مقاله پژوهشی

غربالگری مهارکننده‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز موجود در گیاه خاکشیر توسط داکینگ مولکولی برای جلوگیری از پیشرفت دیابت

مرتضی صادقی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۲/۰۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۴/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: آنزیم‌های آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز با شکستن واحدهای پلی‌ساکاریدی پیچیده به واحدهای مونوساکاریدی قابل‌جذب، باعث بالا رفتن سطح گلوکز خون می‌شوند. هدف از این مطالعه بررسی اثر مهارکنندگی ترکیبات استخراج‌شده از گل گیاه خاکشیر بر فعالیت آنزیم‌های آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز در محیط *In silico* است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه با استفاده از روش توصیفی- تحلیلی انجام شد. بدین منظور، ابتدا ترکیبات استخراج‌شده از گل خاکشیر در مطالعه قبلی، از پایگاه داده‌ای PubChem گرفته شد و سپس فایل‌های مربوط به آنزیم‌های آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز از پایگاه PDB دریافت شدند. سپس قوانین لیپینسکی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ترکیبات به ترتیب توسط پایگاه Zink و سرور Swiss ADME پیش‌بینی شدند. درنهایت، برای انجام کارهای داکینگ مولکولی از روش داکینگ Molegro Virtual Docker 6.0 و Molegro Molecular Viewer 2.5 استفاده شد.

نتایج: اکثر ترکیبات موجود در گل خاکشیر، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مطلوبی داشتند و هم‌چنین این ترکیبات توانایی مهار آنزیم‌های آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز را داشتند؛ اما از میان این ترکیبات، ترکیب Valtrate با ۸۳/۴۵- کیلوژول بر مول بیش‌ترین اثر مهاری را بر آنزیم آلفاآمیلاز داشت. هم‌چنین ترکیبات Palatinol و Valtrate به ترتیب با ۱۲۲/۱۹- و ۱۵۲/۰۸- کیلوژول بر مول بالاترین میزان مهاری را بر آنزیم آلفاگلوکوزیداز داشتند.

نتیجه‌گیری: از نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق توصیفی- تحلیلی، می‌توان نتیجه گرفت که از میان ترکیبات داک‌شده موجود در گل خاکشیر، ترکیب Valtrate به دلیل قرارگیری مناسب در اکتیوسایت آنزیم‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز مهار مؤثرتری را ایجاد می‌کند.

کلمات کلیدی: آلفاآمیلاز، آلفاگلوکوزیداز، گل خاکشیر، داکینگ مولکولی

مقدمه

دیابت ملیتوس یکی از رایج‌ترین اختلالات اندوکرین است. طبق بررسی سازمان جهانی سلامت[1] پیش‌بینی‌شده است که پیشرفت بیماری دیابت از ۱۷۱ میلیون در سال ۲۰۰۰ به ۳۶۶ میلیون نفر در سال ۲۰۳۰ برسد (۱، ۲). واژه دیابت ملیتوس یک اختلال متابولیکی را شرح می‌دهد که با اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی و پروتئین تشخیص داده می‌شود که این ناشی از نقص در ترشح انسولین، عملکرد انسولین یا هر دو است (۳، ۴). با پیشرفت بیماری دیابت عوارضی مانند رتینوپاتی، نفروپاتی، نوروپاتی و میکروآنژیوپاتی ایجاد می‌شود (۵).

آنزیم‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز در هضم گلوکز مشارکت می‌کنند و به‌عنوان آنزیم‌های کلیدی که می‌توانند هایپرگلیسمی پس از صرف غذا را کنترل کنند، در نظر گرفته می‌شوند (۶، ۷). آنزیم آلفاآمیلاز در ترشحات بزاقی و پانکراتیک وجود دارد و مسئول کلیواژ مالتوالیگوساکاریدهای (Maltooligosaccharides)

*نویسنده مسئول: **مرتضی صادقی**، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
Email: mo.sadeghi@sci.ui.ac.ir
https://orcid.org/0000-0002-5027-4777

[1] World Health Organization (WHO)

بزرگ به مالتوزند (۸). آنزیم آلفاگلوکوزیداز نیز در پرزهای روده کوچک قرارگرفته است و در شکستن کربوهیدرات‌ها (محصولات آلفاآمیلاز) به مونوساکاریدهای قابل‌جذب نقش دارند (۹). یکی از راه‌های درمانی کاهش هایپرگلیسمی پس از صرف غذا، ممانعت از هضم و جذب کربوهیدرات‌های غذایی توسط مهار آنزیم‌های آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز است (۱۰). در درمان‌های بالینی، بسیاری از داروها مانند سولفونیل اوره‌آز، بی‌گوانیدها، تیازولیدین-دیونزها و مهارکننده‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز برای کنترل هایپرگلیسمی استفاده می‌شوند (۱۱). مهارکننده‌های آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز، ۱۰۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰ بار تمایل بیش‌تری به جایگاه‌های اتصال کربوهیدرات‌ها نسبت به الیگوساکاریدها و پلی-ساکاریدها دارند (۱۲)؛ بنابراین در صورت استفاده از این مهارکننده‌ها، الیگوساکاریدها و پلی‌ساکاریدها نمی‌توانند به قندهای ساده تبدیل و جذب بدن شوند. درنتیجه مهارکننده‌های آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز از داروهای مهمی هستند که آسیمیلاسیون کربوهیدرات‌ها را مهار می‌کنند و در درمان دیابت استفاده می‌شوند (۱۳).

