

تأثیر مشتقات بوسولیک اسید (AKBA) 3-O-Acetyl-11-keto- β -boswellic acid روی ساختار مونومر و دایمر $A\beta(1-40)$ و $A\beta(1-42)$: نگرش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

شهلا بلبلیان، محمدرضا بزرگمهر* و علی مرسلی

ایران، مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، گروه شیمی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۲



چکیده

دو پپتید مؤثر در بیماری آلزایمر، $A\beta(1-40)$ و $A\beta(1-42)$ هستند که به صورت تجمعات فیبریلی خارج سلول عصبی، باعث ایجاد بیماری می‌شوند. یکی از روش‌های مهار پیشرفت بیماری آلزایمر، تجویز داروهایی است که باعث کاهش این تجمعات شود. از جمله این داروها، داروهایی با منشأ گیاهی هستند که عوارض جانبی کمتری هم دارند. گیاه بوسولیا (Boswellia) با خواص آنتی‌اکسیدانی بالا، اثرات درمانی در برابر بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های عصبی دارد، در این تحقیق، برهمکنش یک مشتق بوسولیک اسید با نام 3-O-acetyl-11-keto-b-Boswellic acid (AKBA) به عنوان لیگاند با پپتیدهای $A\beta(1-40)$ و $A\beta(1-42)$ به صورت مونومر و دایمر به روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بررسی شد. نتایج آنالیزهای مختلف نشان دادند بیشترین میزان انعطاف دنباله‌ها در دنباله‌های انتهایی C ترمنال پپتید دوم $A\beta(1-40)$ و در حضور لیگاند است و لیگاند، تأثیر بازدارندگی و کاهش تشکیل ساختار صفحه را بر دنباله‌های پپتید $A\beta(1-40)$ نشان می‌دهد. افینیتت اتصال لیگاند به دنباله‌هایی از پپتیدها که بیشترین برخورد با لیگاند را داشتند، با استفاده از معیار فاکتور صورتبندی محاسبه شد و مشخص شد این دنباله‌ها انعطاف پذیری کمتر و در نتیجه تمایل بیشتری به پیوند با لیگاند دارند. در نهایت، جایگاه‌های اتصال از طریق محاسبه انرژی اتصال دنباله‌های مذکور معرفی شد که نتایج حاصل از این شبیه‌سازی دینامیک مولکولی تطابق خوبی با شواهد تجربی مربوطه داشت.

واژه‌های کلیدی: آلزایمر، بوسولیک اسید، بتا آمیلوئید

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۱۳۸۶۸۶۵۹۲، پست الکترونیکی: bozorgmehr@mshdiau.ac.ir

مقدمه

بیماری آلزایمر، مهم‌ترین بیماری زوال عقل در جوامع بشری است (۲۷). یکی از عوامل مهم دخیل در این بیماری، پلاک‌های خارج سلولی می‌باشد (۲۲). این پلاک‌های خارج سلولی توسط فیبریل‌هایی ساخته می‌شوند که خود شامل صفحات پروتئینی آمیلوئیدی به نام آمیلوئید بتا هستند ($A\beta$)، صفحات پروتئینی آمیلوئید بتا دارای توالی ۳۹-۴۳ آمینو اسید هستند که همگی تمایل به تجمع شدگی دارند (۱۴ و ۲۵). دو پپتید مؤثر در این بیماری، $A\beta(1-40)$ و $A\beta(1-42)$ هستند که از Amyloid- β Precursor

Protein (APP) به دست می‌آیند (۲۳). اغلب فرآیندهای تاخوردگی در صفحات پروتئینی آمیلوئیدی ($A\beta(1-40)$) و ($A\beta(1-42)$) منجر به تشکیل فیبریل‌های آمیلوئیدی می‌شود که ساختار صفحه‌ای با خواص مورفولوژیکی متمایز دارند (۱۴ و ۲۵). در یکی از بررسی‌هایی که با استفاده از روش‌های محاسباتی انجام شد مشخص شد که برای تشکیل فیبریل و الیگومر $A\beta$ ، نیاز به تغییر کنفورماسیون از ساختار مارپیچ به ساختار صفحه‌ای می‌باشد (۶).

که روی مغز موش‌های مبتلا به بیماری آلزایمر انجام شد و نتایج آنالیزهای مختلفی که در حضور دو غلظت پایین (۴۵ mg/kg) و بالای (۹۰ mg/kg) بوسولیا سراتا به دست آمد، مشخص شد در حضور غلظت کم این ترکیب، افزایش قابل توجهی در سطح کولین استراز (AChE) در مغز موشها به وجود می‌آید و موشهایی که غلظت بیشتر این ترکیب را دریافت کردند، کاهش قابل توجهی در سطح AChE را نشان دادند. در واقع در طی درمان با بوسولیا سراتا، تعداد سلولهای عصبی زیاد شده و همچنین این سلولها شباهت کمتری با سلولهای مغز موشهای مبتلا به آلزایمر داشته و پلاکهای آمیلوئیدی هم در مغز موشهای مبتلا به آلزایمر، ناپدید شده بود. اثرات درمانی بوسولیا سراتا در غلظت بالاتر (۹۰ mg/kg) بهتر از غلظت کمتر (۴۵ mg/kg) مشاهده شد (۱۶). تحقیقاتی که با استفاده از ترکیب AKBA بر روی گروهی از موشها انجام شد، نشان دادند که درمان با AKBA، باعث کاهش تشکیل پلاکهای A β (1-42) می‌شود (۷). در مطالعه دیگری که روی گروهی دیگر از موشها با استفاده از دو غلظت مختلف mg/kg b.wt ۱۳۷/۵ و mg/kg b.wt ۶۸/۷۵ از AKBA انجام شد، مشخص شد که در حضور غلظت کمتر این ترکیب (mg/kg ۶۸/۷۵)، میزان اختلال عصبی و فعالیت آنزیم کولین استراز، افزایش بیشتری داشته است (۲۳).

در تحقیق حاضر، از لیگاند بوسولیک اسید (AKBA) به عنوان بازدارنده تشکیل تجمعات صفحات پروتئینی آمیلوئیدی A β (1-40) و A β (1-42) (مونومری و دیمری) استفاده شد تا تغییرات ساختاری این صفحات پروتئینی آمیلوئیدی و همچنین شناسایی جایگاههای اتصال لیگاند به صفحات پروتئینی آمیلوئیدی با استفاده از روش شبیه سازی دینامیک مولکولی بررسی شود.

