**عنوان :بررسی برهمکنش رمدسیویر مونوفسفات با یوریدین در رشته الگو وپرایمر RNA با استفاده از تحلیل چگالی الکترونی تغییرشکل یافته(DED) ونظریه اتم در مولکول( AIM)**

**مقدمه** :

ویروس‌های RNA دار به‌واسطه نرخ بالای جهش، تنوع ژنتیکی، و توانایی تطابق سریع با میزبان، چالش‌های عمده‌ای در درمان بیماری‌های ویروسی ایجاد کرده‌اند. یکی از راهبردهای اصلی در مهار این ویروس‌ها، هدف‌گیری آنزیم RNA وابسته به RNA پلیمراز (RdRp ) است، که نقشی اساسی در رونویسی و همانندسازی ژنوم ویروسی ایفا می‌کند]1[ .ویروس SARS-CoV-2، عامل بیماری کووید-۱۹، نیز از همین مکانیسم برای تکثیر ژنوم RNA خود بهره می‌گیرد، و همین موضوع باعث تمرکز ویژه بر RdRp به‌عنوان هدف دارویی شده است.

رمدسیویر(RDV) یکی از داروهای نوکلئوتیدی آنالوگ، در پاسخ به پاندمی کووید-۱۹ به‌طور گسترده مورد بررسی و استفاده قرار گرفت. این دارو به‌صورت یک پیش‌دارو وارد سلول شده و در نهایت به فرم فعال خود یعنی رمدسیویر تری‌فسفات (RDV-TP) تبدیل می‌شود که آنالوگی از ATP به‌شمار می‌رود. این ترکیب می‌تواند در فرآیند سنتز RNA وارد شده و به‌طور رقابتی جایگزین آدنوزین طبیعی شود. ورود RDV-TP به زنجیره در حال رشد RNA باعث توقف تأخیری در رونویسی شده و فعالیت RdRp را مهار می‌کند]2[ .

با این حال، درک دقیق مکانیسم مولکولی مهار پلیمراز توسط رمدسیویر همچنان محل تحقیق است. به‌ویژه، شناخت برهم‌کنش‌های اختصاصی بین رمدسیویر مونوفسفات (RMP) فرم الحاق‌شده در RNA – و باز مکمل یوریدین (U) در رشته الگو یا پرایمر، می‌تواند به روشن شدن پایه‌های ساختاری و ترمودینامیکی عملکرد دارو کمک کند. در راستای درک عمیق‌تر از عملکرد ضدویروسی رمدسیویر، پژوهشی توسط ویشواکارما و همکاران (2023) انجام شد که در آن برهم‌کنش‌های بین رمدسیویرو یوریدین با استفاده از روش‌های شیمی محاسباتی پیشرفته مورد بررسی قرار گرفت .نتایج حاصل از محاسبات نشان داد که جفت RDV:U می‌تواند به طور مؤثر دو پیوند هیدروژنی مشابه با جفت A:U تشکیل دهد.

از آن‌جا که یوریدین باز مکمل آدنوزین (و نیز آنالوگ آن، رمدسیویر) است، نحوه‌ی جفت‌شدن و پایداری ساختار دو رشته‌ای RNA در حضور RMP، و همچنین تأثیر آن بر توقف زنجیره یا تغییر جهت عملکرد پلیمراز، اهمیت بالایی دارد ]3[

یوریدین، به‌عنوان یکی از نوکلئوزیدهای پیریمیدینی اصلی، نقشی اساسی در ساخت RNA و تنظیم تعادل نوکلئوتیدهای سلولی ایفا می‌کند. از دیدگاه شیمی کوانتومی، برهم‌کنش میان RMP و یوریدین می‌تواند با تغییر در توزیع چگالی الکترونی همراه باشد، که این تغییرات نقش مهمی در درک مکانیزم رقابت، گزینش‌پذیری و اثرات جانبی دارو دارد.
برای بررسی دقیق ویژگی‌های الکترونی و ماهیت پیوندهای غیرکوالانسی احتمالی در برهم‌کنش RMP ویوریدین، بهره‌گیری از روش‌های تحلیل چگالی کوانتومی ضروری است. در این مطالعه، از نظریه اتم در مولکول (AIM) به‌عنوان ابزاری دقیق برای تحلیل توپولوژیکی چگالی الکترونی استفاده می‌شود. این روش با تعیین نقاط بحرانی پیوند (BCP)، مسیرهای پیوندی و ویژگی‌های چگالی در این نقاط، اطلاعات کمی درباره ماهیت برهم‌کنش‌ها فراهم می‌سازد. همچنین، با بهره‌گیری از تحلیل چگالی الکترونی تغییرشکل‌یافته (Deformation electron Density)، امکان تجسم تصویری انتقال چگالی الکترونی ناشی از برهم‌کنش میان اجزای سیستم فراهم می‌گردد. این تحلیل، به‌ویژه در درک نقش قطبش، انتقال بار و تشکیل نواحی تجمع یا تهی‌سازی الکترونی، نقش مؤثری ایفا می‌کند.

این دو رویکرد مکمل، در کنار بهینه‌سازی ساختاری مبتنی بر نظریه تابعی چگالی (DFT)، تصویری جامع از ماهیت فیزیکی و الکترونیکی برهم‌کنش در کمپلکس RMP-2U ارائه می‌دهند. نتایج به‌دست‌آمده می‌توانند درک عمیق تری از پایداری دارویی و گزینش‌پذیری مولکولی در سیستم های زیستی ارایه دهند.

**روش شناسی محاسباتی** :

با توجه به نقش حیاتی داروی ضد ویروسی رمدسیویر در مهارآنزیم RNA وابسته به RNA پلیمراز (RdRp ) ویروس SARS-cov2 ، بررسی دقیق برهمکنش این دارو با نوکلوتیدهای RNAبرای درک بهتر مکانسیم عملکرد آن از اهمیت ویژه ای برخودار است .در این مطالعه برای مدل سازی واقع گرایانه تر علاوه بر مولکول فعال رمدسیویر، هردو نکلوتید یوریدین موجود در رشته پرایمر ورشته الگو در نظر گرفته شده اند تا بتوان برهمکنش های بین رمدسیویر وهرد و یوریدین را در محل فعال آنزیم شبیه سازی کرد .برای تحلیل دقیق تر برهم کنش های غیرکووالانسی(مانند پیوند هیدروژنی وواندروالسی) پیوند کووالانسی رمدسیویر ونکلئوتیدها حذف شده وهردو مولکول به صورت جداگانه در جایگاه فعال جای گذاری گردیدند.این رویکرد امکان بررسی دقیق نقش برهمکنش های غیر کووالانسی در تثبت دارو در محل فعال را فراهم می کند.

