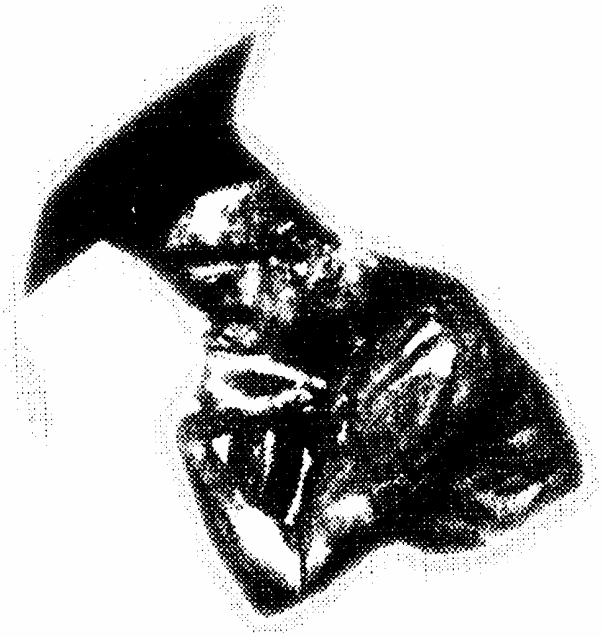

آشنائی با پایان نامه‌های داروسازی

عنوان: تعیین خصوصیات جایگاه فعال آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز به منظور طراحی مهارکننده‌های آنزیم به کمک روش‌های محاسباتی و NMR

استاد راهنما: جناب آقای دکتر حسین نادری‌منش

نگارش: سرکار خانم دکتر فاطمه سادات‌طه‌نژاد (جهت دریافت PHD شیمی دارویی)

زمان: ۷۵ـ۱۳۷۴

مکان: دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران

امروزه در داروسازی سعی بر این است که برای طراحی و ساخت داروهای جدید با اثرات انتخابی و اختصاصی، قدرت اثر زیاد و عوارض جانبی کمتر به بررسی و شناخت ساختمان و جایگاه فعال گیرنده‌ها و آنزیمها پرداخته شود. این روش در ساخت داروها هنوز در مرحله مقدماتی قرار دارد و داروهای اندکی با استفاده از این روش وارد بازار دارویی شده است و مهم‌ترین مثال آن داروهای مهار کننده آنزیم مبدل آنژیوتانسیون (ACE) (کاپتوپریل، انالاپریل و ...) هستند. البته باید ذکر کرد که برای شناسایی محل فعال این آنزیم دقیقاً از روش بکار رفته در این پایان نامه استفاده نشده ولی از ساختمان فضایی آنزیم و جایگاه فعال برای طراحی دارو سود جسته‌اند.

تحقیق در مورد ساختمان آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز (به منظور دستیابی به اطلاعاتی در مورد خصوصیات جایگاه فعال) می‌تواند منجر به طراحی داروهایی اختصاصی گردد.

رساله حاضر با به کارگیری روشهای محاسباتی و NMR تلاشی برای مدل سازی ساختمان آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز وابسته به پیریدوکسال فسفات و مطالعه ساختمانی مهارکننده‌های آن در جهت طراحی ترکیبات جدید است.

آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز تبدیل هیستیدین به هیستامین را کاتالیز می‌کند که این آمین نقش مهمی در اعمال بیولوژیک به عهده دارد.

مطالعات ساختمانی زیادی در مورد آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز از گروه ترانس آمینازهای وابسته به پیریدوکسال فسفات انجام گرفته و ساختمان سه بعدی آنزیم با روشهای کریستالوگرافی تعیین شده است.

در مورد هیستیدین دکربوکسیلاز، بیشترین مطالعات ساختمانی روی آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز مورگانلا مورگانی انجام شده است و توالی اسیدهای آمینه ساختمان آن شامل ۳۷۷ اسیدآمینه مشخص شده است، ولی به علت ناپایداری آنزیم و مقادیر بسیار کم آن بخصوص در بافتهای بدن پستانداران اطلاعاتی در مورد ساختمان سه بعدی آنزیم در دسترس نیست.