مواد و روشها

در این تحقیق ۸ جعبه شبیه سازی با ابعاد مختلف طراحی شد. در ۴ جعبه اول، پپتید A β (1-40) با کد Iba4 (۶) در

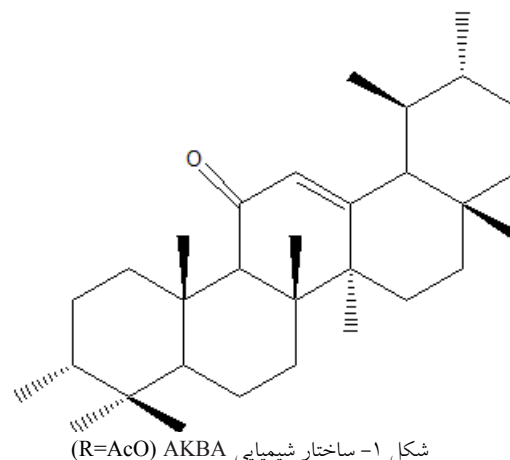
با توجه به پیشرفتهای قابل توجه در فهم مکانیسمهای مرتبط با پیشرفت بیماری آلزایمر، هنوز داروهای مؤثر متوقف‌کننده این بیماری شناخته نشده است (۱۹). از آنجاییکه دستیابی به داروهایی با اثرات جانبی کمتر به خصوص با منشاء گیاهی هدف بسیاری از محققین می‌باشد، اهمیت درمان با گیاهان دارویی به طور سنتی در بیماریهای مختلف مورد استفاده قرار گرفته اند. به طور خاص، اجزای شیمیایی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌توانند در غلظتهای بالا در گیاهان یافت شوند و اثرات درمانی در برابر بیماریهای مختلف از جمله بیماریهای عصبی داشته باشند (۲۶). یکی از این گیاهان دارویی، بوسولیا (کندر) است. بوسولیا از جمله درختان معطر شناخته شده ای است که کاربردهای دارویی زیادی دارد و بیشتر در مناطق آفریقای شمالی و کشورهای عربی تجارت می‌شود. کندر یک رزین طبیعی چسب مانند می‌باشد (۳). بوسولیا دارای ۲۵ گونه مشخص است که یکی از مهم ترین آنها، بوسولیا سراتا (*Boswellia serrata*) است (۷، ۱۲، ۴). بوسولیک اسیدها، (BA) (*Boswellic Acid*)، و ویژگیهای شیمیایی مشترک در همه گونه های بوسولیا دارند. بوسولیک اسیدها از نظر ترکیب شیمیایی، ساختار 3-hydroxyurs-12-ene-23-oic acid دارند. شش ترکیب مهم بوسولیک اسید که در همه گونه های بوسولیا وجود دارند شامل آلفا بوسولیک اسید (α -BA) (*Boswellic Acids*)، بتا بوسولیک اسید (β -BA) (*Boswellic Acids*)، اسید استیل آلفا و بتا-بوسولیک اسید (*Acetylated α and β -Boswellic Acids (ABA)*)، ۱۱-کتو بتا-بوسولیک اسید (*11-keto- β -Boswellic acid (KBA)*) و اسید استیل ۱۱-کتو بتا-بوسولیک اسید (*3-O-acetyl-11-keto- β -Boswellic acid (AKBA)*) هستند (۲۸). بنابراین دو تا از مهم ترین ترکیبات خانواده بوسولیک اسیدها، (AKBA) و (KBA) هستند (۱۵). بوسولیا سراتا دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی در سیستم مغزی و عروقی است (۲۹). یکی از تاثیرات این ترکیب در بیماری آلزایمر، افزایش طول عمر سلولهای عصبی است (۲۳). در تحقیقی

مولکولی با نرم افزار گرومکس نسخه 5.1.2 (۲۰) و میدان نیروی gromos 43a1 انجام شد. نام در نظر گرفته شده برای هر سیستم شامل دو بخش است. کاراکتر A نشان دهنده پپتید $A\beta$ (1-40) و کاراکتر B نشان دهنده پپتید $A\beta$ (1-42) است. کاراکتر L هم معرف لیگاند بوسولیک اسید است. به عنوان مثال سیستم A2L سیستمی است که شامل دو پپتید $A\beta$ (1-40) و در حضور لیگاند است. و یا سیستم B2 سیستمی است که فقط شامل دو پپتید $A\beta$ (1-42) و در غیاب لیگاند است. نام و مشخصات سیستم‌های شبیه سازی و اجزای هر سیستم در جدول ۱ گزارش شده است.

نتایج و بحث

از آنجایی که تغییرات انعطاف پذیری دنباله های پپتید، در فعالیت آن نقش زیادی دارند، از آنالیز RMSF که معیاری از انعطاف پذیری دنباله های پروتیین به شمار می رود (۹)، برای بررسی انعطاف پذیری دنباله های پپتیدهای $A\beta$ (1-40) و $A\beta$ (1-42) در همه سیستم‌های طراحی شده استفاده شد و نتایج در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج آنالیز RMSF نشان می دهد که افزودن لیگاند بوسولیک اسید به پپتیدهای $A\beta$ (1-40) و $A\beta$ (1-42)، باعث کاهش انعطاف پذیری اغلب دنباله های این پپتید در سیستم‌های A2L و B2L شده است. بیشترین میزان انعطاف دنباله ها در دنباله های انتهایی C ترمینال پپتید ۲ در سیستم A2L و کمترین میزان انعطاف دنباله ها در سیستم B1L و A1 مشاهده شد. برای بررسی دقیق تر، تغییرات ساختار دوم هر پپتید در سیستم‌های مختلف مشخص شد و در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج نشان دادند که ساختار صفحه بیشتر در انتهای C ترمینال پپتیدها تشکیل شده است. با افزودن لیگاند به سیستم A1L، ساختار صفحه کاملاً از بین رفت و میزان ساختار مارپیچ هم افزایش قابل ملاحظه ای را نشان داد. افزودن لیگاند به سیستم A2L، باعث کاهش قابل ملاحظه ساختار صفحه در پپتید ۱ این سیستم شد. این درحالی است که افزودن لیگاند به پپتیدهای $A\beta$ (1-42)

مرکز جعبه ها قرار داده شد. به دو تا از این جعبه ها یک پپتید دیگر $A\beta$ (1-40) افزوده شد تا سیستم دیمری هم تشکیل شود. سپس لیگاند بوسولیک اسید (AKBA) به یکی از سیستم‌های مونومر و یکی از سیستم‌های دیمر افزوده شد. همین روند برای چهار جعبه دیگر هم انجام شد، با این تفاوت که به جای پپتید $A\beta$ (1-40) از پپتید $A\beta$ (1-42) با کد 1Z0Q استفاده شد.



