطالعه‌ی داکینگ و به دنبال آن آنالیز QSAR قرار گرفتند.

روش‌ها

این مطالعات کامپیوتری بر اساس فعالیت ضد قارچی یک سری ۳۰ عددی از مشتقات آزول محاسبه گردیده است [۱۶]. ساختار شیمیایی این مشتقات و مقادیر MIC80 به‌دست‌آمده از آزمایشات و pMIC80 (همان $-\log \text{MIC}80$)، در جدول ۱ گزارش شده است. ساختار کریستالی آنزیم ۱۴-آلفا دمتیلاز (CYP51) از سرور بانک PDB دانلود گردیده است (این آنزیم در سرور PDB با نام 1EA1 ثبت گردیده است).

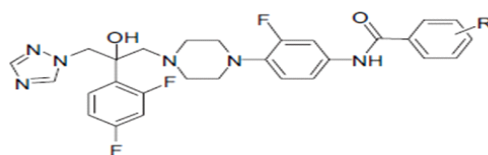
مدل‌سازی مولکولی و داکینگ: آنالیز کانفورمرها و مطالعات داکینگ بر اساس توضیحات قبلی انجام گرفت [۱۱، ۱۲]. به‌طور خلاصه، به حداقل رساندن انرژی مولکول‌ها در برنامه HyperChem با استفاده از روش‌های MM^+ Force field و PM^3 (semi-empirical) انجام گرفت.

الگوریتم Polack- Ribiere (گرادیان مزدوج) $(\text{RMS gradient}=0.01 \text{Kcal. mol}^{-1})$ برای بهینه کردن ساختارهای مولکولی مورد استفاده قرار گرفت. سپس کانفورمری که دارای کمترین انرژی بود انتخاب گردیده و جهت مطالعات داکینگ به برنامه AutoDock منتقل شد [۱۷]. صورت‌بندی‌های داک شده از هر مشتق بر اساس انرژی پیوندی در گروه‌هایی طبقه‌بندی شدند و در نهایت صورت‌بندی که دارای بیشترین انرژی پیوندی بود مورد آنالیز قرار گرفت. علاوه بر این با استفاده از برنامه AutoDock، اتصال میان حلقه آزول و هم، باندهای هیدروژنی و اتصالات هیدروفوبیک میان آزول‌های داک شده و ماکرومولکول رسپتور مورد بررسی قرار گرفت.

معادله QSAR

مقادیر pMIC80 محاسبه شده از میزان فعالیت یک سری ۳۰ عددی از مشتقات آزول بر علیه قارچ کاندیدا آلیکنز (رده‌ی ATCCY0109) به‌عنوان داده‌های بیولوژیکال مورد استفاده قرار گرفتند [۱۶]. تعداد زیادی از توصیف‌گرهای مولکولی با استفاده از برنامه‌های Hyperchem، Dragon و AutoDock مورد محاسبه قرار گرفت. ساختار ترکیبات با استفاده از برنامه‌ی Hyperchem ساخته شد و پس از اپتیمایز شدن، بهترین صورت‌بندی به برنامه‌ی Dragon جهت محاسبه‌ی توصیف‌گرهای مولکولی منتقل شد [۱۸]. برخی از نتایج داکینگ از جمله انرژی بین‌مولکولی، انرژی واندروالس، انرژی الکترواستاتیک، انرژی کلی داخلی، انرژی زاویه‌ای، انرژی غیر پیوندی، انرژی پیوندی و ثابت مهاری (K_i) به‌عنوان توصیف‌گرهای جدید (جدول ۲) در مطالعات QSAR مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۱. ساختمان شیمیایی مشتقات آزول و مقادیر MIC₈₀ و pMIC₈₀ به دست آمده از مطالعات آزمایشگاهی و مطالعات کامپیوتری



Compound	R	IC ₈₀ Exp. ^a	pIC ₈₀ Exp. ^b	pIC ₈₀ Pred. ^c	REP ^d
۱	H	-۰.۶۲۵	۱/۲.۴۱	۱/۳۸۵۸	-۰.۱۳۱۱
۲	2-fluoro	-۰.۱۵۲	۱/۸۱۸۱	۱/۶۷۰۹۴	-۰.۸۸۱
۳	4-fluoro	-۰.۱۵۲	۱/۸۱۸۱	۲/۱۹۰۹۷	-۰.۱۷۰۱
*۴	2-chloro	-۰.۱۵۲	۱/۸۱۸۱	۱/۷۶۴۷۷	-۰.۳۰۲
۵	3-chloro	-۰.۲۵	۰/۶۰۲۱	۰/۴۱۲۹	-۰/۴۵۷۹
۶	4-chloro	-۰.۶۲۵	۱/۲.۴۱	۰/۶۶۱۹	-۰/۸۱۸۹
۷	2,4-dichloro	-۰.۲۵	۰/۶۰۲۱	۱/۳۷۶۴	-۰/۵۶۲۵
*۸	2-bromo	-۰.۶۲۵	۱/۲.۴۱	۱/۳۴۳۵	-۰/۱۰۳۷
۹	3-bromo	-۰.۶۲۵	۱/۲.۴۱	۱/۵۷۴۰	-۰/۲۳۵۰
۱۰	2-methyl	-۰.۶۲۵	۱/۲.۴۱	۱/۲۴۶۲	-۰.۳۳۷
۱۱	3-methyl	-۰.۶۲۵	۱/۲.۴۱	۱/۰۴۴۷	-۰/۱۵۲۵
*۱۲	4-methyl	-۰.۶۲۵	۱/۲.۴۱	۱/۲۵۰۷	-۰.۳۷۲
۱۳	3-trifluoromethyl	-۰.۲۵	۰/۶۰۲۱	۰/۹۶۲۴	-۰/۳۷۴۴
۱۴	2,4-dimethyl	-۰.۲۵	۰/۶۰۲۱	۰/۷۱۰۲	-۰/۱۵۲۳
۱۵	3,4-dimethyl	-۰.۲۵	۰/۶۰۲۱	۱/۲۳۸۲	-۰/۵۱۳۷
*۱۶	4-ethyl	-۰.۲۵	۰/۶۰۲۱	۰/۶۷۰۰	-۰/۱۰۱۴
۱۷	4-propyl	۰/۹۹۹	۰/۰۰۰۴	۰/۴۲۰۹	-۰/۹۹۸۹
۱۸	4-isopropyl	۰/۹۹۹	۰/۰۰۰۴	۰/۵۰۷۴	-۰/۹۹۹۱
۱۹	4-butyl	۰/۹۹۹	۰/۰۰۰۴	۰/۳۲۶۵	-۰/۹۹۸۶
*۲۰	4-terbutyl	۰/۹۹۹	۰/۰۰۰۴	۰/۳۱۷۳	-۰/۹۹۸۶
۲۱	4-phenyl	-۰.۲۵	۰/۶۰۲۱	۱/۵۸۷۹	-۰/۲۴۱۶
۲۲	4-pentyl	-۰.۲۵	۰/۶۰۲۱	۰/۶۲۰۰	-۰/۰۲۸۹
۲۳	2-methoxy	-۰.۶۲۵	۱/۲.۴۱	۱/۲۴۱۳	-۰.۲۹۹
*۲۴	3-methoxy	-۰.۶۲۵	۱/۲.۴۱	۱/۱۳۸۸	-۰/۰۵۷۳
۲۵	4-methoxy	-۰.۱۵۲	۱/۸۱۸۱	۲/۰۶۳۰	-۰/۱۱۸۷
۲۶	4-trifluoromethoxy	-۰.۱۵۲	۱/۸۱۸۱	۱/۳۲۹۶	-۰/۳۶۷۳
۲۷	3,4-dimethoxy	-۰.۶۲۵	۱/۲.۴۱	۱/۴۷۷۹	-۰/۱۸۵۲
*۲۸	3,4,5-trimethoxy	-۰.۲۵	۰/۶۰۲۱	۰/۴۴۶۵	-۰/۳۴۸۲
۲۹	2-nitro	-۰.۱۵۲	۱/۸۱۸۱	۱/۸۱۲۶	-۰/۰۰۳۰
۳۰	4-nitro	-۰.۵۲	۰/۶۰۲۱	۰/۲۰۴۹	-۰/۰۲۷۰

