الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمة لخضر – الوادي

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

رقم التركيب :

رقم التسلسل :

مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص : كيمياء عضوية

من إعداد الطالبات: ترشة أسماء – صخر خديجة

تحت عنوان:

Etude in silico de l'inhibition de l'enzyme Acétylcholinestérase

نوقشت يوم 13/06/2024: أمام اللجنة المكونة من:

اسم ولقب الأستاذ	رتبة الأستاذ	جامعة الأستاذ	جامعة الوادي
كراسع عائشة	أستاذ محاضر (أ)	جامعة الشهيد حمه لخضر – بالوادي	رئيسا
سويعي بلقاسم	أستاذ محاضر (أ)	جامعة الشهيد حمه لخضر – بالوادي	مناقشا
بوشقرة سماح	أستاذ محاضر (ب)	جامعة الشهيد حمه لخضر – بالوادي	مؤطرا

السنة الجامعية : 2024/2023

بسم الله الرحمن الرحيم

الإهداء

إلى أعز الناس إلى والدتي العزيزة ووالدي العزيز اللذان كانا عونا وسندا لي ، وكان لدعائهما المبارك الأثر الطيب علي

إلى أخوتي وأخواتي وصديقاتي وزملائي وأهل الفضل علي

إلى أستاذتنا الدكتورة سماح بوشقرة

إلى كل من شجعنا ولو بكلمة طيبة أهديهم هدا العمل المتواضع ، سائلا الله العلي العظيم أن ينفعنا به ويمدنا بتوفيقه .

أسماء ترشة

الإهداء

إلى أعز الناس إلى والدتي العزيزة ووالدي العزيز اللذان كانا عونا وسندا لي ، وكان لدعائهما المبارك الأثر الطيب

إلى أخوتي وأخواتي الى أصدقائي وأهل الفضل علي

إلى أستاذتنا الفاضلة الدكتورة سماح بوشقرة

إلى كل من شجعنا ولو بكلمة طيبة أهديهم هذا العمل المتواضع ، سائلا الله العلي العظيم أن ينفعنا به ويمدنا بتوفيقه .

خديجة صخر

شكر وعرفان

قد يقف المرء عاجزا على رد الجميل لذوي الفضل،

وقد لا تطاوعه أساليب التعبير ليعبر عن معاني الشكر والتقدير، والشكر لله أولا وأخيرا.

ومن باب قول رسول الله صلى الله عليه وسلم "من لا يشكر الناس لا يشكر الله"

نحمد الله عزّ وجل الذي وفقنا في إنجاز هذا العمل المتواضع ونتقدّم بالشكر الجزيل

لأستاذتنا المشرفة الدكتورة سماح بوشقرة على توجيهها القيم لنا والتي خصصت لنا وقتها فكانت خير

سند لنا في مسيرتنا خلال انجاز هذا العمل.

كما نتقدم بالشكر الجزيل للدكتورة كراسع عائشة ،على تكريمها لنا برئاسة اللجنة المناقشة لهذه

المذكرة .كما نعبر امتناننا للدكتور سويعي بلقاسم لموافقته على مناقشة هذا العمل ويشرفنا أن

يكون من ضمن أعضاء لجنة التحكيم.

كما لا يفوتنا توجيه أسمى عبارات الامتنان إلى كل أساتذة الكلية وطاقمها، وكل من ساعدنا

ولو بكلمة طيبة وأمد لنا يد العون حتى أنجزنا هذا العمل.

RESUME

من خلال هذه الدراسة, تطرقنا إلى إنزيم AChE, مستهدف علاجي لمرض الزهايمر، من خلال تثبيط وظيفته الإنزيمية والمتمثلة في تكسير الناقل العصبي الأسيتيل كولين في الجسم.

باستخدام طرق النمذجة الجزيئية، وتحديدًا تقنية الالتحام الجزيئي (Molecular docking), قمنا بدراسة أنماط التفاعل الموجودة ما بين إنزيم AChE و ثمانية مثبطات فلافونيدية "flavonoids" مكتشفة مؤخرا ,ومقارنتها بمثبط Galantamine , المستعمل في علاج المراحل الخفيفة والمتوسطة من مرض الزهايمر بداية من الخمسينات الى يومنا هذا.

استخدم في هذا العمل برنامج Molegro Virtual Docker و برنامج Autodockالذي تم تقييم مدى كفاءتهما من خلال حساب انحراف الجذر التربيعي (RMSD) للمعقد المدروس1DX6, حيث وجدنا أن قيم RMSD اقل من A°2, مما يدل على مصداقية هذا البرنامج.

حسب نتائج الالتحام , تبين ارتباط المثبطات المدروسة داخل الفجوة الرئيسية لإنزيم AChE مع اختلاف في التموضع نظر لخصوصية شكل الفجوة ,و استقرار هذه المثبطات داخل الموقع الفعال ناتج عن تشكل روابط هيدروجينية ,العديد من التفاعلات الكارهة للماء, وتفاعلات فاندر فالس, مع الأحماض الامينية الرئيسية.

اعتمادا على نظرية الكثافة الوظيفية DFT بقاعدة B3LYP/6-311G/++/d/p تم تحديد المعايير الكمومية الخاصة بهذه المثبطات بهدف دراسة الترابط بين الفعالية التثبيطية للمركبات المدروسة و البنى الجزيئية

وأخيرا تم التنبؤ بالحركية الدوائية (ADME) للمثبطات المدروسة من خلال دراسة خاصية التشبه بالأدوية "druglikeness" و كذلك التنبؤ باحتمالية الامتصاص المعوي (HIA) و النفاذية عبر الحاجز الدموي الدماغي (BBB).

الكلمات المفتاحية: الالتحام الجزيئي, مثبطات ,AChE, MDV ,Autodock ,DFT.

RESUME

Through this study, we addressed the enzyme AChE, a therapeutic target for Alzheimer's disease, by inhibiting its enzymatic function of breaking down the neurotransmitter acetylcholine in the body.

Using molecular modeling methods, specifically molecular docking, we studied the interaction patterns between the AChE enzyme and eight recently discovered flavonoid inhibitors, and compared them to the inhibitor Galantamine, which was used to treat mild and moderate stages of Alzheimer's disease since01950s to present day.

In this work, Molegro Virtual Docker and Autodock were used, the efficiency of which was evaluated by calculating the root mean square deviation (RMSD) of the studied complex DX61, where we found that the RMSD values are less than 2A°, which indicates the reliability of this program.

According to the docking results, it was shown that the studied inhibitors bind within the main cavity of the AChE enzyme with a difference in position due to the specificity of the cavity shape, and the stability of these inhibitors inside the active site results from the formation of hydrogen bonds, many hydrophobic interactions, and van der Waals interactions, with the main amino acids.

Based on density functional theory (DFT) with the rule B3LYP/6-311G/++/d/p, the quantitative standards for these inhibitors were determined with the aim of studying the correlation between the inhibitory effectiveness of the studied compounds and their molecular structures.

Finally, the pharmacokinetics (ADME) of the studied inhibitors was predicted by studying the “druglikeness” property, as well as predicting the potential for intestinal absorption (HIA) and permeability across the blood-brain barrier (BBB).

Keywords: molecular docking, DFT inhibitors, Autodock, MDV, AChE

RESUME

Au cours cette étude, nous avons abordé l'enzyme AChE, une cible thérapeutique de la maladie d'Alzheimer, en inhibant sa fonction enzymatique de dégradation du neurotransmetteur acétylcholine dans l'organisme.

À l'aide de méthodes de modélisation moléculaire, en particulier d'amarrage moléculaire, nous avons étudié les modèles d'interaction entre l'enzyme AChE et huit inhibiteurs de flavonoïdes récemment découverts, et les avons comparés à l'inhibiteur Galantamine, utilisé pour traiter les stades légers et modérés de la maladie d'Alzheimer depuis les années 1950 jusqu'à aujourd'hui.

Dans ce travail, nous avons utilisé les logiciels Molegro Virtual Docker et Autodock, dont l'efficacité a été évaluée en calculant l'écart quadratique moyen (RMSD) du complexe étudié 1DX6, où nous avons constaté que les valeurs RMSD sont inférieures à 2A°, ce qui indique la fiabilité de ces programmes.

D'après les résultats du docking, il a été montré que les inhibiteurs étudiés se lient au sein de la cavité principale de l'enzyme AChE avec une différence de position due à la spécificité de leur forme. La stabilité de ces inhibiteurs à l'intérieur du site actif résulte de la formation d'hydrogène liaisons, de nombreuses interactions hydrophobes,et des interactions de Van der Waals avec les principaux acides aminés.

Basés sur la théorie fonctionnelle de la densité (DFT) avec la base B3LYP/6-311G/++/d/p, les standards quantitatifs de ces inhibiteurs ont été déterminés dans le but d'étudier la corrélation entre l'efficacité inhibitrice des composés étudiés et leurs structure moléculaire.Enfin, la pharmacocinétique (ADME) des inhibiteurs étudiés a été prédite en étudiant la propriété de “druglikeness”, ainsi qu'en prédisant le potentiel d'absorption intestinale (HIA) et de perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique (BBB).

Mots clés: docking moléculaire, inhibiteurs de DFT, Autodock, MDV, AChE.

AchE : الاستيل كولين استراز

Ach: الاستيل كولين

β -sheet: شرائط ورقية بيتا قياسية

α-helix : شرائط حلزونية الفا

Glu: غلوتاميك

His: هستدين

Ser : سيرين

Tyr :تيروزين

Phe:فينيل الانين

PAS: الموقع الانيوني المحيطي(PeripheralAnionic Site)

BChE. : بوتيريل كولين استراز

Asp : أسبارنيك

Ops : مركبات الفوسفات العضوية

DFP:ثنائي إيزوبروبيل فلورو فوسفات

CNS: الجهاز العصبي المركزي

AGS : مضيق الموقع النشط

AD:مرض الزهايمر

3D :ثلاثي الابعاذ

RX:الاشعة السينية(X ray)

RMN:الرنين المغناطيسي النووي(résonance magnétique nucléaire)

MVD :برنامج الالتحام MolegroVirtualDocker

HBD:المجموعات المانحة للبروتونات

HBA:المجموعات المستقبلة للبروتونات

DFT:نظرية الدالة الوظيفية للكثافة

HOMO:أعلى مدار جزيئي مشغول

LUMO :أدنى مدار جزيئي غير مشغول

الفصل الاول:انزيم الأستيل كولينسراز(AChE)

الرقم	العنوان	الصفحة
1	التحلل المائي للأسيتيل كولين	5
2	ألية عمل AChEاثناء النقل العصبي	6
3	الهيكل ثلاثي الأبعاد لديمير لإنزيم الأسيتيل كولينيستراز(AChE)	7
4	تفاصيل الموقع النشط لإنزيم (AChE)	7
5	ألية التحلل المائي للأسيتيل كولين (ACh) المحفز بواسطة إنزيم(AChE)	8
6	تمثيل تخطيطي للموقع النشط والموقع المحيطي لإنزيم (AChE) مع تبيان الأحماض الأمينية	10
7	التغيرات الحاصلة في الدماغ في حالة : دماغ سليم ، دماغ متأثر بمرض الزهايمر ، دماغ مريض زهايمر يعالج بمثبطات (AChE)	11
8	تفاعل أسيتيل كولينيستراز مع الفوسفات العضوي	13
9	البنية الكيميائية ل : جلانثامين "Glanthamine"	14
10	البنية الكيميائية ل : تاكرين "Tacrine"	14
11	البنية الكيميائية ل : ريفاستيجمين "Rivastigmine"	15
12	البنية الكيميائية ل : دونيبيزيل "Donepezil"	15
13	البنية الكيميائية ل : مركب هيبرزين "Heperzine"	16
14	وحدات الإيزوبرين	16
15	بعض التربينات التي أظهرت فعالية تثبيطية لإنزيم (AChE)	17
16	البنية الكيميائية ل : "ursolic" و "argentatinA"	17
17	وظيفة وتثبيط إنزيم الأسيتيل كولينيستراز بواسطة الأدوية والفلافونويدات	19

الفصل الثاني : تقنيات النمذجة الجزيئية المستخدمة في الدراسة

الرقم	العنوان	الصفحة
1	تمثيل تخطيطي لالتحام الجزيئي	28
2	خطوات الالتحام الجزيئي	30
3	تشكل الرابطة الهيدروجينية	32
4	تشكل الرابطة الايونية	33
5	تفاعلات التراصstacking	33
6	تفاعلات فانديرفالز	34
7	الانتقالات الالكترونية بين المدارات الجزيئية	36
8	الحركية الدوائية ADME	39
9	أليات امتصاص الادوية	41

الفصل 3: دراسة نظرية"in silico" لمثبطات انزيم الاستيل كولينستراز.

الرقم	العنوان	رقم الصفحة
1	واجهة برنامج Autodock	52
2	واجهة برنامج Molgro Virtuel Docker	52
3	فجوات انزيم AChE	55
4	الفجوة الرئيسية للانزيم	55
5	شكل الفجوة الرئيسية وتموضع الأحماض الأمنية المكونةللثالوث التحفيزي	55
6	موقع "box" المختار بالنسبة لانزيمAChE	55
7	اعدادات الخوارزمية الجينية المستعملة في برنامج Autodock	57
8	البنية الكيميائية لربيطة galantamine	58
9	نسبة التطابق بين النموذج المصمم بالرنامج (الأزرق)ونموذج البنية البلورية (الوردي) لربيطة	59
10	البنية الكيميائية (2D)للمركبات المعنية بالالتحام الجزيئي	60
11	تموضع 3D وانماط التفاعل لمركبKaempferol	63
12	تموضع 3Dوانماط التفاعل لمركبEriodictyol	64
13	تموضع 3Dوانماط التفاعل لمركب Naringenin	64
14	تموضع 3Dوانماط التفاعل لمركبGalangin	65

تابع للفصل الثالث

15	تموضع 3Dوانماط التفاعل لمركب Chrysin	66
16	تموضع 3Dوانماط التفاعل لمركب3-Methoxy-quercetin	66
17	تموضع 3Dوانماط التفاعل لمركب Lutiolin	67
18	تموضع3D وانماط التفاعل لمركب Baicalein	68
19	تموضع وانماط التفاعل لمركب Galantamine3D	69
20	تموضع 3Dلمركب Galantamine(A)ومركب Baicalein(B)	70
21	رسم تمثيلي يوضح E(gap) لمركبي Galatantamine(A) وBaicalein(B)	70
22	مخططBIOLLED-EGGللمركبات المدروسة	76

الفصل 3: دراسة نظرية"in silico" لمثبطات انزيم الاستيل كولينسترلز.

