تحقیقی

اثر ترکیبات جدید ۸- فنیل - ٤- کینولون با استخلاف‌های مختلف در موقعیت ۳ بازدارنده آنزیم اینتگراز علیه ویروس HIV

نوشین گلبابایی[۱]، دکتر رضوان ذبیح اللهی[۲]، دکتر زهرا حاجی مهدی[۳]، دکتر افشین زرقی[٤]، محمدرضا امیران[٥]، دکتر محمدرضا آقاصادقی*[٦]

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، گروه میکروبیولوژی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. ۲- پزشک پژوهشگر، گروه هپاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران. ۳- دکتری تخصصی شیمی دارویی، دانشیار، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی، تهران، ایران. ٤- دکتری تخصصی شیمی دارویی، استاد، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی، تهران، ایران. ٥- کارشناس ارشد بیوفیزیک، کارشناس آزمایشگاه بخش هپاتیت و ایدز انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران. ٦- استاد، بخش هپاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف : *تهدید HIV علیه نظام سلامت جهانی، سبب مطالعاتی برای یافتن ترکیبات جدید ضدویروس HIV شده است. این مطالعه به منظور تعیین اثر ترکیبات جدید ۸- فنیل - ٤- کینولون با استخلاف‌های مختلف در موقعیت ۳ بازدارنده آنزیم اینتگراز علیه ویروس HIV انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه توصیفی ویریون HIV SCR (single cycle replicable) به وسیله ترانسفکت کردن سلول‌های HEK293T با سه پلاسمید pmzNL4-3 ، pSPAX.2 و pMD2.G تولید شد. سلول‌های هدف HeLa با ویروس SCR آلوده شدند و میزان P24 مایع رویی سلول‌ها با سنجش P24 توسط روش الایزا اندازه‌گیری شد. سمیت سلولی این ترکیبات و توانایی زنده ماندن سلول‌ها در این ترکیبات به وسیله روش XTT ارزیابی گردید.*

یافته ها : *همگی ترکیبات از جمله NPZ-4F ، NPZ-2F ، NPZ-4CL و NPZ-2CL بهترین اثر مهارکنندگی را در غلظت ۱۰μM با Inhibition Rate به ترتیب ۵۱ درصد، ٤۸ درصد، ۳۳ درصد و ۲۵ درصد داشتند. از میان این ترکیبات دو ترکیب NPZ-4F و NPZ-2CL سمیت سلولی ناچیزی داشته و از همانندسازی HIV در بالاترین غلظت بازداری کردند.*

نتیجه‌گیری : *ترکیبات جدید مشتق از ۸-فنیل-٤-کینولون با استخلاف‌های مختلف در موقعیت ۳ مورد آزمایش در این مطالعه، قادر به بازداری از همانندسازی HIV با توانایی ضدویروسی بالا و سمیت سلولی پایین کاندیدای مناسبی برای مطالعات بیشتر ضدویروسی است.*

کلید واژه‌ها : *ویروس نقص ایمنی انسان ، مهار همانندسازی ، سمیت سلولی*

* نویسنده مسؤول : دکتر محمدرضا آقا صادقی ، پست الکترونیکی mr_sadeqi@yahoo.com

نشانی : تهران، انستیتو پاستور ایران، گروه هپاتیت و ایدز، تلفن و نمابر ٦٦٩٦٩٢٩١-۰۲۱

وصول مقاله : ۱۳۹٥/۱/۲۳ ، اصلاح نهایی : ۱۳۹٥/٥/۲٤ ، پذیرش مقاله : ۱۳۹٥/۹/۷

مقدمه

ویروس نقص ایمنی انسان (HIV) یک RNA ویروس، از خانواده رتروویریده و عامل سندرم نقص ایمنی اکتسابی (ایدز) (Acquired Immunodeficiency Syndrome: AIDS) است (۱). ویروس،RNA ژنومی خود را توسط آنزیم رونوشت‌بردار معکوس (RT) به DNA پروویروسی رونوشت‌برداری کرده و سپس پروویروس را با استفاده از آنزیم اینتگراز (IN) به DNA میزبان وارد می‌کند (۱). ابتلا به HIV باعث ایجاد ایدز می‌شود. ایدز یک بیماری عفونی مزمن، با کاهش پیشرونده تعداد سلول‌های +TCD4 است. سلول‌های +CD4 میزبان اصلی HIV بوده و با کاهش پیشرونده این سلول‌ها، عفونت‌های فرصت‌طلب و تومورها منجر به مرگ میزبان می‌شوند (۲). تحقیقات بر روی ویروس به دلیل بار اقتصادی سنگینی که به نظام سلامت جهانی وارد کرده است؛ در تمامی ابعاد ادامه دارد. پژوهش در زمینه تولید واکسن و داروهای ضدویروس HIV از اهمیت بالایی برخورداراست. امروزه داروهای ضدویروس تنها راه کنترل بیماری ایدز هستند. به‌دلیل عوارض جانبی داروهای موجود و تشکیل سوش‌های مقاوم، پژوهش برای یافتن داروهای ضدویروسی موثر علیه HIV ارزشمند است (۳). اتصال ویریون‌های HIV به سطح سلول‌های هدف با کمک گلیکوپروتئین‌های سطحی (gp41-gp120) این ویروس انجام می‌شود و به دنبال اتصال آنها به CD4 و CXCR4 در سطح سلول هدف، پوشینه ویروسی در غشاء سلول ادغام می‌شود. گلیکوپروتئین

