Iranian Journal of Biomedical Engineering
8 (2014) 229-239, www.ijbme.org
DOI: 10.22041/ijbme.2014.13288

Simulation of Pentapeptide Drug Interaction with β-Sheet-Rich Monomers of Aβ Protein for Alzheimer Treatment

V. Khandan[1], B. Firoozabadi[2*], M. S. Saidi[2]

[1]M.Sc Student, Mechanical Engineering Department, Sharif University oh Technology
[2]Professor, Mechanical Engineering Department, Sharif University oh Technology

Abstract

A hallmark of Alzheimer disease (the most common type of dementia in the elderly) is the aggregation and deposition of toxic species ranging from small soluble oligomers to insoluble fibril plaques of Amyloid-Beta protein originates from the cleavage of APP by Beta and Gama Secretase (Amyloid Hypothesis). An attractive therapeutic approach to treat AD is to identify small ligands capable of binding to A-Beta monomers and reverse its amyloidosis process. Here, a peptide drug having the sequence of GLMVG which has been derived from the C-terminal of A-Beta was used as breaker for a monomer of Beta sheet rich structure. The combination of Docking and Molecular Dynamics methods were used for simulation of drug-receptor interaction. This simulation implied that pentapeptide altered secondary structure of A-Beta monomer and declined its stability. This study proved that pentapeptide is capable to reverse Beta-sheet formation and can be considered as an AD drug in other preclinical studies.

Keywords: ***Alzheimer's disease (AD), Amyloid Beta (Aβ), β-Sheet Breaker, Docking, Molecular dynamics (MD)***

[*] **Corresponding author**

Address: *Bahar Firoozabadi, Mechanical Engineering Department, Sharif University oh Technology, P.O.Box: 11365-9567, Tehran, Iran*
Tel: *+98 21 66165683*
Fax: *+98 21 66000021*
E-mail: *firoozabadi@sharif.edu*

© Copyright 2015 ISBME, http://www.ijbme.org

مجله مهندسی پزشکی زیستی
دوره ۸، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۳، ۲۳۹-۲۲۹
شناسه دیجیتال: *10.22041/ijbme.2014.13288*

شبیه‌سازی نحوه‌ی اثر داروی پپتیدی بر تجزیه‌ی واحدهای منومری از صفحه‌های توسعه یافته‌ی پروتیین آمیلوییدبتا برای درمان بیماری آلزایمر

وحید خندان[۱]، بهار فیروزآبادی دهقان[۲*]، محمدسعید سعیدی[۲]

[۱]دانشجو کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شریف، تهران
[۲]استاد، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی شریف، تهران

چکیده

مطابق نظریه‌ی آمیلویید، علّت آسیب دیدن سلول‌های عصبی سیستم اعصاب مرکزی در بیماران آلزایمری، تجمّع و تشکیل توده‌های پروتیین آمیلوییدبتا است. بدین منوال، تجزیه‌ی صفحه‌های بتا در مرحله‌ی ابتدایی این فرایند به عنوان یک روش درمان مناسب برای این بیماری پیشنهاد می‌شود. دارویی که درین تحقیق مطابق همین هدف استفاده شده، پنج پپتید جداشده از پایانه‌ی کربوکسیل آمیلوییدبتا با توالی گلیسین، لوسین، متیونین، والین و گلیسین است که اثر آن بر یک منومر جدا شده از صفحه‌ی بتای توسعه یافته به عنوان گیرنده، به روش شبیه‌سازی ترکیبی داکینگ و دینامیک مولکولی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این شبیه‌سازی نشان می‌دهد که دارو با اتصال به منومر پروتیین آمیلوییدبتا در یک محل پیوند پایدار، ساختار ثانویه‌ی آن را تغییر داده و با حذف عوامل پایدار کننده‌ی ساختار منومر، فرایند تشکیل صفحه‌های بتا را در جهت عکس مسیر پیش‌رفت بیماری سوق می‌دهد. پنتاپپتاید به عنوان یک ناپایدار کننده‌ی صفحه‌های تجمّع یافته‌ی بتا از پروتیین آمیلوییدبتا معرفی شد. این دارو، می‌تواند در مراحل دیگر روند طراحی آن مورد بررسی قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: ***آلزایمر، آمیلوییدبتا، شکننده‌ی صفحه‌ی بتا، داکینگ و دینامیک مولکولی***

***عهده‌دار مکاتبات**

نشانی: تهران، خیابان آزادی، دانشگاه صنعتی شریف، دانشکده مهندسی مکانیک، **صندوق پستی:** ۹۵۶۷-۱۱۳۶۵

تلفن: ۶۶۱۶۵۶۸۳-۰۲۱، **دورنگار:** ۶۶۰۰۰۰۲۱-۰۲۱، **پیام نگار:** *firoozabadi@sharif.edu*

© Copyright 2015 ISBME, http://www.ijbme.org

۱- مقدمه

آلزایمر یک بیماری پیش‌رونده‌ی زوال حافظه و دیگر کارکردهای مهم ذهنی است. آلزایمر شایع‌ترین نوع دمانس[1] (زوال عقل) است. دمانس، گروهی از اختلال‌های مغزی[2] است که منجر به از دست دادن مهارت‌های فکری و اجتماعی می‌شود. این تغییرات به اندازه‌ای شدید است که می‌تواند زندگی روزمره‌ی فرد را تحت تأثیر قرار دهد. تعداد افراد مبتلا به آلزایمر در سال ۲۰۱۰ حدود ۳۵ میلیون نفر گزارش شده است [۱].

به هرحال، تاکنون علّت اصلی بیماری آلزایمر و روش درمان قطعی آن ناشناخته است. داروهای موجود فقط توانایی کنترل و کاهش سیر پیش‌رفت بیماری را دارند. بنابراین، یافتن روشی مناسب برای پیش‌گیری آن و کنترل پیش‌رفت آن از طریق مهار عوامل ایجاد بیماری اهمّیّت ویژه‌ای دارد [۲]. براساس مطالعه‌های آسیب‌شناختی[3] و نظریه‌ی آمیلویید[4]، توده‌های تجمّع یافته‌ی محلول[5] و پلاک‌های فیبری نامحلول[6] تشکیل شده از پروتیین آمیلوییدبتا، علّت اصلی آسیب دیدن سلول‌های عصبی در مغز افراد آلزایمری است [۱].

