مجله دیابت و متابولیسم ایران. بهمن و اسفند ۱۳۹۹؛ دوره ۲۰ (شماره ۳)۲۰۹-۲۰۰

مقاله پژوهشی

# ارزیابی بیوانفورماتیک ترکیبات فعال گیاه شنبلیله در سرکوب آنزیم آلفاگلوکوزیداز

مرتضی صادقی*[۱]، مهران میراولیایی[۱]

## چکیده

**مقدمه:** دیابت یک سندرم متابولیکی است که با افزایش قند خون مشخص می‌شود. آنزیم‌های آلفاگلوگوزیداز که در میان پرزهای روده کوچک قرار دارند مسؤول هیدرولیز کربوهیدرات‌ها هستند. هدف این تحقیق ارزیابی بیوانفورماتیک ترکیبات فعال گیاه شنبلیله در سرکوب آنزیم آلفاگلوکوزیداز است.

**روش‌ها:** این پژوهش به روش توصیفی- تحلیلی صورت گرفت. بدین منظور، ابتدا مهم‌ترین ترکیبات جداشده‌ی شنبلیله از پایگاه داده ای PubChem دانلود شدند و سپس فایل مربوط به آنزیم آلفاگلوکوزیداز از پایگاه PDB دریافت شد. کلاس سمیت ترکیبات و قوانین لیپینسکی ترتیب توسط Toxtree & Protox II و سرور Swiss ADME پیش‌بینی شدند. در پایان، داکینگ مولکولی و برهم‌کنش آنزیم با ترکیبات موجود در شنبلیله توسط AutoDock Tools 1.5.6 و Molegro Virtual Docker 6.0 صورت گرفت. هم‌چنین آنالیز نتایج مربوط به اینتراکشن‌ها با دو نرم‌افزار Discovery Studio 3.5 و Ligplot 2.1 صورت گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج مشخص کرد که همه ترکیبات انتخاب شده در شنبلیله با پیروی از قانون لیپینسکی، انرژی اتصال مناسب و نداشتن سمیت گزینه‌های مناسبی در مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز هستند. اما از میان این ترکیبات، ترکیب Vitexin با ٤/٨- کیلوکالری بر مول کم‌ترین انرژی اتصال و بیش‌ترین اثر مهاری را بر آنزیم آلفاگلوکوزیداز داشت. این ترکیب هم‌چنین انرژی اتصال منفی‌تری نسبت به مهارکننده استاندارد (ووگلیبوز) داشتند.

**نتیجه‌گیری:** از نتایج این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که از میان مهم‌ترین ترکیبات موجود در شنبلیله، ترکیب Vitexin به‌دلیل ایجاد برهم‌کنش هیدروژنی و هیدروفوبی بیش‌تر با آمینواسیدهای جایگاه فعال آنزیم آلفاگلوکوزیداز، مهارکننده قوی‌تری محسوب می‌شود.

**واژگان کلیدی:** آلفاگلوکوزیداز، شنبلیله، داکینگ مولکولی، انرژی اتصال

۱- گروه زیست‌شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

***نشانی:*** اصفهان، خیابان هزارجریب، دانشگاه اصفهان، گروه زیست‌شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، تلفن: ۰۹۱۹۵۳٦۷۹۲۳، کد پستی: ۸۱۷٤٦۷۳٤٤۱، ایمیل: mo.sadeghi@sci.ui.ac.ir

**تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۲۸** **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۹/۱۱/۱۴** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۰**

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-22 ]

## مقدمه

دیابت یک سندرم متابولیکی است که با افزایش قند خون مشخص می‌شود [۱-٤] و یکی از شایع‌ترین بیماری‌های جهان است که هم چنان عامل اصلی مرگ و میر است [٥،٦]. تخمین زده می‌شود که شیوع دیابت تا سال ۲۰۳۰ با ٦۹ درصد افزایش در کشورهای در حال توسعه و ۲۰ درصد افزایش در کشورهای توسعه یافته همراه باشد [۷]. افزایش میزان گلوکز خون موجب القای صدمات عروقی می‌گردد و این آسیب موجب افزایش بیماری‌های مربوط به عروق کرونر قلب و انفارکتوس میوکارد می‌شود [۸]. بنابراین کنترل قند خون در نهایت می‌تواند خطر ابتلا به بیماری کاردیوواسکولار را کاهش دهد [۱۲-۹].

داروهای ضددیابتی به چند دسته تقسیم می‌شوند: سولفونیل‌اوره‌آز، بی‌گوانیدین‌ها، تقلیدکننده‌های انسولین (آنالوگ‌های پپتیدی شبه گلوکاگون) و مهارکننده‌های آلفاگلوکوزیداز. اما به دلیل عوارض جانبی غیرقابل قبول برخی از این داروها از اثر بخشی آنها کاسته می‌شود. بنابراین کشف داروهای ضددیابتی جدید هم‌چنان یک زمینه‌ی تحقیقاتی مهم است [۲].

