

## مطالعه برهم‌کنش پروتئین آستروپسین A و پاکلی تاکسول با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی و معادله پواسون-بولتزمن تطبیقی (Adoptive Poison-Boltzman software)

جابرجهان‌بین سردودی<sup>۱\*</sup>، میترا دباغ حسینی پور<sup>۲</sup>، معصومه ایقایی بناب<sup>۳</sup> و علیرضا راستکار ابراهیم‌زاده<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> ایران، تبریز، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، دانشکده علوم پایه، آزمایشگاه شبیه‌سازی مولکولی

<sup>۲</sup> ایران، تبریز، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی

<sup>۳</sup> ایران، تبریز، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، دانشکده علوم پایه، گروه فیزیک

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۰۴



### چکیده

در این مطالعه، برهم‌کنش مولکول پاکلی تاکسول با پروتئین آستروپسین A در محیط آبی از طریق شبیه‌سازی دینامیک مولکولی و معادله پواسون-بولتزمن مطالعه شده است. انرژی اتصال ما بین پاکلی تاکسول و آستروپسین A به کمک معادله پواسون-بولتزمن در سیستم‌های به تعادل رسیده محاسبه شده و با روش دینامیک مولکولی شبیه‌سازی شده است. هدف اصلی در این مطالعه، بررسی سایت‌های فعال برای ایجاد برهم‌کنش مؤثر بین نانوذرات دارو و پروتئینها و همچنین تشکیل چهارچوبی برای دارو توسط پروتئینها می‌باشد که بدین منظور از یک، دو، سه، چهار و پنج آستروپسین A استفاده شده است. همچنین نتایج شبیه‌سازی دینامیک مولکولی همچون شعاع چرخش، تابع توزیع شعاعی و پیوند هیدروژنی مورد بحث قرار گرفته است. نتایج حاصل از شبیه‌سازی سیستم‌ها در حضور و عدم حضور پاکلی تاکسول مورد مقایسه قرار گرفته است. نتایج بدست آمده نشان می‌دهند با اضافه کردن هر چه بیشتر آستروپسین A به پاکلی تاکسول، حلالیت پاکلی تاکسول در آب افزایش می‌یابد. همچنین مشخص می‌شود اسیدآمینه‌های گلایسین ۲، لوسین ۲۱، فنیل ۱۴، سیستئین ۳، پیروگلوتامیک اسید ۱ بیشترین برهم‌کنش با پاکلی تاکسول در سیستم‌های به ترتیب شامل یک، دو، سه، چهار و پنج آستروپسین A دارند. نتایج نشانگر این است که با افزایش تعداد آستروپسین A، میزان اتصال پاکلی تاکسول به آستروپسین A، افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، پاکلی تاکسول، آستروپسین A، برهم‌کنش، مکانیک مولکولی با معادله پواسون-بولتزمن.

\* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۴۱-۳۱۴۵۲۰۴۳، پست الکترونیکی: jsardroodi@azaruniv.ac.ir

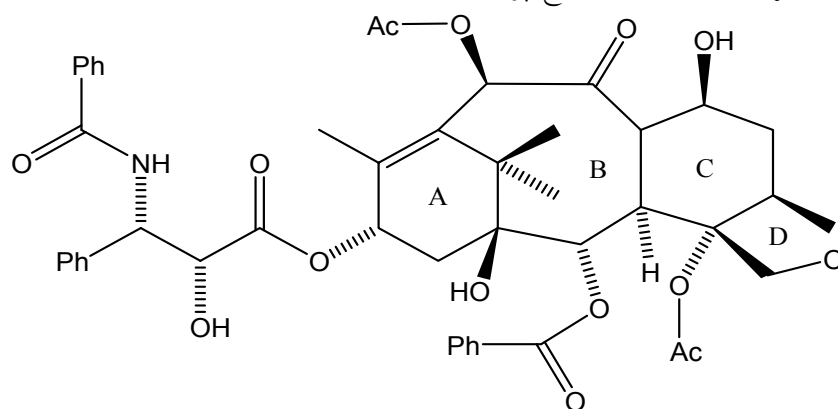
### مقدمه

متوقف کردن میتوز بعد از  $G_2$  یا چرخه در فاز M، می‌شوند که نشانگر محدوده وسیع فعالیت در چندین تومور از جمله سرطان تخمدان و شش است (۲۰، ۲۸ و ۲۹). پاکلی تاکسول از پوست درخت سرخدار به دست آمد (۱۶). تهیه ترکیبات فعال با این روش می‌تواند برخی مشکلات به‌مراه داشته باشد که از جمله آنها می‌توان به: مقدار کم ترکیبات فعال در گیاه، رشد تدریجی گیاه و

سرطان یکی از مرسوم‌ترین بیماری‌ها در دنیا بوده و یکی از روش‌های درمان، شیمی‌درمانی است (۱۰). تاکسان یکی از داروهای شیمی‌درمانی می‌باشد. حلالیت تاکسان بر اساس ره‌ایش دارویی است (۹). دو مورد از تاکسان، پاکلی تاکسول و دوستاکسول است که از مهمترین روش درمان پیشرفته و مخصوصاً برای درمان سرطان کبد می‌باشد. تاکسانها، سبب پایداری میکروتوبول‌ها به دلیل

آنها، نانوذرات توانایی به سزایی در ترویج شیمی درمانی ایفا می‌کنند: (۱) شیمی درمانی فردی: که بنا به نیاز شخصی بیمار به کار می‌رود. (۲) شیمی درمانی موضعی: رهایش هدفمند داروهای ضد سرطانی (۳) شیمی درمانی پایدار: بدون اینکه دارو به حضور چند داروی دیگر مقاومت نشان دهد (۴) عبور از سد خونی-مغزی: به دلیل اندازه کوچک نانوذرات می‌توانند از سد خونی-مغزی عبور کنند. (۵) شیمی درمانی در جایی که بیمار در آن اقامت دارد: به صورت داروهای قابل مصرف دهانی، بینی و چشمی که توسط خود بیمار قابل استفاده است (۲۸).

تخریب منابع طبیعی اشاره کرد (۱۵). چندین خواص پزشکی برای پاکلی‌تاکسول مطالعه و کشف گردید. پاکلی-تاکسول در شیمی درمانی طیف وسیعی از سرطان‌ها از جمله سرطان تخمدان، پستان، شش، مثانه، پروستات، ملانوم، مری و *Kaposi's sarcoma* به کار می‌رود. کاربرد بالینی اخیر که بمنظور کاهش اثرات جانبی جدی بکار می‌رود، کروموفور ای ال (cremophor EL) است. نانوذرات پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر می‌توانند یک راه‌حل مناسبی برای افزایش حلالیت پاکلی‌تاکسول باشند و رهایش دارویی کنترل‌شده با کارایی بیشتر و اثر جانبی کمتر ایجاد کنند. امروزه با بهینه کردن اندازه ذرات و سطح پوشیده



شکل ۱- ساختار شیمیایی پاکلی‌تاکسول

می‌شود (شکل ۱). در مطالعه دیگری که توسط سنپاتی و ناتارجان (۳۲) انجام یافته است، برهمکنش میان تاکسول با دو نوع پروتئین شامل توبولین وحشی و سه نوع توبولین جهش یافته، مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان می‌دهد که توبولین جهش یافته انعطاف‌پذیر تر از توبولین وحشی است. جهشها محل اتصال با تاکسول را تغییر داده و سبب ضعیف شدن پیوند می‌شود. گیاناکاکو و همکارانش (۱۵) و کاوالاریس و همکاران (۸)، برهمکنش اپوتیلون که یک داروی ضد سرطان است، با سلولهای سرطانی مقاوم به دارو را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشانگر این است که مقاومت سلولهای سرطانی به دارو میزان کارایی دارو را کاهش داده و سبب عدم پایداری میکروتوبولها می‌شود. مقاوم بودن سلولهای سرطانی بدلیل

به منظور افزایش کارایی دارو، غلظت دارو می‌تواند افزایش داده شود ولی در این مورد، بر سمیت و اثرات جانبی دیگر نیز افزوده می‌شود. پاکلی‌تاکسول حلالیت کمی در آب دارد (۲۴) بنابراین رهایش دارویی جدید نیازمند بهبود فعالیت دارویی آن می‌باشد، بدین معنی که برای کاهش اثرات جانبی و افزایش حلالیت پاکلی‌تاکسول، نیازمند استفاده از نانوذرات بوده که این امر سبب پیشرفت در رهایش دارویی نوین شده است (۳۷). تاکنون ولف و همکارانش (۱۳)، برهمکنش میان ورقه‌های توبولین که حاوی روی القاء شده است، با تاکسول مورد بررسی قرار دادند. مطالعات نشان داده است که در محل اتصال تاکسول، توبولین ساختار پایداری از خود نشان می‌دهد. برهمکنش اصلی میان توبولین با تاکسول در لوپ B8-H9 مشاهده

دیگر پپتیدهای گره‌دار مشتق شده از اسفنج دریایی متمایز می‌کند (۲۶).

