

## شناسایی موثرترین ترکیبات متصل شونده به گیرنده NMDA به عنوان یک عامل کلیدی در بیماری الزایمر با استفاده از غربالگری مجازی ترکیبات بانک اطلاعاتی طب سنتی چین

امیر صدیقی، میلاد لگزیان، ملیحه محمدی، آرزو قهقایی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه سیستان و بلوچستان

۲- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه سیستان و بلوچستان

۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه سیستان و بلوچستان

۴- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه سیستان و بلوچستان

Email: amirbio1996@gmail.com

Email: m.lagzian@science.usb.ac.ir

Email: mmohammadi.tmu@gmail.com

Email: arezou@chem.usb.ac.ir

### چکیده

در حال حاضر بازدارنده موثری برای گیرنده NMDA وجود ندارد که بتواند مسیر تحریک این گیرنده و وقایع پاتولوژیک بیماری الزایمر را کاهش دهد، بنابراین در این تحقیق غربالگری مجازی ترکیبات گیاهی چینی (TCM) علیه گیرنده NMDA با روش لیگاند داکینگ در سه سطح دقت HTVS، SP، و XP به ترتیب با خروجی ۱۱۱۹، ۳۴۱۱۹، ۶۴۸۳، توسط Schrodinger 2021-2 انجام گردید. تجزیه و تحلیل محاسبات اتصال مولکولی نشان داد که ترکیبات (ID:19476) C33H54N5O7، (ID:2140) C46H71N7O15S4 و (ID:13592) C53H71N8O15 میل ترکیبی بالایی را به گیرنده NMDA نشان دادند. داده های بدست آمده می توانند کاندید مناسبی برای تعدیل فعالیت گیرنده های NMDA باشند.

واژه های کلیدی: مطالعات داکینگ، گیرنده NMDA، ترکیبات گیاهی سنتی چین، الزایمر

## مقدمه

### نقش آمیلوئید بتا در الزایمر

الزایمر نوعی بیماری مغزی پیشرونده می باشد که سبب اختلال در سیستم یادگیری و حافظه می شود این بیماری که اولین بار توسط دکتر آلویس الزایمر در سال ۱۹۰۷ شناخته شده است شایعترین علت زوال عقل می باشد [1]. بیشترین میزان شیوع این بیماری در قاره آسیا است، بطوریکه تقریباً ۴۸ درصد کل این بیماری را در جهان به خود اختصاص می دهد. پیشبینی می شود این میزان به ۵۹ درصد در سال ۲۰۵۰ افزایش یابد [2]. پس از سن ۶۵ سالگی احتمال وقوع این بیماری هر ۵ سال، دو برابر میشود و معمولاً در عرض ۳ تا ۹ سال پس از تشخیص بیماری منجر به مرگ میشود. لازم به ذکر است این بیماری ضرورتاً وابسته به سن نبوده و در سنین پائین تر هم می تواند ظاهر شود [3]. در ایجاد بیماری الزایمر عوامل مختلفی دخیل هستند. استرس اکسیداتیو، سمیت وابسته به افزایش میزان گلوتامات کاهش میزان استیل کولین و التهاب بافت مغز در نتیجه حضور عوامل التهابی از جمله عوامل دخیل در ایجاد این بیماری میباشد [4]. تحقیقات گسترده ای پپتیدها و پروتئین های دخیل در بروز بیماری الزایمر را مورد بررسی قرار داده اند، از جمله این پپتیدها آمیلوئید بتا میباشد که از مهمترین علل پاتولوژیک الزایمر به شمار می رود. از بین رفتن فعالیت طبیعی پروتئین تائو در نتیجه فسفریلاسیون بیش از اندازه و تحلیل رفتن مسیرهای عصبی نیز از عوامل موثر در ایجاد الزایمر میباشد [5].

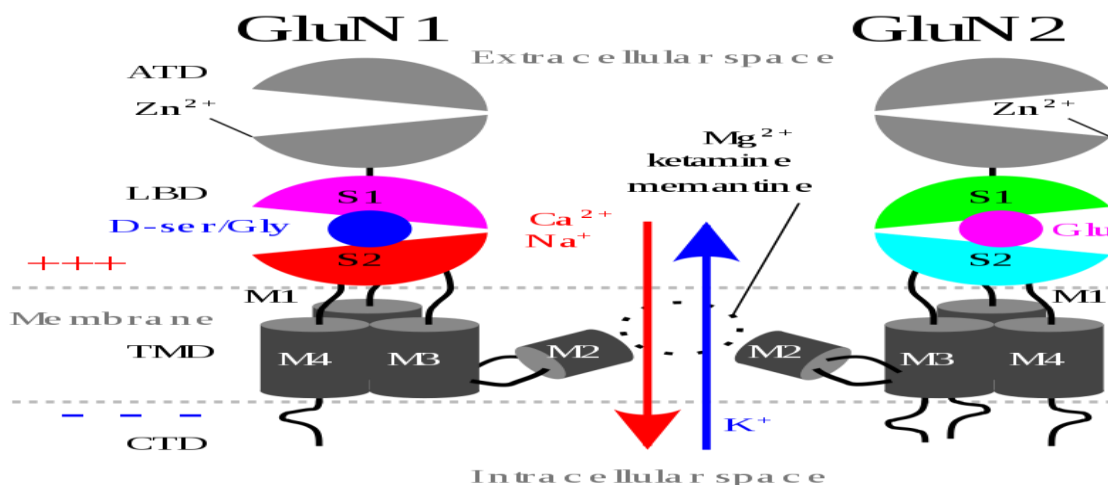
### تأثیر ترشح غیر طبیعی گلوتامات در الزایمر

افزایش میزان گلوتامات و اثر سمیتی آن روی نورون ها در بیماری الزایمر به اثبات رسیده است. این افزایش میتواند در نتیجه تخریب رسپتورهای مربوط به جمع آوری گلوتامات از جمله N-Methyl-D-