در چند سال اخیر، طراحی دارو برای کاهش سطح گلوکز خون و حفظ هومئوستازیس قند خون با اثرات جانبی کم‌تر، گسترش زیادی یافته است. در چند دهه اخیر از گیاهان دارویی و غیر دارویی به‌منظور فعالیت فارماکولوژی آن‌ها و هم‌چنین مهار آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز و درنتیجه کنترل دیابت استفاده‌شده‌اند (۱۴). استفاده طولانی‌مدت از داروهای شیمیایی مانند آکاربوز، میگلیتول و ووگلیبوز که به‌عنوان مهارکننده‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز استفاده می‌شوند، باعث اثرات جانبی متعددی (حالت تهوع و شکم‌درد) می‌شوند، لذا بیش‌تر محققان به سمت داروهایی گرایش پیدا می‌کنند که از منابع طبیعی به دست بیایند و عوارض جانبی کم‌تری داشته باشند (۱۵، ۱۶).

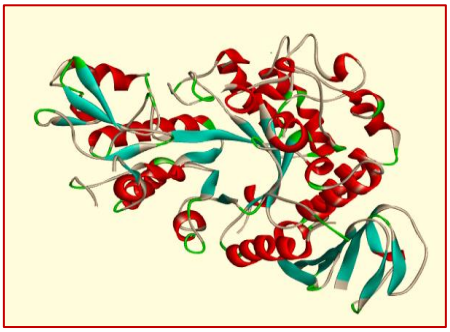
گیاه خاکشیر بانام علمی *Descurainia sophia* ازجمله گیاهان دارویی و متعلق به خانواده چلیپائیان (شب‌بو) است. تابه‌حال خواص دارویی متعددی مانند کم کردن تب، برطرف کردن بی-اشتهایی، ضد کرم و حل مشکل سوءهاضمه از گیاه خاکشیر گزارش‌شده است و هم‌چنین به خاطر توان آنتی‌اکسیدانی بالای آن‌که ناشی از حضور مقدار فنول است، در حفاظت سلول‌ها از آسیب اکسیداتیو نقش دارد (۱۷، ۱۸).

داکینگ مولکولی و روش‌های کامپیوتری ابزار مؤثری در تعیین ترکیبات با کارایی بالا می‌باشند. با روش‌های داکینگ برهم‌کنش مناسب میان گیرنده و رسپتور بررسی می‌شود و با امتیازدهی به این برهم‌کنش، ترکیب اثر مهاری قوی انتخاب می‌شود (۱۹). در مطالعه‌ای که قبلاً صورت گرفته، مشخص‌شده بود که از میان اندام‌های هوایی گیاه خاکشیر، عصاره گل خاکشیر بیش‌ترین اثر مهاری را روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز نشان داده است (۲۰) و با مشخص شدن ترکیبات موجود در گل خاکشیر (۱۰ ترکیب شامل Desulphosinigrin، Cinnamaldehyde، Isoeugenol و ...)، ضروری است که میزان مهار هر یک از این ترکیبات در محیط *In silico* مشخص و معلوم شود که کدام‌یک از ترکیبات موجود در عصاره گل خاکشیر، بیش‌ترین اثر مهاری را بر آنزیم آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز داشته‌اند. لذا این مطالعه به بررسی داکینگ مولکولی ترکیبات مشخص‌شده و سهم هر یک از این ترکیبات بر مهار آنزیم آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز در محیط *In silico* می-پردازد.

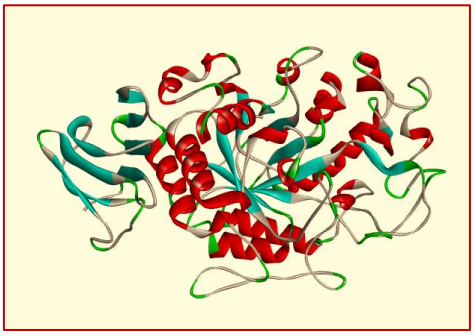
مواد و روش‌ها

در این تحقیق از روش توصیفی- تحلیلی استفاده شد. برای این کار، ابتدا ۱۰ ترکیب که با استفاده از GC/MS استخراج و شناسایی‌شده بودند، موردبررسی قرار گرفتند. سپس ساختار سه-بعدی این ترکیبات در قالب SDF از پایگاه داده ترکیبات شیمیایی PubChem به نشانی (http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov) دانلود و دریافت شدند. ساختار کریستالوگرافی مناسب از آنزیم آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز به ترتیب با کدهای شناسایی 2ZE0 و 1HNY و قدرت‌های تفکیک 1.3 و 1.8 آنگستروم از پایگاه پروتئینی به آدرس (http://www.rcsb.org) با فرمت PDB نیز دانلود شد (شکل ۱).

