

## Design and Docking Study of Novel Oximes as Reactivators of Inhibited Acetylcholinesterase with Nerve Agents

Seyed Ayoub Hosseini <sup>1</sup>, Abolghasem Moghimi <sup>1</sup>, Maryam Iman <sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, Imam Hossein University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Chemical Injuries Research Center, System Biology and Poisonings Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 1 November 2016 Accepted: 19 January 2018

### Abstract

**Background and Aim:** In this study, a group of nitron-based oximes involving a pyridinium moiety were assessed as novel drug candidates in the reactivation of inhibited AChE in a docking study.

**Methods:** The chemical structures of novel reactivators were built using the HyperChem program and conformational studies were performed using a semi-experimental method. Docking calculations on all of the designed oximes were carried out using the Auto Dock program.

**Results:** The recorded binding energy for obidoxime and 2-PAM were -8.59 and -5.61 respectively. These current oxime-formed hydrogen bond and  $\pi$ - $\pi$  interactions in the active site. Docking calculations showed that new nitron-based oximes formed hydrogen bonds and  $\pi$ - $\pi$  interactions with peripheral anionic, aromatic and catalytic triad residues in the active site. Also, all of the new compounds possess better binding energies than 2-PAM and were comparable with obidoxime.

**Conclusion:** The results showed that all of the new oximes possess promising binding energies compared with the standard oximes of 2-PAM and obidoxime. Bis-pyridinium oximes have better results than mono-pyridinium oximes caused by the presence of additional  $\pi$ - $\pi$  and hydrogen bonding interactions. In most cases, the designed oximes where the imidazole ring was positioned at position 3 have better orientation and more favorable interactions in active site.

**Keywords:** Acetylcholinesterase, Reactivator, Oxime, Nitron, Nerve agents, Pesticides

\*Corresponding author: **Maryam Iman**, Email: iman1359@yahoo.com

## طراحی و داکینگ اکسیم‌های جدید به‌عنوان فعالسازهای استیل‌کولین‌استراز مهارشده با عوامل عصبی

سید ایوب حسینی<sup>۱</sup>، ابوالقاسم مقیمی<sup>۱</sup>، مریم ایمان<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup> مرکز شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه جامع امام حسین (ع)، تهران، ایران

<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، موسسه سیستم بیولوژی و مسمومیت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، تهران، ایران

### چکیده

**زمینه و هدف:** در این مطالعه یک گروه از اکسیم‌های بر پایه نایترون دارای بخش پیریدینیوم، به‌عنوان کاندیدهای دارویی جدید در فعال‌سازی استیل‌کولین‌استراز (AChE) مهار شده، با مطالعات داکینگ معرفی شده‌اند.

**روش‌ها:** ساختار شیمیایی فعال‌سازهای جدید با استفاده از برنامه‌های پیرکم ساخته شدند و مطالعات کانفورماسیونی از طریق روش نیمه تجربی انجام گردید. در محاسبات داکینگ اکسیم‌های طراحی شده از برنامه AutoDock استفاده گردید.

**یافته‌ها:** انرژی اتصال برای ایدوکسیم و پارالیدوکسیم به ترتیب  $-۸/۵۹$  و  $-۵/۶۱$  حاصل گردید. این اکسیم‌های رایج در جایگاه فعال برهمکنش‌های هیدروژنی و  $\pi-\pi$  داشتند. محاسبات داکینگ نشان داد که اکسیم‌های بر پایه نایترون برهمکنش‌های هیدروژنی و  $\pi-\pi$  با دنباله‌های آروماتیکی، آنیونی محیطی و سه گانه کاتالستی در جایگاه فعال ایجاد می‌کنند. همچنین، این ترکیبات انرژی اتصال بالاتری نسبت به پارالیدوکسیم برخوردار بوده و انرژی اتصال قابل مقایسه‌ای نسبت به ایدوکسیم داشته‌اند.

**نتیجه‌گیری:** بررسی نتایج نشان داد، اکسیم‌های طراحی شده، انرژی اتصال نویدبخشی در مقایسه با اکسیم‌های رایج ایدوکسیم و پارالیدوکسیم دارند. بیس-پیریدینیوم اکسیم‌ها نسبت به مونو-پیریدینیوم اکسیم‌ها، به دلیل برهمکنش‌های اضافی هیدروژنی و  $\pi-\pi$  در جایگاه فعال، نتایج بهتری نشان داده‌اند. همچنین، اکسیم‌های طراحی شده‌ای که حلقه امیدازول در موقعیت ۳ حلقه پیریدینیوم قرار داشت در اکثر موارد جهت‌گیری و برهمکنش‌های مناسب‌تری در جایگاه فعال نشان دادند.

**کلیدواژه‌ها:** استیل‌کولین‌استراز، فعالساز، اکسیم، نایترون، عوامل عصبی و حشره‌کش.

\* نویسنده مسئول: مریم ایمان. پست الکترونیک: iman1359@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۸/۱۱ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱۰/۲۹

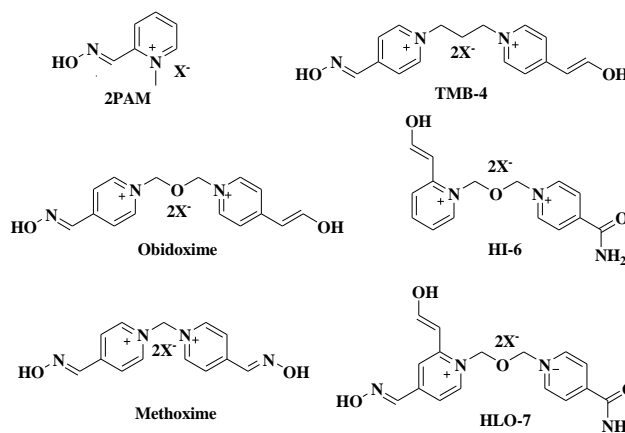
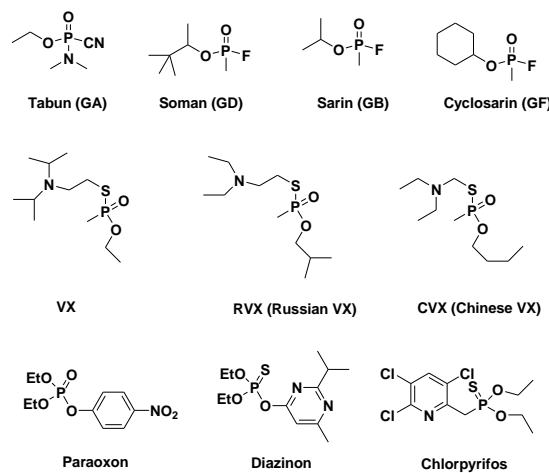
## مقدمه

و به یک بحران کولینرژیک گسترده‌ای منجر می‌شود که در نهایت، نارسایی شدید تنفسی باعث مرگ می‌گردد (۸-۱۱). به‌هرحال، ممکن است به‌دلیل حذف آلکیل از کمپلکس OP-AChE، کهنه‌شدن (Aging) اتفاق بیفتد که در ادامه، با انجام برهمکنش اضافی با دنباله هیستیدین، از فعال‌سازی مجدد آنزیم جلوگیری می‌گردد (۱۲).

