

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 پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۴/۲۶

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۲/۰۲

چکیده

زمینه و هدف: آنزیم‌های آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز با شکستن واحدهای پلی‌ساکاریدی پیچیده به واحدهای مونوساکاریدی قابل جذب، 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 $83/45$ - کیلوژول بر مول بیش‌ترین اثر مهار را بر آنزیم آلفاآمیلاز داشت. همچنین ترکیبات Palatinol و Valtrate به ترتیب با $122/19$ - و $152/08$ - کیلوژول بر مول بالاترین میزان مهار 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 اندوکراین است. طبق بررسی سازمان جهانی سلامت^۱ پیش‌بینی شده 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)

^۱ World Health Organization (WHO)

*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>



مناسب میان گیرنده و رسیپتور بررسی می‌شود و با امتیازدهی به این برهم‌کنش، ترکیب اثر مهاری قوی انتخاب می‌شود (۱۹). در مطالعه‌ای که قبلاً صورت گرفته، مشخص شده 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 Isoeugenol, Cinnamaldehyde, Desulphosinigrin 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 آلفاگلوکوزیداز و آلفاگلوکوزیداز داشته‌اند. لذا این مطالعه به بررسی داکینگ مولکولی ترکیبات مشخص شده و سهم هر یک از این ترکیبات بر مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز در محیط *In silico* می‌پردازد.

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 شناسایی شده بودند، مورد بررسی 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 آلفاگلوکوزیداز 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 6.0 (MVD) و Molegro Virtual Docker (MVD) 6.0 از 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 هر کدام 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

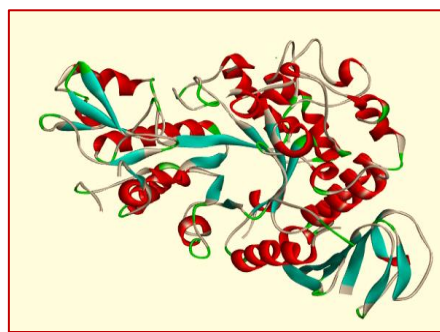
بزرگ به مالتوزند (۸). آنزیم آلفاگلوکوزیداز نیز در پرزهای روده کوچک قرار گرفته است و در شکستن کربوهیدرات‌ها (محصولات آلفاگلوکوزیداز) به مونوساکاریدهای قابل جذب نقش دارند (۹). یکی از راه‌های درمانی کاهش هایپرگلیسمی پس از صرف غذا، ممانعت از هضم و جذب کربوهیدرات‌های غذایی توسط مهار آنزیم‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاگلوکوزیداز است (۱۰). در درمان‌های بالینی، بسیاری از داروها مانند سولفونیل اوره‌آز، بی‌گوانیدها، تیاژولیدین - دیونزها و مهارکننده‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاگلوکوزیداز برای کنترل هایپرگلیسمی استفاده می‌شوند (۱۱). مهارکننده‌های آلفاگلوکوزیداز 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. در نتیجه مهارکننده‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاگلوکوزیداز از داروهای مهمی هستند که آسیمیلیسیون کربوهیدرات‌ها را مهار می‌کنند و در درمان دیابت استفاده می‌شوند (۱۳).

در چند سال اخیر، طراحی دارو برای کاهش سطح گلوکز خون و حفظ همئوستاز 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 آلفاگلوکوزیداز و آلفاگلوکوزیداز و در نتیجه کنترل دیابت استفاده شده‌اند (۱۴). استفاده طولانی‌مدت از داروهای شیمیایی مانند آکاربوز، میگلیتول و ووگلیبوز که به‌عنوان مهارکننده‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاگلوکوزیداز استفاده می‌شوند، باعث اثرات جانبی متعددی (حالت تهوع و شکم‌درد) می‌شوند، لذا بیش‌تر محققان به سمت داروهای گرایش پیدا می‌کنند که از منابع طبیعی به دست بیایند و عوارض جانبی کم‌تری داشته باشند (۱۵، ۱۶). گیاه خاکشیر بانام علمی *Descurainia sophia* از جمله گیاهان دارویی و متعلق به خانواده چلیپائیان (شبو) است. تا به حال خواص دارویی متعددی مانند کم کردن تب، برطرف کردن بی-اشتهایی، ضد کرم و حل مشکل سوءهاضمه از گیاه خاکشیر گزارش شده است و هم‌چنین به خاطر توان آنتی‌اکسیدانی بالای آن که 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



(ب)



(الف)

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

جدول ۱- پارامترهای داروهماندنی (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

قدرت تعامل (اینترآکشن) را فراهم می‌کند اما پارامترهایی مانند کالبراسیون واحدهای شیمیایی و توزیع‌های پیچیده (مانند آنتروپی) را در اینترآکشن بررسی نمی‌کند. لذا لازم است از پارامتر امتیازدهی MolDock که تمام فاکتورها را در اینترآکشن دخیل می‌کند، استفاده شود (۲۲، ۲۳).