آنزیم‌های آلفاگلوگوزیداز (EC 3.2.1.20) که در میان پرزهای روده ی کوچک قرار دارند مسؤول هیدرولیز کربوهیدرات‌ها هستند [۱۳]. مهار این آنزیم‌ها در انسان می‌تواند یک روش مؤثر برای کنترل قند خون در دیابت نوع II باشد [۱٤]. داروهایی مانند آکاربوز، ووگلیبوز و ووگلیبوز که برای مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز مورد استفاده قرار می‌گیرند باعث ایجاد مشکلاتی مانند اسهال، نفخ شکم و دردهای شکمی می‌شوند. بنابراین کشف چندین مولکول جدید با پتانسیل مهاری آلفاگلوکوزیداز یک زمینه رو به رشد در تحقیقات است و در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است [۲، ۱۷-۱٥].

گیاه شنبلیله با نام علمی Trigonella foenum از خانواده‌ی Fabaceae هستند و نقش مهمی در رژیم غذایی و دارویی دارد [۱۸]. شنبلیله دارای اثرات درمانی متفاوت از جمله خاصیت هایپرلیپیدمی، آنتی‌اسکلروتیک، کاهنده‌ی قند خون، ضد فشار خون، ضد میکروبی و ضد سرطان است. نقش شنبلیله در کاهش میزان قند خون به خاطر داشتن ترکیبات فنولی است [۱۹]. ترکیبات فنولی شنبلیله دارای خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی هستند. هم‌چنین نقش سازوکار دفاعی شنبلیله در برابر حملات آفت را نیز دارند [۲۰]. ترکیبات پلی‌فنولی مهم شنبلیله مانند Vitexin، فرولیک‌اسید و *p*- کوماریک‌اسید دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، جلوگیری از استرس اکسیداتیو و هم‌چنین با سرکوب رادیکال‌های آزاد در مهار آسیب به مولکول DNA نقش دارند [۲۱].

ترکیبات طبیعی جدا شده از گیاهان، جانوران و میکروارگانیسم‌ها به منظور کاهش قند خون بسیار مورد توجه هستند. برای غربالگری سریع و پی بردن به ترکیب موثر، داکینگ مولکولی یکی از گزینه های پرکاربرد در این زمینه است[۲۲]. داکینگ مولکولی و محاسبات In silico یک رویکرد شبیه‌سازی است که مولکول‌هایی را که به طور مناسب به آنزیم متصل می‌شوند را پیش‌بینی می‌کند. لیگاندها و ترکیبات باید میل ترکیبی زیادی به رسپتور داشته باشند تا محل اتصال برای مولکول گیرنده و خاصیت تعامل آنها براساس قواعدی امتیازدهی شوند. این روش‌ها قبل از آزمایش در محیط‌های In vivo و In vitro موجب کاهش هزینه‌ها و وقت محقق می‌شوند [۲٤، ۲۳]. لذا در این مطالعه به بررسی و میانکنش مهم‌ترین ترکیبات موجود در شنبلیله با آنزیم آلفاگلوکوزیداز پرداخته شده است. با توجه به نقش این ترکیبات در کاهش میزان گلوکز خون، میزان مهار هر کدام از این ترکیبات در محیط In silico صورت گرفت.

## روش‌ها

این مطالعه به روش توصیفی- تحلیلی صورت گرفت. در این تحقیق، ابتدا ترکیبات مهم موجود در شنبلیله با استفاده از مقالات مربوطه استخراج و مورد بررسی قرارر گرفتند. سپس ساختار 3D هر کدام از این ترکیبات از پایگاه داده ترکیبات شیمیایی PubChem به آدرس (http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov) دریافت شدند. ساختار کریستالوگرافی مناسب از آنزیم آلفاگلوکوزیداز با کد تشخیصی 3a4a و قدرت تفکیک 1.6 آنگستروم از داده پروتئینی به نشانی (http://www.rcsb.org) با قالب PDB نیز دریافت شد (شکل ۱).

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-22 ]

**شکل ۱- ساختار سه‌بعدی (3D) آنزیم آلفاگلوکوزیداز با کد PDB:3a4a.**

**بررسی داکینگ مولکولی**

به‌منظور بررسی داکینگ مولکولی از نرم‌افزار Molegro Virtual Docker (MVD) 6.0 [۲۵] استفاده شد. قبل از کار داکینگ می بایستی تمام ترکیبات و هم‌چنین مولکول آنزیم از لحاظ انرژی بهینه شوند لذا برای بهینه‌سازی انرژی از نرم‌افزار Chimera 1.7 استفاده شد. سپس با استفاده از MVD، آماده‌سازی مولکول آنزیم خالص و حذف لیگاندهای اضافی صورت گرفت و سپس فایل خالص آنزیم به‌صورت فرمت PDB ذخیره و به‌عنوان ورودی نرم‌افزار Autodock Tools انتخاب شد. هیدروژن‌های قطبی به پروتئین اضافه شدند و بار آن‌ها با Kollman charges تعیین شد. بار جزئی ترکیبات نیز با استفاده از Compute Gasteiger محاسبه شد. در نهایت با استفاده از نرم‌افزار Discovery Studio 3.5 ، اینتراکشن‌ها و نوع پیوندهای میان ترکیبات مهم و آنزیم آلفاگلوکوزیداز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**تعیین خصوصیات داروهمانندی ترکیبات با قانون لیپینسکی**