الرقم	العنوان	الصفحة
1	عدد وحجم فجوات المستقبل.	54
2	احداثيات وابعاد "box"	56
3	قيمRMSDالمحسوبة لربيطة Galantamine ببرنامج autodock و MDV	59
4	طاقات وأنماط الربط المدروسة بكلا البرنامجين Autodockو MDV	61
5	قيم المعايير الكمومية للمثبطات المدروسة	71
6	رادار التوافر البيولوجي وعدد المخالفات لقواعد التشبه بالأدوية للمركبات المدروسة	72
7	يمثل خصائص مركبات "flavonoids"والمركب galantamine	75
8	تقييم الحركية الدوائية للمركبات الفلافونيدية المدروسة ومركب Galantamine	77

العنوان	الصفحة
الاهداء	III
الشكر والعرفان	V
الملخص	VI
قائمة الاختصارات	IX
فهرس الأشكال	X
فهرس الجداول	XIII
الفهرس	XIV
المقدمة العامة	1
مراجع المقدمة العامة	3

الفصل لأول:انزيم الأستيل كولين استراز(AChE)

1-المقدمة	5
2-انزيم الأستيل كولين استراز	5
3-بنية انزيم الأستيل كولين استراز(AChE)	6
3-1-الموقع النشط	7
3-2-الحلق العطري	8
3-3-الموقع المحيطي(pripheral site)	9
4-علاقة انزيم الأستيل كولين بمرض الزهايمر	10
5-مثبطات الأستيل كولين استراز	12
5-1مثبطات غير عكوسة	12
5-2-مثبطات عكوسة	13
5-2-1-جلانثامين (Galantamine)	13
5-2-2--تاكرين(Tacrine)	14
5-2-3-ريفاستيجمين(rivastigmine)	14
5-2-4-دونيبيزيل(Donepezil)	15

5-2-5-هيبزين(Heperzine)	15
5-2-6-التربينات الأحادية	16
5-2-7-الفلافونيدات	17
6-الخلاصة	19
المراجع	20

الفصل الثاني:تقنيات النمذجة الجزيئية المستخدمة في الدراسة

1-المقدمة	27
2-تقنية الالتحام الجزيئي	27
2-1-مبادئ الالتحام الجزيئي	28
2-1-1-المبدأ التوافقي	28
2-1-2-المبدأ العشوائي	29
2-1-3-المبدأ الحتمي	29
2-2-خطوات الالتحام الجزيئي	29
2-2-1-تحديد الهياكل ثلاثية الابعاد 3D	29
2-2-2-اعداد المستقبل والربيطة	30
2-2-3-اجراء الالتحام	30
2-2-4-التنبؤ والتقييم	30
2-3-البرامج المستجدمة في الالتحام الجزيئي	31
2-4-أشكال انماط التفاعل بين البروتين والربيطة	31
2-4-1-الروابط الهيدروجينية(hydrogéne bonds)	31
2-4-2-الرابطة الايونية(ionic bond)	32
2-4-3-التفاعلات الكارهة للماء(hydrophobic interaction)	33
2-4-4-تفاعلات فانديرفالز(van der waals intecartion)	34
3-نظرية الدالة الوظيفية للكثافة Density Functional Theory(DFT)	35
3-1-تعريف نظرية (DFT)	35
3-2-أهم المقادير الحسابية باستخدام دالة الكثافة (DFT)	35
3-2-1-الطاقات المدارية(orbital Energies)	36
3-2-2-الفرق الطاقوي (the energy gap)	37

3-2-3-الكمون الكيمائي(chemica potential)	37
3-2-4-طاقة التأين(I) ionization energy	37
3-2-5-الالفة الالكترونية (A)the electron affinitty	37
3-2-6-الكهرو سالبية (χ) electonegativity	38
3-2-7-الصلابة والليونة (σ) hardness (η) and softness	38
3-2-8-مؤشر الالكتروفيلية (ω) the electrophilicity index	38
4-دراسة حركية الدواء في الجسم (ADME)	38
4-1-الامتصاص(absorption)	39
4-1-1الانتشار المنفعل البسيط(diffusion passive)	40
4-1-2-النقل الفعال (active transport)	40
4-1-3-الانتشار الميسر (facilitated diffussion)	41
4-1-4-النقل الخلوي(endocytosis)	41
4-2-التوزيع(distribution)	42
4-3-الاستقلاب(metabolism)	42
4-4-الاطراح (excretion)	42
4-4-1-التخلص من الدواء في البول	43
4-4-2-التخلص من الدواء في الصفراء	43
5-الخلاصة	44
المراجع	45

الفصل الثالث: دراسة نظرية "in silico"لبعض مثبطات انزيم الاستيل كولين استراز

1-البرامج المستخدمة في الدراسة	50
1-1-برنامج Gaussian09W	50
1-2-برنامج Gauss View05	50
1-3-برنامج Hyper Chem	50
1-4-برنامج Chem Draw	51
1-5-برنامج Descovery Studio	51
1-6برنامج AutoDock	51
1-7-برنامج Molrgro virtuel docker	52

2-البنية الثلاثية لبروتين AChE	53
3-بنية الربيطة	53
4-تحضير كل من المستقبل والربيطة	53
5-تعيين موقع الربط "binding site"	54
6-بروتوكول الالتحام الجزيئي	56
7-اجراء عملية Redocking	58
8-دراسة أنماط التفاعل بين انزيم ache و المثبطات المدروسة	59
9-دراسة نظرية باستخدام DFT للمثبطات المدروسة	69
10-دراسة الحركية الدوائية ADME	71
10-1-عدد المخالفات لقواعد التشبه بالأدوية	71
10-2-النفاذية عبر الحاجز الدموي (BBB)	75
10-3-البروتين السكري -P	76
10-4-انزيمات السيتوكروم P450	76
المراجع	78
الخاتمة العامة	80
الملحق	82

المقدمة العامة

يمر الانسان بمراحل مختلفة في حياته ولكل منها خصائصها النفسية، الجسمية، الصحية والاجتماعية، ومن بين هذه المراحل مرحلة الشيخوخة و التي تمتاز بالتدهور الصحي الناتج عن التقدم في السن.[1]من بين الأمراض التي قد تصيب الشخص المسن أمراض انحلالية ذات أصل عصبي تصيب الجهاز العصبي المركزي كمرض الزهايمر, داء الزهايمر هو اضطراب في الدماغ يتفاقم بمرور الوقت, ويتسم بحدوث تغيرات في الدماغ تؤدي إلى ترسبات لبعض البروتينات. يسبب داء الزهايمر تقلصًا في الدماغ وموت خلاياه في النهاية. وهذا هو السبب الأكثر شيوعًا للإصابة بالخَرَف؛ وهو تدهور تدريجي في الذاكرة والقدرة على التفكير والمهارات السلوكية والاجتماعية. ويمكن أن تؤثر هذه التغيرات في قدرة الشخص على أداء وظائفه.[2]حيث تشير الإحصائيات إلى أن 18 ــ 20مليون شخص في العالم يعانون من هذا المرض[1]

قد تكون أدوية الزهايمر إحدى الاستراتيجيات التي تساعد على إبطاء فقدان الذاكرة والمشكلات المتعلقة بمهارات التفكير والاستدلال والمهام اليومية، أو السيطرة عليها. وفي حين أن أدوية الزهايمر لا تعالج المرض تمامًا، إلا أنها تُحسّن جودة الحياة وتساعد في اعتماد المريض على نفسه لفترة أطول[3].

تعد مثبطات الأسيتيل الكولينستراز(AChE) احدى الاستراتيجيات المعتمدة . في علاج مرض الزهايمر, حيث تعتمد هذه المركبات على منع تفكك مركب الاستيل كولين (Acetylcholine)، الذي يعمل كناقل عصبي مهم في عملية التعلم والتذكر، الأمر الذي يدعم ويحسن عملية التواصل بين الخلايا العصبية عن طريق زيادة تركيز هذا المركب، وبالتالي تأخير أو إبطاء تطور أعراض المرض.

توالت البحوث في هذا المجال فتم اكتشاف العديد من مثبطات إنزيم AChE, منها ما هو مصرح به كدواء و أخرى مازالت في طور التجارب السريرية. من بين اشهر هذه الأدوية نذكر Galantamine ، أول مثبط معزول من مصدر نباتي [4]، [5]. في الوقت الحاضر، أكثر مثبطات AChE الاصطناعية المستخدمة هي Physostigmine , Tacrine, Donepezil [6]-[8]. ومع ذلك، ترتبط هذه المثبطات بعدد من الآثار الضارة مثل السمية الكبدية والشكاوى المعدية المعوية [9]. مثل جميع مكونات الجسم تقريبًا، يعتبر AChE سيفًا ذو حدين ,هو السبب الجذري لمجموعة من الأمراض، ولكنه في نفس الوقت حيوي لوظيفة الجهاز العصبي. لذلك، فإن تطوير مركبات يمكنها تثبيط AChE تمامًا، والتي لن تعيق المسارات الأيضية الأخرى، صعب للغاية.

في السنوات الاخيرة توالت الابحاث التي تدرس فعالية المركبات الفلافونيدية الآمنة والفعالة والاقتصادية[10], وفي هذا السياق اعتمدت دراستنا على بعض التقنيات النظرية (*in silico*) لتسليط الضوء على ميكانيزمات و أنماط ارتباط بعض المثبطات الفلافونيدية و كذلك مركب Galantamine مع انزيم AChE, وسبب اخيارنا لهذا الانزيم هو شكل فجوته الرئيسية المميز بموقعه النشط المدفون بعمق , والتي تعد مصدر الهام للكثير من البحوث.

في هذا الإطار، يتم عرض هذه المذكرة على النحو التالي:

دراسة ببليوغرافية مقدمة على شكل فصلين، الفصل الأول يمثل نظرة عامة حول إنزيم AChE وعلاقته بمرض الزهايمر، أما في الفصل الثاني التعريف بالتقنيات النظرية المستخدمة في الدراسة.

في الفصل الثالث تم تطبيق الطرق النظرية التالية: الالتحام الجزيئي (docking), نظرية الكثافة الوظيفية DFT ,والتنبؤ بالحركية الدوائية (ADME) على مجموعة من مثبطات انزيم AChE.

وأخيرا خاتمة عامة فيها حوصلة العمل المنجز و النتائج المتحصل عليها.

مراجع المقدمة العامة

1. V. Muñoz: Protein folding, misfolding and aggregation: classical themes and novel approaches. Edition Royal Society of Chemistry. 2008. P89

2. T.E. Creighton: Proteins structures and molecular properties. Edition W.H. Freeman: 2eme Edition,P45.1993.

3. H .Lodish., A Berk., P .Matsudaira., C.A .Kaiser, M.Krieger, M.P Scott, S.L.Zipursky,J.Darnell :Biologie moléculaire de la cellule. de Boeck Université, chap. 1. 2005.

4. A. Nikiforuk, A. Potasiewicz, T. Kos, P. Popik, The combination of memantine and galantamine improves cognition in rats: the synergistic role of the α7 nicotinic acetylcholine and NMDA receptors, Behav. Brain Res. 313. 2016. 214–218.

5. O. Peters, M. Fuentes, L.K. Joachim, F. Jessen, C. Luckhaus, J. Kornhuber, J. Pantel, M. Hüll, K. Schmidtke, E. Rüther, H.-J. Möller, A. Kurz, J. Wiltfang, W. Maier, B. Wiese, L. Frölich, I. Heuser, Combined treatment with memantine and galantamine-CR compared with galantamine-CR only in antidementia drug naïve patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease, Alzheimer's Dement.: Transl. Res. Clin. Intervent. 1. 2015. 198–204.

6. Y. Lee, B. Lee, S. Jeong, J.-W. Park, I.-O. Han, C.-J. Lee, Increased cell proliferation and neural activity by physostigmine in the telencephalon of adult zebrafish, Neurosci. Lett. 629 2016. 189–195.

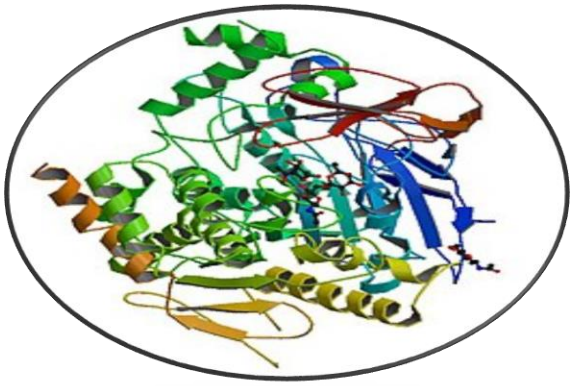
7. B. Sameem, M. Saeedi, M. Mahdavi, A. Shafiee, A review on tacrine-based scaffolds as multitarget drugs (MTDLs) for Alzheimer's disease, Eur. J. Med. Chem. 128 .2017. 332–345.

8. P. Atukeren, M. Cengiz, H. Yavuzer, R. Gelisgen, E. Altunoglu, S. Oner, F. Erdenen, D. Yuceakın, H. Derici, U. Cakatay, H. Uzun, The efficacy of donepezil administration on acetylcholinesterase activity and altered redox homeostasis in Alzheimer's disease, Biomed. Pharmacother. 90.2017.786–795.

9. A.D. Kaye, H. Liu, C. Fox, A. Baluch, P.B. Sutker, Psychiatric and behavioral disorders A2, Chapter 15, in: Lee A. Fleisher (Ed.), Anesthesia and Uncommon Diseases, sixth edition, W.B. Saunders, Philadelphia, 2012. 444–469

10. Haroon Khana, , Marya , Surriya Amin , Muhammad Ajmal Kamal , Seema Patelf. Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: Current therapeutic standing and future prospects, Biomedicine & Pharmacotherapy.101. 2018. 860-870.

الفصل الأول: إنزيم الأستيل كولين إستراز (AChE)



1- المقدمة

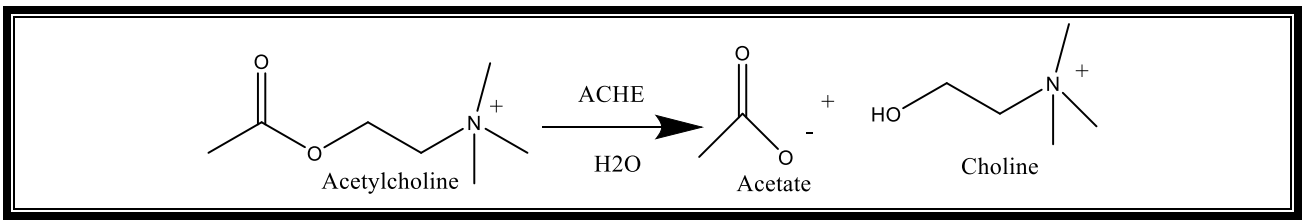
الإنزيمات هي جزيئات حيوية ذو طبيعة بروتينية تعمل كمحفّز في أجسام الكائنات الحيّة، من خلال تسريع التفاعلات الكيميائية و ذلك بتقليل طاقة التنشيط، وللإنزيمات دور كبير في العديد من الوظائف الحيوية المهمّةً المتعلقة بهضم الطعام، التنفس، العضلات، والأعصاب...الخ. تحوي الخلية الحية ما يقارب 1000 من الأنزيمات المختلفة تعمل بدرجة عالية من التخصص على جزيء معين أو مجموعة جزيئات تنتمي لعائلة واحدة اغلب الأنزيمات تعمل داخل الخلية المنتجة لها وتسمى Intracellular أو إنها تعمل خارج الخلايا وتسمى extracellular , مثل أنزيمات الهضم .

يحتوي الأنزيم على موقع فعال (Active site) ترتبط فيه المادة التي يعمل عليها و المسماة بالمادة الأساس (Substrate) . وفي عام 2005، تم عزل وتحديد أكثر من 3000 نشاط إنزيمي مختلف؛ وقد تم تحديد بنية حوالي 1300 منهم [1].

في ما يلي، سنتطرق الى انزيم الأستيل كولين استراز (AChE)، الذي يصنف ضمن الإنزيمات المهمة لأداء الجهاز العصبي ويرتبط بالعديد من مشاكل الصحة كمرض الزهايمر، الوهن العضلي ، و التسمم بالمبيدات الحشرية.

2- انزيم الأستيل كولين استراز(AChE)

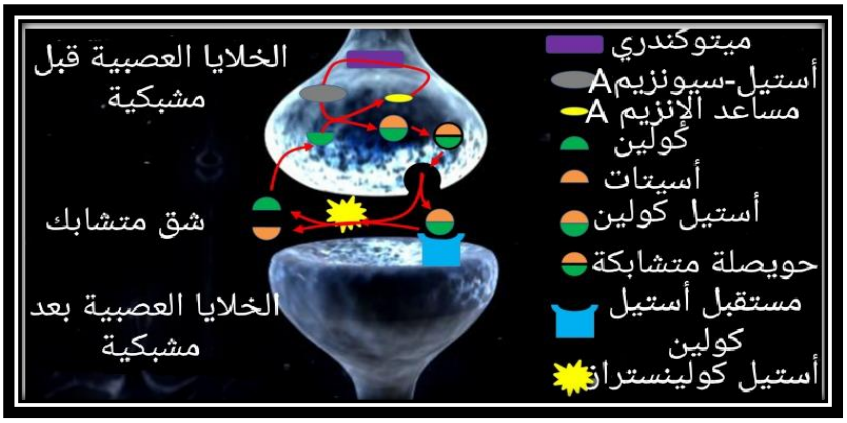
إن إنزيم الأسيتيل كولين استراز (AChE; EC 3.1.1.7)، الموجود في الجهاز العصبي المركزي والمحيطي، هو المسؤول عن نقل النبضات العصبية الكهربائية من خلال المشابك العصبية والعضلية [2]. الدور الفسيولوجي لهذا الإنزيم هو تحليل الناقل العصبي أستيل كولين (Ach) المنطلق من العصب قبل المشبكي. (**الشكل 1**)



الشكل1: التحلل المائي للأسيتيل كولين.