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

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

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. بیش‌ترین 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



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

جدول ۲- پیش‌بینی ترکیبات از لحاظ خواص فیزیکوشیمیایی و پتانسیل موتاژنیک

Compounds	TPSA	Log S	GI absorption	mutagenicity
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.

نتایج

بررسی ترکیبات موجود در گل خاکشیر از لحاظ ویژگی‌های داروهمانندی و فیزیکوشیمیایی: ویژگی‌های داروهمانندی ترکیبات طبق قانون لیپینسکی در نظر گرفته شد (۲۷). به‌طور معمول 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، $\text{Log}P$ کم‌تر از ۵، دهنندگان و پذیرندگان پیوند هیدروژنی به ترتیب کم‌تر از ۵ و ۱۰ باشند و این در حالی است که همه‌ی ترکیبات از قانون پیروی می‌کنند.

خصوصیات فیزیکوشیمیایی ترکیبات: داشتن ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مناسب همراه با نداشتن موتاژن (سرطان‌زایی) ترکیبات، از جمله 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 ($\text{Log}S$) 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

آنزیم آلفاگلوکوزیداز نشان داد که پیوندهای هیدروفوبی و استاتیک، برهم‌کنش غالب بین ترکیبات فلاوونی و آنزیم می‌باشند (جدول ۴).

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

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

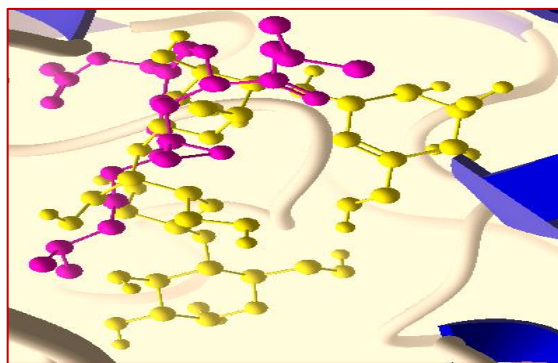
بحث

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

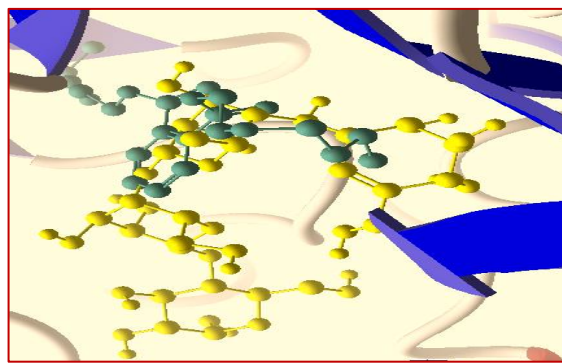
داشتن تعداد پذیرندگان و دهندگان پیوند هیدروژنی در مجموع، بیش‌ترین قطبیدگی را در آب دارد. در مورد موتاژن بودن هر یک از ترکیبات، با توجه به پایگاه Lazar toxicity predictions مشخص شد که هیچ‌یک از ترکیبات خاصیت موتاژن بودن ندارند. نتایج حاصل از داکینگ مولکولی: نتایج به‌دست‌آمده از داکینگ مولکولی میان آنزیم‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز با هر کدام 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

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

۱۲۲/۱۹- کیلوژول بر مول دارای کم‌ترین انرژی اتصال و بیش-ترین اثر مهارتی روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز می‌باشند و میزان هم-پوشانی هر کدام 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 بانرژی اتصال ۸۳/۱۱- کیلوژول بر مول، منفی‌ترین