مطالعه داکینگ مولکولی: مطالعه داکینگ مولکولی با استفاده از Molegro Virtual Docker (MVD) 6.0 و Molegro Molecular Viewer 2.5 (MVV) صورت گرفت. در MVD داکینگ چند لیگاند به‌طور هم‌زمان با ماکرومولکول (آنزیم) صورت می‌گیرد. برای این منظور، ساختارهای سه‌بعدی آنزیم‌ها و ترکیبات به ترتیب از PDB و PubChem گرفته شدند. ابتدا ساختار هرکدام از آنزیم‌ها و ترکیبات موجود در گل خاکشیر به‌عنوان ورودی نرم‌افزار انتخاب شدند. قبل از داکینگ مولکولی، آماده‌سازی‌های لازم بر آنزیم‌ها و ترکیبات صورت گرفت. برای آماده‌سازی لیگاندها، باید باندها، جهت‌گیری پیوندهای



(الف)



(ب)

شکل ۱- ساختار سه‌بعدی آنزیم الف) آلفاگلوکوزیداز و ب) آلفاآمیلاز

جدول ۱- پارامترهای داروهمانندی (Drug like) ترکیبات موجود در گل خاکشیر که توسط قانون لیپینسکی (Lipinski) بررسی شدند.

Compound name	Hydrogen bond donors (≤5)	Hydrogen bond acceptors (≤10)	Molecular mass (<500)	High lipophilicity (<5)
Desulphosinigrin	۵	۷	۲۷۹/۳۱	-۱/۲۸
5-Bromoadamantan-2-one	۰	۱	۲۲۹/۱۱	۱/۹۸
Cinnamaldehyde	۰	۱	۱۳۲/۱۶	۱/۹۰
3-Phenyl-2-propyn-1-ol	۱	۱	۱۳۲/۱۶	۱/۴۳
Isoeugenol	۱	۲	۱۶۴/۲۰	۳/۰۴
Eugenol	۱	۲	۱۶۴/۲	۲/۲۷
Pterin-6-carboxylic acid	۳	۶	۲۰۷/۱۴۹	-۱/۱۵
Palatinol	۰	۶	۳۶۶/۴۵	۴/۲
Valtrate	۰	۸	۴۲۲/۴۷	۱/۷۶
Isookanin	۴	۶	۲۸۸/۲۵	۱/۵۸

هیدروژنی، بارها و پیوندهای منعطف در لیگاند شناسایی شوند (۲۱). در خصوص آماده‌سازی آنزیم‌ها نیز، خطاهای موجود در باقی‌مانده‌ها اصلاح و بهترین جهت‌گیری با سایر باقی‌مانده‌ها انجام شد. به‌منظور برهم‌کنش بیش‌تر هرکدام از آنزیم‌ها با ترکیبات، حفره‌ها نیز مشخص شدند. از روش امتیازدهی MolDock Score و الگوریتم MolDock SE استفاده شد. بیش-ترین تعداد دفعات برهم‌کنش ۱۰، بیش‌ترین برهم‌کنش ۱۵۰۰ و میزان حد آستانه انرژی ۱۰۰ در نظر گرفته شد. در پایان فایل کمپلکس آنزیم و مهارکننده‌ها به‌صورت Mol2 ظاهر شد. پس از داکینگ مولکولی انرژی اتصال بر اساس MolDock و Rerank بررسی شدند. اگرچه امتیازدهی Rerank در MVD تخمینی از قدرت تعامل (اینتراکشن) را فراهم می‌کند اما پارامترهایی مانند کالیبراسیون واحدهای شیمیایی و توزیع‌های پیچیده (مانند آنتروپی) را در اینتراکشن بررسی نمی‌کند. لذا لازم است از پارامتر امتیازدهی MolDock که تمام فاکتورها را در اینتراکشن دخیل می‌کند، استفاده شود (۲۲، ۲۳).

ارزیابی ویژگی‌های داروهمانندی ترکیبات موجود در گل خاکشیر توسط قانون لیپینسکی:

بررسی ترکیبات با قانون لیپینسکی (Lipinski): ۱۰ ترکیب موجود در گل خاکشیر ازنظر قانون لیپینسکی برای مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز بررسی شدند (جدول ۱). همه ترکیبات با دارا بودن ویژگی‌های موردنظر این قانون، پیش‌بینی

می‌شود که جذب خوبی را داشته باشند (۲۴). از پایگاه ZINK به نشانی (zink.docking.org) برای به دست آوردن این ویژگی‌ها به نشانی http://lazar.in-silico.de/predict (۲۶) پیش‌بینی شدند (جدول ۲).

جدول ۲- پیش‌بینی ترکیبات ازلحاظ خواص فیزیکوشیمیایی و پتانسیل موتاژنیک

Compounds	TPSA	Log *S*	GI absorption	mutagencity
Desulphosinigrin	۱۴۸/۰۴	-۰/۴۴	Low	Non-Mutagenic
5-Bromoadamantan-2-one	۱۷/۰۷	-۲/۵۱	High	Non-Mutagenic
Cinnamaldehyde	۱۷/۰۲	-۲/۱۷	High	Non-Mutagenic
3-Phenyl-2-propyn-1-ol	۲۲/۲۳	-۲	High	Non-Mutagenic
Isoeugenol	۲۹/۴۶	-۳/۰۱	High	Non-Mutagenic
Eugenol	۲۹/۳۶	-۲/۴۶	High	Non-Mutagenic
Pterin-6-carboxylic acid	۱۳۴/۸۵	-۰/۸۳	Low	Non-Mutagenic
Palatinol	۷۱/۰۶	-۳/۸۷	High	Non-Mutagenic
Valtrate	۱۰۰/۶۶	-۲/۸۴	High	Non-Mutagenic
Isookanin	۱۰۷/۲۲	-۲/۹۸	High	Non-Mutagenic

استفاده شد.