Aspartate و افزایش آزاد شدن این نوروترنسمیتر باشد [6]. گیرنده های NMDA که تنها گیرنده های گلوتامات یونوتروپیک هستند برای فعالسازی نیاز به اتصال همزمان گلوتامات و گلیسین در محل های اتصال مربوطه به خود دارند. آمیلوئید بتا باعث آزاد شدن گلوتامات توسط سلول های میکروگلیا بوسیله رسپتور های NMDA می شود [7]. در پیش سیناپس نورون ها، انتقال دهنده های گلوتامات VGLUT1 و VGLUT2 سطح گلوتامات ذخیره شده در وزیکول ها را حفظ می کنند و هنگامی که یک نورون دپلاریزه می شود، گلوتامات در شکاف سیناپسی که در آن گیرنده های گلوتامات را به نورون های پیش و پس سیناپسی متصل می کند آزاد می شود [8]. همچنین افزایش غلظت گلوتامات در سیناپس می تواند باعث مرگ سلولی از طریق افزایش غلظت  $Ca^{2+}$  داخل سلولی به واسطه گیرنده NMDA شود. افزایش کلسیم منجر به مرگ نورون ها از طریق تعدادی از مسیرهای شناخته شده، از جمله آزادسازی گونه های فعال اکسیژن، دپلاریزاسیون غشای میتوکندری و آزادسازی سیتوکروم C می شود. مجموع این اتفاقات در نهایت منجر به از دست دادن سلول های عصبی از طریق مسیرهای آپوپتوز می شود [9].

#### نقش گیرنده NMDA در الزایمر

گیرنده های N-Methyl-D-aspartate متعلق به کلاس گیرنده های گلوتامات یونوتروپیک به دلیل ماهیت پیچیده ای که دارند از جالب ترین اهداف در زمینه تحقیقات پزشکی هستند. آن ها در انواع فرآیندهای فیزیولوژیکی شرکت می کنند و درگیر اختلالات عصبی مختلف هستند که باعث ایجاد ارتباط بین فیلد های مختلف بیماری های عصبی می شوند [10]. گیرنده های NMDA تنها گیرنده های گلوتامات یونوتروپیک هستند که برای فعالسازی نیاز به حضور همزمان گلوتامات و گلیسین در محل های اتصال مربوطه خود دارند. این گیرنده از زیر واحدهای GluN1، GluN2 و GluN3 تشکیل شده است. گیرنده های عملکردی NMDA از دو زیر واحد GluN1 و دو زیر واحد GluN2A-D تشکیل می شوند. زیرواحد های GluN3 بدون



شکل ۱-۱: مدل شماتیک گیرنده NMDA و بیکربندی زیر واحد آن .

دخالت سایر زیر واحدهای GluN2 ، می توانند با زیر واحدهای GluN1 کمپلکس شوند تا گیرنده فعال را تشکیل دهند [11]. دومین آمینو ترمینال خارج سلولی در مونتاژ زیر واحد و تنظیم آلوستریک نقش دارد و به کنترل باز شدن کانال یونی و سرعت غیرفعال سازی کمک می کند. دومین اتصال لیگاند خارج سلولی توسط دو بخش ناپیوسته (S1 و S2) تشکیل می شود و آگونیست ها و آنتاگونیست ها را برای کنترل باز شدن کانال یونی متصل می کند. دومین LBD GluN2 حاوی محل اتصال گلوتامات می باشد ، در حالی که در GluN1 ( یا GluN3 ) این دومین حاوی محل اتصال کوآگونیست گلیسین / د-سرین می باشد [12]. به طور کلی ، فعال سازی NMDAR های حاوی GluN1 / GluN2 به اتصال گلیسین و گلوتامات در LBD های خارج سلولی و آزادسازی  $Mg^{2+}$  توسط دیپلاریزاسیون غشایی در TMD نیاز دارد . رزیدو های دارای بار مثبت روی سطح GluN2A LBD به اتصال گلوتامات از طریق مکانیسم نشر هدایت شده کمک می کنند . از سوی دیگر ، گلیسین از طریق یک مکانیسم نشر غیر هدایت شونده به GluN1 LBD متصل می شود که به موجب آن گلیسین محل اتصال خود را عمدتاً با نوسانات حرارتی تصادفی پیدا می کند [13] .

### ناکارآمدی گیرنده NMDA در الزایمر

به نظر می رسد سمیت گلوتامات با هجوم بیش از حد  $Ca^{2+}$  به واسطه سلول های عصبی از طریق فعال سازی گیرنده N-methyl-D-aspartate انجام می شود . کاهش سطح عملکرد این گیرنده در مغز با اختلالات حافظه و یادگیری ، روان پریشی و در نهایت آسیب مغزی تحریک کننده همراه است . با افزایش سن مغز نیز ، سیستم گیرنده NMDA به تدریج کم کار می شود و کاهش عملکرد حافظه و یادگیری را باعث می شود [14].

ویژگی های تعیین کننده AD شامل تغییرات آشکار در بافت شناسی و رفتار مغز است . شواهد نشان میدهد که اشکال محلول  $A\beta$  و تاو ، مستقل از تجمع آنها در پلاک ها و گره ها ، با هم کار می کنند تا نورون های سالم را به حالت بیمار هدایت کنند [15]. اختلال شناختی AD ارتباط نزدیکی با شکل پذیری سیناپسی دارد که در آن NMDAR نقش مهمی ایفا می کند . انتقال عصبی گلوتاماترژیک تحریکی از طریق NMDAR برای انعطاف پذیری سیناپسی و بقای نورون ها حیاتی است . با این حال فعالیت بیش از حد NMDAR باعث ایجاد سمیت تحریکی و ترویج مرگ سلولی می شود ، که زمینه ساز یک مکانیسم بالقوه تخریب عصبی است که در AD رخ می دهد [16]. عوامل عمده ای که بر سیگنال دهی NMDAR در AD تأثیر می گذارد شامل در دسترس بودن گلوتامات و مدولاسیون عملکرد کانال NMDAR می باشد [17].