آمیلوییدبتا، پروتیین کوچکی با توالی‌های[7] ۳۹ تا ۴۳ آمینواسید است که در محیط برون سلولی با تجزیه‌ی پروتیین پیش‌ساز خود توسط آنزیم‌های بتا-ساکراتیز و گاما-ساکراتیز ایجاد می‌شود [۳]. مشخصه‌ی اصلی این پروتیین، ناپایداری شکل منومری آن و تمایل به ایجاد توده‌های تجمّع یافته است. اوّلین مرحله‌ی فرایند توده‌ای شدن، تغییر ساختار ثانویه[8] از مارپیچ آلفا[9] به صفحه‌ی بتا است که نتیجه‌ی آن تشکیل صفحه‌های توسعه یافته‌ی[10] بتا خواهد شد [۴].

به دلیل فراوانی و آسیب‌رسانی بیش‌تر توالی ۴۲ آمینواسیدی آمیلوییدبتا، تمرکز پژوهش‌ها روی این توالی است. یک روش درمانی که براساس نظریه‌ی آمیلویید برای بیماری آلزایمر پیشنهاد شده است، استفاده‌از داروهای پپتیدی با توالی‌های مشابه قسمت‌های مختلف آمیلوییدبتا برای مهار منومرها و یا تجزیه‌ی صفحه توسعه یافته‌ی بتا است [۵].

مطابق این ایده، نخستین بار در سال ۱۹۹۶، با استفاده‌از توالی لیزین۱۶-فنیل‌آلانین۲۲ به عنوان داروی مهارکننده، از تجمع پروتیین آمیلوئید بتا جلوگیری شد [۶، ۷]. در پژوهشی دیگر، مشخص شد که هسته‌ی آب‌گریز لوسین۱۷-آلانین۲۱، در نقش داروی مهار کننده‌ی پپتیدی، رشد صفحه‌های بتا و تشکیل ساختارهای فیبری را متوقف کرده و برای نخستین بار اصطلاح شکننده‌ی صفحه‌های بتا[11] به این مهار کننده اطلاق شد [۸، ۹]. بیش‌تر داروهای پپتیدی که تاکنون برای درمان بیماری آلزایمر به کار رفته، بر مهار پایانه‌ی آمینِ پروتیین آمیلوییدبتا متمرکز است و همواره به طراحی داروی پپتیدی که توانایی مهار کامل آمیلوییدبتا برای جلوگیری از تجمّع و تشکیل صفحه‌های بتا نیاز دارد تا از نفوذ و ایجاد حفره در سطح غشا ممانعت شود. پنتاپپتاید جداشده از ناحیه‌ی آب گریز ۳۳ تا ۳۷ پایانه کربوکسیل نخستین بار در سال ۲۰۱۳ توسط پیترز و هم‌کاران طراحی و امکان مهار پروتیین آمیلوییدبتا با این دارو به‌روش‌های تصویربرداری فلوئورسنت[12] و میکروسکوپ الکترونی[13] بررسی شد. پنتاپپتاید با مهار منومرهای آمیلوییدبتا می‌تواند فرایند تجمع و تشکیل توده‌های فیبری را متوقف کند [۱۰]. در سال ۲۰۱۴ به روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، محل‌های تشکیل پیوند این دارو با ساختار منومری غیرتوسعه یافته شناسایی شد و توانایی مهار فرایند توده‌ای شدن با این دارو مورد بررسی قرار گرفت [۱۱]. به هرحال، تاکنون نحوه‌ی تجزیه صفحه‌های توسعه یافته‌ی بتا آمیلوییدبتا با این دارو نامشخص است.

فرایند طراحی و تأیید یک دارو، مسیری طولانی و پرهزینه است که با آزمایش و بررسی‌های مختلف انجام می‌شود. عمده‌ی این پژوهش‌ها مربوط به مرحله پیش‌از انجام آزمایش روی انسان است که در اصطلاح به آن مطالعات پیش کلینیکی گفته می‌شود. در سال‌های اخیر، شبیه‌سازی نحوه‌ی

[1] Dementia
[2] Neurodegeneration
[3] Patiological studies
[4] Amyloid Hypothesis
[5] Soluble Oligomers
[6] Insoluble Fibril Plauqes
[7] Sequenses
[8] Secondary structure
[9] Alpha Helix
[10] Beta Sheet Reach
[11] Beta Sheet Breaker (BSB)
[12] Forster Resonance Energy Transfer
[13] Transmission Electron Microscopy

© Copyright 2015 ISBME, http://www.ijbme.org

اثر دارو، جای‌گاه ویژه‌ای در بین این مطالعه‌ها پیدا کرده و ابزاری مناسب برای کاهش هزینه‌ی طراحی دارو است [۱۲].

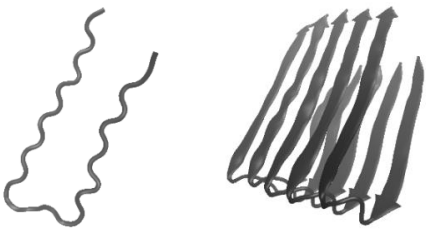
استفاده از داروهای پپتیدی برای درمان انواع سرطان‌ها، بیماری دیابت و دیگر بیماری‌های عصبی مفید است [۱۰]. بدین روی، شبیه‌سازی نحوه‌ی اثر داروی پپتیدی با توالی گلیسین، لیوسین، متیونین، والین و گلیسین (مشابه توالی ۳۳ تا ۳۷ پایانه کربوکسیل پروتیین آمیلوییدبتا) روی واحدهای منومری از صفحه‌ی توسعه یافته‌ی بتا و استفاده از آن به عنوان یک شکننده‌ی صفحه‌ی بتای جدید به روش شبیه‌سازی ترکیبی داکینگ و دینامیک مولکولی[۱۴] هدف از انجام این پژوهش است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه مدل هندسی

پروتیین آمیلوییدبتا در محیط‌های محلول، ساختار سه‌بعدی واحدی ندارد. این نوع پروتیین‌ها در اصطلاح بدون ساختار ذاتی[۱۵] نامیده می‌شوند و به روش کریستالوگرافی قابل تصویربرداری نیستند. بدین سبب، مدل‌های هندسی این پروتیین به روش‌های تشدید مغناطیسی هسته‌ای[۱۶] و یا دینامیک مولکولی طراحی شده‌اند.