خصوصیات فیزیکوشیمیایی ترکیبات: داشتن ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مناسب همراه با نداشتن موتاژن (سرطان‌زایی) ترکیبات، ازجمله فاکتورهای پراهمیت در انتخاب یک مولکول به‌عنوان نامزد دارویی است. در این پژوهش نیز ویژگی‌هایی مانند مقدار قطبیدگی ترکیبات (TPSA)، میزان حلال بودن ترکیبات در آب (LogS) و میزان جذب گوارشی ترکیبات (GI absorption) ترکیبات با استفاده از سرور SwissADME به نشانی (http://www.swissadme.ch) (۲۵) و هم‌چنین موتاژن بودن یا نبودن ترکیبات نیز توسط Lazar toxicity predictions

نتایج

بررسی ترکیبات موجود در گل خاکشیر ازلحاظ ویژگی‌های داروهمانندی و فیزیکوشیمیایی: ویژگی‌های داروهمانندی ترکیبات طبق قانون لیپینسکی در نظر گرفته شد (۲۷). به‌طورمعمول در جدول ۱ مشاهده می‌شود که جذب و نفوذپذیری خوب برای داروهای خوراکی در بدن زمانی اتفاق می‌افتد که وزن مولکولی کم‌تر از ۵۰۰ دالتون، Log*P* کم‌تر از ۵، دهندگان و پذیرندگان پیوند هیدروژنی به ترتیب کم‌تر از ۵ و ۱۰ باشند و این در حالی است که همه‌ی ترکیبات از قانون پیروی می‌کنند.

با توجه به جدول ۲ مشاهده می‌شود که همه ترکیبات به‌جز Desulphosinigrin و Pterin-6-carboxylic acid جذب بالایی دارند و هم‌چنین معلوم شده که Desulphosinigrin به خاطر آنزیم آلفاگلوکوزیداز نشان داد که پیوندهای هیدروفوبی و استاتیک، برهم‌کنش غالب بین ترکیبات فلاوونی و آنزیم می‌باشند (جدول ۴).

جدول ۲- امتیازدهی داکینگ ترکیبات موجود در گل خاکشیر با آنزیم‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز

Compounds	Alpha glucosidase		Alpha amylase	
	MolDock Score	Rerank Score	MolDock Score	Rerank Score
Desulphosinigrin	-۸۵/۹۶	-۷۱/۲۶	-۳۸/۵۴	-۳۲/۱۸
5-Bromoadamantan-2-one	-۴۵/۴۷	-۳۴/۶۲	-۱۸/۹۹	-۱۶/۵۶
Cinnamaldehyde	-۷۱/۱۳	-۶۱/۲۶	-۵۶/۹۸	-۴۸/۰۴
3-Phenyl-2-propyn-1-ol	-۷۳/۶۸	-۶۰/۳۷	-۵۲/۸۵	-۴۴/۴۵
Isoeugenol	-۷۲/۴۲	-۶۳/۰۵	-۵۸/۲۹	-۴۸/۰۶
Eugenol	-۶۹/۹۸	-۶۰/۸۱	-۵۷/۵۱	-۴۹/۹۱
Pterin-6-carboxylic acid	-۷۲/۷۸	-۶۸/۳۴	-۷۰/۵۸	-۶۰/۸۴
Palatinol	-۱۲۲/۱۹	-۸۵/۱۸	-۲/۴۲	-۱/۸۷
Valtrate	-۱۵۲/۰۸	-۱۱۵/۴۲	-۸۳/۱۱	-۸۱/۴۵
Isookanin	-۹۰/۷۲	-۸۱/۹۹	-۶۳/۶۹	-۳۶/۹۳
Acarbose (Control)	۱۰۶/۸۱	-۹۶/۳۱	-۷۹/۲۳	-۷۸/۲۱

داشتن تعداد پذیرندگان و دهندگان پیوند هیدروژنی درمجموع، بیش‌ترین قطبیدگی را در آب دارد. در مورد موتاژن بودن هر یک از ترکیبات، با توجه به پایگاه Lazar toxicity predictions مشخص شد که هیچ‌یک از ترکیبات خاصیت موتاژن بودن ندارند.

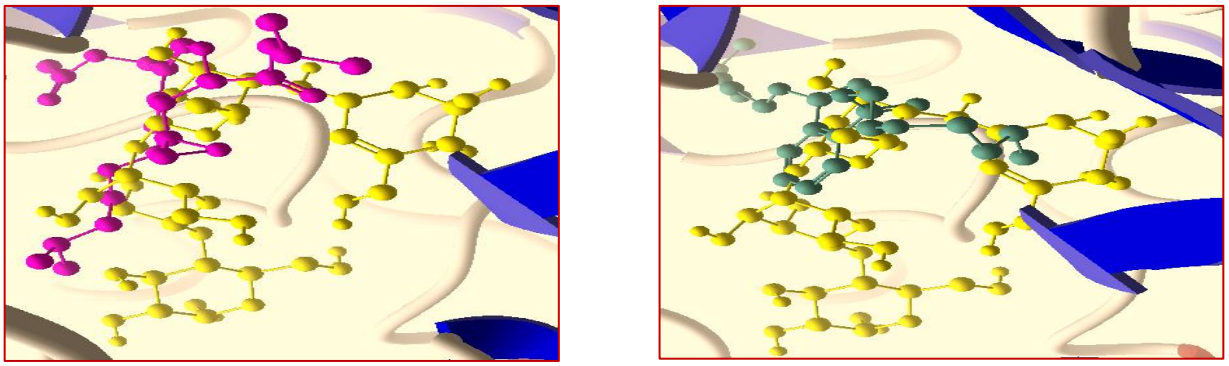
نتایج حاصل از داکینگ مولکولی: نتایج به‌دست‌آمده از داکینگ مولکولی میان آنزیم‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز با هرکدام از ترکیبات در جدول ۳ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود اکثر ترکیبات فلاوونی، اتصال مناسبی با آنزیم مذکور دارند. هم‌چنین اتصالات موردبررسی بین ترکیبات فلاوونی و