تحتوي نهاية الخلية العصبية قبل التشابكية على حويصلات ممتلئة بالنواقل العصبية. وفي هذه الحالة، الناقل العصبي هو الأسيتيل كولين. وعلى سطح الخلية العصبية بعد التشابكية، توجد هذه المستقبلات. عندما ينتقل جهد الفعالية إلى أسفل محور الخلية العصبية قبل التشابكية ويصل إلى النهاية المحورية، تلتحم الحويصلات

الممتلئة بالنواقل العصبية بالغشاء قبل التشابكي، مطلقة النواقل العصبية في الشق التشابكي. وعندئذ، تنتقل النواقل العصبية عبر الشق التشابكي وترتبط بالمستقبلات الموجودة على الغشاء بعد التشابكي(**الشكل 2**) [3,4], سيؤدي ذلك إلى تولد جهد الفعالية في الخلية العصبية بعد التشابكية. اذن فارتباط الأسيتيل كولين، يؤدي إلى تولد جهد فعالية في الخلية العصبية بعد التشابكية، لذا يجب إزالته من المستقبلات وإلا سيستمر في تحفيز تولد جهود الفعالية في الخلية العصبية بعد التشابكية. [5] ولذلك نجد إنزيمات في الغشاء بعد التشابكي يمكن أن تساعد في تكسير النواقل العصبية المتبقية في الشق التشابكي. وفي حالة التشابك العصبي الكوليني؛ حيث يستخدم الأسيتيل كولين ناقلًا عصبيًّا، يكون الأسيتيل كولينإستيريز هو الإنزيم المسئول عن تكسير الأسيتيل كولين.

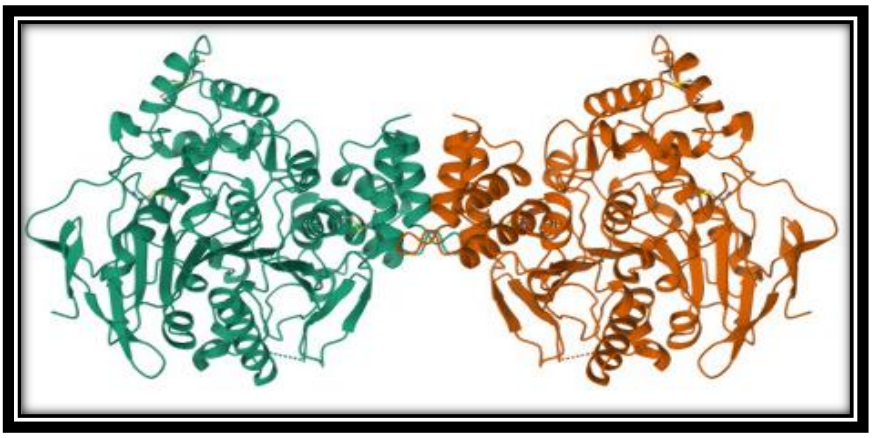


الشكل2: آلية عمل AChE أثناء النقل العصبي. [6]

3- بنية أنزيم الأستيل كولين استراز(AChE)

تم التعرف على انزيم AChE لأول مرة في عام 1867 من خلال سم الطوربيد (Torpedo californica). ويكشف علم البلورات بالأشعة السينية معلومات قيمة عن بنيته ثلاثية الأبعاد. في الواقع، يجب أن يكون هذا الإنزيم في شكل ثنائي (dimeric) ليعمل بمثابة بروتياز سيرين. تحتوي كل وحدة فرعية (monomer) على 11 شرائط ورقية بيتا قياسية (β-sheet) محاطة بـ 15 شرائط حلزونية ألفا (α-helix)، بالإضافة إلى جزء قصير من الورقة، عند النهاية الطرفية N، والذي لا يشارك في أي تفاعل مع بقية الهيكل. وبالمثل، لوحظ وجود 3 صفائح بيتا قياسية قصيرة غير متصلة بواسطة جسور هيدروجينية في قلب الإنزيم **(الشكل3)**.في الديمير، يتم ربط المونومرين ببعضهما البعض من خلال "حزمة حلزونية رباعية": تشارك حلزونتان من كل مونومر، بما في ذلك الحلزون الطرفي C، في إنشاء اتصال مستقر للغاية بين البقايا. تقوم السيستينات C-الطرفية (Cys537) لكل من المونومرين بإنشاء جسر ثنائي كبريتيد بين السلاسل بينهما مما يعمل على استقرار البنية الرباعية للإنزيم. نميز في مونومر AChE، مجالين مستقلين عن بعضهما البعض، ومرتبين

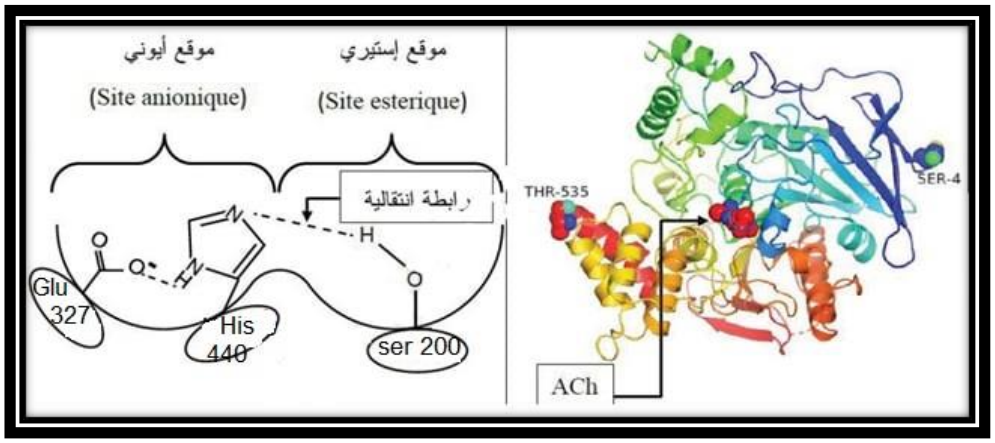
على جانبي الأخدود المؤدي إلى الموقع النشط. تتوافق هذه المجالات في الواقع مع نصفي سلسلة البولي ببتيد: المجال الذي يتكون من البقايا من 1 إلى 305 يجاور الآخر، ويتكون من البقايا من 306 إلى 537 .[7].



الشكل3: الهيكل ثلاثي الأبعاد لديمير أنزيم الأستيل كولين استراز(AChE) [8]

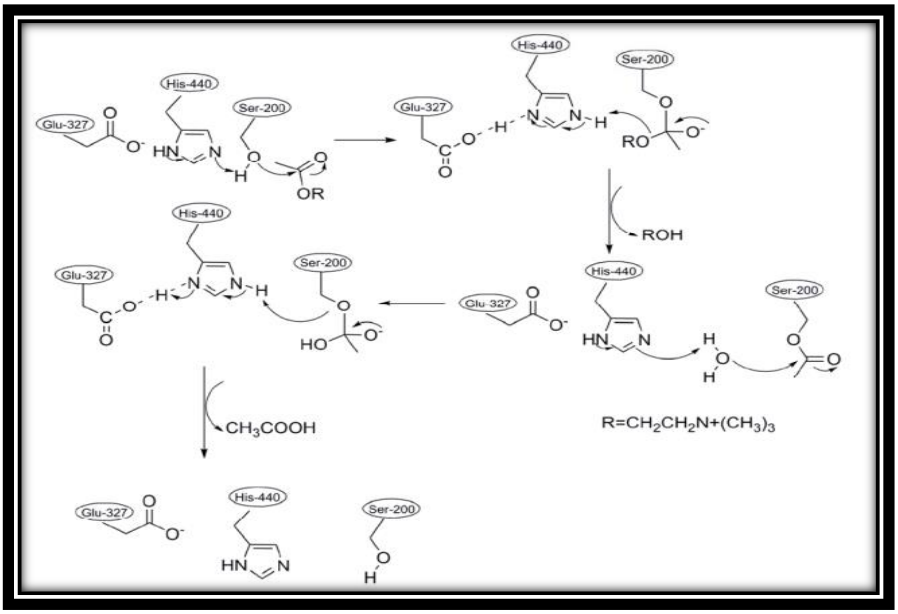
3-1-الموقع النشط

يكشف الفحص الأكثر تفصيلاً للبنية ثلاثية الأبعاد لـ AChE عن وجود منطقتين أساسيتين للتحفيز الأنزيمي: الموقع المحيطي، عند مدخل الحلق، والموقع النشط، في الأسفل، حيث الآلة الحفزية. وبالتالي، سيكون الموقع النشط والموقع المحيطي هدفين محتملين لتثبيط AChE بواسطة المركبات العلاجية ينقسم الموقع النشط **(الشكل 4)**، الذي توجد بداخله الألية التحفزية، إلى موقع فرعي للإستيراز وموقع فرعي "أنيوني". الموقع الأيوني : يتكون اساسا من الحمضين الامينيين الغلوتاميك 327 (Glu327) و الهستدين (His440) يرتبطا برابطة شاردية. اما الموقع الاستيري يحتوي اساسا على الحمض الاميني سيرين200 (Ser 200) الذي يرتبط مع الهستيدين440 (His440) برابطة انتقالية.



شكل 4: تفاصيل الموقع النشط لانزيم AChE.

يحتوي انزيم AChE كغيره من إنزيمات عائلة بروتياز السيرين على الثالوث التحفيزي، و المكون من الأحماض الأمينية التالية : Glu327, His440, Ser200 و تم تحديد هذه الاحماض عن طريق تقنية مخبرية تدعى التطفر نوعي الموقع (Site-directed mutagenesis) [6]. يقع Ser200 في قلب الخطوتين الأساسيتين للتفاعل التحفيزي. في البداية، ترتبط مجموعة الأسيتيل في جزيء AChE بـ Ser200 لتكوين وسيط رباعي السطوح؛ هذه هي خطوة الأستلة. يتم بعد ذلك شق ACh، ويتم طرد جزء الكولين. وأخيرًا، يتم تجديد AChE أثناء خطوة نزع الأسيتيل، ويتم طرد الأسيتات. يسمح His440 بنقل البروتون اللازم للخطوتين المذكورتين أعلاه. يسمح Glu327 باستقطاب His440 والحفاظ عليه في اتجاه مناسب لهذا النقل.



شكل 5: آلية التحلل المائي للأسيتيل كولين (ACh) المحفز بواسطة انزيم AChE. [9]

3-2-الحلق العطري

يعد الأخدود المؤدي إلى الموقع النشط لإنزيم AChE **(الشكل 5)** مصدرًا للمناقشات المتكررة حول عمل الإنزيم. يبلغ عمق هذا الاخدود Å 20 ، وبقايا الاحماض الامينية 14 التي تبطنه هي في الأساس ذات طبيعة أروماتية. وفي منتصف الطريق للأعلى، يكون هناك تضيق اشبه بعنق الزجاجة (bottleneck) على مستوى مخلفات الاحماض الامينية التالية: Tyr121، وPhe330، وPhe331. في البنية الأصلية (native structure) ، تبلغ المساحة التي يمكن للمذيب الوصول إليها حوالي Å 3. إذا كان الهيكل ثابتًا، فإن جزيئات الماء فقط هي التي يمكنها المرور عبر الحلق. وبالتالي فإن المرونة التشكيلية ضرورية لعمل الإنزيم، مما يسمح بمرور الركائز (substrat) من وإلى الموقع النشط.

وكانت هذه الملاحظة بمثابة نقطة البداية لسؤال لم يتم تقديم إجابة محددة عليه حتى الآن. كيف يمكن للإنزيم الذي موقعه النشط مدفون بعمق أن يكون بهذه السرعة؟

وقد تم طرح فرضيات مختلفة حول أصل هذه المفارقة الواضحة. تم اقتراح وجود باب خروج بديل (باب خلفي) في ضوء المسارات المحسوبة بواسطة الديناميكيات الجزيئية [Gilson 1994] والتي توضح فتح ممر عن طريق دوران السلسلة الجانبية لـ Trp84.

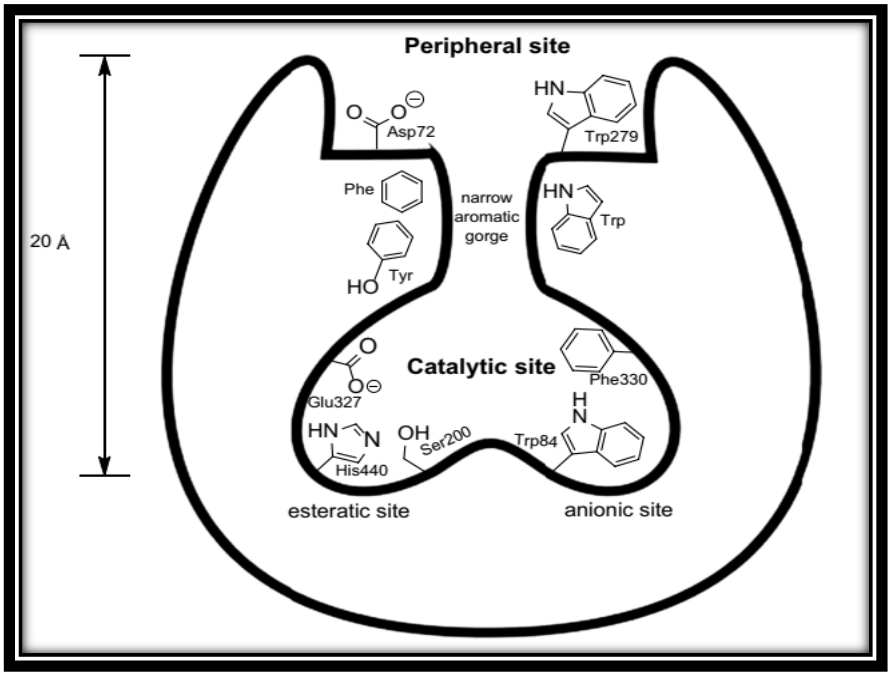
يقوم حلق AChE بتوجيه الركائز(substrat) , و على الرغم من عدم تأكيد آلية التوجيه ، إلا أنه تم الإبقاء على فرضية التوجيه الكهروستاتيكي. نظرًا لأن الشحنة الكهربائية الصافية للإنزيم سالبة (11e-) ، ومع الأخذ في عين الاعتبار الاعتماد القوي لنشاط AChE على القوة الأيونية، فقد تم تصور أن توزيع الشحنة قد يلعب دورًا في عمل الأنزيم . وبالتالي كان من الممكن إثبات أن AChE له مجال إلكتروستاتيكي موازٍ لمحور الحلق.

3-3-الموقع المحيطي (peripheral site)

الموقع الانيوني المحيطي المسمى ب (PAS) اختصارا ل "Peripheral Anionic Site " ؛ هو موقع موجود عند مدخل العنق المؤدي إلى الموقع النشط **(الشكل 5)**, تم افتراض وجوده في أوائل الستينيات. سابقا كان يسمى بالموقع الفرعي الأنيوني. يتميز الموقع المحيطي بقدرته على ربط الربيطات (Ligand) الكاتيونية. تأكدت تسمية (PAS) بعد التعرف على احد بقايا الاحماض الامينية الأكثر أهمية، وهوTrp279 مع ملاحظه غيابه في انزيم AChE وفي انزيم BChE.

