Iranian Journal Of Biological Science. 2025; 20(2):51-60

Original Article

Iranian Journal of Biological Sciences

https://zisti.iauvaramin.ac.ir

Evaluation of the Interactions Between Bioactive Compounds of Medicinal Plants and the Functional Sites of AChE Using Molecular Docking: A Novel Approach for Identifying Potential Anti-Alzheimer Inhibitors

Hassan Sahebjamei*

Department of Biology, VaP.C, Islamic Azad University, Varamin, Iran

Article Info

Article History:

Received 2025.12.01
Revised 2025.12.17
Accepted 2025.12.20

KeyWords:
Alzheimer's disease
acetylcholinesterase
herbal inhibitor
molecular docking

*Corresponding author:

E-mail address:
sahebjam.has@gmail.com

Abstract

Introduction: Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by severe cognitive decline and cholinergic system impairment. Acetylcholinesterase (AChE) inhibition remains the primary management strategy. Limitations in efficacy and side effects associated with existing drugs like Rivastigmine necessitate the discovery of safer, more potent natural compounds. This study investigated the inhibitory potential and binding characteristics of bioactive compounds from *Blighia sapida, Tithonia diversifolia, and Irvingia gabonensis* against human AChE using molecular docking.

Methods: Three-dimensional structures of candidate compounds were optimized. Molecular docking was executed using AutoDock 4.2 to assess binding energy and interactions with the Catalytic Active Site (CAS) and the Peripheral Anionic Site (PAS). Spatial analysis was performed using PyMOL.

Results: Several plant compounds exhibited significantly superior docking scores (ranging from -8.22 to -11.42 kcal/mol) compared to Rivastigmine (-7.38 kcal/mol). These compounds formed robust interactions, including π –Sigma contacts with Trp86 and Trp286, alongside key residues in CAS (His447) and PAS (Trp86 and Tyr124), suggesting dual inhibitory potential.

Conclusion: Compounds from these three species confirm significant AChE inhibitory potential, sometimes surpassing Rivastigmine. This highlights the importance of traditional medicinal plants in discovering novel anti-Alzheimer agents. Further *in vitro* bioassays and pharmacokinetic studies are warranted.

Cite this article:H Sahebjami. Evaluation of the Interactions Between Bioactive Compounds of Medicinal Plants and the Functional Sites of AChE Using Molecular Docking: A Novel Approach for Identifying Potential Anti-Alzheimer Inhibitors. Iranian Journal of Biological Sciences. 2025; 20 (2): 51-60

https://doi.org/10.71631/zisti.2025.1226534

Authors retain the copyright and full publishing rights.
Published by Islamic Azad University, Varamin. Print ISSN: 1735-4226 Online ISSN: 1727-459X
This article is an open access article licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0)

مقاله تحقیقی
دانش زیستی ایران
https://zisti.iaubaramin.ac.ir

ارزیابی برهم‌کنش ترکیبات فعال گیاهان دارویی با جایگاه‌های عملکردی AChE با استفاده از داکینگ مولکولی: رویکردی نوین برای شناسایی مهارکننده‌های بالقوه آلزایمر

حسن صاحب جمعی*

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله
ارسال ۱۴۰۴/۰۹/۱۰
بازنگری ۱۴۰۴/۰۹/۲۶
پذیرش ۱۴۰۴/۰۹/۲۹

کلمات کلیدی
بیماری آلزایمر
استیل کولین استراز
مهارکننده گیاهی
داکینگ مولکولی

* **مسئول مکاتبات:**
sahebjam.has@gmail.com

چکیده

مقدمه: بیماری آلزایمر (AD) به‌عنوان شایع‌ترین اختلال نورودژنراتیو پیشرونده، با افت شدید عملکرد شناختی و نقص در سیستم کولینرژیک مشخص می‌شود. مهار آنزیم استیل‌کولین‌استراز (AChE)، که مسئول تجزیه استیل‌کولین در سیناپس‌ها است، راهبرد اصلی مدیریت علائم باقی مانده است. با این حال، محدودیت‌های اثربخشی و عوارض جانبی داروهای موجود مانند ریواستیگمین، جستجو برای ترکیبات ایمن‌تر و کارآمدتر را ضروری ساخته است. گیاهان دارویی منبعی غنی برای این کشفیات هستند. این مطالعه با استفاده از داکینگ مولکولی، پتانسیل مهار AChE انسانی توسط ترکیبات زیست‌فعال استخراج شده از گونه‌های *Blighia sapida*، *Tithonia diversifolia* و *Irvingia gabonensis* را بررسی و مکانیسم‌های اتصال آن‌ها را روشن می‌سازد

مواد و روش‌ها: ساختارهای سه‌بعدی ترکیبات مورد نظر بهینه شدند. سپس داکینگ مولکولی با AutoDock ۴,۲ برای ارزیابی انرژی اتصال و تعامل با جایگاه فعال کاتالیتیکی (CAS) و جایگاه آنیونی محیطی (PAS) انجام گرفت. تحلیل‌های فضایی با PyMOL صورت پذیرفت

