

بررسی بیوانفورماتیکی اثر گیاه آویشن باغی در مهار آنزیم آلفا-گلوکوزیداز به منظور درمان بیماری دیابت

سعیده رهنما^۱، عزیزه اسدزاده^{۱*}، فاطمه حیدریان نائینی^۱

چکیده

مقدمه: مهارکننده‌های α -گلوکوزیداز با مداخله در هضم کربوهیدرات‌ها در کنترل بیماری دیابت نقش دارند. *Thymus vulgaris* یا آویشن باغی گیاهی از خانواده‌ی نعنائیان می‌باشد. اسانس این گیاه دارای فنل‌هایی مثل تیمول، کارواکرول، سیمن، لینا لول، پینن می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر مهارکنندگی مشتقات موجود در عصاره‌ی آویشن باغی بر فعالیت آنزیم α -گلوکوزیداز به روش داکینگ مولکولی می‌باشد.

روش‌ها: در این مطالعه، برای بررسی نحوه‌ی اتصال ترکیبات به جایگاه فعال آنزیم، ترسیم ساختار شیمیایی ترکیبات، بهینه‌سازی انرژی، مطالعات داکینگ و تجزیه و تحلیل‌های نهایی به ترتیب از نرم‌افزارهای *ChemDraw*، *Hyperchem*، *AutoDockTools*، *DS Visualizer* و *Lig plot* استفاده شد.

یافته‌ها: تمامی ترکیبات مورد مطالعه قادر به اشغال جایگاه فعال آنزیم بودند که در میان تمام آنها، بهترین نتایج داکینگ مربوط به ترکیب *Caryophylla-4-(12), 8(13)-dien-5- β -ol* است. در حقیقت این ترکیب دارای منفی‌ترین سطح انرژی اتصال، بالاترین تمایل برای اتصال به آمینواسیدهای کلیدی جایگاه فعال آنزیم و محل برهمکنش مشابه با مولکول کوکریستال است. **نتیجه‌گیری:** با توجه به اثر بخشی نسبتاً بالای ترکیبات عصاره‌ی گیاه در مطالعه‌ی بیوانفورماتیکی، برای بررسی‌های تکمیلی می‌توان اثر این ترکیبات گیاهی را در شرایط *in vitro* و *in vivo* مورد آنالیز قرار داد.

واژگان کلیدی: دیابت، آلفا-گلوکوزیداز، مولکولار داکینگ، مهارکننده، آویشن باغی

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، مؤسسه‌ی آموزش عالی نور دانش، میمه، اصفهان، ایران

***نشان‌ی:** اصفهان، میمه، میدان اصفهان، خیابان دانش، مؤسسه‌ی آموزش عالی نور دانش میمه، دانشکده‌ی علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، کد پستی: ۸۳۵۱۷۶۵۸۵۱، تلفن: ۰۳۱۴۵۴۲۷۶۰۰، پست الکترونیکی: az.asadzadeh@yahoo.com

مقدمه

دیابت یک اختلال متابولیسمی بدن ناشی از علل چندگانه است که با افزایش مزمن قند خون، همراه با اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، پروتئین و چربی نمایان می‌شود که این اختلال ناشی از نقص در ترشح انسولین (دیابت نوع یک) و یا نقص در عملکرد انسولین (دیابت نوع دو) و یا هر دو است. قند خون بالای ناشی از دیابت کنترل نشده منجر به آسیب‌های جدی به بسیاری از سیستم‌های بدن، به‌خصوص اعصاب و عروق خونی می‌شود [۱-۵]. مبتلایان به دیابت نوع یک توانایی تولید انسولین را ندارند و این امر موجب افزایش قند خون می‌گردد. در دیابت نوع دو گیرنده‌های سلولی فرد نسبت به انسولین مقاوم شده‌اند و در واقع مانع از ورود انسولین به داخل سلول‌ها و انجام اعمال طبیعی آن می‌شوند. در هر دو نوع دیابت علائم مشترکی از جمله پراداری یا پلی‌اوری (افزایش حجم ادرار در شبانه روز نسبت به حالت طبیعی) و به‌دنبال آن پرنشوی به‌وجود می‌آید و نهایتاً پرخوری نیز مشاهده می‌شود که در دیابت نوع یک علی‌رغم پرخوری، فرد لاغر است [۶-۸]. آنزیم α -گلوکوزیداز با نام دیگر مالتاز، یک نوع آنزیم گوارشی است که به‌طور گسترده در میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و بافت‌های حیوانی توزیع شده است [۹-۲]. α -گلوکوزیداز آنزیم گروهی گشایی موجود در اپتیلوم روده‌ی کوچک است و آزادسازی α -گلوکوز را از انتهای غیرآزاد سوبسترا کاتالیز می‌کند، بنابراین به‌عنوان یکی از آنزیم‌های مهم گوارشی عمل کرده و به جذب روده کمک می‌کند و باعث تسهیل جذب گلوکز توسط روده‌ی کوچک می‌شود [۱۰، ۲]. آویشن باغی گیاهی است از خانواده‌ی نعناعیان و جنس تیموس، دارای گونه‌های مختلفی است که ۱۴ گونه‌ی آن بومی ایران هستند. اسانس آویشن که به اسانس تیم (Thyme) معروف است دارای ۳۸ ترکیب مختلف بوده که مهم‌ترین آنها فنل‌هایی مثل تیمول و کارواکرول (۴۰ درصد) هستند. از ترکیبات دیگر اسانس می‌توان به سیمن، لینالول و لیمونن، ترپین و پینن اشاره کرد [۱۱]. در سایر مطالعات انجام گرفته، مهار آنزیم α -گلوکوزیداز به‌وسیله‌ی مهارکننده‌های شیمیایی یا سنتزی از طریق عملیات داکینگ مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج داکینگ مهارکننده‌ها در این مطالعات در مقایسه با اثر مهار ترکیبات مهارکننده‌ی مرجع (آکاربوز، مگلیتول) به‌دست آمده است [۱۲]. تفاوت مطالعه‌ی حاضر با دیگر مطالعات، مهار آنزیم α -گلوکوزیداز با ترکیبات طبیعی موجود در

عصاره‌ی گیاه است و نتایج داکینگ ترکیبات این گیاه با ترکیب کوکریستال آنزیم مورد مقایسه قرار گرفته است. با توجه به اهمیت مهار آنزیم α -گلوکوزیداز در درمان بیماری دیابت، در این مطالعه اثر مهار کنندگی، نحوه‌ی اتصال و اثربخشی تمامی مشتقات موجود در عصاره‌ی آویشن باغی به جایگاه فعال آنزیم α -گلوکوزیداز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است.