ارزیابی ترکیبات از لحاظ قانون لیپینسکی (Lipinski): مهم‌رین ترکیبات سولفوری و فنولی موجود در شنبلیله از لحاظ کاربرد قانون لیپینسکی برای مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز بررسی شدند. (جدول ۱). همه‌ی ترکیبات خصوصیت مورد نظر قانون لیپینسکی را داشتند و بنابراین به‌نظر می‌رسد ک جذب خوبی را نشان دهند. برای به دست‌آوردن ویژگی‌های لیپینسکی ترکیبات از پایگاه Swiss ADME[۱] [۲۶] استفاده شد.

**جدول ۱- بررسی پارامترهای داروهمانندی (Drug like) ترکیبات موجود در شنبلیله از لحاظ قانون لیپینسکی (Lipinski)**

| ترکیبات | دهندگان پیوند هیدروژنی | پذیرندگان پیوند هیدروژنی | وزن مولکولی | میزان حلالیت آبی |
|---|---|---|---|---|
| Disogenin | ۱ | ۳ | ٤١٤/٦ | ۵/۷ |
| Sterol | ۱ | ۱ | ٢٤٨/٤ | ۵/۱ |
| Trigonelline | ۰ | ۲ | ١٣٧/١٤ | ۱/۳۱ |
| Scopolten | ۱ | ٤ | ١٩٢/١٧ | ۱/۵ |
| Orientin | ۸ | ١١ | ٤٤٨/٢ | ۰/۲ |
| Vitexin | ۷ | ١٠ | ٤٣٢/٤ | ۰/۲ |
| Ferulic acid | ۲ | ٤ | ١٩٤/١٨ | **۱/۵** |
| Caffeic acid | ۵ | ۷ | ٣٠٢/٢٣ | ۱/۵ |

[۱] http://www.swissadme.ch/index.php

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-22 ]

**خصوصیات ترکیبات و بررسی سمیت آنها**

در شنبلیله ترکیبات متعدد فنولی، استرولی و گوگردی وجود دارد. از جمله مهم‌ترین ترکیبات می‌توان ترکیب نیتروژن‌دار تریگونلین و ترکیب فلاونوئیدی ویتکسین، فرولیک اسید و کافئیک اسید اشاره کرد (جدول ۲).

نبود سمیت ترکیبات از جمله فاکتورهای پراهمیت در انتخاب یک ترکیب به‌عنوان یک کاندید دارویی است. لذا در این پژوهش میزان سمیت هر یک از ترکیبات مانند سمیت کبدی، سرطان زایی، سمیت ایمنی، جهش‌زایی و کلاس سمیت ترکیبات با استفاده از سرور http://tox.charite.de/protox و نرم‌افزار Toxtree 2.5.4 [۲۷] بررسی شدند (جدول ۳).

**جدول ۲- فرمول مولکولی و شناسه Pubchem ترکیبات مهم شنبلیله**

| ترکیبات | فرمول مولکولی | شناسه پاپ‌کیم |
|---|---|---|
| Disogenin | $C_{27}H_{42}O_3$ | ۹۹٤۷٤ |
| Sterol | $C_{17}H_{28}O$ | ۱۱۰۱ |
| Trigonelline | $C_7H_7NO_2$ | ۵۵۷۰ |
| Scopoletin | $C_{10}H_8O_4$ | ۵۲۸۰٤٦۰ |
| Vitexin | $C_4H_{10}OS$ | ٤٤۲٦۳۰ |
| Orientin | $C_{21}H_{20}O_{11}$ | ۵۲۸۱٦۷۵ |
| Ferulic acid | $C_{21}H_{20}O_{10}$ | ۵۲۸۰٤٤۱ |
| Caffeic acid | $C_{15}H_{10}O_7$ | ۵۲۸۰۳٤۳ |

**جدول ۳- بررسی سمیت و کلاس سمیت ترکیبات**

| ترکیبات | سمیت کبدی | سرطان‌زایی | سمیت ایمنی | جهش‌زایی | کلاس سمیت |
|---|---|---|---|---|---|
| Disogenin | فاقدسمیت | فاقدسرطان‌زایی | ایمنی‌سالم | سالم | ۳ |
| Yamogenin | فاقدسمیت | فاقدسرطان‌زایی | ایمنی‌سالم | سالم | ۳ |
| Trigonelline | فاقدسمیت | فاقدسرطان‌زایی | ایمنی‌سالم | سالم | ٤ |
| Scopoletin | فاقدسمیت | فاقدسرطان‌زایی | ایمنی‌سالم | سالم | ٤ |
| Vitexin | فاقدسمیت | فاقدسرطان‌زایی | ایمنی‌سالم | سالم | ۳ |
| Orientin | فاقدسمیت | فاقدسرطان‌زایی | سمیت‌ایمنی | سالم | ٤ |
| Ferulic acid | فاقدسمیت | فاقدسرطان‌زایی | ایمنی‌سالم | سالم | ۵ |
| Caffeic acid | فاقدسمیت | فاقدسرطان‌زایی | ایمنی‌سالم | سالم | ۵ |