یافته ها: ترکیبات گیاهی امتیازات داکینگ بسیار بهتری (در محدوده 11.42 kcal/mol – تا 8.22–) نسبت به ریواستیگمین (7.38 kcal/mol–) نشان دادند. آن‌ها تعاملات چندگانه با اسیدآمینه های کلیدی CAS (مانند His447) و PAS (شامل Trp86 و Tyr124) برقرار کردند و به‌ویژه تعاملات Pi-Sigma با Trp86 و Trp286 مشاهده شد

نتیجه‌گیری: ترکیبات این سه گونه، پتانسیل مهار قوی علیه AChE را تأیید می‌کنند و در برخی موارد از ریواستیگمین پیشی گرفتند. این یافته‌ها بر اهمیت گیاهان دارویی سنتی در کشف مولکول‌های ضدآلزایمر تأکید کرده و لزوم انجام مطالعات *in vitro* و فارماکوکینتیک را گوشزد می‌نماید

شیوه آدرس‌دهی این مقاله: ح صاحب جمعی. ارزیابی برهم‌کنش ترکیبات فعال گیاهان دارویی با جایگاه‌های عملکردی AChE با استفاده از داکینگ مولکولی: رویکردی نوین برای شناسایی مهارکننده‌های بالقوه آلزایمر. مجله دانش زیستی ایران. ۱۴۰۴؛۲۰ (۲): ۵۱-۶۰

https://doi.org/10.71631/zisti.2025.1226534

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا شاپا چاپی: ۱۷۳۵-۴۲۲۶ شاپا الکترونیکی: ۲۷۱۷ - ۴۵۹ X

نویسندگان: حق مؤلف©

مقدمه

بیماری آلزایمر شایع‌ترین نوع زوال عقل و یکی از چالش‌های مهم و روبه‌گسترش نظام‌های سلامت در جهان به شمار می‌رود. این بیماری با افت تدریجی عملکردهای شناختی، نقص حافظه و کاهش توانایی انجام فعالیت‌های روزمره همراه است (۲-۱). با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در علوم اعصاب، تاکنون درمان قطعی برای آلزایمر معرفی نشده و اغلب درمان‌های موجود تنها با هدف کاهش علائم و کند کردن روند پیشرفت بیماری به کار می‌روند. یکی از رویکردهای اصلی در درمان آلزایمر، افزایش سطح استیل‌کولین در مغز از طریق مهار آنزیم استیل‌کولین‌استراز (AChE) است؛ آنزیمی که نقش کلیدی در تجزیه این انتقال‌دهنده مهم در سیناپس‌ها دارد (۳-۵).کاهش سطح استیل‌کولین از ویژگی‌های بارز پاتوفیزیولوژیک آلزایمر محسوب می‌شود و به همین دلیل مهارکننده‌های AChE مانند دونپزیل، ریواستیگمین و گالانتامین از داروهای رایج برای بیماران با علائم خفیف تا متوسط هستند. با این حال، بروز عوارض جانبی، اثربخشی محدود و نیاز به مصرف مداوم این داروها، ضرورت شناسایی ترکیبات جدید با کارایی و ایمنی بیشتر را برجسته کرده است (۶،۷)

شناخت دقیق‌تر ساختار مولکولی AChE می‌تواند زمینه‌ساز توسعه مهارکننده‌های مؤثرتر باشد. این آنزیم از خانواده سرین‌هیدرولازهاست و دارای شکافی عمیق و باریک است که لیگاندها برای رسیدن به جایگاه فعال باید از آن عبور کنند. در عمق این شکاف، « سه تایی کاتالیتیکی » شامل Ser203، His447 و Glu334 قرار دارد که هسته اصلی واکنش هیدرولیز استیل‌کولین را تشکیل می‌دهد. Ser۲۰۳ به عنوان نوکلئوفیل اصلی عمل کرده و His447 و Glu334 نقش حمایتی در تبادل پروتون و تثبیت وضعیت کاتالیتیکی دارند. علاوه بر این، باقی‌مانده Trp۸۶ در محل آنیونی اصلی با گروه آمونیومی استیل‌کولین تعامل داشته و در جهت‌گیری سوبسترا نقش مهمی ایفا می‌کند. در دهانه آنزیم نیز «سایت آنیونی محیطی» (PAS) شامل باقی‌مانده‌هایی مانند Trp286 قرار دارد که در اتصال اولیه لیگاند و حتی در تجمع پپتید $A\beta$ نقش دارند. بنابراین، تعامل لیگاندها با AChE نه تنها در مهار آنزیم بلکه در جلوگیری از تجمع $A\beta$ نیز اهمیت دارد (۱۰-۸)

در سال‌های اخیر، گیاهان دارویی به واسطه دارا بودن متابولیت‌های ثانویه متنوع نظیر فلاونوئیدها، ترپن‌ها، آلکالوئیدها و مشتقات فنولی، به عنوان منابع دست‌نخورده‌ای برای کشف مهارکننده‌های جدید AchE مطرح شده‌اند (۱۱). سه گونه گیاهی *Blighia sapida*، *Tithonia diversifolia* و *Irvingia gabonensis* از جمله گیاهانی هستند که در طب سنتی مناطق آفریقایی کاربرد داشته و مطالعات مختلف به وجود ترکیبات زیست‌فعال با اثرات بالقوه ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و حتی ضدآلزایمری در آنها اشاره کرده‌اند *Blighia sapida* .یک درخت چندساله با میوه‌های کپسولی و آریل خوراکی است که در طب سنتی برای درمان التهاب و اختلالات پوستی استفاده می‌شود و حاوی ترکیبات فنولی و ترپنی قابل توجهی است.(۱۱و۱۲). *Tithonia diversifolia* یا آفتابگردان مکزیکی، گیاهی علفی و مقاوم با گل‌های زرد است که در طب محلی برای کنترل درد، زخم‌ها و بیماری‌های التهابی به‌کار می‌رود و متابولیت‌های فنولی و فلاونوئیدی آن گزارش شده‌اند (۱۳)