روشهای درمانی برای مسمومیت عوامل ارگانوفسفره، استفاده از داروی آنتی موسکارینی مثل آتروپین، داروی ضدتشنج مثل دیازپام، و فعال‌کننده مجدد AChE از خانواده پیریدینیوم‌آلدوکسیم مثل پارالیدوکسیم، تری‌مدوکسیم، ابیدوکسیم، HI-6، HI-7، HI-8 می‌باشد. در طی ۶۰ سال گذشته، ترکیبات اکسیمی پیریدینیوم به‌طور گسترده به‌عنوان پادزهر در درمان این مسمومیت‌ها استفاده شده است (۱۲) (شکل-۲). مطالعات متعدد داکینگ مولکولی به‌منظور تسریع در شناسایی و طراحی فعال‌سازهای قوی‌تر آنزیم مهار شده، در منابع گزارش شده است (۱۸-۱۳). در ادامه علاقمندی ما به اکسیم‌های بر پایه نایترون (۱۹)، اکسیم‌های نایترونی دارای بخش پیریدینیوم، به‌عنوان کاندیدهای جدید دارویی جهت فعال‌سازی آنزیم AChE مهارشده طراحی شدند. در این مطالعه ۳۰ اکسیم جدید بر پایه نایترون طراحی و مطالعات داکینگ آن‌ها انجام گردید. نتایج مطالعات داکینگ این اکسیم‌ها با فعالسازهای رایج ابیدوکسیم و پارالیدوکسیم مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت.

آنزیم استیل کولین استراز (AChE) یکی از مهمترین آنزیم‌ها در بدن انسان و دیگر موجودات می‌باشد. جایگاه فعال آنزیم AChE، دارای دو زیر جایگاه مختلف است. زیر جایگاه استری Esteratic (subsite)، شامل دنباله‌های سه‌گانه کاتالستی Ser203، His447 و Glu334 است که در شیار باریک و بلند به طول  $20 \text{ \AA}$  قرار دارد (۱) و با دنباله‌های آروماتیک احاطه شده است و دیگری زیر جایگاه آنیونی (Anionic sub-sites) است که مربوط به پاکت اتصالی (Binding pocket) کولین می‌باشد (۲). جایگاه آنیونی محیطی (Peripheral anionic site (PAS)) که در دهانه این شیار قرار دارد شامل دنباله‌های آروماتیک Tyr72، Tyr124، Trp286 و Tyr341 و دنباله اسیدی Asp74 می‌باشد (۲).

عوامل عصبی و آفت‌کش‌ها، آنزیم استیل کولین استراز که وظیفه هیدرولیز استیل کولین (ACh) را برعهده دارد، مهار می‌کنند (۳ و ۴) (شکل-۱). این مهار برگشت‌ناپذیر، باعث تجمع استیل کولین در سیناپس‌های کولینرژیک شده و منجر به تحریک بیش از حد و بحران کولینرژیک در شکاف سیناپسی می‌گردد (۵ و ۶). مهار آنزیم موجب اشباع برگشت‌ناپذیر گیرنده‌های موسکارینی (اشک، انقباض مردمک چشم، ترشح بزاق) و نیکوتینی (اسپاسم عضلانی) (۷) شده



## روش‌ها

انجام محاسبات داکینگ با mAChE به‌عنوان پروتئین هدف انجام گردید. ساختار کریستالی آنزیم مورد اشاره با PDBID code: 2jf0 با رزولوشن (Resolution)  $2/5 \text{ \AA}$  از وب سایت بانک اطلاعاتی پروتئین (Protein data bank) دانلود گردید (۲۰). ساختار کریستالی تا رسیدن به مقدار RMSD کمتر از  $0/5$  با استفاده از نرم‌افزار SPDB Viewer بهینه‌سازی گردید (۲۱). آماده‌سازی پروتئین با حذف آب‌های موجود در ساختار و افزودن هیدروژن‌های قطبی به آن با استفاده از برنامه اتوداک تولز (Autodock Tools) و سپس افزودن بارهای جزئی به اتم‌ها صورت پذیرفت (۲۲). ساختار لیگاندها با نرم‌افزار هایپرکم (HyperChem) (ورژن ۷) طراحی و بهینه‌سازی گردید. ساختار پروتئین به صورت صلب در نظر گرفته شده و جعبه شبکه (Grid box) با ابعاد  $70, 70, 70$  نقطه به‌کار گرفته شد. با استفاده از برنامه اتوگرید (AutoGrid) شبکه‌های مورد نیاز برای داکینگ ایجاد گردیدند. به‌منظور انجام داکینگ، الگوریتم ژنتیک (Genetic algorithm) انتخاب شده و تعداد جستجوها ۳۰ عدد انتخاب شد. در پایان محاسبات، بهترین حالت قرارگرفتن لیگاند در جایگاه فعال آنزیم، مورد آنالیز قرار گرفت.

## نتایج

ساختار شیمیایی اکسیم‌های طراحی شده جهت فرایند داکینگ در (جدول-۱) نشان داده شده است. اکسیم‌های جدید همراه با دو اکسیم استاندارد رایج (پارالیدوکسیم و اُیدوکسیم) به عنوان مرجع، درون جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز مهار شده با تابون تحت فرآیند داکینگ قرار گرفته و همه جهت‌گیریهایی منطقی آن‌ها جهت فعال‌سازی بررسی گردید. سپس بهترین حالت قرارگیری لیگاندها درون جایگاه، برای آنالیز انتخاب گردید. نتایج داکینگ اکسیم‌های نایترونی جدید در مقایسه با پارالیدوکسیم و اُیدوکسیم در (جدول-۲) نشان داده شده است.

### برهمکنش پارالیدوکسیم و اُیدوکسیم با آنزیم AChE

نتایج داکینگ نشان داد، انرژی اتصال برای پارالیدوکسیم و اُیدوکسیم به‌ترتیب  $-5/61$  و  $-8/59$  می‌باشد. اُیدوکسیم در بهترین حالت جای‌گیری در جایگاه فعال، دو پیوند هیدروژنی با اسیدآمین‌های His447 و Ser298 و سه برهمکنش  $\pi-\pi$  با اسیدآمین‌های Tyr341, Tyr72 و Phe297 نشان داد؛ در حالی که پارالیدوکسیم یک پیوند هیدروژنی با اسیدآمین Glu202 و یک برهمکنش  $\pi-\pi$  با اسیدآمین Tyr337 نشان داد. برهمکنش‌های اُیدوکسیم با ساختار کریستالی AChE در (شکل-۳) نمایش داده شده است.