بحث

نتایج مشخص کرد که تمام ترکیبات موجود در گل خاکشیر توان مهار آنزیم‌های آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز را دارند و میزان مهار این ترکیبات برای آنزیم آلفاگلوکوزیداز از ۴۵/۴۷- تا ۱۵۲/۰۸- کیلوژول بر مول و برای آنزیم آلفاآمیلاز از ۲/۴۲- تا ۸۳/۱۱- کیلوژول بر مول متغیر است. به میزانی که انرژی اتصال منفی‌تر باشد، اتصال محکم‌تری میان آنزیم و مهارکننده (ترکیب) در جایگاه فعال آنزیم رخ می‌دهد. هر چه اینتراکشن ترکیبات با

جدول ۳- آمینواسیدهای درگیر در میانکنش میان آنزیم‌ها و ترکیبات موجود در گل خاکشیر

Compounds	Alpha glucosidase	Alpha amylase
	Hydrophobic and hydrogen interactions	Hydrophobic and hydrogen interactions
Desulphosinigrin	Phe280-Asp190-Arg197-Glu256-Asp326-His325-Trp49-Asn324-Gln13	Ser289-Gly324-Pro332-Arg398-Asp402-Arg252-Thr6-Pro4-Phe335
5-Bromoadamantan-2-one	Gln167-Ala200	Phe335-Thr11-Gly334-Arg398
Cinnamaldehyde	Tyr63-Phe321-Asn324	Arg421-Arg398-Phe335
3-Phenyl-2-propyn-1-ol	Trp49-Asn324-Glu323-Gln13	Asp402-Arg10-Thr6
Isoeugenol	Asn324	Arg398-Asp402-Gly334-Arg252
Eugenol	Tyr63-Asp199-Asp98-Asn324	Arg398-Thr11-Arg252
Pterin-6-carboxylic acid	Tyr63-Asp199-Asp98-Trp46-Asn324	Thr6-Arg10-Phe335-Arg252
Palatinol	Glu356-Tyr63-Phe282-Asn324-Arg197	Thr254-Asn298-Phe295-Glu233-Asp300-Phe256
Valtrate	Asp326-Phe282-Trp49-Asn324-Arg197-Asp199	Glu233-Asp300-Ile235-Asn298-Ala307-Phe256-Arg195-Arg337-His299-Asp297-Arg337-Gln41-Thr254
Isookanin	His325-Asp326-Tyr63-Asn324-Arg197-Phe282-Trp49	Thr6-Pro4-Arg252-Pro332-Gly334-Arg398-Asp402
Acarbose (Control)	His203-Ala200-Arg197-Glu256-Asp199-Asn258-Asn324-Asp326-His325-Tyr63	Asp300-Glu233-Arg195-Tyr231-Thr254-Ile230-Gln232-Arg291-His299-Arg195-Arg337-Gln41-Thr254

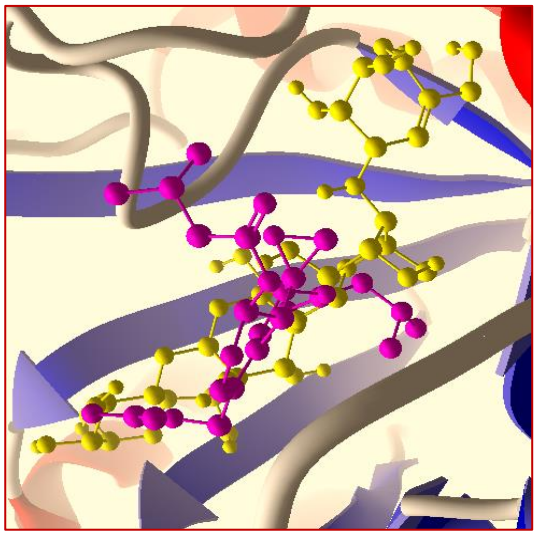


(الف) (ب)

شکل ۲- میزان هم‌پوشانی آکاربوز (رنگ زرد) و الف) ترکیب Valtrate، ب) ترکیب Palatinol، در جایگاه فعال آنزیم آلفاگلوکوزیداز

آمینواسیدهای جایگاه فعال آنزیم بیش‌تر باشد میزان انرژی اتصال کم‌تر می‌شود. در این میان اینتراکشن‌های هیدروژنی بیش‌تر مؤثر هستند و هرچه تعداد این اینتراکشن‌ها بیش‌تر باشد مهارکننده بااتصال محکم‌تری به آنزیم اتصال می‌یابد (۲۸). از میان ترکیبات موجود در گل خاکشیر، ترکیب Valtrate و Palatinol نسبت به آکاربوز (کنترل استاندارد)، به ترتیب باانرژی اتصال ۱۵۲/۰۸- و ۱۲۲/۱۹- کیلوژول بر مول دارای کم‌ترین انرژی اتصال و بیش‌ترین اثر مهاری روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز می‌باشند و میزان هم‌پوشانی هرکدام از این ترکیبات با آکاربوز نشان داد که نقاط اتصال مشترکی میان این ترکیبات با آکاربوز در جایگاه فعال آنزیم آلفاگلوکوزیداز دیده می‌شود (شکل ۲). هم‌چنین ترکیب Valtrate نیز باانرژی اتصال ۸۳/۱۱- کیلوژول بر مول، منفی‌ترین