^a کمترین غلظت مهاری از ترکیب که می‌تواند ۸۰ درصد از رشد قارچ را در محیط آزمایشگاهی مهار کند.

^b منفی لگاریتم کمترین غلظت مهاری از ترکیب که می‌تواند ۸۰ درصد از رشد قارچ را در محیط آزمایشگاهی مهار کند.

^c منفی لگاریتم محاسبه شده‌ی کمترین غلظت مهاری ترکیبات سنتز شده با استفاده از روش رگرسیون چندگانه خطی.

^d خطای نسبی پیش‌بینی یا REP که توانایی پیش‌بینی هر یک از اجزا را نشان می‌دهد و از طریق فرمول $\frac{|pLAD\ Pred. - pLAD\ Exp. |}{pLAD\ Pred.}$ محاسبه می‌شود.

دسته و راستا قرار می‌گیرند مشخص می‌شوند. از میان این توصیف‌گرهای هم‌راستا، توصیف‌گری که بیشترین ارتباط را با فعالیت مولکول داشته باشد نگه‌داشته شده و سایرین از ماتریکس داده‌ها حذف می‌شوند. در نهایت، روش رگرسیون خطی مضاعف یا MLR با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نگارش ۱۹) جهت محاسبه معادله‌ی QSAR مورد استفاده قرار گرفت.

توصیف‌گرهای محاسبه شده در یک ماتریکس داده‌ای جمع‌آوری می‌شوند که در این ماتریکس تعداد ردیف‌ها و ستون‌ها به ترتیب برابر با تعداد مولکول‌ها و توصیف‌گرها می‌باشد. بر اساس توضیحات قبلی [۱۹، ۲۰]، از میان تمام توصیف‌گرها، متغیرهای ثابت یا تقریباً ثابت مشخص شده و حذف می‌شوند و سپس ارتباط توصیف‌گرها با یکدیگر و با فعالیت مولکول‌ها (یا همان pMIC₈₀) مورد بررسی قرار گرفته و توصیف‌گرهایی که در یک