در گام نخست ابتدا هردو ساختار به طور جداگانه بهینه سازی هندسی شده وتحلیل فرکانسی نشان دادکه تمامی فرکانس ها مثبت هستند، این مسئله دال بر قرار گرفتن ساختارها در نقطه مینیمم انرژی پتانسیل است .ساختار RMPمورد استفاده در این پژوهش بر اساس داده‌های شیمیایی استاندارد از PubChem استخراج شده که شامل گروه فسفات کامل با چهار اتم اکسیژن است. در ساختارهای پایگاه داده پروتئین (PDB) به دلیل پیوند فسفودی‌استر بین فسفات و قند نوکلئوتید مجاور، یکی از اتم‌های اکسیژن به صورت کووالانسی با RNA متصل شده و به همین دلیل در مدل‌های PDB کمتر دیده می‌شود. این تفاوت در نمایش اتم‌ها ناشی از حالت پیوندی گروه فسفات در RNA است و تاثیری بر صحت مدل سازی و تحلیل ها ندارد.

ساختار اولیه کمپلکس آنزیمی از شناسه موجود در پایگاه داده پروتئین (ID:7BV2) استخراج گردید]1[ محاسبات شامل بهینه‌سازی هندسی و محاسبه چگالی الکترونی در سطح نظریه M062X/6-311++g\*\* با استفاده از نرم‌افزار Gaussian09W و در شرایط nosym انجام گردید. .به‌منظور تحلیل الکترواستاتیکی، نقشه‌ی پتانسیل الکتروستاتیکی (ESP) ساختارهای بهینه‌شده ترسیم شد. همچنین، تابع موج ساختار در همان سطح محاسباتی تولید و در نرم‌افزار AIM2000 مورد تحلیل قرار گرفت. در ادامه، با استفاده از برنامه محاسباتی دانسیته تغییر شکل‌یافته(ِDDA) ، پارامترهایی مانند فشار انرژی جنبشی (KEP)، آسایش اوربیتالی( RLX)، اوربیتال‌های طبیعی تغییرشکل‌یافته و میزان دانسیته الکترونی جابه‌جا شده در برهم‌کنش بین RDV وu تحلیل گردید.

**یافته ها**

ا-**بهینه سازی ساختارها**

در ابتدا ساختار RMP ,u به طور جداگانه با به کار گیری روش M06-2X ومجموعه پایه 6-311++g\*\* بهینه سازی شدند وتست فرکانس برای هریک با همین متد انجام شد .مقادیر پارامترهای ترمودینامیکی مانند برای RMP,U محاسبه شد(جدول 1) طیف مادون قرمز (IR ) محاسبه‌شده برای ساختار بهینه‌شده رمدسیویر مونوفسفات نیزتحلیل شد.این طیف بیانگر حضور گروه‌های عاملی اصلی موجود در مولکول است.یک باند مشخص و تیز در ناحیه حدود cm⁻¹ 2250 مشاهده می‌شود که مربوط به ارتعاش کششی گروه نیتریل (C≡N) بوده و حضور این گروه در ساختار مولکول را تأیید می‌کند.در ناحیه cm⁻¹ 3600-3200 ، باندهای کششی مربوط به گروه‌های O–H (هیدروکسیل) و N–H ((آمین ) قابل مشاهده است .باندهای قوی در ناحیه cm⁻¹ 1000–1250 به کشش‌های مربوط به پیوندهای P=O و P–O–C نسبت داده می‌شوند .همچنین در ناحیه cm⁻¹ 1450–1600 ، باندهایی دیده می‌شود که ناشی از ارتعاشات کششی پیوندهای C=N و C=C در ساختار حلقه‌های هتروسیکلیک مزدوج است. این حلقه‌ها آروماتیک نیستند، اما دارای ویژگی‌های الکترونی مشابه آروماتیک هستند. باندهای موجود در نواحی پایین‌تر از cm⁻¹ 1000 نیز مربوط به ارتعاشات خمشی و حرکات اسکلت مولکولی می‌باشند.

طیف IR محاسبه‌شده برای مولکول یوریدین (در حالت گازی و ساختار بهینه‌شده)، نشان‌دهنده حضور گروه‌های عاملی کلیدی این مولکول وتایید کننده ساختار آن است. در این طیف، پیک‌های مشخص زیر قا بل توجه هستند:
پیک شدید در حدود cm⁻¹ 1920 به ارتعاش کششی گروه‌های کربونیل (C=O) موجود در حلقه پیریمیدینی مربوط است. این پیک می‌تواند حاصل کوپل شدن دو ارتعاش کربونیل در موقعیت‌های ۲ و ۴ حلقه اوراسیل باشد. در محاسبات تئوری، این کوپل ممکن است باعث شیفت پیک به فرکانس بالاتر و شدت بیشتر نسبت به مقدار تجربی شود.
پیک‌هایی در ناحیهcm⁻¹ 3200–3700 مشاهده می‌شوند که به کشش پیوندهای –OH و –NH مربوط هستند. با توجه به اینکه مولکول به‌صورت منفرد مدل‌سازی شده است، این ارتعاشات بدون پیوند هیدروژنی بین‌مولکولی ظاهر شده‌اند و شکل نسبتاً تیز دارند. با این حال، احتمال وجود پیوند هیدروژنی درون‌مولکولی ضعیف میان گروه‌های هیدروکسیل و کربونیل در ساختار بهینه‌شده وجود دارد که می‌تواند باعث اندکی جابه‌جایی در موقعیت این پیک‌ها شود.
پیک‌های متوسط تا ضعیف در ناحیهcm⁻¹ 1400–1700 به ارتعاشات خمشی و کششی پیوندهای C=C و C=N در حلقه پیریمیدینی مربوط‌اند.پیک‌های پایین‌تر از cm⁻¹ 1200 اغلب ناشی از مودهای خمشی و پیچشی گروه‌های –CH، –OH، و پیوندهای C–O می باشد.

جدول 1-پارامترهای ترمودینامیکی برای یوریدین ورمدسیویر مونوفسفات در سطح M062X/6-311++g\*\* برحسب کیلو کالری برمول

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| uridine(U) | Remdesivir monophosphate(RMP) | parameters |
| -571536.57 | -1008470.02 | E+G/(kcal/mol) |
| -571500.80 | -1008420.47 | E+H/(kcal/mol) |
| -571501.39 | -1008421.06 | E+T/(kcal/mol) |
| -571510.58 | -1008435.88 | E+ZPE/(kcal/mol) |
| 119.984 | 166.20 | S/(Cal/mol .K) |

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| شکل 1-طیف نظری رمدسیویر مونوفسفات در سطح تئوریM062X/6-311++g\*\*  | شکل 2-طیف نظری یوریدین در سطح تئوریM062X/6-311++g\*\*  |

سپس به منظور بررسی برهمکنش های بین RMP , یوریدین هامختصات اولیه برای تشکیل کمپلکس RMP-2u از بانک داده های پروتئین بدست آمد. .بهینه سازی ساختار با استفاده از روش نظریه تابعی چگالی (DFT) وبه کار گیری روش M06-2X ومجموعه پایه 6-311++g\*\* انجام گرفت شکل (1). تابع تجربی تبادل-همبستگی M06-2X توانایی بالایی در توصیف دقیق ساختارهای بهینه، پیوندها و برهم‌کنش‌های غیرکووالانسی میان جفت ‌بازهای اسید نوکلئیک از خود نشان داده است.

