

## طراحی لیگاندهای مهاری جدید آنزیم رنین بر اساس ویژگی‌های فارماکوفور جهت استفاده در کنترل فشارخون با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی در طراحی دارو

سعید پیرمادی\*

### چکیده

زمینه و هدف: یکی از راه‌های کنترل فشارخون بالا، غیرفعال کردن سیستم رنین-آنژیوتنسیونژن-آلدسترون (RAAS) است. رنین که با نام آنژیوتانسینوژناز نیز شناخته می‌شود، نوعی آنزیم است که در شریانچه‌های آوران کلیه توسط سلول‌های خاصی به نام سلول‌های نزدیک گلومرول یا (juxtaglomerular) تولید و به جریان خون ترشح می‌شود و پروتئین آنژیوتانسینوژن را به آنژیوتانسین نوع یک تبدیل می‌کند که در ایجاد فشارخون بسیار مؤثر است. مهار رنین به‌عنوان مرحله‌ی محدودکننده‌ی سرعت این چرخه، یک روش مؤثر برای متوقف کردن آن است که در درمان برخی بیماری‌های مرتبط با قلب و عروق و فشارخون نقش دارند. هدف از این مطالعه استفاده از روش‌های نوین و مختلف بر مبنای نرم‌افزار در جهت کشف ترکیبات دارویی جدیدتر با عوارض و هزینه‌ی کمتر و طی زمان کوتاه‌تر جهت کشف بر مبنای یک داروی مرجع جهت درمان و کنترل بیماری فشارخون می‌باشد. روش بررسی: پس از انتخاب ترکیب مرجع مهاری آنزیم رنین با کمک ابزارهای بیوانفورماتیکی نظیر ZINC PHARMER, PHARMIT جهت جستجوی مجازی از طریق ویژگی‌های ساختاری و فارماکوفوری ترکیب مهاری مرجع، تعدادی لیگاند جدید به دست آمد. سپس بین لیگاندها با آنزیم رنین فرایند داکینگ صورت گرفت و لیگاندهای برتر انتخابی از نظر آلفا سیسته و توکسیسیته و پیش‌بینی ADME با کمک ابزارهایی نظیر molsoft, PKCSM, way2drug و swiss ADME بررسی گردیدند. یافته‌ها: از بین چهار لیگاند برتر نهایی به دست آمده، یکی از لیگاندها بیشترین برهمکنش را با باقی‌مانده‌ی مختلف و با انرژی اتصال داکینگ (vina score=-۹/۷) بالاتر نسبت به بقیه داشت و پس از آن دو لیگاند دیگر انرژی اتصال مطلوبی داشتند. در بین باقی‌مانده‌های مؤثر برهمکنش‌کننده، Asp215، Asp32 و Leu114 در لیگاندهای برتر، مانند ترکیب مرجع، به آنزیم رنین متصل می‌شدند.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی لیگاندهای مهاری انتخاب شده توان مطلوبی جهت برهمکنش با بقایای دخیل در گزینش‌پذیری سوبسترا و فعالیت کاتالیزوری و مهار فعالیت آنزیم رنین را طبق آنالیزهای حاصل از ابزارهای بیوانفورماتیک از خود نشان دادند و تأیید آن‌ها نیازمند کارهای بالینی است.

واژه‌های کلیدی: فشارخون، رنین، مهارکننده، داکینگ

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۱/۲۹

پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۹/۲۰

\* نویسنده مسئول:

سعید پیرمادی؛

دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

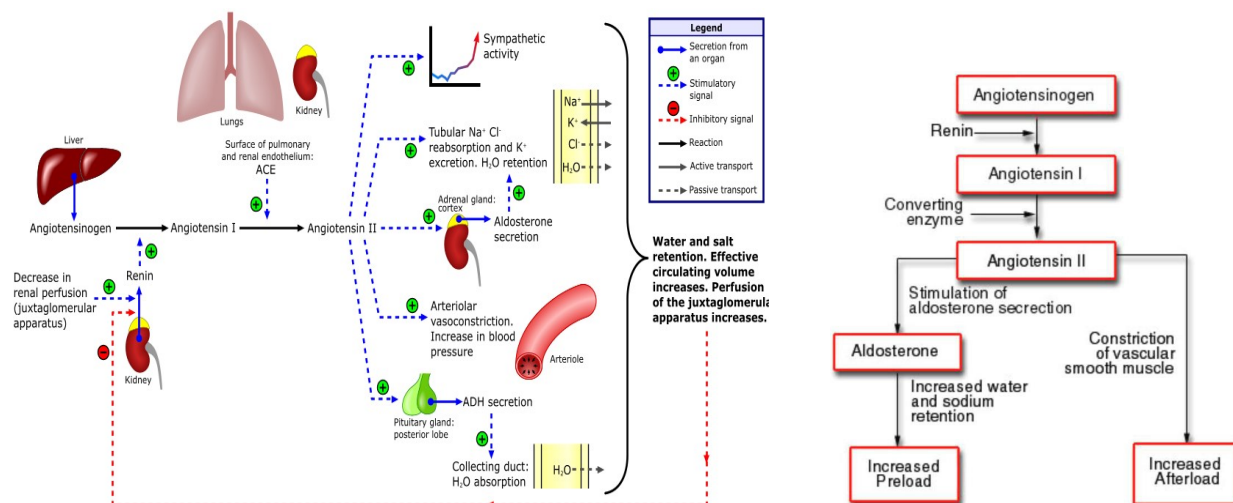
Email:

pimoradi150@gmail.com

## مقدمه

کلیوی (۴)، مصرف سیگار، رژیم‌های غذایی نامناسب، کمی تحرک، استرس و عوامل ژنتیکی اشاره نمود (۶ و ۵). مکانیسم کنترل فشارخون در بدن از طریق چرخه‌ی رنین-آنژیوتنسنین-آلدسترون صورت می‌گیرد. طی کاهش حجم خون سلول‌های نزدیک گلوامولی ۲ در کلیه این تغییر را تشخیص داده و آنزیم رنین را در خون آزاد می‌سازند.