جدول ۲. نتایج داکینگ به دست آمده از برنامه AutoDock

Compound	intermolecular energy	Vdw-hb-desolv energy	Electrostatic energy	Total internal energy	Torsional energy	Unbound energy	K_i^b (μm)	ocked ^c energy	Binding ^d energy
۱	-۱۰/۵۷	-۱۰/۶	۰/۰۳	-۰/۵۷	۲/۶۸	-۰/۵۷	۱/۶۵	-۱۱/۱۴	-۷/۸۹
۲	-۱۲/۸	-۱۲/۸۷	۰/۰۷	۰/۵۶	۲/۶۸	۰/۵۶	۳۸/۵	-۱۲/۲۴	-۱۰/۱۲
۳	-۱۳/۸۸	-۱۳/۹۶	۰/۰۸	-۰/۹۴	۲/۶۸	-۰/۹۴	۶/۲۲	-۱۴/۸۲	-۱۱/۲
۴	-۱۰/۸۳	-۱۰/۷۷	-۰/۰۶	-۱/۰۸	۲/۶۸	-۱/۰۸	۱/۰۶	-۱۱/۹۱	-۸/۱۵
۵	-۱۱/۶۷	-۱۱/۶۶	-۰/۰۱	۰/۹۴	۲/۶۸	۰/۹۴	۲۶۰/۱۱	-۱۰/۷۳	-۸/۹۸
۶	-۱۳/۴۸	-۱۳/۶۷	۰/۱۹	-۰/۴۶	۲/۶۸	-۰/۴۶	۱۲/۲۶	-۱۳/۹۴	-۱۰/۷۹
۷	-۹/۲۴	-۹/۴۱	۰/۱۷	۰/۲۸	۲/۶۸	۰/۲۸	۱۵/۶۷	-۸/۹۶	-۶/۵۶
۸	-۱۰/۵۹	-۱۰/۶۷	۰/۰۷	۰/۴	۲/۶۸	۰/۴	۱/۵۹	-۱۰/۱۹	-۷/۹۱
۹	-۱۱/۶۹	-۱۱/۷۵	۰/۰۶	-۱/۲۹	۲/۶۸	-۱/۲۹	۲۵۰/۷۵	-۱۲/۹۸	-۹/۰۱
۱۰	-۱۰/۰۷	-۱۰/۱۵	۰/۰۸	-۰/۹۲	۲/۶۸	-۰/۹۲	۳/۸۴	-۱۰/۹۹	-۷/۳۹
۱۱	-۱۲/۰	-۱۲/۱۵	۰/۱۶	-۱/۱۱	۲/۶۸	-۱/۱۱	۱۴۹/۷۴	-۱۳/۱۱	-۹/۳۱
۱۲	-۱۴/۳	-۱۴/۳۶	۰/۰۶	-۱/۱۲	۲/۶۸	-۱/۱۲	۳/۰۶	-۱۵/۴۲	-۱۱/۶۲
۱۴	-۱۱/۱۹	-۱۱/۲۴	۰/۰۴	-۰/۱۶	۲/۹۸	-۰/۱۶	۹۶۱/۳۲	-۱۱/۳۵	-۸/۲۱
۱۴	-۱۱/۱۹	-۱۱/۲۱	۰/۰۲	-۰/۷۳	۲/۶۸	-۰/۷۳	۵۸۱/۶۵	-۱۱/۹۲	-۸/۵۱
۱۵	-۱۴/۸۴	-۱۵/۰۱	۰/۱۷	-۰/۸۶	۲/۶۸	-۰/۸۶	۱/۲۲	-۱۵/۷	-۱۲/۱۶
۱۶	-۱۵/۷۵	-۱۵/۷۸	۰/۰۳	-۰/۷۹	۲/۹۸	-۰/۷۹	۴۳۸/۷	-۱۶/۵۴	-۱۲/۷۷
۱۷	-۱۴/۲۱	-۱۴/۴۷	۰/۲۵	-۰/۶۳	۳/۲۸	-۰/۶۳	۹/۶۹	-۱۴/۸۴	-۱۰/۹۳
۱۸	-۱۲/۷۵	-۱۲/۹۵	۰/۲	۴/۲۹	۲/۹۸	۴/۲۹	۶۸/۸۲	-۸/۴۶	-۹/۷۷
۱۹	-۱۰/۹۶	-۱۰/۹۶	-۰/۰۱	-۰/۳۵	۳/۵۸	-۰/۳۵	۳/۸۶	-۱۱/۳۱	-۷/۳۸
۲۰	-۹/۹۴	-۹/۹۲	-۰/۰۲	-۰/۷۵	۲/۹۸	-۰/۷۵	۷/۹۶	-۱۰/۶۹	-۶/۹۶
۲۱	-۶/۷۹	-۶/۶۷	-۰/۱۲	۰/۷۶	۲/۹۸	۰/۷۶	۱/۶۱	-۶/۰۳	-۳/۸۱
۲۲	-۱۰/۳۹	-۱۰/۳۷	-۰/۰۲	۰/۱۵	۳/۸۸	۰/۱۵	۱۶/۷۲	-۱۰/۲۴	-۶/۵۲
۲۳	-۹/۹۳	-۹/۸۱	-۰/۱۲	-۰/۹۴	۲/۹۸	-۰/۹۴	۸/۱۵	-۱۰/۸۷	-۶/۹۴
۲۴	-۱۰/۴۵	-۱۰/۵۹	۰/۱۵	-۱/۱۸	۲/۹۸	-۱/۱۸	۳/۳۹	۱۱/۶۳	-۷/۴۶
۲۵	-۱۴/۵۴	-۱۴/۶۵	۰/۱۱	-۰/۳	۲/۹۸	-۰/۳	۳/۳۸	-۱۴/۸۴	-۱۱/۵۶
۲۶	-۱۰/۷۲	-۱۰/۸۴	۰/۱۲	۱/۲۳	۳/۲۸	۱/۲۳	۳/۵۲	-۹/۴۹	-۷/۴۴
۲۷	-۱۰/۳	-۱۰/۴	۰/۱	۲/۷	۳/۲۸	۲/۷	۷/۱۸	-۷/۶	-۷/۰۲
۲۸	-۹/۹۶	-۱۰/۰۱	۰/۰۵	۰/۲۶	۳/۵۸	۰/۲۶	۲۱/۱۸	-۹/۷	-۶/۳۸
۲۹	-۱۰/۵	-۱۰/۶۳	۰/۱۴	-۱/۰۳	۲/۹۸	-۱/۰۳	۳/۱۱	-۱۱/۵۳	-۷/۵۱
۳۰	-۱۳/۰۸	-۱۳/۲۲	۰/۱۳	-۰/۳	۲/۹۸	-۰/۳	۳۹/۶	-۱۳/۳۸	-۱۰/۱
fluconazole	-۸/۴۱	-۸/۳۶	-۰/۰۵	-۰/۸۸	۱/۷۹	-۰/۸۸	۱۴/۰	-۹/۲۹	-۶/۶۲
voriconazole	-۸/۷	-۸/۷۵	۰/۰۴	-۱/۲۱	۱/۷۹	-۱/۲۱	۸/۵۵	-۹/۹۱	-۶/۹۱

^a انرژی داخل مولکولی که از حاصل جمع انرژی واندروالس، باند هیدروژنی، انرژی حلال پوشی و انرژی الکترواستاتیک حاصل می‌شود.

^b ثابت مهاری (K_i)، در برنامه AutoDock 4 از طریق فرمول $K_i = \frac{\exp(\Delta G \times 1000)}{(R_{cal} \times TK)}$ محاسبه می‌شود که در آن همان ΔG همان انرژی داکینگ مولکول، R_{cal} معادل $1/98719$ و TK معادل $298/15$ می‌باشد.

^c انرژی پیوندی که از حاصل جمع انرژی داخل مولکولی و انرژی پیچشی به دست می‌آید.

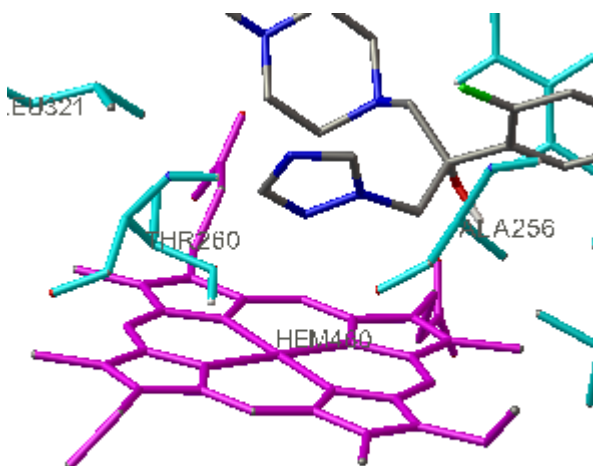
^d انرژی داکینگ که از حاصل جمع انرژی داخل مولکولی و انرژی داخلی کلی مولکول به دست می‌آید.

