

بررسی میزان تمایل آنتی بیوتیک والینومایسین برای اتصال به کاتیونهای مختلف با استفاده از روش محاسباتی مکانیک مولکولی

مجتبی صفیرزاده^۱ - حسن سبزیان^۲

چکیده

مقدمه و اهداف: بررسی فرآیندهای نفوذپذیری غشاء در سطح مولکولی یکی از مباحث مهم بیوفیزیک و بیوشیمی می باشد. والینومایسین یک یونفور آنتی بیوتیک حامل است و ابزار تجربی خوبی برای مطالعه پدیده های انتقال در غشاء می باشد. محیط بیرونی والینومایسین آب گریز است که آنرا در غشاء لیپیدی حل می کند و محیط درونی آن آب دوست است که محل اتصال کاتیون می باشد. این بررسی با هدف تعیین میزان تمایل آنتی بیوتیک والینومایسین برای اتصال به کاتیونهای مختلف با استفاده از روش محاسباتی مکانیک مولکولی انجام گرفت.

مواد و روش کار: در این تحقیق با استفاده از یک کامپیوتر دارای حافظه زیاد و سرعت بالا از نرم افزار هایپرکم، روش تئوری مکانیک مولکولی و میدان نیروی امبر استفاده گردید که با آن بهینه کردن هندسه والینومایسین و کمپلکس آن با یونهای سدیم، پتاسیم، منیزیم و کلسیم انجام شد و انرژی اتصال والینومایسین - یون و مقدار تمایل نسبی اتصال محاسبه گردید.

نتایج: نتایج این تحقیق نشان می دهد هنگامیکه والینومایسین به پتاسیم وصل می شود، حجم کاهش همی یابد و پیوند محکمتری بین والینومایسین و پتاسیم نسبت به سایر یونها تشکیل می شود. همچنین کمپلکس والینومایسین - پتاسیم دارای حداقل انرژی اتصال و بنابراین حداکثر پایداری می باشد. مقدار تمایل نسبی محاسبه شده نیز نشان می دهد که والینومایسین تمایل بسیار زیادی برای اتصال به پتاسیم نسبت به سایر یونها دارد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج حاصل از محاسبات مکانیک مولکولی با نتایج حاصل از روشهای تجربی مطابقت خوبی دارند و هر دو تایید می کنند که والینومایسین تمایل بسیار زیادی برای میزانی پتاسیم نسبت به سایر کاتیونها نشان می دهد.

واژه های کلیدی: والینومایسین، کاتیون، مکانیک مولکولی

۱- کارشناس ارشد بیوفیزیک - عضو هیئت علمی دانشکده علوم پزشکی گناباد

۲- دکترای شیمی فیزیک - عضو هیئت علمی دانشگاه اصفهان

مقدمه:

آمینو اسیدها و قندها در داخل باکتریها که در اثر این پتانسیل غشاء راه اندازی می شوند، متوقف شده و باکتریها می میرند. [۱،۶]

این بررسی با هدف تعیین میزان تمایل آنتی بیوتیک والینومایسین برای اتصال به کاتیونهای مختلف با استفاده از روش محاسباتی مکانیک مولکولی انجام گرفت.

مواد و روش پژوهش:

در این تحقیق با استفاده از یک کامپیوتر دارای حافظه زیاد و سرعت بالا از نرم افزار هایپرکم^۵، روش تئوری مکانیک مولکولی و میدان نیروی امبر^۶ استفاده گردید که با آن بهینه کردن هندسه والینومایسین و کمپلکس آن با یونهای سدیم، پتاسیم، منیزیم و کلسیم انجام شد. بهینه کردن هندسه مکانیک مولکولی با در نظر گرفتن هندسه فرضی اولیه شروع می شود و با مینیمم کردن انرژی پتانسیل، هندسه حالت تعادل پیشگویی می گردد.