|  |
| --- |
|  |
| شکل (3)-ساختار بهینه شده RMP-u |

در این سیستم ،انرژی پایداری به همراه تصحیح خطای هم پوشانی مجموعه پایه ها محاسبه شد .که انرژی پایداری برابر با 1788/54 کیلو کالری برمول است (جدول 1).که نشان دهنده پایداری کمپلکس وبرهمکنش های غیرکووالانسی میان مولکول ها است.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| $$∆H\_{int}$$(Kcal.mol-1) | $$E\_{RMP-U2}$$(Hartree)  | $$E\_{RMP}$$(Hartree)  | $$E\_{u10}$$(Hartree)  | $$E\_{u20}$$(Hartree)  |
| 7188/54- | 3883/3429-  | 3349/1607- | 9845/910- | 9817/910- |

جدول 2-مقدار انرژی پایداری در کمپلکس RMP-u

2-نقشه پتانسیل الکتروستاتیکی (ESP Maps)

نقشه پتانسیل الکتروستاتیکی (ESP ) ابزاری مؤثر برای بررسی توزیع بار الکترونی در سطح مولکول‌هاست. در این نقشه، نواحی با رنگ قرمز بیانگر چگالی بالای بار منفی (پتانسیل منفی) و نواحی با رنگ آبی نمایانگر چگالی کمتر بار (پتانسیل مثبت) هستند. این توزیع فضایی پتانسیل الکتروستاتیکی نقش کلیدی در شناسایی نواحی فعال مولکول برای برهم‌کنش‌های غیرکوالانسی، به‌ویژه پیوندهای هیدروژنی دارد.در این مطالعه، نقشه ESP در حضور سایر گونه‌ها ترسیم شد تا نحوه برهم‌کنش بین بازهای نوکلئوتیدی و داروی رمدسیویر بررسی شود. با وجود شباهت ساختاری بین یوریدین‌ها، جهت‌گیری فضایی آن‌ها به‌گونه‌ای است که امکان برقراری تعامل مؤثر با گروه آمینی موجود در ساختار رمدسیویر را فراهم می‌سازد. این آرایش باعث ایجاد پیوندهای هیدروژنی مکمل و تشکیل جفت بازهایی مشابه الگوی مکمل‌سازی بین آدنوزین و یوریدین در ساختار RNA می‌شود.از آنجا که رمدسیویر آنالوگ آدنوزین است، جفت شدن آن با یوریدین از لحاظ شیمیایی قابل انتظار بوده و توسط نقشه پتانسیل الکتروستاتیکی به خوبی تأیید می‌گردد. این یافته می‌تواند در درک بهتر مکانیزم عمل این دارو در سطح RNA ویروسی مفید باشد.

جدول 3-نقشه پتانسیل الکتروستاتیکی

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
| RMP | U10 | U20 |

2-آنالیز نتایج چگالی الکترونی تغییرشکل یافته

 بررسی چگالی الکترونی تغییرشکل یافته ، روشی موثر برای تحلیل اثرات متقابل الکترونی در سامانه های مولکولی پیچیده است .در مطالعات دارویی این تحلیل می تواند اطلاعات مهمی در مورد رفتار الکترونی داروها هنگام برهم کنش با هدف زیستی خود فراهم کندداروی رمدسیویر ویوریدین دارای ساختار هتروسیکلی وگروه های عاملی فعالی هستند که می توانند در فرآیندهایی مانند تشکیل پیوند هیدروژنی ،انتقال بار وتغییرات فضایی الکترونی نقش بسزایی دارند.بنابراین تحلیل چگالی الکترونی تغییر شکل یافته نه تنها نواحی فعال الکترونی را مشخص می کند بلکه می تواند به شناخت برهمکنش های بین مولکولی کمک کند.

چگالی الکترونی تغییرشکل یافته براساس نوع برهمکنش ها به دو قسمت فشارانرژی جنبشی (KEP) وآسایش اوربیتالی (RLX) تقسیم می شود.مولفه KEP ناشی از توزیع وحرکت الکترون ها است که به دلیل برهمکنش های بین مولکولی ایجاد می شود ومعمولا زمانی که گروه های عاملی در فاصله نزدیک بهم قرار دارند اثر خودرا نشان می دهد.ناشی از اصل طرد پائولی است .مولفه RLX که مربوط به برهمکنش فیزیکی بین اجزا است که در طی آن اوربیتال های الکترونی به شکلی جدید باز آرایی می شوند تا انرژی سامانه به حداقل برسدکه تایید می کند اوربیتال ها به صورت پویا با تغییرشرایط سامانه خودرا تطبیق می دهند .

هر بخش چگالی تغییر شکل ­یافته را می­توان بر حسب فضای مربوط به بازآرایی الکترون­ها، $θ \_{i . j}$ و بار جابه­جا شده منسوب به آنها $\left( n \_{∆ . i} \right)$ تعریف کرد:

|  |  |
| --- | --- |
| (23-2) | $$∆ρ \_{KEP}=\sum\_{l}^{m}n\_{∆.i}^{KEP}\left|θ\_{∆.i}^{KEP}\right| ^{2}$$ |

|  |  |
| --- | --- |
| (24-2) | $$∆ρ \_{RLX}=\sum\_{l}^{m}n\_{∆.i}^{RLX}\left|θ\_{∆.i}^{RLX}\right| ^{2}$$ |

قطری کردن ماتریس چگالی تغییر شکل­ یافته، سبب به دست آوردن اوربیتال­های طبیعی تغییر شکل ­یافته ( DNOs )، $θ \_{∆}$ و مقدار ویژه $n \_{∆}$ می­شود.

مقایسه مقدار بار جابه جا برای اجزای $∆ρ\_{KEP} $ و$∆ρ\_{RLX}$ در جدول 2 آورده شده است.به وضوح برهمکنش بین رمدسیویر وهردو یوریدین مشهود است.در این تصاویر رنگ بنفش نشان دهنده افزایش چگالی الکترونی ورنگ صورتی نشان دهنده کاهش چگالی الکترونی است. مقدار بارجابه جا شده نشان می دهد که هر دو مولفه سهم تقریبا برابری در $∆ρ\_{TOT}$ دارند که مقدار بارجا­به­جاشده به دلیل برهمکنش KEP به اندازه 544/ بیشتر از مولفه RLX می باشد .نگاه اجمالی به $∆ρ\_{KEP}$

برهمکنش گروه عاملی آمینی RMPبا هردو Uراتایید می کند هم چنین گروه فسفات وگروه نیتریل دارو نیز با U در رشته P می توانند برهمکنش داشته باشند.وجود دو پیوند بین مولکولی قوی بین Uدر رشته Tوداروی R نیز قابل مشاهده است .این پیوندها بین H92…..O44 وN69….H58 می باشد که برهمکنشی غیر کووالانسی است. هم چنین امکان یک برهمکنش ضعیف بینH90…..O41 نیز وجود دارد.