جدول-۱. ساختار شیمیایی اکسیم‌های طراحی شده

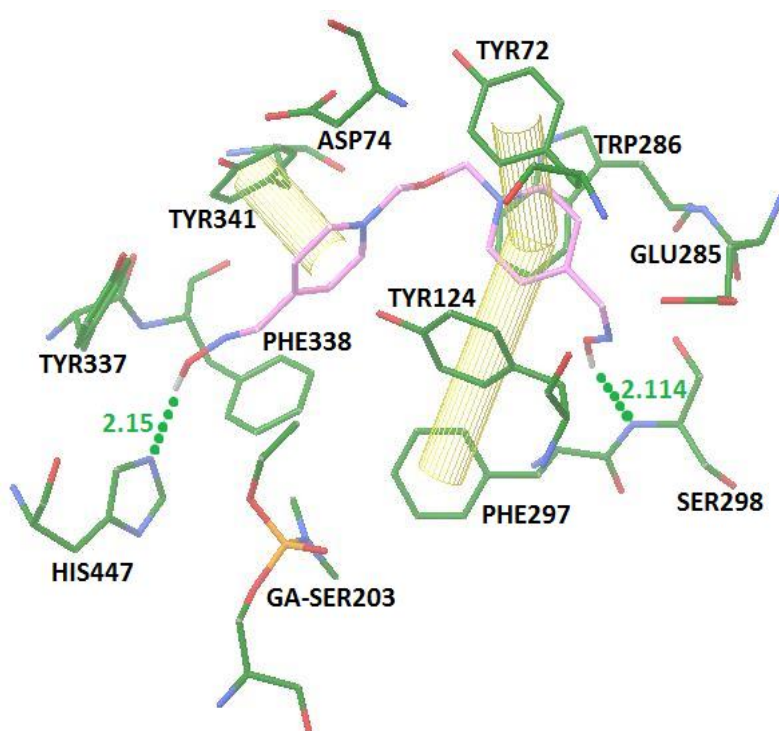
R <sub>2</sub>	ترکیب	R <sub>1</sub>	ترکیب
CH <sub>2</sub>	۱۶	CH <sub>3</sub>	۱
CH <sub>2</sub>	۱۷	CH <sub>3</sub>	۲
CH <sub>2</sub>	۱۸	CH <sub>3</sub>	۳
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	۱۹	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	۴
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	۲۰	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	۵
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	۲۱	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	۶
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	۲۲	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	۷
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	۲۳	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	۸
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	۲۴	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	۹
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	۲۵	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	۱۰
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	۲۶	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	۱۱
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	۲۷	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	۱۲
CH <sub>2</sub> PhCH <sub>2</sub>	۲۸	Benzyl	۱۳
CH <sub>2</sub> PhCH <sub>2</sub>	۲۹	Benzyl	۱۴
CH <sub>2</sub> PhCH <sub>2</sub>	۳۰	Benzyl	۱۵

ترکیبات ۱-۱۵ مونو-پیریدینیوم و ترکیبات ۱۶-۳۰ بیس-پیریدینیوم می‌باشند.

جدول-۲. نتایج داکینگ اکسیم‌های جدید در مقایسه با اکسیم‌های رایج با استفاده از نرم‌افزار اتوداک تولز

Compd	Ki (um)	Unbound energy	Torsional energy	Total internal energy	Electrostatic energy	vdw_hb_desolve_energy	Intermolecular energy	Binding energy
۲	۲/۷۹	-۰/۶۷	۱/۱۹	-۰/۶۷	-۰/۱۷	-۶/۶۱	-۸/۷۷	-۷/۵۸
۵	۰/۶۷	-۱/۲۵	۱/۱۹	-۱/۲۵	-۰/۱۶	-۹/۱۶	-۹/۶۲	-۸/۴۳
۶	۶/۵۵	-۱/۳۴	۱/۱۹	-۱/۳۴	-۰/۱۰	-۸/۱۶	-۸/۲۷	-۷/۰۷
۷	۱/۵۸	-۱/۵۹	۱/۴۹	-۱/۵۹	-۰/۳۸	-۹/۰۳	-۹/۴۱	-۷/۹۲
۸	۱/۷۸	-۱/۲۳	۱/۴۹	-۱/۲۳	-۰/۰۶	-۹/۲۸	-۹/۳۴	-۸/۰۳
۹	۴/۹۲	-۱/۴۵	۱/۴۹	-۱/۴۵	-۰/۴۴	-۸/۳۰	-۸/۷۳	-۷/۲۴
۱۰	۱/۱۸	-۱/۹۸	۱/۷۹	-۱/۹۸	-۰/۴۰	-۹/۴۷	-۹/۸۷	-۸/۰۸
۱۱	۱/۷۱	-۱/۳۶	۱/۷۹	-۱/۳۶	-۰/۰۷	-۹/۵۸	-۹/۶۶	-۸/۵۲
۱۲	۲/۶۱	-۱/۵۳	۱/۷۹	-۱/۵۳	-۰/۴۲	-۸/۹۸	-۹/۴۱	-۷/۶۲
۱۳	۰/۱۲	-۱/۳۵	۱/۴۹	-۱/۳۵	-۰/۰۲	-۱۰/۹۲	-۱۰/۹۴	-۹/۴۴
۱۴	۰/۰۹	-۱/۴۷	۱/۴۹	-۱/۴۷	-۰/۰۵	-۱۱/۰۰	-۱۱/۰۵	-۹/۵۶
۱۷	۰/۰۴	-۲/۲۵	۲/۶۸	-۲/۲۵	-۰/۲۸	-۱۲/۴۹	-۱۲/۷۷	-۱۰/۰۹
۱۸	۰/۳۱	-۲/۲۲	۲/۳۹	-۲/۲۲	-۰/۱۹	-۱۱/۰۹	-۱۱/۲۷	-۸/۸۹
۲۰	۰/۹۴	-۲/۰۷	۲/۶۸	-۲/۰۷	-۰/۲۰	-۱۴/۷۹	-۱۵/۰۰	-۱۲/۳۱
۲۱	۰/۰۶	-۲/۳۱	۲/۶۸	-۲/۳۱	-۰/۴۵	-۱۲/۱۰	-۱۲/۵۵	-۹/۸۷
۲۲	۰/۴۳	-۲/۸۷	۲/۹۸	-۲/۸۷	-۰/۱۷	-۱۱/۵۰	-۱۱/۶۷	-۸/۶۹
۲۳	۰/۰۲	-۲/۱۵	۲/۹۸	-۲/۱۵	-۰/۲۸	-۱۳/۳۵	-۱۳/۶۳	-۱۰/۶۴
۲۴	۰/۰۸	-۲/۲۵	۲/۹۸	-۲/۲۵	-۰/۴۲	-۱۲/۲۱	-۱۲/۶۳	-۹/۶۵
۲۶	۰/۰۱	-۲/۲۲	۳/۲۸	-۲/۲۲	-۰/۰۲	-۱۴/۲۲	-۱۴/۱۹	-۱۰/۹۱
۲۷	۰/۱۴	-۲/۲۷	۳/۲۸	-۲/۲۷	-۰/۵۵	-۱۲/۰۷	-۱۲/۶۲	-۹/۳۴
۲۸	۰/۰۱	-۲/۲۸	۲/۹۸	-۲/۲۸	-۰/۰۸	-۱۴/۴۳	-۱۴/۵۲	-۱۱/۵۳
۲۹	۰/۶۲	-۲/۳۹	۲/۹۸	-۲/۳۹	-۰/۱۲	-۱۱/۳۳	-۱۱/۴۵	-۸/۴۷
۳۰	۰/۰۴	-۲/۷۵	۲/۹۸	-۲/۷۵	-۰/۳۳	-۱۲/۹۱	-۱۳/۱۵	-۱۰/۱۶
اییدوکسیم	۰/۵۱	-۰/۴۱	۲/۳۹	-۰/۴۱	-۰/۱۴	-۱۰/۸۴	-۱۰/۹۸	-۸/۵۹
پارالیدوکسیم	۰/۰۸	-۰/۱۱	۰/۶۰	-۰/۱۱	-۰/۲۷	-۵/۹۳	-۶/۲۰	-۵/۶۱