نتایج

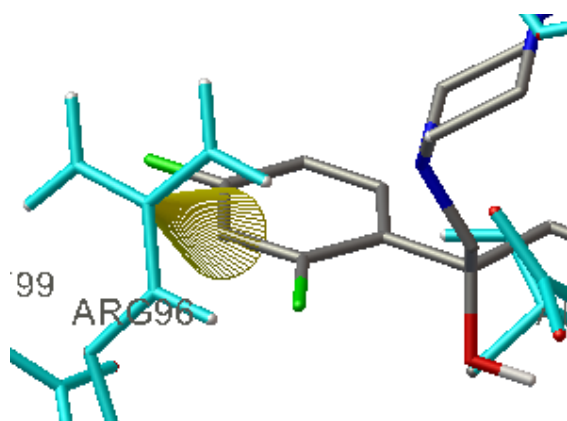
مدلسازی مولکولی و داکینگ: در این مطالعه، شبیه‌سازی داکینگ میان آنزیم ۱۴-آلفا دمتیلاز و ۳۰ ترکیب مشتق شده از تری‌آزول به منظور دست یافتن به اتصالات برقرار شده میان دارو و رستپور انجام گرفت. در این شبیه‌سازی مولکولی، انرژی پیوندی و انرژی داکینگ محاسبه شده از نظر مقداری، هر یک به ترتیب مجموعه‌ای از انرژی داخل مولکولی با انرژی آزاد پیچشی و انرژی داخلی لیگاند می‌باشد [۲۱، ۲۲].

بر اساس روشی که در بخش مواد و روش‌ها توضیح داده شد نتایج،

شامل انرژی پیوندی محاسبه شده، انرژی داکینگ و K_i برای تمامی مهارکننده سنتز شده در جایگاه فعال آنزیم در جدول ۲ لیست شده است. این نتایج نشان می‌دهد که تمام این ترکیبات عملکرد خوبی داشته و انرژی پیوندی قابل قبولی دارند. مطالعات داکینگ نشان می‌دهد، ترکیب ۱ (جدول ۲) با انرژی پیوندی $-7/89$ کیلوکالری بر مول نسبت به داروی رفرنس فلوکونازول فعالیت بیشتری را بر علیه آنزیم از خود نشان می‌دهد، (انرژی پیوندی فلوکونازول بر مبنای همین روش، $-6/62$ کیلوکالری بر مول محاسبه گردیده است) که این فرضیه به طور کامل با نتایج آزمایشگاهی مطابقت



شکل ۱. ساختار داک شده ترکیب شماره ۱۵ بر روی مدل 14-DM. در این شکل کوئوردیناسیون میان اتم آهن پروتئین هم و N_3 از حلقه‌ی تری‌آزول مشتق آزول نشان داده شده است. مطالعات داکینگ با استفاده از برنامه AutoDock انجام گرفته و مدل 14-DM از سرور PDB به دست آمده است



شکل ۲. ساختار داک شده ترکیب شماره ۷ بر روی مدل 14-DM؛ در این شکل مولکول آزول با استفاده از الگوی میله‌ای نشان داده شده است و پیوند پای-کاتیونیک میان مولکول آزول و اسید آمینه آرژنین ۹۶ رسپتور با استوانه‌های زرد رنگ نشان داده شده است. مطالعات داکینگ با استفاده از برنامه AutoDock انجام گرفته و مدل 14-DM از سرور PDB به دست آمده است

در تمامی ترکیبات، بخشی از مولکول که شامل یک زنجیره بلند هیدروکربنی متصل به حلقه پیرازین می‌باشد به‌طور کامل در یک پاکت هیدروفوبیک که از باقی‌مانده‌های اسیدهای آمینه فنیل آلانین ۸۳، فنیل آلانین ۲۵۵، فنیل آلانین ۷۸، تیروزین ۷۶، فنیل آلانین ۳۳ و آرژنین ۹۶ تشکیل شده است قرار می‌گیرد (شکل ۳). در بسیاری از لیگاندهای طراحی شده، بخش کربوکسامید نقش بسیار مهمی را در اتصال دارو و رسپتور بازی می‌کند. NH و کربونیل موجود در کربوکسامید این ترکیبات، با اتم اکسیژن یکی از اسیدهای آمینه آلانین ۷۳ (شکل ۴)، متیونین ۴۳۳ (شکل ۵) و تیروزین ۸۰ (شکل ۶) و یا با NH ایزولوسین ۳۲۳ (شکل ۷)، در جایگاه فعال آنزیم، پیوند هیدروژنی برقرار می‌کنند.

دارد. از طرف دیگر، براساس همین انرژی پیوندی محاسبه شده، (جدول ۲) برخی از ترکیبات طراحی شده باید از داروی رفرنس فلوکونازول قوی‌تر باشند، درحالی‌که داده‌های آزمایشگاهی این امر را تأیید نمی‌کند که علت آن می‌تواند پایین بودن $\log p$ این ترکیبات و مشکل در جذب آن‌ها باشد.

مدل‌سازی QSAR: براساس روندی که در بخش مواد و روش‌ها توضیح داده شد، روش MLR، برای پیدا کردن بهترین مدل QSAR مورد استفاده قرار گرفت (معادله ۱).

(معادله ۱):

$$\text{PMIC } 80 = (21/320 \pm 1/902) - (1/529 \pm 0/267) \text{ IDDE} - (0/004 \pm 0/001) \text{ SAA} - (12/101 \pm 1/902) \text{ P1s} - (1/018 \pm 0/217) \text{ MOR } 17 \text{ m} - (0/084 \pm 0/033) \text{ DX}$$

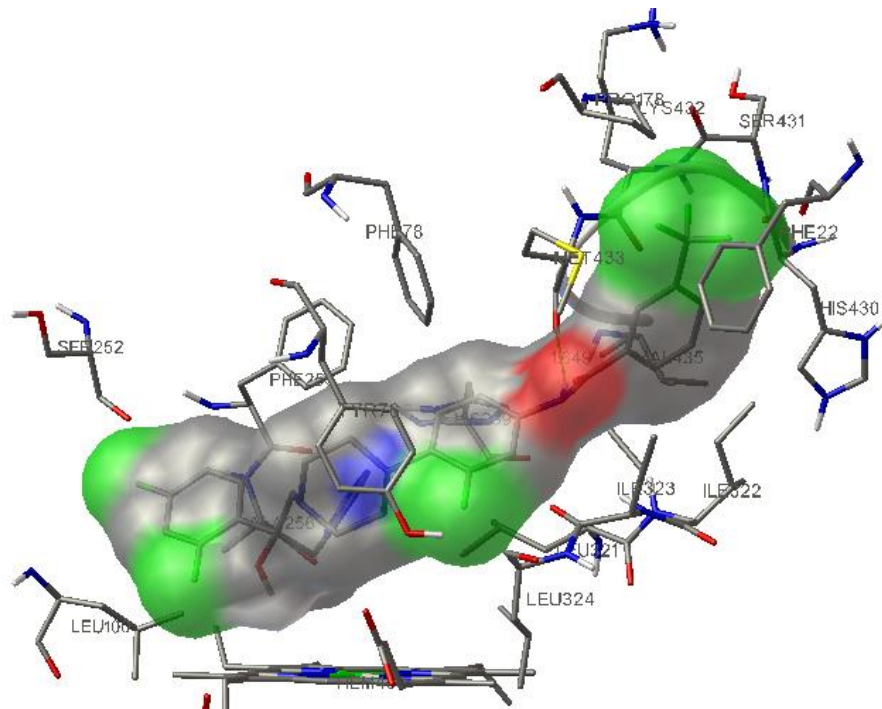
$$N=30, R^2=0/928, q^2=0/68, F=43/541, S=0/182, P < 0/0001$$