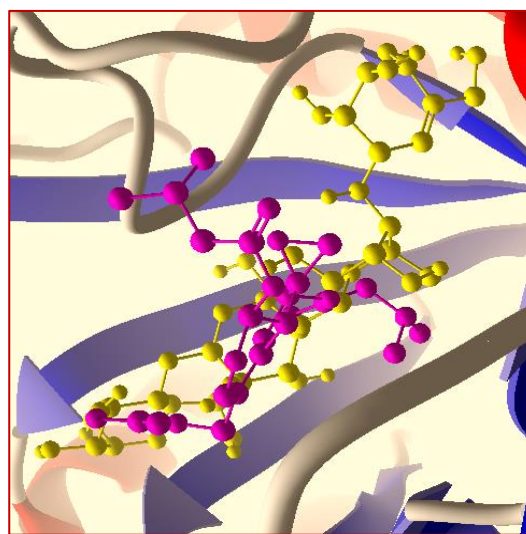
آمینواسیدهای جایگاه فعال آنزیم بیش‌تر باشد میزان انرژی اتصال کم‌تر می‌شود. در این میان اینتراکشن‌های هیدروژنی بیش‌تر مؤثر هستند و هرچه تعداد این اینتراکشن‌ها بیش‌تر باشد مهارکننده بالاتصال محکم‌تری به آنزیم اتصال می‌یابد (۲۸). از میان ترکیبات موجود در گل خاکشیر، ترکیب Valtrate و Palatinol نسبت به آکاربوز (کنترل استاندارد)، به ترتیب بانرژی اتصال ۱۵۲/۰۸- و

خاکشیر مانند Valtrate, Palatinol, Pterin-6-carboxylic acid و Desulphosinigrin ترکیباتی هستند که گزارش‌هایی در مورد اثر مهارتی آن‌ها در دسترس نیست و میزان مهارتی 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 *Albizia lebbek* و داکینگ آن‌ها با آنزیم آلفاگلوکوزیداز، ترکیب ایزوکانین بانرژی اتصال ۲/۴۲- کیلوکالری بر مول بیش‌ترین اثر مهارتی 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 مهارتی را بر آنزیم آلفاگلوکوزیداز داشت. در مطالعه دیگری، Yang و همکاران در ۲۰۱۲ با استخراج ترکیبات فنولیک از گیاه *Bidens bipinnata* و اثر مهارتی این ترکیبات بر آنزیم آلفاآمیلاز نشان دادند که از میان ترکیبات فنولیک، ترکیب ایزوکانین بالاترین میزان اثر مهارتی را دارا بود (۳۱). در این تحقیق نیز ترکیب ایزوکانین بانرژی 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 مهارتی بالا (Palatinol و Valtrate) نیز با این آمینواسیدها در جایگاه فعال دو آنزیم درگیرند. Ajani و همکاران در ۲۰۱۴ پژوهشی بر میزان اثر مهارتی اندام‌های هوایی گیاه *Persea Americana* انجام دادند و نشان دادند که برگ گیاه به خاطر داشتن دو ترکیب ائوژینول و ایزوئاوژینول اثر مهارتی بیش‌تری نسبت به سایر اندام‌ها داشتند (۳۲). در این تحقیق نیز می‌توان بخشی از مهارت 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 موتازن می‌باشند. ترکیباتی مانند Valtrate و Palatinol امتیاز داکینگ بیش‌تری

انرژی اتصال و بیش‌ترین تأثیر مهارتی 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 هم-چنین بیش‌تر با آمینواسیدهای جایگاه فعال آنزیم اینتراکشن داشته است بنابراین انرژی اتصال آن منفی‌تر بوده است. هم-پوشانی این ترکیب با آنزیم آلفاآمیلاز نشان داد که این ترکیب نیز به قسمت‌هایی از جایگاه فعال که آکربوز 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 آکربوز (رنگ زرد) و ترکیب Valtrate، در جایگاه فعال آنزیم آلفاآمیلاز

در مطالعات قبلی مشخص شده بود که جایگاه فعال آنزیم آلفاگلوکوزیداز دارای آمینواسیدهای Phe282, Asp326, 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 vitro* و *In vivo* بر آنزیم‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز نشان داده شده است. اکثر ترکیبات استخراج شده از گل



رکورد ۱۲۰۶۰۳، شماره مدرک ۳۱۶۳ پ، شماره راهنما SDII3185 1396) 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 هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

نسبت به سایر ترکیبات از خود نشان دادند و لذا میزان مهاري آنها نسبت به آكاربوز بالاتر بود. لذا انتظار مي‌رود بامطالعه و تحقيق بيش تر اين تركيبات در محيط‌هاي *In vitro* و *In vivo* بتوان از آنها براي مهار هر دو آنزيم و درنتيجه جلوگیری از پيشرفت بيماري ديابت جلوگیری کرد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق ادامه بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد (شماره

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, Adegbeji 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-heteroaryl coumarin 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 lipooxygenase-3 inhibitors. *Bioinformatics*. 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, Christopher 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 *Albizia 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>