به‌دلیل اینکه اکسیم‌های ۱، ۳، ۴، ۱۵، ۱۶، ۱۹ و ۲۵ جهت‌گیری مناسبی در جایگاه فعال نداشتند، نتایج آن‌ها ذکر نشده است.

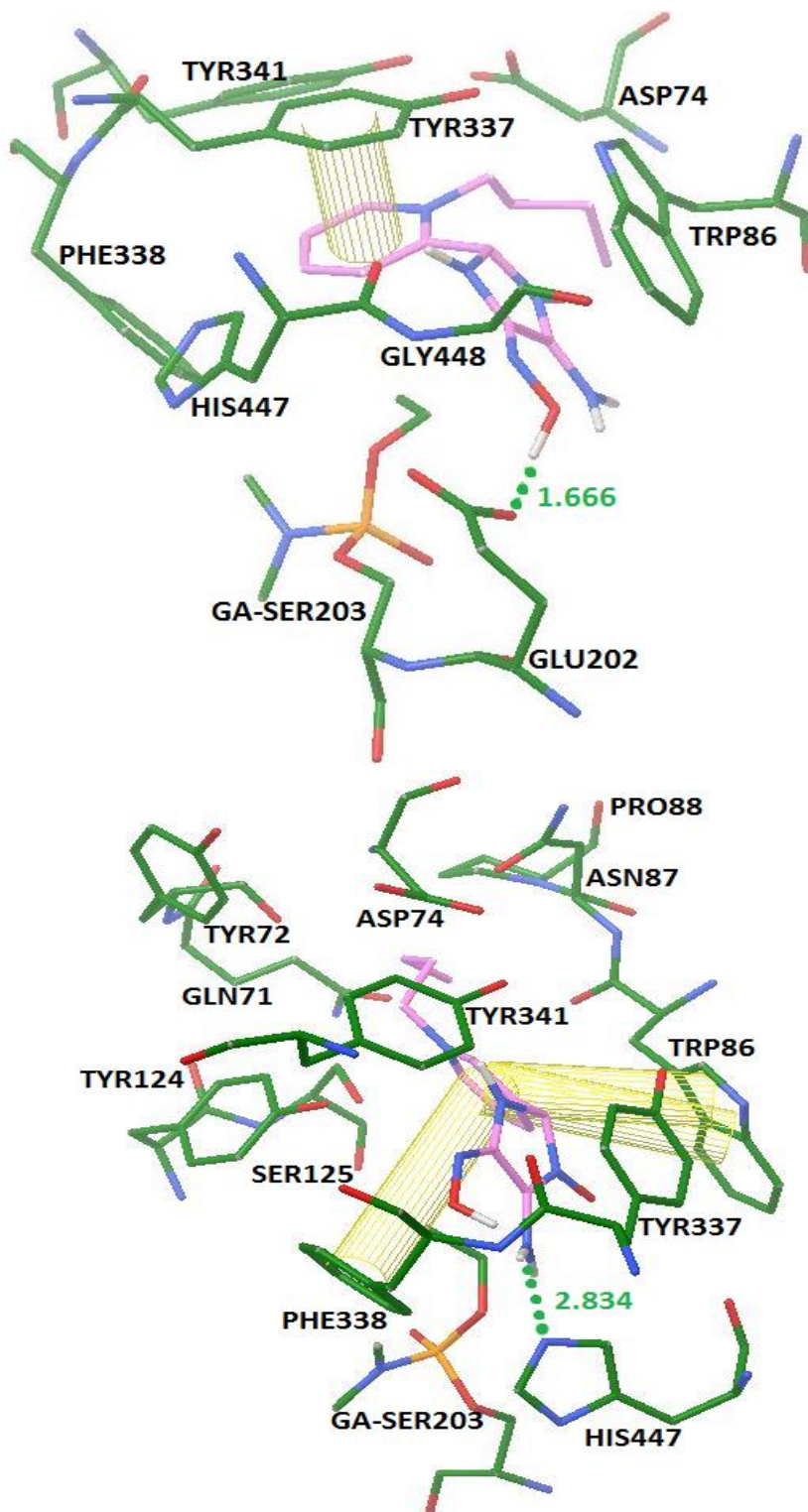


شکل-۳. برهمکنش‌های اُیدوکسیم با ساختار کریستالی AChE مهار شده با تابون با کد 2JFO. برهمکنش‌های  $\pi$ - $\pi$  و پیوندهای هیدروژنی نمایش داده شده است

ترکیب ۱۳ یک پیوند هیدروژنی با دنباله His447 و سه برهمکنش  $\pi-\pi$  با دنباله های آروماتیکی Trp86, Phe338 و Tyr72 برقرار می کند. انرژی اتصال بالای این ترکیب در جایگاه فعال آنزیم را می توان به برهمکنش های  $\pi-\pi$  اضافی آن نسبت داد. ترکیبات ۱ و ۴ جهت گیری مناسبی در جایگاه فعال نداشتند و بنابراین نتایج داکینگ مربوط به این ترکیبات در (جدول ۳-۳) ذکر نشده است.