(مخفف‌ها N.H؛ فاقد سمیت کبدی، N.C؛ فاقد سرطان‌زایی، N.I؛ فاقد سمیت ایمنی، N.M؛ فاقد موتاژن بودن)

## یافته‌ها

خصوصیات داروهمانندی ترکیبات و سمیت آنها: ویژگی‌های داروهمانندی تمام ترکیبات مهم موجود در شنبلیله زیر نظر قانون لیپینسکی صورت گرفت [۲۸]. مطابق این قانون، برای اینکه یک داروی خوراکی در بدن بتواند جذب و نفوذپذیری خوبی داشته باشد، باید یکسری ویژگی‌ها را دارا باشد؛ از جمله وزن مولکولی کم‌تر از ۵۰۰ دالتون، دهنده‌ی پیوند هیدروژنی کم‌تر یا مساوی با ۱۰ و هم‌چنین logp (ضریب تسهیم اکتانول به آب) کم‌تر از ۵. در مورد ترکیبات لیست‌شده در جدول ۲ مشاهده می‌شود که

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-22 ]

همه‌ی این ترکیبات از قانون لیپینسکی پیروی می‌کنند پس انتظار می‌رود از نظر جذب و نفوذپذیری مشکلی نداشته باشند.
ترکیبات نیز از لحاظ سمیت و کلاس سمی بودن مورد ارزیابی قرار گرفتند. معیار انتخاب یک ترکیب به‌عنوان نامزد دارویی، امن بودن (Safety) آن ترکیب است و ترکیب نباید هیچ سمیتی از خود نشان دهد [۲۹]. همان‌گونه که در جدول ۳ نیز مشخص شده است هیچ کدام از ترکیبات به جز فرولیک اسید (سمیت ایمنی) هیچ گونه سمیتی را از خود نشان ندادند. کلاس سمیت ترکیبات نیز معیاری از کل سمیت را نشان می‌دهد. کلاس I بیش ترین سمیت و خطرناک‌ترین کلاس سمیت است و کلاس VI کم‌ترین سمیت را نشان می‌دهد. با توجه به جدول ۳ مشخص می‌شود که هیچ کدام از ترکیبات در کلاس I قرار نمی‌گیرند پس این نشان می‌دهد که اکثر شنبلیله از لحاظ سمیت مشکلی برای بدن ایجاد نمی‌کنند.
داده‌های به دست‌آمده از داکینگ مولکولی: نتایج حاصل از اینتراکشن هر کدام از ترکیبات با آنزیم آلفاگلکوزیداز در جدول ٤ آورده شده است. همان‌طور که مشخص است با توجه به انرژی اتصال ترکیبات، همه ترکیبات اتصال مناسبی را با آنزیم مذکور دارند. انژی بایندینگ، اینتراکشن‌های هیدروژنی و هیدروفوبی میان ترکیبات و آنزیم نیز نشان داده شده است.

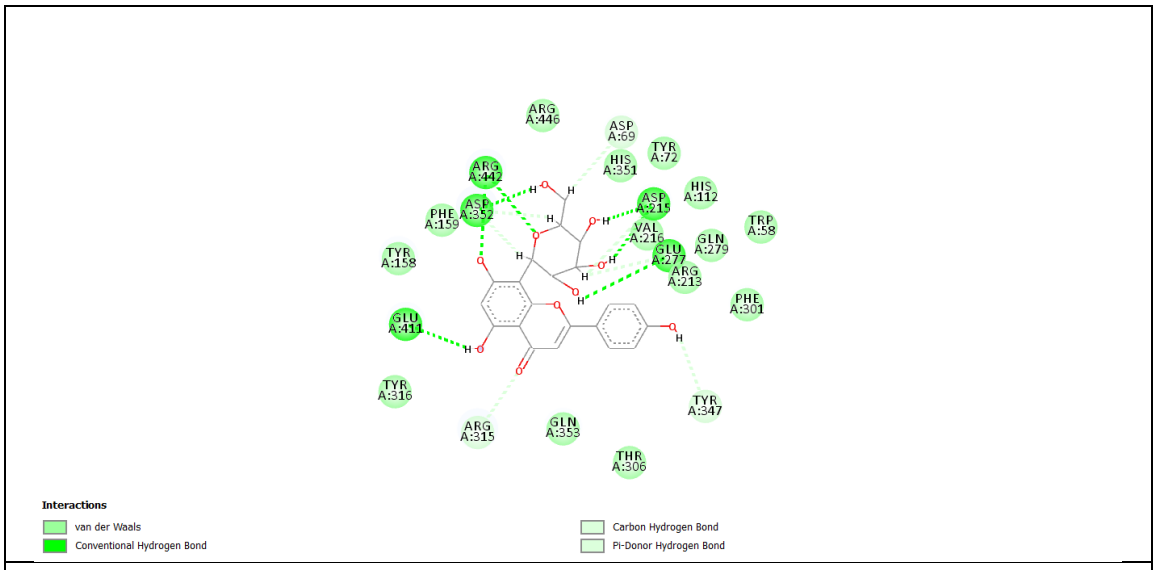
**جدول ۳- اینتراکشن و انرژی اتصال ترکیبات با اسیدهای‌آمینه آلفاگلوکوزیداز (واحد انرژی بر حسب کیلوکالری بر مول است).**