انرژی اتصال و بیش‌ترین تأثیر مهاری را بر آنزیم آلفاآمیلاز دارد. این انرژی اتصال پایین به نوع پیوندهای هیدروژنی و هیدروفوبی بستگی دارد به‌گونه‌ای که هر چه نسبت تعداد پیوندهای هیدروژنی میان ترکیب و آنزیم آلفاآمیلاز بیش‌تر باشد، اتصال قوی‌تری میان ترکیب و رسپتور (آنزیم) موردنظر برقرار می‌شود. چون ترکیب Valtrate نسبت به سایر ترکیبات دیگر تعداد پیوندهای هیدروژنی بیش‌تر با آنزیم مذکور داشته است و هم‌چنین بیش‌تر با آمینواسیدهای جایگاه فعال آنزیم اینتراکشن داشته است بنابراین انرژی اتصال آن منفی‌تر بوده است. هم‌پوشانی این ترکیب با آنزیم آلفاآمیلاز نشان داد که این ترکیب نیز به قسمت‌هایی از جایگاه فعال که آکاربوز نیز به آن تمایل دارد، متصل می‌شود. آمینواسیدهای مشترک در این هم‌پوشانی شامل Asp300، Glu233، Arg337، Gln41، Thr54، Arg195، His299 می‌باشند که ۷ آمینواسید معادل با ۵۳/۸۵ درصد اشتراک و هم‌پوشانی را شامل می‌شوند. (شکل ۳).



شکل ۳- میزان هم‌پوشانی آکاربوز (رنگ زرد) و ترکیب Valtrate، در جایگاه فعال آنزیم آلفاآمیلاز

در مطالعات قبلی مشخص‌شده بود که جایگاه فعال آنزیم آلفاگلوکوزیداز دارای آمینواسیدهای Asp326، Phe282، Arg197، ASn258، (۴) و جایگاه فعال آنزیم آلفاآمیلاز دارای آمینواسیدهای Asp300، Glu233، Lys200، Trp59، His305، Thr163 می‌باشند (۲۹).

مطالعات متعددی از تأثیر انواع ترکیبات طبیعی در سه محیط *In silico*، *In vitro* و *In vivo* بر آنزیم‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز نشان داده‌شده است. اکثر ترکیبات استخراج‌شده از گل خاکشیر مانند Valtrate, Palatinol, Pterin-6-carboxylic acid و Desulphosinigrin ترکیباتی هستند که گزارش‌هایی در مورد اثر مهاری آن‌ها در دسترس نیست و میزان مهاری آن‌ها بر دو آنزیم بررسی نشده است. هرچند گزارش‌هایی در مورد سایر ترکیبات وجود دارد. Ahmed و همکاران در ۲۰۱۴، نشان دادند که از میان برخی از فلاونوئیدهای گیاه *Albizzia lebbeck* و داکینگ آن‌ها با آنزیم آلفاگلوکوزیداز، ترکیب ایزوکانین باانرژی اتصال ۲/۴۲- کیلوکالری بر مول بیش‌ترین اثر مهاری را بر آنزیم آلفاگلوکوزیداز داشت (۳۰). در این تحقیق صورت گرفته نیز ایزوکانین با ۹۰/۷۲- کیلوژول بر مول بعد از دو ترکیب Palatinol و Valtrate بالاترین اثر مهاری را بر آنزیم آلفاگلوکوزیداز داشت. در مطالعه دیگری، Yang و همکاران در ۲۰۱۲ با استخراج ترکیبات فنولیک از گیاه *Bidens bipinnata* و اثر مهاری این ترکیبات بر آنزیم آلفا آمیلاز نشان دادند که از میان ترکیبات فنولیک، ترکیب ایزوکانین بالاترین میزان اثر مهاری را دارا بود (۳۱). در این تحقیق نیز ترکیب ایزوکانین باانرژی اتصال ۷۹/۲۳- بعد از ترکیب Valtrate بیش‌ترین میل ترکیبی را به آنزیم دارد. Jong و همکاران در ۲۰۱۵، با غربالگری مهارکننده‌های طبیعی آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز و داکینگ آن‌ها در محیط *In silico* نشان دادند که ترکیبات مؤثر بیش‌تر با آمینواسیدهای Asp326, Arg197 و Phe282 در جایگاه فعال آنزیم آلفاگلوکوزیداز و با آمینواسیدهای Glu233 و Asp300 در جایگاه فعال آنزیم آلفاآمیلاز اینتراکشن می‌دهند (۴) که در مورد این پژوهش، ترکیبات با اثر مهاری بالا (Valtrate و Palatinol) نیز با این آمینواسیدها در جایگاه فعال دو آنزیم درگیرند. Ajani و همکاران در ۲۰۱۴ پژوهشی بر میزان اثر مهاری اندام‌های هوایی گیاه *Persea Americana* انجام دادند و نشان دادند که برگ گیاه به خاطر داشتن دو ترکیب ائوژینول و ایزوائوژینول اثر مهاری بیش‌تری نسبت به سایر اندام‌ها داشتند (۳۲). در این تحقیق نیز می‌توان بخشی از مهار هر دو آنزیم آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز را به دو ترکیب مذکور در گل خاکشیر نسبت داد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق بیان می‌دارد که اکثر ترکیبات موجود در گل خاکشیر دارای ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مطلوب مانند میزان بالای جذب گوارشی، حلالیت در آب و فاقد موتاژن می‌باشند. ترکیباتی مانند Valtrate و Palatinol امتیاز داکینگ بیش‌تری