### برهمکنش مونو-پیریدینیوم اکسیم های جدید با AChE

نتایج داکینگ وقتی که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۲ روی حلقه مونو-پیریدینیوم اکسیم قرار داشت، نشان داد که ترکیبات ۷ و ۱۰ یک پیوند هیدروژنی با اسیدآمینه Glu202 و یک برهمکنش  $\pi-\pi$  با اسیدآمینه Tyr337 تشکیل می دهند (شکل ۴). همچنین،



شکل-۴. برهمکنش های ۱۰ (بالا) و ۱۱ (پایین) با ساختار کریستالی AChE مهار شده با تابون با کد 2JF0. برهمکنش های  $\pi-\pi$  و هیدروژنی نمایش داده شده است

محیطی Tyr341 و Trp286 در جایگاه فعال آنزیم ساندویچ می‌شود (شکل-۶). در اینجا نیز مانند مونو-پیریدینیوم اکسیم‌ها، ترکیبات ۱۶، ۱۹ و ۲۵ در جایگاه فعال آنزیم مهار شده جهت‌گیری فضایی مناسبی نداشتند.

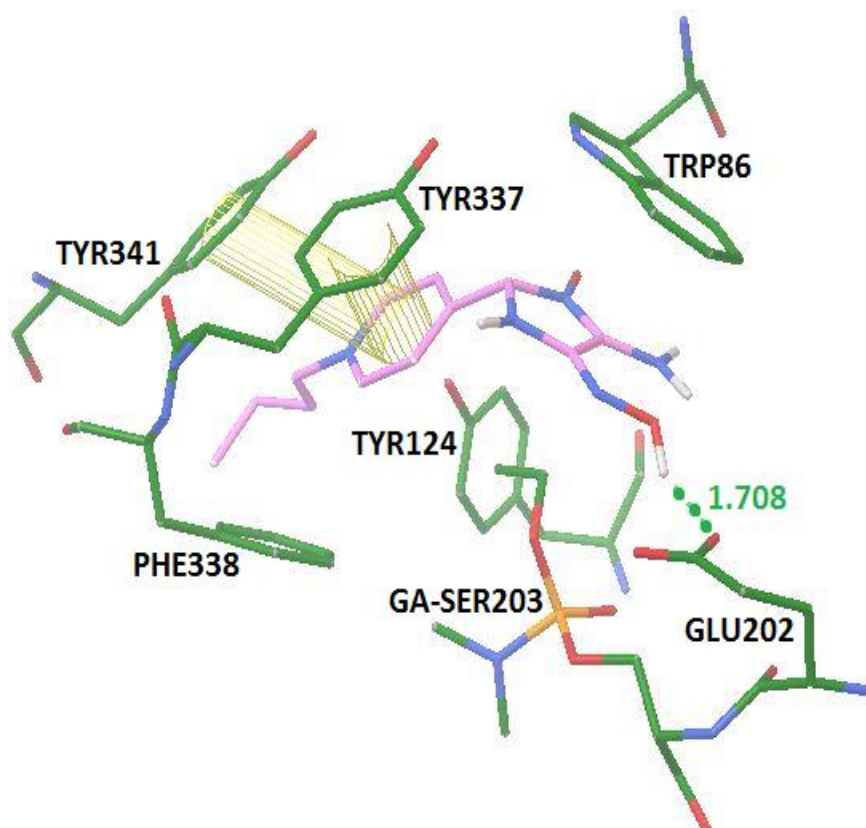
محاسبات داکینگ وقتی که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۳ روی حلقه بیس-پیریدینیوم اکسیم قرار داشت، نشان داد که ترکیبات ۱۷، ۲۰ و ۲۳ چهار پیوند هیدروژنی با دنباله‌های Glu202، Gly120، Gly126 و His447 و یک پیوند  $\pi-\pi$  با اسیدآمینینه Tyr337 تشکیل می‌دهد. همچنین ترکیبات ۲۶ و ۲۹ در جایگاه فعال آنزیم سه پیوند هیدروژنی با اسیدآمینینه‌های Trp286، Ser125 و Gly120 برقرار کرده و در میان دنباله آروماتیکی Tyr337 و دنباله‌های جایگاه آنیونی محیطی Tyr341، Tyr72 و Trp286 ساندویچ می‌شود (شکل ۶ و ۷).

محاسبات داکینگ وقتی که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۴ روی حلقه بیس-پیریدینیوم اکسیم قرار داشت، نشان داد که ترکیبات ۱۸، ۲۱، ۲۴ و ۲۷ دو پیوند هیدروژنی با اسیدآمینینه‌های Glu202 و Tyr341 و نیز دو برهمکنش  $\pi-\pi$  دنباله‌های آروماتیکی Tyr337 و Tyr341 تشکیل می‌دهند. ترکیب ۳۰ دو پیوند هیدروژنی با دنباله‌های His447 و Gln279 و دو برهمکنش  $\pi-\pi$  با دنباله آروماتیکی Trp86 و یک دنباله جایگاه آنیونی محیطی Trp286 ایجاد می‌کند (شکل-۷).