| ترکیبات | انرژی‌اتصال (کیلوکالری بر مول) | برهم‌کنش‌های هیدروژنی | برهم‌کنش‌های هیدروفوبیک |
|---|---|---|---|
| Disogenin | −۳/۱ | --- | Arg442 |
| Yamogenin | −۲/۹ | --- | Phe159 |
| Trigonelline | −۳/۱ | --- | Tyr72, val 216 |
| Scopolten | −۳/۲ | Arg446 | Asp442,Val216,Phe178 |
| Vitexin | −٤/۸ | Gln182, Asp69 | His112, Phe178, Val109, Asp215, Glu277, Val216, Phe159, Tyr72, Arg213,Asp352, His351, Arg446, Arg442 |
| Orientin | −۳/۷ | Asp69, Gln279, Glu277 | His112, Val216, Asp215, Glu277, Val216, Phe159, Tyr72,Arg213,Asp352, His351, Arg442, |
| Ferulic acid | −۳/٦ | Arg213, Tyr24, Arg446, Asp69, Asp352, Glu277, Asp215 | His112, Phe178, Phe159, Met70, His351, Val216, Tyr72, Arg442 |
| Caffeic acid | −۳/۷ | Asp69, Arg446, Tyr24 | Arg442, Asp215, Val216, Tyr72 |
| Voglibose (Standard compound) | −۳/۹ | Asp69, Gln182, Glu277, Gln279 | Arg446, Tyr72, His112, Val216, Asp215, Phe178, Phe303, Tyr158, Phe159 |

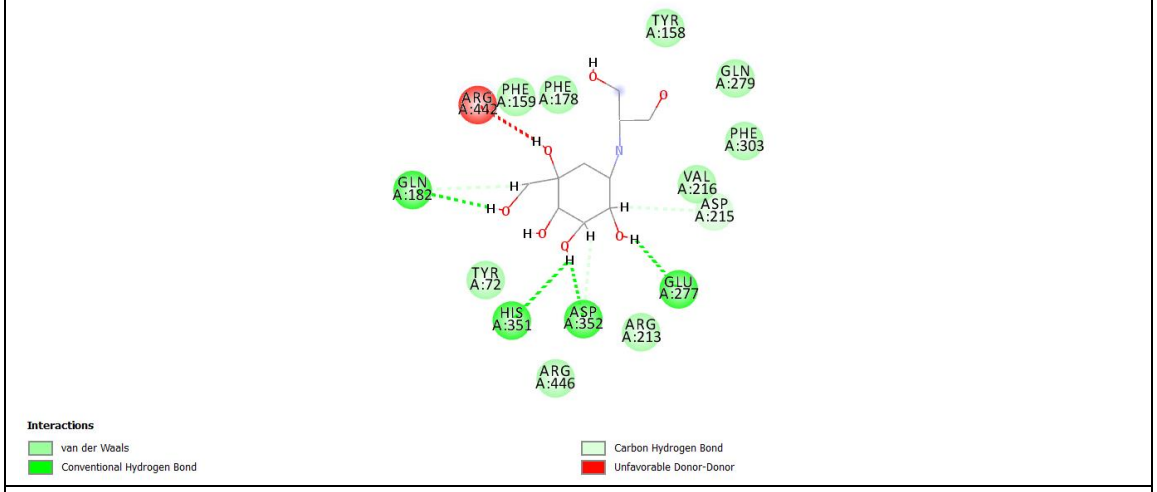
**اینتراکشن‌های دو بعدی و سه بعدی میان آنزیم و مهارکننده‌ها**

ایتراکشن‌های دو بعدی میان کمپلکس آنزیم و مهارکننده‌های ووگلیبوز و Vitexin در شکل ۲ آورده شده است. تمام پیوندهای موجود میان آنزیم و مهارکننده‌ها (پیوندهای هیدروژنی و واندروالسی) نشان داده شده است. همچنین برای پی بردن به جزئیات بهتر میان کمپلکس آنزیم و مهارکننده Vitexin اینتراکشن‌های سه بعدی (هیدروفوبیسیته و باندهای هیدروژنی) نیز آورده شدند (شکل ۳).

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-22 ]




الف




ب

**شکل ۲- نمای دوبعدی (2D) از اینتراکشن آلفاگلوکوزیداز و دو مهارکننده**

الف) میان آنزیم و ترکیب Vitexin. ب) میان آنزیم و ترکیب Voglibose

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-22 ]

الف

ب

**شکل ۳- نمای سه بعدی (3D) از اینتراکشن آلفاگلوکوزیداز و مهارکننده Vitexin**

الف) اینتراکشن هیروفوبیک (با افزایش میزان رنگ قهوه‌ای میزان هیدروفوبیسیته افزایش می‌یابد)

ب) باندهای هیدروژنی (میزان دهندگان پیوندهای هیدروژنی با افزایش میزان رنگ صورتی، بیش‌تر می‌شود).