يتكون الموقع المحيطي PAS أساسًا من بقايا عطرية، فبالإضافة إلى Trp279وباستخدام طريق القياسات الحركية الأنزيمية المقرونة بتقنية الطفره (mutation) و بوجود ربيطات انتقائية للموقع PAS، امكن ذلك من التعرف على البقايا الامينية التالية Tyr70 ,Tyr121, وAsp72 , Tyr334.

لم يتم بعد توضيح دور الموقع المحيطي PAS بشكل كامل. ومع ذلك، فإنه يلعب دورًا في ظاهرة التثبيط في حالة انزيم AChE ، والتنشيط عن طريق فائض من الركيزة (substrat) كما في حالة انزيم AChE المستخرج من ذبابة الفاكهة (Drosophila) و انزيمBChE . [6]

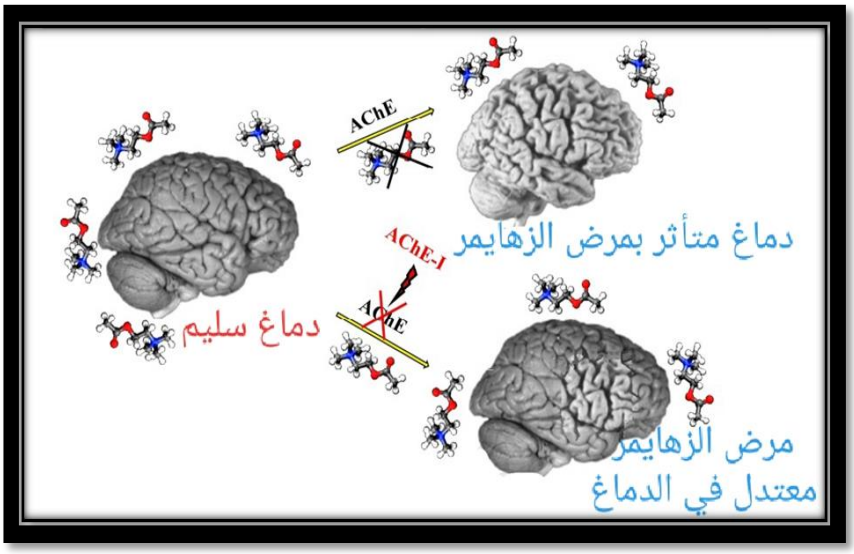


الشكل 6 : تمثيل تخطيطي للموقع النشط و الموقع المحيطي لإنزيم AChE مع تبيان الاحماض الامينية : للثالوث التحفيزي (catalytic triad), الحلق العطري (aromatic gorge) ,الموقع المحيطي (peripheral site). [10]

4- علاقة انزيم الأستيل كولين استراز (AChE) بمرض الزهايمر

مرض الزهايمر هو مرض دماغي يقلل من قدرة الشخص على القيام بالأنشطة اليومية. فهو يؤثر على الذاكرة والعواطف والمزاج والسلوك واللغة حيث تتفاقم الأعراض الناجمة مع الوقت. وُصف مرض الزهايمر لأول مرة بواسطة عالم الأمراض والطبيب النفسي الألماني ألويس الزهايمر في عام 1906، وتمت تسميته فيما بعد على اسمه . [11]

يتميز مرض الزهايمر بخسارة العصبونات والمشابك في مناطق القشرة المخية إلى جانب مناطق تحت قشرية محددة. تسبب هذه الخسارة ضمورًا هائلًا في الأماكن المصابة، يشمل هذا انتكاسًا في الفصين الصدغي والجداري ومناطق من الفص الجبهي والقشرة الحزامية . [12] **(شكل7)**



الشكل 7: التغيرات الحاصلة في الدماغ في حالة : دماغ سليم , دماغ متأثر بمرض الزهايمر, دماغ مريض زهايمر يعالج بمثبطات AChE. [13]

أعتبر أيضا ان مرض الزهايمر من أمراض الاعتلال البروتيني (سوء طي البروتين) التي تنتج عن تراكم الطي غير الطبيعي لبروتيني تاو و(Aβ) في الدماغ. [14]

تتألف اللويحات من ببتيدات صغيرة، بطول 39-43 حمض أميني، ويطلق عليها اسم ببتيد بيتا النشواني (Aβ). يعد ببتيد بيتا النشواني جزءًا من بروتين أكبر يدعى طليعة البروتين النشواني (Aββ)، وهو بروتين عبر غشائي يخترق غشاء الخلية العصبية. يُعتبرAββ ضروريًا من أجل نمو العصبونات ونجاتها وإصلاحها بعد الإصابة. [15]

في مرض الزهايمر، يُقسم البروتين النشواني (Aββ) إلى أجزاء أصغر بواسطة إنزيمات عبر عملية التحلل البروتيني. يحرض أحد هذه الأجزاء ليفات ببتيد بيتا النشواني، التي تكوّن بدورها مجموعات من التشكلات الثخينة التي تتركز خارج العصبونات وتُعرف باسم اللويحات الشيخوخية. [16]

في السبعينات قام الباحثون بعزل النواقل العصبية في حالة مرض الزهايمر ووضعوا فرضية نقص الأستيل كولين. تُعتبر الفرضية الكولينية أقدم الفرضيات، وتعتمدُ عليها مُعظم العلاجات الدوائية المُتاحة حاليًا. [17]

تنص هذه النظرية على أن متلازمة الزهايمر سببها هو ضعف تركيز الاستيل كولين في خلايا الدماغ في مناطق معينة، وذلك من خلال ضعف إفراز هذا المستقبِل، أو الموصِل العصبي، وحتى تهيأ الفرصة لأن يتوفر هذا المكون الفسيولوجي فيتم تثبيط إنزيمات الكولينسترازالمسؤولة على التحلل المائي للأسيتيل كولين في المشابك العصبية الكولينية [18] و بالتالي الحفاظ على المادة الكولينية الموجودة ، حتى وإن كانت قليلة، وبعد ذلك تتاح الفرصة للمستقبلات العصبية لأن تكون في وضع أفضل لإفراز مادة الاستيل كولين.

5- مثبطات الاستيل كولين استراز

تعمل مثبطات AChE على إبطاء معدل التحلل المائي المحفز بواسطة الإنزيم وبالتالي تقليل تحلل ACh، وبالتالي زيادة تركيز ومدة عمل الناقلات العصبية. وفقًا لطريقة العمل، يمكن تقسيم مثبطات AChE إلى مجموعتين:

- مثبطات غير عكوسة
- مثبطات عكوسة [19]

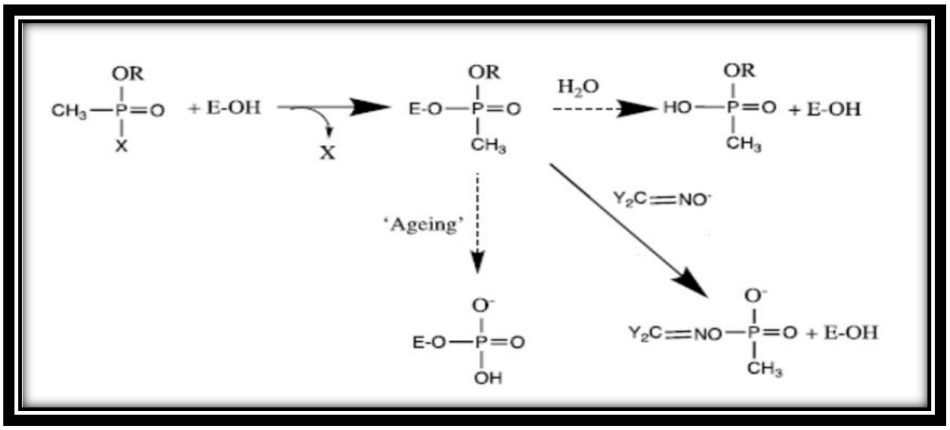
غالبًا ما يكون لمثبطات AChE القابلة للعكس تطبيقات علاجية، بينما ترتبط التأثيرات السامة غالبًا بمثبطات غير عكوسة [2,21,20].

5-1- مثبطات غير عكوسة

مثبطات AChE غير العكوسة هي في الأساس مركبات الفوسفات العضوية (OPs) [19]. OPs وهي عبارة عن أسترات أوثيولات مشتقة من حمض الفوسفوريك أو الفوسفونيك أو الفوسفينيك أوالفوسفوراميد مثل:الملاثيون والديازينون وثنائي إيزوبروبيل فلوروفوسفات (DFP) وغازات الأعصاب (السارين والتابون وVX) .

تمارس مركبات الفوسفات العضوية OPs تأثيراتها السامة من خلال فسفرة غير عكوسه من أستيل كولينستراز في الجهاز العصبي المركزي [23,22].في الواقع، تعتبر مركبات الفوسفات العضوية OPs نظائر للأستيل كولين ACh، وهي الركيزة الرئيسية لـ AChE. يتم إلغاء تنشيط AChE بواسطة OP في خطوتين متميزتين: في الخطوة الأولى تدخل OPs إلى الموقع النشط وترتبط تساهميًا بمجموعة سيرين-OH التي تشكل مجمع AChE-OP. أثناء التفاعل التساهمي، يتم تكسير OP ويتم فسفرة الإنزيم **(الشكل 7)**. يكون تفاعل نزع الفسفرة للإنزيم بطيئًا للغاية ولم يعد بإمكان AChE المفسفر أن يلعب دوره في الناقلات العصبية المتحللة [24]. في الخطوة الثانية يتحول مركب AChE-OP إلى مركب غير عكوس. وتسمى هذه المرحلة بالشيخوخة "ageing". يؤدي تثبيط الإنزيم بشكل غير عكوس إلى تراكم ACh في الشق التشابكي، مما يؤدي إلى التحفيز المفرط لمستقبلات ACh النيكوتينية والمسكارينية (nicotinic and muscarinic) وإعاقة النقل العصبي.

الأعراض الجانبية لمثل هذا التأثير السام الحاد هي الإثارة، وضعف العضلات، وتحزم العضلات (تقلصات لا إرادية وعشوائية قصيرة)، وتقلص الحدقة، وفرط اللعاب، والتعرق الزائد [26,25]. يمكن تجديد نشاط الإنزيم المفسفر بواسطة الأكسيم الذي يمكن أن يحل محل السيرين المفسفر قبل مرحلة ageing.



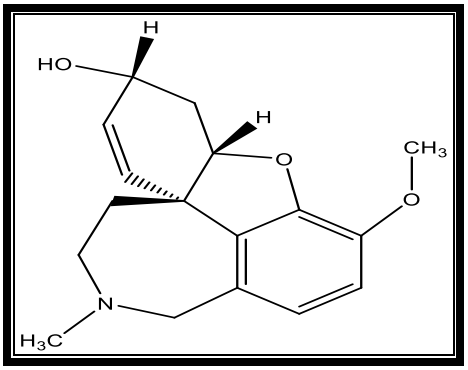
الشكل 8: تفاعل أستيل كولين استراز مع الفوسفات العضوي. [27]

2-5- مثبطات عكوسة

تلعب مثبطات AChE القابلة للعكس دورًا مهمًا في التنظيم الدوائي لنشاط الإنزيم. وتشمل هذه المثبطات مركبات ذات مجموعات وظيفية مختلفة (مجموعة الكاربامیت، مجموعة الأمونيوم الرباعية أو الثلاثية)، وقد استخدمت في علاج أمراض مختلفة مثل مرض الزهايمر [28]. فيما يلي بعض مثبطات AChE العكوسة لعلاج مرض الزهايمر.

1-2-5- جالانثامين (Glanthamine)

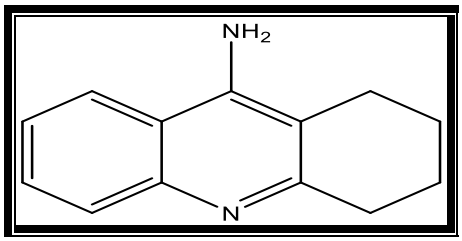
الجالانثامين ذو العلامتين التجاريتبين RzadyneTM وNivalinTM هو قلويد تم عزله في الأصل من نبات Galanthus woronowii، يستخدم لعلاج مرض الزهايمر الخفيف إلى المتوسط. وهو مثبط تنافسي عكوس لـ AChE والذي يتفاعل مع PAS (الموقع الأنيوني المحيطي)، وكذلك مع الموقع الفعال النشط Gorge (Active Site) [30,29]. يتميز الجالانتامين بخاصيتين أخريين: الانتقائيته العالية لـ AChE والتي تكون أكبر بـ 10 إلى 50 مرة من انتقائية بوتيريل كولينستراز (BChE) [32,31] وقدرته على تعديل مواقع مستقبلات النيكوتين، مما يسمح بزيادة حساسية المواقع. وبالتالي تعزيز الانتقال الكوليني [33].



الشكل9:البنية الكيميائية ل جلانثامين "Glanthamine"

5-2-2- تاكرين (Tacrine)

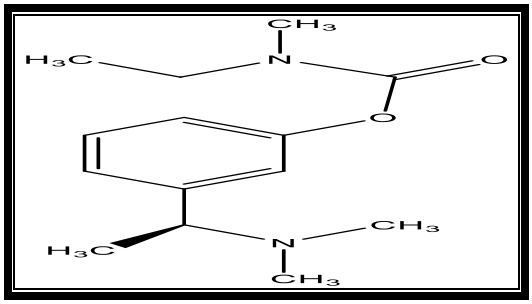
Tacrine ذوالاسم التجاري CognexTM (شكل 9) هو مثبط عكوس وغير تنافسي لـ AChE. يرتبط بالقرب من الموقع النشط الحفاز لـ AChE لمنع النشاط الأنزيمي وإطالة نشاط ACh على مستقبله [34]. كان تاكرين أول مثبطات AChE التي تمت الموافقة عليها في عام 1993 لعلاج مرض الزهايمر، ولكن تم التخلي عن استخدامه بسبب آثاره الجانبية، بما في ذلك تسمم الكبد [35]



الشكل 10 : البنية الكيميائية للتاكرين "Tacrine".

5-2-3- ريفاستيجمين (Rivastigmine)

Rivastigmine (الشكل 11) يباع تحت المسمى التجاري Exelon TM هو مثبط يمنع نشاط الكولينستراز عن طريق الارتباط بالثلاثي التحفيزي للموقع النشط [36]. على الرغم من أنه يثبط AChE وBChE، إلا أنه انتقائي نسبيًا لـ AChE في الجهاز العصبي المركزي (CNS). تمت الموافقة على ريفاستيجمين من قبل إدارة الغذاء والدواء الأمريكية وفي أوروبا في أبريل 2000 [21].

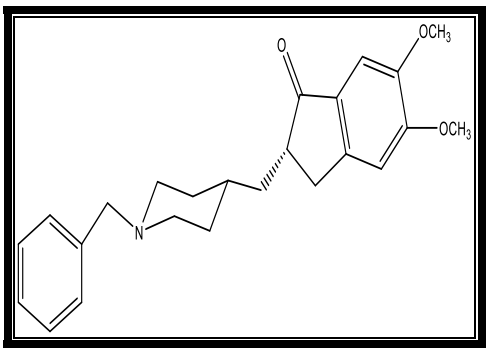


الشكل11: البنية الكيميائية للريفاستيجمين"Rivastigmine"

5-2-4- دونيبيزيل (Donepezil)

Donepezil (شكل 11) تجاريا معروف ب AriceptTM هو أحد مشتقات البيبيريدين، والذي تمت الموافقة عليه أيضًا لعلاج مرض الزهايمر. وهو مثبط عكوس لـ AChE يرتبط بالموقع الأنيوني المحيطي (PAS) ولا يؤثر على BChE [37].

