Discovery of Serine/Threonine-Protein Kinase 4 Inhibitor by Molecular Docking and Molecular Dynamics Studies for Treatment of Diabetes

Fatemeh Abdi[1], Monireh Movahedi[2], Mir Mohammad Alavi Nikje[3], Sako Mirzaie[4]

1.Ph.D. Candidate of Biochemistry, Department of Cellular and Molecular Biology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0002-8836-0603

2.Assistant Professor of Biochemistry, Department of Cellular and Molecular Biology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0003-2986-8383

3.Professor of Organic Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, Imam Khomeini International University,. ORCID ID: 0000-0002- 9029- 2638

4.Assistant Professor, Department of Biochemistry, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran., (Corresponding author), Tel: +143879834052, E-mail: sako.biochem@gmail.com. ORCID ID: 0000-0003- 4080- 9210.

ABSTRACT

Background and Aim: Nowadays, diabetes mellitus is a major challenge for human health. Serine/threonine-protein kinase 4 (STK4) is a main regulator of pancreatic β-cell death and dysfunction, and its over activation can lead to type 1 and type 2 diabetes. Deficiency of STK4 restores functional β-cells and normoglycemia. In the current study, for the first time, we used molecular modeling to discover a potent STK4 inhibitor.

Materials and Methods: In this study, among 51220 molecules in ZINC database, we used the molecular docking method for virtual screening process to select the potent and effective inhibitors against STK4. We used Desmond software for molecular dynamics (MD) simulations studies of the structures with the lowest free binding energy for 100 ns. The ADME properties of the selected compounds were calculated by Qikprop software.

Results: Virtual screening results showed that compounds with ZINC ID of ZINC95918625, ZINC85569233, ZINC03874317, ZINC00105086 and ZINC14819359 can be considered as STK4 inhibitors. Among these compounds, ZINC95918625 had the lowest free binding energy (-11.67 kcal/mol). After the 100 ns MD studies, ZINC95918625 interacted with STK4 residues of Lys59, Glu73, Cys105, and Gly153 via hydrogen bonding. ADME analysis exhibited that all pharmaco-kinteic parameters of ZINC95918625 were within the reasonable range.

Conclusion: Our study can provide valuable information about new inhibitors for diabetes treatment. The findings of this study indicated that ZINC95918625 molecule could be used as a novel STK4 inhibitor in the future studies.

Keywords: Diabetes, Serine/Threonine-Protein Kinase 4, Virtual screening, Molecular dynamics

Received: Nov 19, 2020 **Accepted:** June 14, 2020

How to cite the article: Fatemeh Abdi, Monireh Movahedi, Mir Mohammad Alavi Nikje, Sako Mirzaie. Discovery of Serine/Threonine-Protein Kinase 4 Inhibitor by Molecular Docking and Molecular Dynamics Studies for Treatment of Diabetes. SJKU 2021;27(1):101-114.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و هفت / فروردین و اردیبهشت ۱۴۰۱/۱۱۴-۱۰۱

کشف مهارکننده علیه آنزیم سرین–ترئونین پروتئین کیناز ۴ با استفاده از مطالعات داکینگ مولکولی و دینامیک مولکولی جهت درمان دیابت

فاطمه عبدی[۱]، منیره موحدی[۲]، میرمحمد علوی نیکجه[۳]، ساکو میرزایی[۴]

۱. دانشجوی دکتری بیوشیمی، دپارتمان زیست شناسی سلولی و مولکولی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۸۸۳۶-۰۶۰۳

۲. استادیار بیوشیمی، دپارتمان زیست شناسی سلولی و مولکولی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۳-۲۹۸۶-۸۳۸۳

۳. استاد شیمی آلی، دپارتمان شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۹۰۲۹-۲۶۳۸

۴. استادیار، دپارتمان بیوشیمی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران (نویسنده مسئول). تلفن: ۰۰۱۴۳۷۹۸۳۴۰۵۲، پست الکترونیک: sako.biochem@gmail.com، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۳-۴۰۸۰-۹۲۱۰

چکیده

زمینه و هدف: امروزه، دیابت شیرین یک چالش عمده برای سلامتی انسان است. سرین/ترئونین پروتئین کیناز ۴ (STK4) یک تنظیم کننده اصلی مرگ سلول‌های بتای پانکراس و از دست دادن عملکرد این سلول‌ها بوده و افزایش فعالیت آن می‌تواند منجر به دیابت نوع ۱ و ۲ شود. نقض STK4 منجر به بازیابی سلول‌های بتای واجد عملکرد و قند خون طبیعی می‌شود. در مطالعه حاضر، برای اولین بار، از مدل‌سازی مولکولی جهت کشف مهارکننده قوی علیه STK4 استفاده شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، از میان ۵۱۲۲۰ مولکول در پایگاه داده ZINC، ما جهت انجام غربالگری مجازی و انتخاب مهارکننده‌های موثر علیه STK4 از روش داکینگ مولکولی استفاده کردیم. ساختارهای با کمترین انرژی آزاد اتصال، مورد مطالعه دینامیک مولکولی توسط نرم افزار Desmond به مدت ۱۰۰ نانوثانیه قرار گرفتند. خواص ADME ترکیبات انتخاب شده توسط نرم‌افزار Qikprop محاسبه شد.

یافته‌ها: غربالگری مجازی نشان داد که ترکیبات با شماره شناسایی ZINC95918625، ZINC85569233، ZINC03874317، ZINC00105086 و ZINC14819359 می‌تواند به عنوان مهارکننده‌های STK4 مورد بررسی قرار گیرد. در میان آنها، مولکول ZINC95918625 دارای کمترین انرژی آزاد اتصال بود (۱۱/۶۷- کیلوکالری بر مول). پس از ۱۰۰ نانوثانیه از دینامیک مولکولی، مولکول ZINC95918625 با ریشه آمینواسیدهای لایزین ۵۹، گلوتامات ۷۳، سیستئین ۱۰۵، و گلایسین ۱۵۳ از آنزیم STK4 از طریق پیوند هیدروژنی برهم‌کنش داد. آنالیز ADME نشان داد که همه پارامترهای فارماکوکینتیکی مولکول ZINC95918625 در دامنه قابل قبول بود.