Downloaded from goums.ac.ir at 15:25 +0430 on Sunday May 13th 2018

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from goums.ac.ir at 15:25 +0430 on Sunday May 13th 2018

سطحی HIV ادغام (Fusion) پوشینه با سلول هدف را انجام می‌دهد. Pre integrase complex که حاوی RNA ژنومی ویروس و آنزیم‌های رونوشت‌بردار معکوس و اینتگراز ویروسی است؛ به‌داخل سیتوپلاسم سلول هدف رها شده و به هسته سلول هدف منتقل می‌شود.آنزیم رونوشت‌بردار معکوس، DNA را از روی RNA رونویسی می‌کند و آنزیم اینتگراز، DNA پرووریروسی را به ژنوم میزبان وارد می‌کند (۴و۵). mRNA های ویروسی به وسیله سیستم رونویسی سلول از روی پرووریروس رونویسی شده و در ادامه توسط سیستم‌های سلولی پروتئین‌های ویروسی ساخته می‌شوند. RNA ویروسی به همراه پروتئین‌های ویروسی gag ،gag-pol، ENV و پروتئین‌های کمکی، اجسام ویروسی جدید را تشکیل می‌دهند (۶). سنجش اثرات ضد HIV ترکیبات سنتتیک توسط تست الایزا و سنجش اثرات سایتوپاتیک ترکیبات توسط تستXTT انجام می‌شود (۹-۷). این پژوهش نیازمند ویریون‌های HIV SCR است؛ زیرا دارای ایمنی زیستی بالا هستند. در مطالعات گذشته چند سیستم رتروویروسی با قابلیت همانندسازی محدود برای بررسی ویروس‌شناسی HIV در شرایط ایمنی زیستی مناسب ارایه شده است (۱۰). در این پژوهش میزان اثرات سایتوپاتیک و بازداری از همانندسازی ترکیبات HIV با استفاده از ویروس‌های HIV SCR با قابلیت همانندسازی یک دوره‌ای بهینه‌سازی شده، بررسی گردید. مطالعات پیشین نشان داده ویریون‌های حاصل از همانندسازی ویریون‌های SCR پس از یک سیکل تکثیر غیرفعال هستند (۱۱) که به‌دلیل غیرفعال بودن ویریون‌های حاصل از همانندسازی ویریون‌های SCR، استفاده از این ویریون‌ها برای انجام مطالعات HIV سطح ایمنی زیستی را افزایش می‌دهد و از خطرات زیستی احتمالی می‌کاهد. با ویریون‌های HIV SCR (mzNL4-3) استفاده شده در این مطالعه از پرووریروس‌های با نقص ژنومی در ساخت آنزیم‌های IN و RT استفاده شد (۱۲). در این مطالعه اثر سایتوپاتیک ترکیبات جدید کینولونی با استخلاف‌های مختلف در موقعیت ۳ بازدارنده آنزیم اینتگراز سنتز و بر روی ویریون‌های HIV SCR ساخته شده در گروه هپاتیت و ایدز انستیتو پاستور ایران بررسی شد تا علاوه برمعرفی سنجش یک سیستم ایمن وجدید، ارزیابی اثر ضدویروس و سیتوتوکسیسیته این داروهای سنتز شده بازدارنده آنزیم اینتگراز نیز بر روی این سیستم صورت گیرد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ انجام شد.

کشت سلول : سلول‌های HEK293T برای تولید پلاسمید کشت داده شد و همچنین سلول‌های HeLa برای ارزیابی اثر ضدویروسی ترکیبات طراحی و سنتز شده در محیط In vitro کشت و آماده‌سازی شد. این دو سلول در محیط DMEM شرکت KBC کشور ایران به همراه FBS ۱۵ درصد، L-Glutamine شرکت KBC کشور ایران و پنی‌سیلین شرکت KBC کشور ایران و استرپتومایسین شرکت KBC کشور ایران کشت داده شدند (۱۳). سلول‌ها در انکوباتور CO2 شرکت Memmert کشور آلمان تحت فشار CO2 ۵درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