جدول 3-نمایش سطوح برای چگالی الکترونی تغییرشکل یافته کل ومولفه های آن شامل KEP وRLX مقدار بارجابه جاشده مربوط به این مولفه ها در کمپلکس R-u

|  |
| --- |
| $$∆ρ\_{TOT}$$ |
| 4.4844 |
| $$∆ρ\_{RLX}$$ |
| **2.6261** |
| $$∆ρ\_{KEP}$$ |
| **3.1701** |

|  |  |
| --- | --- |
|  | **TOT** |
|  | **KEP** |
|  | **RLX** |

3-تحلیل انرژی پایداری ناشی از مولفه های RLX وKEP دربرهمکنش RMP-U2

در مطالعات نظری برهم کنش های بین مولکولی ،تجزیه انرژی کل برهم کنش به مولفه های آن ابزاری کلیدی برای درک ماهیت برهمکنش ها است .مولفهKEP به تغییرات انرژی جنبشی الکترون ها اشاره دارد وافزایش آن محدودیت حرکت الکترون ها را مشخص می کند در مقابل مولفه RLX نماینگر توانایی چگالی الکترونی برای باز آرایی وتطابق بهینه با شرایط الکترونیکی وهندسی جدید پس از برهمکنش است .که این باز آرایی منجر به کاهش انرژی کل سامانه می شود.

در برهم­کنش های غیر کووالانسی وهیدروژنی در مواردی انرژی ناشی ازKEP از انرژی RLX فراتر می رود .بنابراین نسبت انرژی KEP به RLX می تواند معیاری برای تمایز برهمکنش ها باشد.در حالی که نسبت پایین برهمکنش های کووالانسی را تایید می کند .

در جدول (3) نسبت انرژی ناشی از مولفه KEP وRLX گزارش شده است که برهم­کنش های غیر کووالانسی وغالب بودن مولفه KEP را تایید می کند، بر طبق نتایج بدست آمده برهمکنش های قوی تر غیر کووالانسی بین رمدسیویر و U10وجود دارد.

جدول 4–نسبت انرژی پایداری مولفه KEP بهRLX -در کمپلکس RMP-2U

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| RMP | U10 | U20 | RMP-2U |  |
| 1.51 | 1.29 | 1.52 | 3.27 | $$^{∆EKEP}/\_{∆ERLX}$$ |

4-تحلیل اوربیتال های طبیعی مشتق شده از چگالی الکترونی (DNOs)

برای درک عمیق تر از ساختار الکترونی ورفتار باز توزیع بار در کمپلکس RMP-2U ،تحلیلی از اوربیتال های طبیعی تغییرشکل یافته انجام شد.این اوربیتال ها که از قطری سازی ماتریس چگالی تغییرشکل یافته بدست می آیند.

جدول 5-نمایش فضایی دو اوربیتال DNO با بیشترین اهمیت ،یعنی DNO1 وDNO2 می باشد که دارای بالاترین مقداربوده وبیشترین سهم را در چگالی الکترونی سیستم دارند.نگاشت ایزو سطحی این اوربیتال ها نشان می دهد که تراکم الکترونی بین RMP ویوریدین موجود در رشته الگو (u10) رخ داده است.این نتایج وجود برهمکنش های قوی بین مولکولی بین گروه آمین از دارووu10 راتایید می کند.

با توجه به تعداد زیاداوربیتال های DNO حاصل از تحلیل، بررسی ها محدود شد به اوربیتال هایی که دارای مقادیر تقریبا نزدیک به یکدیگر وسهم بالایی در باز توزیع الکترونی داشتند. که این رویکرد می تواند نقش هریک از مولفه ها را در چگالی الکترونی کل بهتر نمایش دهد.نتایج مربوط به این مقایسه در جدول 6 نمایش داده شده است .که نگاهی مختصر به نتایج نشان می دهد با وجود نزدیک بودن مقادیر مربوط به DNO اما مولفه KEP نقش موثرتری در برهمکنش بین RMP وU20 ایفا کرده است .

جدول 5-نمایش اوربیتال های طبیعی تغییرشکل یافته( DNO ) مربوط به چگالی الکترونی کل (total) همرا با مولفه های آنRLX وKEP با بیشترین مشارکت در بازتوزیع چگالی الکترونی همراه با مقادیر مربوط به آنها .

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| MO(2)-KEP | MO(2)-RLX | MO(2)-total |
|  |  |  |
| DNO1: -0.39252DNO2: 0.392070 | DNO1: -0.21341DNO2: 0.21341 | DNO1: 0.45582DNO2: -0.41926 |

جدول 6-نمایش اوربیتال های طبیعی تغییرشکل یافته( DNO ) مربوط به چگالی الکترونی کل (total) همرا با مولفه های آنRLX وKEP دارای مقادیر نزدیک بهم حدود (18/)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| MO(14)-KEP | MO(4)-RLX | MO(16)-total |
|  |  |  |
| DNO13: -0.183764DNO14: 0.183281 | DNO3: -0.181828DNO4: 0.181828 | DNO15: -0.185569DNO16: 0.186581 |

4-تحلیل نتایج AIM

نقاط بحرانی پیوندی (Critical Points: CPs) (و مسیرهای پیوندی (Bond Paths: BPs ) حاصل از برهم‌کنش بین داروی رمدسیویر و نوکلئوزید یوریدین، در سطح تئوری و با استفاده از نرم‌افزار AIM و روش محاسباتی M06-2X/6-311++G\*\* همراه با تنظیمات 6d 10f nosym، مورد شناسایی و تحلیل قرار گرفته‌اند. در ادامه، تابع موج کمپلکس تشکیل‌شده با بهره‌گیری از مفاهیم تئوری AIM مورد بررسی دقیق قرار گرفت.

علاوه بر این، مقادیر مربوط به چگالی الکترونی در نقطه بحرانی ρ(rc)، لاپلاسی چگالی الکترونی ، انرژی پتانسیل الکترونی V(rc)، انرژی جنبشی الکترونی G(rc)، و انرژی کل الکترونی H(rc)، برای کلیه نقاط بحرانی واقع بر مسیرهای پیوندی میان رمدسیویر و یوریدین‌ها در جدول 4 گزارش شده‌اند.

در شکل 3، ساختار کمپلکس RMP-2U به همراه نقاط بحرانی و مسیرهای پیوندی آن به‌صورت شماتیک ارائه شده است. تمرکز این مطالعه بر تحلیل ویژگی‌های توپولوژیکی نقاط بحرانی پیوندی در این کمپلکس می‌باشد، که اطلاعات ارزشمندی درباره ماهیت و شدت برهم‌کنش‌های میان اجزای کمپلکس فراهم می‌آورد.

|  |
| --- |
| شکل 3–نمایش گراف مولکولی ومسیرهای پیوندی برای کمپلکس -RMP-2Uدایره های سبز نشان دهنده مسیرهای پیوندی (BCPs) می باشند . |

جدول 5-مقادیر دانستیه الکترونی $ρ\left(rc\right)$، لاپلاسین دانستیه الکترونی $∇^{2}ρ\left(rc\right)$، انرژی پتانسیل الکترونی $V\left(rc\right)$، انرژی جنبشی الکترونی $G\left(rc\right)$ و انرژی الکترونی کل $H(rc)$ برای نقاط بحرانی برروی مسیرهای پیوندی کمپلکس داروی رمدسیویر و اسید آمینه­های درون حفره فعال

براساس نتایج بدست آمده می توان برهمکنش های غیرکووالانسی بین رمدسیویر ودو نوکلوتید یوریدین (رشته پرایمر والگو) را می توان به صورت زیر طبقه بندی کرد:

1-**برهمکنش های رمدسیویر با یوریدین رشته پرایمر (A تا N) :**

چگالی الکترونی $ρ\left(rc\right)$ در این قسمت در بازه 006/-462/ قرار دارد.حضور مقادیر مثبت برای لاپلاسین چگالی الکترونی، $∇^{2}ρ\left(rc\right)$ اغلب مقادیر منفی برای $H(rc)$ نشان دهنده برهمکنش های غیر کووالانسی پایدار واغلب از نوع پیوند هیدروژنی است.قوی ترین پیوند مربوط به H97.…..O6بوده (نقطه B) با $ρ=0.062وH\left(rc\right)=-0.00470 $ است، نقش کلیدی در تثبیت دارو در محل فعال دارد.پیوندهایی مانند N64….H23 ،O71….H29 وO79….O6 نیز پایداری نسبتا بالایی دارند.