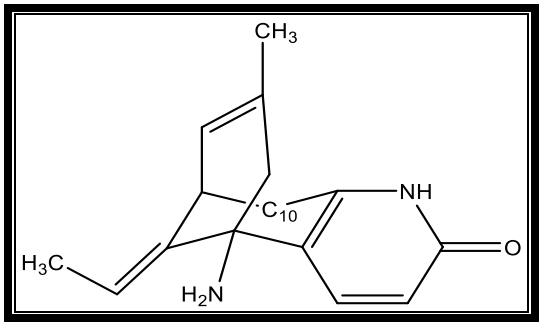
له آثار جانبية ويساعد في علاج مرض الزهايمر. نصف عمره في الجسم الحي طويل نسبيًا (حوالي 70 ساعة)، مما يتجنب الحاجة إلى تناوله بشكل متكرر [2]



الشكل12: البنية الكيميائية للدونيبيزيل"Donepezil"

5-2-5- هيبيرزين (Huperzine)

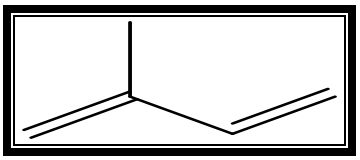
Huperzine A شكل (12) هو قلويد تم عزله لأول مرة من نبات Huperzia serrata. وهو يرتبط بـالموقع PAS، ولكن يمكنه أيضًا الدخول إلى مضيق الموقع النشط AGS [38]. لديه انتقائية أفضل لـ AChE من BChE [39]. من الممكن أن يكون لدى huperzine A العديد من الأهداف الأيضية الإضافية مثل حماية وظيفة الميتوكوندريا. يمكن أن يعمل أيضًا كمضاد للأكسدة [40]. على الرغم من اعتماد هوبرزين A كدواء لعلاج مرض الزهايمر والخرف الوعائي في الصين، إلا أنه متوفر فقط كمواد مغذية في الدول الأوروبية والولايات المتحدة.[41, 42].



الشكل13: البنية الكيميائية لمركب هيبرزين"Heperzine"

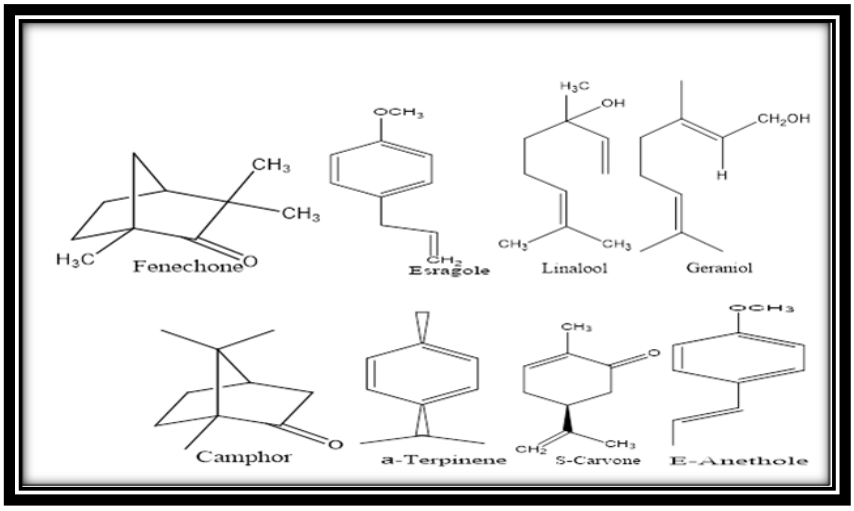
5-2-6-التربينات الأحادية

التربينات هي هيدروكربونات ناتجة عن اتحاد عدة وحدات إيزوبرين C5H8 (الشكل14)، يمكن اعتبار التربينويدات تربينات معدلة مع إضافة أو إزالة مجموعات الميثيل، أو ذرات الأكسجين المضافة. يستخدم مصطلح "Terpene" على نطاق أوسع، بما في ذلك terpeneoids.



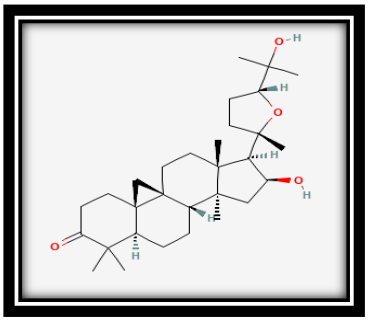
الشكل 14: وحدات الأيزوبرين

تم إجراء العديد من الدراسات على التربينات الأحادية (monoterpenes), كما ان السيسكيتربينات (sesquiterpenes)، التربينات الثنائية (diterpenes) و التربينات الثلاثية (triterpenes) هم أيضًا مرشحون جيدون كعلاجات محتملة جديدة لمرض الزهايمر.قام كين وريان بدراسة بعض التربينات الأحادية ولاحظا ان لها طبيعة تثبيط تنافسي عكوسة لانزيم AChE. [43]

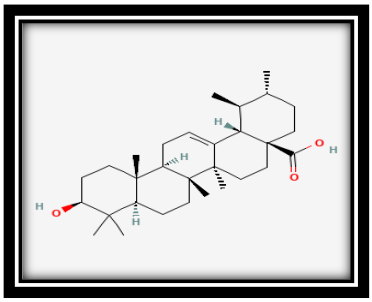


شكل 15: بعض التربينات التي اظهرت فعالية تثبيطية لانزيم AChE.[44]

أظهرت بعض التربينات أيضًا نشاطًا مضادًا لإنزيم AChE. على سبيل المثال، حمض اليورسوليك (ursolic acid) المستخلص من Origanum Majorana ،والأرجنتين A (A argentatin) المستخلص من Parthenium argentatum .



argentatin A



Ursolic acide

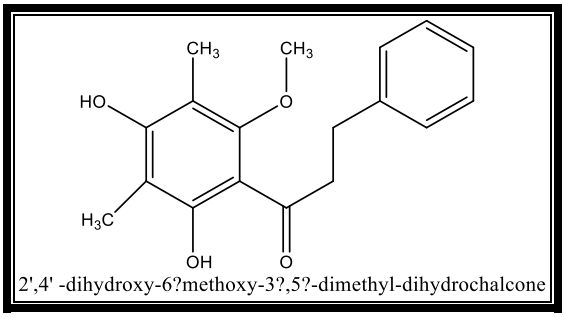
الشكل16: البنية الكيميائية لursolic acid و argentatin A .

5-2-7-الفلافونويدات

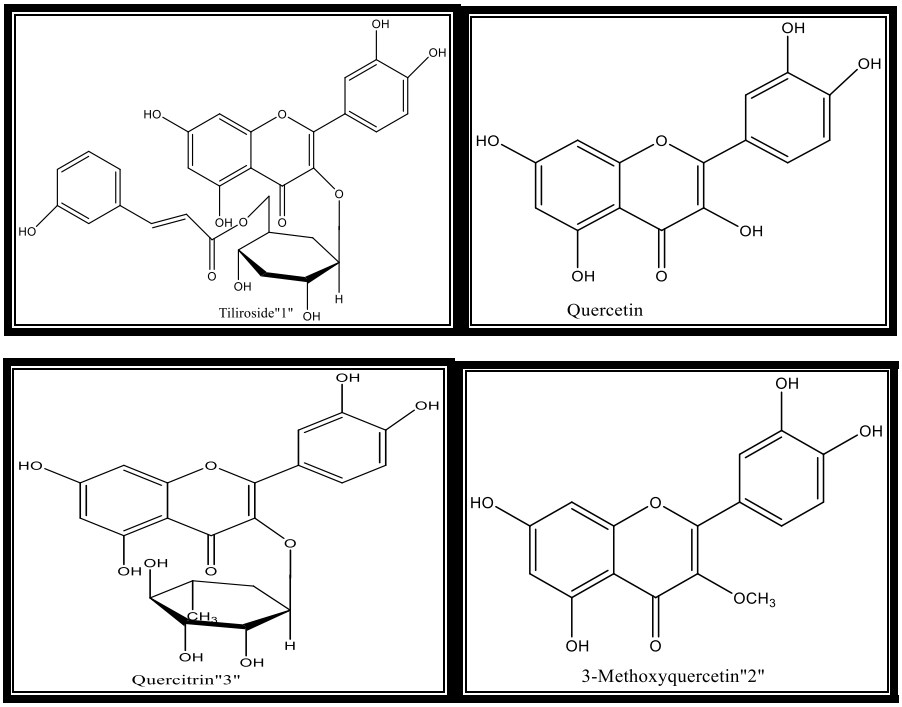
الفلافونويدات هي مركبات طبيعية واعدة لعلاج مرض الزهايمر (AD). فيمكن أن تكون مركبات الفلافونويد ذات النشاط المثبط لـ AChE بسبب نشاطها المضاد للأكسدة المعروف , تم استخلاص عدد كبير من مركبات الفلافونويد من النباتات والتي تم اختبار بعضها للتأكد من قدرتها على تثبيط AChE. بحثًا عن مثبطات قوية، قامت مجموعة من الباحثين بفحص سلسلة من الفلافونويدات، مستخلصة من Syzygium samarangense. اثبتت النتائج أن مركب:

2',4' -dihydroxy-6′methoxy-3′,5′-dimethyl-dihydrochalcone

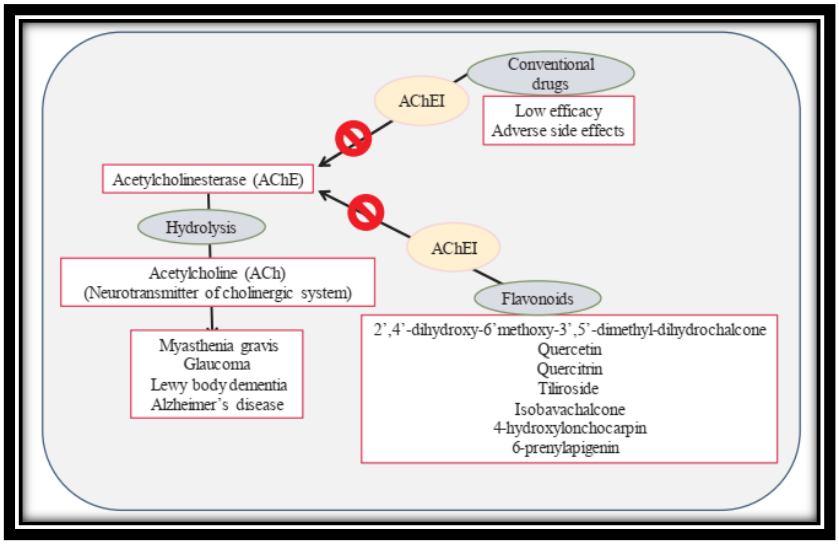
اظهر نشاطا مثبطًا ملحوظًا بنسبة 98.5% تثبيط عند تركيز 0.25mM بينما بقية المركبات اظهرت نشاط ضعيف أو لا يذكر. [45]



مجموعة بحثية أخرى درست تثبيط أربعة مركبات فلافونويدية لإنزيم AChE، ووجدوا ان كلا المركبين quercetin و tiliroside أظهرا نشاطًا مثبطًا ملحوظًا حيث قيم التثبيط تساوي IC50 = 19 µM و IC50=23,5µM على الترتيب في حين أظهر مركبي 3-methoxyquercetin و quercitrin أقل نشاط مثبط مع قيم التثبيط التالية : IC50= 37,9µM و IC50=66,9µM.47



توالت الدراسات فيما يخص هذا النوع من المركبات حيث تم تحديد العديد من الفلافونيدات المثبطة لإنزيم AChE و التي يمكن ان تبشربمستقبل واعد كعلاج لمرض الزهايمر.



الشكل17: وظيفة وتثبيط إنزيم الأسيتيل كولين استراز بواسطة الأدوية والفلافونويدات. [46]

6- الخلاصة

يعتبر انزيم الاستيل الكولينستراز (AChE) من البروتينات الضخمة والمعقدة المتواجدة في معظم الكائنات الحية, يوجد في منطقة التشابك العصبي بين الأعصاب والعضلات حيث يقوم بإماهة الناقل العصبي الأسيتيل كولين إلى حمض الأستيك (Acetic acid) والكولين (Choline) وهو تفاعل ضروري للسماح للعصبون بعد المشبكي للعودة إلى حالة الراحة بعد التنبيه.

إذا توقف إنزيم الاستيل كولين استراز عن عمله في تفكيك الأستيل كولين، فإن تركيز النواقل العصبية سيبقى أعلى من المعتاد مسبباً المشاكل و بالرغم من هذه الخطورة إلا أن لها تأثيراتها المفيدة لدى الاشخاص المصابين بالزهايمر حيث ان أدوية تثبيط إنزيم الاستيل كولين استراز تعمل على تحسين الذاكرة. لاثراء هذا الموضوع سنعتمد على بعض تقنيات النمذجة الحاسوبية, التي تساعد على فهم التفاعلات، على المستوى الجزيئي حيث تشكل أساس معظم الآليات البيولوجية, سيخصص الفصل الثاني للتطرق لهذه التقنيات النظرية المستخدمة في دراستنا.

المراجع

1. L. Iman: Etude des interactions Enzyme-Ligand. Cas des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. MASTER ACADEMIQUE chemie organique. Université d'EL-Oued Faculté des Sciences Exacte.2015.
2. Y. YUAN: Mise au point d'un système chromatographique permettant de détecter en ligne la présence d'inhibiteurs de l'acétylcholinestérase et de comparer qualitativement leurs activités inhibitrices. Docteur de l'université de Strasbourg. Chimie analytique Université De Strasbourg École Doctorale des Sciences Chimiques UMR 7178.2019.
3. D.M. Quinn, Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states, Chemical reviews, 87 (1987) 955-979.
4. T.L. Rosenberry: Catalysis by acetylcholinesterase: evidence that the rate-limiting step for acylation with certain substrates precedes general acid-base catalysis, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,72 (1975) 3834-3838.
5. T.L. Rosenberry: Acetylcholinesterase, Advances in enzymology and related areas of molecular biology, 43 (1975) 103-218.
6. B. SANSON. La dynamique structurale de l'acétylcholinestérase étude réalisée par cristallographie aux rayons X et une méthode spectroscopique complémentaire. Docteur De L'université Joseph Fourier Spécialité : Physique pour les sciences du vivant.2009.
7. C. Farouk et G. Abdelaziz: Contribution à la mise en evidence de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase par docking moléculaire. Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.2014-2015.
8. M.L, Raves, K. Giles, J.D. Schrag, M.F. Schmid, Jr.Phillips, G.N.Wah, C.Howard, A.J. Silman, I. Sussman, J.L. Docteur, B.P. Quinn, D.M. Rotundo,

R.L., Taylor, P : Structure quaternaire de l'acétylcholinestérase tétramérique. Structure et fonction des cholinestérases et des protéines apparentées.1998.

9. M.B. colovic, D.Z. Krstic, T.D. Lazarevi-Pasti, A.M. Bondzik and V.M. Vasi: Acetylcholinesterase Inhibitors Pharmacology and Toxicology. Current Neuropharmacology, 11, 315-335.2013.

10. L. Gorecki, J. Korabecny, K. Musilek, D. Malinak, E. Nepovimova, R. Dolezal, D. Jun, O. Soukup, K. Kuca: SAR study to find optimal cholinesterase reactivator against organophosphorous nerve agents and pesticides. Arch Toxicol . 90:2831–2859.2016.

11. NC. Berchtold, CW. Cotman: "Evolution in the conceptualization of dementia and Alzheimer's disease: Greco-Roman period to the 1960s". Neurobiology of Aging. 19(3): 173–89.1998.

12. GL. Wenk: "Neuropathologic changes in Alzheimer's disease". J Clin Psychiatry. 64 Suppl 9: 7–10.2003.

13. G. Marucci, M. Buccioni, D.D. Ben, C. Lambertucci, R. Volpini, F. Amenta: Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease.Journal Pre-proof.2020.

14. M. Hashimoto, E. Rockenstein, L. Crews, E. Masliah: "Role of protein aggregation in mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in Alzheimer's and Parkinson's diseases". Neuromolecular Med. 4:1-2:21.2003.