اسید آمینه گلوتامات نقش اصلی را در عملکرد طبیعی سیستم عصبی مرکزی ایفا می کند . گلوتامات به عنوان انتقال دهنده عصبی تحریک کننده در CNS شناخته شده است که تخمین زده می شود نیمی در آن و نیمی در سیناپس های مغز آزاد شود . علاوه بر این ، گلوتامات می تواند نورون های CNS را با فعال شدن بیش از حد گیرنده های تحریکی روی سطوح دندریت از بین ببرد [18]. همچنین انتظار می رود شکل پذیری سیناپسی با استفاده از مسدود کننده غیر رقابتی کانال گیرنده NMDA با میل ترکیبی بالا ، نظیر انتاگونیست های برگرفته از ترکیبات سنتی چین بهبود یابد . به عنوان مثال *Memantine* یک مسدود کننده غیررقابتی کانال گیرنده NMDA است که می تواند با جلوگیری از هجوم بیش از حد  $Ca^{2+}$  بدون تأثیر بر

فعالیت فیزیولوژیکی گیرنده NMDA ، فعال شدن بیش از حد گیرنده NMDA را کاهش دهد [19].

### غربالگری مجازی مبتنی بر لیگاند

فرآیند امتیازدهی و رتبه بندی مولکول ها در کتابخانه های شیمیایی بزرگ با توجه به احتمال تمایل آنها به یک هدف خاص ، عموماً به عنوان غربالگری مجازی شناخته می شود . بر این اساس تمام مولکول های موجود در یک پایگاه داده خاص را میتوان نسبت به شباهت به یک یا چند لیگاند فعال زیستی امتیاز بندی کرد [20]. این روش ها به طور کلی کارآمدی بیشتری را نسبت به انتخاب تصادفی مولکول ها در پایگاه های داده ارائه می دهند . پس از این روش ، مولکول های دارای امتیاز برتر را میتوان برای انجام آزمون های آزمایشی در اولویت قرار داد که یک استراتژی مقرون به صرفه در برنامه های کشف دارو به حساب می آید . هدف این روش از یک طرف ارائه تقریب خوبی از ترکیب و جهت گیری لیگاند به داخل پاکت اتصال پروتئین و از سوی دیگر میل اتصال آن است [21]. برای کاهش خطای این روش استفاده از چندین سایت فعال برای اصلاح جهت گیری های لیگاند پیشنهاد شده است و استفاده از توابع امتیاز دهی چندگانه نیز برای بهبود عملکرد توصیه شده است . همچنین ، با ادامه رشد تعداد کمپلکس های پروتئین - لیگاند موجود ، روش های داکینگ شروع به ترکیب تمام اطلاعات به دست آمده از ترکیب اتخاذ شده توسط لیگاندهای متصل به پروتئین برای اصلاح برخی از محدودیت های توابع امتیازدهی میکنند و به طور فعال جهت گیری لیگاندها را به داخل پاکت اتصال پروتئین هدایت می کنند [22].

### کاهش علائم الزایمر توسط ترکیبات گیاهی چینی

شواهد قوی نشان می دهد که سمیت ناشی از NMDA در بیماری های تخریب کننده عصبی و آسیب های عصبی به دنبال ایسکمی مغزی ظاهر می شود . ترکیبات تایید شده موثر در بازدارندگی الزایمر : *galantamine* ، *rivastigmin* ، *donepezil*



و memantine با هدف مهار استیل کولین استراز افزایش سطح انتقال دهنده عصبی استیل کولین یا آنتاگونیست گیرنده NMDA از تحریک نابجای نورون ها جلوگیری می کنند . با این حال ، این ترکیبات اثرات متوسط و گذرا در بهبود علائم نشان می دهند و به سختی می تواند توقف سیر صعودی بیماری را باعث شوند [23]. امروزه آنتاگونیست های NMDA-R یک استراتژی امیدوار کننده برای بسیاری از شرایط فوق ارائه می دهند . از چندین سال قبل کاوش مواد فعال طبیعی از گیاهان دارویی چینی برای مهار AD آغاز شده است و ترکیبات قابل توجهی از جمله Galantamine و Huperzine A که از گیاهان سنتی چینی نشأت گرفته اند در کلینیک های بالینی برای کند کردن فرایند AD خفیف تا متوسط از طریق هدف گیری گیرنده NMDA استفاده می شود [24]. بنابراین ، NMDAR ممکن است همچنان یک هدف معتبر کاهش علائم الزایمر باشد به شرطی که ترکیبات مورد استفاده بر علیه آن ها دارای پارامترهای بازدارنده موثر باشند . از این رو ، کشف مواد شیمیایی علیه AD به خصوص گیرنده NMDA به فوریت مورد نیاز است . اکنون توجه زیادی بر روی ترکیبات طب سنتی چین و اجزای زیست فعال آنها متمرکز شده است که ممکن است به عنوان منبع خوبی برای توسعه عوامل علمی مفید برای درمان AD در سطوح پاتولوژیک مختلف در نظر گرفته شود . با این حال ، هنوز در مقایسه با ترکیبات مورد استفاده در طب غربی ، تحقیقات و اعتبارسنجی کافی برای کشف این ترکیبات وجود ندارد . با توجه به این چالش ، بررسی سیستماتیک ما بر روی ترکیبات منفرد گیاهی چینی متمرکز شده است که می توانند مسیر پیشرفت AD را از طریق تعدیل فعالیت گیرنده NMDA مهار کنند.