بیماری فشارخون به یکی از بزرگ‌ترین معضلات جوامع مدرن تبدیل شده است (۱) که در ۳۱ درصد مواقع علت دقیق آن مشخص نمی‌گردد (۳ و ۲). بر اساس آمارها حدود ۲۶ درصد گروه سنی بزرگسال دچار این عارضه هستند. از مهم‌ترین عوامل ایجاد این بیماری می‌توان به سن افراد، اضافه وزن، عوارض



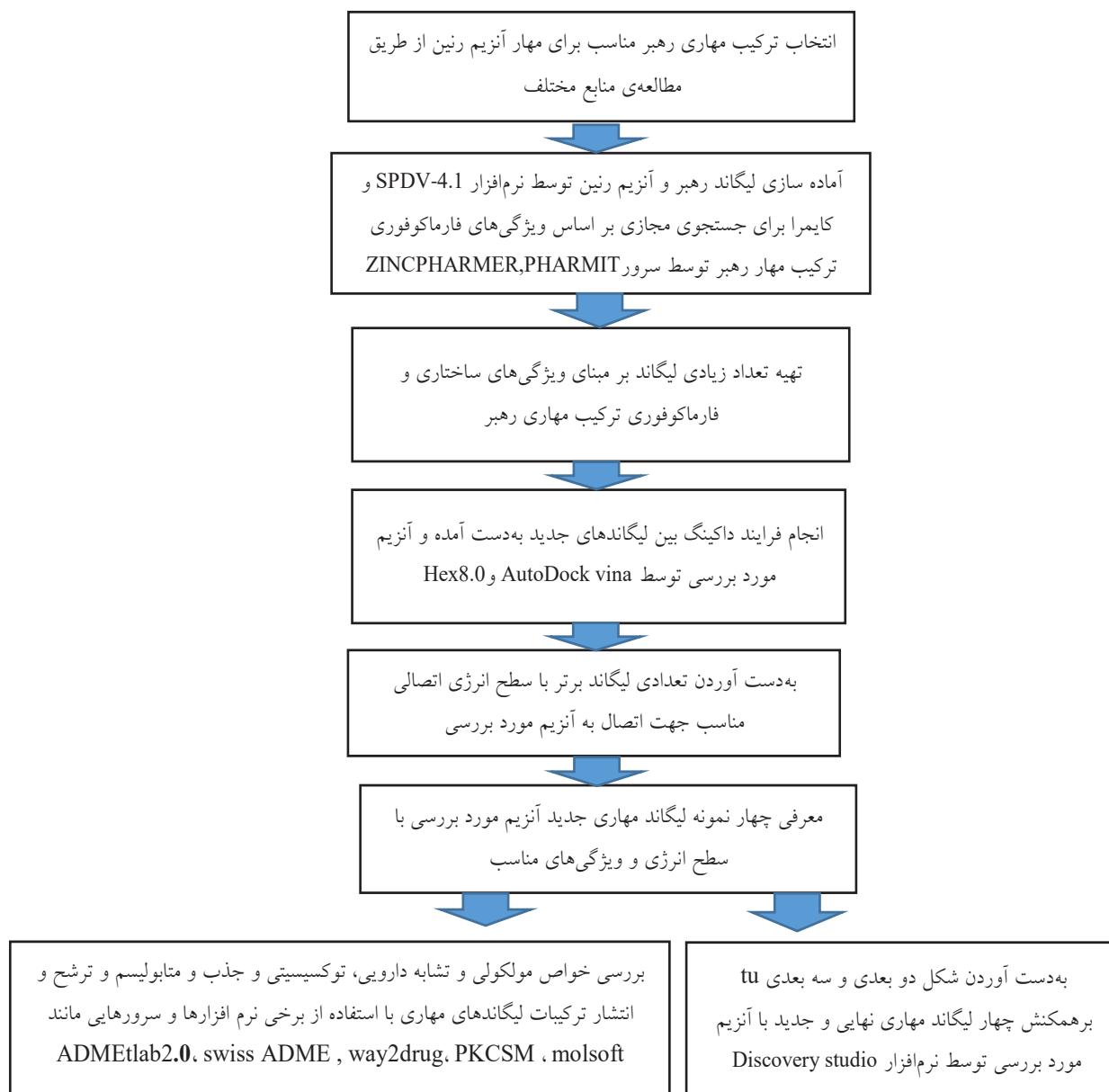
شکل ۱: طرح شماتیک چرخه آنژیوتنسینوژن تا تنظیم فشارخون در بدن (۸ و ۹)

غیرپتیدی بود که توسط سازمان جهانی غذا و دارو برای درمان فشارخون بالا تأیید شد. این دارو با تمایل بالا به جایگاه فعال آنزیم رنین متصل می‌شود. وزن مولکولی بالای این ترکیب باعث پایین بودن و نامناسب بودن دسترسی زیستی آن می‌شود. همچنین متابولیسم و دفع آلیسکیرین جذب شده به کندی صورت می‌گیرد و نیمه عمر آن بین ۴۱-۲۴ ساعت می‌شود که در مقایسه با داروهای طراحی شده پیشین طولانی‌تر می‌باشد که البته عوارض جانبی نظیر ایجاد سرگیجه و تهوع و اسهال و سردرد را به همراه دارد. آلیسکیرین یک مهارکننده رقابتی است (۱۵ و ۱۴). به‌طور کلی ضرورت تولید داروهایی با اثر بخشی بالا و عوارض جانبی کمتر به شدت احساس می‌شود (۱۶). به‌دلیل پیچیدگی‌های ساختار شیمیایی محدودیت‌هایی در زمینه‌ی تولید و ساخت این ترکیب، استفاده از آن قدری مشکل است؛ بدین خاطر هدف کار پژوهشی با الگوگیری از طبیعت و نیز مکانیسم عمل و ساختار مهارکننده‌های موجود این ترکیب، طراحی یکسری لیگاند مهارنده جدید با ویژگی‌های مناسب‌تر بود.

## روشن‌بررسی

مراحل انجام این پروژه تحقیقاتی به‌طور شماتیک در زیر ترسیم شده است.

این آنزیم از طریق جریان خون، آنژیوتنسینوژن را به آنژیوتنسنین I تبدیل می‌کند و این ترکیب توسط آنزیم کانورتنینگ به تبدیل آنژیوتنسنین II و آنژیوتنسنین II با اتصال به برخی گیرنده‌ها بر رگ‌های خونی اثر کرده و با انقباض عروق موجب افزایش فشارخون می‌شود (۷). این هورمون از سویی تنگ‌کننده‌ی عروق خونی است و از سوی دیگر با جذب آب و سدیم از سلول‌های کلیوی را افزایش می‌دهد که همگی منجر به افزایش فشارخون می‌شوند (شکل ۱) (۸ و ۹). مهارکننده‌های آنزیم رنین از تبدیل آنژیوتنسینوژن به آنژیوتنسنین I جلوگیری می‌کنند (۱۰). رزیدوهای (بازمانده‌های) مکان فعال کاتالیک این آنزیم شامل دو اسپارتیک اسید ۳۲ و ۲۲۵ در رنین انسانی است که در مرکز شکاف بین دو دمین قرار گرفته‌اند (۱۱). از ضعف مهارکننده‌های رنین می‌توان به جذب پایین و حذف سریع اشاره کرد (۱۲). با الگو گرفتن از ساختار سوبسترای رنین یعنی آنژیوتنسینوژن، پپتیدهایی به‌عنوان مهارکننده‌های رنین نظیر enalkiren, remikiren, zankiren و aliskiren ساخته شدند که به‌دلیل نیمه عمر و دسترسی زیستی پایین توانایی کافی برای کاهش فشارخون را نداشته و کاربرد کلینیکی بسیار محدودی داشتند (۱۳). نتیجه‌ی این تحقیقات به یک مهارکننده برای آنزیم رنین انسانی به‌نام آلیسکیرین منجر شد که اولین داروی