نتیجه‌گیری: مطالعه ما می‌تواند اطلاعات باارزشی در مورد مهارکننده‌های جدید شناسایی شده برای درمان دیابت ارایه دهد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مولکول ZINC95918625 می‌تواند به عنوان یک مهارکننده جدید آنزیم STK4 در مطالعات تکمیلی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: دیابت، سرین/ترئونین-پروتئین کیناز ۴، غربالگری مجازی، دینامیک مولکولی

وصول مقاله:۹۹/۹/۹ اصلاحیه نهایی:۱۴۰۰/۳/۲۳ پذیرش:۱۴۰۰/۳/۲۴

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]

مقدمه

دیابت شیرین یا دیابت ملیتوس یک اختلال مربوط به سیستم اندوکرین می‌باشد. عدم تولید انسولین و یا تولید مقادیر ناکافی از آن (دیابت نوع ۱)، و یا از دست دادن حساسیت به انسولین ترشح شده (دیابت نوع ۲)، منجر به بیماری دیابت شیرین می‌گردد(۱). دیابت نوع ۱ شایع‌ترین نوع دیابت در افراد جوان است و شیوع آن هم در کشورهای در حال توسعه و هم کشورهای توسعه یافته در حال افزایش است اما ۸۵ تا ۹۵ درصد دیابت در کشورهای درحال توسعه، از نوع ۲ است(۲). در سال ۲۰۱۰، در رده سنی بین ۲۰ تا ۷۹ سال، حدود ۲۸۵ میلیون نفر به بیماری دیابت مبتلا بودند که تصور می‌شود تا سال ۲۰۳۰، تعداد افراد مبتلا به این بیماری، به ۴۳۸ میلیون نفر برسد(۲). پاسخ خودایمنی، فاکتورهای ژنتیکی و فاکتورهای محیطی از عوامل ابتلا به دیابت نوع ۱ می‌باشند. مطالعات نشان داده‌اند که از بین رفتن سلول‌های بتای پانکراس نقش اساسی در بروز بیماری را در دیابت نوع ۱ و ۲ دارند(۳).

آپوپتوز القا شده در سلول‌های بتای پانکراس منجر به از دست دادن سلول‌های تولید کننده انسولین در دیابت نوع ۱ (با روندی سریع) و دیابت نوع (۲ با روندی کندتر) می‌شود(۴). مکانیسم‌های دیگری نیز چون از بین رفتن تمایز در سلول‌های بتای پانکراس(۵) و یا اختلال در تکثیر(۶)، جهت از بین رفتن این سلول‌ها پیشنهاد شده است. یکی از مطالعات نشان داده‌است که مکانیسم‌های بروز اختلال در سلول‌های بتا پیچیده است. تاکنون چندین فاکتور محرک پروتئینی که از طریق مسیرهای انتقال پیام آبشاری منجر به فعال شدن اپاپتوز در سلول‌های بتا می‌شوند شناسایی شده‌اند. بنابراین، نیاز مبرم به کشف و شناسایی ترکیبات مهار کننده اپاپتوز در سلول‌های بتای پانکراس وجود دارد. درمان‌هایی که اکنون برای دیابت نوع ۱ و ۲ تجویز می‌شوند تنها علایم بیماری را کاهش می‌دهند بدون آنکه مانع از بین رفتن سلول‌های بتا شوند و بیماری را درمان کنند. به عنوان مثال این داروها از طریق افزایش ترشح انسولین از سلول‌های بتای باقی‌مانده منجر به طبیعی شدن قند خون می‌شوند و یا منجر به بهبود حساسیت سلول‌ها به انسولین در دیابت نوع ۲ می‌گردند(۷). آنزیم سرین-ترئونین پروتئین کیناز (Serine/threonine-protein kinase 4) یا STK4 یکی از آنزیم‌های مهم در مسیر پیام رسانی هیپو یا Hippo pathway بوده و نقش مهمی را در فرآیندهای شکل‌زایی، تکثیر، پاسخ به استرس و اپاپتوز ایفا می‌کند(۸). این آنزیم از خانواده کینازها، از طریق برهمکنش با پروتئین‌های LATS1/2، هیستون H2B، پروتئین‌های خانواده FOXO و کاسپاز ۳ منجر به مرگ سلول می‌گردد(۴). در خصوص تومورزایی، آنزیم STK4 نقش مهارکننده تومور را دارد. مطالعه‌ای دیگر نشان داده‌است که بیان بالای ژن STK4 ارتباط مستقیم با افزایش عمر در بیماران مبتلا به سرطان سینه دارد(۹). این آنزیم می‌تواند که با آنزیم MST2 تشکیل کمپلکس داده و باعث تنظیم حالت اکسیداسیون و احیای سلولی شود و از این طریق نقش خود را به عنوان مهارکننده تومور ایفا کند(۱۰). بنابراین، STK4 می‌تواند هدف خوبی برای طراحی دارو جهت درمان دیابت باشد. اخیرا Ardestani و همکاران (۲۰۱۹)، ترکیب نراتینیب (Neratinib) را به عنوان مهارکننده STK4 پیشنهاد کرده‌اند(۱۱). این مهارکننده، یک مهار کننده کووالان، غیررقابتی و برگشت ناپذیر است(۱۲) که قادر است از طریق بخش اکریل امید خود به صورت کواالان با ریشه آمینواسید سیستئین متصل شود(۱۳). به دلیل پتانسیلی که مهارکننده‌ها و داروهای کووالان در ایجاد سمیت در بدن دارند(۱۴)، استفاده از مهار کننده‌های غیرکووالان در شرکت‌های داروسازی اولویت دارد(۱۵).

به دلیل هزینه بسیار بالای تولید دارو در آزمایشگاه و زمان‌بر بودن این پروسه، امروزه از کامپیوتر و نرم افزارهای محاسباتی برای طراحی و یا کشف دارو استفاده بسیار می‌شود(۱۶). یکی از روش‌های محاسباتی دارو، غربالگری مجازی می‌باشد. در این روش، تعداد زیادی از مولکول‌های کتابخانه‌ای جهت بررسی برهم‌کنش احتمالی با پروتئین

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

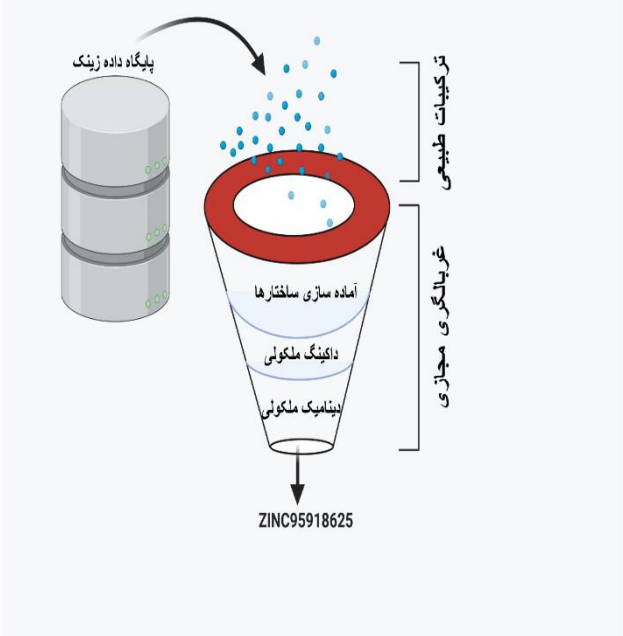
[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]

هدف مورد بررسی و مطالعه قرار می‌گیرند. دینامیک مولکولی، روش محاسباتی دیگری است که در آن با بکارگیری قانون دوم نیوتن و اعمال نیرو به سیستم، خصوصیات فیزیکو-شیمیایی بیومولکول‌ها و رفتار آنها در دما و فشار تعریف شده بررسی و آنالیز می‌شود(۱۷).