## روش ها

در این تحقیق لیگاند ها شامل ترکیبات گیاهی چینی با پتانسیل کاهش فعالیت گیرنده NMDA بودند که در قالب غربالگری مجازی و مراحل مختلف آن که شامل پردازش گیرنده و کتابخانه ، اتصال و امتیازدهی می باشد بررسی شدند . با اتصال یک کتابخانه بزرگ از ترکیبات به یک زیرواحد از گیرنده NMDA ، در هر مرحله ترکیبات کمتری معمولاً نیاز به غربالگری برای شناسایی نامزدهای آنتاگونیست

NMDA داشتند. دیتابیس ترکیبات مورد استفاده در این تحقیق شامل ۱۸۲۷۶۷ لیگاند از ترکیبات گیاهی سنتی چین می باشد که فرایند غربالگری آن ها در ادامه از طریق تکنیک داکینگ و با استفاده از نرم افزار شرودینگر صورت گرفته است. فرآیند آماده سازی شامل اضافه کردن هیدروژن، بارالکتريکی به مولکول های اولیه پروتئینی و لیگاند و انتقال حالت توتومراسیون / یونیزاسیون می باشد. با این حال، بیشتر پروتکل آماده سازی شامل چرخش ۱۸۰ درجه ای گروه های زنجیره جانبی (asn، Gln، و His)، بهینه سازی اتم های هیدروژن بر روی اسید آمینه های هیستیدین، تایروزین و تریونین و مولکول های آب می باشد.

آماده سازی پروتئین شامل تبدیل پروتئین از حالت خام (که ممکن است اتم های هیدروژن و ترتیب پیوندها در آن رعایت نشده باشد یا حالت های بار الکتريکی یا جهت گیری گروه های مختلف نادرست باشد) می باشد. در این بخش هر گونه خطای جدی در ساختار پروتئین با فعال کردن تنظیمات لازم برطرف گردید. رزیدو های ناقص در دسته این خطاها قرار داشتند (اما اگر از جایگاه فعال دور باشند، نسبتاً بی ضرر خواهند بود). در این مرحله ابتدا ساختار گیرنده NMDA که دارای کد PDB 4PE5 می باشد از سایت [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org) دانلود و سپس زیر واحد حاوی رزیدو های مهمتر (GLUN2B) برای اتصال انتاگونیست با حذف زنجیره جانبی مربوط به زیر واحد (GLUN2A) باقی ماند و بدین ترتیب گیرنده مهیای آماده سازی گردید در مرحله بعد بررسی ساختار لیگاند / پروتئین / آب برای بار الکتريکی، حالت های پروتوناسیون، جهت مولکول های آب و سایر گروه ها مانند هیدروکسیل ها، آمیدها و غیره صورت گرفت. سپس سه رزیدو کلیدی GLU236، TYR175، GLN110 به عنوان رزیدوهای کلیدی پاکت اتصال که با لیگاند پیوند هیدروژنی برقرار خواهند کرد انتخاب شدند. غربالگری مجازی در سه سطح دقت HTVS (غربالگری مجازی با توان بالا)، SP (دقت استاندارد)، و XP (دقت فوق العاده)، به ترتیب با خروجی ۱۱۱۹، ۳۴۱۱۹، ۶۴۸۳ توسط Schrodinger 2021-2 انجام شد. متعاقباً، با استفاده از روش MM-GBSA انرژی آزاد اتصال بین لیگاندهای با رتبه برتر و پروتئین در ۲۰۰ ترکیب با منفی ترین امتیاز که حاصل مرحله داکینگ xp بودند تخمین زده شد. در مرحله آخر فرایند به طور دقیق حالت های اتصال لیگاند و تغییرات



## ساختاری همزمان در گیرنده در ۳۶ ترکیب نهایی با بیشترین انرژی اتصال توسط Induced Fit Docking پیش بینی شد .

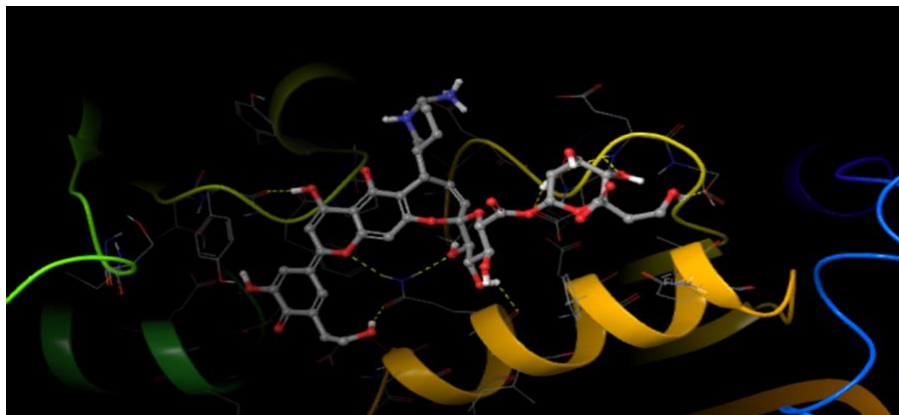
### نتایج

در پایان مرحله داکینگ القایی در نهایت بر اساس میانگین امتیاز داکینگ XP ، انرژی آزاد اتصال و داکینگ القایی ، سه ترکیب نهایی با بالاترین امتیاز مشخص شدند . لازم به ذکر است حدوداً نیمی از ترکیبات ایزومر یکدیگر و از نوع توتومر بودند که امتیازات مشابهی در مرحله داکینگ القایی کسب کردند . هر سه انتاگونیسست در لوب بالای و دومین GluN2B NTD جای میگیرند .

جدول ۱-۳: سه ترکیب نهایی بر اساس امتیاز مراحل XP ، MMGBSA ، Induced Fit Docking .