شکل ۲: نمودار کلی از مراحل انجام کار تمقیقاتی

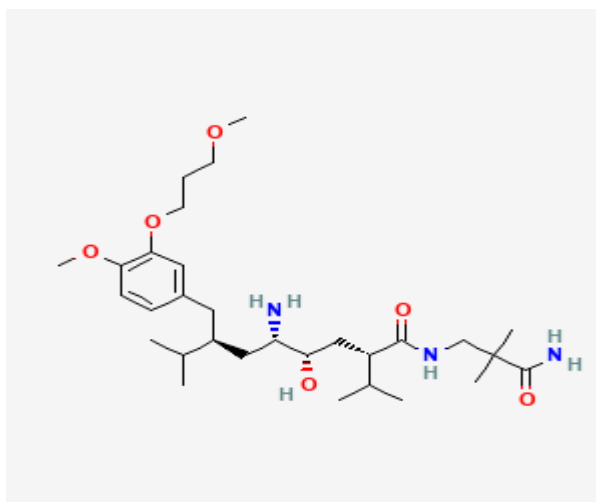
سپس در ادامه تمام لیگاندهای پیدا شده مهاری بر مبنای این الگوها از این پایگاه های داده بازیابی شد. این ابزار به طور کلی از طریق بررسی ساختار و پیوندهای بین داروی مرجع و رسپتور شبیه ترین لیگاندهای داروی مرجع را در دیتابیس های مختلف شناسایی می کند. در این مرحله با استفاده از نرم افزار Iuperd2 به بررسی ساختار توالی آنزیم رنین و میزان پایداری آن جهت اطمینان از برهمکنش پایدار با لیگاندهای مهاری پرداخته شد که در این ابزار تمام ساختار رسپتور از لحاظ پایداری جهت اتصال با لیگاندها بررسی می شود. سپس در ادامه و در این مرحله با استفاده از نرم افزار HEX8.0.0 و AutoDock vina فرایند داکینگ بین رسپتور و تعدادی از لیگاندهای مهاری انتخابی توسط فارماکوفور صورت گرفت. در آخر برهمکنش های لیگاند/ رسپتور توسط

در این مطالعه، ابتدا ساختار PDB (Protein Data Bank) ترکیب آنزیم ACE2/الیکسیرن و با استفاده از کد دسترسی آن از پایگاه داده RCSB تهیه شد. همچنین در ادامه از بین ترکیبات مهاری برگشت پذیر آنزیم ACE2 یک ترکیب که نسبت به بقیه طی بررسی و با انجام داکینگ دارای شرایط بهتر بود، به عنوان ترکیب رهبر جهت جستجوی مجازی فارماکوفور انتخاب شد. سپس با استفاده از سرور pharmit کمپلکس حاوی رسپتور و مهارکننده دارویی مورد نظر، جهت انجام فرایند فارماکوفور تهیه و آماده سازی شد. حال در ادامه به ترتیب فایل مهارکننده/ رسپتور توسط پایگاه داده ZINCpharmer و pharmit فراخوانی شدند و از آن ها به عنوان یک الگو جهت پیدا کردن لیگاندهای مهاری جدید برای مهار آنزیم 2VOZ مورد نظر استفاده شد.

## یافته‌ها

در این مطالعه ابتدا ساختار PDB (ساختار سه بعدی) ترکیب آنزیم رنین با کد دسترسی (2V0Z) از پایگاه داده RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics) تهیه شد. سپس از بین ترکیبات مهارنده رقابتی، آنزیم رنین ترکیب الیسکیرن که تنها ترکیبی بود که مجوز سازمان جهانی غذا و دارو را داشت، به عنوان ترکیب رهبر، جهت فرایند فارماکوفور انتخاب شد (شکل ۳).

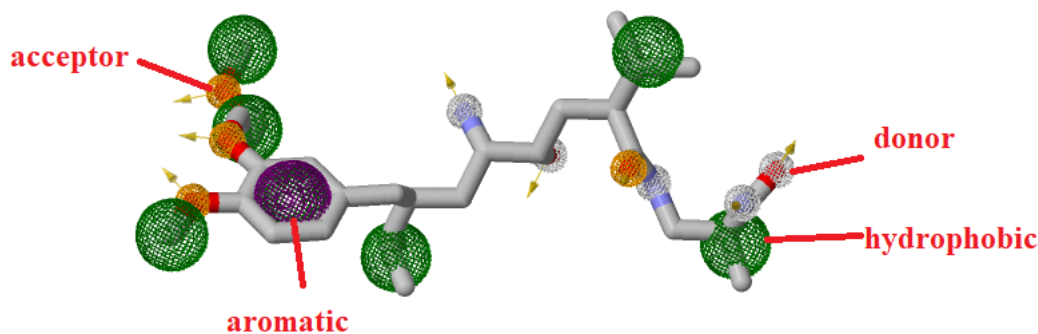
نرم افزار Discovery studio هم به صورت دویبعدی و هم سه بعدی نمایش داده شد (۱۷ و ۱۸). ابزارهای داکینگ از طریق محاسبات و بررسی لیگاندهای مختلف بهترین برهمکنش‌ها و میزان انرژی اتصال لیگاندها را با رسپتور از لحاظ پایداری نمایش می‌دهد. در این مرحله با استفاده از برخی نرم افزارها و سرورهای مانند molsoft, PKCSM, ADMETab2.0, swiss ADME, way2drug به بررسی خواص مولکولی و تشابه دارویی توکسیسیته و جذب متابولیسم و ترشح و انتشار ترکیبات لیگاندهای مهارنده پرداخته شد (۱۹).



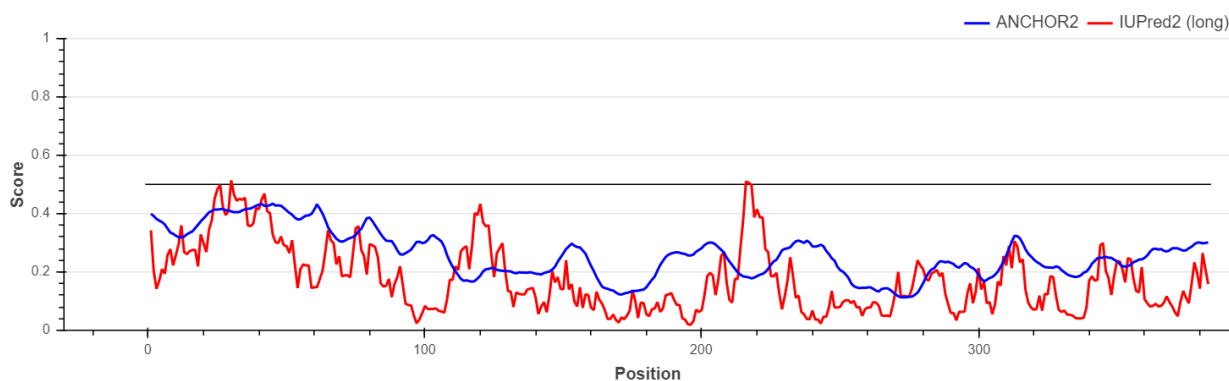
شکل ۳: ساختار ترکیب مهارکننده Aliskiren که به عنوان ترکیب مهارنده جهت فارماکوفور و جستجوی مجازی برای به دست آوردن لیگاندهای مهارنده جدید مهارکننده آنزیم رنین استفاده گردید.