در این مطالعه، به منظور شناسایی مهارکننده‌های بالقوه جهت مهار اپاپتوز در سلول‌های بتای پانکراس و کمک به درمان بیماری دیابت نوع ۱ و ۲، با استفاده از روش‌های غربالگری مجازی و دینامیک مولکولی، مهارکننده‌های اختصاصی علیه آنزیم STK4 طراحی شد.

مواد و روش‌ها

روش‌های محاسباتی و مدل‌سازی که در ادامه به آنها اشاره شده است با هدف شناسایی و کشف مهارکننده علیه آنزیم STK4 و ارایه راهکار درمان دیابت نوع ۱ و ۲ مورد استفاده قرار گرفته‌اند. شکل ۱ شمایی کلی از روند انجام این مطالعه شبیه‌سازی را نشان می‌دهد.



شکل ۱. شکل شماتیک از روش‌های مدل‌سازی استفاده شده در این مطالعه.

آماده‌سازی سیستم

ابتدا ساختار سه بعدی آنزیم STK4 با کد 6YAT از پایگاه داده پروتئین دانلود شد (۱۸). اتم‌ها، ریشه آمینواسیدها و لوپ‌های ناقص توسط نرم‌افزار MODELLER v9.15(۱۹) تصحیح گردید. حالت یونیزاسیون صحیح ریشه آمینواسیدهای یونیزه‌شونده با استفاده از پایگاه داده propKa تعیین و اعمال شد(۲۰). از کتابخانه ترکیبات طبیعی پایگاه داده ZINC(۲۱) (مجموع ۵۱۲۲۰ مولکول) برای انجام غربالگری استفاده شد.

غربالگری مجازی با استفاده از نرم‌افزار Schrödinger Maestro

جهت انجام مطالعات غربالگری مجازی و داکینگ مولکولی از نرم‌افزار Schrödinger Maestro 12.5 بکار برده شد. از ماژول Protein Preparation Wizard این نرم‌افزار(۲۲) جهت آماده‌سازی ساختار سه‌بعدی آنزیم STK4 استفاده شد. این آماده‌سازی شامل تصحیح درجه پیوند اتم‌ها، اضافه کردن اتم‌های هیدورژن به ساختار، و حذف مولکول‌های آب کریستالی بود. همچنین آماده‌سازی

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]

ساختار سه‌بعدی مولکول‌های کتابخانه با ماژول LigPrep انجام پذیرفت. حالت یونیزاسیون صحیح مولکول‌ها (ترکیبات طبیعی) برای pH 7 توسط ماژول Epik(۲۳) در نظر گرفته شد. بهینه‌سازی انرژی ترکیبات طبیعی با میدان نیروی Optimized Potentials for Liquid Simulations version 3 که به اختصار OPLS3 نامیده می‌شود(۲۴) انجام پذیرفت. برای انجام داکینگ در غربالگری مجازی، از نرم‌افزار Glide(۲۵) در شرودینگر استفاده شد. قبل‌از شروع داکینگ، مولکول‌های موجود در کتابخانه از نظر عدم وجود گروه‌های واکنش‌پذیر و تبعیت از قوانین لیپینسکی(۲۶) غربالگری شدند.

پیش‌بینی ADME و سمیت ترکیبات حاصل از فاز غربالگری مجازی

خواص ADME شامل جذب، توزیع، متابولیسم و ترشح کاندیدهای دارویی نقش مهمی در تصویب این ترکیبات در فاز کارآزمایی بالینی دارد. بنابراین، این خواص توسط نرم افزار Qikprop در نرم‌افزار شرودینگر، برای ترکیبات حاصل از فاز غربالگری مجازی محاسبه شد. برای محاسبه سمیت ترکیبات از ProTox-II web server استفاده گشت(۲۷).

دینامیک مولکولی

آنزیم STK4 در دو حالت آزاد و یا متصل شده به بهترین مهارکننده حاصل از مرحله غربالگری مجازی، وارد مطالعه دینامیک مولکولی شد. دینامیک مولکولی با استفاده از نرم‌افزار Desmond انجام پذیرفت(۲۸). برای آماده سازی هر سیستم، از گزینه system setup در ماژول Desmond استفاده شد. در ابتدا، هر سیستم، با مدل مولکول‌های آب TIP3P حل شد و سپس با یونهای Na^+ و Cl^-، بار کل سیستم خنثی شد. بعد از آماده‌سازی و مینیمایز کردن انرژی هر سیستم، از NPT و شرایط مرزی متناوب همراه با میدان نیروی OPLS3(۲۴) استفاده گردید. از روش جفت شدن دمای Nose-Hoover(۲۹) و مقیاس گذاری ایزوتروپیک به ترتیب برای ثابت نگه داشتن دما (۳۰۰ درجه کلوین) و فشار هر سیستم (۱ بار) استفاده شد. هر سیستم، به مدت ۱۰۰ نانوثانیه در دینامیک مولکولی مطالعه شد.