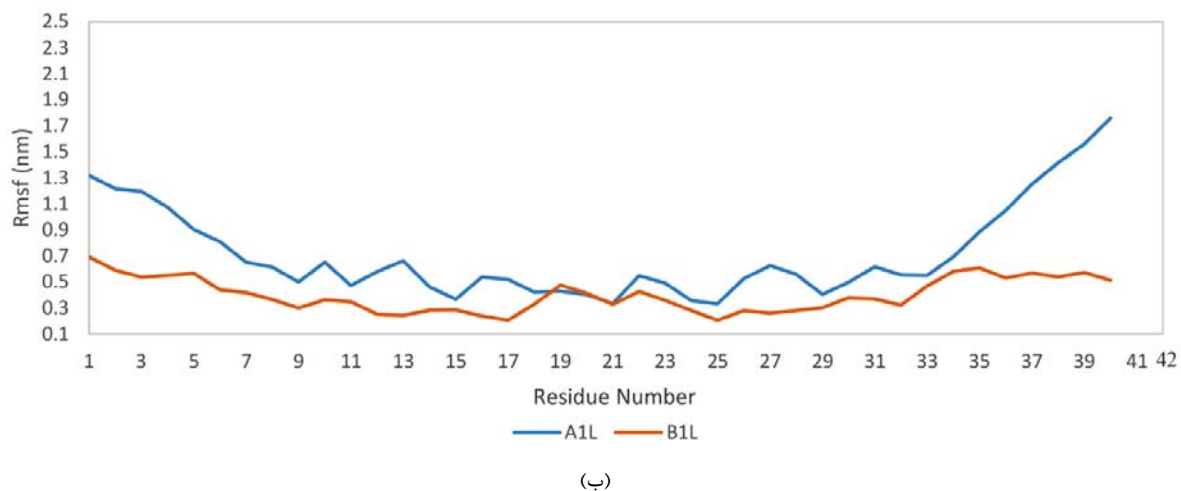
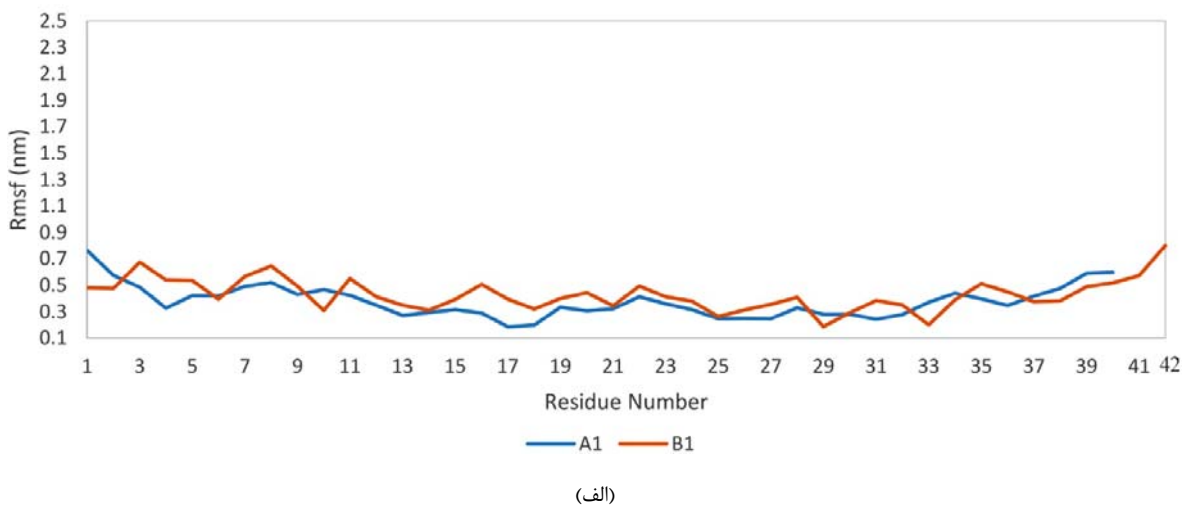
سپس هر یک از جعبه های شبیه سازی با استفاده از آب مدل SPC پر شد. جهت خنثی سازی محلول‌های حاصل، یونهای سدیم به تعداد لازم به هر یک از جعبه های طراحی شده اضافه شد. در ادامه، در مجموعه NVT شش شبیه سازی ۵۰۰ ps با گام زمانی ۲ fs انجام شد. طی این شبیه سازیها اتمهای اجزای سیستم مقید شدند. سپس قیدها برداشته شد و سیستمها برای مدت ۵۰۰ ps با همان گام زمانی به تعادل رسیدند. پیکربندیهای ایجاد شده برای ادامه شبیه سازی انتخاب شدند. در مرحله آخر، هر یک از سیستمها دستخوش ۳۰۰ ns شبیه سازی با گام زمانی ۲ fs شدند. از الگوریتم v-resclae و berendsen به ترتیب برای کنترل دما و فشار اجزای سیستم استفاده شد (۸). پیوند شیمیایی اجزای غیر حلال با الگوریتم LINC (۲۱) و پیوند شیمیایی مولکولهای حلال با الگوریتم SETTLE (۲۴) مقید گردید. از الگوریتم PME برای محاسبه بار الکترواستاتیک استفاده شد (۱۷). همه محاسبات شبیه سازی دینامیک