همان طور که در شکل (۱) مشاهده می‌شود، مدل هندسی استفاده شده درین پژوهش برای گیرنده‌ی دارو، واحد منومری جدا شده از ساختار فیبری آمیلوییدبتا است که در سال ۲۰۰۵ توسط لوریس و هم‌کاران تهیّه شده‌است [۱۳].[۱۷]



شکل (۱)- نمایش مدل‌های هندسی ساختار صفحه‌ی بتای توسعه یافته (راست) و منومر جدا شده از آن (چپ)

[14] Molecular Dynamics (MD)
[15] Intrinsically Unstructured
[16] NMR spectroscopy
[17] Pdb ID: 2BEG

مدل هندسی دارو نیز پس‌از طراحی و کمینه‌سازی اوّلیه[۱۸] توسط شبیه‌سازی تعادلی دینامیک مولکولی به مدّت ۵ns، ساختار پایدار خود را پیدا کرده‌است. مدل‌های هندسی دارو و گیرنده‌های پروتیینی پس‌از تهیّه در مرحله‌ی بعد در اختیار شبیه‌سازی داکینگ قرار می‌گیرد.

۲-۱- شبیه‌سازی داکینگ

واکنش اتصال دارو به گیرنده در مرتبه زمانی نانوثانیه تا ثانیه اتفاق می‌افتد که شبیه‌سازی آن به روش دینامیک مولکولی بسیار پرهزینه و حتّا ناممکن است [۱٤]. شبیه‌سازی داکینگ، تمامی برهم‌کنش‌های ممکن را در یک شبکه محاسباتی توزیع می‌کند. براساس روش‌های بهینه‌سازی[۱۹] و تبدیل‌ها برپایه‌ی شبکه[۲۰] ساختارهایی که بهترین رتبه را دارند برای محتمل‌ترین حالت‌های تشکیل پیوند بین دو ساختار پروتیینی معرفی را می‌کند. این روش، شبیه‌سازی‌ها را ساده‌تر کرده و بر بسیاری از محدودیت‌های محاسباتی غلبه می‌کند [۱۵]. شبیه‌سازی‌های داکینگ درین پژوهش برای گیرنده‌ی منومری آمیلوییدبتا توسط سرور دانشگاه بوستن[۲۱] صورت گرفته‌است [۱٦-۱۸]. درین سرور، ساختارهای پروتیینی به صورت صلب است و تابع هدف آن تمامی برهم‌کنش‌های آب‌گریزی، الکتروستاتیک و واندوالس را درنظر می‌گیرد.

۲-۱- شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

نتایج داکینگ، هندسه‌ی ورودی شبیه‌سازی دینامیک مولکولی را دربر می‌گیرد. تمامی شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی به صورت تعادلی، با گام زمانی ۲fs و با شرط مرزی پریودیک[۲۲] انجام شده‌است [۱۹، ۲۰].[۲۳] شعاع برش ۱۲Å بوده و کمینه سازی اوّلیه در مدت ۱۰ps است. محیط محلول با ۲۵ تا ۳۰Å لایه گذاری[۲٤] مولکول‌های آب در اطراف ساختارهای سه‌بعدی دارو و گیرنده مدل‌سازی شده که این مقدار با توجه به ابعاد پروتیین، برای جلوگیری از خروج دارو یا گیرنده از

[18] CHIMERA software
[19] Optimization Methods
[20] Grid-base transformation
[21] ClusPro Boston university (BU)
[22] Periodic Boundary Condition
[23] NAMD software
[24] Padding

© Copyright 2015 ISBME, http://www.ijbme.org

واحد شبیه‌سازی[25] مناسب به نظر می‌رسد. هم‌چنین مدل‌های متفاوتی برای مدل‌سازی اتمی مولکول‌های آب وجود دارد که درین تحقیق از مدل سه‌اتمی صلب[26] به دلیل سادگی و کارایی بالا برای این منظور استفاده شد [۲۱].

پس‌از اضافه شدن مولکول‌های آب به محیط شبیه‌سازی، یون‌های نمک سدیم کلرید برای خنثا کردن واحد شبیه‌سازی به محلول اضافه شد. واحد پریودیک به طور تقریبی، مکعبی به ابعاد ۹۰Å و تعداد ۶۰۰۰۰ اتم است. محاسبه کمیت‌های ترمودینامیکی در دسته جواب ترمودینامیکی تعداد (N)، فشار (P) و دمای (T) ثابت انجام شد. دما و فشار محیط شبیه‌سازی در شرایط بیولوژیک (دمای ۳۱۰°k و فشار ۱atm) ثابت نگه داشته شد. برای ثابت نگه‌داشتن دما و فشار از ترموستات لانجوین با ضریب دمپینگ[27] $1ps^{-1}$ و باروستات لانجوین با دوره نوسانی[28] ۲۰۰fs و مقیاس دمایی دمپینگ[29] ۵۰fs استفاده شد. با استفاده‌از الگوریتم اوالدز[30] محاسبه پتانسیل‌های دوربرد الکتروستاتیک ساده‌تر شد. تمامی پیوندهای یگانه (خطی[31]) اتم‌های متصل به اتم هیدروژن بدون نوسان درنظر گرفته شد.

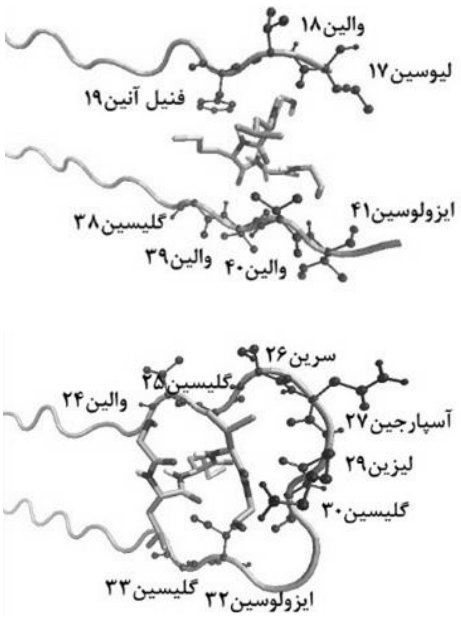
۳- یافته‌ها و بحث

دارویی که درین شبیه‌سازی برای درمان بیماری آلزایمر بررسی شد، توالی گلیسین۳۳، لیوسین۳۴، متیونین۳۵، والین۳۶ و گلیسین۳۷ از پایانه‌ی کربوکسیل پروتیین آمیلوییدبتا است که هدف استفاده‌از آن، معکوس کردن فرایند تشکیل صفحه‌های توسعه یافته‌ی بتا است. منومرهای تشکیل دهنده‌ی این ساختار، مشابه یک‌دیگر بوده و ازین نظر، درین پژوهش فقط یکی‌از منومرها به عنوان گیرنده‌ی دارو در نظر گرفته شد.