Irvingia gabonensis نیز یک درخت بومی آفریقاست که میوه و هسته آن در صنایع غذایی و دارویی استفاده می‌شود و مطالعات مختلف ترکیبات پلی‌فنولی، اسیدهای چرب و مولکول‌های فعال زیستی متعددی را در آن شناسایی کرده‌اند. حضور این ترکیبات پتانسیل مهارکنندگی AchE و امکان استفاده از آن‌ها را برای توسعه درمان‌های جدید آلزایمر تقویت می‌کند (۱۴). در چنین بستری، روش‌های محاسباتی به‌ویژه داکینگ مولکولی نقش مهمی در غربالگری اولیه تعداد زیادی از ترکیبات ایفا می‌کنند. داکینگ امکان بررسی نحوه قرارگیری مولکول‌های زیست‌فعال در شکاف فعال آنزیم و میزان هم‌خوانی فضایی و انرژی اتصال آن‌ها با باقی‌مانده‌های کلیدی را فراهم می‌سازد. این روش ضمن کاهش هزینه و زمان، قادر است الگوهای تعامل لیگاند-آنزیم را آشکار کرده و بهترین کاندیداها را برای آزمون‌های آزمایشگاهی معرفی کند. البته باید توجه داشت که داکینگ تصویری ایستا از تعاملات مولکولی ارائه می‌دهد و نیازمند تکمیل با روش‌های دینامیک مولکولی و آزمایش‌های تجربی است (۱۸-۱۵). بر این اساس، هدف مطالعه حاضر بررسی تعاملات مولکولی ترکیبات زیست‌فعال منتخب از سه گیاه دارویی *Blighia sapida*، *Tithonia diversifolia* و *Irvingia gabonensis* با آنزیم استیل‌کولین‌استراز به کمک داکینگ مولکولی است. فرض بر این است که برخی از این ترکیبات طبیعی می‌توانند با باقی‌مانده‌های حیاتی آنزیم - به‌ویژه Ser203، His447، Glu334 و Trp86 - تعامل مؤثر برقرار کرده و اتصال پایداری نشان دهند؛ به گونه‌ای که به عنوان

مهارکننده‌های بالقوه AChE و کاندیداهای اولیه برای توسعه داروهای جدید ضدآلزایمر مطرح شوند. نتایج این پژوهش می‌تواند به شناسایی مولکول‌های امیدبخش و درک بهتر اصول ساختاری مهار AChE کمک کرده و مسیر طراحی داروهای طبیعی بهینه را هموار سازد

مواد و روش ها

جمع‌آوری و انتخاب ترکیبات زیست فعال

ترکیبات زیست فعال گزارش شده از سه گونه گیاهی *Blighia sapida*, *Tithonia diversifolia* و *Irvingia gabonensis* بر اساس مقالات منتشرشده و منابع اتنوفارماکولوژی استخراج شدند (۱۹-۲۴). لیست ساختارهای شیمیایی شناسایی‌شده شامل فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها و سایر متابولیت‌های ثانویه بود. ساختارهای دوبعدی (2D) این ترکیبات از پایگاه‌های اطلاعاتی معتبر نظیر PubChem, ChemSpider وChEBIs بازیابی شدند. در مواردی که ساختار در پایگاه‌های فوق موجود نبود، ساختار مولکولی با استفاده از نرم‌افزار ChemDraw 20.1 طراحی و سپس به فرمت سه‌بعدی (3D) تبدیل شد (شکل ۱)

آماده‌سازی لیگاندها

ساختارهای سه بعدی به کمک بسته Open Babel 3.1 به فرمت مورد نیاز داکینگ تبدیل شدند. انرژی لیگاندها با استفاده از B3LYP/6-31G بهینه‌سازی هندسی شد. همچنین پروتونه سازی مناسب در pH فیزیولوژیک (۷,٤) اعمال گردید. برای هر لیگاند، minimum energy conformer تعیین و برای مراحل بعد به فرمت mol2 ذخیره شد

انتخاب و آماده‌سازی ساختار هدف (hAChE)

ساختار سه بعدی آنزیم استیل کولین استراز انسانی (hAChE) از بانک داده پروتئین (PDB) دریافت شد. ساختار PDB ID: 2x8b که شامل کمپلکس AChE با یک مهارکننده شناخته شده است – به دلیل کیفیت رزولوشن و دسترسی به ناحیه فعال انتخاب گردید. آماده‌سازی پروتئین با استفاده از ابزار AutoDockTools 1.5.7 شامل مراحل: حذف مولکول‌های آب دور از جایگاه فعال، افزوده شدن هیدروژن‌های قطبی، تعیین بارهای Gasteiger، حذف لیگاند هم‌بلور در فایل اصلی برای تحلیل پروتئین به طور مستقل، بررسی و رفع خطاهای هندسی احتمالی، تعریف ناحیه فعال شامل باقی‌مانده‌های کلیدی مانند Ser203، His447، Glu334،Trp86 و Trp28، انجام شد