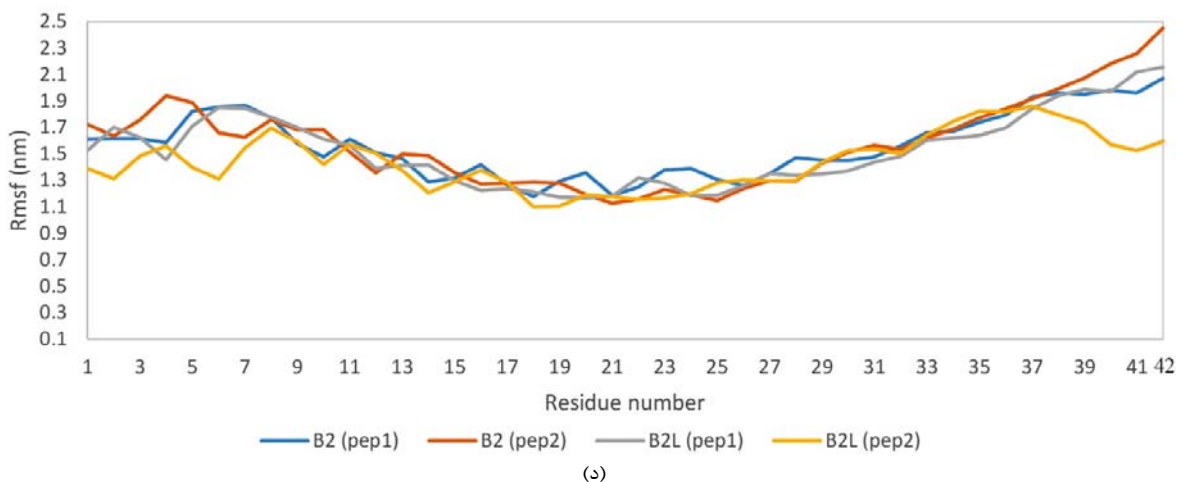
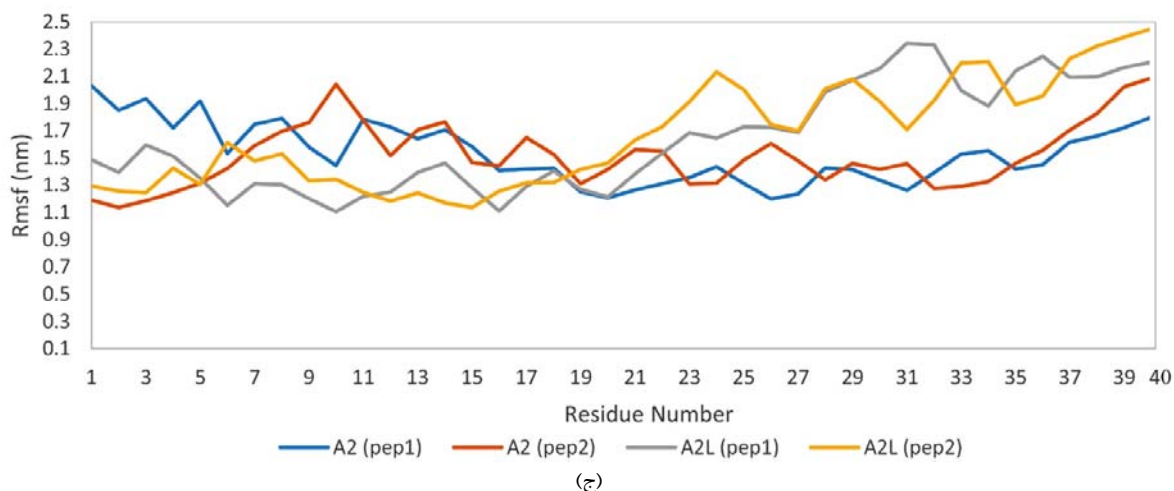
می‌شود و الیگومرهای نامحلول بیشتر ساختار صفحه‌ای بتا را نشان می‌دهند (۶،۲۱). بنابراین نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که افزودن لیگاند بوسولیک اسید تأثیر بازدارندگی بر روی تشکیل صفحات بتا و تجمعات فیبریلی در سیستمهای شامل $A\beta$ (1-40) داشته است.

باعث افزایش درصد ساختار صفحه سیستمهای B1L, B2L شد و میزان ساختار مارپیچ هم در این سیستمها کاهش یافت (به جز پپتید ۲ در سیستم B2L). مطالعات گذشته نشان دادند که در هنگام تبدیل پپتید بتا آمیلوئید به اولیگومرهای سمی، ساختار مارپیچ آلفا تبدیل به صفحه بتا

جدول ۱- نام، تعداد و نوع مولکول‌ها در جعبه‌های شبیه‌سازی

Box no.	Name of system	Number of Peptide	Name of peptide	Number of ligand	Number of Sol	Dimensions of Box (nm ³)
1	A1	1	$A\beta$ (1-40)	0	12363	6.47988×4.59050×4.42655
2	A2	2	$A\beta$ (1-40)	0	24750	8.23649×5.35037×5.97918
3	A1L	1	$A\beta$ (1-40)	1	15684	6.48925×4.82039×5.31393
4	A2L	2	$A\beta$ (1-40)	1	28665	8.23654×5.35040×6.90793
5	B1	1	$A\beta$ (1-42)	0	12750	7.08628×4.39844×4.35648
6	B2	2	$A\beta$ (1-42)	0	24369	9.00256×5.04160×5.73089
7	B1L	1	$A\beta$ (1-42)	1	15444	7.08805×4.39955×5.24908
8	B2L	2	$A\beta$ (1-42)	1	29262	9.05205×5.06931×6.77006





شکل ۲- مقادیر RMSF برای هر دنباله پپیدهای $A\beta$ (1-40) و $A\beta$ (1-42) در سیستم‌های شبیه‌سازی مختلف. (الف) سیستم A1, B1، (ب) سیستم A11, B1L، (ج) سیستم A2, A2L، (د) سیستم B2, B2L

اتصال می‌باشد. بر اساس این ایده از الگوی توسعه داده شده توسط حسیندخت و همکاران استفاده شد که در آن P_i معادل افینیته در نظر گرفته شده است (۵). در واقع مقدار میانگین برخوردها با یک دنباله مشخص در طول زمان شبیه‌سازی است که می‌توان مقادیر آن را از معادله $P = \frac{n_i}{\langle N \rangle}$ به دست آورد. $\langle N \rangle$ از طریق معادله (۱) به دست می‌آید.

$$\langle N \rangle = \sum_{i=1}^N \frac{n_i}{N} \quad (1)$$

n_i تعداد برخوردها با آمین دنباله و N شماره دنباله مورد نظر در ساختار پپتید می‌باشد.