یافته‌ها

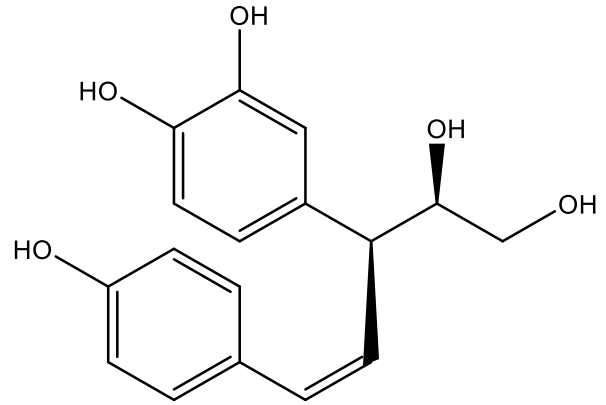
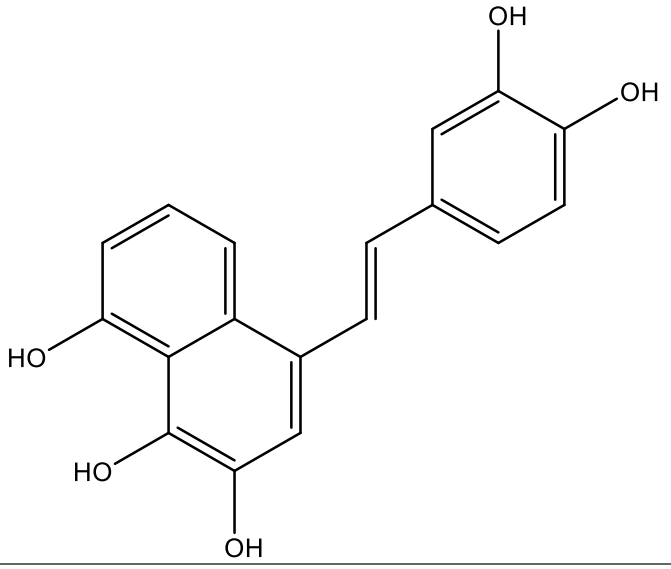
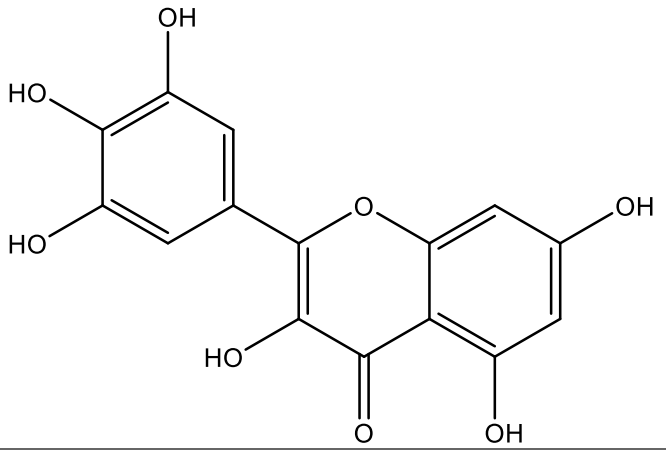
آنالیز داده‌های داکینگ مولکولی

ابتدا با استفاده از داکینگ مولکولی، غربالگری مجازی انجام شد. جدول ۱، ۵ مهارکننده حاصل از غربالگری مجازی را با پایین ترین مقدار انرژی داکینگ نشان می‌دهد. انرژی داکینگ کم متناسب با پایداری بیشتر کمپلکس آنزیم/مهارکننده است. بر اساس داده‌های موجود در جدول ۱، ترکیب با کمترین انرژی داکینگ، ZINC95918625 (11.670- کیلوکالری بر مول) می باشد. شکل ۲، نحوه برهم‌کنش این مولکول را با ریشه آمینواسیدهای جایگاه فعال آنزیم STK4 نشان می‌دهد. بر اساس این شکل، گروه هیدروکسی فنیل با ریشه آمینواسید Cys105 دو پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند. همچنین، بخش دی‌هیدروکسی اتیل مولکول ZINC95918625 با ریشه آمینواسیدهای Asn154 و Glu38 دو پیوند هیدوروژنی را تشکیل می‌دهند. علاوه بر این، دوپیوند هیدروژنی دیگر نیز بین ریشه آمینواسیدهای Lys59 و Glu73 از یک طرف و بنزن دی‌اُل از طرف دیگر برقرار می‌شوند (شکل ۲).

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

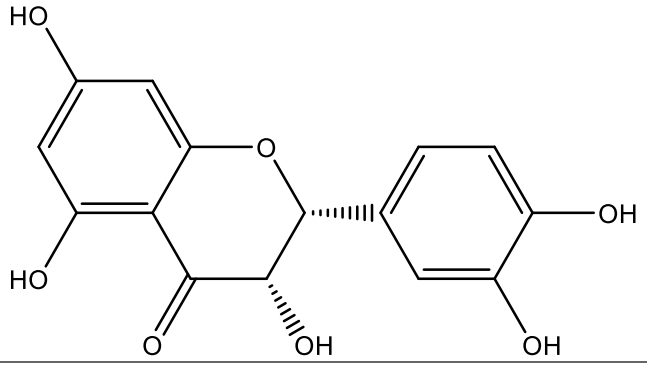
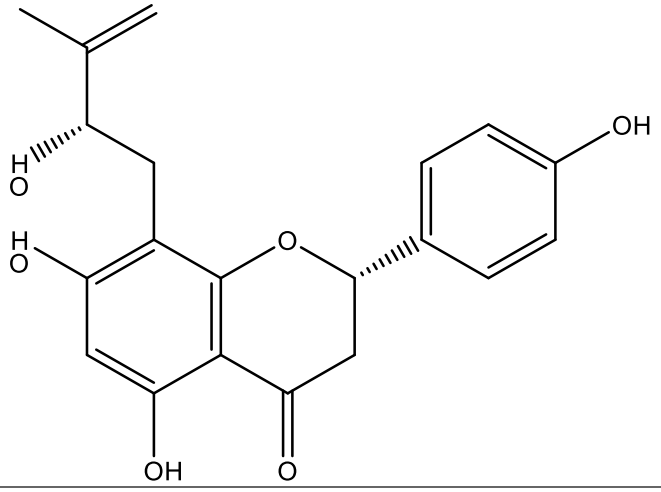
[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]

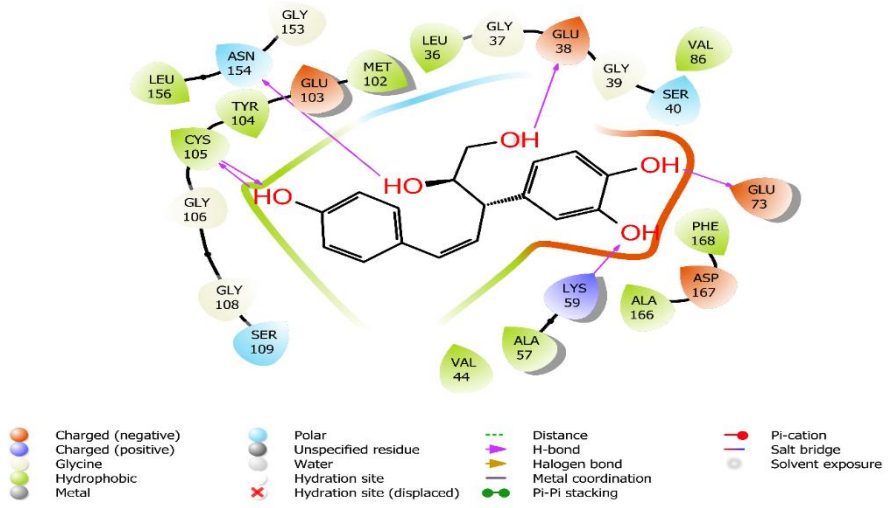
جدول ۱. ساختار دوبعدی و انرژی آزاد اتصال بهترین ترکیبات حاصل از داکینگ مولکولی توسط نرم افزار glide.