ترانسفکشن و تولید ویروس: برای تولید ویریون‌های SCR HIV سودوتایپ شده با VSVG ، پلاسمیدهای pSPAX.2 و pMD2.G (Addgene, USA) و pmzNL4-3 ساخت بخش هپاتیت و ایدز انستیتو پاستور ایران (۱۲) با نسبت‌های مشخص 3:1:1 ، همزمان به سلول‌های HEK293T ترانسفکت شد. ترانسفکشن توسط پلی‌فکت (Fermentas) ساخت کشور لیتوانی بر طبق روش پیشنهادی تولید کننده کیت در پلیت‌های ۶ چاهکی صورت گرفت. مایع رویی سلول های حاوی ویروس در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ جمع‌آوری و محیط تازه به سلول‌ها اضافه گردید. مایع رویی سلول‌های حاوی ویروس با هم مخلوط و پس از فیلتر شدن با فیلتر 0.45 µM در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد (۱۴). بخشی از ویروس تولید شده به وسیله سانتریفیوژ با دور بالا تغلیظ شد. برای تغلیظ ویروس‌ها، سوپ حاوی ویروس فیلتر و برای ۲ ساعت با نیروی 60×103 g و در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. پس از اتمام سانتریفیوژ سوپ روی پلیت ویروسی برداشته و این پلیت در RPMI با نسبت 1ml به 30ml سوپ اولیه قرار داده شد. پلیت ویروس‌ها در RPMI توسط gentle vortex برای طول شب در دمای ۴درجه سانتی گراد باز شد (۱۵و۱۶). میزان ویروس تخلیص شده توسط Capture ELISA (BIORAD: CE & IVD) ساخت کشور فرانسه طبق پروتکل کیت بررسی شد.

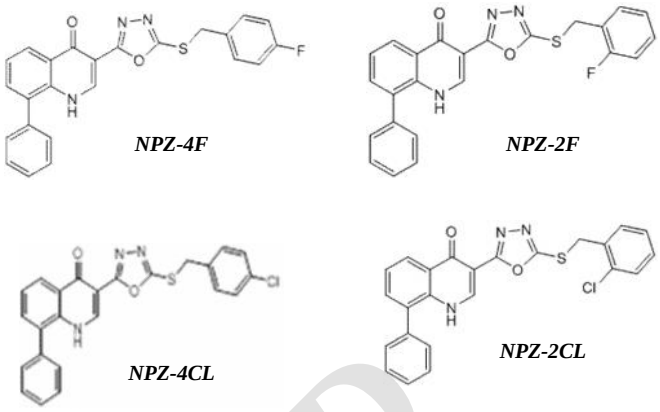
ترکیبات و طراحی آزمایشات: تمامی ترکیبات با استخلاف‌های مختلف که در شکل یک نمایش داده شده است؛ به‌صورت لیوفیلیزه طراحی و سنتز شدند. برای انجام با غلظت‌های اولیه ۱۰mM تا ۱۰µM در DMSO (Dimethyl sulfoxide) حل شدند. ترکیبات با نسبت یک به صد از ذخیره اصلی به محیط‌های آزمایش اضافه شد؛ به نحوی که غلظت نهایی 100µM تا 100nM بود. غلظت ترکیبات در محیط‌های آزمایش از شروع آلودگی تا پایان آزمایش ثابت نگه‌داشته شد. Zidovudine محلول در DMSO با غلظت نهایی ۵۰µM که از داروهای ضدویروس در دسترس کلینیکال است؛ به‌عنوان کنترل مثبت بازدارندگی ویروس و DMSO با غلظت نهایی یک درصد به عنوان کنترل منفی استفاده شد. لازم به ذکر است که کنترل مثبت در این مطالعه فقط برای مشخص شدن صحت انجام تست بود و اثری در آنالیزهای آماری نداشت. تمامی آزمایشات به شکل تکرار سه تایی انجام شد. سمیت ترکیبات بر روی سلول‌های HELA به‌طور جداگانه بررسی شد. بر اساس این بررسی Inhibition Rate در واقع غلظتی از ترکیب را نشان می‌دهد که تا چند درصد

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from goums.ac.ir at 15:25 +0430 on Sunday May 13th 2018

اثر بازدارندگی بر روی ویروس داشت و همچنین توانایی زنده ماندن سلول (Cell Viability) در واقع غلظتی از ترکیب را نشان می‌دهد که تا چند درصد برای سلول‌های هدف سمیت داشته است.