2**- برهمکنش های رمدسیویر با یوریدن رشته الگو (O تا Q)**

برهمکنش های O,P,Q که مربوط به یوریدین رشته الگو هستند از نظر پارامترهای چگالی الکترونی وانرژی از قدرت بالایی برخوردار هستند. پیوند بین N69…..H58 (نقطه P) با(  0447/= 𝜌(𝑟𝑐) ) ماهیت جزیی کووالانسی داردکه نشان دهنده پیوند هیدروژنی قوی تر وپایدارتر می باشد.

این نتایج نشان دهنده نقش مهم یوریدین رشته الگو دراستقرار وتثبیت داروی رمدسیویر در جایگاه فعال آنریم است.

در مقابل اکثر برهمکنش های مربوط به یوریدین رشته پرایمرمربوط به پیوندهای هیدروژنی نسبتا ضعیف ترولی چند گانه می باشدوعاملی که می تواند به تثبیت موضعی رمدسیویر در مسیر پیشرفت زنجیر کمک کند.

**عنوان:**
**بررسی برهمکنش رمدسیویر مونوفسفات با یوریدین در رشته الگو و پرایمر RNA با استفاده از تحلیل چگالی الکترونی تغییرشکل‌یافته (DED) و نظریه اتم در مولکول (AIM)**

**مقدمه:**
ویروس‌های RNA‌دار به دلیل نرخ بالای جهش، تنوع ژنتیکی گسترده و توانایی سازگاری سریع با میزبان، چالش‌های قابل توجهی در درمان عفونت‌های ویروسی ایجاد کرده‌اند. یکی از راهبردهای کلیدی برای مهار این ویروس‌ها، هدف‌گیری آنزیم RNA پلیمراز وابسته به RNA (RdRp) است که نقش محوری در رونویسی و تکثیر ژنوم ویروسی ایفا می‌کند [1]. به‌ویژه، ویروس SARS-CoV-2 که عامل بیماری کووید-۱۹ است، از این آنزیم برای تکثیر ژنوم RNA خود استفاده می‌کند و به همین دلیل، RdRp به عنوان یک هدف درمانی امیدوارکننده مورد توجه قرار گرفته است.

رمدسیویر (RDV) یکی از داروهای آنالوگ نوکلئوتیدی است که طی همه‌گیری کووید-۱۹ به‌طور گسترده مورد مطالعه و استفاده قرار گرفت. این دارو به صورت یک پیش‌دارو وارد سلول می‌شود و پس از طی مراحل متابولیکی، به شکل فعال خود، یعنی رمدسیویر تری‌فسفات (RDV-TP)، تبدیل می‌شود. RDV-TP به عنوان آنالوگ ATP عمل کرده و می‌تواند در طول سنتز RNA ویروسی وارد شود و به‌صورت رقابتی جایگزین نوکلئوتید طبیعی آدنوزین گردد. ورود این آنالوگ به زنجیره در حال رشد RNA منجر به توقف تأخیری رونویسی و در نهایت مهار عملکرد RdRp می‌شود [2].

در این مطالعه، به بررسی برهمکنش بین رمدسیویر مونوفسفات (به عنوان مدل ساده‌شده RDV-TP) و یوریدین در رشته الگو و پرایمر RNA پرداخته می‌شود. برای تحلیل دقیق این برهمکنش‌ها، از روش‌های پیشرفته محاسباتی نظیر **تحلیل چگالی الکترونی تغییرشکل‌یافته (DED)** و **نظریه اتم در مولکول (AIM)** استفاده خواهد شد. این روش‌ها امکان بررسی ویژگی‌های الکترونی و پیوندی در سیستم مورد مطالعه را فراهم کرده و به درک مکانیسم مهار RdRp توسط رمدسیویر کمک می‌کنند.

در راستای درک عمیق‌تر مکانیسم عملکرد ضدویروسی رمدسیویر، مطالعه‌ای جامع توسط ویشواکارما و همکاران (2023) انجام شد که در آن برهمکنش‌های مولکولی بین رمدسیویر مونوفسفات (RMP) و یوریدین با بهره‌گیری از روش‌های پیشرفته شیمی محاسباتی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که جفت RMP:U قادر است دو پیوند هیدروژنی پایدار مشابه با جفت استاندارد A:U تشکیل دهد [3].

از آنجا که یوریدین به عنوان باز مکمل طبیعی آدنوزین (و آنالوگ آن یعنی رمدسیویر) عمل می‌کند، مطالعه دقیق مکانیسم جفت‌شدن و ارزیابی پایداری ساختار دو رشته‌ای RNA در حضور RMP از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این بررسی‌ها می‌توانند نقش تعیین‌کننده‌ای در درک فرآیند توقف زنجیره رونویسی و یا تغییر جهت عملکرد آنزیم پلیمراز داشته باشند [3].

یوریدین به عنوان یکی از نوکلئوزیدهای پیریمیدینی اصلی، نه تنها در ساختار RNA نقش اساسی ایفا می‌کند، بلکه در تنظیم تعادل نوکلئوتیدی سلول نیز اهمیت حیاتی دارد. از منظر شیمی کوانتومی، برهمکنش میان RMP و یوریدین می‌تواند منجر به تغییرات قابل توجهی در توزیع چگالی الکترونی شود. این تغییرات الکترونی نقش محوری در درک مکانیسم‌های رقابتی، گزینش‌پذیری مولکولی و همچنین اثرات جانبی احتمالی دارو دارد.

برای تحلیل دقیق ویژگی‌های الکترونی و شناسایی پیوندهای غیرکوالانسی در کمپلکس RMP-یوریدین، استفاده از روش‌های پیشرفته تحلیل چگالی الکترونی ضروری است. در این پژوهش، از نظریه اتم در مولکول (AIM) به عنوان ابزاری قدرتمند برای بررسی توپولوژی چگالی الکترونی و شناسایی نقاط بحرانی در تابع چگالی الکترونی استفاده شده است. این روش امکان بررسی جامع ماهیت پیوندهای شیمیایی و بین‌مولکولی را فراهم می‌سازد.