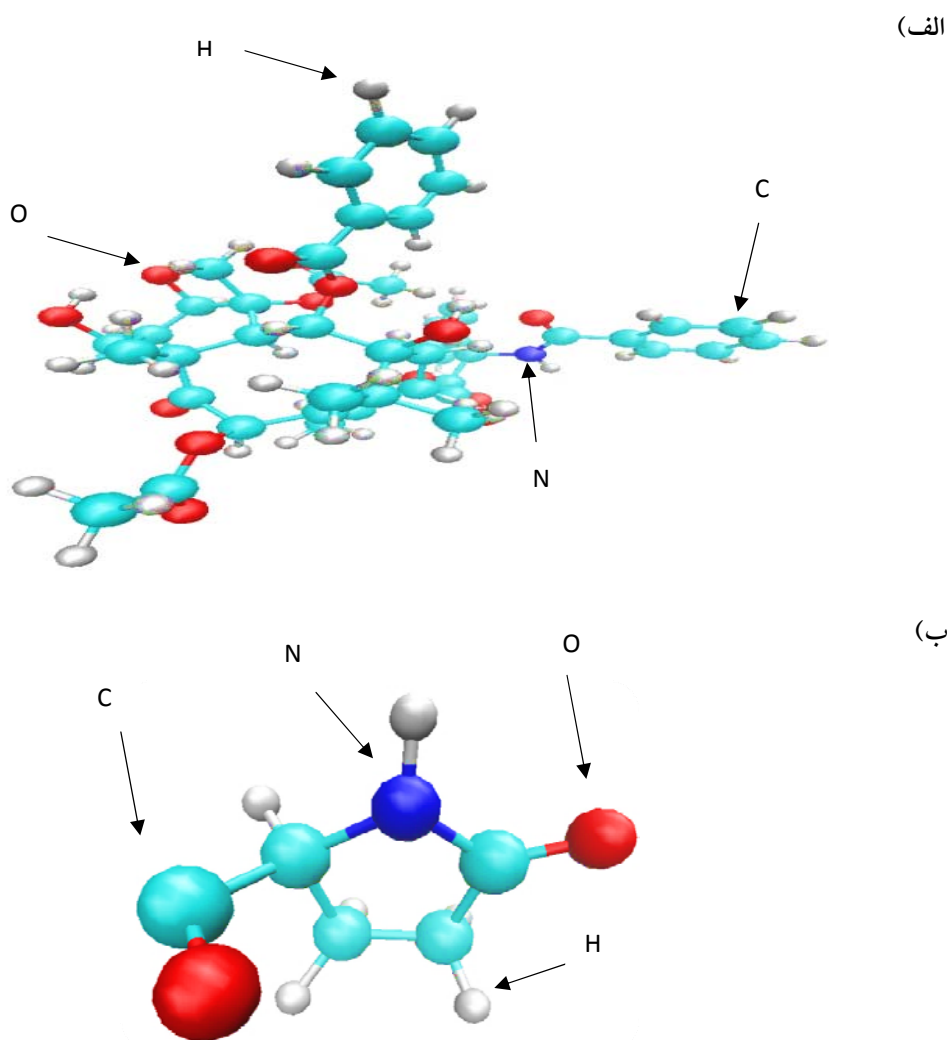
در ره‌ایش دارویی، آزادسازی مولکولهای بیولوژیکی متأثر از تجمع مولکولهای بیولوژیکی می‌باشد. برای درک بهتر مولکولهای بیولوژیکی با مولکولهای آب نیازمند کنترل پدیده تجمع در محیط آبی می‌باشد. در این کار پژوهشی به منظور درک بهتر برهمکنش و تجمع آستروپسین A در محلول آبی پاکلی‌تاکسول، محلولهای آبی پاکلی‌تاکسول شبیه‌سازی شد. بدین منظور بهینه‌سازی ساختار الکترونی حالت پایه پاکلی‌تاکسول و بخشی از اسید آمینه آستروپسین A با استفاده از تئوری چگالی احتمال بدست آمده است. برای طراحی دارو، بررسی برهمکنش‌های این تحقیق بین دارو و نانوذرات پروتئینی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. شبیه‌سازی دینامیک مولکولی یکی از روشهای محاسباتی است که می‌توان برای طراحی دارو و برهمکنش‌های بین مولکولی از آن استفاده کرد (۳). با توجه به تعدد گروههای عاملی پاکلی‌تاکسول و ساختار نسبتاً پیچیده آن، به منظور افزایش احتمال برقراری تمام برهمکنش‌های ممکن، بیش از یک عدد پروتئین استفاده شد. همچنین برای بررسی چگونگی و میزان وابستگی خواص مورد مطالعه به تعداد پروتئینها، برهمکنش پاکلی‌تاکسول با یک تا پنج پروتئین شبیه‌سازی شد.

### مواد و روشها

**مراحل شبیه‌سازی:** محاسبات تئوری تابع چگالی (۴) به منظور دستیابی به ساختار بهینه شده مولکول پاکلی‌تاکسول و زنجیر جانبی اسید آمینه مولکول آستروپسین A به کار برده شد. این محاسبات با استفاده از تابعیت هیبریدی (۶) 6-311G/B3LYP انجام گرفت. تمامی محاسبات با استفاده از برنامه G09 (۳۰) برای دستیابی به سیستم شبیه‌سازی ساختار الکترونی مولکولی و اتمی به کار گرفته شد. ساختار شبیه‌سازی شده آنها که توسط این محاسبات به دست آمد و به‌عنوان نقطه آغازین آرایش در شبیه‌سازی

وجود جهش در این سلولها مشاهده شد. به منظور اتصال دارو به سلولها، جهش دیگر در این سلولها باید انجام شود تا سبب پایداری آن شود. وانگ و همکارانش (۷) به بررسی برهمکنش پاکلی‌تاکسول با  $\beta$ -توبولین پرداختند. در این مطالعه به روش داکینگ انرژی اتصال، الکترواستاتیکی و انرژی پیوند هیدروژنی کمپلکس پاکلی‌تاکسول-اسیدهای آمینه توبولین و سپس با شبیه‌سازی دینامیک مولکولی پاکلی‌تاکسول با  $\beta$ -توبولین محاسبه انرژی کمپلکس پاکلی-تاکسول-اسیدهای آمینه توبولین را انجام دادند. همچنین صرفاً به کمک داکینگ، انرژیهای مورد نیاز کمپلکس پاکلی‌تاکسول-اسیدهای آمینه توبولین را محاسبه کردند. از این نتایج می‌توان به برهمکنش پایدار پاکلی‌تاکسل با اسیدهای آمینه توبولین دست یافت. پروتئینها با حلالیت بالا می‌توانند به عنوان سیستم ره‌ایش استفاده شوند. آستروپسین A بدلیل داشتن پپتیدهای گره‌دار با آرایش مولکولی دی‌سولفید صلب و سه  $\beta$ -sheet fold، یک قالب جدید برای داروهای پپتیدی خوراکی، به دلیل مقاومت پروتئولیتیک و شیمیایی نسبتاً قوی آنها، مورد توجه همگان قرار گرفته است. تاکنون آستروپسین A در اسفنج دریایی یافت شده است (۲۵). آستروپسین A تنها یکی از چهار پپتید مشتق شده از اسفنجی است که دارای دو قسمت مساوی از دی‌سولفید می‌باشد. ساختار کریستالی آن، شامل N- ترمینال پیروگلوتامیک اسید، کنفورماسیون سیس- ترانس پرولین و جفت دی‌سولفید می‌باشد. N- ترمینال پیروگلوتامیک اسید برای کنفورماسیون مناسب پپتیدها مهم است. از چهار پپتید، دو تای آن دارای ساختار سیس است. در ساختار آستروپسین A، سه  $\beta$ -sheet غیر موازی پل دی‌سولفید وجود دارد. دو تا از آنها در وسط ساختار و سومین پل دی‌سولفید در نزدیکی همسایه N- ترمینال واقع شده است. آستروپسین A دارای اسید آمینه اسیدی است. فعالیت بیولوژیکی متمایز همراه با ویژگیهای متعدد دیگر مانند توالی کم، تشکیل N- ترمینال پیروگلوتامیک اسید و سیس پرولین، آستروپسین A را از

دینامیک مولکولی مورد استفاده قرار گرفت، در شکل ۲ نشان داده شده است.