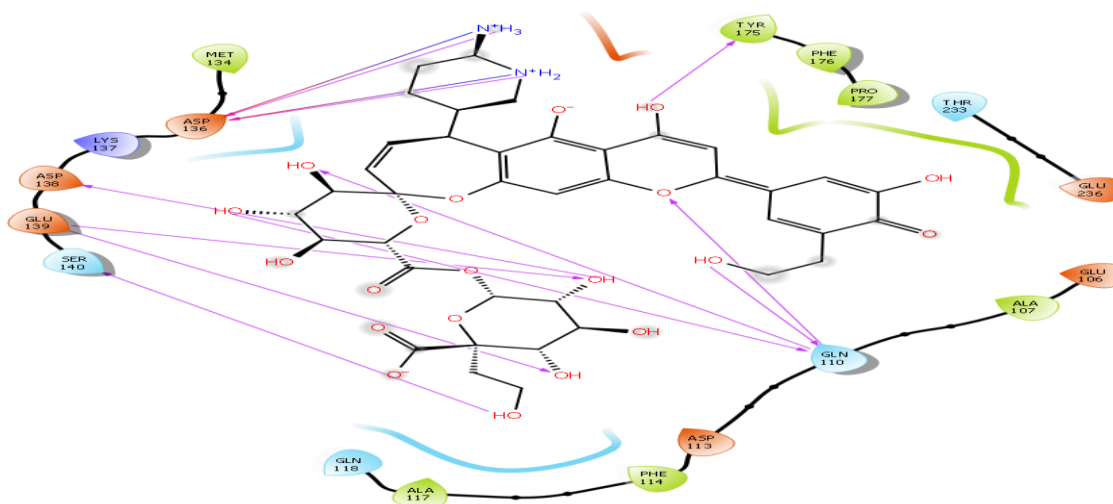
شماره ساختار	فرمول شیمیایی	نام لیگاند در دیتابیس	امتیاز XP	انرژی آزاد اتصال	امتیاز داکینگ القایی	میانگین امتیاز سه مرحله
۱۶۶	C39H46N2O20	۲۳۶۳	-۱۰/۸۲	-۴۸/۴۵	۸۰۷۸۰۲۱۷۰,۷۸	۸۰۷۸۰۴۴۶۹,۵۳
۱۷۵	C33H54N5O7	۱۹۴۷۶	-۱۰/۲۱	-۷۱/۷۰	۸۰۷۸۰۲۱۶۴,۴۵	۸۰۷۸۰۲۰۸۲,۵۴
۱۹۰	C36H60N5O15	۲۱۷۹	-۱۰/۰۳	-۵۵/۶۵	۸۰۷۸۰۲۱۶۸,۴۵	۸۰۷۸۰۲۰۵۸,۳۰

ترکیب ۲۳۶۳ در بخش آبگریز لوب فوقانی GluN2B NTDs ، پوشیده شده توسط PHE176 , TYR175 قرار گرفته است. فنتالن ترکیب ۲۳۶۳ تحت pH فیزیولوژیکی با اکسیژن Tyr175 پیوند هیدروژنی تشکیل می دهد . همچنین گروه امین متصل به حلقه ایندول و حلقه ایندول یک پیوند هیدروژنی به همراه پل نمکی با ASP136 ایجاد می کند .



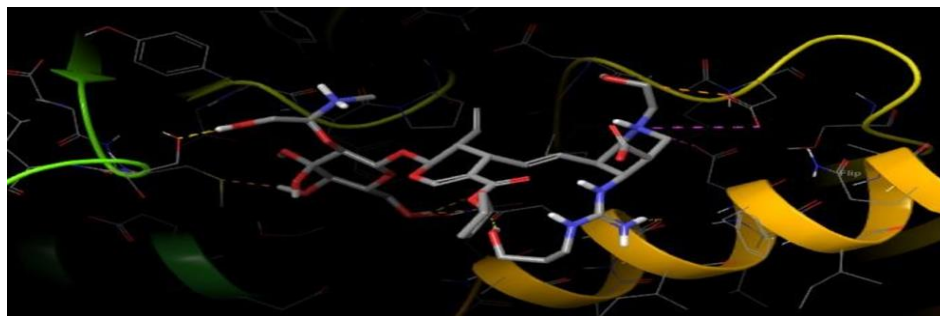
شکل ۱-۳: ساختار ۲۳۶۳ در پاکت اتصال زیرواحد GLUN2B .

این ترکیب همچنین برهمکنش های قطبی را با گیرنده ایجاد می کند که شامل پیوند هیدروژنی دو گروه هیدروکسیل متصل به حلقه اروماتیک با رزیدو GLU135 می شود . GLN110 نیز یک پیوند هیدروژنی با نیتروژن پیریدین لیگاند و یک پیوند هیدروژنی با حلقه فوران و سه پیوند هیدروژنی با هیدروکسیل متصل به حلقه فوران ایجاد می کند .



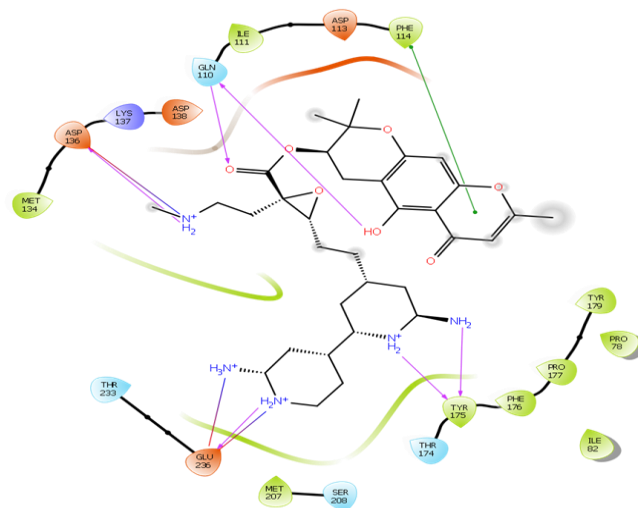
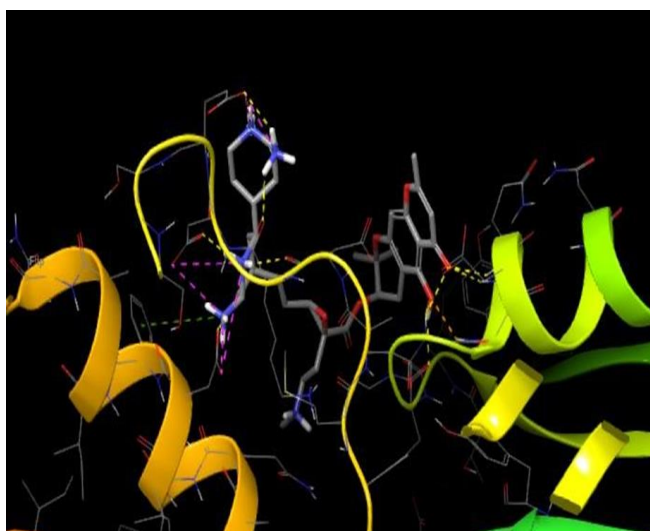
شکل ۲-۳: نحوه اتصال رزیدو های کلیدی GLUN2B و ترکیب ۲۳۶۳ به صورت ۲ بعدی .