معادله‌ی ۱، می‌تواند ۹۲/۸ درصد از واریانس داده‌های MIC80 را توضیح دهد. همچنین MIC80 محاسبه شده، REP از این معادله پیش‌بینی شده و خطای نسبی پیش‌بینی شده (REP) از این معادله در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. این معادله در واقع تأثیر ۵ توصیف‌گر را بر فعالیت ضد قارچی این ترکیبات نشان می‌دهد. مطابق این معادله، توصیف‌گرهای مکانی 3D-MORSE (IDDE)، WHIM (P1s)، (mor17m) و خواص QSAR (شامل توصیف‌گرهای DX و SAA) در اتصال دارو و رسپتور مؤثر می‌باشند.

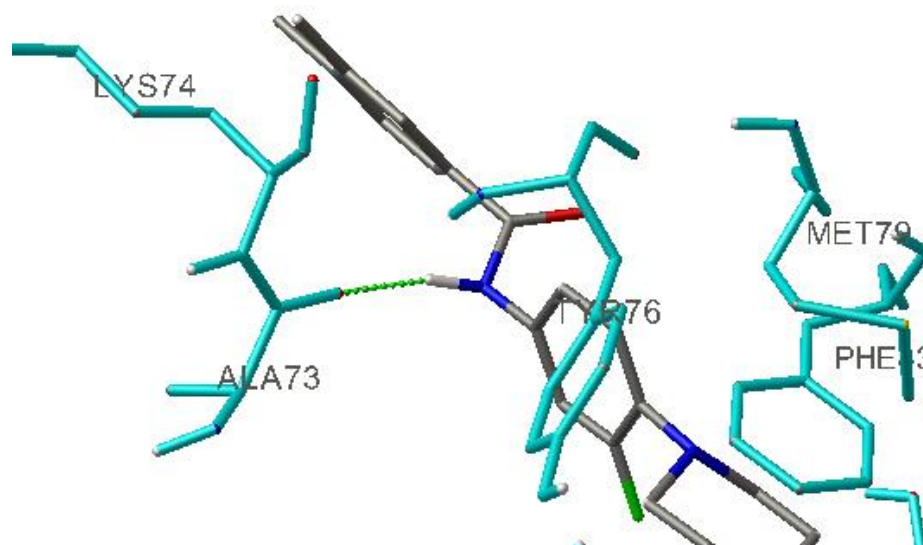
به‌طور کلی توصیف‌گرهای مکان نگر از هیدروژن‌های تحت فشار در شکل هندسی مولکول مشتق می‌شود که در این حالت اتم‌ها در رئوس و باندها به‌صورت خط واصل اتم‌ها نشان داده می‌شوند. اتصالات میان اتم‌ها را می‌توان به‌صورت انواع مختلفی از ماتریس‌های مکان نگر (مانند ماتریس‌های فاصله یا نزدیکی) توصیف کرد. همچنین این ماتریس‌ها را معمولاً می‌توان از نظر ریاضی به شکل یک عدد تعریف کرد که این عدد را به‌عنوان ثابت هندسی، شاخص تئوری - هندسی یا شاخص مکان نگر می‌شناسند. از میان توصیف‌گرهای مکان نگر، توصیف‌گر IDEE که اطلاعات مربوط به مقادیر فاصله‌ی زاویه‌ای را شامل می‌شود مهم‌ترین تأثیر را بر روی مدل QSAR دارد.

بحث

مطالعات داکینگ نشان می‌دهد در تمامی ترکیبات طراحی شده، یکی از اتم‌های نیتروژن در حلقه تری‌آزول، با اتم آهن هم در جایگاه فعال آنزیم ۱۴-آلفا دمتیلاز اتصال برقرار می‌کند، (شکل ۱) که این اتصال، مهم‌ترین برهم‌کنش برای مهار آنزیم محسوب می‌شود. در بسیاری از مشتقات طراحی شده، بخشی از مولکول که شامل حلقه فنیل و دو اتم فلوئور قرار گرفته بر روی این حلقه می‌باشد، با زنجیره‌ی جانبی اسید آمینه آرژنین ۹۶ در جایگاه فعال آنزیم پیوند پای-کاتیونیک تشکیل می‌دهند (شکل ۲).



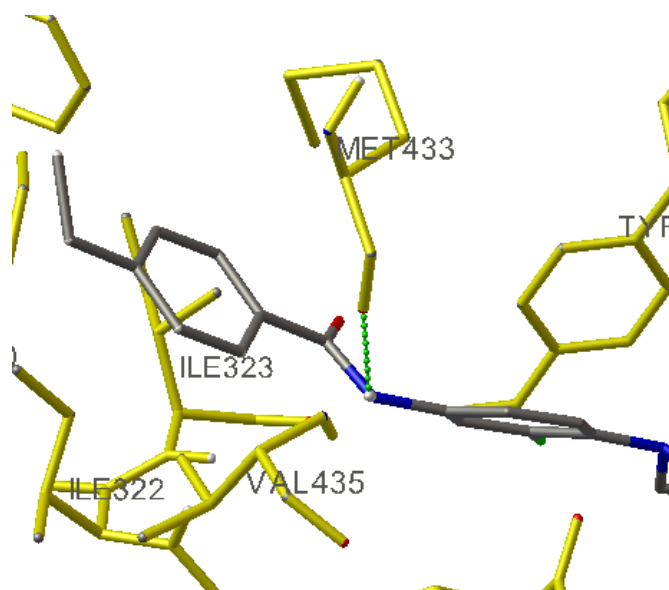
شکل ۳. ساختار داک شده ترکیب شماره ۱۳ بر روی مدل 14-DM؛ در این شکل پیوندهای هیدروفوبیک و هیدروفیلیک میان لیگاند و رسپتور نشان داده شده است