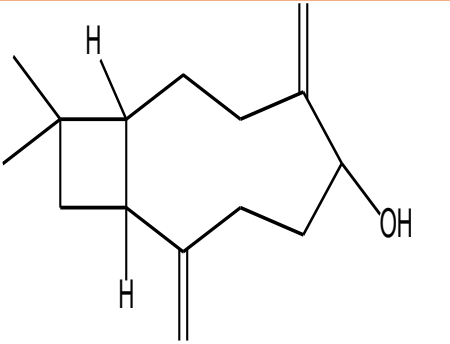
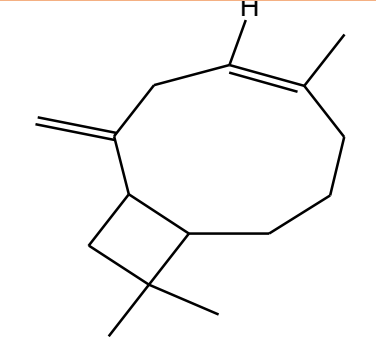
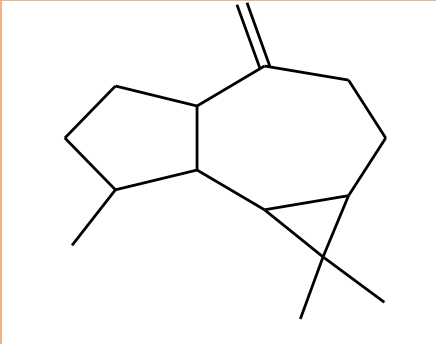
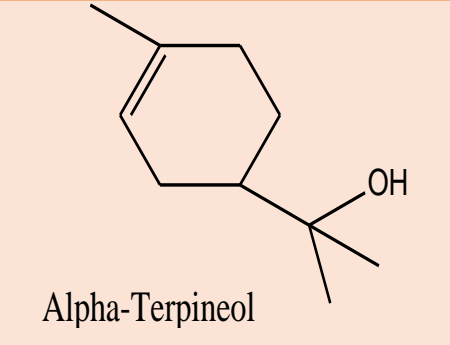
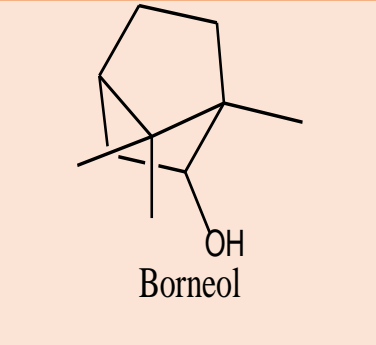
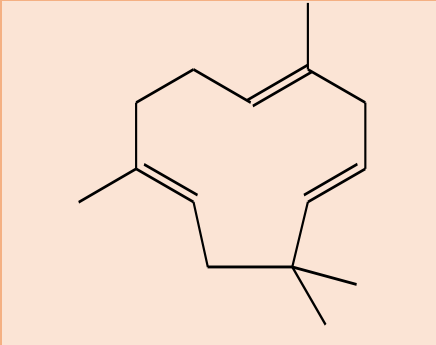
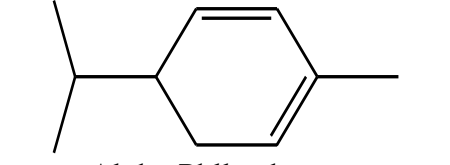
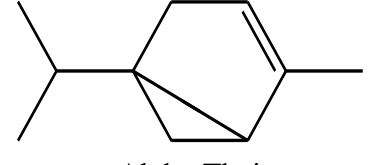
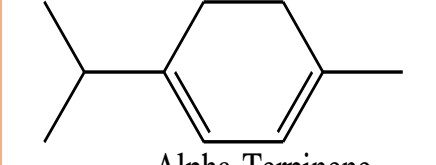
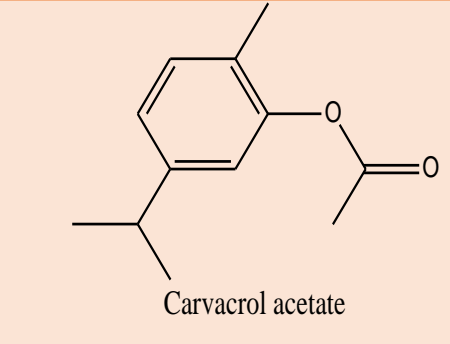
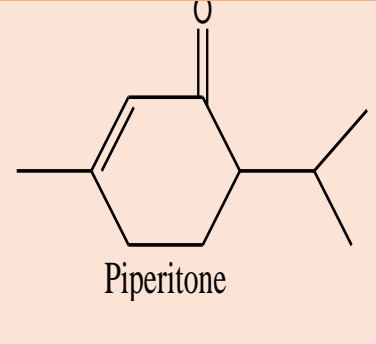
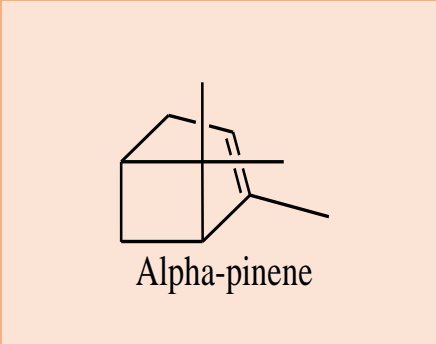
روش‌ها