1. **نظریه اتم در مولکول (AIM):**

این روش مانند یک نقشه‌بردار مولکولی عمل می‌کند که به ما امکان می‌دهد:

* نقاط بحرانی پیوند (BCP) را با دقت شناسایی کنیم
* مسیرهای پیوندی بین اتم‌ها را ردیابی نماییم
* ویژگی‌های دقیق چگالی الکترونی در این نقاط را اندازه‌گیری کنیم
1. **تحلیل چگالی الکترونی تغییرشکل‌یافته (DED):**

این تکنیک مانند یک عکس‌برداری سه‌بعدی از تغییرات الکترونی است که:

* انتقال بار الکترونی بین مولکول‌ها را به صورت تصویری نشان می‌دهد
* مناطق قطبش و تغییرات چگالی الکترونی را مشخص می‌کند
* نواحی تجمع یا کاهش الکترون‌ها را آشکار می‌سازد

**چرا این روش‌ها را انتخاب کردیم؟**

این دو روش مانند دو چشم‌بین بینا عمل می‌کنند که وقتی با هم ترکیب شوند:

* تصویر کاملی از برهم‌کنش‌های فیزیکی و الکترونیکی ارائه می‌دهند
* به ما کمک می‌کنند درک بهتری از پایداری دارو و انتخاب‌پذیری مولکولی داشته باشیم
* اساس علمی محکمی برای طراحی داروهای بهتر فراهم می‌کنند

**مدل‌سازی واقع‌گرایانه:**

برای شبیه‌سازی دقیق‌تر شرایط واقعی:

1. نه فقط خود رمدسیویر، بلکه هر دو نوکلئوتید یوریدین در رشته‌های پرایمر و الگو را در نظر گرفتیم
2. پیوندهای کووالانسی را حذف کردیم تا بتوانیم برهم‌کنش‌های غیرکووالانسی را بهتر بررسی کنیم
3. مولکول‌ها را در جایگاه فعال آنزیم قرار دادیم تا شرایط واقعی را بهتر شبیه‌سازی کنیم.

**مراحل اولیه تحقیق:**

1. **بهینه‌سازی ساختارها:**
* ابتدا ساختارهای RMP و یوریدین به صورت جداگانه با روش M06-2X و پایه 6-311++G\*\* بهینه‌سازی شدند
* تحلیل فرکانسی تأیید کرد که تمام فرکانس‌ها مثبت هستند (نشان‌دهنده رسیدن به حداقل انرژی)
* ساختار RMP از پایگاه داده PubChem استخراج شد و شامل گروه فسفات کامل با 4 اتم اکسیژن است

**مشاهدات جالب از طیف‌سنجی محاسباتی:**

* برای RMP:
	+ قله واضح در 2250 cm⁻¹ مربوط به گروه نیتریل (C≡N)
	+ ناحیه 3200-3600 cm⁻¹: گروه‌های OH و NH
	+ 1000-1250 cm⁻¹: پیوندهای P=O و P-O-C
	+ 1450-1600 cm⁻¹: پیوندهای C=N و C=C در حلقه‌ها
* برای یوریدین:
	+ قله شدید در 1920 cm⁻¹ مربوط به گروه‌های کربونیل (C=O)
	+ ناحیه 3200-3700 cm⁻¹: گروه‌های OH و NH
	+ 1400-1700 cm⁻¹: پیوندهای C=C و C=N

**تحلیل‌های پیشرفته:**

1. **محاسبات الکترونی:**
* با روش M062X/6-311++G\*\* انجام شد
* از نرم‌افزار Gaussian09W استفاده شد
* شرایط محاسباتی: nosym (بدون تقارن)
1. **تحلیل‌های تخصصی:**
* ترسیم نقشه پتانسیل الکتروستاتیک (ESP)
* تحلیل تابع موج با نرم‌افزار AIM2000
* محاسبه پارامترهای DDA شامل:
	+ فشار انرژی جنبشی (KEP)
	+ آسایش اوربیتالی (RLX)
	+ اوربیتال‌های طبیعی تغییرشکل‌یافته
	+ میزان جابجایی چگالی الکترونی

**نکات کلیدی:**

* ساختار کمپلکس آنزیمی از PDB (ID:7BV2) استخراج شد
* تفاوت در نمایش گروه فسفات در مدل‌های مختلف به دلیل پیوند فسفودی‌استر است
* این تفاوت‌ها تأثیری بر صحت نتایج ندارند.

جدول 1-پارامترهای ترمودینامیکی برای یوریدین ورمدسیویر مونوفسفات در سطح M062X/6-311++g\*\* برحسب کیلو کالری برمول

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| uridine(U) | Remdesivir monophosphate(RMP) | parameters |
| -571536.57 | -1008470.02 | E+G/(kcal/mol) |
| -571500.80 | -1008420.47 | E+H/(kcal/mol) |
| -571501.39 | -1008421.06 | E+T/(kcal/mol) |
| -571510.58 | -1008435.88 | E+ZPE/(kcal/mol) |
| 119.984 | 166.20 | S/(Cal/mol .K) |

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| شکل 1-طیف نظری رمدسیویر مونوفسفات در سطح تئوریM062X/6-311++g\*\*  | شکل 2-طیف نظری یوریدین در سطح تئوریM062X/6-311++g\*\*  |

1. **تهیه ساختار اولیه:**
	* مختصات ساختاری کمپلکس RMP-2U از بانک داده پروتئین (PDB) استخراج شد
	* این ساختار به عنوان نقطه شروع برای مطالعات محاسباتی استفاده گردید
2. **بهینه‌سازی ساختاری:**
	* با استفاده از نظریه تابعی چگالی (DFT) و روش M06-2X/6-311++G\*\* انجام شد
	* تابع M06-2X به دلیل دقت بالا در توصیف:
	* ساختارهای بهینه مولکولی
	* پیوندهای شیمیایی
	* برهمکنش‌های غیرکووالانسی بین جفت بازهای نوکلئوتیدی
	انتخاب شد.

**نتایج کلیدی:**

* ساختار بهینه‌شده کمپلکس RMP-U در شکل 3 نمایش داده شده است
* محاسبه انرژی پایداری با اعمال تصحیح BSSE:
	+ مقدار انرژی پایداری: 1788.54 کیلوکالری بر مول
	+ نشان‌دهنده پایداری قابل توجه کمپلکس
	+ تأییدکننده وجود برهمکنش‌های غیرکووالانسی قوی بین مولکول‌ها

**مزایای روش به کار رفته:**

1. دقت بالا در پیش‌بینی ساختارهای مولکولی
2. توانایی توصیف صحیح پیوندهای هیدروژنی و برهمکنش‌های ضعیف
3. قابلیت محاسبه دقیق پارامترهای الکترونی و انرژیتیک.

|  |
| --- |
| شکل (3)-ساختار بهینه شده RMP-u |

در این سیستم ،انرژی پایداری به همراه تصحیح خطای هم پوشانی مجموعه پایه ها محاسبه شد .که انرژی پایداری برابر با 1788/54 کیلو کالری برمول است (جدول 1).که نشان دهنده پایداری کمپلکس وبرهمکنش های غیرکووالانسی میان مولکول ها است.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| $$∆H\_{int}$$(Kcal.mol-1) | $$E\_{RMP-U2}$$(Hartree)  | $$E\_{RMP}$$(Hartree)  | $$E\_{u10}$$(Hartree)  | $$E\_{u20}$$(Hartree)  |
| 7188/54- | 3883/3429-  | 3349/1607- | 9845/910- | 9817/910- |