شماره	ساختار	کد زینک	امتیاز داکینگ بر حسب کیلوکالری بر مول
۱		ZINC95918625	-۱۱/۶۷۰
۲		ZINC85569233	-۱۰/۶۲۸
۳		ZINC03874317	-۱۰/۶۲۲

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]

۴		ZINC00105086	-۱۰/۶۱۸
۵		ZINC14819359	-۱۰/۵۵۷



شکل ۲. نحوه برهم‌کنش مولکول ZINC95918625 با جایگاه فعال آنزیم STK4 حاصل از روش داکینگ مولکولی.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]

پیش‌بینی ADME و سمیت مهارکننده‌ها:

۵ مهارکننده غربالگری شده توسط روش داکینگ مولکولی مورد مطالعه مقادیر ADME به صورت محاسباتی قرار گرفت (جدول ۲). پارامترهای محاسبه شده شامل ضریب توزیع آب/ اکتانل، نفوذپذیری سلول Caco-2، ضریب توزیع خونی/ مغزی، درصد جذب دهانی و فعالیت علیه سیستم عصبی مرکزی بود(۳۰). با توجه به اطلاعات موجود در جدول ۲، پارامترهای فارماکو- کینتیکی تمامی ۵ مولکول در دامنه قابل قبولی بوده و می‌توانند جهت استفاده در انسان مورد استفاده قرار گیرند. جدول ۳، مقدار سمیت پیش‌بینی شده برای مهار کننده‌های ZINC95918625، ZINC85569233، ZINC03874317، ZINC00105086 و ZINC14819359 را نشان می‌دهد.

جدول ۲. محاسبه ADME مهار کننده‌های پیشنهاد شده در فاز غربالگری مجازی در این مطالعه

شماره مولکول	انحراف از قوانین جورگنسن	انحراف از قوانین لیپینسکی	درصد جذب خوراکی[a]	QPlogBB[b]	QPPCaco[c]	QPlogPo/w[d]	CNS[e]
ZINC95918625	۰	۰	۶۴	-۲/۲۰۲	۵۸	۱/۰۰۱	--
ZINC85569233	۰	۰	۶۹	-۲/۰۹۶	۶۵	۱/۶۱	--
ZINC03874317	۱	۱	۲۹	-۲/۵۹۹	۹	-۰/۳۸	--
ZINC00105086	۰	۰	۵۳	-۲/۲۳	۲۶	۰/۱۵۴	--
ZINC14819359	۱	۰	۸۰	-۱/۶۷۹	۱۴۲	۲/۴۵۷	--

a) درصد جذب خوراکی ترکیب در دستگاه گوارش انسان (مقادیر کمتر از ۲۵ درصد جذب بسیار کمی دارند).

b) مقادیر محاسبه شده ضریب توزیع خونی/مغزی (مقادیر قابل قبول از ۳- تا ۱/۲).

c) مقادیر محاسبه شده نفوذپذیری به سلول‌های Caco-2 بر حسب نانومتر بر ثانیه (مقادیر قابل قبول بین ۲۵ تا ۵۰۰).

d) مقادیر محاسبه شده ضریب تفکیک اکتانل/آب (مقادیر قابل قبول از ۲- تا ۶/۵).

e) مقادیر محاسبه شده برای تاثیر ترکیب بر فعالیت سیستم عصبی مرکزی با مقیاس ۲- (غیرفعال) تا ۲ (فعال).

جدول ۳. نتایج مربوط به پیش‌بینی سمیت مهارکننده‌ها

کد مولکول	سمیت سلولی	جهش‌زایی	سمیت سیستم ایمنی	سرطانزایی	سمیت کبدی
ZINC95918625	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۹۲)	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۷۹)	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۵۱)	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۵۱)	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۸۵)
ZINC85569233	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۹)	فعال (احتمال برابر ۰/۶۵)	فعال (احتمال برابر ۰/۹۱)	فعال (احتمال برابر ۰/۵۴)	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۷۳)
ZINC03874317	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۹۹)	فعال (احتمال برابر ۰/۵۱)	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۸۶)	فعال (احتمال برابر ۰/۶۸)	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۶۹)

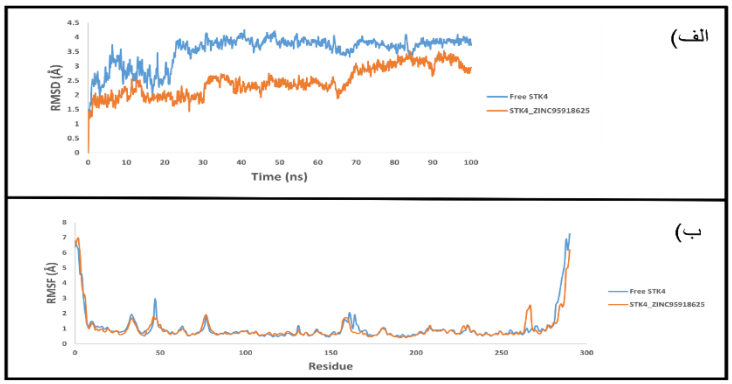
[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]

ZINC00105086	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۹۹)	فعال (احتمال برابر ۰/۵۶)	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۷۶)	فعال (احتمال برابر ۰/۶۸)	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۶۹)
ZINC14819359	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۷۶)	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۶۵)	فعال (احتمال برابر ۰/۹)	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۶۷)	غیرفعال (احتمال برابر ۰/۶۷)

آنالیز داده‌های دینامیک مولکولی

شکل ۳الف، مقادیر RMSD را برای دوسیستم شامل آنزیم STK4 و کمپلکس آنزیم/ZINC95918625 را طی ۱۰۰ نانوثانیه زمان شبیه‌سازی دینامیک مولکولی نشان می‌دهد. با توجه به داده‌های این شکل، میانگین نوسانات آنزیم STK4 در حالت آزاد طی شبیه سازی دینامیک مولکولی، ۳/۵۳ آنگسترم بوده که از حالت کمپلکس با مهار کننده ZINC95918625 (۲/۴ آنگسترم) بیشتر است. جذر میانگین مربعات نوسانات یا RMSF، میزان تحرک و انعطاف پذیری ریشه‌های آمینواسیدها را طی زمان ۱۰۰ نانوثانیه از شبیه‌سازی ترسیم می‌کند. مقادیر بالای RMSF، میزان تحرکات و نوسان‌های بالای ریشه آمینواسیدها را نشان می‌دهد. مقادیر RMSF طی ۱۰۰ نانوثانیه زمان شبیه سازی برای دو سیستم (حالت آزاد و باند شده آنزیم) در شکل ۳ب نشان داده شده است. بر طبق این شکل، مقدار RMSF ریشه آمینواسید Lys59 در آنزیم آزاد برابر ۰/۸۵ آنگستروم است در حالیکه این مقدار در سیستم حاوی کمپلکس آنزیم/ZINC95918625 برابر ۰/۵۲ آنگستروم می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که ریشه آمینواسید Lys59 نقش مهمی در فعالیت کینازی آنزیم STK4 دارد. به عنوان مثال با جهش این آمینواسید به آمینواسید آرژنین (K59R)، فعالیت اپاپتوزی STK4 در سلول‌های HL-60 و T293 و در حضور ترکیبات تحریک کننده اپاپتوز، به طور کامل از بین می‌رود(۳۲, ۳۱). بر اساس داده‌های شکل ۳ب، مقادیر RMSF در حالت آنزیم آزاد، برای ریشه آمینواسیدهای Thr183 و Thr187 به ترتیب برابر ۱/۳ انگستروم و ۰/۸۵ آنگستروم است. اخیرا مطالعه‌ای نشان داده است که فسفریلاسیون این دو ریشه آمینواسیدی برای فعال‌شدن فعالیت کینازی آنزیم STK4 ضروری است(۳۳). در کمپلکس آنزیم/ZINC95918625 مقادیر RMSF برای این دو ریشه آمینواسیدی به ترتیب برابر ۰/۷ و ۰/۶۳ آنگستروم است.