15. PR. Turner, K. O'Connor, WP. Tate, WC. Abraham: "Roles of amyloid precursor protein and its fragments in regulating neural activity, plasticity and memory". Prog. Neurobiol. 70 (1): 1–32.2003.

16. P. Tiraboschi, LA. Hansen, LJ Thal, J Corey-Bloom: "The importance of neuritic plaques and tangles to the development and evolution of AD". Neurology. 1984–9 :11(62).2004.

17. PT. Francis, AM. Palmer, M. Snape, GK. Wilcock: "The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress". Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry. c. 66 p. 2: 137–47.1999.

18. J. Cummings, L. Doody, R. and C. Clark: Disease-modifying therapies for Alzheimer disease challenges to early intervention. Neurology 69, 1622-1634. 2007.

19. M.B. Colovic, D.Z. Krstic, T.D. Lazarevic-Pasti, A.M. Bondzic, V.M. Vasic: Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology, Current neuropharmacology, 11 .2013. 315-335.

20. D. Galimberti, E. Scarpini: Old and new acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease, Expert Opin Inv Drug, 25 .2016. 1181-1187.

21. L.S. Schneider: A critical review of cholinesterase inhibitors as a treatment modality in Alzheimer's disease, Dialogues Clin Neurosci, 2 .2000.111-128.

22. R.D. O'Brien: Enzyme Inhibitors as Substrates. Interactions of Esterases with Esters of Organophosphorus and Carbamic Acid. W. N. Aldridge, Elsa Reiner, The Quarterly Review of Biology,49 .1974. 253-254.

23. G.W. Bruyn, Organophosphorus insecticides: A general introduction, environmental health criteria: No. 63, World Health Organization, Geneva, 1986, 181 pages, ISBN 92 4 154263 2, Journal of the neurological sciences, 83 .1988. 123.

24. Y. Boublik, P. Saint-Aguet, A. Lougarre, M. Arnaud, F. Villatte, S. Estrada-Mondaca,D.Fournier: Acetylcholinesterase engineering for detection of insecticide residues, Protein engineering, 15 .2002.43-50.

25. E. Enan, I.G. Berberian, S. el-Fiki, M. el-Masry, O.H. Enan: Effects of two organophosphorus insecticides on some biochemical constituents in the nervous system and liver of rabbits, Journal of environmental science and health. Go. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes, 22.1987.149-170.

26. L.G. Costa: Current issues in organophosphate toxicology, Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry, 366 .2006.1-13.

27. المصدر: رامزي، ر. ر. وآخرون، الجزيئات، 22 .2017.

28. E. Giacobini: Cholinesterase inhibitors new roles and therapeutic alternatives, Pharmacol Res, 50.2004. 433-440.

29. C.Bartolucci,E. Perola,C.Pilger, G. Fels, D. Lamba: Three-dimensional structure of a complex of galanthamine (Nivalin) with acetylcholinesterase from Torpedo californica: implications for the design of new anti-Alzheimer drugs, Proteins, 42 .2001.182-191.

30. N. Kitisripanya, P. Saparpakorn, P. Wolschann, S. Hannongbua: Binding of huperzine A and galanthamine to acetylcholinesterase, based on ONIOM method, Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine, 7 .2011. 60-68.

31. G. Pacheco, R. Palacios-Esquivel, D.E. Moss: Cholinesterase inhibitors proposed for treating dementia in Alzheimer's disease selectivity toward human brain acetylcholinesterase compared with butyrylcholinesterase, The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 274 .1995.767-770.

32. T. Thomsen, H. Kewitz: Selective inhibition of human acetylcholinesterase by galanthamine in vitro and in vivo, Life sciences, 46 .1990. 1553-1558.

33. T. Maelicke, A.Coban, A.Storch, E.F.Schrattenholz, E.X.Pereira: Albuquerque, Allosteric modulation of Torpedo nicotinic acetylcholine receptor ion channel activity by noncompetitive agonists, Journal of receptor and signal transduction research, 17 .1997. 11-28.

34. S.E.Freeman,R.M.Dawson:Tacrine a pharmacological review, Progress in neurobiology, 36.1991. 257-277.

35. P.B.Watkins,H.J.Zimmerman,M.J.Knapp,S.I.Gracon,K.W.Lewis:Hepatotoxic effects of tacrine administration in patients with Alzheimer's disease, Jama, 271 .1994. 992-998.

36. A.K. Desai, G.T. Grossberg: Rivastigmine for Alzheimer's disease, Expert review of neurotherapeutics, 5 .2005. 563-580.

37. H. Sugimoto, H. Ogura, Y. Arai, Y. Limura, Y. Yamanishi: Research and development of donepezil hydrochloride, a new type of acetylcholinesterase inhibitor, Japanese journal of pharmacology, 89. .2002.7-20.

38. F. Bai, Y. Xu, J. Chen, Q. Liu, J. Gu, X. Wang, J. Ma, H. Li, J.N. Onuchic, H. Jiang: Free energy landscape for the binding process of Huperzine A to acetylcholinesterase, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 110 .2013. 4273-4278.

39. M.d.M. Alcalá, N.M. Vivas, S. Hospital, P. Camps, D. Muñoz-Torrero, A. Badia: Characterization of the anticholinesterase activity of two new tacrine–huperzine A hybrids, Neuropharmacology, 44 .2003.749-755.

40. L.X. Tao, X.T. Huang, Y.T. Chen, X.C. Tang, H.Y. Zhang: Acetylcholinesterase-independent protective effects of huperzine A against iron overload-induced oxidative damage and aberrant iron metabolism signaling in rat cortical neurons, Acta pharmacologica Sinica, 37 .2016. 1391-1400.

41. M.S. Rafii, S. Walsh, J.T. Little, K. Behan, B. Reynolds, C. Ward, S. Jin, R. Thomas, P.S. Aisen: S. Alzheimer's disease Cooperative A phase II trial of huperzine A in mild to moderate Alzheimer disease, Neurology, 76 .2011. 1389-1394.

42. G. Yang, Y. Wang, J. Tian, J.P. Liu Huperzine: A for Alzheimer's disease a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials, PloS one, 8 .2013. e74916.

43. S. Keane, M.F. Ryan: Insect. Biochem. Mol. Biol.1999. 29, 1097.

44. N.S.L Perry, P.J. Houghton, A. Theobald, P. Jenner, E.K Perry, J. Pharm: Pharmacol. 2000. 52, 895.

45. E.C. Amor, I.M. Villaseñor, S.A. Nawaz, M.S. Hussain, I. Choudhar: A dihydrochalcone from Syzygium samarangense with anticholinesterase activity,Philipp. J. Sci. 134 .2005. 105.

46. Kh. Haroon, Maryaa, A. Surriya, A.K. Mohammad, P. Seema: Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: Current therapeutic standing and future prospects Biomedicine & Pharmacotherapy 101 .2018. 860–870.

الفصل الثاني:

تقنيات النمذجة الجزيئية المستخدمة في الدراسة

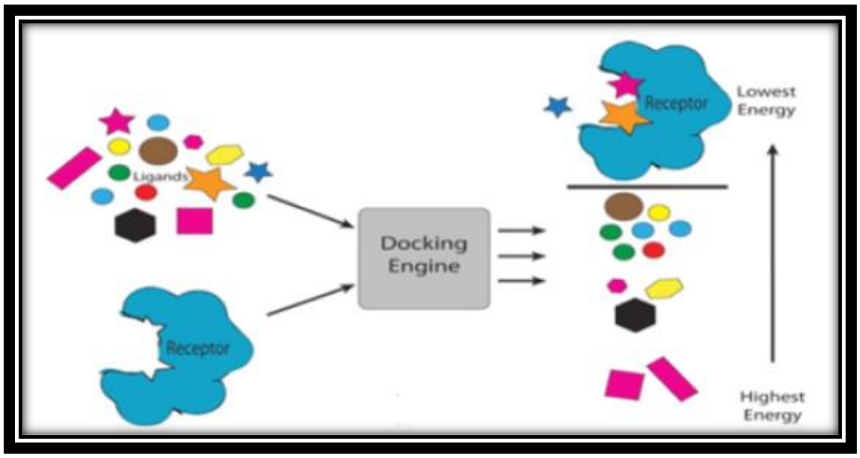
1- المقدمة

تعتبر الكيمياء الحاسوبية والنمذجة الجزيئية مجالًا متقدمًا بسرعة. يستخدم هذا المجال لنمذجة ومحاكاة الأنظمة الكيميائية والبيولوجية، بهدف فهم واكتشاف سلوكها على المستوى الجزيئي. كما يتمتع بتطبيقات واسعة في مجالات مختلفة مثل الهندسة الكيميائية والهندسة الطبية الحيوية. [1] يتيح هذا النظام محاكاة وتمثيل بنية الجزيئات الحيوية والبيئات التي تؤثر فيها. يتم تمثيل هذه الجزيئات بتصوير ثلاثي الأبعاد (3D) وتحديد المواقع النشطة وحساب الروابط والتفاعلات بشكل افتراضي.

استفادت النمذجة الجزيئية من التحسينات الكبيرة في الحواسيب خلال السنوات الأخيرة، حيث تمكنت من دمج واستخدام العديد من العلاقات والقوانين الفيزيائية والرياضية و الحيوية ، وبفضل هذه التحسينات ، تطورت النمذجة الجزيئية لتصبح كما هي عليه الآن، حيث أصبحت أداة رئيسية لدراسة وتطوير واكتشاف الأدوية الحديثة.[2] وتعتبر المعرفة ببيولوجية الأمراض الخطوة الأساسية الأولى في اكتشاف الأدوية الجديدة، حيث يتضمن ذلك فهم كيفية عمل الخلايا والعمليات الحيوية في حالة الصحة والأمراض. ومن خلال هذا الفهم، يمكن للعلماء تحديد الأهداف المحتملة التي يمكن أن يستهدفها الدواء. كما تمكن الباحثون من فهم شكل الجزيئات الحيوية على المستوى الذري، واستخدام هذه المعرفة لتصميم أدوية جديدة.[**3**] فيما يلي سنتطرق نظريا الى لمحة بيبليوغرافية حول تقنيات النمذجة الجزيئية المستخدمة في الدراسة.

2- تقنية الالتحام الجزيئي

تقنية الالتحام الجزيئي تستخدم على نطاق واسع في مجالات الكيمياء، الأحياء ، الصيدلة ، والطب نظراً لقدرتها على التنبؤ بأساليب الربط بين الربيطة (ligand) والمستقبل (receptor). يمكن لهذه التقنية التنبؤ بالاتجاه المفضل لجزيء معين عند ارتباطه بجزيء آخر لتشكيل معقد. ويمكن استخدام دوال رياضية مثل دوال الحرز أو توابع التسجيل لتحديد قوة الاقتران أو الألفة بين الجزيئات. [4]الالتحام الجزيئي هو أداة أساسية في مجال البيولوجيا الجزيئية الهيكلية وتصميم الأدوية القائمة على البنية، نظرًا لقدرته على التنبؤ بأنماط الربط السائدة بين الرابطة (ligand) والمستقبل (receptor)، والذي يكون عادة بروتينًا ثلاثي الأبعاد معروف الهيكل (شكل1). يمكن استخدام الالتحام كطريقة افتراضية لفحص مكتبات كبيرة من المركبات وترتيب نتائج الطاقة، ومن ثم اقتراح مركبات جديدة ذات فعالية بيولوجية أفضل من المركبات الأولية[5].



الشكل1: تمثيل تخطيطي للالتحام الجزيئي [6]

2-1- مبادئ الالتحام الجزيئي

أهم مشكلة في مرحلة الإرساء هي التنقل في المساحة بشكل مثالي ومتطابق. تتعقد هذه المشكلة بناءً على عدد الحريات والدوران، بالإضافة إلى توافق البدايات المحتملة للروابط. من أجل تجنب الحسابات الصعبة التي لا يمكن للآلات حلها بسهولة أو في وقت قصير، هناك عدة تقديرات لخوارزميات البحث. يمكن تصنيف هذه التقديرات إلى ثلاث مبادئ، وهي التوافقية، العشوائية، والحتمية. [7]

2-1-1- المبدأ التوافقي

يعتمد هذا المبدأ على شبكات القيم لكل درجة من درجات الحرية، ويتم استكشاف هذه الشبكات بطريقة توافقية أثناء البحث. نظرًا للتأثير التوافقي، يزداد عدد التقييمات بشكل أسرع بكثير من عدد درجات الحرية. لذلك، يتم وضع معايير النهاية لمنع الخوارزمية من المرور عبر أجزاء من الفضاء التي قد تؤدي فقط إلى حلول سيئة [7]. أولاً، يتم تقسيم الرابطة إلى أجزاء صلبة ومرنة. يتم تحديد النقاط التي يمكن فيها التدوير، ويتم وضع الجزء الصلب في التفاعل مع جهاز الاستقبال أولاً، ثم يتم إضافة الأجزاء المرنة تباعًا مع استكشاف زوايا الالتواء. الأمر الأهم هو اختيار الأجزاء الأساسية التي يجب وضعها أولاً في الموقع، لأنه من الصعب جدًا على الخوارزميات تعويض الوضع الأولي السيء. تختلف التطبيقات المختلفة حسب طريقة وضع الجزء الصلب الأول في الموقع وطرق التخلص منه عند زيادة زوايا الدوران. ونفترض أن وضع هذا الجزء يعتبر البداية الصلبة أو المرساة واحدة من أقل مواضع الطاقة الممكنة. تحدد الرقم عرض شجرة البحث، وقد تكون هذه الفرضية معرضة للتحيز في حالة الأجزاء الصغيرة "المثبتة" ، حيث من الممكن أن تتكيف مع العديد من المواقع على سطح المستقبل مما قد يؤدي إلى بناء فروع غير مجدية [8]. تم دمج هذه الطريقة في العديد من البرامج مثل Dock وFlexX. يعتمد برنامج FlexX على نمذجة التفاعلات الكيميائية ويقوم بتحديد شظايا القاعدة تلقائيًا [9][10]. يتم إضافة الأجزاء تدريجيًا، حيث يتم إنشاء كل

زاوية محتملة وتتداخل الزوايا التي تنتجها مع تجنب المتلقي أو الصراعات الداخلية. يتم حساب الطاقة مع كل إضافة، ويتم تصنيف الجزيئات المشيدة جزئيًا. يتم تكرار هذه العملية حتى يتم بناء الجزيء بالكامل.

2-1-2- المبدأ العشوائي

تتمثل فكرة المبدأ العشوائي في إجراء تغييرات عشوائية في هيكل الرابطة ثلاثية الأبعاد. عادةً ما يتم تعديل درجة الحرية في كل تغيير. واحدة من النقاط الضعيفة في هذه الطريقة هي عدم اليقين في التقارب. لتجنب ذلك، يجب أن تقوم بتكرار الحسابات بشكل مستقل عن بعضها البعض. واحدة من الخوارزميات العشوائية الرئيسية هي طريقة مونت كارلو. [11]

2-1-3- المبدأ الحتمي

في البداية الحتمية، تحدد الحالة الأولية للحركات التي يجب القيام بها. يجب أن تكون لهذه الحالة طاقة مساوية أو أقل من طاقة الحالة الأولية. المشكلة في الأنظمة الحتمية هي أنها يمكن أن تصبح محاصرة بسهولة في الحد الأدنى المحلي لأن قدرتها على التغلب على حواجز الطاقة ضعيفة [11].

2-2- خطوات الالتحام الجزيئي

تعتمد تقنية الالتحام الجزيئي على مجموعة من الخطوات يمكن تلخيصها بشكل عام كما يلي (شكل2):

2-2-1- تحديد الهياكل ثلاثية الأبعاد: 3D

يتم الحصول على هذه الهياكل عن طريق الطرق التجريبية التالية[12]

- الفحص المجهري الإلكتروني.
- علم البلورات بالأشعة السينية(RX) .
- الرنين المغناطيسي النووي (RMN) .