چون بیشترین میزان ساختار ماریپیچ و کمترین میزان ساختار صفحه در سیستم‌های A1L و B2L مشاهده شد، بنابراین به نظر می‌رسد تاثیر بازدارندگی لیگاند بوسولیک اسید در این سیستمها بیشتر از سایر سیستمهاست.

برای بررسی دقیق‌تر بر همکنش پپتید با لیگاند در سیستم‌های مختلف، افینیته اتصال لیگاند محاسبه شد. فاکتور صورتبندی به عنوان معیاری از افینیته استفاده شد؛ به دلیل حرکت مولکولهای پپتید و لیگاند در طول زمان شبیه‌سازی، لیگاند می‌تواند به قسمت‌های مختلفی از پپتید برخورد کند. انتظار می‌رود که محل‌هایی از پپتید که با لیگاند برخورد بیشتری داشته باشد، مستعد تشکیل جایگاه

جدول ۲- ساختار دوم دنباله های A β (1-40) و A β (1-42) در همه سیستم‌های شبیه سازی

RES NO	A1	A2	A2	A1L	A2L	A2L	B1	B2	B2	B1L	B2L	B2L
		(pep1)	(pep2)		(pep1)	(pep2)		(pep1)	(pep2)		(pep1)	(pep2)
ASP1	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
ALA2	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
GLU3	C	C	C	C	C	C	C	C	C	S	C	C
PHE4	S	C	S	C	C	C	C	C	C	S	C	C
ARG5	C	S	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
HIS6	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
ASP7	C	C	C	C	C	C	C	H	C	C	C	C
SER8	C	C	C	C	C	C	C	H	H	C	C	C
GLY9	C	C	C	C	C	C	C	H	H	C	C	C
TYR10	H	H	H	C	C	C	C	H	H	H	C	C
GLU11	H	H	H	C	C	C	H	H	H	H	H	C
VAL12	H	C	H	H	C	C	H	H	H	H	H	H
HIS13	H	H	H	H	C	C	H	H	H	H	H	H
HIS14	H	H	H	H	H	C	H	H	H	H	H	H
GLN15	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
LYS16	C	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
LEU17	C	H	H	H	H	H	S	H	C	H	H	H
VAL18	C	H	H	H	H	H	H	H	C	C	H	H
PHE19	C	H	H	H	H	H	H	H	C	C	H	H
PHE20	C	H	H	H	C	H	H	H	C	C	H	H
ALA21	C	C	H	H	C	H	H	H	C	S	H	H
GLU22	C	C	H	H	C	C	C	H	C	C	C	H
ASP23	C	C	H	H	C	C	C	H	C	C	C	H
VAL24	S	S	H	H	C	S	S	C	C	S	S	H
GLY25	S	S	H	H	H	S	S	C	C	S	S	H
SER26	C	C	H	H	H	C	C	H	C	C	C	H
ASN27	C	C	C	H	H	C	C	H	C	C	C	H
LYS28	S	S	C	H	C	S	S	H	C	S	S	H
GLY29	S	S	C	C	C	S	S	H	C	S	S	H
ALA30	C	C	C	C	C	C	C	H	C	C	C	C
ILE31	C	C	C	C	C	C	C	H	C	C	C	C
ILE32	S	S	C	C	S	S	S	H	C	S	S	C
GLY33	S	S	C	C	C	S	S	H	C	S	S	S
LEU34	C	C	C	C	C	C	C	H	C	C	C	S
MET35	C	S	C	C	C	C	C	H	C	C	C	C
VAL36	S	S	C	C	S	S	S	C	C	S	C	S
GLY37	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	S	S
GLY38	C	S	S	C	C	C	C	C	C	S	S	C
VAL39	C	C	C	C	C	C	C	C	C	S	C	C
VAL40	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
ILE41	-	-	-	-	-	-	C	C	C	C	C	C
ALA42	-	-	-	-	-	-	C	C	C	C	C	C

C=Random Coil, H= Helix, S= beta sheet

دنباله های مختلف پپتیدها در سیستم‌های شبیه سازی شده مختلف، محاسبه شد. دنباله هایی که مقادیر فاکتور صورتبندی آنها از یک بیشتر است در جدول ۳ لیست شده است.

فاکتور کنفورماسیونی P_i زمانی که بیشتر از ۱ باشد، نشان دهنده مقادیر بالای افینیتت اتصال به لیگاند است و می توان دنباله های دارای $P_i > 1$ را به عنوان جایگاه‌هایی برای اتصال در نظر گرفت درحالی‌که در $P_i < 1$ ، افینیتت اتصال به لیگاند مشاهده نمی شود. با توجه به روش فوق، مقادیر P_i

جدول ۳- نام و شماره دنباله های $A\beta$ (1-40) و $A\beta$ (1-42) با مقادیر $P_i > 1$ در سیستم‌های شبیه سازی مختلف

System	Residue no
A1L	Lys16 (1.32),Phe20(2.72),Ala21(1.37),Gly25(1.28),Lys28(1.28),Gly29(1.54),Ala30(1.01),Ile31(1.01),Ile32(2.25),Gly33(2.56),Leu34(4.10),Met35(5.26),Val36(3.53),Gly37(1.92),Gly38(1.18),(Val39(2.34)
B1L	Asp1(1.29),Ala2(1.50),Glu3(1.49),Phe4(2.84),Tyr10(1.69),His13(2.88),Leu17(2.25),Phe20(2.59),Val24(1.82),Gly25(1.29),Lys28(2.40),Gly29(3.04),Gly33(1.01),Leu34(2.58),Val39(1.57),Val40(3.42),Ile41(3.20)
A2L (pep1)	Val18(1.84),Val24(1.25),Gly25(4.51),Ser26(1.48),Ile32(1.19),Gly38(5.28),Val39(7.44),Val40(16.06)
A2L (pep2)	Glu3(1.033),Phe4(2.06),Arg5(3.22),His6(3.15),Asp7(2.81),Ser8(2.10),Gly9(1.68),Tyr10(4.51),Gln15(3.07),Lys16(1.02),Phe19(5.42),Asn27(1.59),Ile31(1.2)
B2L (pep1)	Gln15(6.06),Lys16(2.25),Phe19(5.99),Ser26(1.67),Ala30(2.94),Ile31(4.57),Met35(9.01),Val36(2.49),Val40(1.98),Ile41(1.00)
B2L (pep2)	His13(1.01),Leu17(5.53),Val18(4.71),phe21(6.53),Glu22(4.43),Gly25(3.64),Ser26(9.82),Ala30(2.80),Leu34(1.22)

فاکتور صورتبندی بزرگتر از یک محاسبه شد. برای محاسبه، الگوریتم MMPBSA که یک ابزار محاسباتی قدرتمند در آنالیز برهمکنش‌های مولکولهای زیستی است، به کار گرفته شد (۱۸). در این روش انرژی اتصال ($\Delta G_{\text{binding}}$) بین مولکول هدف و لیگاند از طریق رابطه زیر به دست می آید:

$$\Delta G_{\text{binding}} = G_{\text{complex}} - (G_{\text{protein}} + G_{\text{ligand}})$$

به این ترتیب، مقدار انرژی برهمکنش بین لیگاند و دنباله های پتید در سیستم‌های مختلف شبیه سازی در جدول ۴ لیست شده است.