تعریف شبکه جست‌وجو (Grid Box)

به منظور پوشش کامل شکاف آنزیم و امکان اتصال لیگاندها به هر دو بخش ناحیه کاتالیتیکی (CAS) و ناحیه آنیونی محیطی (PAS)، یک جعبه جست‌وجو (grid box) با ابعاد کافی تنظیم شد. مرکز جعبه بر اساس موقعیت Ser203 قرار داده شد و ابعاد شبکه به گونه‌ای انتخاب شدند که تمام ژرفای شکاف عمیق آنزیم را پوشش دهد. با توجه به این اطلاعات مختصات مرکز شبکه بصورت X= -0.639، Y= 0.000، Z= 2.472 و تعداد نقاط مربوط به 3 محور مختصات: X= 36، Y= 34، و Z= 34 تعیین گردید

داکینگ مولکولی

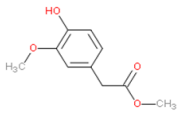
داکینگ به کمک ابزار AutoDock 4.2 انجام گرفت. تنظیمات داکینگ شامل: تعداد خروجی‌ها = ۱۰ و حالت rigid برای پروتئین و flexible برای لیگاند می باشد. برای کنترل کیفی، ریواستیگمین به عنوان ligand reference داکینگ داده شد و نتایج اتصال آن به‌عنوان مبنای مقایسه انتخاب شد. خروجی‌ها بر اساس انرژی اتصال (binding affinity)و ثابت مهارکنندگی (Ki)، مورد ارزیابی قرار گرفتند

تحلیل برهم‌کنش‌های لیگاند-آنزیم

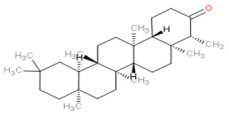
برهم‌کنش‌های مولکول‌ها با hAChE به‌وسیله ابزارهای Discovery Studio Visualizer برای مشاهده تعاملات هیدروژنی، هیدروفوبیک، واندروالسی، Alkyl، Pi-Alkyl ، π–π، پل های هیدروژنی مورد استفاده قرار گرفت. تمرکز تحلیل برهم‌کنش‌های مستقیم با Ser203، His447، Glu334، Trp86، Tyr133، Trp286 و Phe338 بود که به عنوان مناطق کلیدی برای مهار آنزیم شناخته می‌شوند

غربالگری نهایی و رتبه‌بندی ترکیبات

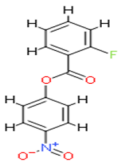
ترکیبات براساس معیارهای انرژی اتصال بهینه‌تر از ریواستیگمین در داکینگ، تعداد و کیفیت تعاملات با باقی‌مانده‌های کلیدی و ثابت مهار کنندگی (Ki) آنزیم، رتبه‌بندی شدند. ترکیباتی که بیشترین امتیاز را کسب و دارای کمترین سمیت بودند، به عنوان کاندیداهای بالقوه به عنوان لیگاند منتخب معرفی شدند



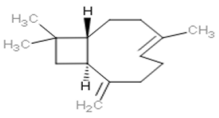
1: methyl (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)acetate



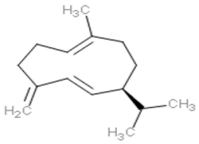
2: Friedelan-3-one



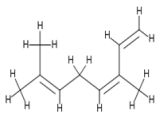
3: 2-Fluorobenzoic acid, 4-nitrophenyl ester



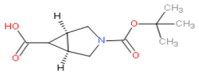
4: b-Caryophyllene



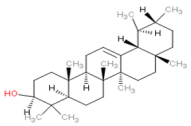
5: Germacrene D



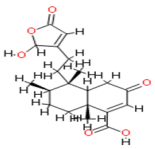
6: (Z)-b-ocimene



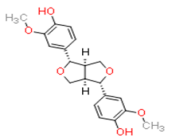
7: 1-Azabicyclo(3,1,0)hexane



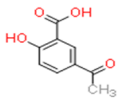
8: a-amyrin



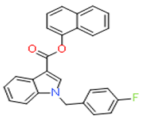
9: 1,1,6-Trimethyl-1,2,3,4-tetrahydro- Naphthalene



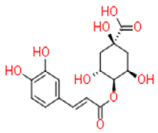
10: - (+)-pinoresinol



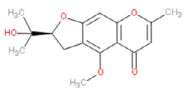
11: 5-Acetylsalicylic acid



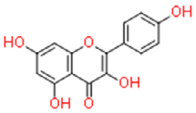
12: 1h-indole-3-carboxylic acid, 1-[(4-fluorophenyl)methyl]-,1-naphthalenyl ester