ترکیب ۲۱۷۹ از دیتابیس ترکیبات سنتی چین در مجموع ۶ پیوند هیدروژنی با لیگاند ایجاد کرده است که بر خلاف ترکیب ۲۳۶۳ پل نمکی در بین اینترکشن ها مشاهده نشد. تمام پیوندها بین گروه هیدروکسیل متصل به حلقه های اروماتیک و رزیدوهای قطبی THR233 , GLN105 , GLN110 و دو رزیدوی کلیدی TYR175 , GLU236 با بار منفی شکل گرفته است. همچنین داده های بدست آمده تعاملات لیگاند-پروتئین نشان داد که تقریبا نیمی از ترکیبات برگزیده شده برای مرحله داکینگ القایی ایزومر یکدیگر می باشند. پس از بررسی نمرات سه مرحله اخر مشاهده شد که هر یک از ایزومر ها در پاکت اتصال با نمرات اتصال و انرژی های اتصال مشابه یکدیگر جای میگیرند.



شکل ۳-۳: نحوه جایگیری ترکیب ۲۱۷۹ در زیر واحد GLUN2B به صورت ۳ بعدی.

ترکیب ۲۱۷۹ از دیتابیس ترکیبات سنتی چین در مجموع ۶ پیوند هیدروژنی با لیگاند ایجاد کرده است که بر خلاف ترکیب ۲۳۶۳ پل نمکی در بین اینترکشن ها مشاهده نشد. تمام پیوندها بین گروه هیدروکسیل متصل به حلقه های اروماتیک و رزیدوهای قطبی THR233 , GLN105 , GLN110 و دو رزیدوی کلیدی TYR175 , GLU236 با بار منفی شکل گرفته است. همچنین داده های بدست آمده تعاملات لیگاند-پروتئین نشان داد که تقریبا نیمی از ترکیبات برگزیده شده برای مرحله داکینگ القایی ایزومر یکدیگر می باشند. پس از بررسی نمرات سه مرحله اخر مشاهده شد که هر یک از ایزومر ها در پاکت اتصال با نمرات اتصال و انرژی های اتصال مشابه یکدیگر جای میگیرند.



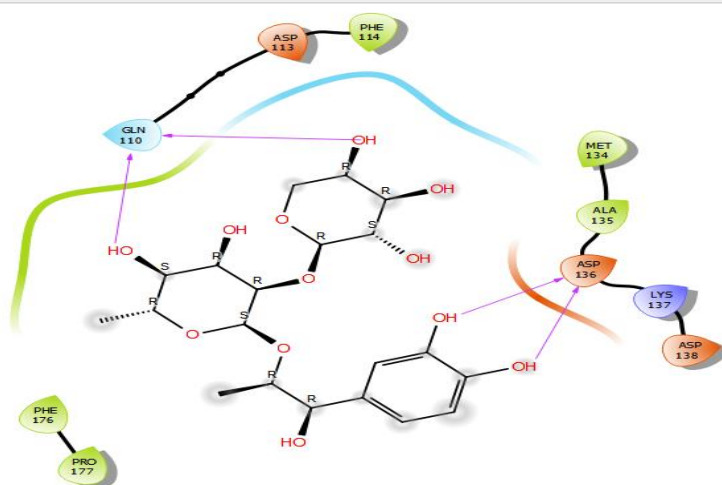
شکل ۳-۴: نحوه جایگیری ترکیب ۱۹۴۷۶ در زیرواحد GLUN2B به صورت ۳ بعدی و ۲ بعدی .

در انتها برای اطمینان از صحت نتایج بدست آمده و تاثیر گذاری بیشتر بازدارنده های بدست آمده از پایگاه ترکیبات سنتی چینی، با استفاده از مطالعات *In silico* پیشین و بازدارنده های غربال شده، یکی از مهار کننده های الوستریک به عنوان بازدارنده شاهد مورد فرایند داکینگ، داکینگ القایی و محاسبه انرژی اتصال قرار گرفت و در نهایت میانگین امتیازات بدست آمده با ترکیبات نهایی این تحقیق مقایسه شد .

جدول ۲-۳: امتیاز مراحل Induced Fit Docking، MMGBSA، XP در ترکیب بازدارنده شاهد .

نام ساختار	فرمول شیمیایی	امتیاز XP	انرژی آزاد اتصال	امتیاز داکینگ القایی	میانگین امتیاز سه مرحله
1-(3-ethylphenyl)-1-methyl-2-(1-naphthyl)guanidine	C20H21N3	-۸/۴۷	-۱۹/۹۰	۸۰۷۸۰۲۱۱۷,۹۳	۸۰۷۸۰۲۰۸۹,۵۶

همانطور که از نتایج جدول بالا استنباط می شود، ترکیب بازدارنده شاهد در هر سه مرحله داکینگ با دقت XP، محاسبه انرژی آزاد اتصال و داکینگ القایی امتیاز کمتری نسبت به ترکیبات نهایی بدست آمده در این تحقیق بدست آورده است و این نشان دهنده اتصال و پیوند های مناسب تر بین ترکیبات نهایی حاصله از گیاهان سنتی چینی نسبت به بازدارنده های مطالعه شده پیشین می باشد. با توجه به شکل زیر اتصال بازدارنده شاهد به گیرنده از طریق دو گروه OH متصل به فورانوز به رزیدو کلیدی GLN110 و رزیدو ASP136 به واسه پیوند های هیدروژنی می باشد.