در روش مکانیک مولکولی با استفاده از پارامترهای ثابت نیروی کشش پیوند، خمش زاویه پیوند، خمش خارج از صفحه، چرخش درونی حول پیوندها، برهم کنشهای بین انواع حرکت و اجازه برهم کنش و اندروالسی و یا الکترواستاتیک بین اتمهای غیر پیوندی، یک عبارت برای انرژی پتانسیل مولکول بدست می آید که تابع موقعیت اتمها است. با مینیمم کردن این عبارت برای آرایش های مختلف مولکولی، هندسه حالت تعادل و انرژی نسبی آن پیشگویی می شود. فرمولهای تحلیلی و مقادیر پارامترهای آن برای عبارتهای این انرژی پتانسیل را میدان نیرو می گویند. [۵]

نتایج:

نتایج حاصل از محاسبات مکانیک مولکولی در جدولهای ذیل نشان داده شده است.

بررسی فرآیندهای نفوذپذیری غشاء در سطح مولکولی یکی از مباحث مهم بیوفیزیک و بیوشیمی می باشد. یونفورها^۱ ابزار تجربی خوبی برای مطالعه پدیده های انتقال در غشاء هستند. این مولکولها داروهای مهمی نیز به شمار می روند که نفوذپذیری غشاء سلولها را نسبت به مواد موجود در محیط اطراف آنها تغییر می دهند. به طور کلی یونفورها یا کانال^۲ هستند و یک منفذ آبی تشکیل می دهند که یونها از آن عبور می کنند و یا اینکه حامل^۳ هستند و به یک یون در یک طرف غشاء وصل می شوند و با حرکت به جلو و عقب آنها به طرف دیگر می برند. والینومایسین یک یونفور آنتی بیوتیک حامل است که از استرپتومیسین فولویسیموس^۴ ترشح می شود و یک تریمر حلقوی از توالی L-والین، D-آلفا هیدروکسی ایزووالرات، D-والین و L-لاکتات می باشد. زنجیرهای کناری متیل و ایزوپروپیل محیط بیرونی والینومایسین را تشکیل می دهند که آب گریز است و آنها در غشاء لیپیدی حل می کند و اتمهای اکسیژن گروههای کربنیل، درون آنها تشکیل می دهند که آب دوست است و محل اتصال کاتیون می باشد. [۷،۴،۹،۸]

تحقیقات فراوانی درباره والینومایسین به وسیله کریستالوگرافی با اشعه ایکس، اسپکتروسکوپی جرمی، رزونانس مغناطیسی هسته و سایر روشهای تجربی انجام شده است که نشان می دهند تمایل والینومایسین برای تشکیل کمپلکس با پتاسیم به مراتب بیشتر از سایر یونها است. بنابراین می توان والینومایسین را به غشاء بیولوژیکی افزود و نفوذپذیری غشاء را نسبت به پتاسیم بدون اثر بر نفوذپذیری سایر یونهای موجود در محیط افزایش داد. لازم به ذکر است سدیم ۰/۰۳ درصد، پتاسیم ۰/۰۶ درصد، منیزیم ۰/۰۱ درصد و کلسیم ۰/۳۱ درصد وزن بدن انسان را تشکیل می دهند. [۲،۳،۱۰]

باکتریهای در حال متابولیسم در شرایط عادی پتانسیل غشاء زیادی تولید می کنند. افزودن والینومایسین این پتانسیل زیاد را کاهش می دهد و در نتیجه فرآیندهای سنتز ATP و انباشته شدن

1 - ionophore

2 - channel

3 - carrier

4 - Streptomyces fulvissimus

5 - Hyperchem

6 - AMBER force field

جدول شماره ۱- نتایج محاسبات حجم والینومایسین و کمپلکس آن با کاتیونهای مختلف

مولکول	حجم (آنگستروم مکعب)	اختلاف حجم با والینومایسین
والینومایسین	۲۷۴۶/۵۱	۰
والینومایسین - سدیم	۲۷۵۱/۰۱	۴/۵۷
والینومایسین - پتاسیم	۲۶۲۸/۹۷	-۱۱۷/۵۴
والینومایسین - منیزیم	۲۷۵۲/۵۷	۶/۰۶
والینومایسین - کلسیم	۲۷۷۴/۸۳	۲۸/۳۲

مطابق جدول فوق مشاهده می شود هنگامیکه والینومایسین به پتاسیم وصل می شود ، حجم کاهش می یابد و اتمهای اکسیژن به پتاسیم نزدیکتر شده و پیوند محکمتری بین والینومایسین و پتاسیم نسبت به سایر یونها تشکیل می شود . والینومایسین آزاد ساختمانی نسبتاً باز دارد که با سه پیوند هیدروژنی درون مولکولی نگه داشته شده است ، ولی هنگام اتصال به کاتیون کانفورماسیون آن تغییر می کند . محاسبات نشان می دهد که تاخوردگی والینومایسین میزبان بستگی به انتخاب یون مهمان دارد .