شبیه‌سازی داکینگ، دو محل پیوند محتمل برای اثر دارو بر منومر آمیلوییدبتا، پیش‌بینی می‌کند. ایندو مد پیوند A و B در شکل (۲) نشان داده شده‌است. براساس نتایج این شبیه‌سازی، مد پیوند A از اتصال دارو به واحدهای لوسین۱۷، والین۱۸، فنیل‌آلانین۱۹، گلیسین۳۸، والین۳۹، والین۴۰ و ایزولوسین۴۱ از منومر آمیلوییدبتا۴۲ تشکیل شده‌است. شش آمینواسید گلیسین۲۵، سرین۲۶، آسپارجین۲۷، لیزین۲۹، گلیسین۳۰ و ایزولوسین۳۲ بین واحدهای والین۲۴ تا گلیسین۳۳ از گیرنده آمیلوییدبتا، در شکل‌گیری مد پیوند B دخالت دارند.

۳-۱- تحلیل پایداری پیوندهای محتمل

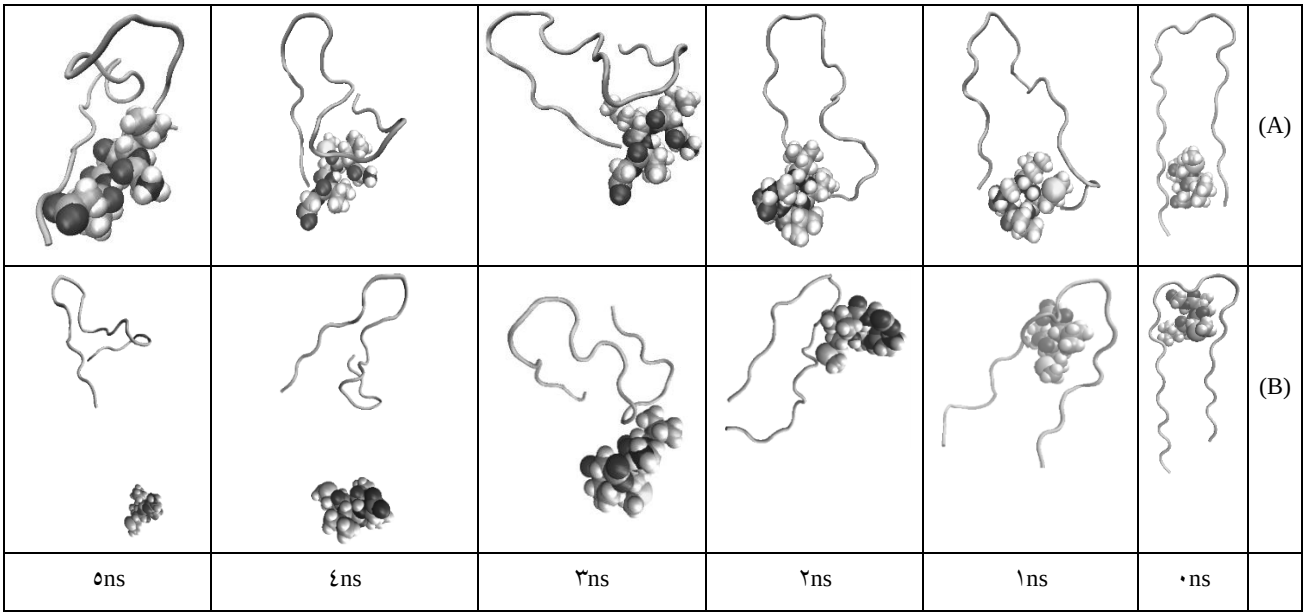
تغییرات ساختارهای هندسی دارو و گیرنده در حین فرایند اثر دارو بسیار مهم و تاثیرگذار است، به طوری که بسیاری از محل‌های مناسب تشکیل پیوند با این تغییرات هندسی آشکار شده و در دست‌رس دارو قرار می‌گیرند. برای اینکه شبیه‌سازی داکینگ ساختارهای هندسی دارو و گیرنده را به صورت صلب در نظر می‌گیرد، بررسی تغییرات ساختارهای هندسی دارو و گیرنده با این روش ناممکن است. این امکان نیز وجود دارد که دارو در برخی‌از محل‌های پیش‌بینی شده، از گیرنده جدا شده و با تغییر دادن ساختار هندسی گیرنده، محل پیوند جدیدی را پیدا کند. بدین سبب، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای بررسی تغییرات ساختار سه‌بعدی گیرنده و دارو و بررسی پایداری پیوندهای پیش‌بینی شده ضروری است.



شکل (۲)- نمایش نتیجه‌ی شبیه‌سازی داکینگ در اتصال پنتاپپتاید به واحد منومری در دو مد پیوند A و B.

[25] Simulation Box
[26] TIP3P
[27] Langevin Damping
[28] Langevin Piston Period
[29] Langevin Piston Decay
[30] Particle Mesh Evalds (PME)
[31] Linear Bonds

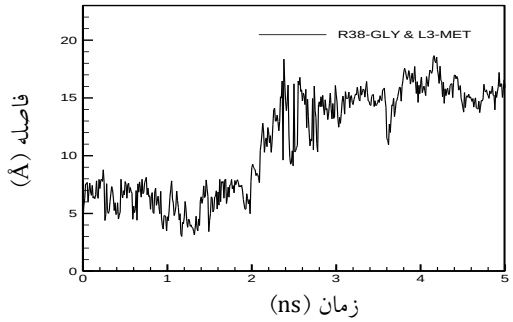
© Copyright 2015 ISBME, http://www.ijbme.org



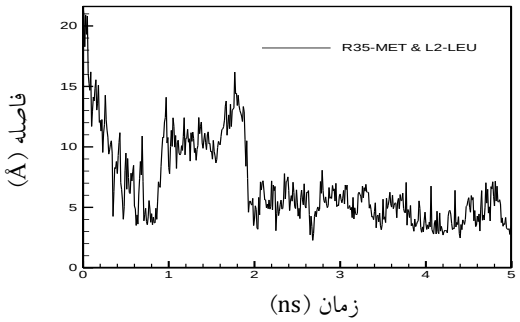
شکل (۳)- موقعیت دارو و گیرنده در طول شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای دو محل پیوند A و B؛ درین شکل تمامی اتم‌های تشکیل دهنده‌ی ساختار دارو نشان داده شده، ولی ساختار هندسی گیرنده، فقط با نمایش اتصال اتم‌های بدنه‌ی اصلی واحدهای پروتیینی مشخص شده‌است.

نتیجه‌ی شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای ایندو مد پیوند نشان می‌دهد که پنتاپپتاید در مد پیوند A در تمام طول مدت ۵ نانوثانیه از گیرنده جدا نشده‌است (شکل۳). هم‌چنین مشاهده شد که اتصال بین واحدهای گلیسین۳۸ از گیرنده منومری و متیونین۳ دارو پایدار نبوده و با گذشت حدود ۲ نانوثانیه از شروع شبیه‌سازی شکسته شده (شکل٤) و با پیوند واحدهای لوسین۲ دارو و متیونین۳۵ از گیرنده، جای‌گزین می‌شود (شکل۵).