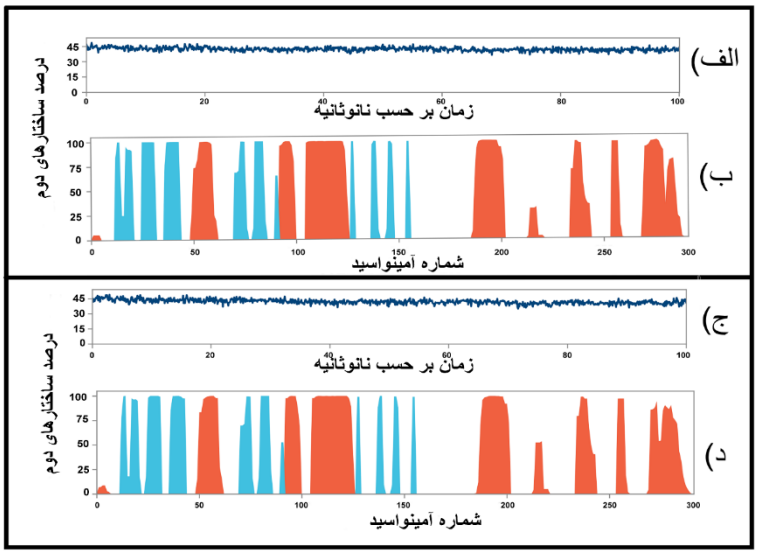


شکل ۳. مقادیر RMSD و RMSF آنزیم STK4 در دو حالت آزاد و باند شده به مولکول ZINC95918625 طی ۱۰۰ نانوثانیه از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]

اتصال یک مهار کننده به یک پروتئین می‌تواند منجر به تغییر ساختمان دوم آن شود. بنابراین، آنالیز تغییرات ساختمان دوم پروتئین طی زمان دینامیک مولکولی برای ارزیابی تشکیل کمپلکس پایدار پروتئین/مهارکننده ضروری است. شکل ۴ الف و ج، درصد ساختمان دوم (مارپیچ آلفا + صفحات بتا) آنزیم STK4 را در دو حالت آزاد و متصل شده به مهار کننده ZINC95918625 نشان می‌دهد. شکل ۴ ب و د، میزان مشارکت هر ریشه آمینواسید را در دوحالت آزاد و باند شده، در تشکیل ساختمان دوم آنزیم را نشان می‌دهد. برای آنزیم در حالت آزاد، مقدار کل ساختمان‌های دوم برابر ۴۲/۱۸ درصد بود که از این میزان ۲۷/۱۷ درصد را مارپیچ آلفا و ۱۵/۰۱ درصد را صفحات بتا تشکیل داده‌اند (شکل ۴ الف و ب). در مورد STK4 متصل شده به ZINC95918625، بر اساس شکل ۴ ج و د، ۲۷/۱۲ درصد مربوط به مارپیچ آلفا و ۱۵/۰۳ درصد مربوط به صفحات بتا بود (جمعا ۴۲/۱۴ درصد ساختمان دوم). با توجه به عدم تغییر معنی‌دار ساختمان دوم در آنزیم، می‌توان نتیجه گرفت که کمپلکس آنزیم/ZINC95918625 پایدار است.



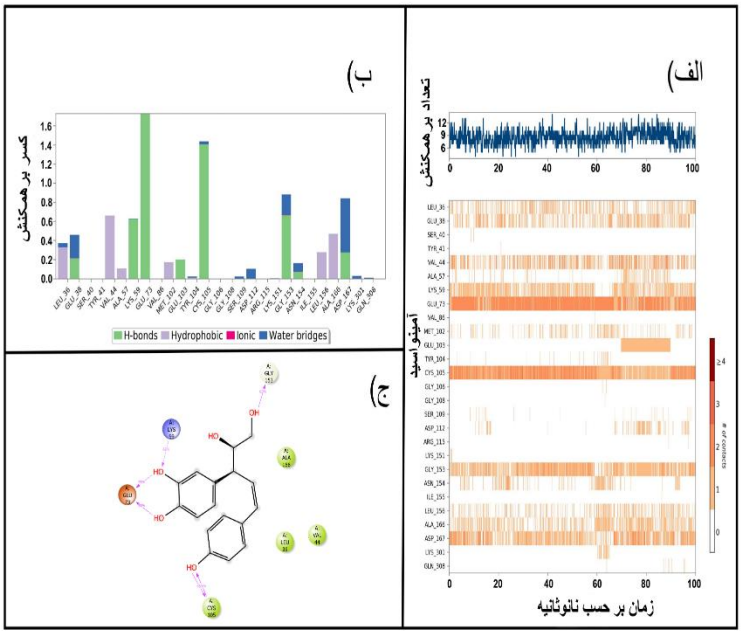
شکل ۴. درصد کل ساختمان های دوم آنزیم STK4 در دو حالت آزاد (الف) و باند شده به مولکول ZINC95918625 طی ۱۰۰ نانوثانیه از شبیه سازی دینامیک مولکولی (ج). مقدار مشارکت هر ریشه آمینواسید در ساختمان دوم آنزیم STK4 در دو حالت آزاد (ب) و متصل شده به مولکول ZINC95918625 (د) طی ۱۰۰ نانوثانیه از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی.