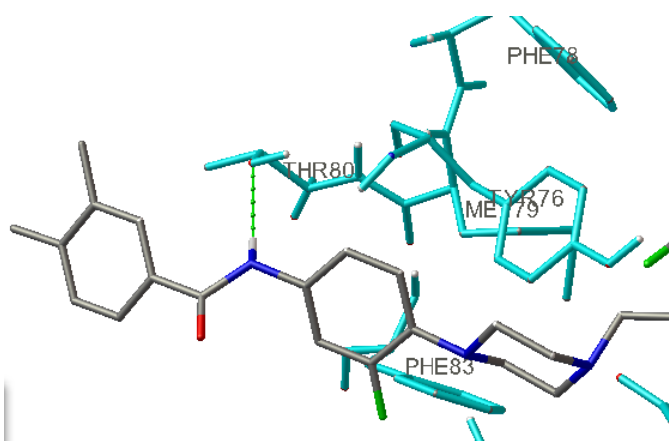
شکل ۴. ساختار داک شده ترکیب شماره ۱۵ بر روی مدل 14-DM؛ در این شکل مولکول آزول با استفاده از الگوی میله‌ای نشان داده شده و پیوند هیدروژنی میان گروه کربوکسامید از مشتق آزول و اتم اکسیژن اسیدآمینه‌ی آلانین ۷۳ از رسپتور با یک خط سبزرنگ مشخص گردیده است. مطالعات داکینگ با استفاده از برنامه AutoDock انجام گرفته و مدل 14-DM از سرور PDB به‌دست آمده است

نشان داد که افزایش اندازه و حجم این گروه می‌تواند سبب کاهش انرژی پیوندی شود، بنابراین ترکیباتی که استخلاف‌های پروپیل، ایزو پروپیل، بوتیل، پنتیل و فنیل بر روی بخش بنزیدامید آن‌ها قرار گرفته است، انرژی پی پایین‌تری نسبت به ترکیب ۱۶ از خود نشان می‌دهند. از میان این مشتقات، ترکیب ۲۱ با دارا بودن گروه فنیل کمترین انرژی پیوندی (۳/۸۱ kcal/mol-) را از خود نشان می‌دهد. ظاهراً هیچ تفاوت قابل توجهی میان گروه‌های الکترونگاتیو و الکتروپوزیو وجود ندارد. با این حال، به نظر می‌رسد استخلاف‌های الکتروپوزیو بر روی حلقه فنیل بخش بنزیدامید ترکیب می‌تواند اندکی قدرت پیوند میان دارو و رسپتور را افزایش دهد.

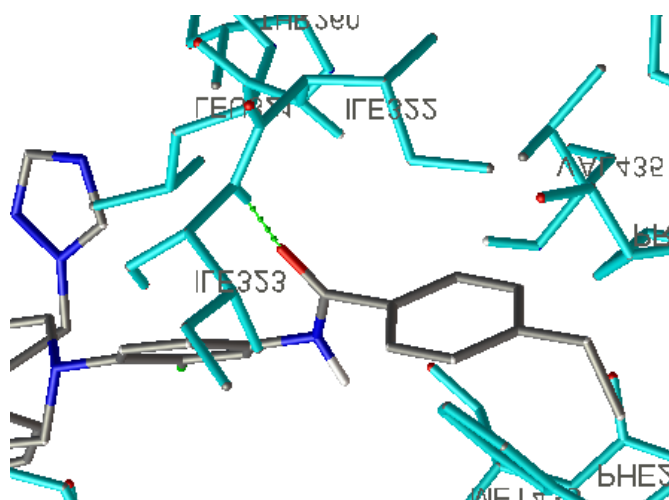
مطالعه اتصالات دارو-رسپتور نشان داد که وجود گروه‌های هیدروفوبیک بر روی بخش بنزیدامید مولکول می‌تواند در پروفایل پیوندی دارو و رسپتور مؤثر باشد. اندازه این گروه نیز بسیار مهم است، استخلاف‌هایی با سایز کوچک مانند فلوتور (در ترکیبات ۲ و ۳) و متیل (در ترکیب ۱۰، ۱۱ و ۱۲) در جایگاه فعال آنزیم به خوبی تحمل می‌شوند. همچنین گروه اتیل (در ترکیب ۱۶) به‌طور کامل پاکت هیدروفوبیک جایگاه فعال آنزیم را پر می‌کند و بهترین جهت‌گیری را به‌منظور ایجاد پیوند هیدروژنی برای مولکول فراهم می‌آورد و بر همین اساس این مولکول بهترین انرژی پیوندی (۱۲/۷۷ kcal/mol-) را دارا می‌باشد. از طرف دیگر نتایج داکینگ



شکل ۵. ساختار داک شده ترکیب شماره ۱۶ بر روی مدل 14-DM؛ در این شکل مولکول آزول با استفاده از الگوی میله‌ای نشان داده شده و پیوند هیدروژنی میان NH گروه کربوکسامید از مشتق آزول و اتم اکسیژن اسیدآمینه‌ی متیونین ۴۳۳ از رسپتور با یک خط سبز رنگ مشخص گردیده است. مطالعات داکینگ با استفاده از برنامه AutoDock انجام گرفته و مدل 14-DM از سرور PDB به دست آمده است



شکل ۶. ساختار داک شده ترکیب شماره ۱۵ بر روی مدل 14-DM؛ در این شکل مولکول آزول با استفاده از الگوی میله‌ای نشان داده شده و پیوند هیدروژنی میان NH گروه کربوکسامید از مشتق آزول و اتم اکسیژن اسیدآمینه‌ی تریتوفان ۸۰ از رسپتور با یک خط سبز رنگ مشخص گردیده است. مطالعات داکینگ با استفاده از برنامه AutoDock انجام گرفته و مدل 14-DM از سرور PDB به دست آمده است



شکل ۷. ساختار داک شده ترکیب شماره ۱۶ بر روی مدل 14-DM؛ در این شکل مولکول آزول با استفاده از الگوی میله‌ای نشان داده شده و پیوند هیدروژنی میان گروه کربونیل کربوکسامید از مشتق آزول و گروه NH اسیدآمینه‌ی ایزولوسین ۳۲۳ از رسپتور با یک خط سبز رنگ مشخص گردیده است. مطالعات داکینگ با استفاده از برنامه AutoDock انجام گرفته و مدل 14-DM از سرور PDB به دست آمده است