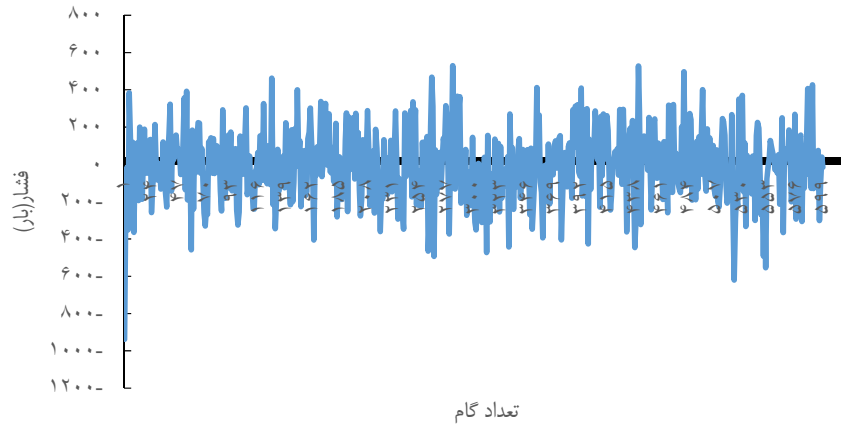
شکل ۲- ساختار بیهینه شده الف) مولکول پاکلی تاکسول ب) زنجیر جانبی اسید آمینه مولکول آستروپسین A

کلوین و ۱ بار تنظیم گردید. طول پیوند با الگوریتم (۱۴) LINCS به دست آمد. الگوریتم مش اولد ذرات (۱۱) به منظور برهمکنش طولانی برد به کار گرفته شد. برهمکنش لنارد-جونز با شعاع قطع  $1/6$  نانومتر انتخاب گردید. لیست همسایه هر ۵ گام یکبار تنظیم شد. زمان هر گام فمتوثانیه برای انتگرال‌گیری از معادله حرکت (۵) استفاده گردید. شبیه‌سازی بعد از انجام تعادل و در دما و فشار ثابت، ۵۰ نانوثانیه طول کشید. بعد از انجام شبیه‌سازی به بررسی

شبیه‌سازی دینامیک مولکولی با نرم افزار گرومکس (۲۲) نسخه ۴.۵.۴ انجام گرفت. میدان نیروی استفاده شده جهت شبیه‌سازی، GROMOS 53a6 (۳۳) است. به منظور انجام شبیه‌سازی سیستم، جعبه مربعی ایجاد شد تا تعداد مولکولهای آبی که به آن اضافه می‌شود، تعیین شود. افزودن تعداد آستروپسین A به سیستم با استفاده از دستورهای نرم‌افزار گرومکس انجام گردید. در همه شبیه‌سازیها، دما و فشار با استفاده از الگوریتم برنارسن (۲۱) به ترتیب در ۳۱۰

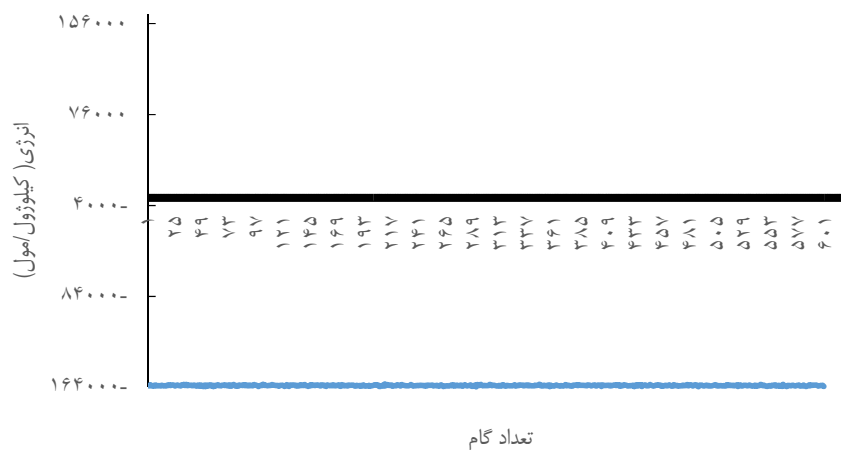
فشار، دما و انرژی سیستم‌های مورد مطالعه پرداخته و همگرایی تمامی سیستمها در طول شبیه‌سازی مشاهده گردید که بعنوان نمونه سیستم پاکلی تاکسول + یک آستروپسین A در نمودارهای ۱ تا ۳ نشان داده شده است.

همگرایی فشار در طول شبیه‌سازی



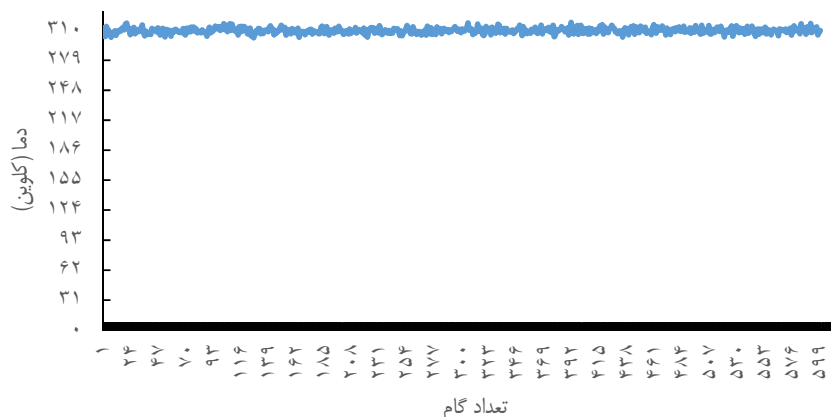
نمودار ۱- همگرایی فشار در طول شبیه‌سازی در سیستم شامل پاکلی تاکسول + یک آستروپسین A

همگرایی انرژی در طول شبیه‌سازی



نمودار ۲- همگرایی انرژی طول شبیه‌سازی در سیستم شامل پاکلی تاکسول + یک آستروپسین A

## همگرایی دما در طول شبیه‌سازی



نمودار ۳-همگرایی دما در طول شبیه‌سازی در سیستم شامل پاکلی‌تاکسول+یک آستروپسین A

(۱۲) تبدیل شد که شامل اطلاعات شعاع اتمی و بار است. با نرم‌افزار PYMOL (۲۷) سطح مولکولی کمپلکسها مشاهده گردید. روش محاسبه دینامیک مولکولی با معادله پواسون- بولتزمن (۳۶) برای محاسبه انرژی آزاد اتصال به کار گرفته شد. انرژی آزاد اتصال به صورت زیر محاسبه می‌شود:

$$\Delta G_{\text{bind}} = \Delta G_{\text{complex}} - (\Delta G_{\text{protein}} - \Delta G_{\text{drug}})$$

(معادله ۱)

میدان نیروی CHARMM استفاده گردید و ثابت حل-شونده و حلال به ترتیب ۲ و ۷۸/۵۴ استفاده شد (۳۵). معادله زیر برای محاسبه انرژی آزاد حلال پوشی به کار گرفته شد:

$$\Delta G_{\text{sol}} = G_{\text{el}} - G_{\text{vacuum}} \quad (\text{معادله ۲})$$

انرژی آزاد حلال پوشی در خلأ با ثابت دی الکتریک ۱ و در محیط حلال با ثابت دی الکتریک ۷۸/۵۴ محاسبه شد (۳۱ و ۳۴). برای محاسبه انرژی آزاد الکترواستاتیک نیز از روش محاسبه دینامیک مولکولی با معادله پواسون-بولتزمن استفاده گردید.

خلاصه شبیه‌سازی در جدول ۱ گردآوری شده است.