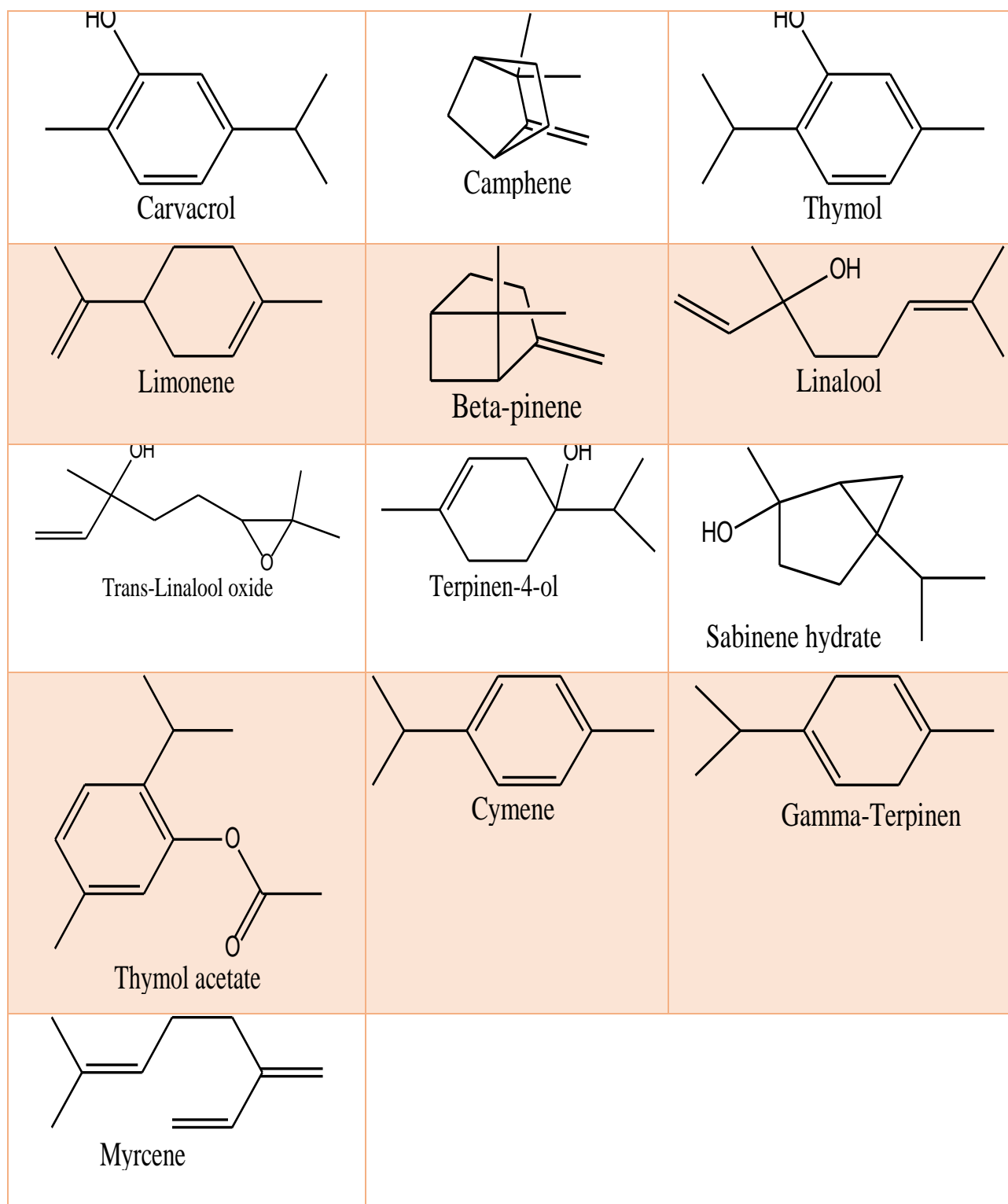
در این تحقیق از نرم افزار اتوداک (AutoDock 4.2) برای انجام داکینگ مولکولی استفاده شد. بدین منظور نرم‌افزار اتوداک در کامپیوتر ۵ هسته‌ای که تحت سیستم عامل لینوکس بود، نصب شد. در این تحقیق ۲۵ ترکیب از مواد تشکیل دهنده‌ی عصاره‌ی آویشن باغی مورد بررسی قرار گرفت. ساختار ترکیبات مورد مطالعه از سایت <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> به‌دست آمد. نام و جزئیات ساختاری ترکیبات مورد مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. ساختار کریستالی مناسب آنزیم α -گلوکوزیداز حاوی بخش کاتالیتیکی مرکزی از سایت <http://www.rcsb.org/pdb> انتخاب و دانلود شد. کد آنزیم در این سایت A4A3 با وضوح ۱/۶ آنگستروم است.

آماده کردن لیگاندها و پروتئین A4A3 برای داکینگ

ساختار دو بعدی لیگاندهای مورد نظر توسط برنامه‌ی ChemDraw Ultra 8.0 ترسیم شدند و سپس با استفاده از نرم‌افزار Hyperchem و توسط الگوریتم Polak-Ribiere از نظر انرژی بهینه شدند، در مرحله‌ی بعد لیگاندهای بهینه شده به‌عنوان ورودی نرم‌افزار اتوداک تولز استفاده شد و سپس با استفاده از Gasteiger-Marsili بار جزئی برای مولکول‌های مهار کننده محاسبه شد، هیدروژن‌های غیر یونیزه ادغام گردید و بعد از مشخص کردن مرکز ثقل مولکول تمامی باندهای قابل چرخش تعیین گردید. با استفاده از نرم‌افزار DS Visualizer 3.5، لیگاندهای کوکریستال، مولکول‌های آب حذف شدند. بعد از حذف قسمت‌های غیر ضروری در عملیات داکینگ، پروتئین به‌عنوان ورودی نرم‌افزار اتوداک تولز استفاده شد. تا بعد از اضافه شدن اتم‌های هیدروژن به پروتئین، بار کلی آن با استفاده از Kollman charge تعیین گردد، سپس هیدروژن‌های غیر یونیزه در اتم کربن مجاور ادغام شدند.

جدول ۱- ساختار کلی ترکیبات مورد مطالعه

 <p>Caryophylla-4-(12),8(13)-dien-5-Beta-ol</p>	 <p>Caryophyllene</p>	 <p>Aromadendrene</p>
 <p>Alpha-Terpineol</p>	 <p>Borneol</p>	 <p>Alpha-Humulene</p>
 <p>Alpha-Phllandrene</p>	 <p>Alpha-Thujene</p>	 <p>Alpha-Terpinene</p>
 <p>Carvacrol acetate</p>	 <p>Piperitone</p>	 <p>Alpha-pinene</p>



نرم‌افزار DS Visualizer 3.5 استفاده شد. به این ترتیب که دورترین دو نقطه در مهار کننده انتخاب و سپس فاصله‌ی آنها محاسبه شد و در نهایت ۴ برابر فاصله به دست آمد. در این مرحله به منظور چرخش آزادانه‌ی مهار کننده در جایگاه فعال بیشترین عدد Point spacing عدد ۰/۳۷۵ (معادل یک چهارم انتخاب می‌شود.