برخلاف مد A، مد پیوند B محل مناسبی را برای اثر دارو بر گیرنده نشان نمی‌دهد. دارو در محل این مد پیوند، پس‌از گذشت حدود ۲ نانوثانیه اتصال خود را با گیرنده از دست می‌دهد (شکل۳) و از گیرنده منومری فاصله می‌گیرد. پایداری دارو در محل پیوند با بررسی نمودارهای انحراف جذر میانگین مربع‌ها[۳۲] تحلیل شد. در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، انحراف جذر میانگین مربع‌ها معیاری از تفاوت دو آرایش فضایی متفاوت است. حالت ابتدایی شروع شبیه‌سازی به عنوان حالت مرجع درنظر گرفته شد و انحراف جذر میانگین مربع‌ها در طول شبیه‌سازی نسبت به این حالت مرجع محاسبه است. هم‌گرا شدن انحراف جذر میانگین مربع‌ها محاسبه شده در طول شبیه‌سازی، به تعادل رسیدن سیستم را نشان می‌دهد.



شکل (٤)- فاصله‌ی بین اتم‌های Cα از واحدهای گلیسین۳۸ گیرنده و متیونین دارو

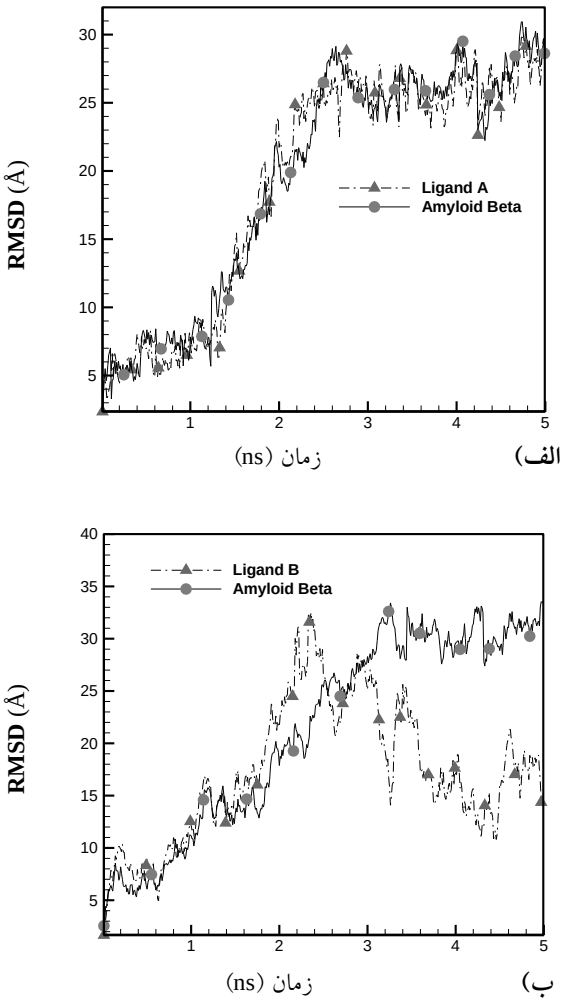


شکل (۵)- فاصله‌ی بین اتم‌های Cα از واحدهای لوسین دارو و متیونین۳۵ از گیرنده

[32] Root-mean-square Deviation, RMSD

© Copyright 2015 ISBME, http://www.ijbme.org

به عبارت دیگر، می‌توان گفت که هم‌گرا بودن نمودار انحراف جذر میانگین مربع‌ها، پایداری را معرفی می‌کند و وجود تشابه در رفتار نمودارهای انحراف جذر میانگین مربع‌ها مربوط به دارو و ناحیه درگیر در پیوند از گیرنده درنتیجه‌ی پایدار بودن مد پیوند مورد نظر است. در محاسبه‌ی انحراف جذر میانگین مربع‌ها برای یک پروتیین، معمولاً اتم‌های غیر هیدروژنی بدنه‌ی اصلی پروتیین در نظر گرفته می‌شوند. درین پژوهش نیز از همین روش استفاده شد.



شکل (٦)- مقادیر RMSD برای دارو و گیرنده؛ الف) در مد پیوند A؛ ب) در مد پیوند B

با توجّه به نمودار الف در شکل (٦)، برای مد پیوند A مقادیر انحراف جذر میانگین مربع‌ها برای دارو و گیرنده درطی مدّت شبیه‌سازی رفتار مشابهی دارد. هردو ساختار پس‌از زمان حدود ۲٫۵ نانوثانیه پایداری خود را در محیط به دست آورد، امّا مد پیوند B محل مناسبی برای اثر دارو بر منومر آمیلوییدبتا نیست.

شکل (٦) نشان می‌دهد که مقادیر انحراف جذر میانگین مربع‌ها برای دارو و گیرنده در مد پیوند B تا لحظه‌ی حدود ۲ نانوثانیه رفتار مشابهی دارند، امّا پس‌از این لحظه به دلیل شکستن پیوند، دو نمودار ازهم فاصله گرفته و رفتار متفاوتی نسبت به هم پیدا می‌کنند. پس‌از شکستن پیوند B، منومر در زمان حدود ۳٫۵ نانوثانیه پایدار شد، ولی مقادیر انحراف جذر میانگین مربع‌ها برای دارو هم‌گرا نشده و تا پایان شبیه‌سازی، دارو ناپایدار باقی می‌ماند.

۳-۲- تحلیل ساختاری پیوندهای فعّال

در مراحل پیشین، شبیه‌سازی ترکیبی داکینگ و دینامیک مولکولی محل پیوند فعّال A را برای اتصال پنتاپپتاید به منومر آمیلوییدبتا معرفی کرد. درین مرحله، جزییات ساختاری این محل پیوند پایدار، شامل برهم‌کنش‌های آب‌گریزی و پیوندهای هیدروژنی بین دارو و گیرنده مورد بحث قرار دارد.