شد از طریق توصیف گره‌های مؤثر فارماکوفوری (قوانین لیپینسکی) این لیگاند که برخی از آن‌ها شامل حلقه آروماتیک (RAR)، پیوندهای آبگری (HYA)، گروه‌های اهداکننده پیوند هیدروژنی (HBD) و گیرنده پیوند هیدروژنی (HBA) به عنوان ویژگی‌های مهم لیپینسکی مدنظر هستند، برای ایجاد مدل‌های فارماکوفور در ترکیب مورد نظر در نظر گرفته شد (شکل ۴).

سپس در این مرحله با استفاده از نرم افزارهایی مانند SPDV-4.1 و Chimera لیگاندها و رسپتور مورد مطالعه از نظر انرژی مینی مایز شدند و هترواتم‌های رسپتور جهت انجام فرایند فارماکوفور حذف شده و لیگاند رهبر و رسپتور آن که آنزیم رنین است، آماده سازی شدند. حال پس از آن که لیگاند رهبر مورد نظر (الیسکیرن) در پایگاه داده ZINC PHARMER و pharmit فراخوانی



شکل ۴: شکل ویژگی‌های فارماکوفوری ترکیب رهبر (Aliskiren) و نمایش ویژگی‌های فارماکوفوری این ترکیب جهت استفاده در جستجوی مجازی توسط سرور pharmit, zincpharmer جهت یافتن لیگاندهای دارای ویژگی‌های فارماکوفوری مشابه آن جهت فرایند داکینگ با آنزیم رنین



شکل ۵: شکل فرجه‌ی حاصل از سرور IUPred2 حاصل از بررسی صحت و نبود افتلال در سافت‌آر فایل آنزیم رنین

ترکیب مهاری رهبر به دست آمد که از قوانین پنج‌گانه‌ی لپینسکی (وزن مولکولی، تعداد اتم‌های دهنده پیوند هیدروژنی، تعداد اتم‌های پذیرنده پیوند هیدروژنی و cLogP) تبعیت می‌کردند و ویژگی‌های ADMET خوبی داشتند که برای تجزیه و تحلیل بعدی جهت فرایند داکینگ مولکولی فراخوانی شدند. آنالیز نتایج حاصل از نرم‌افزار IUPred2 بیانگر ساختاری پایدار و فاقد بی‌نظمی در رسپتور می‌باشد (شکل ۵).

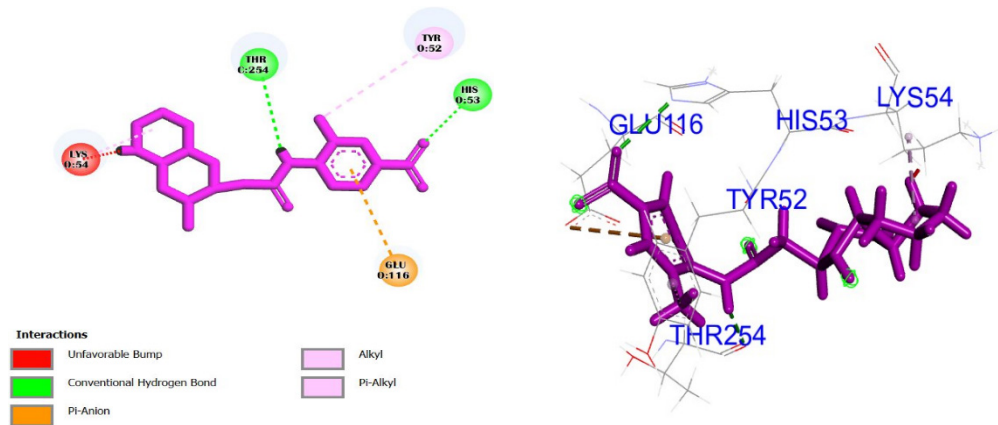
طی فرایند داکینگ و در این مرحله بین چهار لیگاند برتر و ترکیب رهبر و آنزیم رنین برهمکنش‌های مختلفی ایجاد شد که در جدول ۱ به آن‌ها اشاره شده است. در ادامه جهت فرایند جستجوی مجازی، لیگاند رهبر به همراه آنزیم رنین آماده‌سازی شده در پایگاه داده‌های pharmit و zincpharmer استفاده شدند که حاصل این جستجو در این پایگاه‌های داده در نهایت ۴ لیگاند جدید مهاری بر مبنای ویژگی‌های فارماکوفوری

جدول ۱: جدول مربوط به نوع آمینواسیدهای شرکت‌کننده و برهمکنش‌های لیگاندهای مهاری انتقابی با آنزیم رنین

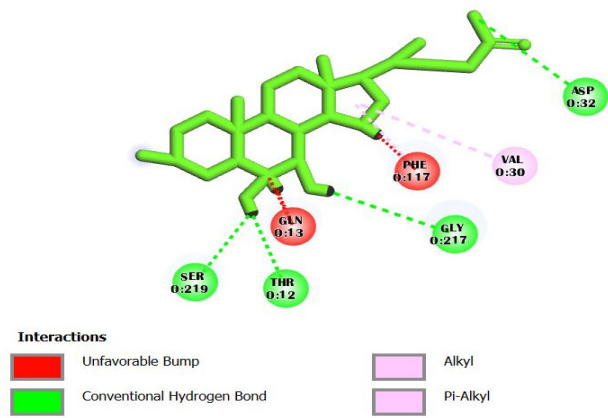
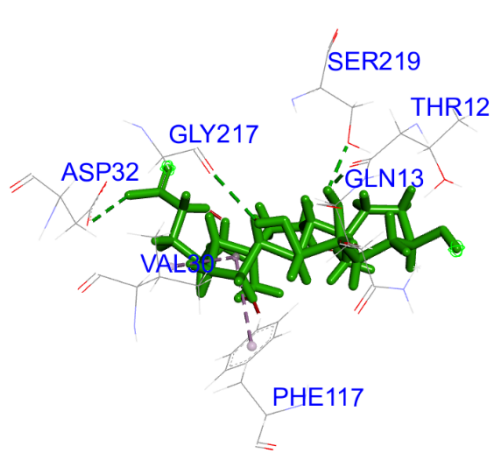
نام لیگاند	آمینواسیدها و اثر آن‌ها در برهمکنش
لیگاند ۱	هیستیدین ۵۳، لیزین ۵۴، تیروزین ۵۲، گلوتامین ۱۱۶، ترئونین ۲۵۴
لیگاند ۲	والین ۳۰، گلوتامین ۱۳، ترئونین ۱۲، سرین ۲۱۹، فنیل‌الانین ۱۱۷، اسپارتیک اسید ۳۲، اسپاراژین ۲۱۵
لیگاند ۳	لیزین ۵۴، اسپارتیک اسید ۱۱۸، تیروزین ۵۲، هیستیدین ۵۳، لیزین ۲۸، گلوتامین ۱۱۶، لوسین ۱۱۴
لیگاند ۴	اسپارتیک اسید ۲۱۵، متیونین ۲۸۹، تیروزین ۷۵، لوسین ۱۱۴
السیکین	لوسین ۱۱۴، پرولین ۱۱۱، الانین ۱۱۵، ترئونین ۱۲، فنیل‌الانین ۱۷، گلوتامین ۱۳، تیروزین ۱۴، سرین ۲۱۹، والین ۳۰، گلیسین ۲۱۷، تنونین ۲۱۶، اسپارتیک اسید ۳۲، ایزولوسین ۱۳۰، تیروزین ۷۵، ارژنین ۷۴، ایزولوسین ۲۹۱، سرین ۷۶