شکل ۳-۵: نحوه جایگیری ترکیب ۱-(3-ethylphenyl)-1-methyl-2-(1-naphthyl)guanidine در زیرواحد

GLUN2B به صورت ۲ بعدی.

می توان چنین فرض کرد که ترکیبات برتر در حفره عمیق ناحیه N ترمینال گیرنده NMDA GLUN2B متصل می شوند. این حفره عمیق عمدتاً توسط تمام ترکیبات با امتیاز اتصال بالا از طریق برهمکنش آبگریز و از طریق حلقه اروماتیک اشغال شده است. بدلیل تشکیل پیوند هیدروژنی که عمدتاً توسط گروه های آمید این ترکیبات و رزیدوهای TYR175, GLN110 صورت گرفته بود، در مراحل داکینگ نمرات بالایی توسط آن ها کسب شد. پس می توان نتیجه گرفت پیوند هیدروژنی امیدی با این رزیدو ها اولین پارامتر لازم برای کاندیدهای بازدارندگی گیرنده NMDA

GLUN2B می باشد. با توجه به اندازه مولکولی آنها و جهت گیری آنها در پاکت اتصال، ترکیبات انتخاب شده را می توان به عنوان آنتاگونیست های بالقوه NMDA در نظر گرفت.

#### بحث و نتیجه گیری

در سالهای اخیر شاهد وفور علاقه به بهره برداری از محصولات طبیعی به عنوان منابع اولیه تولید بازدارنده های جدید بیماری ها بوده ایم. تعدادی از مطالعات تفاوت های ساختاری بین محصولات طبیعی، داروها و سایر مواد شیمیایی را بررسی کرده اند تعداد دیگری از مطالعات که عمدتاً در دهه گذشته منتشر شده است، بر روی استفاده از تکنیک های محاسباتی برای شناسایی لیگاندهای بالقوه برای انواع مختلف اهداف بیماری زایی متمرکز شده است. چنین روش هایی در دسته های مختلفی قرار می گیرند، از جمله جستجوی فارماکوفور، غربالگری بر اساس توصیفگرهای مولکولی و ردپای مولکولی. تحقیقات بیوتکنولوژی دارویی تا کنون بر روی جستجو برای مهار بازدارنده های اهداف واحد متمرکز بوده است و همانطور که در بخش قبل نشان داده شد، ترکیبات موجود در گیاهان چینی منبع نوید بخش ترکیبات برای استفاده در برنامه های کشف ترکیبات بازدارنده بیماری ها را در آینده فراهم میکنند. اخیراً توجه به سمت بازدارنده های اهداف مرتبط با عملکرد چندگانه یا اجزای مسیره های درگیر در آسیب های خاص تغییر کرده است. بنابراین جستجوهای در حال حاضر به سمت پیدایش ترکیبات منفرد که انواعی از اهداف را مهار میکنند و یا برای کمپلکسی از لیگاندها که هر کدام یک سری اهداف را مهار میکند سوق داده شده است.

با این حال، میزان و کیفیت داده های موجود برای چنین رویکردهایی باید مورد توجه قرار گیرد. همانطور که گفته شد تعداد پایگاه های اطلاعاتی مربوط به ترکیبات گیاهی چینی به سرعت در حال افزایش است و رسیدگی به کیفیت داده ها برای یک هدف خاص در مدت زمان کم مشکل است و نیازمند بررسی دقیق هزاران مقاله میباشد. حتی با وجود این محدودیت ها بدلیل ویژگی های شیمیایی نسبتاً دقیق آنها، گیاهان چینی یک منبع بسیار نوید بخش برای مهار اهداف بیماری زا از جمله گیرنده NMDA هستند. اهمیت بیشتر این ترکیبات زمانی مشخص می شود که بدانیم آنها از گذشته



تا کنون بخشی از سیستم رو به رشد مراقبت های بهداشتی در سراسر جهان بوده اند و اطلاعات مربوط به کاربردهای سنتی و پزشکی این ترکیبات در یک تاریخچه بسیار گسترده یافت میشود همچنین این گیاهان در حال حاضر به طور گسترده ای کشت میشوند که نوید کشف ترکیبات بازدارنده جدیدتری برای بسیاری از بیماری ها را می دهند .

این بررسی ترکیبات فعال گیاهی چینی را که گزارش شده است بر علیه گیرنده NMDA که فعالیت بیش از حدی از خود در بیماری الزایمر نشان می دهد به کار گرفته است تا بهترین انتاگونیست ها برای مطالعات اتی انتخاب شوند . این ترکیبات طبیعی اثرات محافظتی عصبی خود را عمدتاً از طریق تنظیم سیگنال های مرتبط با گلوتامات ، از جمله انتشار گلوتامات پیش سیناپسی و فعالیت و بیان گیرنده های یونوتروپیک و متابوتروپیک گلوتامات انجام می دهند . اکثر مطالعاتی که اثرات ترکیبات گیاهی روی سیگنال دهی گلوتامات را گزارش می کنند نشان می دهند که این ترکیبات طبیعی از طب گیاهی چینی ممکن است به عنوان کاندیدای درمان بیماری های عصبی و روانی مانند AD ، PD عمل کنند . همچنین چندین مطالعه نشان داده اند که ترکیبات طبیعی در بهبود عملکرد شناختی و نقص عصبی در بیماران مبتلا به AD فوایدی را نشان میدهند . این نتایج با نتایج تجربی که در این مطالعه ذکر کردیم مطابقت دارد و نشان می دهد که این ترکیبات طبیعی ممکن است بازدارنده های بالقوهای در مسیر های متابولیکی بیماریهای عصبی باشند . با این حال ، باید به این نکته نیز اشاره کنیم که کیفیت اکثر مطالعات مجازی با استفاده از ترکیبات طبیعی نسبتاً ضعیف است . از این رو ، آزمایشات بالینی در مقیاس بزرگ تر روی این اجزای طبیعی مورد نیاز است . با این حال ، هنوز چندین مسئله اساسی وجود دارد که باید قبل از اینکه این مولکول های طبیعی از داروهای گیاهی چینی به عنوان درمان برای اختلالات عصبی پذیرفته شوند ، به آنها غلبه کرد . به عنوان مثال مکانیسم دقیق تنظیم سیگنالینگ گلوتامات توسط این ترکیبات در اختلالات عصبی چگونه است ؟ آیا ترکیبات طبیعی گیاهان چینی مربوط به بیماری خاص ، ناحیه خاصی در قشر مغز یا زیرگروه خاصی از گیرنده های گلوتامات هستند ؟ علاوه بر این ، ما فکر می کنیم که منطقی و ضروری است که تعاملات مولکولی بین مولکول ها و مکان های مختلف اتصال در زیر واحدهای گیرنده گلوتامات مورد بررسی بیشتری قرار گیرد .