جدول ۱- خلاصه شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

تعداد مولکول حلال	تعداد مولکول A آستروپسین	تعداد مولکول پاکلی‌تاکسل
۱۳۸۳	۰	۱
۶۲۴۲	۱	۰
۴۸۷۲	۲	۰
۴۷۰۹	۳	۰
۳۷۶۹	۴	۰
۳۴۹۰	۵	۰
۶۲۲۳	۱	۱
۴۸۳۳	۲	۱
۴۴۱۴	۳	۱
۳۷۱۴	۴	۱
۳۴۲۸	۵	۱

محاسبات انرژی آزاد حلال پوشی و اتصال: به منظور محاسبه انرژی آزاد حلال پوشی و انرژی آزاد اتصال لیگند (پاکلی‌تاکسول) و پروتئینها (آستروپسین A)، ساختار کمپلکس آنها، پروتئین و دارو در آخرین مرحله شبیه‌سازی با فرمت pdb (۱۹) ذخیره شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار AUTODOCK نسخه ۴.۰.۲ (۱۷) فایل pdb به فایل PQR

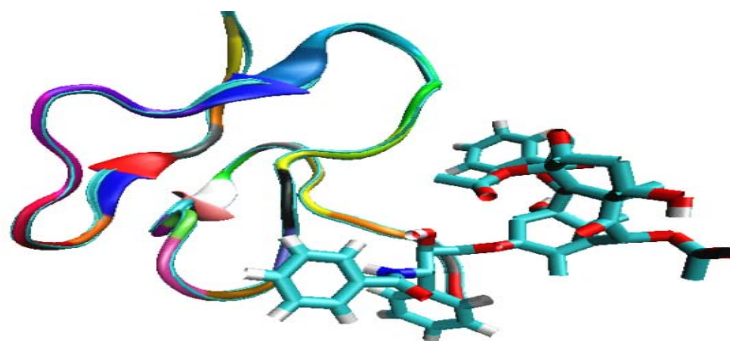
## نتایج و بحث

و سایر روش‌های محاسباتی، طراحی دارو سریع‌تر و با درصد خطای کمتری می‌تواند انجام پذیرد (۲).

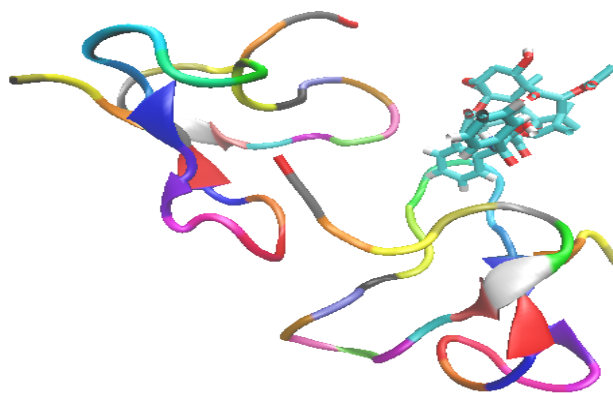
شبیه‌سازی دینامیک مولکولی کمپلکس‌های لیگند-نانوذرات پروتئین در ۵۰ نانوثانیه انجام یافت. تصاویر مرحله‌نهایی سیستم‌های پاکلی‌تاکسول-آستروپسین A-آب در شکل ۳ الف تا ۳ ث نشان داده شده است. در تصاویر مربوطه مولکول‌های آب نشان داده نشده است.

برخی از داروهای ضد سرطانی مانند پاکلی‌تاکسل، باعث مهار فرآیند پلیمریزاسیون میکروتوبول‌ها می‌شوند. به منظور طراحی و توسعه چنین داروهای ضد سرطانی، این ترکیبات توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است (۱). امروزه با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

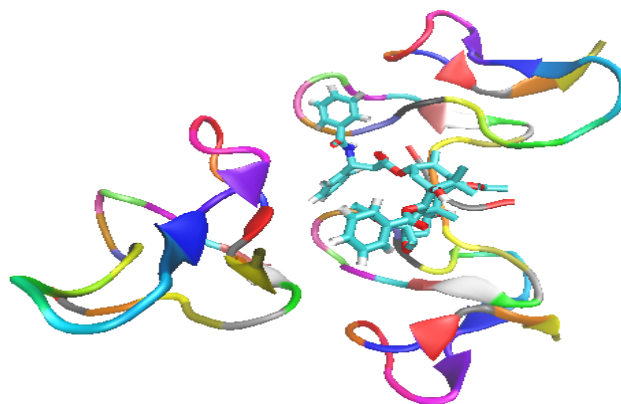
(الف)



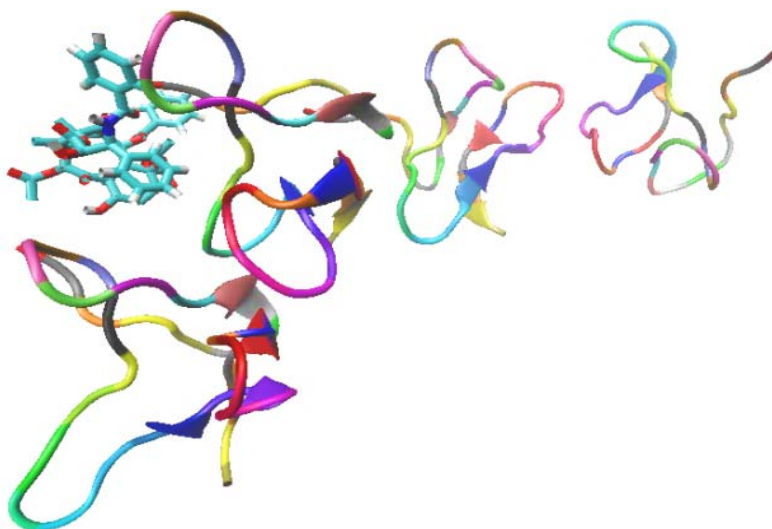
(ب)



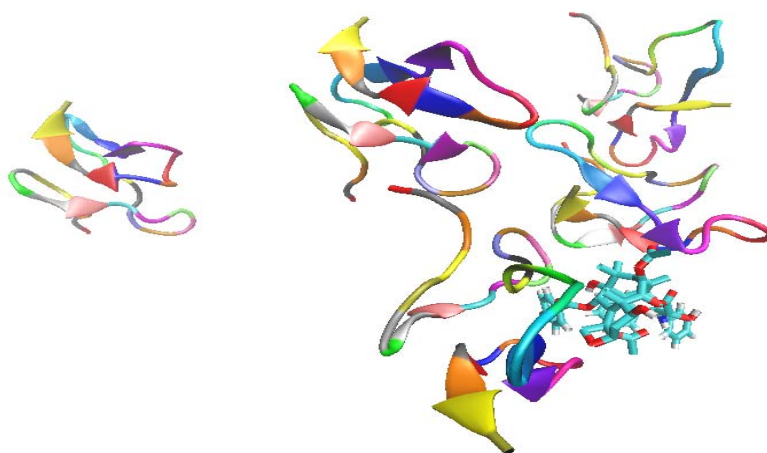
(پ)



(ت)



(ث)



شکل ۳- تصاویر شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بعد از ۵۰ نانوثانیه در سیستم‌های شامل پاکلی‌تاکسول با آستروپسین A در آب، الف) سیستم شامل یک آستروپسین A، ب) سیستم شامل دو آستروپسین A، پ) سیستم شامل سه آستروپسین A، ت) سیستم شامل چهار آستروپسین A و ث) سیستم شامل پنج آستروپسین A.

در نمودار ۴ مشاهده می‌شود که شعاع چرخش بر حسب تعداد پروتئین به شکل خطی افزایش می‌یابد.

جذر میانگین مربع نوسانات اتمی پاکلی‌تاکسول در سیستم‌های شبیه‌سازی شده شامل آستروپسین A - پاکلی-تاکسول در ۱۰ نانوثانیه نهایی در جدول ۳ گنجانده شده است.

مقادیر شعاع چرخش آستروپسین A در حضور و عدم حضور پاکلی‌تاکسول در جدول ۲ نشان داده شده است.

شعاع چرخش پروتئین، با حضور و عدم حضور پاکلی-تاکسول، افزایش یافته است. جدول ۲ نشان می‌دهد با زیاد کردن تعداد مولکولهای پروتئین مقدار شعاع چرخش افزایش می‌یابد ولی نرخ این افزایش به تدریج کم می‌شود که بیانگر جمع شدن مولکولهای پروتئین در اطراف پاکلی-تاکسول می‌باشد.