وتحمل معظم هياكل(3D) للمستقبلات من بنك بيانات البروتين (pdb) عند عدم توفر مستقبل معينفي هذا البنك نلجأ الى نمذجة المستقبل بالمقارنة .

أما بالنسبة للربيطات فيتم تحميلها من قواعد البيانات مثل Zinc 15,PubChem او رسمها و تحسينها باستعمال البرامج المخصصة لذلك [13].

2-2-2- إعداد المستقبل و الربيطة

تحدث عملية اعداد المستقبل والربيطة في البداية ، حسب الخطوات التالية:

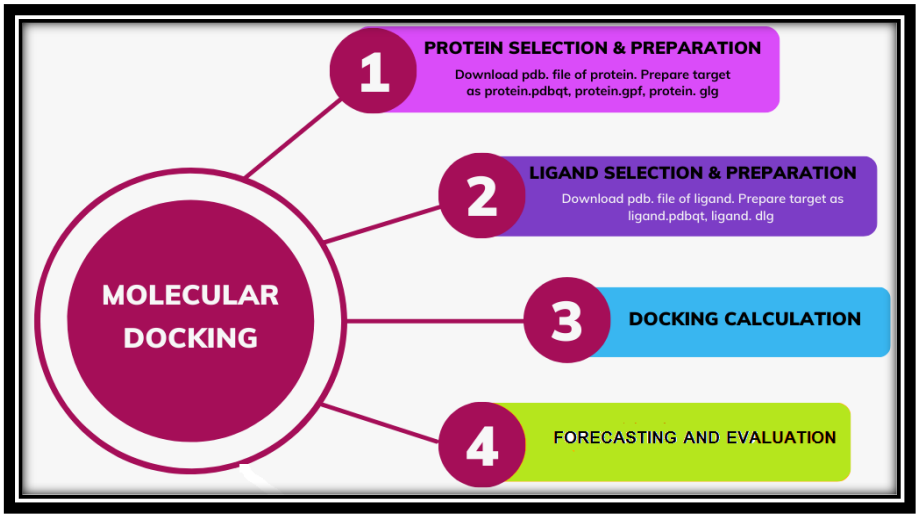
- التأكد من توفر جميع أجزاء المستقبل المدروس.
- التحقق من تجنب التصادم الفراغي بعد إضافة ذرات الهيدروجين.
- التحقق من وجود السلاسل الجانبية.
- إضافة مجموعات الأميد الناقصة في بعض الأحماض الأمينية. [13]
-

2-2-3- اجراء الالتحام

بعد تحضير كل من المستقبل و الربيطة تباشر عملية الالتحام على مستوى البرنامج من اجل العثور عل المعقد الاكثر استقرارا و ذلك باستخدام خوارزميات و دوال حرز تختلف على حسب البرنامج المستخدم.

2-2-4- التنبؤ والتقييم

عند إتمام الاندماج الجزيئي، يتم التحول إلى خطوة التنبؤ والتقييم، مما يسمح بإعطاء قيم الطاقة للمعقد الاكثر استقرارا و بعرض جميع أنماط التفاعلات المحتملة بين الرابطة والمستقبل[13].



شكل2: خطوات الالتحام الجزيئي.

2-3- البرامج المستخدمة في الالتحام الجزيئي

الهدف الأساسي للالتحام الجزيئي هو التنبؤ بالتموضع الأكثر ملائمة للربيطة داخل المستقبل، بما في ذلك الموقع والاتجاه النسبي. بدأ هذا المجال في بداية الثمانينات وتطور ليصبح اليوم أداة أساسية في البحث عن المنتجات النشطة بيولوجياً [7] [14]. يوجد حاليًا أكثر من 30 برنامجًا للالتحام الجزيئي متاحة تجاريًا أو غير تجاريًا. ومن بين هذه البرامج الأكثر شيوعًا: AutoDock، GOLD، FlexX، DOCK و Molegro Virtual Docker (MVD).الخ. يتميز برنامج Molegro Virtual Docker بتنفيذ جميع الخطوات اللازمة تلقائيًا. يستخدم تقنية التحسين بناءً على الإنتاج وتعتمد نقاط MolDock على خوارزمية بحث إرشادية جديدة تجمع بين التطور التفاضلي وخوارزمية التنبؤ بالفجوات. تعتبر الخوارزميات التطورية طرق تحسين عامة ومتكررة تعتمد على عملية تكيفية مشابهة لعملية التطور الطبيعي، وهي قادرة على إدارة عدة حلول في وقت واحد. [15]

2-4- اشكال أنماط التفاعل بين البروتين والربيطة

2-4-1- الروابط الهيدروجينية(Hydrogen Bonds)

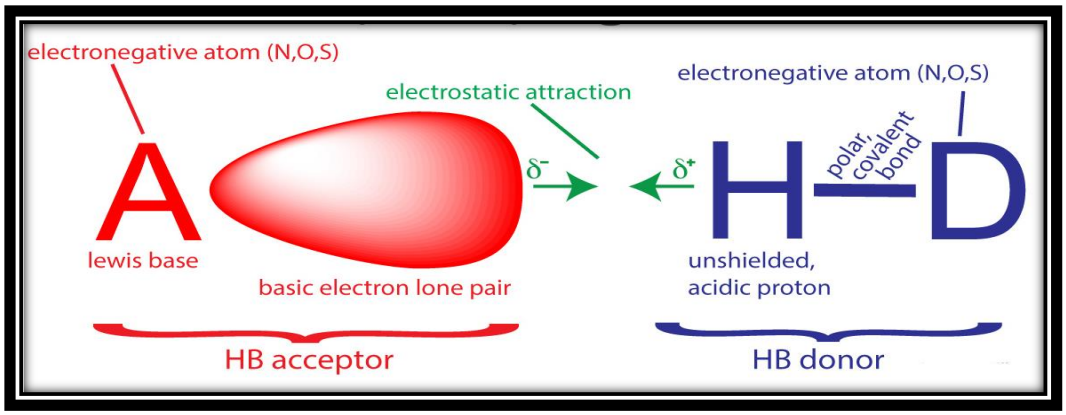
الروابط الهيدروجينية هي إحدى أنواع الروابط الكيميائية الضعيفة نسبيا مقارنة بالروابط التساهمية والأيونية. ومع ذلك، فإنها تكون أقوى من قوى فان دير فالس تلعب الرابطة الهيدروجينية دورا مهما في تحديد الطاقة و ديناميكيات العمليات الحيوية.

هي الأكثر تقييدا من الناحية الهندسية بسبب قصر المسافة. تنشأ الرابطة الهيدروجينية كهربائياً بين ذرة الهيدروجين مرتبطة تساهميا بذرة سالبة الشحنة (N, S, O) و ذرة ثانية سالبة الشحنة تمتلك زوجا غير مشترك من الإلكترونات (مستقبل)(شكل3)، طاقاتها تقدر بين 16- 60 كيلو جول.مول$^{-1}$.

المجموعات المانحة للبروتونات تدعى HBD (hydrogen bond donor) أي المجموعة المانحة للرابطة الهيدروجينية: F-H، O-H، N-H، Cl-H، P-H وأحيانا C-H.

- المجموعات المستقبلة تدعى HBA (acceptor bond hydrogen) أي المجموعة المستقبلة للرابطة الهيدروجينية يجب أن تكون حاملة لزوج إلكتروني حر: F،O،N،Cl،S،P و بعض الأيونات السالبة.

يمكن أن تتصرف بعض المجموعات الوظيفية كمجموعات مانحة أو مستقبلة للرابطة الهيدروجينية على حد سواء مثل (NH_2, OH).[16]



شكل3: تشكل الرابطة الهيدروجينية[17].

2-4-2- الرابطة الأيونية (Ionic bond)

الرابطة الأيونية هي الرابطة التي تنشأ بين ذرتين تختلفان في المقدرة على كسب أو فقد الإلكترونات وتكون بين أيوني هاتين الذرتين الموجب والآخر السالب الشحنة فتنشأ قوة جذب كهربائي بينهما، تنشأ هذا التفاعل الكهروستاتي بين مجموعات وظيفية مختلفة ذات شحنات متعاكسة (شكل4) مثال ذلك الرابطة بين شاردة الكربوكسيلات و شاردة الأمونيوم . تقدر طاقتها بين 20-40 كيلو جول مول$^{-1}$.

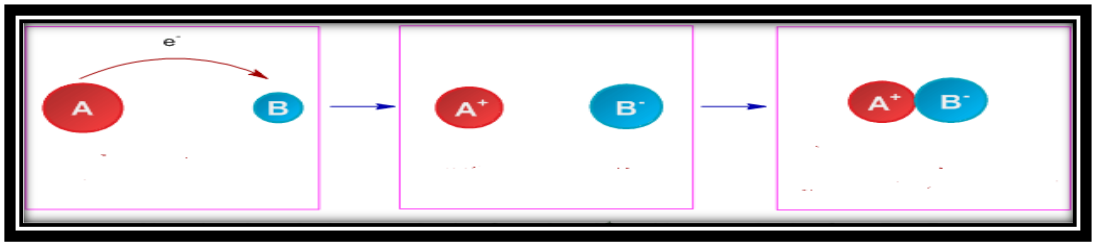
وتخضع التفاعلات بين الجسيمات التي تحمل الشحنات الكهربائية لقانون كولوم . يتم الحصول على طاقة التفاعل الكامنة (V) لشحنتين كهربائيتين Q 1 و Q2 مفصولة بمسافة d عن طريق حساب العمل المطلوبة لفصل هاتين الشحنتين على مسافة غير محدودة [18] المعادلة (*Eq.1*).

$$V = \frac{Q_1 Q_2}{4\pi\varepsilon\varepsilon_0 d} \qquad Eq.1$$

ε: سماحية الفضاء

ε_0 : سماحية الوسط الذي تتطور فيه الشحنات

d: المسافة بين الشحنتين

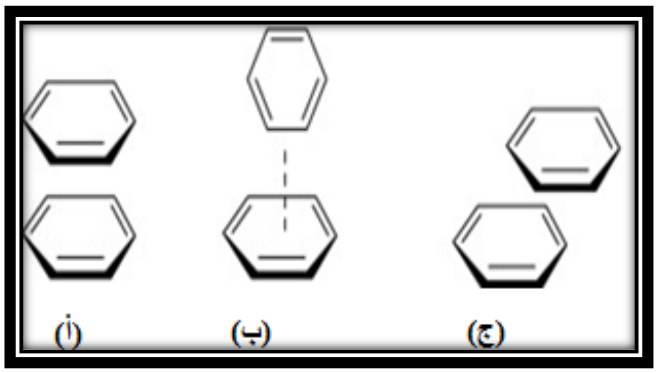


شكل 4: تشكل الرابطة الأيونية.

2-4-3- التفاعلات الكارهة للماء(hydrophobic interaction)

التفاعل الكاره للماء هو مصطلح يستخدم بشكل متكرر في الكمياء الحيوية لوصف تفاعل الانجذاب بين الاجزاء الكارهة للماء في النظام (مثل البروتينات) ; هذه التفاعلات هي نتيجة تشتت لندن London (dispersion)[19].

تتجه الجزيئات غير القطبية وضعيفة الاستقطاب نحو التجمع معًا، مما يؤدي إلى تكوين القوى الرابطة الكارهة للماء. وبالتالي، تظهر الأحماض الأمينية التي تحتوي على جذر كاره للماء خاصية منع تكوين الروابط الهيدروجينية بين جزيئات الماء. وهذه الظاهرة تحدث في هيكلية مناطق البروتينات الكارهة للماء، حيث لا تتمكن جزيئات الماء من تبادل أي روابط مع جذور الأحماض الأمينية.من جهة اخرى, توجد تفاعلات التراص π-π stacking)π-π)، التي تشير على وجه التحديد إلى التفاعلات التي تتضمن مجموعات عطرية تحتوي على روابط π. وفقًا لهندسة التفاعلات العطرية، تنقسم التفاعلات π-π إلى الفئات الثلاث التالية: مكدسة وجهًا لوجه (أ) مكدسة من الحافة إلى الوجه (على شكل حرف T) (ب) ، مكدسة بالإزاحة (ج)[20]. **(شكل5)**



شكل5: تفاعلات التراصstacking (π-π)[21].

2-4-4- تفاعلات فانديرفالز(Van der Waals interactions)

تعتمد قوى فاندر فالس على ربط الجزيئات متعادلة الشحنة غير القطبية بروابط فيزيائية ضعيفة جداً ناتجة من تجاذب نوى الذرات في جزيء معين مع إلكترونات التكافؤ في جزيء أخر (شكل6). ونتيجة لهذا التجاذب يحدث استقطاب في الجزيء المجاور ينشأ عنه عزم كهربائي صغير جداً وهذا العزم يولد عزوم مشابهة لهُ في الجزيئات المجاورة ولكن هذا التأثير لا يدوم طويلاً لأن الإلكترونات في حالة حركة دائمة .تتميز تلك القوى بأنها ضعيفة جداً يتلاشى تأثيرها عند الابتعاد عن الجزيء[5], تتأثر قوى فاندر فالس بعدة عوامل :

- حجم الجزيء:

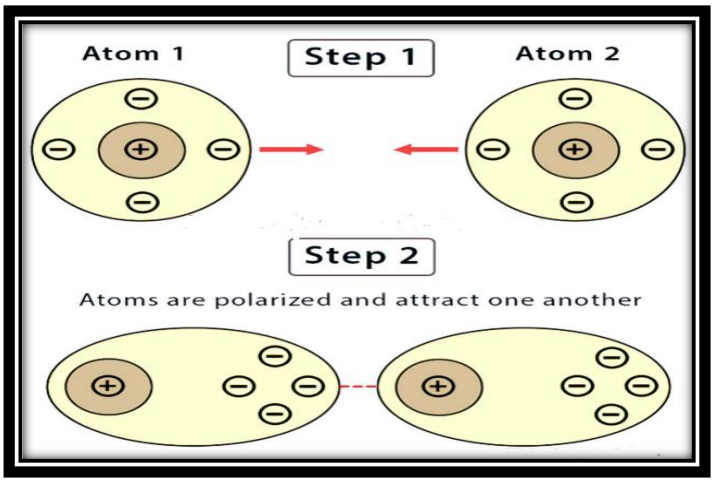
كلما زاد حجم الجزيء يصبح تشويه السحابة الإلكترونية أسهل و هذا ما يفسر درجات غليان المواد المتشابهة مثلSiH_4 وCH_4.. حيث أن جزيء SiH4يمتلك درجات غليان أكبر منCH_4

- زيادة عدد الإلكترونات في الجزيء:

تساعد تلك الزيادة على استقطاب السحابة الإلكترونية وتشكيل عزوم كهربائية صغيرة تؤدي الى زيادة قوى فاندر فالس.

- درجة الحرارة والضغط:

كلما انخفضت درجة الحرارة تستطيع قوى التجاذب التغلب على الحركة العشوائية للجزيئات كما أن زيادة الضغط يزيد عدد الجزيئات في وحدة الحجم[22].



الشكل6: تفاعلات فان ديرفالز[23]

3- نظرية الدالة الوظيفية للكثافة Density Functional Theory (DFT)

نظرية الدالة الوظيفية للكثافة (DFT, Density Functional Theory) هي أحد أهم الطرق المستعملة في الفيزياء و الكيمياء النظريين و من خلالها يتم تحديد خصائص نظام متعدد الجسيمات (الطاقة الكلية للنظام ،الكثافة الإلكترونية للمدارات ، المعاملات الفيزيائية و الضوئية للمادة....)،وهي واحدة من أكثر الطرق استخداما في العمليات الحسابية الكمومية بسبب إمكانية تطبيقها على أنظمة متنوعة وبسرعة العالية.