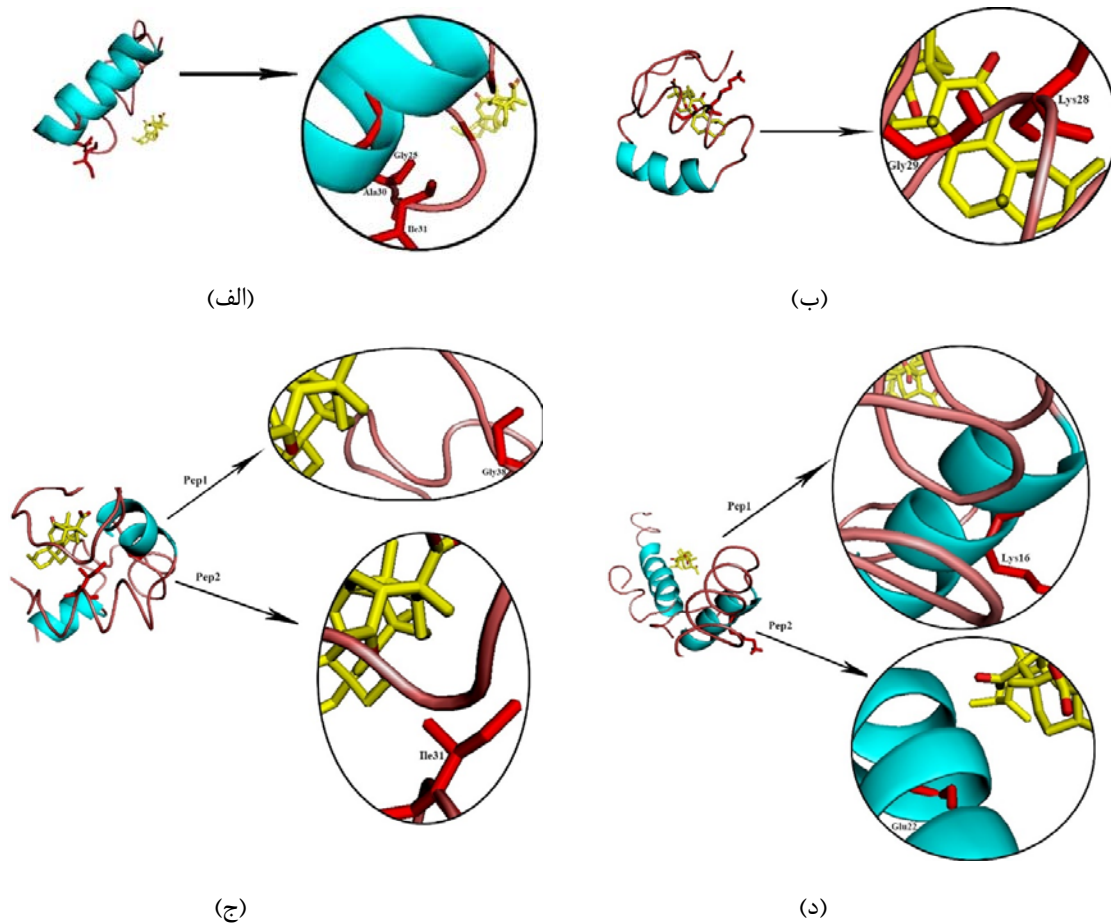
با توجه به نتایج جدول ۳ مشاهده می شود که دنباله ها با $P_i > 1$ در اغلب سیستمها (به جز پپتید ۲ در سیستم A2L) در انتهای C ترمنال پپتیدها قرار گرفته اند. اتصال به لیگاند در سیستم‌های مونومریک نسبت به سیستم‌های دیمر، از جایگاه‌های اتصال بیشتری برخوردار است. نتایج مقادیر P_i در جدول ۲ با نتایج آنالیز نمودار RMSF در شکل ۲ همخوانی خوبی دارد (به جز پپتید ۲ در سیستم A2L) و بیشتر دنباله هایی که مقدار $P_i > 1$ دارند، انعطاف پذیری کمتری نسبت به سایر دنباله های پپتید دارند و در نتیجه تمایل بیشتری به پیوند با لیگاند دارند. به منظور مطالعه دقیق تر، در هر سیستم، انرژی اتصال برای دنباله های با

جدول ۴- نام و تعداد دنباله ها با کمترین انرژی پیوند در سیستم‌های شبیه سازی مختلف

System	Residues energy
A1L	Lys16 (-1.78), Gly25 (-2.14), Gly29 (-0.46), Ala30 (-1.21), Ile31 (-9.32), Ile32 (-0.70), GLY37 (-0.17)
B1L	Asp1(-0.04), Val24(-0.37), Gly25(-0.95), Lys28(-5.71), Gly29(-8.85), Gly33(-0.55), Leu34(-1.43), Ile41(-0.02)
A2L (pep1)	Gly38 (-0.03)
A2L (pep2)	Phe4 (-0.01), Arg5 (-0.93), His6 (-0.13), Gln15 (-0.01), Lys16 (-0.34), Ile31 (-3.11)
B2L (pep1)	Lys16 (-0.16), Ser26 (-0.01), Ala30 (-0.01), Ile31 (-0.01)
B2L (pep2)	Val18 (-0.01), Phe21 (-0.01), Glu22 (-0.05), Gly25 (-0.01), Ser26 (-0.02)

کاهش یافته بود که با نتایج تعیین جایگاه‌های اتصال در پپتید $A\beta$ (1-42) این پپتید همخوانی خوبی را نشان می‌دهد. تغییرات انعطاف‌پذیری دنباله‌های Gln15 و Lys16 پپتید $A\beta$ (1-40) در سیستم A2L هم با نتایج تعیین جایگاه اتصال این سیستم تطابق خوبی نشان می‌دهد. کاهش انعطاف‌پذیری و کمترین مقادیر انرژی اتصال دنباله‌های Val18 و Gln22 در سیستم B2L هم با یکدیگر توافق خوبی دارد. در شکل ۳ در ساختار پپتیدهای $A\beta$ (1-40) و $A\beta$ (1-42)، برخی از دنباله‌های با فاکتور صورت‌بندی بزرگتر از ۱ که انرژی اتصال کمتری دارند و مستعد اتصال با لیگاند هستند، نشان داده شده است.