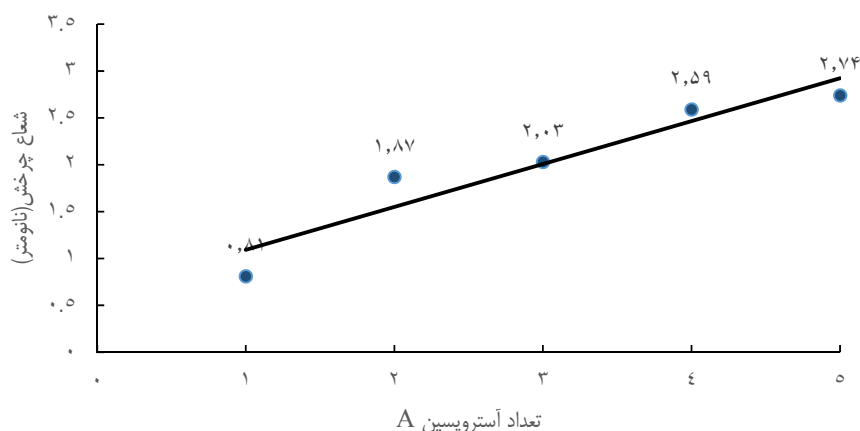
جدول ۲- شعاع چرخش آستروپسین A در حضور و عدم حضور پاکلی تاکسول در سیستم‌های مختلف در ۱۰ نانوثانیه نهایی.

سیستم‌ها	شعاع چرخش (نانومتر)
یک آستروپسین A	۰.۷۹
یک آستروپسین A-پاکلی تاکسول	۰.۸۱
دو آستروپسین A	۱.۲۹
دو آستروپسین A-پاکلی تاکسول	۱.۸۷
سه آستروپسین A	۱.۹۱
سه آستروپسین A-پاکلی تاکسول	۲.۰۳
چهار آستروپسین A	۲.۴۳
چهار آستروپسین A-پاکلی تاکسول	۲.۵۹
پنج آستروپسین A	۲.۶۳
پنج آستروپسین A-پاکلی تاکسول	۲.۷۴

جدول ۳- میانگین مقادیر جذر میانگین مربع نوسانات اتمی پاکلی- تاکسول در سیستم‌های شبیه‌سازی شده مختلف شامل پاکلی تاکسل- آستروپسین A.

تعداد آستروپسین A	میانگین مقدار جذر میانگین مربع نوسانات اتمی پاکلی- تاکسول (نانومتر)
۱	۰.۰۹۳
۲	۰.۰۸۹
۳	۰.۰۸۵
۴	۰.۰۸۰
۵	۰.۰۷۸

شعاع چرخش آستروپسین A



نمودار ۴- شعاع چرخش آستروپسین A به ازای افزایش تعداد پروتئینها در سیستم‌های مختلف پاکلی تاکسول + آستروپسین A در ۱۰ نانوثانیه نهایی.

شده است.

با توجه به نمودار ۵، می‌توان نتیجه گرفت با افزایش تعداد نانوذرات پروتئینی، حداقل فواصل بین پاکلی تاکسول و آستروپسین A کاهش یافته است و با کاهش فواصل بین دارو و پروتئین برهمکنش دارو با پروتئین افزایش یافته و به دلیل آرایش پاکلی تاکسول و آستروپسین A، دارو توسط نانوذرات پروتئینی احاطه شده است.

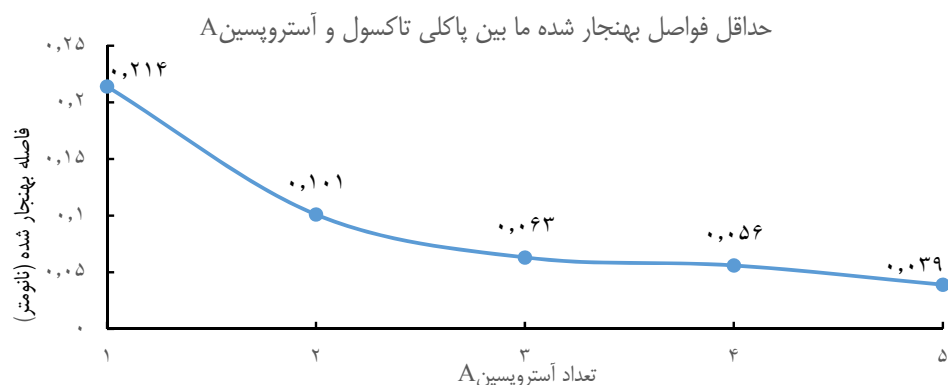
جدول نشان می‌دهد که با افزایش تعداد آستروپسین A، از میزان نوسانات پاکلی تاکسول کاسته می‌شود. زیرا با افزایش تعداد پروتئین، آستروپسین A برای پاکلی تاکسول ممانعت فضایی ایجاد کرده و احتمال احاطه شدن دارو توسط پروتئین افزایش یافته و از میزان نوسانات دارو کاسته شده است.

مقادیر حداقل فواصل ما بین پاکلی تاکسول و آستروپسین A در ۱۰ نانوثانیه نهایی شبیه‌سازی در نمودار ۵ نشان داده

داده‌اند، نشان داده شده است، ولی تعداد پیوندهای هیدروژنی داده شده در تمامی اسیدآمینها به یک میزان نبوده و در برخی تنها در لحظات بسیار کمی از زمان شبیه-سازی دیده شد ولی تعدادی از اسیدآمینها نیز در تمام مسیر، پس از حصول تعادل، پیوند هیدروژنی تشکیل داده‌اند.

به منظور تعیین پایداری پیوند هیدروژنی مابین پاکلی-تاکسول و هریک از اسیدآمینهای آستروپسین A، آنالیز پیوند هیدروژنی انجام یافت. با توجه به آنالیز، قدرت برهمکنشها در طول شبیه‌سازی متفاوت بود. پیوند هیدروژنی مابین اسیدآمینهای متفاوت مولکول پروتئین و دارو در طول شبیه‌سازی در جدول ۴ نشان داده شده است.

با توجه به جدول فوق اسیدآمینهای مختلف آستروپسین A که با پاکلی‌تاکسول در مسیر شبیه‌سازی پیوند هیدروژنی



نمودار ۵- حداقل فواصل به هنجار شده ما بین پاکلی‌تاکسول و مجموعه آستروپسین A در سیستمهای مختلف در ۱۰ نانوثانیه نهایی.

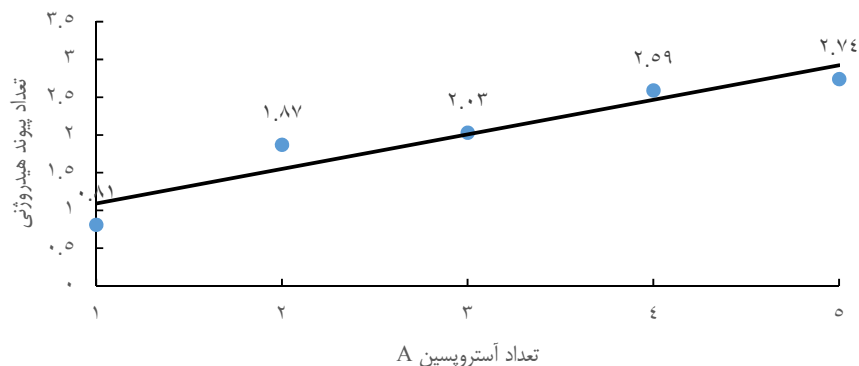
جدول ۴- اسیدآمینهای مختلف آستروپسین A در سیستمهای مختلف که با پاکلی‌تاکسول پیوند هیدروژنی پیوند داده‌اند.