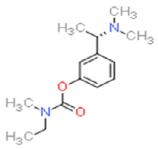
13: 4-O-trans-caffeoylquinic acid



14: 5-O-Methylvisamminol



15: Kaempferol



16: Rivastigmine

شکل ۱. تصاویر دو بعدی ۱۵ ترکیب فیتوشیمیایی موجود در گیاهان دارویی و ریواستیگمین

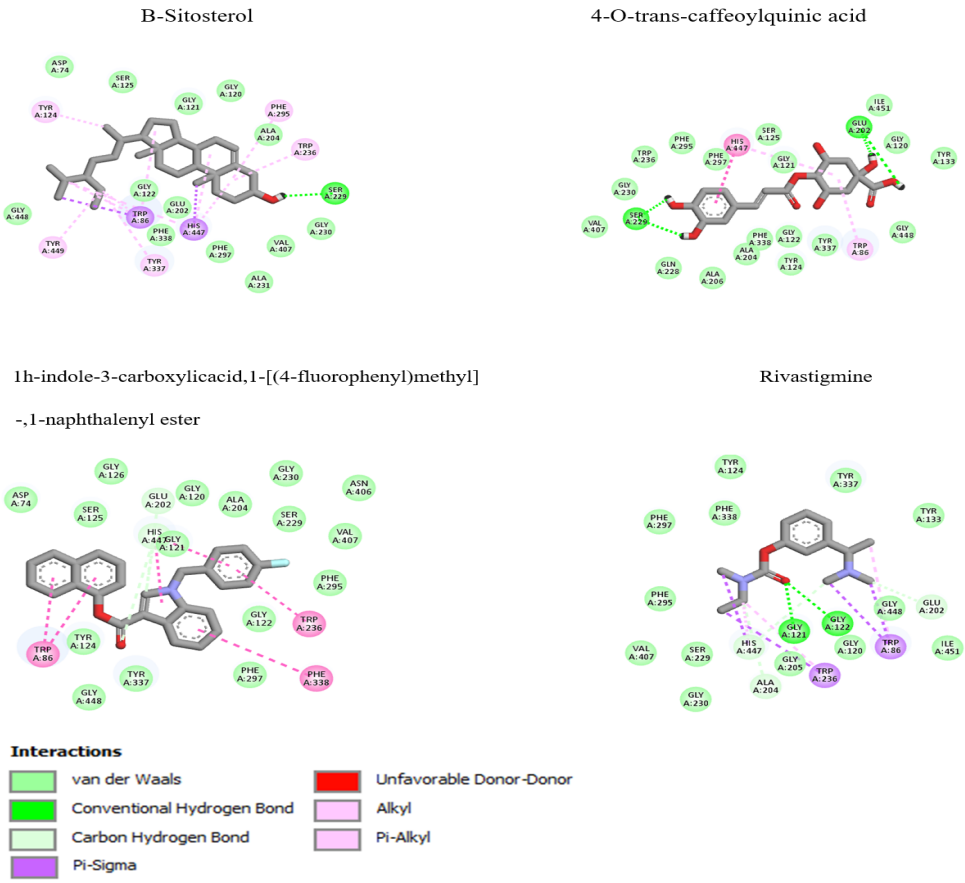
نتایج

بررسی‌های داکینگ مولکولی بر روی مجموعه‌ای از ترکیبات زیست‌فعالی استخراج‌شده از سه گیاه *Blighia sapida*، *Tithonia diversifolia* و *Irvingia gabonensis* نشان داد که تعداد قابل‌توجهی از این لیگاندها توانایی اتصال مطلوبی به جایگاه فعال آنزیم استیل‌کولین‌استراز (AChE) دارند. انرژی‌های اتصال محاسبه‌شده نشان دادند که تعدادی از ترکیبات گیاهی مانند ترکیبات شماره ۱۲، ۱۳، و ۱۵ دارای برتری چشمگیری نسبت به لیگاند مرجع ریواستیگمین بودند بطوریکه بیشترین انرژی اتصال در بین ترکیبات منتخب در محدوده 8.22 kcal/mol-تا 11.42kcal/mol - و با ثابت مهارکنندگی 948 .μM0 تا 0.0042 μM به‌دست آمد، درحالی‌که ریواستیگمین انرژی اتصال 7.38kcal/mol-و با ثابت مهارکنندگی 4.86μM را نشان داد. این اختلاف انرژی و همچنین ثابت مهارکنندگی، بیانگر پتانسیل بالاتر این ترکیبات گیاهی در تعامل با شکاف فعال آنزیم AChE است (جدول ۱)

جدول ۱. انرژی اتصال ترکیبات فیتوشیمیایی مختلف موجود در سه گیاه با جایگاه فعال آنزیم استیل کولین استراز در مقایسه با ریواستیگمین.