نتایج جدول ۴ نشان می‌دهند که کمترین مقادیر انرژی در سیستم A1L مشاهده می‌شود و به ترتیب مربوط به دنباله‌های Ile31 و Gly25 و Ala30 است. در سیستم B1L کمترین مقادیر انرژی مربوط به دنباله‌های Gly29 و Lys28 و Leu34 و در پپتید ۲ سیستم A2L مربوط به دنباله Ile31 می‌باشد. به این ترتیب دنباله‌های مذکور در هر سیستم شبیه‌سازی به عنوان جایگاه‌های اتصال لیگاند به پپتید در سیستم‌های مختلف معرفی می‌شوند. جایگاه‌های اتصال بیشتر در ناحیه C ترمینال پپتیدها قرار دارند. همانطور که در نتایج منحنی RMSF پپتید $A\beta$ (1-42) در سیستم B1L مشاهده شد، انعطاف‌پذیری دنباله‌های Val24 و Gly25 و Lys28 و Ile41 این پپتید در حضور لیگاند بوسولیک اسید



شکل ۳- شماتیک موقعیت قرارگیری برخی از دنباله‌های پپتیدهای $A\beta$ (1-40) و $A\beta$ (1-42) در جایگاه‌های اتصال لیگاند به پپتید در سیستم‌های شبیه‌سازی مختلف. (a) در سیستم A1L، (b) در سیستم B1L، (c) در سیستم A2L، (d) در سیستم B2L

نتیجه‌گیری

سیستمها بیشتر از سایر سیستمهاست. برای بررسی دقیق‌تر بر همکنش پپتید با لیگاند در سیستمهای مختلف، از افینیتیه اتصال لیگاند استفاده شد. دنباله‌ها با $P_i > 1$ در اغلب سیستمها در انتهای C ترمینال پپتیدها قرار گرفته‌اند. اتصال به لیگاند در سیستمهای مونومریک نسبت به سیستمهای دایمر، از جایگاه‌های اتصال بیشتری برخوردار است. و نتایج مقادیر P_i با نتایج انعطاف‌پذیری دنباله‌ها در پپتیدهای مختلف هم‌خوانی خوبی دارد. چون دنباله‌های پپتید با فاکتور صورتبندی بزرگتر از یک به عنوان جایگاه‌های اتصال لیگاند به پپتید در سیستمهای مختلف معرفی میشوند، انرژی اتصال برای این دنباله در هر سیستم محاسبه شد. جایگاه‌های اتصال بیشتر در ناحیه C ترمینال پپتیدها قرار دارند. نتایج میزان انعطاف‌پذیری و کمترین مقادیر انرژی اتصال دنباله‌ها در سیستمهای مختلف توافق خوبی با هم نشان می‌دهند.

در این تحقیق از یکی از مشتقات بوسولیک اسید (کندر) به نام (AKBA) به عنوان بازدارنده تشکیل تجمعات پپتیدی $A\beta$ (1-40) و $A\beta$ (1-42) (مونومری و دیمری) استفاده شد تا تغییرات ساختاری این پپتیدها و همچنین شناسایی جایگاه‌های اتصال لیگاند به پپتیدها با استفاده از روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بررسی شود. چون تغییرات انعطاف‌پذیری دنباله‌های پپتیدهای مختلف، در فعالیت آنها نقش زیادی دارد (۱۰)، میزان انعطاف‌پذیری دنباله‌های پپتیدها بررسی شد و مشخص شد افزودن لیگاند باعث کاهش انعطاف‌پذیری اغلب دنباله‌های این پپتید در سیستمهای A2L و B2L شده است و چون بیشترین میزان ساختار مارپیچ و کمترین میزان ساختار صفحه در سیستمهای A1L و B2L مشاهده شد بنابراین به نظر می‌رسد تأثیر بازدارندگی لیگاند بوسولیک اسید در این

منابع

- فرامرزبان، م بهرامی کیا، س.ا. 2020. بررسی اثر عصاره جفت بلوط بر روند شکل‌گیری تجمعات آمیلوئیدی و تجمع-زداپی فیبرهای پروتئین لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ. پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران): در حال انتشار
- نصیری خلیلی، م.ع. همکاران. ۲۰۱۵. بررسی نقش نانوذرات آهن مغناطیسی در القای تجمعات فیبریلی پروتئین تاو نو ترکیب انسانی. پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران): ۲۷: ۵۹۶-۵۹۰
- Abdel-Tawab, M. Schubert-Zsilavec, M. 2011. Werz, O. *Boswellia serrata*: an overall assessment of in vitro, preclinical, pharmacokinetic and clinical data. Clin. Pharmacokinet: 50: 349-369
- Ali, AY. Blain, EJ. Duance, VC. 2010, *Boswellia frereana* (frankincense) suppresses cytokine-induced matrix metalloproteinase expression and production of pro-inflammatory molecules in articular cartilage. *Phytother Res*: 24(6): 905-12
- Bahrololoom, M. Bozorgmehr, M.R. Housaindokht, M.R. 2008. Analysis of ligand binding to proteins using molecular dynamics simulations. *Journal of theoretical biology*: 254(2): 294-300.
- Boopathi, S. and Kolandaivel, P. 2015. Study on the inter- and intra-peptide salt-bridge mechanism of $A\beta$ 23-28 oligomer interaction with small molecules: QM/MM method, *Mol. BioSyst*: 11: 2031- 2041
- Boren, KE. Schreuder, MF. Smith, BL. Suhail, MM. Taylor, LC. Woolley, CL. 2012. Chemical differentiation of *Boswellia sacra* and *Boswellia carterii* essential oils by gas chromatography and chiral gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*: 1261: 158-63
- Bussi, G. Donadio D. and Parrinello, M. 2007. Canonical sampling through velocity rescaling. *The Journal of chemical physics*: 126(1): 101-104
- Carugo, O. Pongor, S. 2010. A normalized root-mean-square distance for comparing protein three-dimensional structures. *Protein science*: 10 (7): 1470-1473
- Chinnici, C. M. Firuzi, Praticò, D. O. Wisniewski, T. Zhuo, J. 2008. 5-lipoxygenase gene disruption reduces amyloid-beta pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J*. 22, 1169-1178