سیستم مورد بررسی	میانگین پیوند هیدروژنی در ۱۰ نانوثانیه نهایی	اسیدآمینهای پیوند داده
پاکلی‌تاکسول+یک آستروپسین A	۰,۹۶۴	پیروگلوتامیک اسید، ۱، گلایسین ۲، والین ۱۲، فنیل آلانین ۱۴
پاکلی‌تاکسول+دو آستروپسین A	۱,۰۸	گلوتامیک اسید، ۶، گلوتامین ۱۳، لوسین ۲۱، لوسین ۲۳، تیروزین ۳۶
پاکلی‌تاکسول+سه آستروپسین A	۲,۶۶۶	سیستئین ۳، گلوتامیک اسید، ۸، سرین ۹، فنیل-آلانین ۱۴، تیروزین ۱۵، تیروزین ۳۳، تیروزین ۳۵
پاکلی‌تاکسول+چهار آستروپسین A	۳,۷۰۶	پیروگلوتامیک اسید، ۱، گلایسین ۲، سیستئین ۳، گلوتامین ۱۳، فنیل آلانین ۱۴، تیروزین ۱۵، سیستئین ۱۷، پرولین ۱۹، لوسین ۲۱
پاکلی‌تاکسول+پنج آستروپسین A	۴,۲۴۸	پیروگلوتامیک اسید، ۱، سیستئین ۱۷، گلایسین ۲۰، تیروزین ۲۴، سیستئین ۲۵، اسپارژینین ۲۹

در نمودار ۶، میانگین تعداد پیوند هیدروژنی مابین دارو و مولکولهای پروتئین برحسب افزایش تعداد آستروپسین A، در سیستمهای مختلف شبیه‌سازی شده دارو+پروتئین نشان داده شده است. در نمودار ۶ مشاهده می‌شود که تعداد پیوند هیدروژنی بین پاکلی تاکسول و پروتئین به ازای هر پروتئین تقریباً ثابت است.

میانگین تعداد پیوند هیدروژنی ما بین دارو با پروتئین به ازای افزایش

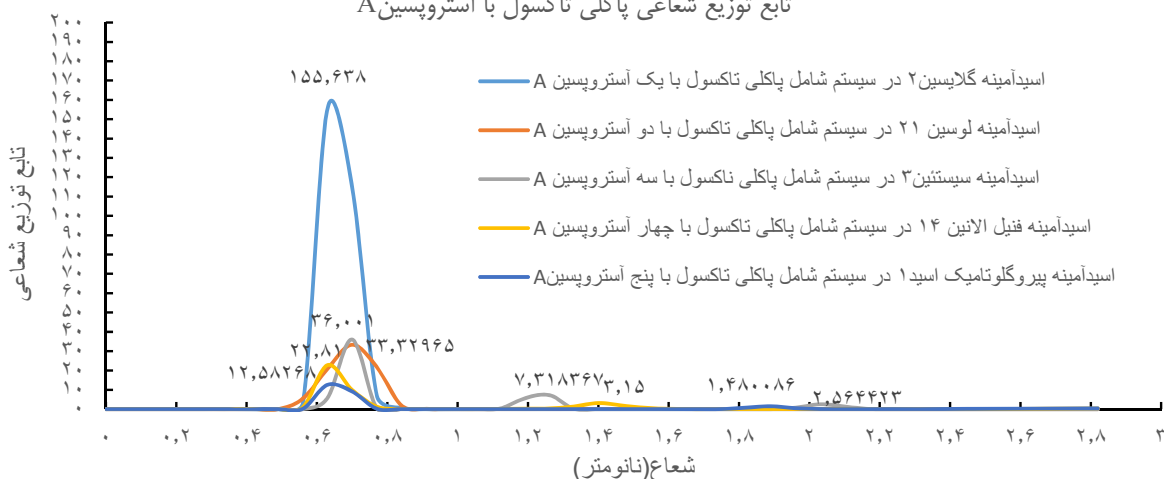
تعداد پروتئین ها



نمودار ۶- تعداد میانگین پیوند هیدروژنی مابین پاکلی تاکسول و آستروپسین A، به ازای افزایش تعداد پروتئینها در سیستمهای مختلف در ۱۰ نانوثانیه نهایی.

با توجه به تجزیه و تحلیل تابع توزیع شعاعی پاکلی- تاکسول در اطراف زنجیر جانبی اسید آمینه‌ها در ۱۰ نانوثانیه نهایی شبیه‌سازی که در نمودار ۷ نشان داده شده است و محل قله تیز آن، به وجود برهمکنش میان پاکلی تاکسول با اسید آمینه‌های مربوطه می‌توان پی برد.

تابع توزیع شعاعی پاکلی تاکسول با آستروپسین A



نمودار ۷- تابع توزیع شعاعی اسید آمینه‌هایی که با پاکلی تاکسول برهمکنش داده‌اند.

پیکهای نشان داده شده در شکل نشانگر وجود برهمکنش مابین مولکولهای دارو و نانوذرات پروتئینی از نوع برهمکنش الکترواستاتیکی بار- بار می‌باشد. همچنین این شکل نشان می‌دهد که در سیستمهای پاکلی تاکسول+

به منظور تعیین برهمکنش پاکلی تاکسول و آستروپسین A، انرژی اتصال کمپلکس پاکلی تاکسول + پروتئین ( $\Delta G_b$ )، انرژی آزاد حلال‌پوشی پاکلی تاکسول با پروتئین ( $\Delta G_s$ ) و انرژی الکترواستاتیک (E) برای سیستم‌های مورد مطالعه، محاسبه گردید. نتایج در جدول ۵ نشان داده شده است.

آستروپسین A، محل اولین قله تابع توزیع شعاعی در فواصل ۰٫۵ تا ۰٫۹ نانومتر می‌باشد که نشانگر وجود برهمکنش کولنی پاکلی تاکسول با آستروپسین A در این فواصل است.

جدول ۵- مقادیر  $\Delta G_s$ ،  $\Delta G_b$  و E در سیستم‌های مختلف مورد مطالعه.

سیستم‌ها	E (kJ/mol)	$\Delta G_s$ (kJ/mol)	$\Delta G_b$ (kJ/mol)
پاکلی تاکسل	۰	-۰٫۰۱۳	-
یک آستروپسین A	-۱۳۵۴٫۶۷	-۲۹۰۲٫۱۶	-
یک آستروپسین A+پاکلی تاکسول	-۱۷۹۴٫۶۵	-۳۱۴۸٫۲۳	-۱٫۱۴
دو آستروپسین A+پاکلی تاکسول	-۲۹۸۱٫۷۵	-۷۱۴۴٫۸۴	-۱٫۳۶
سه آستروپسین A+پاکلی تاکسول	-۷۰۲۵٫۰۵	-۱۱۹۰۰٫۴۶	-۱٫۶۴
چهار آستروپسین A+پاکلی تاکسول	-۱۱۹۵۴٫۷۵	-۱۴۷۳۳٫۵۲	-۱٫۹۷
پنج آستروپسین A+پاکلی تاکسول	-۱۹۱۲۸٫۷۴	-۲۰۱۴۵٫۶۳	-۲٫۰۵

پاکلی تاکسول+ آستروپسین A، انرژی آزاد اتصال منفی‌تر می‌شود. بنابراین بر میزان برهمکنش مابین پروتئینها و پاکلی تاکسول افزوده می‌شود.

مقدار انرژی الکترواستاتیک کل در سیستم دارای آستروپسین A در مقایسه با سیستم حاوی پاکلی تاکسول و آستروپسین A بیشتر است که نشانگر وجود برهمکنش الکترواستاتیک مابین دارو و پروتئینها می‌باشد.

با دقت در نمودارهای ۸، ۹ و ۱۰ که نشان‌دهنده میزان انرژی آزاد حلال‌پوشی، اتصال و الکترواستاتیک به ازای هر پروتئین می‌باشد، می‌توان دریافت که این کمیتها با تعداد پروتئین رفتار خطی دارند.

### نتیجه‌گیری

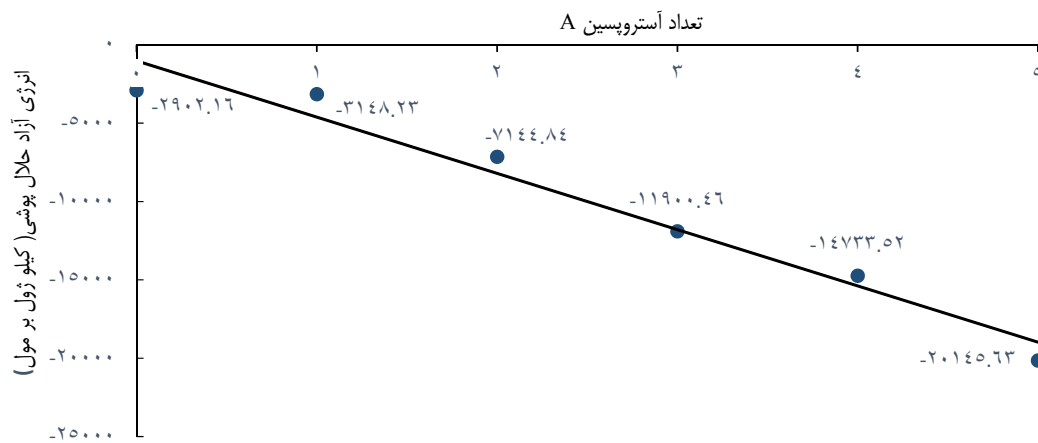
در این کار تحقیقاتی، سیستم پاکلی تاکسول در حضور پروتئین آستروپسین A و همچنین بدون حضور آن با