شماره	نام ترکیب	انرژی اتصال (kcal/mol)	ثابت مهارکنندگی (μM)
1	methyl (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)acetate	-5.87	497.2
2	Friedelan-3-one)	-6.94	8.17
3	2-Fluorobenzoic acid, 4-nitrophenyl ester	-6.09	24.71
4	b-Caryophyllene	-7.46	3.42
5	Germacrene D	-7	7.38
6	(Z)-b-ocimene	-4.32	678.99
7	1-Azabicyclo(3,1,0)hexane	-7.9	3.16
8	a-amyrin	-7.07	3.21
9	1,1,6-Trimethyl-1,2,3,4-tetrahydro-Naphthalene	-7.52	4.12
10	- (+)-pinoresinol	-6.95	17.050
11	5-Acetylsalicylic acid	-7.68	3.35
12	1h-indole-3-carboxylicacid,1-[(4-fluorophenyl)methyl]-,1-naphthalenyl ester	-11.42	0.0042
13	4-O-trans-caffeoylquinic acid	-11.31	0.0051
14	5-O-Methylvisamminol	-7.01	5.4
15	B-Sitosterol	-8.22	0.948
16	Rivastigmine	-7.38	4.86

تحلیل الگوی برهم‌کنش‌ها نشان داد که ترکیبات با بالاترین امتیاز داکینگ، تعاملات چندوجهی و مؤثری با دو بخش اصلی آنزیم برقرارمی‌کنند: یکی جایگاه فعال کاتالیتیکی (CAS): شامل اسیدآمینه‌های کلیدی Ser203، His447 و Glu334، و دیگری جایگاه آنیونی محیطی (PAS): شامل Trp86 و Tyr337. این دو ناحیه در فرایند هیدرولیز استیل‌کولین نقش اساسی داشته و بسیاری از مهارکننده‌های قوی AChE با هدف مسدودسازی هم‌زمان هر دو بخش طراحی می‌شوند (شکل ۲)



شکل ۲. تصاویر ۲ بعدی برهمکنش‌های مولکولی ریواستیگمین و سه ترکیب منتخب در جایگاه اتصال آنزیم استیل کولین استراز

در میان ترکیبات مورد بررسی، چند لیگاند با شماره ۱۳ و ۱۵ توانستند پیوندهای هیدروژنی مستقیم و پایداری با Ser229 برقرار کنند؛ موضوعی که از دیدگاه مکانیزم مهار آنزیم اهمیت بالایی دارد. همچنین این سه ترکیب یاد شده توانستند همچون ریواستیگمین برهنکنش Pi-Sigma با Trp86 ایجاد کنند؛ برهم‌کنش‌هایی که منجر به مسدود شدن شکاف عمیق و جلوگیری از ورود به ناحیه فعال در زیر لایه می‌شود مقایسه مستقیم بین لیگاندهای منتخب و ریواستیگمین نشان داد که ترکیبات گیاهی نه تنها انرژی اتصال بهتری ارائه می‌دهند، بلکه تنوع بیشتری از تعاملات کلیدی را نیز ایجاد می‌کنند. درحالی‌که ریواستیگمین عمدتاً با دو تا سه اسیدآمینه در ناحیه CAS تعامل برقرار می‌کند، بسیاری از ترکیبات گیاهی توانستند هر دو ناحیه CAS و PAS را همزمان درگیر کنند که به‌طور بالقوه به مهار قوی‌تر و پایدارتر آنزیم منجر می‌شود

بحث

نتایج داکینگ مولکولی به‌دست‌آمده از این پژوهش، پتانسیل مهار استیل‌کولین‌استراز (AChE) را در ترکیبات زیست‌فعال استخراج‌شده از گیاهان *Blighia sapida*، *Tithonia diversifolia* و *Irvingia gabonensis* در سطح مولکولی به‌خوبی نشان داد. برتری انرژی اتصال مشاهده‌شده در ترکیبات فیتوشیمیایی (با کمترین مقادیر انرژی اتصال تا 11.42 kcal/mol–) نسبت به ریواستیگمین (7.38– kcal/mol)، نشان‌دهنده هم‌خوانی فضایی بهتر و تشکیل کمپلکس‌های پایدارتر با آنزیم هدف است. یکی از مهم‌ترین یافته‌ها، توانایی ترکیبات گیاهی در برقراری تعاملات هم‌زمان با هر دو ناحیه حیاتی آنزیم، یعنی جایگاه فعال کاتالیتیکی (CAS) و جایگاه آنیونی محیطی (PAS) است (همانطور که در جدول ۱ و تحلیل‌های بصری مشخص است)

در حالی که بسیاری از مهارکننده‌های استاندارد عمدتاً بر روی CAS متمرکز هستند، درگیری هم‌زمان PAS و CAS، به‌ویژه از طریق پیوندهای Pi-Sigma باقی‌مانده‌هایی مانند Trp86 و Trp286، می‌تواند منجر به مهار قوی‌تر، پایدارتر و طولانی‌مدت‌تر آنزیم شود

مقایسه مستقیم نشان داد که ترکیباتی نظیر 1-h-indole-3-carboxylic acid, 1-[(4-fluorophenyl)methyl]-,1-naphthalenyl ester (با انرژی اتصال -11.42kcal/mol) و 4-O-trans-caffeoylquinic acid (با انرژی اتصال -11.31 kcal/mol) به‌طور قابل‌توجهی از ریواستیگمین پیشی گرفتند. این امر نشان می‌دهد که تنوع ساختاری متابولیت‌های ثانویه در این گیاهان، مسیرهای جدیدی برای طراحی داروهای آلزایمر ارائه می‌دهد که احتمالاً از سازوکار اثر داروهای موجود فاصله می‌گیرند و ممکن است عوارض جانبی کمتری داشته باشند. اگرچه داکینگ مولکولی، ابزاری قدرتمند برای غربالگری اولیه است، اما ماهیت ایستا آن نیازمند اعتبارسنجی تجربی است