چندگانه‌ای میان توصیف‌گرهایی که در معادله‌ی ۱ استفاده شده‌اند وجود ندارد. همچنین ارتباط میان فعالیت پیش‌بینی‌شده از مدل QSAR برای ۳۰ مهارگر طراحی‌شده در مقابل فعالیت آزمایشگاهی به‌دست‌آمده از آن‌ها به‌صورت نمودار در شکل ۸ نشان داده شده است

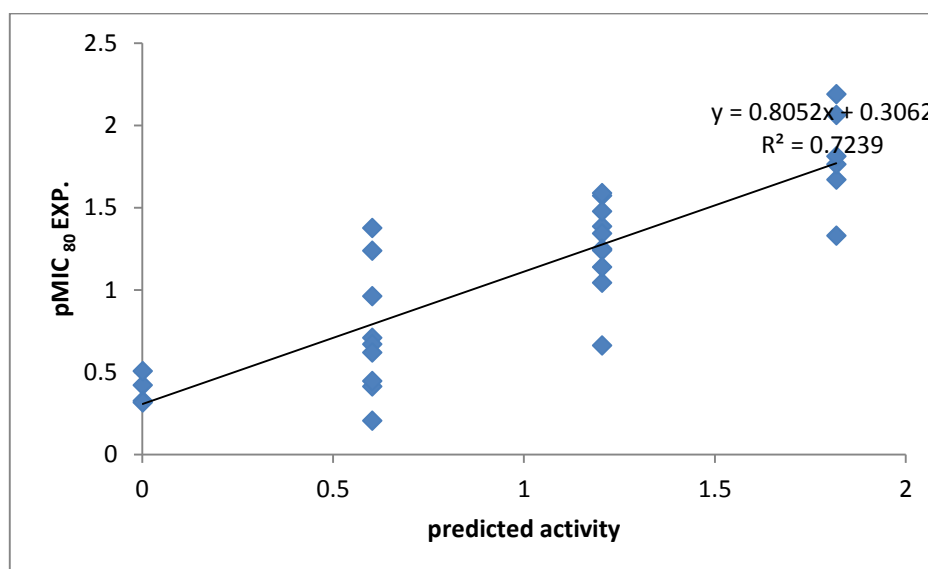
نتیجه‌گیری

در این مطالعه مدل‌سازی کامپیوتری برای توضیح ارتباط فعالیت و ساختار ترکیب (همان SAR) و همچنین به‌منظور طراحی آزول‌های ضد قارچ جدید انجام گرفت. نتایج نشان داد که اتصال یکی از اتم‌های نیتروژن از حلقه تری‌آزول با اتم آهن بخش هم‌آنزیم، مهم‌ترین اتصال در فعالیت مهارگری این ترکیبات می‌باشد. مطالعات داکینگ ما نشان داد که قرار دادن برخی استخلاف‌ها بر روی قسمت‌های خاصی از این ترکیبات موجب ایجاد اتصالات هیدروفوبیک یا باند هیدروژنی بین ترکیب و رسپتور، به‌خصوص با اسیدآمینه‌های آلانین ۷۳ و متیونین ۴۳۳ می‌شوند که این امر قدرت و کشش این ترکیبات را در مهار آنزیم افزایش می‌دهد. براساس همین مطالعات قرار گرفتن یک استخلاف هیدروفوبیک کوچک بر روی موقعیت‌های ۳ و ۴ حلقه فینیل انتهایی این ترکیبات به علت ایجاد یک اتصال هیدروفوبیک اضافی با آنزیم CYP51، تمایل دارو و رسپتور را افزایش می‌دهد...

بر اساس اطلاعات به‌دست‌آمده از مطالعات کیوسار ارائه ساختار سه‌بعدی مولکول بر اساس انکسار الکترونی یا همان توصیف‌گرهای MORSE اطلاعاتی از اتصالات سه‌بعدی دارو و رسپتور را با استفاده از تغییر و دگرگونی در انکسار الکترونی فراهم می‌آورند. از میان توصیف‌گرهای 3D-MORSE توصیف‌گر Mor17m که معرفی از وزن اتمی می‌باشد برای این معادله انتخاب شد. سومین توصیف‌گری که در این مدل مورد استفاده قرار گرفته است P1s از دسته توصیف‌گرهای WHIM می‌باشد که بر اساس موقعیت مکانی الکترون‌های اتمی محاسبه می‌شود. توصیف‌گرهای WHIM، درواقع توصیف‌گرهای مولکولی هستند که از شاخص‌های آماری اتم‌هایی به‌دست می‌آیند که به‌عنوان سه جزء اصلی از ماتریس‌های کوواریانس اتصالات اتمی مطرح می‌باشند. علاوه بر این، توصیف‌گرهای SAA (یا مقدار تقریبی سطح) و DX (دوقطبی X) به‌عنوان توصیف‌گرهای خواص QSAR، که به‌وسیله برنامه Hyperchem محاسبه شده بودند، به‌عنوان دو فاکتور مهم در معادله QSAR انتخاب شدند. بر اساس معادله ۱، توصیف‌گرهای IDEE، SAA و P1s تأثیرات منفی و توصیف‌گرهای Mor17m و DX تأثیرات مثبت بر روی فعالیت بیولوژیک دارند. ماتریس وابسته به ضریب برای توصیف‌گرهایی که بر روی فعالیت ضد قارچی مؤثر هستند در جدول ۳ آورده شده است. این کمیت آماری نشان می‌دهد که هیچ‌گونه هم‌پوشانی

جدول ۳. ماتریس ضریب همبستگی برای توصیف‌گرهای مورد استفاده در معادله MLR

Model	ضریب همبستگی				
	DX	SAA	Mor17m	P1s	IDDE
DX	۱/۰۰۰	-۰/۰۶۴	۰/۱۰۶	-۰/۳۳۸	-۰/۳۹۳
SAA	-۰/۰۶۴	۱/۰۰۰	-۰/۱۳۳	-۰/۱۵۵	۰/۰۰۱
Mor17m	۰/۱۰۶	-۰/۱۳۳	۱/۰۰۰	۰/۰۸۵	-۰/۰۸۳
P1s	۰/۳۳۸	-۰/۱۵۵	۰/۰۸۵	۱/۰۰۰	-۰/۳۱۶
IDDE	-۰/۳۹۳	۰/۰۰۱	-۰/۰۸۳	-۰/۳۱۶	۱/۰۰۰



شکل ۸. ارتباط میان فعالیت آزمایشگاهی و فعالیت پیش‌بینی‌شده از معادله ۱

این زنجیره جانبی می‌تواند با پاکت هیدروفوبیک آنزیم CYP51 اتصال برقرار کرده و همچنین سبب بهبود خصوصیات فیزیکوشیمیایی کل مولکول گردد.