اطلاعات این جدول نشان می‌دهد که پاکلی تاکسل انرژی آزاد حلال‌پوشی کمی دارد که ناشی از حلالیت پایین آن در آب است. آستروپسین A دارای بیشترین انرژی آزاد حلال‌پوشی می‌باشد. مقادیر منفی و بزرگ برای  $\Delta G_s$ ، به دلیل حلالیت بالای آستروپسین A در آب است. با اضافه کردن هر چه بیشتر آستروپسین A به پاکلی تاکسول، انرژی آزاد حلال‌پوشی پاکلی تاکسول منفی‌تر می‌شود. زیرا اتصال پاکلی تاکسول به آستروپسین A از سمت آبگریز پاکلی تاکسل به سمت آبگریز آستروپسین A اتفاق می‌افتد و بنابراین قسمتهای آبدوست پاکلی تاکسول و آستروپسین A در نزدیکی مولکولهای آب قرار گرفته و در نتیجه بر میزان حلالیت پاکلی تاکسول افزوده می‌شود.

مقادیر انرژی آزاد اتصال نشانگر قدرت برهمکنش مابین پاکلی تاکسول و آستروپسین A می‌باشد. با توجه به جدول ۵، با اضافه کردن تعداد آستروپسین A در سیستم‌های

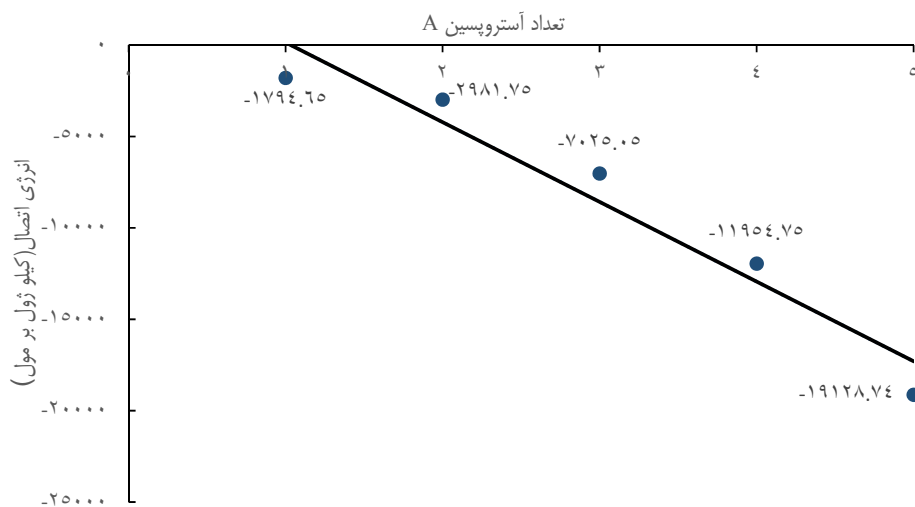
استفاده از فنون شبیه‌سازی دینامیک مولکولی مورد مطالعه قرار گرفت.

### انرژی آزاد حلال پوشی پاکلی تاکسول با پروتئین



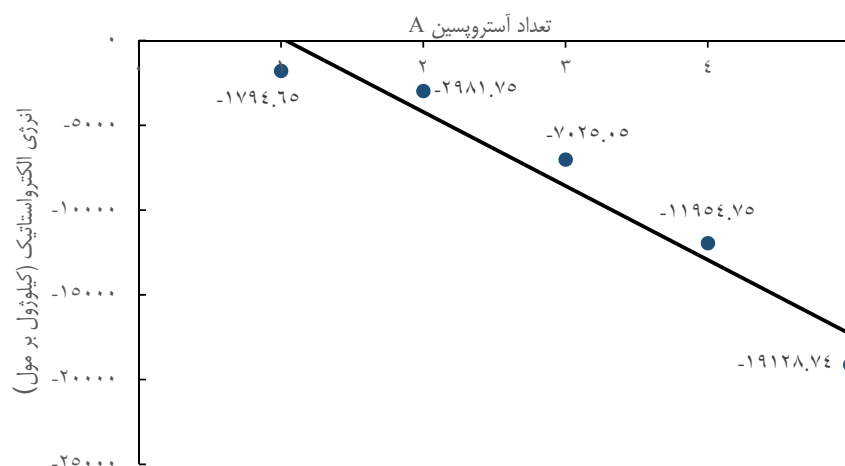
نمودار ۸- انرژی آزاد حلال پوشی پاکلی تاکسول + آستروپسین A به ازای افزایش تعداد پروتئینها.

### انرژی اتصال پاکلی تاکسول با آستروپسین A



نمودار ۹- انرژی اتصال پاکلی تاکسول + آستروپسین A به ازای افزایش تعداد پروتئینها.

## انرژی الکترواستاتیک پاکلی تاکسول با پروتئین



نمودار ۱۰- انرژی الکترواستاتیک پاکلی تاکسول+ آستروپسین A به ازای افزایش تعداد پروتئینها.

پاکلی تاکسول+ آستروپسین A و موقعیت تابع توزیع شعاعی به دست آمده و نشانگر افزایش نسبی میزان برهمکنش پاکلی تاکسول با آستروپسین A است. بنابراین آستروپسین A می‌تواند یک عامل اصلاح‌کننده در کاربرد پاکلی تاکسول باشد.

### قدردانی

این کار تحقیقاتی توسط دانشگاه شهید مدنی آذربایجان حمایت شده است.

نتایج به دست آمده از آنالیز ساختاری سیستمها نشان می‌دهند پروتئینهای افزوده شده به سیستم پاکلی تاکسول+ آب در اطراف دارو تجمع می‌یابند. برهمکنش میان پاکلی-تاکسول و پروتئین به صورت انرژی اتصال با استفاده از روش مکانیک مولکولی با معادله پواسون- بولتزمن تعیین گردید. مقادیر منفی و نسبتاً بزرگ انرژی اتصال پاکلی-تاکسول- مولکول پروتئین نشان می‌دهد که وجود آستروپسین A سبب افزایش حلالیت پاکلی تاکسول در آب شده است. برخی پارامترهای ساختاری شامل تعداد پیوند هیدروژنی پاکلی تاکسول+ آستروپسین A، فاصله میانگین

### منابع

- آریاپور، حسن. جواهری مقدم، مصطفی. دهنوخلجی، علی اکبر (۱۳۹۴). طراحی ترکیبات کرومینی جدید با فعالیت ضد سرطانی و بررسی چگونگی میانکشی آنها با توبولین به روش داکینگ مولکولی. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی. ۲۸(۲): ۱۹۰-۱۷۸.
- اخوان سپهی، عباس. حسینی، فرزانه. داوری، کامبیز. میرزایی، ساکو. نوروزی، جمیله (۱۳۹۸). کشف مهارکننده علیه بتالاکتاماز
- رزمی منش، فریبا. رضایی مارناتی، حسین. صدیقیان، غلامحسین (۱۳۹۵). بررسی نفوذ داروهای آسپیرین و ایبوپروفن در غشاء دو لایه لیپیدی به کمک شبیه سازی دینامیک مولکولی. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی. ۳۱(۲): ۳۲۸-۳۱۷.
- Becke AD., (2014), Perspective: Fifty years of density-functional theory in chemical physics, *J chem phys*, 140(18) : 18A301-18A3018.
- Berendsen HJC., van der spoel D., van Drunen R.,(1995), Gromacs: A message –passing parallel molecular dynamics implementation,