تجزیه و تحلیل الگوی تعامل آنزیم/مهارکننده در طی زمان شبیه‌سازی، یک امر اساسی برای درک مکانیسم مهار می‌باشد. تعداد کل پیوندهای غیرکووالان بین آنزیم و مهارکننده طی زمان شبیه‌سازی از ۳ تا ۱۴ متغیر است (شکل ۵الف، پنل فوقانی). ریشه آمینواسیدهای Glu73، Cys105، Gly153 و Asp167 تقریبا در تمامی مدت شبیه‌سازی به مهارکننده ZINC95918625، برهمکنش‌های غیرکووالان داشتند (شکل ۵الف، پنل تحتانی). الگوی برهم‌کنش بین آنزیم STK4 و ZINC95918625 به صورت تلفیقی از پیوندهای هیدروژنی، برهمکنش‌های آبگریز، و پل‌های مولکول‌های آب در شکل ۵ب نشان داده شده است. بر اساس شکل ۵ج،

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]

ریشه آمینواسید کاتالیتیک Lys59 ۶۲ درصد از زمان شبیه‌سازی، با مهارکننده ZINC95918625 تشکیل پیوند هیدروژنی داد. همچنین ریشه آمینواسید Glu73 با تشکیل دو پیوند هیدروژنی با مهارکننده، یکی در ۹۳ درصد و دیگری در ۷۹ درصد زمان شبیه‌سازی، سهم بسزایی در پایدارسازی کمپلکس آنزیم/مهارکننده داشت. ریشه آمینواسیدهای Val44، Leu36 و Ala166 با مهارکننده از طریق برهم‌کنش آبگریز، تشکیل پیوند غیرکووالان دادند.



شکل ۵. تعداد کل پیوندهای غیرکووالان بین آنزیم و مهارکننده طی زمان شبیه‌سازی (الف). میزان مشارکت ریشه‌های آمینواسیدی در جایگاه فعال در برهمکنش با مولکول ZINC95918625 طی زمان شبیه سازی دینامیک مولکولی (ب). نحوه برهمکنش آمینواسیدهای برهمکنش دهنده جایگاه فعال با مولکول ZINC95918625 (ج).

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]

بحث

روش‌های محاسباتی و مدل‌سازی مولکولی، موفقیت‌های قابل توجهی را در حل مسایل و مشکلات زیستی بدست‌آورده‌اند(۳۵, ۳۴). شناسایی و بهینه‌کردن ترکیبات پیشرو بخش بسیار ضروری از فرآیند کشف و توسعه دارو می‌باشد. اخیرا مطالعات غربالگری مجازی سهم بسزایی را در کشف و توسعه ترکیبات دارویی جدید ایفا کرده‌اند(۳۷, ۳۶). در این مطالعه، با استفاده از روش‌های غربالگری مجازی و دینامیک مولکولی، مولکول‌های مهارکننده علیه آنزیم STK4 شناسایی شد تا با استفاده از این مهارکننده‌ها، امکان مهار فرآیند اپاپتوز در سلول‌های بتای پانکراس ایجاد شود. بر اساس داده‌های ADME، کمترین مقدار سمیت مربوط به مهارکننده ZINC95918625 بود. انحراف جذر میانگین مربعات یا RMSD یکی از پارامترهای معمول در مطالعات دینامیک مولکولی است که جهت اطمینان از به تعادل رسیدن سیستم در خلال شبیه سازی اندازه‌گیری می‌شود. مقادیر بالای RMSD نمایانگر تحرک و نوسان‌پذیری بالای پروتئین طی زمان شبیه سازی است(۳۹, ۳۸). بر اساس داده‌های ما در این مطالعه، با اتصال مهار کننده غربالگری شده به آنزیم STK4، میزان نوسانات و تحرکات کاهش می‌یابد که خود متناسب با افزایش پایداری است (شکل ۳الف).

نتیجه‌گیری

از آنجاییکه دیابت یکی از معضلات سلامتی بشر در قرن حاضر است و تابحال درمان دارویی برای این بیماری ارایه نشده است، در این مطالعه از روش‌های محاسباتی زیستی مانند داکینگ مولکولی و دینامیک مولکولی استفاده شد تا علیه آنزیم STK4، یکی از هدف‌های پروتئینی که به تازگی نقش آن در بروز دیابت شناخته شده است، مهار کننده شناسایی شود. این آنزیم هم در بروز اپاپتوز و هم در بروز دیابت نوع ۱ و هم نوع ۲ نقش اساسی دارد. با استفاده از سخت‌افزارها و نرم‌افزارهای رایانه‌ای، هزینه‌ها و مدت زمان لازم در روند پیچیده کشف دارو کاهش چشمگیری می‌یابد. در پایان فاز غربالگری مجازی، ۵ مولکول به عنوان مهارکننده پیشنهاد شد که بر اساس انرژی آزاد اتصال، ترکیب ZINC95918625 به عنوان قویترین مهار کننده، مورد مطالعه دینامیک مولکولی طی مدت زمان ۱۰۰ نانوثانیه قرار گرفت. نتایج دینامیک مولکولی نشان دادند که Lys59، مهمترین ریشه آمینواسید کاتالیتیک در آنزیم STK4 در ۶۲ درصد زمان شبیه‌سازی با مولکول ZINC95918625 تشکیل پیوند هیدروژنی داده است. اتصال این مهارکننده به آنزیم، تغییر معنی‌داری را در ساختمان دوم STK4 ایجاد نکرد که می‌توان نتیجه گیری کرد که کمپلکس آنزیم/مهارکننده پایدار است. همچنین داده‌های مربوط به RMSD نشان دادند که با اتصال مهارکننده ZINC95918625 به آنزیم، میزان نوسان‌های STK4 طی زمان شبیه‌سازی کاهش پیدا کرده است. داده‌های شبیه‌سازی مولکولی نشان می‌دهند که می توان از مهارکننده ZINC95918625 برای آزمایشات تکمیلی تجربی و گسترش دارویی علیه دیابت نوع ۱ و ۲ استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بدینوسیله تشکر و سپاس خود را از دپارتمان زیست شناسی سلولی و مولکولی واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی برای حمایت‌های مالی اعلام می‌دارند. نتایج این مقاله از پایان نامه دکتری بیوشیمی واحد تهران شمال استخراج شده است. هیچ کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و یا مراکز حامی تعارض منافعی برای انتشار این مقاله ندارند.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]