جدول شماره ۲- نتایج محاسبات انرژی والینومایسین و کمپلکس آن با کاتیونهای مختلف

مولکول	انرژی (کیلوکالری بر مول)	اختلاف انرژی با والینومایسین
والینومایسین	۴۳/۰۰۳۶	۰
والینومایسین - سدیم	۳۸/۵۴۱۴	-۴/۴۶۲۲
والینومایسین - پتاسیم	۳۴/۰۶۱۴	-۸/۹۴۲۲
والینومایسین - منیزیم	۳۸/۴۷۶۱	-۴/۵۲۷۵
والینومایسین - کلسیم	۳۹/۸۳۳۲	-۳/۱۷۰۴

مطابق جدول فوق مشاهده می شود که کمپلکس والینومایسین - پتاسیم دارای حداقل انرژی و بنابراین حداکثر پایداری می باشد و بنابراین احتمال تشکیل آن بیشتر است .

جدول شماره ۳- اختلاف انرژی اتصال والینومایسین - یون نسبت به انرژی اتصال آن به پتاسیم و مقدار تمایل نسبی والینومایسین برای اتصال به یونهای مختلف

مولکول	اختلاف انرژی با والینومایسین	اختلاف انرژی با والینومایسین - پتاسیم	مقدار تمایل نسبی
والینومایسین - سدیم	-۴/۴۶۲۲	۴/۴۸۰۰	-۱۰۰۰۵۷۲
والینومایسین - پتاسیم	-۸/۹۴۲۲	۰	۱
والینومایسین - منیزیم	-۴/۵۲۷۵	۴/۴۱۴۷	۱۰۰۰۶۳۷
والینومایسین - کلسیم	-۳/۱۷۰۴	۵/۷۷۱۸	۱۰۰۰۰۶۶

Archive of SID

مقدار تمایل نسبی والینومایسین برای اتصال به یونهای مختلف با استفاده از فرمول $f = \exp(-\Delta\Delta E / RT)$ محاسبه می شود که در آن $T=300\text{ K}$, $R=1.987\text{ cal/mol}$ و $(\Delta\Delta E)$ تغییرات انرژی اتصال والینومایسین - یون نسبت به انرژی اتصال آن با پتاسیم می باشد. مطابق جدول فوق والینومایسین تمایل زیادی برای میزبانی پتاسیم نسبت به سایر یونها نشان می دهد.

جدول شماره ۲- مقدار تمایل والینومایسین برای اتصال به یون پتاسیم نسبت به یون سدیم با استفاده از محاسبات مکانیک مولکولی و تعدادی از روشهای آزمایشگاهی

یون	مکانیک مولکولی	نقوذپذیری غشاء [۳]	هدایت غشاء [۸]
سدیم	۰/۰۰۰۵۷۲	۰/۰۰۰۰۳۶	۰/۰۰۳۵۷۱
پتاسیم	۱	۱	۱

مطابق جدول فوق نتایج حاصل از محاسبات مکانیک مولکولی و نتایج حاصل از روشهای تجربی مطابقت خوبی دارند و هر دو تایید می کنند که والینومایسین تمایل بسیار زیادی برای اتصال به پتاسیم نسبت به سایر یونها دارد.

بنا بر این نتایج حاصل از روش محاسباتی مکانیک مولکولی با نتایج حاصل از روشهای تجربی مطابقت خوبی دارند و هر دو تایید می کنند که والینومایسین تمایل بسیار زیادی برای میزبانی پتاسیم نسبت به سایر یونها نشان می دهد. لذا می توان والینومایسین را به غشاء بیولوژیکی افزود و نقوذپذیری غشاء را نسبت به پتاسیم بدون اثر بر نقوذپذیری سایر یونها موجود در محیط افزایش داد.