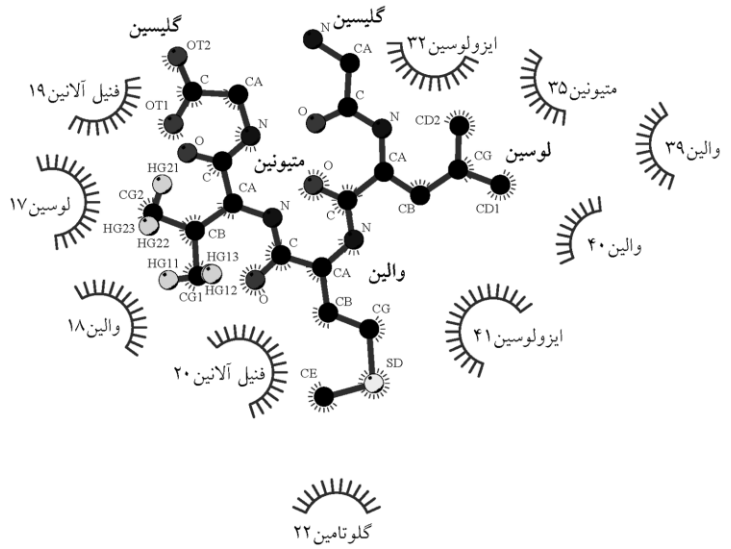
پیوندهای هیدروژنی پایدار کننده، همواره وجود ندارند و در طول مدّت اتصال ساختارهای پروتیینی در بازه‌های زمانی مختلف تشکیل می‌شوند. در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، درصد سکونت یک پیوند هیدروژنی برابر نسبت تعداد دفعات برقراری پیوند به کل زمان پایداری اتصال دو ساختار است.

در جدول (۱)، اطلاعات مربوط به پیوندهای هیدروژنی پایدار کننده‌ی محل پیوند فعّال A نشان داده شده‌است. درین جدول فقط پیوندهای با طول کم‌تر از ٤ Å و درصد سکونت بالای ٤٠ نمایش داده شده‌است.

برهم‌کنش‌های آب‌گریزی نیز یکی دیگر از عوامل پایدار کننده‌ی اتصال داروهای پپتیدی به گیرنده‌های پروتیینی است که با بخش‌های غیرقطبی آمینواسیدها ارتباط دارد [۲۲]

در شکل (۷)، برهم‌کنش‌های آب‌گریزی موجود در ساختار تعادلی محل پیوند فعّال A در پایان شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای بازه‌ی طول پیوند ۲٫۹ Å تا ٤٫۹ Å نشان داده شده‌است.

© Copyright 2015 ISBME, http://www.ijbme.org



شکل (۷)- نمایش برهم‌کنش‌های آب‌گریزی بین پنتاپپتاید و واحدهای منومر آمیلوییدبتا در محل پیوند A

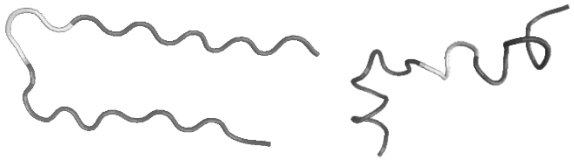
جدول (۱)- پیوندهای هیدروژنی بین پنتاپپتاید و واحدهای منومر آمیلوییدبتا در محل پیوند A

واحد اهدا کننده	واحد دریافت-کننده	درصد سکونت
لوسین۱۷	گلیسین۵ (دارو)	۹۳/۴۱
لوسین۱۷	گلیسین۵ (دارو)	۹۰/۲۲
لوسین۱۷	متیونین (دارو)	۸۷/۲۳
والین۱۸	لوسین (دارو)	۶۳/۴۷
ایزولوسین۴۱	متیونین (دارو)	۶۲/۰۸
گلیسین۳ (دارو)	لوسین۱۷	۶۱/۲۸
لوسین (دارو)	متیونین۳۵	۶۱/۲۸
والین۱۸	متیونین (دارو)	۵۷/۸۸
والین۱۸	متیونین (دارو)	۵۰/۳
لوسین (دارو)	والین۳۹	۴۸/۱
والین۳۹	لوسین (دارو)	۴۶/۷۱
ایزولوسین۴۱	متیونین (دارو)	۴۵/۵۱
فنیل‌آلانین۱۹	والین (دارو)	۴۰/۱۲

۳-۳- تحلیل ساختاری گیرنده

هدف از مطالعه واحد منومری، بررسی نحوه‌ی اثر پنتاپپتاید در تغییر ساختار ثانویه‌ی گردش بتا[33] در توالی لیزین۲۸ تا ایزولوسین۳۲ و تجزیه‌ی پل نمکی[34] لیزین۲۸-آسپارجین۲۳ است که هردو از اجزای پایدار کننده‌ی صفحه‌های توسعه یافته‌ی بتا هستند.

در فرایند تشکیل صفحه‌های توسعه یافته‌ی بتا، ساختار ثانویه‌ی پروتیین آمیلوییدبتا از مارپیچ آلفا (شبیه L) به صفحه بتا (شبیه U) تغییر پیدا می‌کند. مرحله‌ی ابتدایی و انتهایی این فرایند در شکل (۸) نشان داده شده‌است.



(الف) (ب)

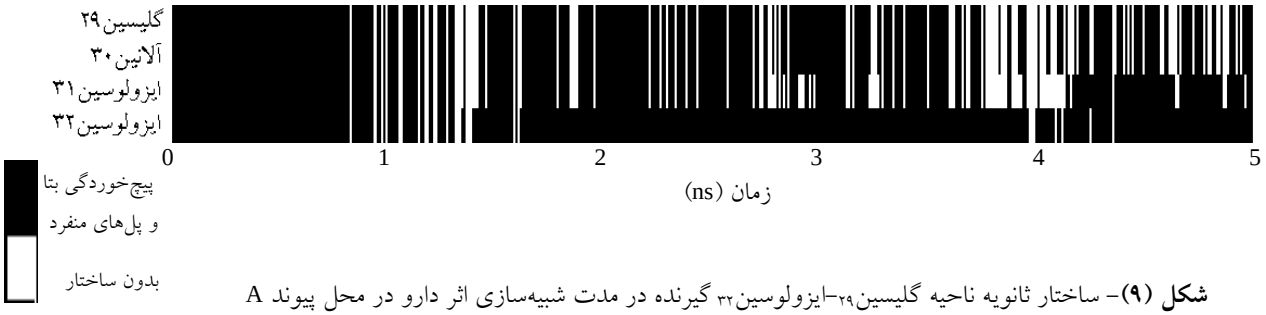
شکل (۸)- الف) ساختار منومر در مرحله‌ی ابتدایی؛ ب) ساختار منومر در مرحله‌ی انتهایی؛ فرایند تشکیل صفحه‌های توسعه یافته‌ی بتا؛ درین دو ساختار، ناحیه‌ی مرکزی گلیسین۲۹-ایزولوسین۳۲ با رنگ روشن تمایز داده شده‌است.