منابع

1.Ford ES, Li C, Zhao G. Prevalence and correlates of metabolic syndrome based on a harmonious definition among adults in the US. J Diabetes. 2010;2(3):180-93.
2.Deepthi B, Sowjanya K, Lidiya B, Bhargavi R, Babu P. A modern review of diabetes mellitus: an annihilatory metabolic disorder. J In Silico Pharmacol. 2017;3(1):1-14.
3.Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. β-cell deficit and increased β-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. Diabetes. 2003;52(1):102-10.
4.Ardestani A, Paroni F, Azizi Z, Kaur S, Khobragade V, Yuan T, et al. MST1 is a key regulator of beta cell apoptosis and dysfunction in diabetes. Nat Med. 2014;20(4):385-97.
5.Cinti F, Bouchi R, Kim-Muller JY, Ohmura Y, Sandoval PR, Masini M, et al. Evidence of β-cell dedifferentiation in human type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(3):1044-54.
6.Ardestani A, Maedler K. The hippo signaling pathway in pancreatic β-cells: functions and regulations. Endocr Rev. 2018;39(1):21-35.
7.Control D, Group CTR. Effect of intensive therapy on residual beta-cell function in patients with type 1 diabetes in the diabetes control and complications trial. A randomized, controlled trial. Ann Intern Med. 1998;128:517-23.
8.Avruch J, Zhou D, Fitamant J, Bardeesy N, Mou F, Barrufet LR, editors. Protein kinases of the Hippo pathway: regulation and substrates. Seminars in cell & developmental biology; 2012: Elsevier.
9.Lin X, Cai F, Li X, Kong X, Xu C, Zuo X, et al. Prognostic significance of mammalian sterile 20-like kinase 1 in breast cancer. Tumour Biol. 2013;34(5):3239-43.
10.Graves JD, Gotoh Y, Draves KE, Ambrose D, Han DK, Wright M, et al. Caspase-mediated activation and induction of apoptosis by the mammalian Ste20-like kinase Mst1. EMBO J. 1998;17(8):2224-34.
11.Ardestani A, Li S, Annamalai K, Lupse B, Geravandi S, Dobrowolski A, et al. Neratinib protects pancreatic beta cells in diabetes. Nat Commun. 2019;10(1):1-17.
12.Normanno N, De Luca A, Bianco C, Strizzi L, Mancino M, Maiello MR, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. Gene. 2006;366(1):2-16.
13.Bose P, Ozer H. Neratinib: an oral, irreversible dual EGFR/HER2 inhibitor for breast and non-small cell lung cancer. Expert Opin Investig Drugs. 2009;18(11):1735-51.
14.Ghosh AK, Samanta I, Mondal A, Liu WR. Covalent inhibition in drug discovery. ChemMedChem. 2019;14(9):889.
15.Singh J, Petter RC, Baillie TA, Whitty A. The resurgence of covalent drugs. Nat Rev Drug Discov. 2011;10(4):307-17.
16.Hosseini Y, Mollica A, Mirzaie S. Structure-based virtual screening efforts against HIV-1 reverse transcriptase to introduce the new potent non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor. J Mol Struct. 2016;1125:592-600.
17.Mohseni SS, Nasri F, Davari K, Mirzaie S, Moradzadegan A, Abdi F, et al. Identification of novel inhibitor against endonuclease subunit of Influenza pH1N1 polymerase: A combined molecular docking, molecular dynamics, MMPBSA, QMMM and ADME studies to combat influenza A viruses. Comput Biol Chem. 2018;77:279-90.
18.Bata N, Chaikuad A, Bakas NA, Limpert AS, Lambert LJ, Sheffler DJ, et al. Inhibitors of the Hippo Pathway Kinases STK3/MST2 and STK4/MST1 Have Utility for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia. J Med Chem. 2022;65(2):1352–1369
19.Webb B, Sali A. Comparative protein structure modeling using MODELLER. Curr Protoc Bioinformatics. 2016;54(1): 5-6
20.Li H, Robertson AD, Jensen JH. Very fast empirical prediction and rationalization of protein pKa values. Proteins. 2005;61(4):704-21.
21.Irwin JJ, Sterling T, Mysinger MM, Bolstad ES, Coleman RG. ZINC: a free tool to discover chemistry for biology. J Chem Inf Model. 2012;52(7):1757-68.
22.Sastry GM, Adzhigirey M, Day T, Annabhimoju R, Sherman W. Protein and ligand preparation: parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. J Comput Aided Mol Des. 2013;27(3):221-34.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]

23.Shelley JC, Cholleti A, Frye LL, Greenwood JR, Timlin MR, Uchimaya M. Epik: a software program for pK a prediction and protonation state generation for drug-like molecules. J Comput Aided Mol Des. 2007;21(12):681-91.
24.Harder E, Damm W, Maple J, Wu C, Reboul M, Xiang JY, et al. OPLS3: a force field providing broad coverage of drug-like small molecules and proteins. J Chem Theory Comput. 2016;12(1):281-96.
25.Friesner RA, Murphy RB, Repasky MP, Frye LL, Greenwood JR, Halgren TA, et al. Extra precision glide: Docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein− ligand complexes. J Med Chem. 2006;49(21):6177-96.
26.Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Adv Drug Deliv Rev. 1997;23(1-3):3-25.
27.Banerjee P, Eckert AO, Schrey AK, Preissner R. ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. Nucleic Acids Res. 2018;46:W257-W63.
28.Bowers KJ, Chow DE, Xu H, Dror RO, Eastwood MP, Gregersen BA, et al., editors. Scalable algorithms for molecular dynamics simulations on commodity clusters. SC'06: Proceedings of the 2006 ACM/IEEE Conference on Supercomputing; 2006: IEEE.
29.Hoover WG. Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. Phys Rev. 1985;31(3):1695.
30.Davari K, Nowroozi J, Hosseini F, Sepahy AA, Mirzaie S. Structure-based virtual screening to identify the beta-lactamase CTX-M-9 inhibitors: An in silico effort to overcome antibiotic resistance in E. coli. Comput Biol Chem. 2017;67:174-81.
31.Ura S, Masuyama N, Graves JD, Gotoh Y. Caspase cleavage of MST1 promotes nuclear translocation and chromatin condensation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98(18):10148-53.
32.Watabe M, Kakeya H, Osada H. Requirement of protein kinase (Krs/MST) activation for MT-21-induced apoptosis. Oncogene. 1999;18(37):5211-20.
33.Glantschnig H, Rodan GA, Reszka AA. Mapping of MST1 kinase sites of phosphorylation activation and autophosphorylation. J Biol Chem. 2002;277(45):42987-96.
34.Manhas A, Dubey S, Jha PC. A profound computational study to prioritize the natural compound inhibitors against the P. falciparum orotidine-5-monophosphate decarboxylase enzyme. J Biomol Struct Dyn. 2020;38(9):2704-16.
35.Sehgal SA, Khattak NA, Mir A. Structural, phylogenetic and docking studies of D-amino acid oxidase activator (DAOA), a candidate schizophrenia gene. Theor Biol Med Model. 2013;10(1):3.
36.Wang Z, Sun H, Shen C, Hu X, Gao J, Li D, et al. Combined strategies in structure-based virtual screening. Phys Chem Chem Phys. 2020;22(6):3149-59.
37.Lionta E, Spyrou G, K Vassilatis D, Cournia Z. Structure-based virtual screening for drug discovery: principles, applications and recent advances. Curr Top Med Chem. 2014;14(16):1923-38.
38.Kumar K, Anbarasu A, Ramaiah S. Molecular docking and molecular dynamics studies on β-lactamases and penicillin binding proteins. Mol Biosyst. 2014;10(4):891-900.
39.Farshadfar C, Mollica A, Rafii F, Noorbakhsh A, Nikzad M, Seyedi SH, et al. Novel potential inhibitor discovery against tyrosyl-tRNA synthetase from Staphylococcus aureus by virtual screening, molecular dynamics, MMPBSA and QMMM simulations. Mol Simul. 2020;46(7):507-20.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.52547/sjku.27.1.101]