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-22 ]

## بحث و نتیجه‌گیری

داده‌های مربوط به داکینگ مولکولی مشخص می‌کند که همه‌ی ترکیبات شنبلیله می‌توانند به جایگاه فعال آنزیم اتصال یابند و موجب مهار آنزیم شوند. طبق داده‌های داکینگ، انرژی اتصال ترکیبات مورد بررسی با هم متفاوت است به گونه‌ای که میزان انرژی اتصال از ۲/۹- تا ٤/۸- کیلوکالری بر مول متغیر است. هر چه سطح انرژی اتصال پایین‌تر (منفی‌تر) باشد، اتصال قوی‌تری میان رسپتور (آنزیم) و گیرنده (ترکیب یا مهارکننده) صورت می گیرد. در بین ترکیبات انتخاب شده در شنبلیله، ترکیب Vitexin با مقدار ٤/۸- کیلوکالری بر مول دارای پایین‌ترین میزان انرژی اتصال و در نهایت بالاترین میزان مهارکنندگی است.

با توجه به مطالعات پیشین مشخص شده است که در جایگاه فعال آنزیم آلفاگلوکوزیداز چندین آمینواسید از جمله Asp69، Glu277، Asp352، Arg446 و Gln182 نقش اساسی را در برهم کنش آنزیم و مهارکننده دارند [۲۲] . در این تحقیق نیز مشخص شده است ترکیباتی که انرژی اتصال پایین‌تری دارند، بیش‌تر با آمینواسیدهای مذکور برهم‌کنش می‌دهند. ترکیب ووگلیبوز به عنوان مهارکننده استاندارد آلفاگلوکوزیداز در نظر گرفته شد. نتایج داکینگ نشان داد که ترکیب Vitexin دارای ۷ پیوند هیدروژنی با Glu277، Glu411 و Arg442 است که هر کدام دارای یک پیوند هیدروژنی و آمینواسیدهای Asp352 و Asp215 هر کدام دارای دو پیوند هیدروژنی) و ١٦ پیوند واندروالس است. هر چند که ترکیب ووگلیبوز دارای تعداد کمتری پیوند هیدروژنی (٤ پیوند هیدروژنی) و واندوالسی (۱۰ پیوند واندروالسی) است. میزان هم‌پوشانی Vitexin با ووگلیبوز نیز نشان داد که آمینواسیدهای مشترکی در میان هر دو ترکیب دخیل هستند. این دو ترکیب در ۷ اسیدآمینه شامل His351، Asp352، Tyr72، Arg442، Phe178، Asp215 و Asp69 مشترک هستند. مطالعات گسترده‌ای نشان داده است که ترکیبات فنولی تأثیر عمده‌ای در مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز دارند. Camargo و همکاران در ٢٠١٦، با جداسازی ترکیبات فنولیک نشان دادند که این ترکیبات از جمله Caffeic acid، Catechin و Quercetin پتانسیل مهاری بالقوه‌ای در مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز دارند [۳۰].

Mohamed و همکاران در سال ۲۰۱۲ مشخص کردند که عصاره‌ی اتانولی گیاه Orthosiphon stamineus شامل ترکیبات فلاونوئیدی، ترپنوئیدی و ساپونین‌ها است که از میان این ترکیبات، فنولیک‌هایی مانند کافئیک اسید و مشتقات آن اثر قابل توجهی روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز داشتند [۳۱].

در مطالعه‌ای که توسط Mohamed و همکاران بر روی داکینگ مولکولی ترکیبات فنولیک صورت گرفت، ترکیب Caffeic acid با انرژی اتصال ٤/۹- کیلوکالری بر مول و با اتصال به آمینواسیدهای Asp69، Glu277 و Arg442 اثر مهاری خوبی را از خود نشان داد [۳۲]. در مطالعه‌ی ما هم ترکیب Caffeic acid دارای انرژی اتصال پایینی بود. در مطالعه‌ای دیگر که بر روی سنتز ترکیبات گوگرددار و پتانسیل مهاری آنها صورت گرفت، ترکیباتی مانند Methazolamid، Acetazolamide و Timolol که در ساختار خود اتم گوگرد دارند با انرژی اتصال به‌ترتیب ٤/۳- ، ٤/۸- و ٤/۵- کیلوکالری بر مول مهار قابل توجهی بر آنزیم آلفاگلوکوزیداز داشتند [۳۳].

در مطالعه‌ی دیگری با بررسی ترکیب Vitexin در محیط *In vitro* نشان داده شد که این ترکیب با $IC_{50}$ برابر با ۲۰/۲۲ میلی گرم بر میلی‌لیتر اثر مهاری قابل ملاحضه‌ای بر آنزیم مذکور داشت [٣٤]. در این پژوهش نیز مشخص شد که ترکیب Vitexin در محیط *In silico* نیز اثرات مهاری قابل توجهی دارد.