سرین ۲۱۹، فنیل‌الانین ۱۱۷، اسپارتیک اسید ۳۲، اسپاراژین ۲۱۵ و پس از آن لیگاند ۳ از طریق رزیدوهای لیزین ۵۴، اسپارتیک اسید ۱۱۸، تیروزین ۵۲، هیستیدین ۵۳، لیزین ۲۸، گلوتامین ۱۱۶، لوسین ۱۱۴ بیشترین برهمکنش را با بیشترین تعداد باقی‌مانده متمایز در پاکت فعال آنزیم مشابه ترکیب الگو برقرار کرده است (جدول ۱).

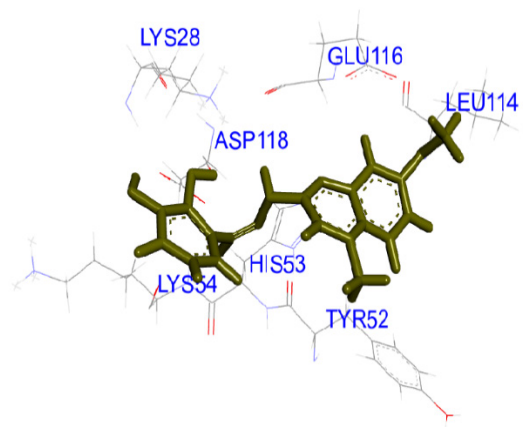
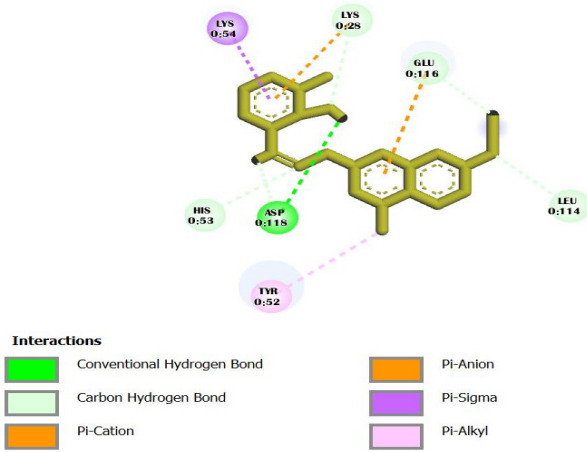
بر همین اساس تصاویر برهمکنشی ارائه شده بین لیگاندها و آنزیم که در شکل ۶، بقایای دخیل در فعل و انفعالات بین محل فعال آنزیم رنین و ترکیبات لیگاندی مهاری را در قیاس با ترکیب رهبر نشان می‌دهد (شکل ۶). همان‌طور که در شکل ۶ نشان داده شده است از بین این چهار لیگاند، لیگاند ۲ از طریق رزیدوهای والین ۳۰، گلوتامین ۱۳، ترئونین ۱۲،



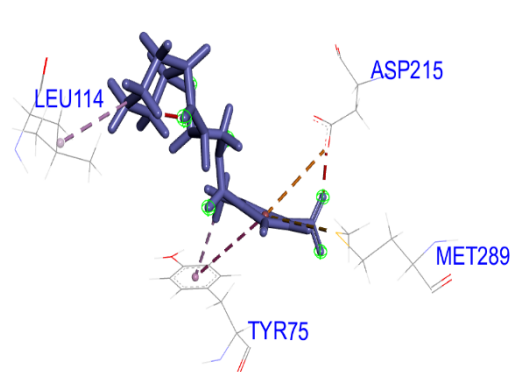
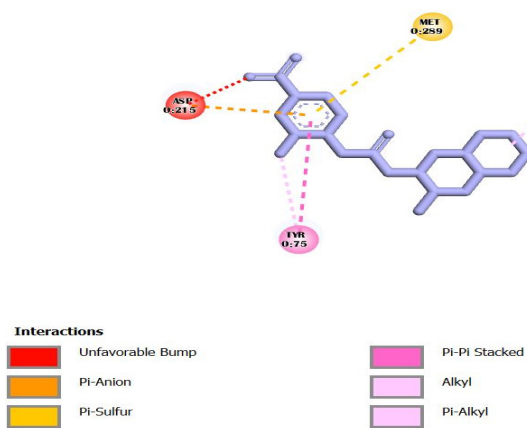
A



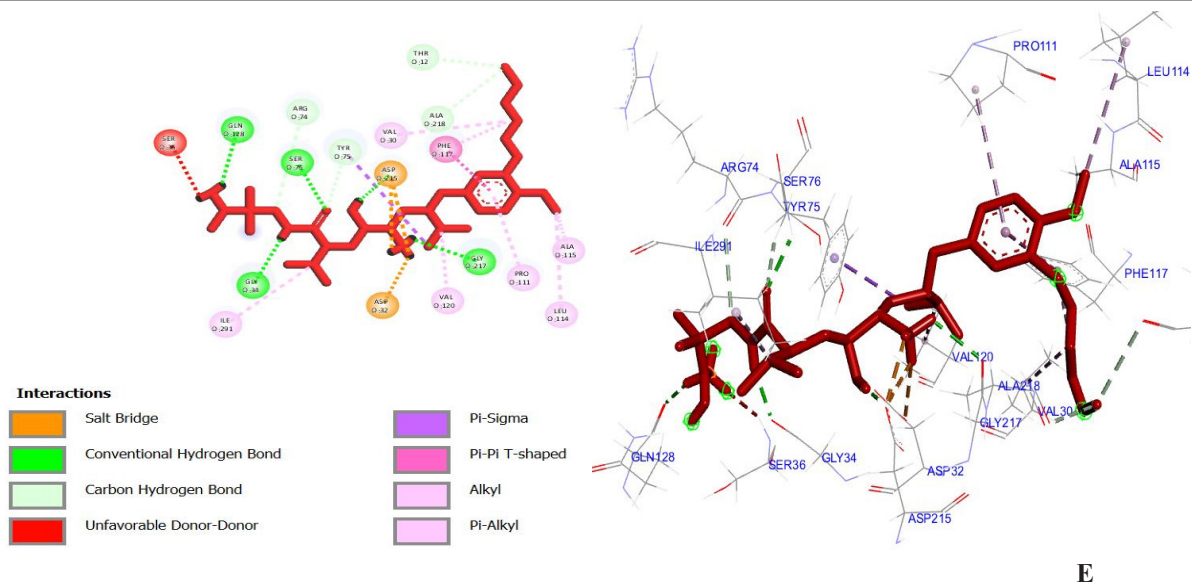
B



C



D



شکل ۴: شکل برهمکنش لیگندهای به دست آمده با آنزیم رنین با استفاده از نرم افزار دیسکوری استودیو (Aliskren) E و D (لیگاند ۱۴) و C (لیگاند ۳) و B (لیگاند ۲) و A (لیگاند ۱)

خواص مولکولی و تشابه دارویی توکسیسیتی و جذب متابولیسم و ترشح و انتشار ترکیبات لیگاندهای مهارتی پرداخته شد و نتایج زیر حاصل گردید (جدول ۲).