به منظور دستیابی به نحوه‌ی اتصال ترکیبات مورد مطالعه با جایگاه فعال آنزیم از داکینگ مولکولی استفاده شد. برای داکینگ مهار کننده‌ها از اندازه‌ی باکس $40 \times 40 \times 40$ استفاده شد به منظور به دست آوردن اندازه‌ی مناسب باکس برای هر مهارکننده از

مورد داکینگ قرار گرفت. در شکل a-1 نتایج بررسی نرم افزار Discovery studio و در شکل ۱ (b) نرم افزار lig plot نشان داده شده است. همان طور که در شکل ۱ (a) مشخص است گلوکز کوکریستال (قرمز) و گلوکز با داکینگ مجدد (آبی) در جایگاه فعال در یک موقعیت و با جهت گیری یکسان قرار گرفته است و در شکل b-1 این ترکیب با آمینواسیدهای His₃₅₁, glu₂₇₇, Arg₂₁₃, Asp₆₉, Arg₄₄₂, Phe₁₅₉, His₁₁₂, Val₂₁₆, Tyr₇₂, Phe₁₇₈, Asp₃₅₂ در تشکیل پیوند هیدروفوبی و با آمینو اسیدهای His₁₁₂, Arg₄₄₂ و His₃₅₁, Asp₂₁₅, Asp₆₉, Asp₂₁₃, Glu₂₇₇, Asp₃₅₃ در تشکیل پیوند هیدروژنی شرکت می کنند. بعد از اعتبارسنجی پروتکل داکینگ، ساختار سه بعدی ترکیبات مهار کننده به داخل جایگاه فعال آنزیم آلفا-گلوکوزیداز داک شدند. نتایج نشان می دهند که مولکول های فعال در فضایی مشابه با گلوکز قرار می گیرند. داده های مربوط به تغییرات انرژی آزاد، انرژی درون مولکولی، انرژی الکترواستاتیک، انرژی کل درونی، انرژی پیچشی و کلیه ی برهم کنش های لیگاندها شامل پیوندهای هیدروژنی، برهم کنش های هیدروفوبی، انواع برهم کنش های π در جدول ۲ آورده شده است.

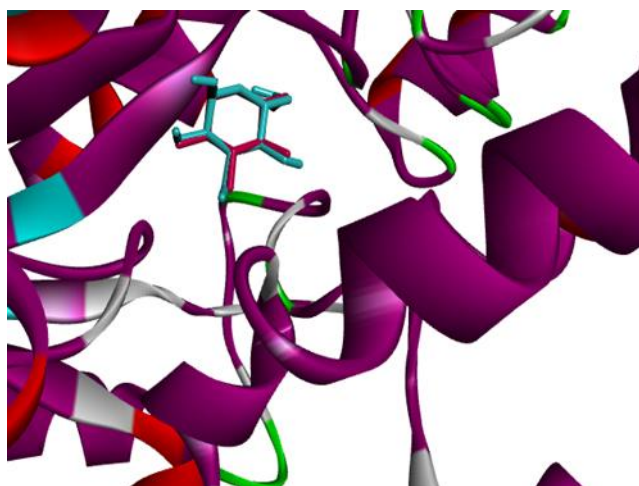
طول پیوند کربن - کربن) انتخاب شد. سپس مرکز مهار کننده کوکریستال موجود در جایگاه فعال به عنوان مرکز گرید باکس تعیین شد. از ژنتیک الگوریتم لامارکین موجود در نرم افزار اتوداک برای انجام داکینگ استفاده شد.

مشاهده و آنالیز نتایج داکینگ

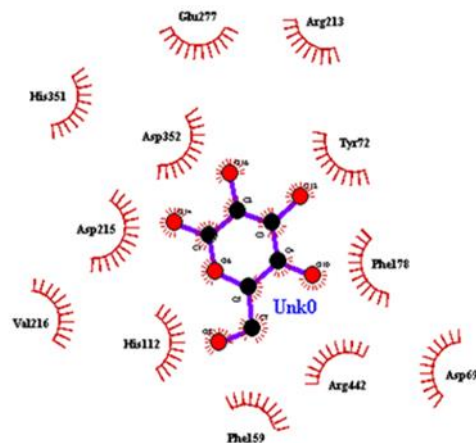
پس از انجام عملیات داکینگ، نتایج شامل کنفورماسیون های ترکیب، خوشه ها، انرژی اتصال لیگاندها (ΔG_{bind})، انرژی درونی مولکول، انرژی الکترواستاتیک، انواع برهم کنش های لیگاند با پروتئین شامل برهم کنش های هیدروژنی، برهم کنش های هیدروفوبی، انواع برهم کنش های π برهم کنش با یون های مس موجود در جایگاه فعال آنزیم پلی فنوا اکسیداز و سایر موارد قابل مشاهده و تجزیه و تحلیل هستند. به منظور دستیابی به اطلاعات مذکور از هر سه نرم افزار DS Visualizer 3.5, Autodock tools و Ligplot استفاده شد.

یافته ها

در ابتدا برای اعتبار سنجی عملیات داکینگ، مولکول کوکریستال گلوکز از جایگاه فعال آنزیم آلفا-گلوکوزیداز برداشته شد و مجدداً



a



b

شکل ۱- (a) داکینگ مجدد لیگاند گلوکز در جایگاه فعال آنزیم آلفا گلوکوزیداز. (b) بررسی اسید آمینه های در گیر در تشکیل پیوند هیدروفوبی با نرم افزار lig plot

جدول ۲- برهم‌کنش‌های موجود بین ترکیبات مورد مطالعه و اسید آمینه‌های جایگاه فعال آنزیم آلفا گلوکوزیداز و انرژی ترکیبات داک شده (واحد انرژی تمامی داده‌ها kcal/mol است).