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که همه‌ی ترکیبات مهم موجود در شنبلیله از خصوصیات مناسبی مانند جذب خوب (پیروی از لیپینسکی)، نداشتن سمیت و انرژی اتصال مناسب برخوردار هستند. از مطالعه داکینگ مولکولی می‌توان نتیجه گرفت که از میان ۸ ترکیب شنبلیله، ترکیب Vitexin کارایی بیش‌تری در مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز دارد. هم‌چنین در مقایسه با ووگلیبوز، انرژی اتصال پایین‌تری داشت لذا احتمال می‌رود که مهارکننده قوی‌تری نسبت به ووگلیبوز باشد. البته برای بررسی بیش‌تر این

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-22 ]

ترکیب، ضروری است که آزمایش‌های *In vitro* و *In vivo* برای تکمیل کارهای *In silico* صورت بگیرد تا اهمیت مهاری ترکیب مذکور مشخص شود و در نتیجه به‌عنوان یک مهارکننده بالقوه بتوان از آن در مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز استفاده نمود.

## سپاسگزاری

نویسندگان مقاله ازاساتید گروه بیوشیمی دانشگاه اصفهان و از دوستانی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند، نهایت تشکر را دارند.

## مآخذ

1. Hudson BI, Hofmann MA, Bucciarelli L, Wendt T, Moser B, Lu Y, et al. Glycation and diabetes: The RAGE connection. *Current Science* 2002:1515-21.
2. Kato A, Hayashi E, Miyauchi S, Adachi I, Imahori T, Natori Y, et al. α-1-C-butyl-1, 4-dideoxy-1, 4-imino-l-arabinitol as a second-generation iminosugar-based oral α-glucosidase inhibitor for improving postprandial hyperglycemia. *Journal of medicinal chemistry* 2012;55:10347-62.
3. 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; 49:1948-51.
4. Trapero A, Llebaria A. *A prospect for pyrrolidine iminosugars as antidiabetic α-glucosidase inhibitors*. ACS Publications; 2012.
5. Kitabchi AE, Umpierrez GE, Miles JM, Fisher JN. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32:1335-43.
6. Worrall E, Basu S, Hanson K. Is malaria a disease of poverty? A review of the literature. *Tropical Medicine & International Health* 2005;10:1047-59.
7. Hati S, Madurkar SM, Bathula C, Thulluri C, Agarwal R, Siddiqui FA, et al. Design, synthesis and biological evaluation of small molecules as potent glucosidase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2015; 100:188-96.
8. Gerich JE. Clinical significance, pathogenesis, and management of postprandial hyperglycemia. *Archives of internal medicine* 2003; 163:1306-16.
9. Wright A, Burden AF, Paisey RB, Cull CA, Holman RR. Sulfonylurea inadequacy: efficacy of addition of insulin over 6 years in patients with type 2 diabetes in the UK Prospective Diabetes Study (UKPDS 57). *Diabetes Care* 2002;25:330-6.
10. Holman RR. Long-term efficacy of sulfonylureas: a United Kingdom Prospective Diabetes Study perspective. *Metabolism* 2006;55:S2-S5.
11. Stratton IM, Adler AI, Neil HAW, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *Bmj* 2000; 321:405-12.
12. Hanefeld M, Cagatay M, Petrowitsch T, Neuser D, Petzinna D, Rupp M. Acarbose reduces the risk for myocardial infarction in type 2 diabetic patients: meta-analysis of seven long-term studies. *European Heart Journal* 2004; 25:10-6.
13. Kimura A, Lee J-H, Lee I-S, Lee H-S, Park K-H, Chiba S, et al. Two potent competitive inhibitors discriminating α-glucosidase family I from family II. Carbohydrate research. 2004;339:1035-40.
14. Ross SA, Gulve EA, Wang M. Chemistry and biochemistry of type 2 diabetes. *Chemical reviews* 2004; 104:1255-82.
15. Van de Laar FA. Alpha-glucosidase inhibitors in the early treatment of type 2 diabetes. *Vascular health and risk management* 2008; 4:1189.
16. Rengasamy KR, Aderogba MA, Amoo SO, Stirk WA, Van Staden J. Potential antiradical and alpha-glucosidase inhibitors from Ecklonia maxima (Osbeck) Papenfuss. *Food chemistry* 2013; 141:1412-5.
17. Dabhi AS, Bhatt NR, Shah MJ. Voglibose: an alpha glucosidase inhibitor. Journal of clinical and diagnostic research: *JCDR* 2013;7:3023.
18. Srinivasan K. Fenugreek (Trigonella foenum-graecum): A review of health beneficial physiological effects. *Food reviews international* 2006; 22:203-24.
19. Pradeep SR, Barman S, Srinivasan K. Attenuation of diabetic nephropathy by dietary fenugreek (Trigonella foenum-graecum) seeds and onion (Allium cepa) via suppression of glucose transporters and renin-angiotensin system. *Nutrition* 2019; 67:110543.
20. Radini IA, Hasan N, Malik MA, Khan Z. Biosynthesis of iron nanoparticles using Trigonella foenum-graecum seed extract for photocatalytic methyl orange dye degradation and antibacterial applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2018; 183:154-63.
21. Li G, Luan G, He Y, Tie F, Wang Z, Suo Y, et al. Polyphenol stilbenes from fenugreek (trigonella foenum-graecum L.) seeds improve insulin sensitivity and mitochondrial function in 3T3-L1 adipocytes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2018; 2018.