شکل ۱ : ترکیبات 8-phenyl-4-quinolones با استخلاف‌های مختلف در موقعیت ۳

میزان همانندسازی HIV در حضور ترکیبات: برای بررسی میزان همانندسازی ویریون‌های SCR HIV سودوتایپ شده باVSVG از سلول های HeLa استفاده شد. بررسی تحت شرایط بهینه مورد بررسی در مراحل قبل صورت گرفت. تعداد ۸۰۰۰ سلول HeLa در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه‌ای حاوی 100µL محیط کشت قرار داده شد. به هر چاهک معادل P24 120 ng (50λ) ویریون SCRHIV اضافه شد. ترکیبات در چهار غلظت و با سه تکرار به چاهک‌ها اضافه شد. پس از ۵ ساعت سلول‌ها دوبار درون چاهک به وسیله FBS ۱۰ درصد و DMEM شستشو داده شد (۱۵). مجدداً ترکیبات و محیط جدید با همان میزان قبلی اضافه گردید. ۷۲ ساعت پس از آلودگی سوپ سلول ها جمع آوری گردید. میزان P24 سوپ سلولی به وسیله کیت (BIORAD: CE & IVD) Capture ELISA ساخت کشور فرانسه برای بررسی میزان همانندسازی ویروس SCR به‌کار رفته در آزمایش نسبت به زمان براساس پروتکل شرکت سازنده کیت سنجیده شد.

سنجش پرولیفراسیون: برای سنجش میزان پرولیفراسیون سلول از متد XTT (Roche) ساخت کشور آلمان (Research Only) استفاده شد (۱۶و۱۷). آماده سازی محلول XTT طبق دستورات تولیدکننده کیت (Roche) انجام شد. به منظور کاهش خطای آزمایش برای سنجش پرولیفراسیون ازمحیط بدون فنل رد استفاده شد. پس از اضافه کردن 50 µL از محلول XTT به هر چاهک، سلول‌ها برای چهار ساعت در انکوباتور CO2 قرار داده شد. پس از پیتاژ کردن چاهک‌ها، 450 nm OD محیط سلول‌ها با OD رفرنس 630nm به‌وسیله دستگاه ELISA Reader خوانده شد.

یافته‌ها

این مطالعه نشان داد که ترکیبات 8-phenyl-4-quinolones قادرند بر همانندسازی ویروس HIV-1 تاثیر بگذارند (جدول یک). در تمامی غلظت‌ها ترکیبات دارای درصد Inhibition rate و درصد بالای توانایی زنده ماندن سلول و همچنین سیتوتوکسیسیته پایین بودند. بهترین اثر مهارکنندگی این ترکیبات در بالاترین غلظت (۱۰۰ µM) به ترتیب ۵۱ درصد، ۴۸درصد، ۳۳ درصد و ۲۵ درصد و سایتوتوکسیسیتی به ترتیب ۸۴/۹ درصد، ۹۱/۲ درصد، ۷۴/۶ درصد و ۹۳/۴ درصد بود. همگی ترکیبات توانایی خوبی برای بازداری از همانندسازی ویروس HIV-1 حتی در غلظت‌های پایین (100nM) نشان دادند. بالاترین توانایی مهار همانندسازی متعلق به دو ترکیب NPZ-4F و NPZ-2F که جزو ترکیبات گروه فلوئوربنزیل بودند؛ با Inhibition rate به ترتیب ۵۱/۷ درصد و ۴۸/۵ درصد بود. این دو ترکیب از لحاظ کنترل مهار همانندسازی ویروسی عملکرد بسیار مناسبی داشتند (نمودارهای ۱و۲). این ترکیبات ضد HIV از طریق مهار آنزیم اینتگرازعمل کردند. با افزایش میزان غلظت زیدوودین میزان تولید p24 کاهش یافت و در غلظت 750 nM میزان p24 تولیدی به صفر رسید. این نتایج بیانگر عملکرد صحیح دارو در شرایط بهینه‌سازی شده اولیه است و سیستم سنجش همانندسازی براساس SCR HIV-1 به خوبی اثر ضدویروسی این دارو را در غلظت‌های مختلف نشان داد. در بررسی سیتوتوکسیسیته ترکیبات، همگی دارای سیتوتوکسیسیته کم و در نتیجه توانایی بالای زنده ماندن سلول بودند که این مسأله موجب تقویت اثر ترکیبات گشته است. اما برخی از این ترکیبات اگرچه اثر ضدویروسی ملایمی داشتند؛ ولیکن ترکیباتی فاقد سمیت یا با حداقل سمیت بودند که همین مسأله می‌تواند این‌ها را به ترکیباتی ارزشمند مبدل سازد و این دسته از ترکیبات در گروه ترکیبات کارآمد قرار گیرند. زیرا از نظر درمانی ترکیباتی بهتر هستند که در غلظت مناسب پایین‌ترین میزان سمیت و بالاترین قدرت مهار همانندسازی ویروس HIV-1 را داشته باشند که از این دسته می‌توان به ترکیب NPZ-4F و NPZ-2CL اشاره کرد (نمودارهای ۳و۴). این دو ترکیب اثر سمیت ناچیزی