Compound	Binding energy	Intermol energy	Electro static energy	Total energy	Torsional energy	HBond	Pi Interaction	Hydrophobic Interaction
Caryophylla-4-(12),8(13)-dien-5-β-ol	-3/7	4/0	-0/0	0/0	0/3	Glu ₂₇₇	—	Glu ₂₇₇ ,Gln ₂₇₉ ,Asp ₃₅₂ ,Phe ₃₀₃ ,Gln ₃₅₃ ,Glu ₄₁₁ ,Asp ₃₁₅ ,Tyr ₁₅₈ ,Arg ₄₄₂ ,Phe ₁₇₈ ,Val ₂₁₆
Caryophyllene	-3/7	-3/7	-0/0	0/0	0/0	—	—	Asp ₃₁₅ ,Phe ₁₇₈ ,Tyr ₁₅₈ ,Gln ₂₇₉ ,Phe ₃₀₃ ,Glu ₂₇₇ ,Asp ₃₅₂ ,Arg ₄₄₂ ,Phe ₁₅₉ ,Glu ₄₁₁
Aromadendrene	-3/6	-3/6	0/0	0/0	0/0	—	—	Asp ₄₄₂ ,Val ₂₁₆ ,Phe ₁₇₈ ,Glu ₂₇₇ ,Glu ₄₁₁ ,Tyr ₁₅₈ ,Phe ₁₅₉ ,Arg ₃₁₅ ,Phe ₃₀₃ ,Asp ₃₅₂ ,Gln ₂₇₉
α-Terpineol	-3/5	-3/5	-0/2	0/0	0/0	His ₃₅₁	—	Phe ₁₇₈ ,Tyr ₁₅₈ ,Gln ₂₇₉ ,Asp ₃₅₂ ,Tyr ₇₂ ,Val ₂₁₆ ,Asp ₆₉ ,Arg ₄₄₂ ,Glu ₂₇₇ ,Asp ₂₁₅
Borneol	-3/5	-3/8	-0/2	0/1	0/3	His ₃₅₁ Asp ₃₅₂	—	Phe ₁₇₈ ,His ₁₁₂ ,Asp ₆₉ ,Tyr ₇₂ ,Asp ₃₅₂ ,Arg ₄₄₂ ,Glu ₂₇₇ ,Asp ₂₁₅ ,Val ₂₁₆ ,Phe ₁₅₉
α-Humulene	-3/4	-3/4	0/0	0/0	0/0	—	—	Phe ₁₅₉ ,Tyr ₁₅₈ ,Glu ₄₁₁ ,Phe ₃₀₃ ,His ₂₈₀ ,Gln ₂₇₉ ,Phe ₁₇₈ ,Arg ₃₁₅
α-Phellandrene	-3/4	-3/4	0/0	0/0	0/0	—	—	Phe ₁₇₈ ,Asp ₃₅₂ ,Arg ₄₄₂ ,Asp ₆₉ ,Asp ₂₁₅ ,Val ₂₁₆ ,Glu ₂₇₇
α-Thujene	-3/4	-3/4	-0/0	0/0	0/0	—	—	Phe ₁₇₈ ,Val ₂₁₆ ,Asp ₂₁₅ ,Asp ₃₅₂ ,Glu ₂₇₇
α-Terpinene	-3/3	-3/3	-0/0	0/0	0/0	—	—	Glu ₂₇₇ ,Val ₂₁₆ ,His ₁₁₂ ,Asp ₆₉ ,Arg ₄₄₂ ,Phe ₁₇₈ ,Phe ₁₅₉
Carvacrol acetate	-3/3	-3/6	-0/0	-0/1	0/3	Tyr ₁₅₈	—	Phe ₁₅₉ ,Tyr ₁₅₈ ,Phe ₃₀₃ ,Glu ₂₇₇ ,Glu ₂₇₉ ,Val ₂₁₆ ,Asp ₃₅₂ ,Asp ₂₁₅ ,Arg ₄₄₂ ,Asp ₆₉ ,Tyr ₇₂ ,Glu ₄₁₁ ,Phe ₁₇₈
Piperitone	-3/3	-3/6	-0/0	-0/1	0/3	Asp ₂₁₅ Glu ₂₇₇ Asp ₃₅₂	Tyr ₇₂ (pi-sigma)	Asp ₆₉ ,Tyr ₇₂ ,Asp ₂₁₅ ,Arg ₄₄₂ ,Phe ₁₇₈ ,Arg ₂₁₃ ,Asp ₃₅₂ ,Val ₂₁₆ ,His ₃₅₁ ,Glu ₂₇₇ ,Gln ₂₇₉
α-pinene	-3/2	-3/2	0/0	0/0	0/0	—	—	Phe ₁₅₉ ,Asp ₆₉ ,Arg ₄₄₂ ,Val ₂₁₆ ,Phe ₁₇₈ ,His ₁₁₂ ,Asp ₂₁₅ ,Asp ₃₅₂ ,Tyr ₇₂ ,His ₃₅₁
Carvacrol	-3/2	-3/5	-0/1	-0/1	0/3	Arg ₄₄₂ Asp ₆₉	—	Asp ₆₉ ,Tyr ₇₂ ,Phe ₁₇₈ ,Glu ₂₇₉ ,Glu ₂₇₇ ,Val ₂₁₆ ,Phe ₃₀₃ ,Tyr ₁₅₈ ,Phe ₁₅₉ ,Arg ₄₄₂ ,Asp ₂₁₅
Camphene	-3/1	-3/1	-0/0	0/0	0/0	—	—	Glu ₂₇₇ ,Asp ₆₉ ,Asp ₂₁₅ ,Phe ₁₇₈ ,His ₁₁₂ ,Tyr ₇₂ ,Arg ₄₄₂ ,Val ₂₁₆ ,Phe ₁₅₉ ,Asp ₃₅₂