در مرحله انتهایی این فرایند، شکل‌گیری پیچ‌خوردگی بتا در ناحیه‌ی مرکزی گلیسین۲۹-ایزولوسین۳۲، باعث پایداری ساختار صفحه‌ی بتا شده و باعث شکل‌گیری توده‌های محلول و پلاک‌های فیبری می‌شود.

[33] B Turn

[34] Salt Bridge

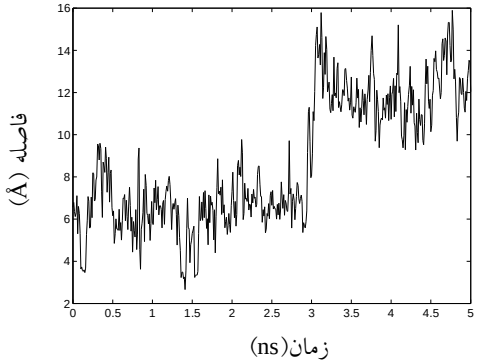
© Copyright 2015 ISBME, http://www.ijbme.org



شکل (۹)- ساختار ثانویه ناحیه گلیسین۲۹-ایزولوسین۳۲ گیرنده در مدت شبیه‌سازی اثر دارو در محل پیوند A

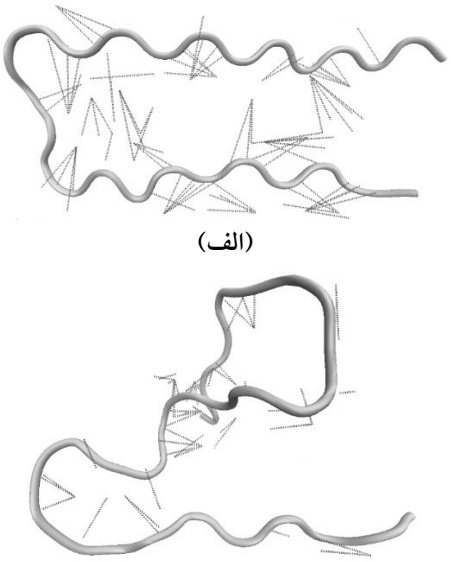
شکل (۹) نشان می‌دهد پنتاپپتاید با اتصال به منومر آمیلوییدبتا در محل پیوند A، ساختار ثانویه‌ی ناحیه‌ی گلیسین۲۹-ایزولوسین۳۲ را تغییر داده و پیچ‌خوردگی بتا شکل گرفته درین ناحیه را حذف می‌کند

پل نمکی لیزین۲۸-آسپارجین۲۳ دیگر پارامتر پایدار کننده‌ی منومر آمیلوییدبتا در ساختار صفحه‌ی توسعه یافته‌ی بتا است. همان طور که در شکل (۱۰) نشان داده شده‌است، این پل نمکی در طول اثر پنتاپپتاید در لحظه‌ی ۳ns شکسته شده و ساختار منومر را ناپایدار می‌کند.



شکل (۱۰)- نمایش طول پیوند نمکی لیزین۲۸-آسپارجین۲۳

پیوندهای هیدروژنی تشکیل‌شده میان واحدهای گیرنده نیز از دیگر عوامل پایدار کننده‌ی منومر گیرنده در صفحه‌ی توسعه یافته‌ی بتا است. در شکل (۱۱) می‌توان این ساختار را بعداز اثر دارو (لحظه‌ی پایان شبیه‌سازی) با حالتی که جزء تشکیل دهنده‌ی ساختار صفحه‌ی بتای توسعه یافته است (لحظه‌ی شروع شبیه‌سازی) از نظر پیوندهای هیدروژنی پایدار کننده، مقایسه کرد. همان طور که در شکل (۱۱) مشاهده می‌شود، با تأثیر دارو در محل پیوند A، ارتباط بین پایانه‌های کربوکسیل و آمین منومر آمیلوییدبتا حذف شده و پیوندهای هیدروژنی میان واحدهای تشکیل دهنده‌ی ایندو ناحیه شکسته شده‌اند. با شکسته شدن این پیوندها، ساختار منومر ناپایدار شده و ساختار آن از شکل U (شکل پایدار در صفحه‌ی بتا توسعه یافته) در جهت برگشت فرایند تشکیل صفحه‌های بتا به شکل L (مارپیچ آلفا) متمایل می‌شود.



شکل (۱۱)- الف) نمایش پیوندهای هیدروژنی پایدار کننده‌ی ساختار منومر در ساختار صفحه‌ی بتای توسعه یافته؛ ب) پس‌از اثر دارو در محل پیوند A

براساس مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ انجام شد، توانایی اتصال پنتاپپتاید با توالی گلیسین، لوسین، متیونین، والین و گلیسین به پروتیین آمیلوییدبتا و مهار تجمع پروتیین آمیلوییدبتا به روش تجربی به کمک تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونیکی تأیید شده‌است [۱۰]. نتایجی که

© Copyright 2015 ISBME, http://www.ijbme.org

درین پژوهش به روش شبیه‌سازی ترکیبی انجام شد، به طور کیفی امکان تشکیل پیوند بین این پنتاپپتاید با پروتیین آمیلوییدبتا را تأیید می‌کند.

در فرایندهای طراحی دارو، نقش مطالعات شبیه‌سازی[۳۵] در طراحی ترکیب پیشرو[۳۶] و بررسی اثرات تغییرات ساختاری روی آن، برای دست‌یابی به ساختار نهایی بسیار پررنگ است و یکی‌از پرهزینه‌ترین مراحل طراحی دارو را به خود اختصاص می‌دهد. طبق پژوهش سال ۲۰۱۰ بروس که با هدف بررسی تأثیر آمینواسید پرولین در تجزیه صفحه‌های بتا توسط پنتاپپتاید LPFFD انجام شد، نحوه‌ی اثر این ترکیب پیشرو با ترکیب جای‌گزین LHFFD به روش شبیه‌سازی ترکیبی داکینگ و دینامیک مولکولی مقایسه شد [۲۳].

درین پژوهش، با معرفی پنتاپپتاید GLMVG به عنوان یک ترکیب پیشرو در درمان بیماری آلزایمر، زمینه را برای شکل‌گیری پژوهش‌های دیگر روی این ترکیب پیشرو را برای رسیدن به ساختار داروی مؤثر فراهم می‌آورد.