- Computer physics communications, **91**(1-3): 43-56.
6. Burke K., J.(2012), Perspective on density functional theory, *chem. Phys.*, **136** (15): 150901-150909.
  7. Chi S., Ge M., Jin Y., Shi Q., Wang S., Xu S., Zhang X.,(2011), Molecular dynamics simulation and density functional theory studies on the active pocket for the binding of paclitaxel to tubulin, *Journal of Molecular Modeling*, **18**(1): 377-391.
  8. Cobon GS., Flemming CL., Haber M., Ivery MT., Kavallaris M., Liu M., Norris MD., Verrills NM., (2003), Microtubule Alterations and Mutations Induced by Desoxyepothilone B: Implications for Drug-Target Interactions, *Chemistry & Biology*, **10**(7) : 597-607.
  9. Cresteil T., Monsarrat B., Dubois J., Sonnier M., Alvinerie P., Gueritte F., (2002), Regioselective metabolism of taxoids by human cyp3A4 and 2C8: structure-activity relationship *Drug Metab Dispos*, **30** (2002) : 438-445.
  10. Cucinotto I., Fiorillo L., Gualtieri S., Arbitrio M., Ciliberto D., Staropoli N., Grimaldi A., et al., (2013) Nanoparticle albumin bound paclitaxel in the treatment of human cancer: Nanodelivery reaches prime-time?, *Journal of Drug delivery*, **2013** (2013): 1-10.
  11. Deserno M., Holm C., (1998), How to mesh up Ewald sums. I. A theoretical and numerical comparison of various particle mesh routines *J chem phys*, **109**(18) : 7678-7693.
  12. Dolinsky TJ., Nielsen JE., McCammon JA., Baker NA., (2004), PDB2PQR: an automated pipeline for the setup of Poisson-Boltzmann electrostatics calculations, *Nucleic Acids Research*, **32**: W665-W667.
  13. Downing KH., Noqales E., Wolf SG., (1998), Structure of the alpha beta tubulin dimer by electron crystallography, *Nature*, **391**(6663) : 199-203.
  14. Edberg R., Evans DJ., Morriss GP., (1986), Constrained molecular dynamics: Simulations of liquid alkanes with a new algorithm, *J chem phys*, **84**(12): 6933-6939.
  15. Feng SS., Mu L., Win KY., Huang G.,(2004), Nanoparticles of biodegradable polymers for clinical administration of paclitaxel, *Curr med chem*, **11**(4): 413-424.
  16. Frende D., (2007) Taxanes: perspectives for biotechnological production, *Appl Microbiol Biotechnol*, **73** (6): 1233-1240.
  17. Ghosh B., Satyshur KA., Czajkowski C., (2013), Propofol Binding to the Resting State of the *Gloeobacter violaceus* Ligand-gated Ion Channel (GLIC) Induces Structural Changes in the Inter- and Intrasubunit Transmembrane Domain (TMD) Cavities, *J Biol Chem*, **288** (24) :17420-17431.
  18. Giannaakakou P., O'Brate Aurora, Wang Y., Zhou W., (2005), Resistance to Microtubule-Stabilizing Drugs Involves Two Events  $\beta$ -Tubulin Mutation in One Allele Followed by Loss of the Second Allele, *Cell cycle*, **4**(12): 1847-1853.
  19. Hamelryck T., Manderick B., (2003), PDB file parser and structure class implemented in Python Bioinformatics, **19**(17) : 2308-2310.
  20. Hawkins MJ., Soon-Shiong P., Desai N., (2008), Protein nanoparticles as drug carriers in clinical medicine , *Advanced drug delivery Reviews*, **60**(8): 876-885.
  21. Ighaei Bonab M., Jahhanbin J., Rastkar Ebrahimzadeh A., Mehrnejad F.,(2015), Molecular interactions in the systems composed of curcumin, water and single-walled carbon nanotube: A molecular dynamics simulation study, *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, **12**(9) : 2077-2083.
  22. Khadem- Maaref M., Mehrnejad F., Arzani Zonoz N., Ghahremanpour M.M.,(2012), Role of hydrophobic forces and backbone hydrogen bonding on helical stability of peptide encapsulated into single wall carbon nanotubes *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, **9**(6): 783-788.
  23. Krishnan R., Binkley JS., Pople JA.,(1980), Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions, *J. chem. Phys.*, **72**(1): 650-654.
  24. Lee J., Lee SC., Acharya G., Chang CJ., Park K., (2003), Hydrotropic Solubilization of Paclitaxel: Analysis of Chemical Structures for Hydrotropic Property, *Pharm Res*, **20** (7) :1022-1030.
  25. Li H., Bowling JJ., Fronczek FR., Hong J., Jabba SV., et al.,(2013), Asteropsin A: An unusual cystine-crosslinked peptide from porifera enhances neuronal  $Ca^{2+}$  influx, *Biochim Biophys Acta*, **1830**(3) : 2591-2599.
  26. Li H., Su M., Hamann MT., Bowling JJ., Kim HS., Jung JH.,(2014), Solution Structure of a Sponge-Derived Cystine Knot Peptide and Its Notable Stability, *J Nat Prod*, **77**(2): 304-310.

27. Lill MA., Danielson ML.,(2011), Computer-aided drug design platform using pymol, *J Comput Aided Mol Des*, **25**(1): 13-19.
28. Ma P., Mumper RJ., (2013), Paclitaxel Nano-Delivery Systems: A Comprehensive Review, *J Nanomed Nanotechnol*, **4** (2): 1-35.
29. Malik S., Cusido RM., Mirjalili MH., Moyano E., Palazon J., Bonfill M, (2011), Production of the anticancer drug taxol in taxus baccata suspension cultures: A review, *Process Biochemistry*, **46**(1) :23-34.
30. Maniu D., Chis V., Toderas F., Astilean S., (2007), Density functional theory investigation of p-aminothiophenol molecules adsorbed on gold nanoparticles *Journal of optoelectronics and advanced materials*, **9**(3): 733-736.
31. Marenich AV., Cramer CJ., Truhlar DG.,(2009), Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions, *The Journal of Physical Chemistry.B.*, **113**(18) : 6378-6396.
32. Natarjan K., Senapati S., (2012), Understanding the basis of drug resistance of the mutants of  $\alpha\beta$ -Tubulin dimer via molecular dynamics simulations, *Plos One*, **7**(8): e42351.
33. Oostenbrink C., Soares TA., Van der velt NF., van Gunsteren WF.,(2005), Validation of the 53A6 GROMOS force field, *European Biophys J*, **34**(4) : 273-284.
34. Rocchia W., Alexov E., Honig B.,(2001), Extending the applicability of the nonlinear poisson-boltzmann equation: Multiple dielectric constants and multivalent ions, *The Journal of Physical Chemistry.B.*, **105**(28): 6507-6514.
35. Vanommeslaeghe K., Hatcher E., Archarya C., Kundu S., et al.,(2009), CHARMM General Force Field (CGenFF): A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields *J Comput Chem*, **31**(4) : 671-690.
36. Wang J., Morin P., Wang W., Kollman PA.,(2001), Use of MM-PBSA in reproducing the binding free energies to HIV-1 RT of TIBO derivatives and predicting the binding mode to HIV-1 RT of Efavirenz by docking and MM-PBSA, *J Am Chem Soc*, **123**(23): 5221-5230.
37. Zhang Z., Mei L , Feng SS., (2013), Paclitaxel drug delivery systems, *Expert Opin Drug deliv*, **10**(3) : 325-340.



## Study of the interactions between asteropsin\_A and paclitaxel by the use of molecular dynamics simulation and MM-PBSA

Jahanbin Sardroodi J.<sup>1,2</sup>, Dabbagh Hoseini Poor M.<sup>1,2</sup>, Ighaei Bonab M.<sup>1,2</sup> and Rastkar Ebrahimzadeh A.R.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Molecular Simulation Lab, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R. of Iran

<sup>2</sup>Dept. of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R. of Iran

<sup>3</sup> Dept. of Physics, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R. of Iran

### Abstract

In this paper, the interactions between paclitaxel molecule and asteropsin A protein in the aqueous media have been studied by molecular dynamics simulation and MM-PBSA method. The binding energies between paclitaxel and asteropsin A have been evaluated by the help of MM-PBSA in these systems after equilibration and simulation. The main goal of this study is investigated the active sites to create effective interactions between drug nanoparticles and proteins and also to form a framework for drug by proteins, for this purpose used one, two, three, four and five asteropsin A. The results of molecular dynamics simulations, such as radius of gyration, radial distribution functions and hydrogen bonding, have been discussed. The results were analyzed by the comparing their values in the systems with and without Paclitaxel. The results show that by increasing the number of asteropsin A in the systems, the solubility of paclitaxel in water increases. Also, the results show that the residues Gly2, Leu21, Cys3, Phe14 and Pga1 have maximum interactions with paclitaxel in the systems containing one, two, three, four and five asteropsin A proteins, respectively. The results represent that increasing the number of asteropsin A, lead to increasing the binding affinity of drug to proteins.

**Keywords:** Molecular Dynamics Simulation, Paclitaxel, Asteropsin\_A, Interaction, MM-APBS.