به منظور مدل‌سازی ساختمان آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز مورگانلامورگانی از روش همولوژی استفاده شده بود و از اطلاعات ساختمان آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز اشریشیاکلی و اطلاعات کریستالوگرافی ساختمان آنزیم‌های مشابه از بانک اطلاعاتی PDB کمک گرفته شد.

سپس توالی اسیدهای آمینه آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز و آسپارتات آمینوترانسفراز به کمک برنامه Multalin مقاسیه شد و اسیدهای آمینه معادل که در جایگاه فعال آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز نقش مهمی در اتصال داشتند، در آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز مشخص شدند.

در مرحله بعد ساختمان مهم آنزیمهای مورد بررسی با روش Garonier تعیین شد که اسیدهای آمینه معادل در هر مورد جایگاه مشابهی در ساختمان دوم داشتند.

نتایج بدست آمده از مقایسه توالی اسیدهای آمینه و پیشگویی ساختمان آنزیم‌های هیستیدین دکربوکسیلاز و آسپارتات آمینوترانسفراز برای تولید آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز

مورگانلاموركانی (به کمک ایجاد موتاسیون در فایل PDB آنزیم اسپارتات آمینو ترانسفراز E. coli) مورد استفاده قرار گرفتند.

ساختمان مدل‌سازی شده آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز توسط برنامه Rasmol مشاهده شده و اسیدهای آمینه جایگاه فعال که دارای نقش احتمالی در تداخل با کوآنزیم و سوبسترا هستند، مشخص شدند. مطالعات مقایسه توالی اسیدهای آمینه دو آنزیم نشان داده بودند که اسیدهای آمینه ۲۳۲ ـ Lys، ۱۱۵ ـ Ser، ۲۲۹ ـ Gly، ۱۹۳ ـ Thr در ساختمان آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز مورگانلا مورگانی بترتیب معادل با ۲۵۸ ـ Lys، ۱۲۷ ـ Ser، ۲۲۵ ـ Ser، ۱۰۷ ـ Gly، ۱۰۸ ـ Gly، ۱۰۹ ـ Thr از ساختمان آمینو ترانسفراز اشریشیا کلی هستند. در ساختمان مدل سازی شده آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز نیز این اسیدهای آمینه در جایگاه فعال مشاهده شدند بنابراین احتمال دارد که اینها نقش مشابهی در جایگاه فعال آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز داشته باشند.

در مطالعه دیگری پایداری ترکیبات حد واسط هیستیدین (سوبسترا) و تعدادی از مهار کننده‌های آنزیم هیستدین دکربوکسیلاز مورگانلاموركانی از قبیل α-متیل هیستیدین، α ـ هیدرازینوهیستیدین، (S) ـ α ـ فلورومتیل هیستیدین و (S) ـ α ـ دی‌فلورومتیل هیستیدین یا پیریدوکسال فسفات (کوآنزیم) مورد بررسی قرار گرفت. انرژی تشکیل هر یک از ترکیبات حد واسط بیانگر پایداری آنهاست و احتمال تشکیل ترکیبات حد واسط همانند سوبسترا در مورد مهار کننده‌ها افزایش می‌یابد.

نتایج حاصل از محاسبات ساختار فضایی در مورد هیستیدین و مهار کننده‌های آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز مورگانلاموركانی نشان می‌دهد که زاویه حول پیوند کربن و کربن، در همه ترکیبات تقریباً یکسان و کمتر از ۹۰ درجه است. از طرف دیگر محاسبات توزیع بار، مقدار بار نقطه‌ای اتم ازت را در مورد همه ترکیبات مساوی و منفی پیش‌بینی می‌کند و این امر مبین تمایل تقریباً یکسان ترکیبات مورد بحث در ایجاد اتصال با پیریدوکسال فسفات می‌باشد. این نتایج در مورد دو ترکیب حاصل از واکنش مهارکننده‌های غیرقابل برگشت با کوآنزیم، نیز صدق می‌کند و تحقیقات قبلی توسط گروه Snell موید این نکته است.