11. Coles, M. et al. 1998. Solution Structure of Amyloid β -Peptide (1–40) in a Water–Micelle Environment. Is the Membrane-Spanning Domain Where We Think It Is? *Biochemistry*: 37(31):11064-11077
12. Dagne, E. De Rapper, S. Kamatou, GP. Van Vuuren, SF. Viljoen, AM. 2012. The additive and synergistic antimicrobial effects of select frankincense and myrrh oils—a combination from the pharaonic pharmacopoeia. *Lett Appl Microbiol*: 54(4): 352-8
13. De Strooper, B. Hebert, SS. Reinhard, C. 2005. The amyloid-beta precursor protein: integrating structure with biological function. *Embo J*: 24:3996–4006
14. Dobson, C. M. 2001. The structural basis of protein folding and its links with human disease. *Philos. Trans. Roy. ser, B*: 356: 133–145
15. Du, Z. Liu, Y. Liu, Z. Ning, Z. Song, Z. Wang, C. 2015. Prospects of boswellic acids as potential pharmaceuticals. *Planta Med*: 81: 259-71
16. El-Shenawy, S. M.A. Yassina, N. A.Z. 2013. Effect of *Boswellia serrata* on Alzheimer's disease induced in rats, *The Arab Society for Medical Research*: 8:1–11
17. Essmann, U. et al. 1995. A smooth particle mesh Ewald method. *The Journal of chemical physics*: 103(19): 8577-8593
18. Ghanbari, Z. et al. 2017. Effects of synergistic and non-synergistic anions on the iron binding site from serum transferrin: A molecular dynamic simulation analysis. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*: 78:176-186.
19. Gotz, J. Ittner, LM. Nisbet, RM. Polanco, JC. 2015. Tau aggregation and its interplay with amyloid- β . *Acta Neuropathol*: 129 (2): 207-20
20. Henderson, A. S. Jorm, A. F. 2002. Definition, and Epidemiology of Dementia: A Review, in *Dementia* (eds M. Maj and N. Sartorius). John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK: 1-33
21. Hess, B. et al. 1997. LINCS: a linear constraint solver for molecular simulations. *Journal of computational chemistry*: 18(12): 1463-1472.
22. Iversen, L.L. Ilack Po, S. J. Mortishire-Smith, R.J. Shearman, M.S. 1995. The toxicity in vitro of beta-amyloid protein. *Biochem. J*: 311:1–16
23. Karima, O. Movahedi, AA. Riazi, G. Yousefi, R. 2010. The enhancement effect of beta-boswellic acid on hippocampal neurites outgrowth and branching. *Neurol Sci*: 31:315-20
24. Kollman, P.A. Miyamoto, S. 1992. Settle: An analytical version of the SHAKE and RATTLE algorithm for rigid water models. *Journal of computational chemistry*: 13(8): 952-962
25. Kosik, K. S. Lansbury, P. T. 2000. Neurodegeneration: new clues on inclusions. *Chem. Biol*: 1: 9-12
26. Mentreddy, SR. 2007. Medicinal plant species with potential antidiabetic properties. *J Sci Food Agric*: 87:743–750
27. Meyer-Luehmann, M. Spires-Jones, T. L. Prada C. et al. 2008. Rapid appearance and local toxicity of amyloid- β plaques in a mouse model of Alzheimer's disease, *Nature*: 451: 720-724
28. Salah, E. N. Shoukry, S. A. 2016. Co-administration of 3-Acetyl-11-Keto-Beta-Boswellic Acid Potentiates the Protective Effect of Celecoxib in Lipopolysaccharide-Induced Cognitive Impairment in Mice: Possible Implication of Anti-inflammatory and Antigliamatergic Pathways, *J Mol Neurosci*: 59: 58–67
29. Shah BA, Qazi GN, Taneja SC. 2009, Boswellic acids: a group of medicinally important compounds. *Nat Product Rep*; 26(1):72-89
30. Walsh, DM. et al. 1999. Amyloid beta-protein fibrillogenesis: structure and biological activity of protofibrillar intermediates. *J Biol Chem*: 274: 25945–25952

Acetyl-11-keto- β -boswellic acid derivatives effects on the monomer and dimer structure of A β (1-40) and A β (1-42) peptides: molecular dynamics simulation approach

Bolbolian Sh., Bozorgmehr M.R. and Morsali A.

Dept. of Chemistry, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I.R. of Iran

Abstract

The two most effective peptides in Alzheimer's disease are A β (1-40) and A β (1-42), which cause disease in the form of fibrillar aggregates outside the nerve cell. One way to stop the progression of Alzheimer's disease is to prescribe drugs that reduce the aggregation process. These include herbal medicines that have fewer side effects. Boswellia plant with high antioxidant properties has therapeutic effect against various diseases, including neurological diseases. In this study, the interaction of a Boswellic acid derivative called 3-O-acetyl-11-keto-b-Boswellic acid (AKBA) as a ligand with the peptides A β (1-40) and A β (1-42) as monomer and dimer were studied using molecular dynamics simulation method. The results of different analyzes showed that the highest flexibility of the residues is in the C-terminal residue of the second peptide A β (1-40) and in the presence of the ligand, and the ligand has the effect of inhibiting and reducing the formation of the sheet structure on the A β peptide (1-40) residue. The affinity of the ligand binding to the residues of the peptides that had the most interaction with the ligand was calculated using the formulation factor criterion and it was found that these residues have less flexibility and therefore have a greater tendency to bind to the ligand. Finally, the binding sites were introduced by calculating the binding energy of the mentioned residues. The results of this molecular dynamics simulation were in good agreement with the relevant experimental evidence.

Keywords: Alzheimer, Boswellic acid, beta amyloid