٤- نتیجه‌گیری

تشکیل صفحه‌های توسعه یافته‌ی بتا، اوّلین مرحله از تشکیل توده‌های محلول و پلاک‌های فیبری نامحلول آمیلوییدبتا است. یکی‌از روش‌های پیشنهادی برای درمان بیماری آلزایمر، معکوس کردن فرایند تشکیل این صفحه‌ها است. دارویی که بدین منظور درین پژوهش مورد استفاده قرار گرفت، توالی گلیسین۳۳ تا گلیسین۳۷ جدا شده از پایانه‌ی کربوکسیل پروتیین آمیلوییدبتا است. نحوه‌ی اثر آن به روش ترکیبی داکینگ و دینامیک مولکولی بر یکی‌از منومرهای تشکیل دهنده‌ی صفحه‌های توسعه یافته‌ی بتا مورد مطالعه قرار گرفت. درنتیجه‌ی این شبیه‌سازی، دارو با اتصال به گیرنده در یک محل پیوند پایدار، ساختار ثانویه آن را تغییر داد. این تغییر، با حذف عوامل پایدار کننده‌ی ساختار منومر (پیچ‌خوردگی بتا، پل نمکی و پیوندهای هیدروژنی پایانه‌های کربوکسیل و آمین) فرایند تشکیل صفحه‌های بتا برای یک منومر تشکیل دهنده در جهت عکس پیش‌رفت بیماری آلزایمر انجام شده‌است. این پژوهش پنتاپپتاید مذکور را به عنوان یک شکننده‌ی صفحه‌های بتای پروتیین آمیلوییدبتا، معرفی می‌شود و تأیید می‌کند که این دارو را می‌توان در مراحل دیگر روند طراحی دارو و مطالعات پیش‌کلینیکی مورد بررسی قرار داد.

[35] In Silico Studies
[36] Lead Compound

٥- مرجع‌ها

[1] J. Hardy, D. J. Selkoe, "The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics" *Science* 297 (5580): 353-356, 2002.

[2] S. Musardo, C. Saraceno, S. Pelucchi, E. Marcello, "Trafficking in neurons: Searching for new targets for Alzheimer's disease future therapies" *European Journal of Pharmacology* 719 (1–3): 84-106, 2013.

[3] C. R. Harrington, "The Molecular Pathology of Alzheimer's Disease" *Neuroimaging Clinics of North America*. 22 (1): 11-22, 2012.

[4] W. M. Tay, D. Huang, T. L. Rosenberry, A. K. Paravastu, "The Alzheimer's Amyloid-β(1–42) Peptide Forms Off-Pathway Oligomers and Fibrils That Are Distinguished Structurally by Intermolecular Organization" *Journal of Molecular Biology* 425 (14): 2494-2508, 2013.

[5] K. L. Sciarretta, D. J. Gordon, S. C. Meredith, "Peptide-Based Inhibitors of Amyloid Assembly, in Methods in Enzymology" K. Indu and W. Ronald, Editors, Academic Press: 273-312, 2006.

[6] L. O. Tjernberg, C. Lilliehöök, D. J. Callaway, J. Näslund, S. Hahne, J. Thyberg, L. Terenius, C. Nordstedt, "Controlling amyloid beta-peptide fibril formation with protease-stable ligands" *J Biol Chem* 272 (19): 12601-5, 1997.

[7] L. O. Tjernberg, et al. "Arrest of beta-amyloid fibril formation by a pentapeptide ligand" *J Biol Chem* 271 (15): 8545-8, 1996.

[8] C. Soto, "Alzheimer's and prion disease as disorders of protein conformation: implications for the design of novel therapeutic approaches" *Journal of Molecular Medicine* 77 (5): 412-418, 1999.

[9] C. Soto, et al. "Inhibition of Alzheimer's amyloidosis by peptides that prevent beta-sheet conformation" *Biochem Biophys Res Commun* 226 (3): 672-80, 1996.

[10] C. Peters, M. S. Kindy, M. Baumann, B. Frangione, "Inhibition of amyloid beta-induced synaptotoxicity by a pentapeptide derived from the glycine zipper region of the neurotoxic peptide" *Neurobiology of aging* 34 (12): 2805-2814, 2013.

[۱۱] خندان و هم‌کاران، "بررسی مکانیسم مولکولی جلوگیری از تشکیل توده‌های بتا-آمیلویید توسط پنتاپپتاید به روش شبیه‌سازی داکینگ و دینامیک مولکولی" *مهندسی مکانیک مدرس*، دوره ۱۵، شماره ۱: ۳۹-٤۸، ۱۳۹۳.

© Copyright 2015 ISBME, http://www.ijbme.org

[12] H. Alonso, A. A. Bliznyuk, J. E. Gready, "Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design" *Medicinal Research Reviews* 26 (5): 531-568, 2006.
[13] T. Lührs, C. Ritter, M. Adrian, D. Riek-Loher, B. Bohrmann, H. Döbeli, D. Schubert, R. Riek, "3D structure of Alzheimer's amyloid-β (1–42) fibrils" *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (48): 17342-17347, 2005.
[14] S. Kalyaanamoorthy, Y. P. P. Chen, "Modelling and enhanced molecular dynamics to steer structure-based drug discovery" *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 2013.
[15] I. A. Vakser, C. Aflalo, "Hydrophobic docking: a proposed enhancement to molecular recognition techniques" Proteins 20 (4): 320-9, 1994.
[16] D. Kozakov, et al. "An FFT-based protein docking program with pairwise potentials" *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 65 (2): 392-406, 2006.
[17] D. Kozakov, D. Beglov, T. Bohnuud, S. E. Mottarella, B. Xia, D. R. Hall, S. Vajda, "How good is automated protein docking?" *Protein: Structure, Function and Bioinformatics* 81 (12): 2159-2166, 2013.
[18] S. R. Comeau, D. W. Gatchell, S. Vajda, C. J. Camacho, "ClusPro: a fully automated algorithm for protein–protein docking" *Nucleic Acids Research* 32 (suppl 2): 96-99, 2004.
[19] J. C. Phillips, et al. "Scalable molecular dynamics with NAMD" *Journal of Computational Chemistry* 26 (16): 1781-1802, 2005.
[20] Computational Biochemistry and Biophysics. Bahman 21 CRC Press, 1379.
[21] J. L. Abascal, R. G. Fernández, C. Vega, "Carignano, The melting temperature of the six site potential model of water" 2006.
[22] B. W. Matthews, "Hydrophobic Interactions in Proteins, in eLS" John Wiley & Sons, Ltd, 2001.
[23] N. J. Bruce, D. Chen, S. G. Dastidar, G. E. Marks, C. H. Schein, R. A. Bryce, "Molecular dynamics simulations of Aβ fibril interactions with β-sheet breaker peptides" *Peptides* 31 (11): 2100-2108, 2010.

© Copyright 2015 ISBME, http://www.ijbme.org