تشکر و قدردانی: از همکاری فنی بخش شیمی دارویی دانشگاه آزاد اسلامی در انجام مطالعات کامپیوتری نهایت قدردانی و تشکر را داریم.

منابع

1. Wang W, Sheng C, Che X, Ji H, Cao Y, Miao Z, et al. Discovery of highly potent novel antifungal azoles by structure-based rational design. *Bioorg Med Chem Lett*. 2009;19(20):5965-9.
2. Xu Y, Sheng C, Wang W, Che X, Cao Y, Dong G, et al. Structure-based rational design, synthesis and antifungal activity of oxime-containing azole derivatives. *Bioorg Med Chem Lett*. 2010;20(9):2942-5.
3. Che X, Sheng C, Wang W, Cao Y, Xu Y, Ji H, et al. New azoles with potent antifungal activity: design, synthesis and molecular docking. *Eur J Med Chem*. 2009;44(10):4218-26.
4. Davood A, Iman M, Nematollahi A, Shafiee A. Docking and QSAR studies of new 1,4-dihydropyridines containing 4(5)-chloro-2-methyl-5(4)-imidazolyl substituent. *Med Chem Res*. 2011;21(3):325-32.
5. Guillon R, Giraud F, Loge C, Le Borgne M, Picot C, Pagniez F, et al. Design of new antifungal agents: synthesis and evaluation of 1-[(1H-indol-5-ylmethyl)amino]-2-phenyl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols. *Bioorg Med Chem Lett*. 2009;19(20):5833-6.
6. Chai X, Zhang J, Cao Y, Zou Y, Wu Q, Zhang D, et al. New azoles with antifungal activity: Design, synthesis, and molecular docking. *Bioorg Med Chem Lett*. 2011;21(2):686-9.
7. Snelders E, Karawajczyk A, Schaftenaar G, Verweij PE, Melchers WJ. Azole resistance profile of amino acid changes in *Aspergillus fumigatus* CYP51A based on protein homology modeling. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(6):2425-30.
8. Sheng C, Miao Z, Ji H, Yao J, Wang W, Che X, et al. Three-dimensional model of lanosterol 14 alpha-demethylase from *Cryptococcus neoformans*: active-site characterization and insights into azole binding. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(8):3487-95.
9. Ji H, Zhang W, Zhang M, Kudo M, Aoyama Y, Yoshida Y, et al. Structure-based de novo design, synthesis, and biological evaluation of non-azole inhibitors specific for lanosterol 14alpha-demethylase of fungi. *J Med Chem*. 2003;46(4):474-85.
10. Lamb DC, Kelly DE, Venkateswarlu K, Manning NJ, Bligh HF, Schunck WH, et al. Generation of a complete, soluble, and catalytically active sterol 14 alpha-demethylase-reductase complex. *Biochemistry*. 1999;38(27):8733-8.
11. Davood A, Iman M. Docking and QSAR studies

نتایج مطالعات QSAR اثبات کرد که متغیرهایی مانند اندازه، هیدروفوبیسیته، مساحت سطح، گشتاور دوقطبی، اتصالات اتمی؛ و فاکتورهای الکترونی و مکانی، در اتصال این دسته از ترکیبات آزول با رسپتور مؤثر می‌باشند.

علاوه بر این نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که برای فعالیت ضد قارچی تمام این مشتقات تری‌آزول جدید، قرار دادن ۴- (۴- فنیل) پیپرازین به‌عنوان زنجیره جانبی بسیار کمک‌کننده است، زیرا که

- of β -phenylethylidenehydrazine derivatives as a Gamma-aminobutyric acid aminotransferase inhibitor. *Med Chem Res*. 2010;20(7):955-61.
12. Davood A, Iman M. Molecular docking and QSAR study on imidazole derivatives as 14a-demethylase inhibitors. *Turk J Chem*. 2013;37(1):119-33.
 13. Hansch C, Kurup A, Garg R, Gao H. Chem-bioinformatics and QSAR: a review of QSAR lacking positive hydrophobic terms. *Chem Rev*. 2001;101(3):619-72.
 14. Gramatica P, Papa E. QSAR Modeling of Bioconcentration Factor by theoretical molecular descriptors. *QSAR Comb Sci*. 2003;22(3):374-85.
 15. Todeschini R, Consonni V. Molecular descriptors for chemoinformatics. Hoboken(NJ): Wiley; 2009. (Mannhold R, Kubinyi H, Folkers G, editors. *Methods and principles in medicinal chemistry*; vol. 41)
 16. Sun QY, Xu JM, Cao YB, Zhang WN, Wu QY, Zhang DZ, et al. Synthesis of novel triazole derivatives as inhibitors of cytochrome P450 14alpha-demethylase (CYP51). *Eur J Med Chem*. 2007;42(9):1226-33.
 17. Morris GM, Goodsell DS, Pique ME, Lindstrom WL, Huey R, Forli S, et al. AutoDock 4.2 user guide: The Scripps Research Institute; 2009. Available from: http://autodock.scripps.edu/faqs-help/manual/autodock-4-2-user-guide/AutoDock4.2_UserGuide.pdf/.
 18. Todeschini R. Milano Chemometrics and QSAR research group. Milano(Italy): University of Milano; 2008. Available from: <http://michem.disat.unimib.it>.
 19. Iman M, Davood A. QSAR and QSTR study of selenocyanate derivatives to improve their therapeutic index as anti-leishmanial agents. *Med Chem Res*. 2013;23(2):818-26.
 20. Iman M, Davood A. QSAR and QSTR study of pyrimidine derivatives to improve their therapeutic index as antileishmanial agents. *Med Chem Res*. 2013;22(10):5029-35.
 21. Li F, Li X, Liu X, Zhang L, You L, Zhao J, et al. Docking and 3D-QSAR studies on the Ah receptor binding affinities of polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs). *Environ Toxicol Pharmacol*. 2011;32(3):478-85.
 22. Huey R, Morris GM, Olson AJ, Goodsell DS. A semiempirical free energy force field with charge-based desolvation. *J Comput Chem*. 2007;28(6):1145-52.