در ادامه‌ی آنالیز نتایج و در این مرحله با استفاده از سرورهای molsoft، ADMETlab2.0، swiss ADME، way2drug، PKCSM که به بررسی

جدول ۲: ویژگی‌های AMED ترکیب مرجع و لیگاندهای برتر انتخابی

نام لیگاند	امتیاز وینا	لگاریتم P	لگاریتم S	وزن مولکولی	لگاریتم D	پیوندهای هیدروژنی گیرنده	پیوندهای هیدروژنی دهنده	پیوندهای چرخشی
لیگاند ۱	-۸/۹	۲/۱۲۲	-۲/۳۴۷	۳۴۶/۱۶۰	۲/۸۴۳	۸	۳	۵
لیگاند ۲	-۸/۷	۱/۸۱۵	-۲/۰۷۷	۳۴۶/۱۶۰	۲/۵۴۸	۸	۳	۵
لیگاند ۳	-۹/۳	۳/۷۹۲	-۳/۲۲۵	۴۰۸/۲۹۰	۳/۸۳۹	۵	۴	۴
لیگاند ۴	-۹/۳	۴/۰۰۵	-۴/۲۶۹	۳۲۳/۱۳۰	۳/۰۶۶	۶	۳	۳
الیسکرن	-۸/۹	۲/۲۸۵	-۴/۰۹۲	۵۵۱/۳۹۰	۳/۳۰۲	۹	۶	۲۰

به هزینه و زمان بالای مورد نیاز برای مطالعات تجربی آن‌ها و به منظور صرفه‌جویی در زمان و هزینه، از طریق روش‌های کامپیوتری مانند فارماکوفور و QSAR (Quantitative structure-activity relationship) و داکینگ صورت می‌گیرد. امروزه نرم‌افزارهای کامپیوتری، محاسبات برهمکنش‌های مولکولی را انجام می‌دهند و موجب افزایش درک ما از برهمکنش مولکول‌ها خواهند شد. بنابراین با کمک این نرم‌افزارها، می‌توان پیش از انجام آزمایش‌های تجربی، به بررسی برهمکنش ترکیبات شیمیایی با رستپورها پرداخت و ترکیبات با احتمال اتصال بیشتر به مولکول هدف را انتخاب نمود و در آزمایشگاه در سیستم‌های زنده بررسی کرد. در مطالعه‌ی حاضر پس از انتخاب یک ترکیب مهارتی مرجع آنزیم رنین از بین چندین مهارکننده برگشت‌پذیر رایج این آنزیم، از آن برای

## بحث

سیستم رنین-آنژیوتانسین نقش مهمی در تنظیم سیستم گردش خون سیستمیک دارد. به سرعت در پاسخ به محرک‌هایی نظیر کاهش فشارخون و کاهش غلظت سدیم و فعال‌سازی سیستم عصبی سمپاتیک فعال می‌شود (۱). شواهد نشان می‌دهند که طیف گسترده‌ای از مهارکننده‌های رنین در مدیریت انواع بسیاری از فرایندهای درمانی فشارخون، نوروپاتی کلیه، چاقی و غیره در بافت‌های مختلف مؤثرند. همچنین مطالعات تجربی حاکی از نقش این سیستم در تنظیم تکثیر سلولی، آنژیوژنز و پیشرفت تومورها و مهاجرت و اپوپتوز نیز هست (۳ و ۴). از طرف دیگر مطالعه و طراحی داروهای ضدافسردگی و التهایی جدید با خواص چندگانه و با خطرات کمتر و مناسب‌تر و با توجه

جستجوی مجازی در پایگاه داده pharmit, zincpharmer استفاده شد که بر اساس ویژگی‌های فارماکوفوری و ساختاری آن تعداد زیادی لیگاند به دست آمد، سپس طی فرایند داکینگ مولکولی بین این ترکیبات لیگاندی به دست آمده با آنزیم رنین جهت دست یافتن به اتصالات آمینواسیدهای درگیر آنزیم رنین با این لیگاندهای مهارى طراحی شده و انرژی اتصال مطلوب از بین آن‌ها لیگاندهای برتر انتخاب شدند (۲۰). طی نتایج حاصل از فرایند داکینگ نشان داده شد که لیگاند ۳ که نسبت به بقیه انرژی اتصال بیشتری داشت (VINA SCORE=-۹/۳) و با آنزیم رنین از طریق برهمکنش‌های هیدروژنی با آمینواسیدهای Asp118, Lu114, Lys28, Glu118, His53, Ls28, و نیز به واسطه پیوندهای pi-alkyl و الکیلی و از طریق Tyr52 و نیز از طریق پیوندهای Pi کاتیون و انیونی با Ley28, Glu118 و نیز به واسطه پیوند Pi سیگما با Lys54 برهمکنش‌های مهمی با آنزیم رنین دارند که اکثریت آن‌ها پیوندهایی مشابه ترکیب مرجع با آنزیم برقرار کردند (شکل ۶C) که نسبت به بقیه بیشترین شباهت برهمکنشی را با لیگاند مرجع داشت. لیگاند برتر دیگر لیگاند ۲ بود (VINA SCORE=-۸/۷) که یک فعل و انفعال pi-alkyl با VAL30 و همچنین پیوندهای دو پیوند هیدروژنی از طریق Ser219, Thr12 با ساختار آنزیم رنین ایجاد کرد (شکل ۶B). آخرین اتصال از طریق لیگاند ۱ بود که قرابت بالا داشته (vina score=-۸/۹) که در محل اتصال با آنزیم رنین برهمکنش‌هایی داشت. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، دو پیوند هیدروژنی معمولی با His53, Thr254 و دو پیوند هیدروژنی معمولی و همچنین یک فعل و انفعال الکیل-pi با Tyr52 و یک پیوند pi-Anion با Glu116 بین لیگاند ۱ و بقایای واقع در آنزیم رنین شکل گرفت. همان‌طور که در شکل ۶ نشان داده شده است، لیگاند ۳ بیشترین فعل و انفعالات را با بیشترین تعداد باقی‌مانده متمایز و پس از آن LIG4 برقرار کرده است. در بین باقی‌مانده‌های متقابل Asp215, Asp32, و Leu114 در منطقه‌ای قرار دارند که همانند ترکیب مرجع، دیگر لیگاندهای مهارى انتخابی نیز از طریق این رزیدوها به مکان فعال آنزیم رنین متصل می‌شوند. در مطالعه‌ی کنونی، هر سه لیگاند ۲ و ۳ و ۴ برهمکنش‌های دیگری مانند Val30, Gln13, Thr12 همانند ترکیب مرجع با بقایای آنزیم ایجاد کردند که این شباهت بالای آن‌ها با ترکیب مهارى مرجع و همچنین توان بالای برهمکنشی آن‌ها را نسبت به ترکیب مرجع نشان می‌دهد و احتمالاً آن‌ها اثر مهارى خوبی به‌ویژه لیگاند ۳ از خود نشان می‌دهند. نتایج داکینگ نشان