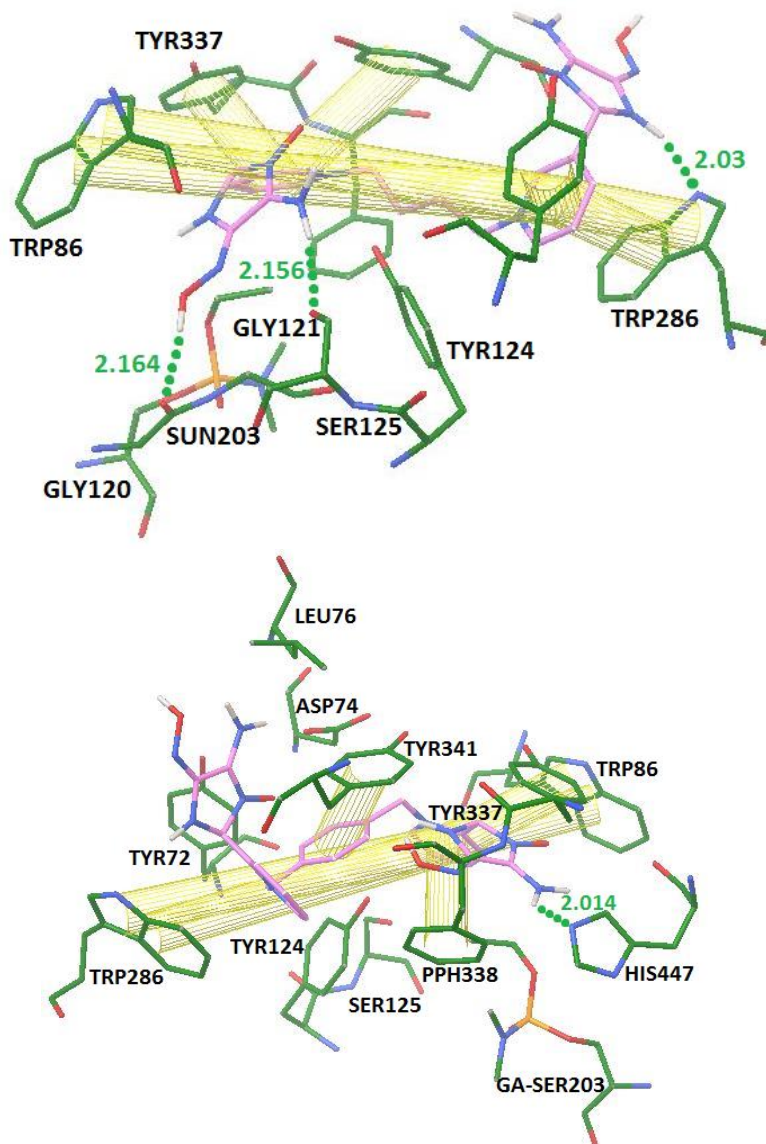
نتایج داکینگ وقتی که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۳ روی حلقه مونو-پیریدینیوم اکسیم قرار داشت، نشان داد که ترکیبات ۲، ۵، ۸ و ۱۱ یک پیوند هیدروژنی با His447 و دو پیوند  $\pi-\pi$  با Trp86 و Phe338 تشکیل می‌دهند؛ در حالی که ترکیب ۱۴ دو پیوند هیدروژنی با His447 و Tyr341 و یک پیوند  $\pi-\pi$  با یکی از اسیدآمینینه‌های جایگاه آنیونی محیطی Tyr72 تشکیل می‌دهد (شکل ۴). همچنین نتایج داکینگ وقتی که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۴ روی حلقه مونو-پیریدینیوم اکسیم قرار داشت، نشان داد که ترکیبات ۶، ۹ و ۱۲ یک پیوند هیدروژنی با Glu202 و دو برهمکنش  $\pi-\pi$  با اسیدآمینینه‌های Tyr337 و Tyr341 تشکیل می‌دهند (شکل-۵) و ترکیبات ۳ و ۱۵ جهت‌گیری فضایی مناسبی در جایگاه فعال آنزیم نشان ندادند.

### برهمکنش بیس-پیریدینیوم اکسیم‌های جدید با AChE

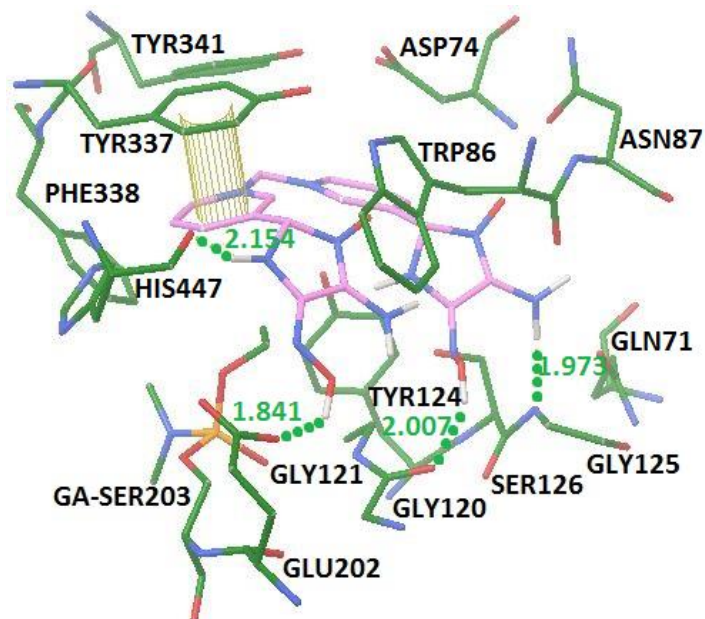
محاسبات داکینگ وقتی که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۲ روی حلقه بیس-پیریدینیوم اکسیم قرار داشت، نشان داد که ترکیب ۲۲ دو پیوند هیدروژنی با دنباله‌های Tyr124 و Tyr341 در جایگاه فعال تشکیل داده و در میان دنباله‌های جایگاه آنیونی محیطی Tyr72 و Trp286 با تشکیل برهمکنش‌های  $\pi-\pi$  ساندویچ می‌شود. همچنین ترکیب ۲۸ یک پیوند هیدروژنی با دنباله His447 برقرار کرده و با تشکیل برهمکنش‌های  $\pi-\pi$  متعدد با اسیدآمینینه‌های آروماتیکی Trp86 و Phe338 و نیز دنباله‌های جایگاه آنیونی



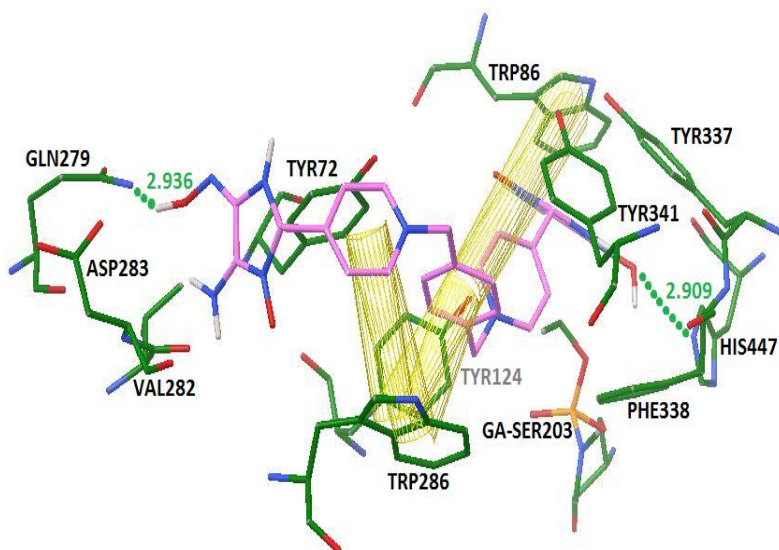
شکل-۵. نمایش برهمکنش ۱۲ با ساختار کریستالی AChE مهار شده با تابون با کد 2JF0. برهمکنش‌های  $\pi-\pi$  و پیوندهای هیدروژنی نمایش داده شده است



شکل-۶. برهمکنش های ۲۶ (بالا) و ۲۸ (پایین) با ساختار کریستالی AChE مهار شده با تابون با کد 2JF0. برهمکنش های  $\pi$ - $\pi$  و هیدروژنی نمایش داده شده است







شکل-۷. برهمکنش‌های ۱۷ (بالا) و ۳۰ (پایین) با ساختار کریستالی AChE مهار شده با تابون با کد 2JF0. برهمکنش‌های  $\pi$ - $\pi$  و هیدروژنی نمایش داده شده است

جایگاه فعال نشان داده‌اند و نیز انرژی اتصال بالاتری در مقایسه با دیگر اکسیم‌ها داشته‌اند، نوید بخش‌تر باشند.