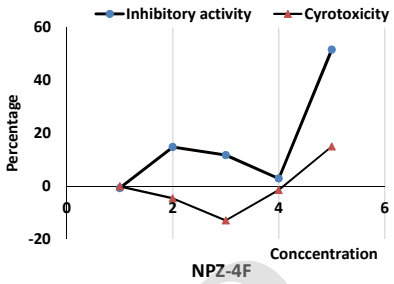
جدول ۱ : توان ضد HIV ترکیبات 8-phenyl-4-quinolones

دوز	درصد Inhibition rate				درصد Cell viability			
	NPZ-2CL	NPZ-4CL	NPZ-2F	NPZ-4F	NPZ-2CL	NPZ-4CL	NPZ-2F	NPZ-4F
۱۰۰ nM	۳/۷۰	۷/۴۸	٤/٦٦	١٤/٨	۹٤/٨	٥٦	۹۳/٤	۹٥/٤
۱ µM	۰	۰	۸/۲٦	۱۱/۷	۹۰	۷٦/۲	۹٥	۸۷
۱۰ µM	۰	۰	۲/۹۲	٥۱/۷	۹۸/۱	۹۸/٤	۷۲	۹۸/٥
۱۰۰ µM	۲٥/۲	۳۳/۲	٤۸/٥	٥۱/۷	۹۳/٤	۷٤/٦	۹۱/۲	۸٤/۹

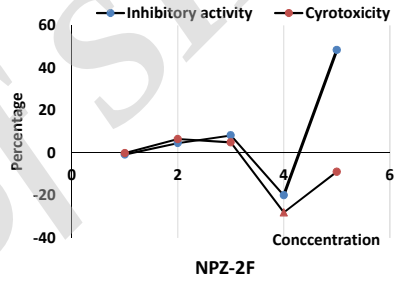
Archive of SID

www.SID.ir

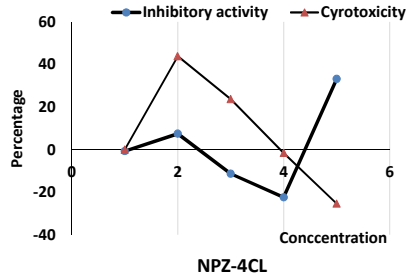
داشتند و از همانندسازی HIV با Inhibition rate به ترتیب ۵۱/۷ درصد و ۲۵/۲ درصد و توانایی زنده ماندن سلول به ترتیب ۸۴/۹ درصد و ۹۳/۰۴ درصد در بالاترین غلظت (100µM) بازداری نمودند.



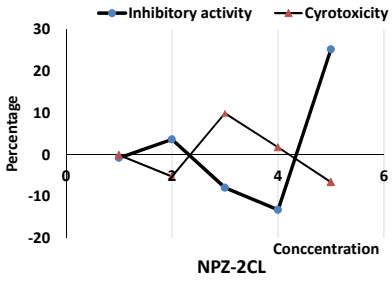
نمودار ۱ : توانایی ضدویروس HIV-1 ترکیب NPZ-4F در غلظت‌های مختلف و میزان سمیت سلولی ترکیب



نمودار ۲ : توانایی ضدویروس HIV-1 ترکیب NPZ-2F در غلظت‌های مختلف و میزان سمیت سلولی ترکیب



نمودار ۳ : توانایی ضدویروس HIV-1 ترکیب NPZ-4CL در غلظت‌های مختلف و میزان سمیت سلولی ترکیب



نمودار ٤ : توانایی ضدویروس HIV-1 ترکیب NPZ-2CL در غلظت‌های مختلف و میزان سمیت سلولی ترکیب

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه ترکیبات جدید مشتق از ۸-فنیل-۴-کینولون با استخلاف‌های مختلف در موقعیت ۳ مورد آزمایش در این مطالعه، قادر به بازداری از همانندسازی HIV با توانایی ضدویروسی بالا و سمیت سلولی پایین بود.

در مطالعات گذشته ترکیبات کینولونی با اثر ضد ویروسی HIV-1 معرفی شده‌اند. ترکیب ۱۱۸ و ۱۱۹ WM5 و ترکیبات جدید ۴- کینولون ۳- کربوکسیلیک اسید که به‌دلیل داشتن ساختار کینولونی و با الگوگرفتن از ساختمان Elvitegravir و ترکیبات کینولونی معرفی شده در منابع طراحی شده‌اند و توانایی بازداری تولید ویروس را با Inhibition rate ۵۵ درصد در غلظت ۱۰۰ میکرومول داشته‌اند و توانایی زنده ماندن سلول با استفاده از آنها ۱۰۰ درصد است (۱۸) که در مقایسه با ترکیب NPZ-4CL مورد ارزیابی در مطالعه حاضر با Inhibition rate (۵۱ درصد) از قدرت مهارکنندگی بیشتری برخوردار و دارای توانایی زنده ماندن سلول (۸۴/۹ درصد) کمتری است.