می‌دهد که هر دو این ترکیبات با بقایای دخیل در گزینش‌پذیری سوبسترا و فعالیت کاتالیزوری نیز تعامل ایجاد می‌کنند که این‌ها می‌تواند بر روی خواص فیزیکی و شیمیایی و جهت‌گیری فضایی در جایگاه اتصال به آنزیم رنین مؤثر باشد (۲۱) و فعالیت آنزیم رنین را مختل و مهار کند. استخلاف‌های موجود در این لیگاندها بر میزان لیوفیلیسیته این لیگاند تأثیر زیادی دارند (۲۲). بررسی رابطه‌ی ساختار و فعالیت این لیگاند با فعالیت آنزیم رنین نشان داد که وجود حلقه‌های اروماتیک، بخش‌های هیدروفوبیک، امین‌های نوع سوم، پیوندهای قابل چرخش ( $RB < 5$ ) و پیوندهای هیدروژنی و دیگر پیوندها در افزایش قدرت برهمکنشی مهارى این لیگاندها مؤثر هستند و می‌توان این‌طور استنباط کرد که تشکیل انواع پیوند هیدروژنی بهینه در این ترکیبات به‌منظور افزایش برهمکنش‌های هیدروفوب از عوامل مهم در مهار مسیر مختلف فعال شونده توسط فعالیت آنزیم رنین است (۲۴ و ۲۳). همچنین از نتایج به دست آمده از سرورهای ADMETlab2.0, swiss ADME.way2drug, PKCSM, molsoft که به بررسی خواص مولکولی و تشابه دارویی توکسیسیته و جذب متابولیسم و ترشح و انتشار ترکیبات لیگاند مهارى پرداخته شد، بر مبنای آن‌ها لیگاندهای مورد بررسی از نظر ضریب حلالیت ( $\log S > -4$ ) و وزن مولکولی ( $MW < 500$ ) و ضریب اکتانول/آب که معیاری از آب‌دوستی ترکیب است ( $\log P < 5$ ) شرایط مطلوبی داشتند (جدول ۱)، همچنین از لحاظ مهار ترکیبات CYPs (cytochrome P450) فاقد توان مهارى و فاقد سمیت کبدی و نیز دارای جذب روده‌ای و  $CaCO_2$  بودند و ترکیبات لیگاندی مهارى انتخاب شده از مجموع این ویژگی‌های ذکر شده در مجموع امتیاز قابل قبولی کسب کرده‌اند (۲۵ و ۲۴). همچنین تمام لیگاندهای مهارى انتخابی از قواعد پنج‌گانه‌ی لیبینسکی تبعیت کردند. بدین‌خاطر و بر اساس ویژگی‌های فاکتورهای دارویی این ترکیبات، آن‌ها همگی بدون هیچ‌گونه تخطی از ویژگی‌های ذکر شده می‌توانند به‌عنوان ترکیبات دارویی احتمالی در سیستم‌های بیولوژیکی به شمار آیند (۲۶ و ۲۵). بدین‌خاطر ارزش آزمایش برای سنجش‌های بیوشیمیایی دارند و می‌توانند به‌عنوان دارویی با ارزش برای مصرف در انسان البته پس از فرایندهای فاز بالینی در آزمایشگاه با رعایت احتیاطات لازم تجویز شوند؛ اگرچه این ویژگی‌ها در مطالعات بر مبنای کامپیوتر (insilico) بسیار قابل توجه هستند، مطالعات بیشتر در شرایط آزمایشگاهی و بالینی بر روی حیوانات جهت اطمینان از صحت نتایج اینسپلیکو مربوط به لیگاندهای مهارى باید حتماً در نظر گرفته شود.

اتصال پایین تر، کمپلکس های پایدارتری با رنین تشکیل داده و می توانند به عنوان مهارکننده هایی مطرح شوند که توان رقابت با الیسکیرن را در اتصال به این آنزیم دارند. این لیگاندها می توانند گزینه های مناسبی برای انجام بررسی های تجربی به منظور دستیابی به ترکیبات جدید مهارکننده ی رنین و در نتیجه درمان فشارخون بالا باشند که البته تأیید همگی این ها نیازمند انجام فرایندهای آزمایشگاهی و بالینی است. به طور کلی پیشنهاد می شود که ترکیبات مهارتی و طبیعی مختلف در مورد بیماری های مختلف مورد ارزیابی های مختلف قرار گیرد تا شاید بتوان داروهایی با اثرات مفیدتر و مضرات کمتر در آینده کشف نموده و در دسترس همگان قرار داد.

در این مطالعه، روش های تئوری و محاسباتی از قبیل داکینگ مولکولی برای بررسی ترکیب کمپلکس رنین با لیگاندهای طراحی شده به کار گرفته شد. بر اساس نتایج به دست آمده، مشخص شد که لیگاندها توانایی اتصال به جایگاه فعال آنزیم و مهار آن از طریق رقابت با سوبسترا را دارند. در واقع با توجه به نتایج محاسبه ی انرژی آزاد اتصال می توان این گونه استنباط کرد که این لیگاندها قابلیت رقابت با الیسکیرن را داشته و با تأثیر بر تشکیل کمپلکس رنین-آنژیوتنسینوژن اثر مهارکنندگی رقابتی خوبی می تواند داشته باشد. از سوی دیگر، مطالعه بر روی لیگاندهای طراحی شده نشان داد که با داشتن میان کنش های مطلوب و انرژی