همچنین، با افزایش طول زنجیر لینکر در مونو-پیریدینیوم اکسیم‌های طراحی شده، وقتی که حلقه ایمیدازول در موقعیت‌های مختلف حلقه قرار داشت، انرژی اتصال با روند ثابتی افزایش پیدا کرده است و در این رابطه تفاوتی در میان اکسیم‌های مختلف مونو-پیریدینیوم مشاهده نمی‌شود.

در میان بیس-پیریدینیوم اکسیم‌های طراحی شده، در اکثر موارد انرژی اتصال وقتی که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۳ حلقه پیریدینیوم قرار داشت نسبت به موقعیت ۲ و ۴ بهتر بوده است. با این وجود، در حالی که انرژی اتصال در اکسیم ۲۰ (-۱۲/۳۱)، به طور قابل توجهی نسبت به ۲۱ (-۹/۸۷) بالاتر بوده و ۱۹ جهت-گیری نامناسبی را در جایگاه فعال داشته است؛ انرژی اتصال در ۲۹ (-۸/۴۷)، نسبت به ۲۸ (-۱۱/۵۳) و ۳۰ (-۱۰/۱۶) کاملاً نتیجه معکوسی را حاصل کرده است. نکته قابل توجه این است که در بیس-پیریدینیوم اکسیم‌ها نیز مانند مونو-پیریدینیوم اکسیم‌ها، تمامی اکسیم‌های طراحی شده‌ای که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۳ حلقه پیریدینیوم قرار داشت، جهت‌گیری مناسبی در جایگاه فعال آنزیم داشته‌اند ولی در اکسیم‌هایی که حلقه مذکور در موقعیت ۲ قرار داشته است، ۱۶، ۱۹ و ۲۵ جهت‌گیری مناسبی در جایگاه فعال نشان نداده‌اند. بنابراین، به نظر می‌رسد در بیس-پیریدینیوم اکسیم‌های طراحی شده نیز مانند مونو-پیریدینیوم اکسیم‌ها وقتی که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۳ حلقه پیریدینیوم قرار می‌گیرد نتایج بهتری حاصل شده و احتمال اینکه در شرایط *in vitro* و *in vivo* نیز آن‌ها نتایج بهتری حاصل کنند وجود دارد.

همچنین محاسبات داکینگ نشان داد که در بیس-پیریدینیوم اکسیم‌های طراحی شده نیز همانند مونو-پیریدینیوم اکسیم‌ها، در

## بحث

در این مطالعه مبنای تعیین و انتخاب جعبه شبکه و سپس شناخت جهت‌گیری مناسب و یا نامناسب اکسیم‌های طراحی شده در جایگاه فعال آنزیم AChE، داده‌های استخراج شده در منابع بوده است (۱۸-۱۳). همچنین ساختار کریستالی آنزیم موشی مهار شده با تابون، به دلیل اینکه تابون یکی از قویترین عوامل عصبی به شمار می‌رود و چالش‌های فراوانی برای درمان آنزیم مهار شده با آن وجود دارد، انتخاب شده است. لازم به ذکر است جایگاه فعال (کاتالستی) آنزیم AChE موشی و انسانی کاملاً شبیه به هم می‌باشد (۲۳) و انتخاب ساختار کریستالی آنزیم موشی، تنها به دلیل مهار کننده آن بوده است و قاعدتاً در نتایج داکینگ حاصله، تفاوتی با آنزیم انسانی ندارد.

نتایج مطالعات داکینگ نشان داد که اکسیم‌های نایترونی طراحی شده، به جز آن‌هایی که موقعیت و جهت‌گیری مناسبی در جایگاه فعال آنزیم AChE نداشتند، انرژی اتصال بالاتری نسبت به پارالیدوکسیم داشته و همچنین در بسیاری از موارد انرژی اتصال مشابه و یا بالاتری نسبت به آیدوکسیم برخوردار بوده‌اند.

در میان مونو-پیریدینیوم اکسیم‌های طراحی شده، رنج انرژی اتصال وقتی که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۳ حلقه پیریدینیوم قرار داشت (-۷/۵۸ الی -۹/۵۶) نسبت به موقعیت ۲ (-۷/۹۲) الی -۹/۴۴) و ۴ (-۷/۰۷ الی -۷/۶۲) بهتر بوده است. لازم به ذکر است اکسیم‌های ۱ و ۴ وقتی که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۲ حلقه پیریدینیوم قرار داشت و ۳ و ۱۵ وقتی که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۳ حلقه پیریدینیوم قرار داشت جهت‌گیری مناسبی در جایگاه فعال نشان ندادند. بنابراین، به نظر می‌رسد اکسیم‌هایی طراحی شده مونو-پیریدینیوم که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۳ حلقه پیریدینیوم قرار دارد، به دلیل اینکه جهت‌گیری خوبی در

اگرانوفسفره انجام شده است، این تلاش‌ها بی‌نتیجه بوده و همچنان از فعال‌سازهای رایج استفاده می‌گردد. در این مقاله تعدادی اکسیم جدید بر پایه نایترون‌ها طراحی و مطالعات داکینگ به منظور بررسی قابلیت آن‌ها انجام شده است. نتایج، بیانگر انرژی اتصال بسیار مناسب آن‌ها در جایگاه فعال آنزیم مهار شده با تابون، در مقایسه با اکسیم‌های رایج ایدوکسیم و پارالیدوکسیم بوده است. نتایج نشان داد که انرژی اتصال اکسیم‌های طراحی شده‌ای که حلقه ایمیدازول در موقعیت ۳ حلقه پیریدینیوم قرار داشت در اکثر موارد جهت‌گیری و برهمکنش‌های قویتری در جایگاه فعال نشان دادند. در میان اکسیم‌های طراحی شده ترکیبات ۱۱ و ۲۶ نتایج بهتری را حاصل کردند.