## مراجع

- ۱- John Hardy, *A Hundred Years of Alzheimer's Disease Research*, neuron article Volume 52, Maryland, 2006
- ۲- Paul S. Aisen, Jeffrey Cummings, *Understanding the Alzheimer's disease continuum*, *Alzheimer's Research & Therapy* Article number: 60, San Diego, 2017
- ۳- K. Blennow, H. Zetterberg, *Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future*, *Journal of Internal Medicine*, Sweden, 2018
- ۴- C. Cheignon, M. Tomas, *Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease*, *Redox Biology* article Volume 14, Toulouse, 2018
- ۵- Guo-fang Chen, Ting-hai Xu, Yan Yan, *Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development*, *Acta Pharmacologica Sinica*, Shanghai, 2017
- ۶- Czapski, G. A. Strosznajder, *Glutamate and GABA in Microglia-Neuron Cross-Talk in Alzheimer's Disease*, *International Journal of Molecular Sciences* Volume 22, Warsaw, 2021
- ۷- Viviane Labrie, John C Roder, *The involvement of the NMDA receptor D-serine/glycine site in the pathophysiology and treatment of schizophrenia*, *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* Volume 34, Toronto, 2019
- ۸- Akriti Srivastava, Brati Das, *Metabotropic Glutamate Receptors in Alzheimer's Disease Synaptic Dysfunction: Therapeutic Opportunities and Hope for the Future*, *Journal of Alzheimer's Disease*, Farmington, 2020
- ۹- Benjamin Chun-Kit Tong, Aston Jiayi Wu, *Calcium signaling in Alzheimer's disease & therapies*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* Volume 1865, Hong Kong, 2018
- ۱۰- Jason H Y Yeung, Joshua L Walby, *Glutamatergic receptor expression changes in the Alzheimer's disease hippocampus and entorhinal cortex*, *Brain Pathology* volume 31, Auckland, 2021
- ۱۱- Rui Wang and P. Hemachandra Reddy, *Role of glutamate and NMDA receptors in Alzheimer's disease*, *IOS Press*, vol. 57, Texas, 2017
- ۱۲- Pierre Paoletti, Jacques Neyton, *NMDA receptor subunits: function and pharmacology*, *Current Opinion in Pharmacology*, Paris, 2007
- ۱۳- Christian Lüscher, Robert C Malenka, *NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD)*, *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 2012

- ۱۴- Kazu Nakazawa 1, Kiran Sapkota, *The origin of NMDA receptor hypofunction in schizophrenia*, *Pharmacology & Therapeutics*, Volume 205, Southern Research, Geneva, 2020
- ۱۵- Deepak Kumar 1, Aditi Sharma, *A Comprehensive Review of Alzheimer's Association with Related Proteins: Pathological Role and Therapeutic Significance*, *bentham science volume 18*, Solan, 2020
- ۱۶- Bjoern A Krueger 1, Tanja Weil, *Comparative virtual screening and novelty detection for NMDA-GlycineB antagonists*, *Computer-Aided Molecular Design volume 23*, Frankfurt, 2009
- ۱۷- Eleonora Ambrad Giovannetti 1, Martin Fuhrmann, *Unsupervised excitation: GABAergic dysfunctions in Alzheimer's disease*, *Brain Research Volume 1707*, Bonn, 2019
- ۱۸- Walter Gulisano 1, Daniele Maugeri, *Role of Amyloid- $\beta$  and Tau Proteins in Alzheimer's Disease: Confuting the Amyloid Cascade*, *Alzheimer's Disease*, Catania, 2018
- ۱۹- Tetsuro Kikuchi, *Is Memantine Effective as an NMDA-Receptor Antagonist in Adjunctive Therapy for Schizophrenia?*, *Biomolecules*, Volume 10, Tokushima, 2020
- ۲۰- Maria Batool 1, Bilal Ahmad, *A Structure-Based Drug Discovery Paradigm*, *molecular science volume 20*, Suwon, 2019
- ۲۱- Weixing Dai 1, Dianjing Guo, *A Ligand-Based Virtual Screening Method Using Direct Quantification of Generalization Ability*, *Molecules article volume 24*, Shatin, 2019
- ۲۱- Garrett M Morris 1, Marguerita Lim-Wilby, *Molecular docking*, *Methods Molecular Biology™ book page 365–382*, La Jolla, 2008
- ۲۳- Thomas M Ehrman 1, David J Barlow, *Phytochemical databases of Chinese herbal constituents and bioactive plant compounds with known target specificities*, *Chemical Information and Modeling article volume 47*, London, 2007
- ۲۴- Li-Kai Huang 1 2, Shu-Ping Chao, *Clinical trials of new drugs for Alzheimer disease*, *Biomedical Science article volume 27*, New Taipei City, 2020