تقدیر و تشکر:

بدینوسیله از کلیه عزیزانی که در تمام مراحل تحقیق مشوق و راهنمایان بودند کمال تشکر و قدر دانی را داریم.

بحث و نتیجه گیری:

والینومایسین یک یونوفور آنی بیوتیک حامل است که ابزار تجربی خوبی برای مطالعه پدیده های انتقال در غشاء می باشد. مطابق نتایج این تحقیق هنگامیکه والینومایسین به پتاسیم وصل می شود، حجم کاهش می یابد و پیوند محکمتری بین والینومایسین و پتاسیم نسبت به سایر یونها تشکیل می شود. همچنین کمپلکس والینومایسین - پتاسیم دارای حداقل انرژی اتصال و بنابراین حداکثر پایداری می باشد. مقدار تمایل نسبی محاسبه شده نیز نشان می دهد که والینومایسین تمایل بسیار زیادی برای اتصال به پتاسیم نسبت به سایر یونها دارد.

The survey of tendency of valinomycin for binding to different cations using molecular mechanics method

Abstract

Introduction & objectives: The survey of permeability processes in membrane on a molecular level is one of the central topics in biophysics and biochemistry. The antibiotic valinomycin is a carrier ionophore that is useful experimental tool in studying transport phenomena. It has a hydrophobic exterior that makes it soluble in the membrane, and a hydrophilic core to which a single K^+ ion binds. This research was done to survey the tendency of valinomycin for binding to different cations using molecular mechanics method.

Methodology: In this survey a suitable computer was used. Hyperchem program, molecular mechanics method and AMBER force field were used to determine geometry optimized structures, relative cation binding energies and selectivity ratios to explain preference of valinomycin for hosting Na^+ , K^+ , Mg^{++} or Ca^{++} .

Results: The results obtained of molecular mechanics calculations show that volume of the complexes are not identical. The folding of the host valinomycin is dependent on the choice of the guest cation. The theoretical binding energy obtained for the valinomycin- K^+ is lesser relative to

Archive of SID

other complexes . Therefore it is more stable . Selectivity ratio of valinomycin for K^+ is much more than other ions . Therefore valinomycin has an extremely high selectivity of K^+ .

Conclusion : These results were found to be in good agreement with earlier experimental studies . Relative ion-valinomycin binding energies extracted from the molecular mechanics data are able to qualitatively explain the experimentally observed preference of valinomycin for hosting K^+ over other ions .

Key words : valinomycin - cation - molecular mechanics

References:

- 1 - Forester T R . Valinomycin -alkali ions conformations . *J Phys . Chem* , 1994 ;98:94222.
- 2- Hahn F E , *Antibiotics* , New York . Springer Verlag , 1992; 72-85.
- 3 - Rawn J D . *Biochemistry* . North Carolina : Neil Patterson , 1989 ; 1037-8.
- 4- Eisenman G . The survey of the structure of valinomycin by molecular mechanics approaches , *J. Inclusion Phenom Mol Rec Chem* .1992; 12:23.
- 5- Pullman A , The mechanism where valinomycin for formation of a cation - valinomycin make bilayer membranes selectively permeable to cations . *Chem Rev* .1991; 793.
- 6 - Stryer L . *Biochemistry* , New York : W. H . Freeman and company , 2002 :272-4.
- 7 - Eisenman G . The cation selectivity of valinomycin for formation of a cation - valinomycin complex by means of bilayer permeability method , *J Chem Soc* , 1991 , 87 : 2099 .
- 8 - Mueller P . The cation selectivity of valinomycin for formation of a cation - valinomycin complex using lipid membrane conductance approach . *Biochem . Biophys Res Commun* 1967 ; 26 :398 .
- 9 - Livin M . *Quantum Chemistry* , New York : Freeman and company , 2000 .
- 10 - Wythenbach T . the study of valinomycin - cations complexes by means mass spectrometry , *J Am Chem Soc* , 1996 ;120:8355 .
- 11 - Wythenbach T . the study of valinomycin - cations complexes by means mass spectrometry , *J Am Chem Soc* , 1998 ;118:5098 .