Thymol	-3/1	-3/4	-0/1	-0/0	0/3	Arg ₄₄₂	—	His ₃₅₁ , Tyr ₇₂ , Asp ₃₁₅ , Asp ₃₅₃ , His ₁₁₂ , Phe ₁₇₈ , Glu ₂₇₇ , Tyr ₁₅₈ , Phe ₃₀₃ , Phe ₁₅₉ , Val ₃₁₆
Limonene	-3/1	-3/1	0/0	0/0	0/0	—	—	His ₁₁₂ , Arg ₂₁₅ , Gln ₁₈₂ , Val ₂₁₆ , Arg ₄₄₂ , Phe ₁₅₉ , Phe ₁₇₈ , Asp ₆₉ , Tyr ₇₂
β-Pinene	-3/1	-3/1	-0/0	0/0	0/0	—	Phe ₁₇₈ (pi-sigma)	Tyr ₇₂ , Asp ₆₉ , His ₃₅₁ , Asp ₃₅₂ , Arg ₄₄₂ , Glu ₂₇₇ , Asp ₂₁₅ , Val ₂₁₆ , Phe ₁₇₈ , His ₁₁₂ , Phe ₁₅₉
Linalool	-3/0	-4/2	-0/1	0/2	1/19	Arg ₄₄₂ Asp ₆₉	—	His ₁₁₂ , Gln ₁₈₂ , Arg ₄₄₂ , Phe ₁₇₈ , Asp ₂₁₅ , Asp ₆₉ , Tyr ₁₅₈ , Glu ₄₁₁ , Phe ₁₅₉ , Tyr ₇₂
Trans-Linalool oxide (Furanoid)	-2/9	-3/8	-0/1	-0/1	0/8	—	—	Tyr ₇₂ , His ₃₅₁ , Asp ₆₉ , Asp ₂₁₅ , Phe ₁₇₈ , Gln ₂₇₉ , Val ₂₁₆ , Phe ₁₅₉ , Arg ₄₄₂ , Glu ₂₇₇ , Arg ₄₄₆ , Asp ₃₅₂
Terpinen-4-ol	-2/8	-3/1	-0/2	0/0	0/3	Glu ₄₁₁	—	Asp ₂₁₅ , His ₃₅₁ , Asp ₃₅₂ , Tyr ₇₂ , Arg ₄₄₂ , Asp ₆₉ , Phe ₁₅₉ , Glu ₄₁₁ , Arg ₂₁₅ , Tyr ₁₅₈ , Phe ₃₀₃ , Gln ₂₇₉ , Phe ₁₇₈ , Val ₂₁₆ , Glu ₂₇₇
Thymol acetate	-2/8	-3/6	-0/1	-0/2	0/8	Arg ₄₄₂ His ₃₅₁	—	Arg ₄₄₆ , His ₃₅₁ , Asp ₃₅₃ , Arg ₄₄₃ , Asp ₆₉ , Tyr ₇₂ , Phe ₁₅₉ , Arg ₄₄₂ , Glu ₂₇₇ , Arg ₄₄₆ , Asp ₃₅₂
Cymen(p)	-2/7	-3/0	-0/0	-0/1	0/03	—	—	His ₁₁₂ , Arg ₂₁₅ , Gln ₁₈₂ , Val ₂₁₆ , Arg ₄₄₂ , Gln ₂₇₉ , Phe ₁₅₉ , Phe ₁₇₈ , Asp ₆₉ , Tyr ₇₂
γ-Terpinen	-2/6	-2/9	-0/0	-0/1	0/3	—	—	Gln ₂₇₉ , Tyr ₁₅₈ , Phe ₁₇₈ , Phe ₁₅₉ , Arg ₄₄₂ , Tyr ₇₂ , Asp ₂₁₅ , His ₁₁₂ , Asp ₆₉ , Val ₂₁₆ , Glu ₂₇₇
Myrcene	-2/3	-3/8	0/0	-0/2	1/49	—	—	Tyr ₁₅₈ , Phe ₁₅₉ , Gln ₂₇₉ , Glu ₂₇₇ , Val ₂₁₆ , Tyr ₇₂ , Asp ₆₉ , Asp ₂₁₅ , His ₁₁₂ , Gln ₁₈₂ , Phe ₁₇₈ , Arg ₄₄₂

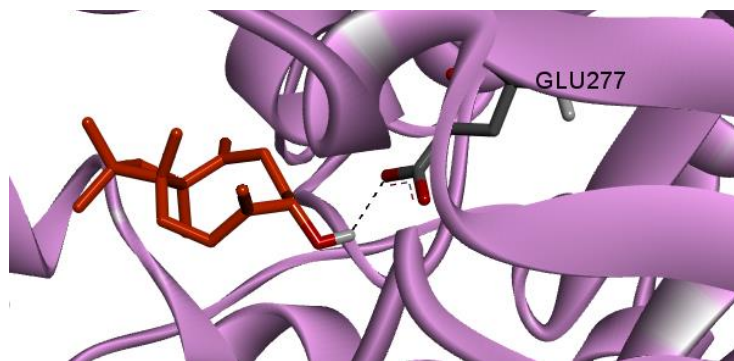
بحث

نتایج حاصل از داکینگ نشان می‌دهد که مشتقات گیاه آویشن می‌توانند به جایگاه فعال آنزیم α -گلوکوزیداز متصل و موجب مهار این آنزیم گردند. براساس این نتایج، پتانسیل مهار ترکیبات مورد مطالعه با هم فرق می‌کنند و سطح انرژی اتصال از ۲/۳۶ - تا ۳/۷۱ - می‌باشد. بیشترین پتانسیل مهار مربوط به ترکیب ۱ با نام Caryophylla-4-(12),8(13)-dien-5- β -ol و کمترین انرژی اتصال مربوط به ترکیب ۲۶ با نام myrcene می‌باشد.

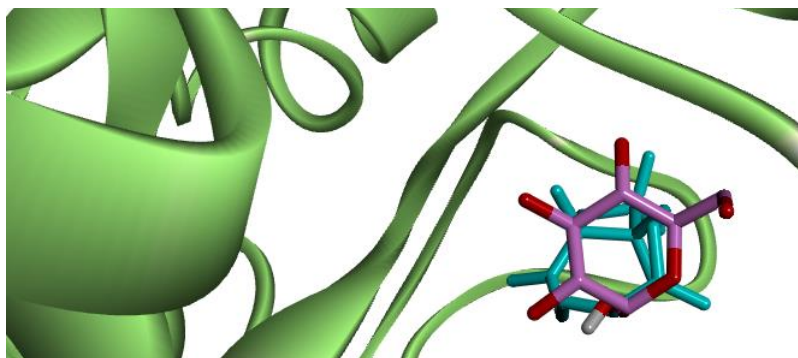
باشد. ΔG_{bind} نشان دهنده قدرت اتصال بین ترکیبات مولکولی و جایگاه فعال آنزیم می‌باشد [۱۳، ۱۴]. مطالعات انجام شده بر روی داروهای گیاهی و تأثیرات آنها بر بیماری دیابت نشان داده است که گیاه آویشن به دلیل داشتن ترکیبات فنولی میتواند به میزان قابل توجهی باعث کاهش سطح گلوکز گردد [۱۵، ۱۶]. Lee و همکاران در سال ۲۰۱۴، نحوه اتصال و اثر مهار مشتقات Stilbene بر آنزیم α -گلوکوزیداز را به روش داکینگ مولکولی مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند. در نتیجهی این مطالعه، مشتقات Stilbene می‌توانند در محل