از دیگر گروه های مهم در مهارکنندگان اختصاصی موجود، ترکیبات کینولون – ۳ – کربوکسیلیک اسید هستند که از تغییر بر روی آنتی‌بیوتیک هایی با ساختار کینولونی مشتق شده‌اند. در پی توافق Gilead sciences, Japan tobacco در سال ۲۰۰۵ مطالعات بالینی بر روی ترکیبی از این ترکیبات با نام GS-9137 که به‌عنوان ترکیب امیدوارکننده شناخته می شد؛ آغاز گردید. GS–9137 در حضور آلبومین انسانی اثر ضدویروسی EC90=1.7nM داشت. این ترکیب با نام ژنریک Elvitegravir (Vitekta) در سال ۲۰۱۲ به صورت دوز ثابت با داروهایی نظیر امتریستابین، تنوفوویر، دیزوپروکسیل فومارات و کوبیسیستات (نام تجاری (Stribild (R) مجوز استفاده در مبتلایان به ایدز را کسب کرد. همچنین تغییر در ساختار Elvitegravir منجر به طراحی و سنتز دیگر ترکیبات مهارکننده اینتگراز (آنالوگ ۵۸) گردید که به دلیل قدرت مناسب (EC50=7.6 nM) و خواص فارماکوکنیتیکی قابل قبول وارد مطالعات گسترده تری شد که نتایج ارزیابی ما با نتایج Nagasawa در سال ۲۰۱۱ (۱۹) همخوانی داشت.

در پی مطالعات بعدی چندین ترکیب مشتق جاذب آهن 3-Hydroxy-4-pyridinones از نظر توانایی بازدارندگی تولید ویرون‌های HIV بررسی شدند که قادر به بازداری همانندسازی ویروس HIV به شکلی کاملاً موثر بودند و ترکیبات PhH، PhHB، DNB، TsB، ABphE و Adlb توانایی بازداری تولید ویروس را با IC50 به ترتیب ۶۳، ۴۳، ۱۰، ۷۳، ۱۲ و۷۸ میکرومول داشتند. از میان این ترکیبات DNB و ABphE سمیت سلولی بسیار بالایی با CC50 حدود ۱۱۳ و ۱۱۲ میکرومول نشان داده‌اند (۲۰). طبق گزارشات به‌دست آمده توسط Sato و همکاران در انستیتو دارویی مرکزی

Downloaded from goums.ac.ir at 15:25 +0430 on Sunday May 13th 2018
Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from goums.ac.ir at 15:25 +0430 on Sunday May 13th 2018

تحقیقاتی کشور ژاپن آنتی‌بیوتیک‌های کینولون با مهار کردن مرحله Strand Transfer (ST) آنزیم ویروسی از همانندسازی ویروس HIV-1 جلوگیری به‌عمل می‌آورد (۲۱). در مطالعه حاضر در تمامی غلظت‌ها ترکیبات دارای درصد Inhibition rate و توانایی بالای زنده ماندن سلول و همچنین سیتوتوکسیسیته پایین بودند و بهترین اثر مهارکنندگی این ترکیبات در بالاترین غلظت (100 µM) به ترتیب حاصل شد. وجود گروه فلوئوربنزیل در این ترکیبات برای افزایش اثر مهارکنندگی اهمیت دارد. این نتیجه با مطالعه Sato و همکاران (۲۱) مطابقت دارد. در ارزیابی توانایی زنده ماندن سلول در حضور غلظت‌های مختلف در همه ترکیبات (۱۰۰nm–۱۰۰ µm) ترکیبات NPZ-4F و NPZ2CL دارای سمیت ناچیز بودند و از همانندسازی ویروس HIV-1 در بالاترین غلظت با Inhibition Rate به ترتیب با مقادیر ۵۱ درصد و ۲۵ درصد بازداری کردند. همین مسأله می‌تواند این ترکیبات را ارزشمند سازد. زیرا از نظر درمانی ترکیباتی بهتر هستند که در غلظت مناسب پایین‌ترین میزان سمیت سلول و بالاترین قدرت مهار همانندسازی ویروس HIV-1 را داشته باشند. این یافته با مطالعه حاجی‌مهدی و همکاران مطابقت داشت (۲۲).

به دلیل این که بروز سوش‌های مقاوم علیه داروهای موجود فعلی زیاد است و باتوجه به این که ترکیبات مورد مطالعه اثر خوبی داشته‌اند؛ می‌توانند سرنخ مناسبی برای مطالعات داروشناسی HIV باشند و می‌توانند علاقه را برای انجام تحقیقات آتی زیاد کنند. همچنین می‌توان از آنها برای ساخت داروهای جدید استفاده نمود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیبات جدید مشتق از ۸-فنیل-۴-کینولون با استخلاف‌های مختلف در موقعیت ۳، قادر به بازداری از همانندسازی HIV با توانایی ضدویروسی بالا و سمیت سلولی پایین است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۷۷۴) انستیتو پاستور ایران بود که به صورت پایان‌نامه خانم نوشین گلبابایی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد زیست شناسی- میکروبیولوژی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال انجام شد. بدین وسیله از سرکار خانم دکتر فرزانه حسینی به‌خاطر کمک‌های بی‌شائبه در تأمین این مطالعه و نیز از جناب آقایان دکتر سیدمهدی سادات و دکتر روح الله وهاب‌پور که ما را یاری نمودند؛ نهایت سپاس و امتنان خود را اعلام می‌داریم.