نسبت به سایر ترکیبات از خود نشان دادند و لذا میزان مهاری آن‌ها نسبت به آکاربوز بالاتر بود. لذا انتظار می‌رود بامطالعه و تحقیق بیش‌تر این ترکیبات در محیط‌های *In vivo* و *In vitro*، بتوان از آن‌ها برای مهار هر دو آنزیم و درنتیجه جلوگیری از پیشرفت بیماری دیابت جلوگیری کرد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق ادامه بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد (شماره رکورد ۱۲۰۶۰۳، شماره مدرک ۳۱۶۳ پ، شماره راهنما 1396 SDII3185) نویسنده مسئول است. نویسنده مقاله از همکاران و دوستانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، نهایت تشکر را دارد.

تعارض منافع

طبق نظر نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. Andrade-Cetto A, Becerra-Jiménez J, Cárdenas-Vázquez R. Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes. Journal of ethnopharmacology. 2008;116(1):27-32.
2. Gollapalli M, Taha M, Javid MT, Almandil NB, Rahim F, Wadood A, et al. Synthesis of benzothiazole derivatives as a potent α-glucosidase inhibitor. Bioorganic chemistry. 2019;85:33-48.
3. Andrade-Cetto A, Becerra-Jiménez J, Martínez-Zurita E, Ortega-Larrocea P, Heinrich M. Disease-Consensus Index as a tool of selecting potential hypoglycemic plants in Chikindzonot, Yucatán, México. Journal of Ethnopharmacology. 2006;107(2):199-204.
4. Jhong CH, Riyaphan J, Lin SH, Chia YC, Weng CF. Screening alpha-glucosidase and alpha-amylase inhibitors from natural compounds by molecular docking in silico. Biofactors. 2015;41(4):242-51.
5. Shenolikar RA, Balkrishnan R, Camacho FT, Whitmire JT, Anderson RT. Comparison of medication adherence and associated health care costs after introduction of pioglitazone treatment in African Americans versus all other races in patients with type 2 diabetes mellitus: a retrospective data analysis. Clinical therapeutics. 2006;28(8):1199-207.
6. Ali H, Houghton P, Soumyanath A. α-Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to Phyllanthus amarus. Journal of ethnopharmacology. 2006;107(3):449-55.
7. Lee YA, Cho EJ, Tanaka T, Yokozawa T. Inhibitory activities of proanthocyanidins from persimmon against oxidative stress and digestive enzymes related to diabetes. Journal of Nutritional Science and Vitaminology. 2007;53(3):287-92.
8. Zhu X, Tian Y, Xu W, Guang C, Zhang W, Zhang T, et al. Bioconversion of sucrose to maltooligosaccharides by the synergistic action of amylosucrase and α-amylase. Process Biochemistry. 2018;74:71-6.
9. Wang C, Li W, Chen Z, Gao X, Yuan G, Pan Y, et al. Effects of simulated gastrointestinal digestion in vitro on the chemical properties, antioxidant activity, α-amylase and α-glucosidase inhibitory activity of polysaccharides from Inonotus obliquus. Food Research International. 2018;103:280-8.
10. Mourya P. In-vitro studies on inhibition of alpha amylase and alpha glucosidase by plant extracts of alternanthera Pungens kunth. Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2018;8(6-A):64-8.
11. Ashafa AOT, Balogun FO, Adegbegi AJ. Inhibitory potentials and kinetics of the inhibition of carbohydrate-hydrolysing enzymes by the pod and seed extracts of Lessertia montana (Fabaceae) E. Phillips & RA Dyer. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2019;9(01):042-50.
12. Nair SS, Kavrekar V, Mishra A. In vitro studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. European Journal of Experimental Biology. 2013;3(1):128-32.