هیدروفوبی که توسط ترکیب Caryophylla-4-(12),8(13)-dien-5- β -ol ایجاد شده‌اند مشابه با برهم‌کنش‌هایی هستند که در مطالعات داکینگ سایر مهارکننده‌های آنزیم α -گلوکوزیداز گزارش شده‌اند [۱۸]. His₁₁₂, Asp₆₉, Glu₂₇₆, Asp₃₄₉, Asp₂₁₄, His₁₁₂, Asp₆₉, Glu₂₇₆, Asp₃₄₉, Asp₂₁₄, Lys₃₂₄, Asp₃₅₂, His₃₅₁, Glu₂₇₇, Asp₂₁₅, Arg₂₁₃, Arg₄₄₁, ser₂₄₀, Asp₅₂₁, Glu₃₂₂, فعال آنزیم α -گلوکوزیداز قرار دارند [۲۳-۲۰، ۱۸]. که در این میان اسیدآمینه‌ی Glu₂₇₇ در تشکیل پیوند هیدروژنی با آنزیم شرکت می‌کند. Glu₂₇₇, Gln₂₇₉, Asp₃₅₂, Phe₃₀₃, Gln₃₅₃, Glu₄₁₁, Asp₃₁₅, Tyr₁₅₈, Arg₄₄₂, Phe₁₇₈, Val₂₁₆ آمینواسیدهایی هستند که در تشکیل پیوند هیدروفوبی با مولکول Caryophylla-4-(12),8(13)-dien-5- β -ol شرکت دارند و در داکینگ کوکریستال مهارکننده گلوکز نیز مشاهده می‌شود. در شکل ۲ داکینگ ترکیب Caryophylla-4-(12),8(13)-dien-5- β -ol به تنهایی و در شکل ۳ این ترکیب با مولکول کوکریستال گلوکز در جایگاه فعال آنزیم α -گلوکوزیداز قابل مشاهده است. گلوکز نیز به‌عنوان ترکیب کوکریستال با انرژی اتصال kcal/mol ۵/۱۸- نسبت به مشتقات آویشن انرژی منفی تری را دارا می‌باشد و با آمینواسیدهای His₁₁₂, His₃₅₁, Asp₂₁₅, Arg₄₄₂ و Asp₆₉, Asp₂₁₃, Glu₂₇₇, Asp₃₅₂ پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند.

جایگاه فعال آنزیم با آمینو اسیدهای His₃₅₁, Glu₂₇₇, Asp₃₅₂ و Arg₄₄₂ و His₁₁₂ پیوند هیدروژنی تشکیل دهند [۱۷]. ترکیبات مورد مطالعه در این تحقیق نیز به‌طور مشابه با این آمینواسیدها پیوند برقرار می‌کند. در مطالعه‌ی دیگری که توسط Wening Lestar در سال ۲۰۱۷ انجام گرفته است، برهم‌کنش sulochrin با جایگاه فعال آنزیم α -glucosidase متعلق به *S. cerevisiae* با روش داکینگ مورد آنالیز قرار گرفت. این مطالعه نشان داد که Sulochrin می‌تواند در جایگاه فعال α -گلوکوزیداز به‌طور مشابه با Caryophylla-4-(12),8(13)-dien-5- β ، با آمینو اسید Glu₂₇₇ پیوند هیدروژنی برقرار کند [۱۸]. در مطالعه‌ای که توسط T. Hanna و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام شد، نشان داده شد که ترکیب فنولی تیمول قادر خواهد بود آنزیم α -گلوکوزیداز را مهار و دیابت را درمان کند [۱۹]. در مطالعه‌ی داکینگ نیز این مهار کننده با انرژی اتصال kcal/mol ۳/۱۸-، توانسته است به خوبی آنزیم α -گلوکوزیداز را مهار کند. تیمول با آمینواسید Arg₄₄₂ در تشکیل پیوند هیدروژنی و با آمینواسیدهای His₁₁₂, Phe₁₇₈, Glu₂₇₇, Tyr₁₅₈, Phe₃₀₃, Phe₁₅₉, His₃₅₁, Tyr₇₂, Asp₃₁₅, Asp₃₅₃، در تشکیل پیوندهای هیدروفوب شرکت می‌کند. منفی‌ترین پتانسیل مهاری در بین ترکیبات (kcal/mol ۳/۷۱-) مربوط به ترکیب Caryophylla-4-(12),8(13)-dien-5- β -ol است که منفی‌تر از انرژی اتصال تیمول (kcal/mol ۳/۱۸-) است. پیوندهای هیدروژنی و



شکل ۲- نتایج داکینگ ترکیب Caryophylla-4-(12),8(13)-dien-5- β -ol (مولکول با رنگ قرمز) در جایگاه فعال آنزیم α -گلوکوزیداز. پیوند هیدروژنی با خط چین سیاه رنگ مشخص شده است.



شکل ۳- نتایج داکینگ ترکیب Caryophylla-4-(12),8(13)-dien-5- β -ol (مولکول با رنگ آبی) با لیگاند کوکریستال گلوکز (مولکول با رنگ صورتی) نشان می‌دهد که موقعیت قرار گیری دو مولکول در جایگاه فعال آنزیم α -گلوکوزیداز یکسان است.

مهارى در شرایط *in vitro* و *in vivo*، می‌توان مسیر پروژه را به سمت طراحی دارو و درمان بیماری دیابت سوق داد.

سپاسگزاری

پژوهشگران این مطالعه مراتب تشکر و سپاس خود را از جناب آقای دکتر زمانی و اعضای هیئت مؤسس مؤسسه‌ی آموزش عالی نور دانش اعلام می‌دارند.

همان‌طور که قبلاً گفته شد، با توجه به اثر بخشی نسبتاً بالای ترکیبات عصاره‌ی گیاه در مطالعه‌ی بیوانفورماتیکی، برای بررسی‌های تکمیلی می‌توان اثر این ترکیبات گیاهی را در شرایط *in vitro* و *in vivo* مورد آنالیز قرار داد.