سنتز، مطالعات *in vitro* و *in vivo* اکسیم‌های طراحی شده‌ای که نتایج نوید بخشی در محاسبات داکینگ حاصل کرده‌اند، به اعتبار بخشی این یافته‌ها در فعال‌سازی آنزیم مهار شده، درآینده کمک خواهد کرد.

## منابع

1. Bhattacharjee AK, Marek E, Le HT, Gordon RK. Discovery of non-oxime reactivators using an in silico pharmacophore model of oxime reactivators of OP-inhibited acetylcholinesterase. *Eur J Med Chem*. 2012;49:229-38.
2. Nachmansohn D, Wilson IB. The enzymic hydrolysis and synthesis of acetylcholine. *Adv Enzymol*. 1951;12:259-339.
3. Sinko G, Brglez J, Kovarik Z. Interactions of pyridinium oximes with acetylcholinesterase. *Chem Biol Interact*. 2010;187(1-3):172-6.
4. Taylor P. Anticholinesterase Agents. In Goodman & Gilman's, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10th ed. Hardman, JG, Limbird LE, Gilman AG, Eds. McGraw-Hill: New York, 2001. pp. 175-191.
5. Casida JE, Quistad GB. Organophosphate Toxicology: Safety Aspects of Nonacetylcholinesterase Secondary Targets. *Chem Res Toxicol*. 2004;17(8):983-98.
6. Lockridge O, Schopfer LM. Review of tyrosine and lysine as new motifs for organophosphate binding to proteins that have no active site serine. *Chem Biol Interact* 2010;187(1-3):344-8.
7. Musilek K, Holas O, Horova A, Pohanka M, Zdarova-Karasova J, Jun D, et al. Pesticides in the Modern World - Effects of Pesticides Exposure. Croatia: InTech: 2011. pp. 341-358.
8. Bajgar J, Kuca K, Fusek J, Jun D, Bartosova L. Cholinesterase reactivators as prophylactics against nerve agents. *Curr Bioact Compd*. 2010;6(1):2-8.
9. Maxwell DM, Brecht KM, Koplovitz I, Sweeney RE. Acetylcholinesterase inhibition: does it explain the toxicity of organophosphorus compounds? *Arch Toxicol*. 2006;80:756-60.
10. Hornberg A, Artursson E, Warne R, Pang YP, Ekstrom F. Crystal structures of oxime-bound fenamiphos-acetylcholinesterases: Reactivation

اکثر موارد با افزایش طول زنجیر لینکر متصل به حلقه‌های پیریدینیوم، انرژی اتصال افزایش پیدا کرده است.

همان‌گونه که انتظار می‌رفت اکسیم‌های بیس-پیریدینیوم نسبت به مونو-پیریدینیوم، به دلیل برهمکنش‌های اضافی هیدروژنی و  $\pi-\pi$  در جایگاه فعال، نتایج بهتری نشان داده‌اند. انرژی اتصال در اکسیم‌های بیس-پیریدینیوم طراحی شده نسبت به مونو-پیریدینیوم‌ها به مراتب بالاتر بوده است. به نظر می‌رسد اکسیم‌های بیس-پیریدینیوم طراحی شده با توجه به انرژی اتصال بالایی که حاصل کرده‌اند، در شرایط *in vivo* و *in vitro* نیز نتایج بهتری داشته باشند.

## نتیجه‌گیری

با وجود اینکه در سالهای اخیر تلاش‌های زیادی جهت کشف یک فعال‌ساز عمومی کارآمد، برای هر نوع مسمومیت ترکیبات

involving flipping of the His447 ring to form a reactive Glu334-His447-oxime triad. *Biochem Pharmacol*. 2010;79(3):507-15.

11. Kuca K, Bartosova L, Jun D, Patocka J, Cabala J, Kassa J, et al. New quaternary pyridine aldoximes as causal antidotes against nerve agents intoxications. *Biomed Papers*. 2005;149(1):75-82.

12. Jokanovic M, Prostran M. Pyridinium oximes as cholinesterase reactivators. Structure-activity relationship and efficacy in the treatment of poisoning with organophosphorus compounds. *Curr Med Chem* 2009;16(17):2177-88.

13. Guimaraes AP, França TCC, Ramalho TC, Renno MN, da Cunha EFF, Matos KS, et al. Docking studies and effects of syn-anti isomery of oximes derived from pyridine imidazol bicycled systems as potential human acetylcholinesterase reactivators. *J Appl Biomed* 2011;9:163-71.

14. Musilek K, Holas O, Misik J, Pohanka M, Novotny L, Dohnal V, et al. Monooxime-monomercarbonyl bispyridinium xylene-linked reactivators of acetylcholinesterase-synthesis, in vitro and toxicity evaluation, and docking studies. *Chem Med Chem* 2010; 5(2):247-54.

15. Tiwari AK, Singh Rathore V, Sinha D, Datta A, Sehgal N, Chuttani K, et al. Design and docking studies of [diethylenetriaminepentaacetic acid-(amino acid)<sub>2</sub>] with acetylcholine receptor as a molecular imaging agent for single-photon emission computed tomographic application. *Mol Imaging*. 2012;11(3):240-50.

16. Chadha N, Tiwari AK, Kumar V, Lal S, Milton MD, Mishra AK. Oxime-dipeptides as anticholinesterase, reactivator of phosphorylated-serine of AChE catalytic triad: probing the mechanistic insight by MM-GBSA, dynamics simulations and DFT analysis. *J Biol Struct Dyn*. 2015;33(5):978-90.

17. Chandar NB, Lo R, Kesharwani MK, Ganguly B. In silico study on aging and reactivation processes of tabun conjugated AChE. *Med Chem Comm.* 2015;6:871-78.
18. Kliachyna M, Santoni G, Nussbaum V, Renou J, Sanson B, Colletier JP, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel tetrahydroacridine pyridine-aldoxime and -amidoxime hybrids as efficient uncharged reactivators of nerve agent-inhibited human acetylcholinesterase. *Eur J Med Chem.* 2014;78:455-67.
19. Moghimi A, Hosseinzadeh Khanmiri R, Shaabani A, Hamadani H. A green synthesis of nitrones from diamino glyoxime using aldehydes and ketones. *J Iran Chem Soc.* 2013;10(5):929-36.
20. Available online via the Protein Data Bank: <http://www.pdb.org>.
21. Guex N, Peitsch MC. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: an environment for comparative protein modeling. *Electrophoresis.* 1997;18(15):2714-23.
22. Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem.* 2009;30(16):2785-91.
23. Tripathi A, Srivastava UC. Acetylcholinesterase: A versatile enzyme of the nervous system. *Ann Neurosci.* 2008;15(4):106-10.