الگوی دوبعدی حاصل از برهمکنش لیگاند با رزیدوهای آمینواسیدی موجود در جایگاه اتصال توسط نرم افزار Pymol نشان داد که لیگاندهای برتر معمولاً علاوه بر پیوندهای هیدروژنی، تعداد زیادی تعاملات هیدروفوبیک با باقی‌مانده‌هایی مانند Phe338 و Tyr124 تشکیل می‌دهند. چنین الگوهایی از برهم‌کنش برای تثبیت دهی لیگاند در داخلی‌ترین نواحی شکاف آنزیم ضروری است. این نتایج با گزارش‌های پیشین در خصوص مهارکننده‌های سنتتیک و طبیعی AChE مطابقت دارد(۲۷-۲۵) و تأیید می‌کند که ترکیبات گیاهی مورد بررسی قادرند تعاملاتی مشابه یا حتی قوی‌تر از داروی استاندارد ایجاد کنند

نتایج داکینگ مولکولی در این مطالعه نشان می‌دهد که مجموعه‌ای از ترکیبات موجود در این گیاهان دارویی می‌توانند به‌عنوان مهارکننده‌های بالقوه آنزیم استیل‌کولین‌استراز در نظر گرفته شوند. برتری انرژی اتصال، نوع تعاملات مشاهده شده و حضور پیوندهای پایدار در ناحیه فعال، همگی نشان‌دهنده قابلیت این ترکیبات برای توسعه بیشتر در مطالعات آینده از جمله آزمون‌های زیست‌سنجی *in vitro* و *in vivo* است. این نتایج همچنین ارزش بالای منابع گیاهی سنتی را به‌عنوان منبعی پربار برای کشف مولکول‌های ضدآلزایمر جدید برجسته می‌کند

نتیجه گیری

پژوهش حاضر بر اساس شبیه‌سازی داکینگ مولکولی، پتانسیل قوی ترکیبات زیست‌فعال موجود در سه گیاه دارویی *Tithonia diversifolia*، *Blighia sapida* و *Irvingia gabonensis* را به‌عنوان مهارکننده‌های بالقوه استیل‌کولین‌استراز (AChE) تأیید می‌کند. نتایج به‌صراحت نشان داد که حداقل دو ترکیب از این مجموعه‌ها، پایداری اتصال بالاتری نسبت به داروی استاندارد ریواستیگمین از خود نشان می‌دهند و این پتانسیل را دارند که با برقراری تعاملات دوگانه با CAS و PAS، مهار مؤثری را اعمال کنند. این یافته‌ها، دانش سنتی پیرامون این گیاهان را از منظر کشف مولکول‌های جدید ضدآلزایمر، از طریق روش‌های محاسباتی نوین، تقویت می‌کند. گام‌های آتی این پژوهش باید شامل انجام مطالعات زیست‌سنجی *in vitro*، به ویژه آزمون‌های سنجش فعالیت آنزیم و ارزیابی‌های فارماکوکینتیک (ADMET) برای انتخاب بهترین کاندیداها باشد

در دسترس بودن

داده‌های این مطالعه به‌صورت عمومی در دسترس نیستند، اما در صورت درخواست معقول، از طریق نویسنده مسئول قابل دریافت می‌باشند

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع در انجام این پژوهش وجود ندارد.

حمایت مالی

این پژوهش هیچ‌گونه حمایت مالی از سوی نهادهای دولتی، خصوصی یا دانشگاهی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

تمام مراحل این پژوهش از جمله طراحی مطالعه انجام فرایند و نوشتن مقاله توسط نویسنده مسیول انجام شده است.

References

1. Kamatham PT, Shukla R, Khatri DK, Vora LK. Pathogenesis, diagnostics, and therapeutics for Alzheimer's disease: Breaking the memory barrier. Ageing Res Rev. 2024;101:102481. **doi:10.1016/j.arr.2024.102481.**

2. Knopman DS, Amieva H, Petersen RC, Chételat G, Holtzman DM, Hyman BT, et al. Alzheimer disease. Nat Rev Dis Prim. 2021;7(1):33. **doi:10.1038/s41572-021-00269-y.**

3. Castellani RJ, Rolston RK, Smith MA. Alzheimer disease. Dis Mon. 2010;56(9):484-546. **doi:10.1016/j.disamonth.2010.06.001.**

4. Ravi K, Narasingappa Ramesh B, Kj S, Poyya J, Karanth J, Raju NG, et al. Neuroprotective role of herbal alternatives in circumventing Alzheimer's disease through multi-targeting approach - a review. Egypt J Basic Appl Sci. 2022;9(1):91-124. **doi:10.1080/2314808X.2021.2021749.**

5. Dighe SN, De la Mora E, Chan S, Kantham S, McColl G, Miles JA, et al. Rivastigmine and metabolite analogues with putative Alzheimer's disease-modifying properties in a Caenorhabditis elegans model. Commun Chem. 2019;2(1):35. **doi:10.1038/s42004-019-0133-4.**