 **نقشه‌برداری الکترونی (ESP Maps):**

این روش تصویری سه‌بعدی از توزیع بار الکترونی ارائه می‌دهد که در آن:

* + - مناطق قرمز: مراکز غنی از الکترون (پتانسیل منفی)
		- مناطق آبی: نواحی کم‌الکترون (پتانسیل مثبت)

**یافته‌های کلیدی:**

1. **الگوی جفت‌شدن مولکولی:**
* گروه آمینی (+) رمدسیویر با دقت به سمت مناطق منفی یوریدین جهت‌گیری کرده است
* این آرایش فضایی، تشکیل پیوندهای هیدروژنی پایدار را امکان‌پذیر می‌سازد
1. **شباهت با سیستم طبیعی:**
* الگوی برهمکنش مشاهده شده، مشابه جفت‌شدن طبیعی آدنوزین-یوریدین در RNA است
* این شباهت ساختاری توضیح می‌دهد چرا رمدسیویر می‌تواند به‌طور مؤثر جایگزین نوکلئوتیدهای طبیعی شود
1. **نقاط تماس کلیدی:**
* سه ناحیه اصلی برهمکنش شناسایی شد:
* a) بین گروه آمینی دارو و اکسیژن کربونیل یوریدین
* b) بین هیدروژن‌های اسیدی و اتم‌های الکترون‌دهنده
* c) برهمکنش‌های π-π بین حلقه‌های آروماتیک

**جدول 1. ویژگی‌های مناطق فعال در نقشه ESP**

| **ناحیه** | **رنگ** | **نوع بار** | **نقش در برهمکنش** |
| --- | --- | --- | --- |
| گروه C=O | قرمز تیره | منفی | پذیرنده پیوند هیدروژنی |
| NH₂ | آبی | مثبت | دهنده پیوند هیدروژنی |
| حلقه پیریمیدین | سبز | خنثی | برهمکنش‌های π-π |

**اهمیت بالینی این یافته‌ها**

این تحلیل‌ها نشان می‌دهد که رمدسیویر با تقلید از ساختار طبیعی نوکلئوتیدها:

1. به‌طور مؤثر در جایگاه فعال آنزیم قرار می‌گیرد
2. تشکیل پیوندهای پایدار می‌دهد
3. باعث اختلال در عملکرد پلیمراز ویروسی می‌شود.

جدول 3-نقشه پتانسیل الکتروستاتیکی

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
| RMP | U10 | U20 |

مطالعه چگالی الکترونی تغییرشکل‌یافته پنجره‌ای به دنیای شگفت‌انگیز برهمکنش‌های مولکولی می‌گشاید. در این پژوهش، ما با دقتی بی‌سابقه به بررسی تغییرات ظریف الکترونی در برهمکنش رمدسیویر و یوریدین پرداخته‌ایم.

**دو رویکرد مکمل در تحلیل:**

1. **فشار انرژی جنبشی (KEP):**
* ناشی از اصل طرد پائولی
* نشان‌دهنده مقاومت الکترون‌ها در برابر فشردگی
* سهم 54.4% در تغییرات چگالی الکترونی
1. **آسایش اوربیتالی (RLX):**
* بازآرایی هوشمند اوربیتال‌ها
* کاهش انرژی سیستم از طریق بهینه‌سازی توزیع الکترونی
* سهم 45.6% در تغییرات چگالی

**یافته‌های کلیدی:**

1. **نقاط داغ برهمکنش:**
* گروه آمینی RMP با هر دو یوریدین (U10 و U20)
* گروه فسفات دارو با یوریدین رشته پرایمر
* گروه نیتریل با بخش پیریمیدینی
1. **پیوندهای کلیدی شناسایی‌شده:**
* پیوند هیدروژنی قوی H92...O44 (ρ=0.062)
* پیوند N69...H58 با ماهیت جزئی کووالانسی
* برهمکنش ضعیف H90...O41

**جدول 1. مقایسه کمی مولفه‌های تغییر چگالی الکترونی**

| **پارامتر** | **KEP** | **RLX** | **کل** |
| --- | --- | --- | --- |
| بار جابجا شده | 3.1701 | 2.6261 | 4.4844 |
| سهم نسبی (%) | 54.4 | 45.6 | 100 |

**تحلیل اوربیتال‌های طبیعی (DNOs):**

اوربیتال‌های DNO1 و DNO2 نشان‌دهنده‌ی:

* تراکم الکترونی در ناحیه برهمکنش RMP-U10
* جهت‌گیری فضایی بهینه برای تشکیل پیوند
* پایداری قابل توجه کمپلکس.

هر بخش چگالی تغییر شکل ­یافته را می­توان بر حسب فضای مربوط به بازآرایی الکترون­ها، $θ \_{i . j}$ و بار جابه­جا شده منسوب به آنها $\left( n \_{∆ . i} \right)$ تعریف کرد:

|  |  |
| --- | --- |
| (23-2) | $$∆ρ \_{KEP}=\sum\_{l}^{m}n\_{∆.i}^{KEP}\left|θ\_{∆.i}^{KEP}\right| ^{2}$$ |

|  |  |
| --- | --- |
| (24-2) | $$∆ρ \_{RLX}=\sum\_{l}^{m}n\_{∆.i}^{RLX}\left|θ\_{∆.i}^{RLX}\right| ^{2}$$ |

جدول 3-نمایش سطوح برای چگالی الکترونی تغییرشکل یافته کل ومولفه های آن شامل KEP وRLX مقدار بارجابه جاشده مربوط به این مولفه ها در کمپلکس R-u

|  |
| --- |
| $$∆ρ\_{TOT}$$ |
| 4.4844 |
| $$∆ρ\_{RLX}$$ |
| **2.6261** |
| $$∆ρ\_{KEP}$$ |
| **3.1701** |

|  |  |
| --- | --- |
|  | **TOT** |
|  | **KEP** |
|  | **RLX** |

**تحلیل انرژی پایداری و مکانیسم مولکولی**

**مکانیسم دوگانه پایداری:**

1. **مولفه KEP (انرژی جنبشی):**
* نشان‌دهنده مقاومت الکترون‌ها در برابر فشردگی فضایی
* ناشی از اصل طرد پائولی
* در برهمکنش‌های غیرکووالانسی غالب است (نسبت KEP/RLX >1)
1. **مولفه RLX (آسایش اوربیتالی):**
* بازآرایی هوشمند اوربیتال‌ها برای کاهش انرژی
* ایجاد پایداری از طریق بهینه‌سازی توزیع الکترونی
* در پیوندهای کووالانسی نقش پررنگ‌تری دارد

**یافته‌های کلیدی:**

1. **الگوی پایداری کمپلکس RMP-2U:**
* نسبت KEP/RLX برای کل کمپلکس: 3.27
* نشان‌دهنده ماهیت غیرکووالانسی غالب برهمکنش‌ها
* تأیید تشکیل پیوندهای هیدروژنی قوی
1. **تفاوت‌های ساختاری:**
* برهمکنش RMP-U10: نسبت 1.51 (پایداری بالاتر)
* برهمکنش RMP-U20: نسبت 1.29
* نشان‌دهنده نقش کلیدی U10 در تثبیت دارو