از آنجایی که ترکیبات عصاره‌ی گیاهی توانستند اثر مهارى خود را بر روی فعالیت آنزیم α -گلوکوزیداز در مطالعات بیوانفورماتیکی اعمال کنند و با استناد به دریافت چنین پاسخ

مآخذ

- Bascones-Martinez A, et al. Periodontal disease and diabetes-Review of the Literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011; 16(6): p. e722-9.
- Lodge JA, et al. Crystal structure of *Thermotoga maritima* α -glucosidase AgIA defines a new clan of NAD⁺-dependent glycosidases. *Journal of Biological Chemistry* 2003; 278(21): 19151-19158.
- Kumar S, et al. α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy reviews* 2011; 5(9): 19.
- Bakkali F, et al. Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology* 2008; 46(2): 446-475.
- موسوی، ی، و دیگران. دیابت و درمان آن در بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیه. *مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد*، ۱۳۹۳؛ ۷(۵۷): ۸۷۳-۸۶۶.
- Soskolne WA. Epidemiological and clinical aspects of periodontal diseases in diabetics. *Annals of periodontology* 1998; 3(1):3-12.
- Chiasson JL, et al. Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. *The Lancet* 2002; 359(9323): 2072-2077.
- Tanko Y, et al. Haemostatic effect of aqueous extract of mushroom (*Ganoderma lucidum*). *European Journal of Experimental Biology* 2012; 2(6): 2015-2018.
- Thompson J, et al. The Gene *glvA* of *Bacillus subtilis* 168 Encodes a Metal-requiring, NAD (H)-dependent 6-Phospho- α -glucosidase ASSIGNMENT TO FAMILY 4 OF THE GLYCOSYLHYDROLASE SUPERFAMILY. *Journal of Biological Chemistry* 1998; 273(42): 27347-27356.
- Tian G, et al. Inhibition of α -glucosidases I and II increases the cell surface expression of functional class A macrophage scavenger receptor (SR-A) by extending its half-life. *Journal of Biological Chemistry* 2004; 279(38): 39303-39309.
- Nemati Z, et al. Chemical composition and antioxidant activity of Shirazi *Thymus vulgaris*

- essential oil. *Advanced Herbal Medicine* 2017; 3(2): 26-32.
12. Carreiro EP, et al. 3-Hydroxypyrrolidine and (3, 4)-dihydroxypyrrolidine derivatives: Inhibition of rat intestinal α -glucosidase. *Bioorganic chemistry* 2014; 54:81-88.
 13. Mukesh, B. and K. Rakesh, Molecular docking: a review. *Int J Res Ayurveda Pharm* 2011; 2: 746-1751.
 14. Al-Rahbi B, Sallam A, Sadek H, El-Sharawy AMH. Studying the Hypoglycemic Effect of Omani Thyme: Pilot Study. *International journal of Horticulture, Agriculture and Food science(IJHAF)* 2018; 2(3): 98-101.
 15. Dauqan EM, and Abdullah A. Medicinal and functional values of thyme (*Thymus vulgaris* L) herb. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 2017; 5(02):017-022.
 16. Hyun TK, Eom SH, and Kim JS. Molecular docking studies for discovery of plant-derived α -glucosidase inhibitors. *Plant Omics* 2014; 7(3):166.
 17. Lee Y, et al. Binding mode analyses and pharmacophore model development for stilbene derivatives as a novel and competitive class of α -glucosidase inhibitors. *PloS one* 2014; 9(1): e85827.
 18. Lestari W, et al. Docking Sulochrin and Its Derivative as α -Glucosidase Inhibitors of *Saccharomyces cerevisiae*. *Indonesian Journal of Chemistry* 2017; 17(1): 144-150.
 19. Hanna ET, et al. The effect of ginger and thyme on some biochemical parameters in diabetic rats. *IOSR J Pharm Biol Sci* 2014; 9: 54-61.
 20. Voordeckers K, et al. Reconstruction of ancestral metabolic enzymes reveals molecular mechanisms underlying evolutionary innovation through gene duplication. *PLoS biology* 2012; 10(12): e1001446.
 21. Flores-Bocanegra, L., et al., α -Glucosidase inhibitors from *Vauquelinia corymbosa*. *Molecules* 2015; 20(8):15330-15342.
 22. Ma H, et al. Structure activity related, mechanistic, and modeling studies of gallotannins containing a glucitol-core and α -glucosidase. *RSC advances* 2015; 5(130):107904-107915.
 23. Ferreira SB, et al. Synthesis, biological activity, and molecular modeling studies of 1 h-1, 2, 3-triazole derivatives of carbohydrates as α -glucosidases inhibitors. *Journal of medicinal chemistry* 2010. 53(6):2364-2375.

BIOINFORMATIC STUDIES OF THE EFFECT OF THYMUS VULGARIS ON ALPHA-GLUCOSIDASE ENZYME INHIBITION FOR TREATING DIABETES

Saeedeh Rahnama Falavarjani¹, Azizeh Asadzadeh^{1*}, Fatemeh Heidarian Naini¹

1. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Nourdanesh Institute of Higher Education, Meymeh, Isfahan, Iran

ABSTRACT

Background: Inhibitors of α -glucosidase by interfering with digestion of carbohydrates play a role in controlling diabetes. Thymus vulgaris is an herb belonging to the mint family (Lamiaceae). The essence of this plant contains the phenols such as thymol and carvacrol, cymene, linalool, pinene. The aim of this study was to investigate the inhibitory effect of the constituents of the thymus vulgaris extract on the activity of α -glucosidase enzyme by molecular docking.

Methods: In this study, to investigate how the compounds are attached to the active site of the enzyme, mapping of chemical structure of the compounds, energy optimization, docking studies and final analysis were carried out by ChemDraw, HyperChem, AutoDock 4.2, DS Visualizer and Lig Pluto software, respectively.

Results: All of the studied compounds were able to occupy the active site of the enzyme, among all of them, the best results of docking was related to the combination of Caryophylla-4- (12), 8 (13) -dien-5- β -ol. In fact, this compound has the most negative energy level of connection, the highest affinity for binding to the active site of the enzyme and the interaction site is similar to that of the co-crystal molecule.

Conclusion: considering the high efficacy of plant extract compounds in the bioinformatics study, and for complementary studies, the effect of the extract of this plant can be analyzed in order to control the increase of glucose in vitro and in vivo conditions.

Keywords: Diabetes, Alpha-Glucosidase, Molecular Docking, Inhibitor, Thymus Vulgaris

*Iran, Isfahan, Meymeh, Isfahan Square, Danesh St. Nourdanesh Institute of Higher Education, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, ZIP code: 8351765851- Tel: 03145427600. E-mail: az.asadzadeh@yahoo.com