13. McDougall GJ, Shpiro F, Dobson P, Smith P, Blake A, Stewart D. Different polyphenolic components of soft fruits inhibit α-amylase and α-glucosidase. Journal of agricultural and food chemistry. 2005;53(7):2760-6.
14. Bachhawat J, Shihabudeen M, Thirumurugan K. Screening of fifteen Indian ayurvedic plants for alpha-glucosidase inhibitory activity and enzyme kinetics. Int J Pharm Pharm Sci. 2011;3(4):267-74.
15. Franco OL, Rigden DJ, Melo FR, Grossi-de-Sá MF. Plant α-amylase inhibitors and their interaction with insect α-amylases: Structure, function and potential for crop protection. European journal of biochemistry. 2002;269(2):397-412.
16. Kumar S, Narwal S, Kumar V, Prakash O. α-glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. Pharmacognosy reviews. 2011;5(9):19.
17. Mohamed NH, Mahrous AE. Chemical constituents of Descurainia sophia L. and its biological activity. Records of natural products. 2009;3(1): 250-7.
18. Rahman MJ, de Camargo AC, Shahidi F. Phenolic profiles and antioxidant activity of defatted camelina and sophia seeds. Food chemistry. 2018;240:917-25.
19. Delogu G, Picciau C, Ferino G, Quezada E, Podda G, Uriarte E, et al. Synthesis, human monoamine oxidase inhibitory activity and molecular docking studies of 3-heteroarylcoumarin derivatives. European journal of medicinal chemistry. 2011;46(4):1147-52.
20. Lee YJ, Kim NS, Kim H, Yi J-M, Oh S-M, Bang O-S, et al. Cytotoxic and anti-inflammatory constituents from the seeds of Descurainia sophia. Archives of pharmacal research. 2013;36(5):536-41.
21. Monika JK, Singh K. Virtual screening using the ligand ZINC database for novel lipoxygenase-3 inhibitors. Bioinformation. 2013;9(11):583.
22. De Azevedo J, Walter F. MolDock applied to structure-based virtual screening. Current drug targets. 2010;11(3):327-34.
23. Thomsen R, Christensen MH. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. Journal of medicinal chemistry. 2006;49(11):3315-21.
24. Walters WP. Going further than Lipinski's rule in drug design. Expert Opinion on Drug Discovery. 2012;7(2):99-107.
25. Paul A, Adnan M, Majumder M, Kar N, Meem M, Rahman MS, et al. Anthelmintic activity of Piper sylvaticum Roxb. (family: Piperaceae): In vitro and in silico studies. Clinical Phytoscience. 2018;4(1):17.
26. Parasuraman S, Balamurugan S, Christapher PV, Petchi RR, Yeng WY, Sujithra J, et al. Evaluation of antidiabetic and antihyperlipidemic effects of hydroalcoholic extract of leaves of Ocimum tenuiflorum (Lamiaceae) and prediction of biological activity of its phytoconstituents. Pharmacognosy research. 2015;7(2):156.
27. Tice CM. Selecting the right compounds for screening: does Lipinski's Rule of 5 for pharmaceuticals apply to agrochemicals? Pest Management Science: formerly Pesticide Science. 2001;57(1):3-16.
28. Matsui T, Ueda T, Oki T, Sugita K, Terahara N, Matsumoto K. α-Glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins. 1. Survey of natural pigments with potent inhibitory activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001;49(4):1948-51.
29. Qian M, Nahoum V, Bonicel J, Bischoff H, Henrissat B, Payan F. Enzyme-catalyzed condensation reaction in a mammalian α-amylase. High-resolution structural analysis of an enzyme–inhibitor complex. Biochemistry. 2001;40(25):7700-9.
30. Ahmed D, Kumar V, Sharma M, Verma A. Target guided isolation, in-vitro antidiabetic, antioxidant activity and molecular docking studies of some flavonoids from Albizzia Lebbeck Benth. bark. BMC complementary and alternative medicine. 2014;14(1):155.
31.Yang X-W, Huang M-Z, Jin Y-S, Sun L-N, Song Y, Chen H-S. Phenolics from Bidens bipinnata and their amylase inhibitory properties. Fitoterapia. 2012;83(7):1169-75.
32. Ajani A, Olanrewaju BO. Avocado pear fruits and leaves aqueous extracts inhibit α-amylase, α-glucosidase and snp induced lipid peroxidation–an insight into mechanisms involve in management of type 2 diabetes. Int J Appl Nat Sci. 2014;3:21-34.

Original Article

Screening of Alpha-Glucosidase and Alpha-Amylase Inhibitors in the Descurainia Sophia Flower by Molecular Docking to Prevention the Progression of Diabetes

Sadeghi M

Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Received: 21 Apr 2020 Accepted: 16 Jul 2020

Abstract

Background & Objective: Alpha-amylase and alpha-glucosidase enzymes raise blood glucose levels by breaking down complex polysaccharide units into absorbable monosaccharide units. The aim of this study was to investigate the inhibitory effect of compounds extracted from Descurainia sophia flowers on the activity of alpha-amylase and alpha-glucosidase enzymes in silico.

Material & Methods: This study was performed using descriptive-analytical method. For this purpose, first the compounds extracted from Descurainia sophia flower in the previous study were taken from PubChem databases and then the files related to alpha-amylase and alpha-glucosidase enzymes were obtained from PDB database. The Lipinsky rules and physicochemical properties of the compounds were then predicted by the Zink database and the Swiss ADME server, respectively. Finally, Molegro Virtual Docker 6.0 and Molegro Molecular Viewer 2.5 were used to perform molecular docking tasks.

Results: The results showed that most of the compounds present in *D.sophia* flower had favorable physicochemical properties, and these compounds inhibited α-amylase and α-glucosidase enzymes. But among these compounds, the Valtrate composition with -83.45 kJ/mol had the most inhibitory effect on the α-amylase enzyme. Similarly, Palatinol and Valtrate compounds had the highest inhibitory effect on the α-glucosidase enzyme with -122.19 and -152.88 kJ/ mol, respectively.

Conclusion: From the results of this descriptive-analytic study, it can be concluded that the combination of Valtrate due to the appropriate filled in activat site of α-glucosidase and α-amylase enzymes was more effective than the other compounds in *D.sophia* flower.

Keywords: Alpha- amylase, Alpha-Glucosidase, *Descurainia Sophia* flower, Molecular Docking

***Corresponding Author: Sadeghi Morteza,** Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
Email: mo.sadeghi@sci.ui.ac.ir
https://orcid.org/0000-0002-5027-4777

Journal of Fasa University of Medical Sciences 10 (2020): 2535-2544