References

1. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science. 1983 May; 220(4599): 868-71.

2. Anglaret X. [Global AIDS epidemic: from epidemiology to universal treatment]. Rev Med Interne. 2008 Dec; 29 Suppl 3:S269-73. doi: 10.1016/j.revmed.2008.10.002 [Article in French]

3. Arora DR, Gautam V, Gill PS, Mishra N. Recent advances in antiretroviral therapy in HIV infection. J Indian Med Assoc. 2010 Jan; 108(1): 29-34.

4. Katzman M, Sudol M, Pufnock JS, Zeto S, Skinner LM. Mapping target site selection for the non-specific nuclease activities of retroviral integrase. Virus Res. 2000; 66(1): 87-100.

5. Cook PR. A model for reverse transcription by a dimeric enzyme. Journal of General Virology. 1993;74(4): 691-7. doi:10.1099/0022-1317-74-4-691

6. Sakuragi J, Iwamoto A, Shioda T. Dissociation of genome dimerization from packaging functions and virion maturation of human immunodeficiency virus type 1. J Virol. 2002; 76(3): 959-67. doi: 10.1128/JVI.76.3.959-967.2002

7. Pauwels R, Balzarini J, Baba M, Snoeck R, Schols D, Herdewijn P, et al. Rapid and automated tetrazolium-based colorimetric assay for the detection of anti-HIV compounds. J Virol Methods. 1988 Aug; 20(4): 309-21.

8. Wang RR, Gu Q, Wang YH, Zhang XM, Yang LM, Zhou J, et al. Anti-HIV-1 activities of compounds isolated from the medicinal plant Rhus chinensis. J Ethnopharmacol. 2008 May; 117(2): 249-56. doi: 10.1016/j.jep.2008.01.037

9. Madani N, Hubicki AM, Perdigoto AL, Springer M, Sodroski J. Inhibition of human immunodeficiency virus envelope glycoprotein- mediated single cell lysis by low-molecular-weight antagonists of viral entry. J Virol. 2007; 81(2): 532-8. doi:10.1128/JVI.01079-06

10. Zabihollahi R, Sadat SM, Vahabpour R, Aghasadeghi MR, Memarnejadian A, Ghazanfari T, et al. Development of single-cycle replicable human immunodeficiency virus 1 mutants. Acta Virol. 2011; 55(1): 15-22.

11. Sadat SM, Zabihollahi R, Vahabpour R, Azadmanesh K, Javadi F, Siadat SD, et al. Designing and biological evaluation of single cycle replicable HIV-1 system as a potential vaccine strategy. Clinical Microbiology and Infection. 2010 Nov; 16(2): S334.

12. Rezaei A, Zabihollahi R, Salehi M, Moghim SH, Tamizifar H, Yazdanpanahi N, et al. Designing a non-virulent HIV-1 strain:Potential implications for vaccine and experimental research. Journal of Research in Medical Sciences. 2007; 12(5): 227-34.

13. Campbell EM, Perez O, Melar M, Hope TJ. Labeling HIV-1 virions with two fluorescent proteins allows identification of virions that have productively entered the target cell. Virology. 2007; 360(2): 286-93. doi:10.1016/j.virol.2006.10.025

14. Cavrois M, Neidleman J, Yonemoto W, Fenard D, Greene WC. HIV-1 virion fusion assay: uncoating not required and no effect of Nef on fusion. Virology. 2004 Oct; 328(1):36-44. doi: 10.1016/j.virol.2004.07.015

15. Morgan JR, LeDoux JM, Snow RG, Tompkins RG, Yarmush ML. Retrovirus infection: effect of time and target cell number. J Virol. 1995 Nov; 69(11): 6994-7000.

16. Svarovskaia ES, Barr R, Zhang X, Pais GC, Marchand C, Pommier Y, et al. Azido-containing diketo acid derivatives inhibit human immunodeficiency virus type 1 integrase in vivo and influence the frequency of deletions at two-long-terminal-repeat-circle junctions. J Virol. 2004 Apr; 78(7): 3210-22.

17. Zhao Q, Ma L, Jiang S, Lu H, Liu S, He Y, et al. Identification of N-phenyl-N'-(2,2,6,6-tetramethyl-piperidin-4-yl)-oxalamides as a new class of HIV-1 entry inhibitors that prevent gp120 binding to CD4. Virology. 2005 Sep; 339(2): 213-25.