6. Gottwald MD, Rozanski RI. Rivastigmine, a brain-region selective acetylcholinesterase inhibitor for treating Alzheimer's disease: review and current status. Expert Opin Investig Drugs. 1999;8(10):1673-82. **doi:10.1517/13543784.8.10.1673.**

7. Zhang J, Zhang Y, Wang J, Xia Y, Zhang J, Chen L. Recent advances in Alzheimer's disease: Mechanisms, clinical trials and new drug development strategies. Signal Transduct Target Ther. 2024;9(1):211. **doi:10.1038/s41392-024-01911-3.**

8. Shafferman A, Kronman C, Flashner Y, Leitner M, Grosfeld H, Ordentlich A, et al. Mutagenesis of human acetylcholinesterase. Identification of residues involved in catalytic activity and in polypeptide folding. J Biol Chem. 1992;267(25):17640-8.

9. Asim A, Jastrzębski MK, Kaczor AA. Dual Inhibitors of Acetylcholinesterase and Monoamine Oxidase-B for the Treatment of Alzheimer's Disease. Molecules. 2025;30(14):2975. **doi:10.3390/molecules30142975.**

10. Hung LW, Sanbonmatsu KY, Williams RF, Chen JC-H. Acetylcholinesterase: Structure, dynamics, and interactions with organophosphorus compounds. Proteins. 2025. **doi:10.1002/pro.70297.**

11. Thai QM, Pham TN, Hiep DM, Pham MQ, Tran PT, Nguyen TH, et al. Searching for AChE inhibitors from natural compounds by using machine learning and atomistic simulations. J Mol Graph Model. 2022;115:108230. **doi:10.1016/j.jmgm.2022.108230.**

12. Sinmisola A, Oluwasesan BM, Chukwuemeka AP. Blighia sapida K.D. Koenig: A review on its phytochemistry, pharmacological and nutritional properties. J Ethnopharmacol. 2019;235:446-59. **doi:10.1016/j.jep.2019.01.017.**

13. Nguepi IST, Ngueguim FT, Gounoue RK, Mbatchou A, Dimo T. Curative effects of the aqueous extract of Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. gray (Asteraceae) against ethanol-induced hepatotoxicity in rats. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2021;32(6):1137-43. **doi:10.1515/jbcpp-2019-0370.**

14. Ojo OA, Ojo AB, Ajiboye BO, Oyinloye BE, Akawa A, Oluba OM, et al. Chromatographic fingerprint analysis, antioxidant properties, and inhibition of cholinergic enzymes of phenolic extracts from Irvingia gabonensis bark. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2018;29(2):217-24. **doi:10.1515/jbcpp-2017-0063.**

15. Peitzika SC, Pontiki E. A review on recent approaches on molecular docking studies of novel compounds targeting acetylcholinesterase in Alzheimer disease. Molecules. 2023;28(3):1084. **doi:10.3390/molecules28031084.**

16. Jang C, Yadav DK, Subedi L, Venkatesan R, Oh S, Nam KY, et al. Identification of novel acetylcholinesterase inhibitors designed by pharmacophore-based virtual screening, molecular docking and bioassay. Sci Rep. 2018;8(1):14921. **doi:10.1038/s41598-018-33354-6.**

17. Shahriarpour H, Ghaderi-Zefrehei M. Molecular docking and ADMET prediction of active compounds in Tualang honey against sex hormone-binding globulin for the treatment of male infertility. Iran J Biol Sci. 2023;18(1):21-35.

18. SahebJamei H, Mohmoud Janlou MA. In silico study to identify new inhibitors of Staphylococcus aureus Sortase A. Iran J Biol Sci. 2023;18(3):13-25.

19. Comparative analysis of phytochemical constituents, free radical scavenging activity, and GC-MS analysis of leaf and flower extract of Tithonia diversifolia. J. 2023.

20. Chemical constituents from Tithonia diversifolia and their chemotaxonomic significance. G. 2023.

21. Antidiabetic effects of Tithonia diversifolia and Malus domestica leaf extracts in alloxan-induced Sprague Dawley rats. N. 2023.

22. Activity of the compounds isolated from Blighia sapida stem bark against Aedes aegypti larvae. J. 2023.

23. Chemical compositions of seven essential oils from Blighia sapida. K. 2023.

24. Evaluation of chemical composition, in vitro antioxidant, and antidiabetic activities of solvent extracts of Irvingia gabonensis leaves. F. 2023.

25. Dos Santos TC, Gomes TM, Pinto BAS, Camara AL, Paes AMA. Naturally occurring acetylcholinesterase inhibitors and their potential use for Alzheimer's disease therapy. Front Pharmacol. 2018;9:1192. **doi:10.3389/fphar.2018.01192.**

26. Murray AP, Faraoni MB, Castro MJ, Alza NP, Cavallaro V. Natural AChE inhibitors from plants and their contribution to Alzheimer's disease therapy. Curr Neuropharmacol. 2013;11(4):388-413. **doi:10.2174/1570159X11311040004.**

27. Vecchio I, Sorrentino L, Paoletti A, Marra R, Arbitrio M. The state of the art on acetylcholinesterase inhibitors in the treatment of Alzheimer's disease. J Cent Nerv Syst Dis. 2021;13:11795735211029113. **doi:10.1177/11795735211029113.**