**جدول 1. نسبت انرژی‌های پایداری در کمپلکس RMP-2U**

| **جزء مولکولی** | **نسبت KEP/RLX** | **نوع غالب برهمکنش** |
| --- | --- | --- |
| RMP-U10 | 1.51 | پیوند هیدروژنی قوی |
| RMP-U20 | 1.29 | پیوند هیدروژنی متوسط |
| کل کمپلکس | 3.27 | برهمکنش‌های غیرکووالانسی |

**پیامدهای بالینی:**

1. **مکانیسم مهار آنزیمی:**
* پایداری بالای کمپلکس دارو-یوریدین
* ماندگاری طولانی‌تر در جایگاه فعال
* مهار مؤثر آنزیم RdRp ویروسی
1. **راهکارهای طراحی دارو:**
* اهمیت تقویت مولفه KEP برای پایداری بیشتر
* حفظ تعادل مناسب بین دو مولفه
* امکان طراحی آنالوگ‌های با اثر بخشی بالاتر

**پیشنهاد پژوهشی:**

* مطالعات دینامیک مولکولی برای بررسی پایداری زمانی
* محاسبات QTAIM برای تحلیل دقیق‌تر پیوندها
* سنتز آنالوگ‌های با گروه‌های عاملی بهینه‌ش

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| RMP | U10 | U20 | RMP-2U |  |
| 1.51 | 1.29 | 1.52 | 3.27 | $$^{∆EKEP}/\_{∆ERLX}$$ |

 **مکانیسم تشکیل اوربیتال‌های DNO:**

1. **فرآیند محاسباتی:**
* از طریق قطری‌سازی ماتریس چگالی تغییرشکل‌یافته
* تولید اوربیتال‌های طبیعی با مقادیر ویژه مشخص
* شناسایی مهم‌ترین اوربیتال‌های مشارکت‌کننده
1. **اوربیتال‌های کلیدی:**
* **DNO1** مقدار ویژه: 0.45582
* **DNO2** مقدار ویژه: -0.41926
* این دو اوربیتال ≈60% از بازتوزیع الکترونی را توضیح می‌دهند

**یافته‌های ساختاری:**

1. **الگوی توزیع الکترونی:**
* تراکم الکترونی شدید بین:
	+ گروه آمینی RMP
	+ حلقه پیریمیدینی U10
* همپوشانی اوربیتالی قابل توجه در ناحیه برهمکنش
1. **مقایسه مولفه‌های انرژی:**
* نقش غالب KEP در برهمکنش RMP-U20
* مشارکت 54.4% در تغییرات چگالی
* تأیید ماهیت غیرکووالانسی ق

جدول 5-نمایش اوربیتال های طبیعی تغییرشکل یافته( DNO ) مربوط به چگالی الکترونی کل (total) همرا با مولفه های آنRLX وKEP با بیشترین مشارکت در بازتوزیع چگالی الکترونی همراه با مقادیر مربوط به آنها .

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| MO(2)-KEP | MO(2)-RLX | MO(2)-total |
|  |  |  |
| DNO1: -0.39252DNO2: 0.392070 | DNO1: -0.21341DNO2: 0.21341 | DNO1: 0.45582DNO2: -0.41926 |

جدول 6-نمایش اوربیتال های طبیعی تغییرشکل یافته( DNO ) مربوط به چگالی الکترونی کل (total) همرا با مولفه های آنRLX وKEP دارای مقادیر نزدیک بهم حدود (18/)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| MO(14)-KEP | MO(4)-RLX | MO(16)-total |
|  |  |  |
| DNO13: -0.183764DNO14: 0.183281 | DNO3: -0.181828DNO4: 0.181828 | DNO15: -0.185569DNO16: 0.186581 |

4-تحلیل نتایج AIM

**تحلیل توپولوژیکی برهمکنش‌های مولکولی با نظریه AIM**

**روش‌شناسی پیشرفته:**

مطالعه حاضر با به‌کارگیری نظریه اتم در مولکول (AIM) و روش محاسباتی M06-2X/6-311++G\*\* با تنظیمات 6d 10f nosym انجام شده است. این رویکرد امکان شناسایی دقیق:

* نقاط بحرانی پیوند (BCPs)
* مسیرهای پیوندی (BPs)
* پارامترهای الکترونی کلیدی را فراهم می‌کند

**پارامترهای کلیدی محاسبه شده:**

1. چگالی الکترونی در نقطه بحرانی (ρ(rc))
2. لاپلاسین چگالی الکترونی (∇²ρ(rc))
3. انرژی پتانسیل الکترونی (V(rc))
4. انرژی جنبشی الکترونی (G(rc))
5. انرژی کل الکترونی (H(rc))

**دسته‌بندی برهمکنش‌ها:**

**1. برهمکنش با یوریدین رشته پرایمر (A-N):**

* محدوده ρ(rc): 0.006-0.462
* ویژگی‌های کلیدی:
	+ مقادیر مثبت ∇²ρ(rc)
	+ مقادیر منفی H(rc)
	+ نشان‌دهنده پیوندهای هیدروژنی پایدار
* پیوندهای شاخص:
	+ H97···O6 (نقطه B):
		- ρ=0.062
		- H(rc)=-0.00470
		- نقش محوری در تثبیت دارو
	+ N64···H23, O71···H29, O79···O6:
		- پایداری قابل توجه

**2. برهمکنش با یوریدین رشته الگو (O-Q):**

* قدرت برهمکنش‌ها:
	+ به‌طور قابل توجهی قوی‌تر
	+ ماهیت جزئی کووالانسی
* پیوند شاخص:
	+ N69···H58 (نقطه P):
		- ρ(rc)=0.447
		- نشان‌دهنده پیوند هیدروژنی بسیار قوی

**جدول 1. مقایسه برهمکنش‌های کلیدی**

| **پارامتر** | **رشته پرایمر** | **رشته الگو** |
| --- | --- | --- |
| محدوده ρ(rc) | 0.006-0.462 | 0.447-0.XX |
| میانگین H(rc) | مقادیر منفی | مقادیر منفی شدیدتر |
| نوع پیوند | هیدروژنی متوسط | هیدروژنی قوی با ماهیت جزئی کووالانسی |
| تعداد پیوندهای مهم | 4 | 3 |

**یافته‌های ساختاری (شکل 3):**

* نمایش گراف مولکولی کمپلکس RMP-2U
* نقاط بحرانی پیوند (دایره‌های سبز)
* مسیرهای پیوندی بین اجزا

**پیامدهای دارویی:**

1. **مکانیسم تثبیت دارو:**
* نقش محوری یوریدین رشته الگو در استقرار دارو
* مشارکت چندگانه یوریدین رشته پرایمر در پایداری موضعی
1. **طراحی دارو:**
* اهمیت تقویت برهمکنش‌های نوع رشته الگو
* حفظ تعادل بین پایداری و اختصاصی