Archive of SID

www.SID.ir

18. Ahmed N, Brahmbhatt KG, Sabde S, Mitra D, Singh IP, Bhutani KK. Synthesis and anti-HIV activity of alkylated quinoline 2,4-diols. Bioorg Med Chem. 2010 Apr; 18(8): 2872-9. doi: 10.1016/j.bmc.2010.03.015

19. Nagasawa JY, Song J, Chen H, Kim HW, Blazel J, Ouk S, et al. 6-Benzylamino 4-oxo-1,4-dihydro-1,8-naphthyridines and 4-oxo-1,4-dihydroquinolines as HIV integrase inhibitors. Bioorg Med Chem Lett. 2011 Jan; 21(2): 760-3. doi: 10.1016/j.bmcl.2010.11.108

20. Asaadi Dalaei S, Zabihollahi R, Sadat S M, Siadat SD, Amirmozafari N, Farhang Esfahani A, et al. [Inhibitory Effects of Novel 3-Hydroxy-4-Pyridinones with Iron Chelating Activity against Production of HIV Virions]. J Mazandaran Univ Med Sci. 2013; 22(97): 179-87. [Article in Persian]

21. Sato M, Motomura T, Aramaki H, Matsuda T, Yamashita M, Ito Y, et al. Novel HIV-1 integrase inhibitors derived from quinolone antibiotics. J Med Chem. 2006 Mar; 49(5): 1506-8.

22. Hajimahdi Z, Zabihollahi R, Aghasadeghi M, Ashtiani SH, Zarghi A. Novel quinolone-3-carboxylic acid derivatives as anti-HIV-1 agents: design, synthesis, and biological activities. Medicinal Chemistry Research. 2016; 25(9): 1861-77. doi: 10.1007/s00044-016-1631-x

Downloaded from goums.ac.ir at 15:25 +0430 on Sunday May 13th 2018

Archive of SID

www.SID.ir

Original Paper

Effect of anti-HIV activity of novel compounds 8-phenyl-4-quinolone containing different substituents at position 3

Golbabaei N (M.Sc)[1], Zabihollahi R (M.D)[2], Hajimahdi Z (Ph.D)[3], Zarghi A (Ph.D)[4] Amiran MR (M.Sc)[5], Aghasadeghi MR (Ph.D)*[6]

[1]M.Sc in Microbiology, Faculty of Biological Science, North-Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. [2]General Physician, Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran. [3]Associate Professor, Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [4]Professor, Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [5]M.Sc in Biophysics, Laboratory Technician, Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran. [6]Professor, Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.

Downloaded from goums.ac.ir at 15:25 +0430 on Sunday May 13th 2018

Abstract

Background and Objective: HIV treatment influences the global health and finding new compounds against HIV virus is increased. This study was done to evaluate anti-HIV activity of 8-phenyl-4-quinolone derivatives containing different substituents at position 3.

Methods: In this descriptive study, single cycle replicable (SCR) HIV Virions were produced by co-transfecting HEK 293T cells with pmzNL4-3, pSPAX.2, pMD2.G plasmids. HeLa cells were infected with the SCR virions and then inhibit of virus replication by compounds were measured by p24 Antigen with ELISA kit. The cytotoxicity of these compounds on HeLa cells were measured by XTT method.

Results: All compounds including NPZ-4F, NPZ-2F, NPZ-4CL and NPZ-2CL had the best inhibitory effect at a concentration of 100µM with the inhibition rate of respectively 51%, 48%, 33%, and 25%, respectively. The compounds of NPZ-4F and NPZ-2CL had negligible cellular toxicity and have inhibited HIV replication at the highest concentration. This issue can make them a valuable compound since they are better compounds in therapeutic terms, which at a suitable concentration, they have the lowest rate of cellular toxicity and highest power to inhibit HIV replication.

Conclusion: Novel compounds derived from 8-phenyl-4-quinolone containing different substituents at position 3 can prevent HIV replication which is capable of high anti-viral and low cellular toxicity and suitable candidates for further investigation in antiviral studies.

Keywords: Human immunodeficiency virus, Replication inhibitors, Cytotoxicity

*** Corresponding Author: Aghasadeghi MR (Ph.D), E-mail: mr_sadeqi@yahoo.com**

Received 11 Apr 2016 **Revised** 14 Aug 2016 **Accepted** 27 Nov 2016

Cite this article as: Golbabaei N, Zabihollahi R, Hajimahdi Z, Zarghi A, Amiran MR, Aghasadeghi MR. [Effect of anti-HIV activity of novel compounds 8-phenyl-4-quinolone containing different substituents at position 3]. J Gorgan Uni Med Sci. Summer 2017; 19(2): 77-83. [Article in Persian]

Archive of SID

www.SID.ir