نتایج حاصل از NMR کانفورمیشن مشابهی را برای ترکیبات مورد مطالعه پیش‌بینی می‌کند و حالتی را که طی آن مولکول قادر به تشکیل پیوند هیدروژنی داخلی مولکولی باشد. مطرح می‌سازد.

با توجه به خصوصیات مهار کننده‌ها که به روشهای محاسباتی و NMR تعیین شده‌اند میتوان این احتمال را دارد که جابجایی حلقه ایمیدازول هیستیدین باسایر گروههای عطری مثل بنزایمیدازول و یا ایجاد استخلاف در کربن α با حفظ گروه آمین ترکیباتی تولید می‌کنند که قادر به مهار آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز باشند.

عنوان: بررسی اثرات تراتوژنیک دوکسپین هیدروکلراید بر روی جنین موش صحرایی کشت داده شده در محیط خارج بدن و بر روی جنین جوجه در داخل تخم‌مرغ
استاد راهنما: جناب آقای دکتر محمد عبدالهی
استاد مشاور: سرکار خانم دکتر بتول نصرا...زاده
نگارش: سرکار خانم سیما گل‌محمدی
زمان: ۷۵ـ۱۳۷۴۵
مکان: دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران

علم تراتولوژی به بررسی اثرات مواد مختلف بر روی جنین می‌پردازد که این علم امروزه علاوه به بررسی اثرات رفتاری و تولیدمثلی مواد و داروها بر روی جنین می‌پردازد.

دوکسپین هیدروکلراید یک داروی ضد افسردگی سه حلقه‌ای از دسته دارویی دی‌بنزوکسپین‌ها می‌باشد و تاکنون هیچ اثر تراتوژنیک in vitro برای این دارو ذکر نشده است همچنین مطالعات in vitro بر روی موش صحرایی و خرگوش اثرات تراتوژنیک کمی برای این دارو نشان داده است. ولیکن اطلاعات سمیت جنین این دارو خیلی کم بوده و هنوز در گروه C مصرف دوران بارداری طبقه‌بندی می‌شود.

در این تحقیق هدف عمده بررسی اثرات تراتوژنیسیته دوکسپین هیدروکلراید بر روی جنین موش صحرایی کشت داده شده در in vitro و بر روی جنین‌جوجه در داخل‌تخم‌مرغ می‌باشد، برای این منظور به ترتیب زیر عمل کردیم:

ابتدا جنین ۹/۵ روزه موش صحرایی را داخل محیط کشت سرم انسانی کشت می‌دهیم و در همان ابتدا داروی دوکسپین هیدروکلراید را با غلظت ۰/۱۵ μg / ml به محیط کشت اضافه می‌کنیم. بعد از ۴۸ ساعت کشت، DNA و پروتئین جنین‌ها را با روشهای خاص خود استخراج کرده با نمونه‌های شاهد مقایسه می‌کنیم که در این مطالعه کاهش مشخصی ($P < 0.05$) در غلظت DNA و همچنین پروتئین ($P < 0.01$) دیده شد.

همچنین در بررسی دیگری که انجام شد دوکسپین هیدروکلراید با غلظت‌های مختلف (۳۵، ۷۰، ۱۴۰، ۳۵۰ μg / egg) به تخم‌مرغ نطفه‌دار در روز هشتم انکوباسیون تزریق گردید و در روز ۱۸ انکوباسیون با خارج کردن جنین‌ها از داخل تخم‌مرغ به بررسی اثر دارو روی طول استخوانهای بازو، زندزبرین، ران، درشت نی و فاصله تاج سر تا دنبالچه پرداختیم که مقایسه نتایج با گروه شاهد نشان داد که دوکسپین هیچ اثر مشخصی بر روی طول استخوانها ایجاد نکرد و تنها در دوز ۳۵۰ μg / egg میزان مرگ و میر جنین‌ها افزایش قابل توجهی پیدا کرد.

نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌نماید که دوکسپین داروی کم خطری در آزمایشات in vitro سمیت جنین می‌باشد.