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-22 ]

22. 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; 41:242-51.
23. Gilson MK, Zhou H-X. Calculation of protein-ligand binding affinities. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 2007; 36:21-42.
24. Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature reviews Drug discovery* 2004; 3:935-49.
25. Bitencourt-Ferreira G, de Azevedo WF. *Molegro virtual docker for docking. Docking Screens for Drug Discovery*: Springer; 2019; p. 149-67.
26. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports* 2017; 7:42717.
27. Contrera JF. Validation of Toxtree and SciQSAR in silico predictive software using a publicly available benchmark mutagenicity database and their applicability for the qualification of impurities in pharmaceuticals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2013; 67:285-93.
28. Tice CM. Selecting the right compounds for screening: does Lipinski's Rule of 5 for pharmaceuticals apply to agrochemicals? P*est Management Science: formerly Pesticide Science* 2001;57:3-16.
29. Tshikalange T, Meyer J, Hussein A. Antimicrobial activity, toxicity and the isolation of a bioactive compound from plants used to treat sexually transmitted diseases. *Journal of Ethnopharmacology* 2005; 96:515-9.
30. de Camargo AC, Regitano-d'Arce MAB, Biasoto ACT, Shahidi F. Enzyme-assisted extraction of phenolics from winemaking by-products: Antioxidant potential and inhibition of alpha-glucosidase and lipase activities. *Food chemistry* 2016; 212:395-402.
31. Mohamed EAH, Siddiqui MJA, Ang LF, Sadikun A, Chan SH, Tan SC, et al. Potent α-glucosidase and α-amylase inhibitory activities of standardized 50% ethanolic extracts and sinensetin from Orthosiphon stamineus Benth as anti-diabetic mechanism. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2012; 12:176.
32. Rasouli H, Hosseini-Ghazvini SM-B, Adibi H, Khodarahmi R. Differential α-amylase/α-glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic compounds: a virtual screening perspective for the treatment of obesity and diabetes. *Food & function* 2017; 8:1942-54.
33. 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.
34. Choo C, Sulong N, Man F, Wong T. Vitexin and isovitexin from the leaves of Ficus deltoidea with in-vivo α-glucosidase inhibition. *Journal of ethnopharmacology* 2012; 142:776-81.

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-22 ]

# BIOINFORMATICS EVALUATION OF *T.FOENUM* ACTIVE COMPOUNDS IN SUPPRESSION OF A-GLUCOSIDASE ENZYME

Morteza Sadeghi [1*], Mehran Miroliaei [1]

*1. Department of Cell and Molecular Biology & Microbiology, University of Isfahan, Isfahan, Iran*

## ABSTRACT

**Background:** Diabetes mellitus is a metabolic syndrome characterized by elevated blood glucose. The α-glucosidase enzymes that are found in the small intestine are responsible for the hydrolysis of carbohydrates. The aim of this study was to Bioinformatics evaluation of *T.foenum* active compounds in suppression of α-glucosidase enzyme.

**Methods:** This study was a descriptive-analytical method. For this purpose, the compounds separation of *Trigonella foenum* were first downloaded from PubChem database and then the α-glucosidase enzyme file was obtained from PDB database. The toxicity class of compounds and the Lipinski rules were predicted by Toxtree & Protox II and the Swiss ADME server, respectively. Finally, molecular docking and enzyme interaction with the compounds in *Trigonella foenum*were performed by AutoDock Tools 1.5.6 and Molegro Virtual Docker 6.0. Interaction results were also analyzed using Discovery Studio 3.5 & Ligplot 2.1 software.

**Results:** The results indicated that all selected of compounds in *Trigonella foenum*were in follow with Lipinski's rules, proper binding energy, and lack of toxicity were appropriate options for α-glucosidase inhibition. But among these compounds, Vitexin had the lowest binding energy and the most inhibitory effect on the α-glucosidase enzyme, with -4.8 kcal/mol. These compounds also had lower binding energy than standard inhibitor (Voglibose).

**Conclusion:** From the results of this study, it can be concluded that among the most important compounds in *Trigonella foenum*, the Vitexin compound power inhibitor that due to more hydrogen and hydrophobic interactions with the α-glucosidase enzyme active site.

**Keywords:** Alpha-Glucosidase, *Trigonella foenum*, Binding energy, Molecular docking

* Hezar Jerib Street, Isfahan, Iran. Faculty of Biological Science and Technology, Department of Cell and Molecular Biology & Microbiology. Tel: +09195367923, Postal Code: 8174673441, E-mail: mo.sadeghi@sci.ui.ac.ir

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-22 ]