## References

1. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo Jr JL, et al. Seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Hypertension* 2003; 42(6): 1206-52.
2. Benetos A, Bulpitt CJ, Petrovic M, Ungar A, Agabiti-Rosei E, Cherubini A, et al. An expert opinion from the European society of hypertension-European union geriatric medicine society working group on the management of hypertension in very old, frail subjects. *Hypertension* 2016; 67(5): 820-5.
3. Dionne JM, Abitbol CL & Flynn JT. Hypertension in infancy: Diagnosis, management and outcome. *Pediatric Nephrology* 2012; 27(1): 17-32.
4. Paul M, Poyan-Mehr A & Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiological Reviews* 2006; 86(3): 747-803.
5. Sullivan RD, Mehta RM, Tripathi R, Reed GL & Gladysheva IP. Renin activity in heart failure with reduced systolic function—new insights. *International Journal of Molecular Sciences* 2019; 20(3182): 1-27.
6. Sielecki AR, Hayakawa K, Fujinaga M, Murphy ME, Fraser M, Muir AK, et al. Structure of recombinant human renin, a target for cardiovascular-active drugs, at 2.5 Å resolution. *Science* 1989; 243(4896): 1346-51.
7. Wood JM, Maibaum J, Rahuel J, Grutter MG, Cohen NC, Rasetti V, et al. Structure-based design of aliskiren, a novel orally effective renin inhibitor. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2003; 308(4): 698-705.
8. Muller DN, Derer W & Dechend R. Aliskiren—mode of action and preclinical data. *Journal of Molecular Medicine* 2008; 86(6): 659-62.
9. Li X, Liao J, Jiang Z, Liu X, Chen S, He X, et al. A concise review of recent advances in anti-heart failure targets and its small molecules inhibitors in recent years. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2020; 186(111852): 1-13.
10. Pool JL. Direct renin inhibition: Focus on aliskiren. *Journal of Managed Care Pharmacy* 2007; 13(8 SB): 21-33.
11. Oh BH. Aliskiren, the first in a new class of direct renin inhibitors for hypertension: Present and future perspectives. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 2007; 8(16): 2839-49.
12. Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, et al. PubChem substance and compound databases. *Nucleic Acids Research* 2016; 44(D1): D1202-13.
13. Debnath AK. Pharmacophore mapping of a series of 2,4-diamino-5-deazapteridine inhibitors of Mycobacterium avium complex dihydrofolate reductase. *Journal of Medicinal Chemistry* 2002; 45(1): 41-53.

14. Perdomo-Pantoja A, Mejia-Perez SI, Gomez-Flores-Ramos L, Lara-Velazquez M, Orillac C, Gomez-Amador JL, et al. Renin angiotensin system and its role in biomarkers and treatment in gliomas. *Journal of Neuro-Oncology* 2018; 138(1): 1-15.
15. Hussain M & Awan FR. Hypertension regulating angiotensin peptides in the pathobiology of cardiovascular disease. *Clinical and Experimental Hypertension* 2018; 40(4): 344-52.
16. Tahergorabi Z & Khazaei M. The relationship between inflammatory markers, angiogenesis, and obesity. *Arya Atherosclerosis* 2013; 9(4): 247-53.
17. Datzmann T, Fuchs S, Andree D, Hohenstein B, Schmitt J & Schindler C. Systematic review and meta-analysis of randomised controlled clinical trial evidence refutes relationship between pharmacotherapy with angiotensin-receptor blockers and an increased risk of cancer. *European Journal of Internal Medicine* 2019; 64(1): 1-9.
18. Dveksler GS, Pensiero MN, Cardellicchio CB, Williams RK, Jiang GS, Holmes KV, et al. Cloning of the mouse hepatitis virus (MHV) receptor: Expression in human and hamster cell lines confers susceptibility to MHV. *Journal of Virology* 1991; 65(12): 6881-91.
19. Loganathan L, Sankar J, Rajendran K & Muthusamy K. Theoretical investigation on known renin inhibitors and generation of ligand-based pharmacophore models for hypertension treatment. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 2024; 42(24): 13411-20.
20. Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW & Kopple KD. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry* 2002; 45(12): 2615-23.
21. Pirmoradi S. Design of new inhibitory ligands of monoamine oxidase A-enzyme for use in the control of depression and mental disorders using bioinformatics tools. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam* 2022; 10(2): 33-45[Article in Persian].
22. Zhang W, Zhao Y, Zhang F, Wang Q, Li T, Liu Z, et al. The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): The perspectives of clinical immunologists from China. *Clinical Immunology* 2020; 214(108393): 1-6.
23. Mohanty SK, Satapathy A, Naidu MM, Mukhopadhyay S, Sharma S, Barton LM, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease 19 (COVID-19)—anatomic pathology perspective on current knowledge. *Diagnostic Pathology* 2020; 15(103): 1-17.
24. Daina A & Zoete V. A boiled egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. *ChemMedChem* 2016; 11(11): 1117-21.
25. Ritchie TJ, Ertl P & Lewis R. The graphical representation of ADME-related molecule properties for medicinal chemists. *Drug Discovery Today* 2011; 16(1-2): 65-72.
26. Yu Z, Chen Y, Zhao W, Zheng F, Ding L & Liu J. Novel ACE inhibitory tripeptides from ovotransferrin using bioinformatics and peptidomics approaches. *Scientific Reports* 2019; 9(17434): 1-10.

# Design of New Inhibitory Ligands Based on Bioinformatic Pharmacophore Modeling in Renin Enzyme for Blood Pressure Control and Treatment

Saeed Pirmoradi\* (Ph.D.)

Ph.D. in Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

## Abstract

Received: 18 Feb. 2023

Accepted: 10 Dec. 2024

**Background and Aim:** One of the ways to control high blood pressure is to deactivate the renin-angiotensinogen-aldosterone RAAS system. Renin, also known as angiotensinogenase, is a type of enzyme that is produced in the afferent arterioles of the kidney by special cells called juxtaglomerular cells and secreted into the bloodstream and converts angiotensinogen protein into angiotensin type 1, which is very effective in causing high blood pressure. Inhibition of renin as the rate-limiting step of this cycle is an effective way to stop it, which plays a role in the treatment of some diseases related to the heart and blood vessels and blood pressure. The purpose of this study is to use new and different methods based on software to discover newer medicinal compounds with less side effects and cost and in a shorter time to discover based on a reference drug for the treatment and control of blood pressure disease.

**Materials and Methods:** By selecting the inhibitory reference compound of renin enzyme by bioinformatics tools such as PHARMIT, ZINCPHARMER during virtual search through the structural and pharmacophoretic properties of the reference inhibitory compound, a number of new ligands were obtained. Then the docking process was performed and the selected top ligands in terms of toxicity, allergy, toxicity and ADME prediction were examined with the help of tools such as molsoft, PKCSM, way2drug and swiss ADME.

**Results:** Among the four final top ligands obtained, one of the ligands had the most interaction with different residues and with a higher docking binding energy (vina score=-9.7) than the others, and then the other two ligands had a favorable binding energy. Among the effective interacting residues, Asp215, Asp32 and Leu114 were bound to renin enzyme in superior ligands, such as the reference compound.

**Conclusion:** In general, the selected inhibitory ligands showed a good ability to interact with residues involved in substrate selectivity and catalytic activity and inhibition of renin enzyme activity according to the analysis of bioinformatics tools and their confirmation requires clinical work.

**Keywords:** Blood Pressure, Renin, Inhibitor, Docking

\* Corresponding Author:  
Pirmoradi S  
Email:  
pimoradi150@gmail.com