3-1- تعريف نظرية (DFT)

تعتبر الدالة الوظيفية (Density Functional Theory) طريقة مهمة تم تطويرها في أواخر الثمانينات وحتى الوقت الحاضرجد[24]. تعتبر الطاقة تابعة لدالة الكثافة[25] وتعتمد هذه الطريقة على معادلة شرودنغر ومثيلاتها من الطرق Ab initio والطرق الشبه تجريبية. تستخدم هذه الطريقة التوزيع الإلكتروني المباشر بدلاً من الدالة الموجية[26]. يمكن التعبير عن الطاقة الأرضية $E[\rho((\vec{r})]$ من خلال هذه الطريقة لنظام ما بالمعادلة التالية:

$$E[\rho((\vec{r})] = Ts[\rho((\vec{r})] + J[\rho((\vec{r})] + Exc[\rho(\vec{r})] + ENe[\rho] \quad Eq.2$$

حيث :

$Ts[\rho((\vec{r})]$: الطاقة الحركية للنظام غير المتفاعل.

$J[\rho(\vec{r})]$: التنافر إلكترون - إلكترون طاقة

$Exc[\rho(\vec{r})]$: الامكانات الخارجية

$ENe[\rho]$:طاقة التبادل والارتباط الوظيفية

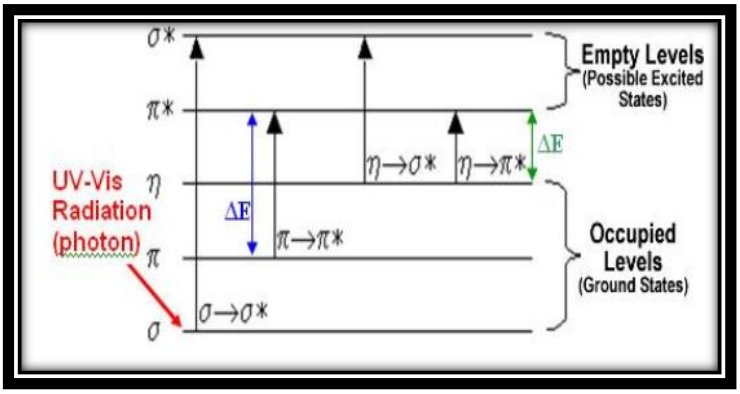
3-2-أهم المقادير الحسابية باستخدام دالة الكثافة (DFT)

تتنبأ نظرية دالية الكثافة بمجموعة كبيرة من الخصائص الجزيئية , التركيب الجزيئي , طاقات الانحلال, الترددات الاهتزازية, الخواص الكهربائية و المغناطيسية , بالإضافة الى طاقات التأين ..... الخ

3-2-1- الطاقات المدارية(Orbital Energies)

إن أعلى مدار جزيئي مشغول HOMO و أوطأ مدار جزيئي غير مشغولLUMO تدعى أي المحددة (Orbitals Frontier) وذلك لأنها المسؤولة وبدرجة كبيرة عن العديد من الصفات الكيميائية و الطيفية للجزيئة وبذلك فهي تمثل المدارات الرئيسية الأكثر أهمية من بين المدارات الجزيئية،من خلالها تتحدد الفعالية الكيميائية و بالتالي الإستقرارية الكيميائية (للجزيئة أو الجذور الايونية)،إن أعلى قيمة لطاقة $E_{(HOMO)}$تشير إلى أحسن ميلان لإعطاء الالكترونات . و في الجهة المقابلة فان طاقة $E_{(LUMO)}$ تشير إلى قدرة الجزيء على استقبال واكتساب الكترونات ،وأدنى قيمة لطاقة$E_{(LUMO)}$ تعبر عن أفضل قدرة على اكتساب الالكترونات.

يمكن اعتبار الإلكترونات في الذرة كمجاميع تشغل المستويات الطاقية المتساوية . أما في الجزيئات فالحال أكثر تعقيدا ، لأن الإلكترونات مشتركة بين الأنوية و تدعى الكترونات الروابط وهي حساسة للانتقال بين المستويات الطاقية تحت تأثير إشعاع ملائم .الإلكترونات المنتقلة،ممكن أن تتمثل بحالة أو حالتين : روابط(**σ**) مع احتمالية انتقالات واطئة ولذلك الامتصاص الناتج ايضا قليل أو الروابط (**π**) وهنا احتمالية عالية للانتقالات . وجود روابط مزدوجة C=C في الجزيئة تزيد من احتمالية انتقالات نوع (**π**)،خاصة عندما تشتمل على تعاقب الروابط المزدوجة مع الروابط المنفردة ، الروابط الكيميائية تتكون من خلال تداخل المدارات الذرية وتكوين مدارات جزيئية , إن المدى الطاقي للانتقالات ضمن المنطقة visibleUV/هو(800-200) نانومتر.[27]



شكل7:الانتقالات الإلكترونية بين المدارات الجزيئية[27].

3-2-2- الفرق الطاقوي (The energy gap)

إن النظام الإلكتروني الذي يمتلك فرق طاقوي ($E_{gap} = E_{LUMO} - E_{HOMO}$)أكبر يكون أقل فعالية و أكبر استقرارا من ذلك الذي له فرق طاقوي أقل . كما أن فجوة الطاقة بين HOMOوLUMO هي تقريب لطاقة الإثارة الأقل (حالة الإثارة الأولى)[27].

3-2-3- الكمون الكيميائي: (Chemical potential)

إن الكمون الكيميائي يستطيع وصف جميع أنواع تحولات المادة وكذلك تفاعلاتها التي تشترك فيها الفوتونات ،أو إلكترونات أو ثغرات إلكترونية. ويرمز له بالرمزμ ،ينص قانون الكمون الكيميائي "إذا أضفنا كمية متناهية في الصغر من مادة ما الى كتلة في حالة التوازن ،بحيث تبقى الكتلة متجانسة وتبقى الانتروبي والحجم ثابتين ،عندئذ يُعطى الكمون الكيميائي بالزيادة في طاقة الكتلة مقسومة على المادة المضافة لتلك الكتلة[28].

$$\mu = \frac{E_{LUMO} + E_{HOMO}}{2}$$

3-2-4- طاقة التأين:(I) Ionization energy

إن طاقة التأين هي الطاقة اللازمة لنزع إلكترون واحد من ذرة عنصر ليصبح أيون. وقيمة هذه الطاقة تدلنا على صعوبة نزع الإلكترون من الذرة ، فكلما كانت كبيرة كان تأين العنصر صعبًا واستقراره كبير.

$$I = -E_{HOMO}$$

تزيد غالباً الألفة الالكترونية أفقياً في الأدوار كلما اتجهنا من اليسار إلى اليمين. أي كلما زاد العدد الذري. ويرجع ذلك إلى صغر الحجم الذري تدريجياً للعناصر،مما يسهل على النواة جذب الإلكترون الجديد [28].

3-2-5- الألفة الالكترونية : (A) The electron Affinitty

وتعبر عن مقدار الطاقة التي تحصل عليها (أو تحررها) ذرة أو جزيء خلال اكتساب الكترون[28]،وتحسب انطلاقا من العلاقة التالية:

$$A = -E_{LUMO}$$

3-2-6- الكهروسالبية: Electronegativity (χ)

الكهروسالبية هي قدرة الذرة على جذب إلكترونات الرابطة الكيميائية ويرمز له بالرمز (X). و الفرق في الكهروسالبية للعناصر له دور في تحديد نوع الرابطة بين الذرات [28].و تعطى قيمة بالعلاقة:

$$x = \frac{I + A}{2} = \frac{E_{LUMO} + E_{HOMO}}{2}$$

3-2-7- الصلابة والليونة : Hardness (η) and softness (σ)

وتعبر هاتين الخاصيتين عن قياس مقدار الاستقرار والنشاط التفاعلي للجزيئات .والجزيء الذي له (η) أكبر تكون قيمة الطاقةE_{gap} أكبر و عند قيمة (σ)أكبر تكون قيمة الطاقةE_{gap} أصغر ،و منه نصل إلى أن المثبط الذي يمتلك أدنى قيمة لـ(η) فإنه يمتلك أعلى قيمة لـ(σ) ومنه تكون كفاءة التثبيط عالية[28] .وتعبر العلاقتين المواليين عن قيمة كل من softness (σ) و Hardness (η) :

$$\sigma = \frac{1}{\eta} \quad / \quad \eta = \frac{I-A}{2} = \frac{E_{LUMO}-E_{HOMO}}{2}$$

3-2-8- مؤشر الالكترو فيلية:The electrophilicity index (ω)

و تعبر على اكتساب الالكترونات من قبل المركبات الكيميائية ، حيث تكون قيمة. ωو μصغيرة في معظم المتفاعلات النكليو فيلية .، بينما في المتفاعلات الالكترو فيلية تكون قيمة ωو μ كبيرة [28]،وتحسب قيمة هذا المؤشر من العلاقة :

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta}$$

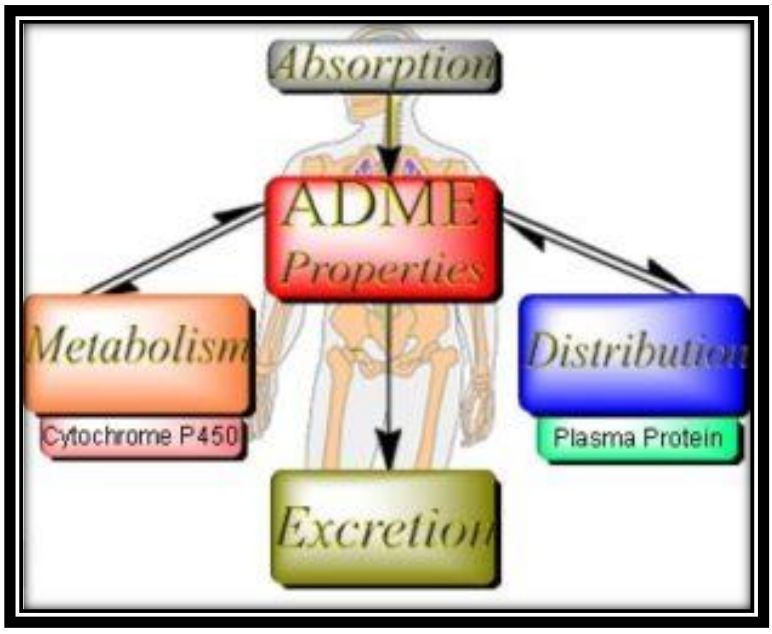
4 - دراسة حركية الدواء في الجسم (ADME)

التصميم الحديث للأدوية ومقارنة بما هو كلاسيكي نجد السرعة الكبرى في إيجاد العديد من الأدوية وهذه المركبات الدوائية تحتاج الى معرفة كبيرة للخصائص الفيزيائية والكيميائية لها , وبإجراء الاختبارات الحيوية المناسبة. ولفهم ذلك يجب التعرف على آلية الامتصاص وتحرر الدواء في الجسـم و كيف التوزيع والاستقلاب أي التركيز على مفهوم الـ ADME: Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion

بعد تحرر المادة الفعالة من الشكل الصيدلاني يمر الدواء بالأطوار التالية:

- الامتصاص(Absorption) :وهي العملية التي يدخل فيها الدواء إلى الدوران الدموي العام
- التوزيع(Distribution): وهي عملية انتشار الدواء عبر سوائل و أنسجة الجسم و ارتباطه بالبروتينات.
- الاستقلاب (Metabolism) :عملية تحول الدواء الى اشكال يمكن إطراحها من الجسم بسهولة و يحصل عادة في الكبد أو في نسج أخرى.

- الاطراح(Excretion) :طرح الدواء ونواتج استقلابه خارج الجسم إما في البول أو البراز أو طرق أخرى.
يُعرف تطبيق طرق الحركية الدوائية لضمان علاج المرضى بأمان وفعالية بالحركية الدوائية السريرية. لقد سهّل إدخال الحركية الدوائية كنظام تطوير العلاج الدوائي العقلاني ،وفهم عمل الدواء و التمثيل الغذائي ،وفهم العلاقة بين التركيز والتأثير،وتنظيم الجرعات[29].



الشكل8:الحركية الدوائيةADME[30].

4-1- الامتصاص (Absorption)

يمثل مرور الدواء من مكان الاعطاء إلى الدوران الدموي ويكون الامتصاص كاملا في حال أعطي الدواء عن طريقً الوريد , حتى يصل الدواء إلى الدوران الدموي يجب أن يخترق الخلايا وأغشيتها الخلوية. وتتكون الأغشية الخلوية من طبقة ثنائية من الشحوم الفوسفورية (فوسفوليبيدات) تتوجه فيها الأقطاب المحبة للماء نحو الخارج والأقطاب المحبة للدسم نحو الداخل مع وجود بروتينات متوزعة ضمنها تساهم هذه البروتينات في نقل (امتصاص) بعض المواد بالإضافة إلى وجود قنوات تسمح بمرور بعض المركبات القطبية عبرها.

يتم امتصاص أو عبور المواد عبر الأغشية الخلوية بعدة اليات مثل :

- الانتشار السلبي (diffusion passive)
- النقل الفعال (active transport)
- الانتشار المسهل.(facilitated diffusion)
- النقل الخلوي (Endocytosis)

4-1-1- الانتشار المنفعل البسيط (diffusion passive)

الآلية الأكثر شيوعًا لامتصاص الأدوية هي الانتشار السلبي. يمكن تفسير هذه العملية من خلال قانون فيك للانتشار ،والذي يتحرك فيه جزيء الدواء وفقًا لتدرج التركيز من تركيز الدواء الأعلى إلى تركيز أقل حتى يتم الوصول إلى التوازن[31].

يمكن أن يحدث الانتشار السلبي في بيئة مائية أو دهنية. يحدث الانتشار المائي في الحيز المائي للجسم ، مثل الحيز الخلالي ، أو من خلال المسام المائية في بطانة الأوعية الدموية. لا يمكن للأدوية المرتبطة بالزلال أو بروتينات البلازما الكبيرة أن تتخلل معظم المسام المائية. من ناحية أخرى ، يحدث انتشار الدهون من خلال حجرة الدهون في الجسم. ولذلك ، فهو يعتبر العامل الأكثر أهمية لنفاذية الدواء بسبب العدد الأكبر من الحواجز الدهنية التي تفصل بين أجزاء الجسم. يمكن استخدام معامل التقسيم الدهني المائي للدواء لتحديد مدى سرعة تحرك الدواء بين الوسط الدهني والمائي.

4-1-2- النقل الفعال (Active transport)

تتم آلية هذا الامتصاص عبر ناقلات الأغشية بوساطة الناقل. يوجد في الجسم العديد من أنظمة نقل الأغشية المتخصصة بوساطة الناقل لنقل الأيونات و المواد المغذية ،خاصة في الأمعاء. الانتشار النشط هو نظام مستهلك للطاقة ضروري لامتصاص الجهاز الهضمي و إفراز العديد من الأدوية عن طريق الكلى والقنوات الصفراوية. تسهل هذه العملية امتصاص بعض الأدوية غير القابلة للذوبان في الدهون ، و التي تحاكي المستقلبات الفسيولوجية الطبيعية مثل 5- فلورويوراسيل من الجهاز الهضمي . وعلى النقيض من الانتشار السلبي ، يتيح الانتشار النشط حركة الأدوية من المناطق ذات تركيزات الدواء المنخفضة إلى المناطق ذات تركيزات الدواء الأعلى.

مع الانتشار النشط ، يرتبط الناقل بتكوين مركب مع الدواء. مما يسهل نقل الدواء عبر الغشاء ثم ينفصل على الجانب الآخر. قد يكون الجزيء الحامل محددًا بدرجة عالية لجزيء الدواء.يمكن للأدوية التي تتشارك في هياكل مماثلة أن تتنافس على الناقل في مواقع الامتصاص. نظرًا لتوفر عدد قليل فقط من الجزيئات الحاملة، قد تصبح مواقع الارتباط على الحامل مشبعة إذا كان تركيز الدواء مرتفعًا جدًا، وبعد ذلك لا تؤثر زيادة الجرعة على تركيز الدواء. في حين أن بعض الناقلات تسهل الامتصاص، فإن الناقلات مثل البروتين

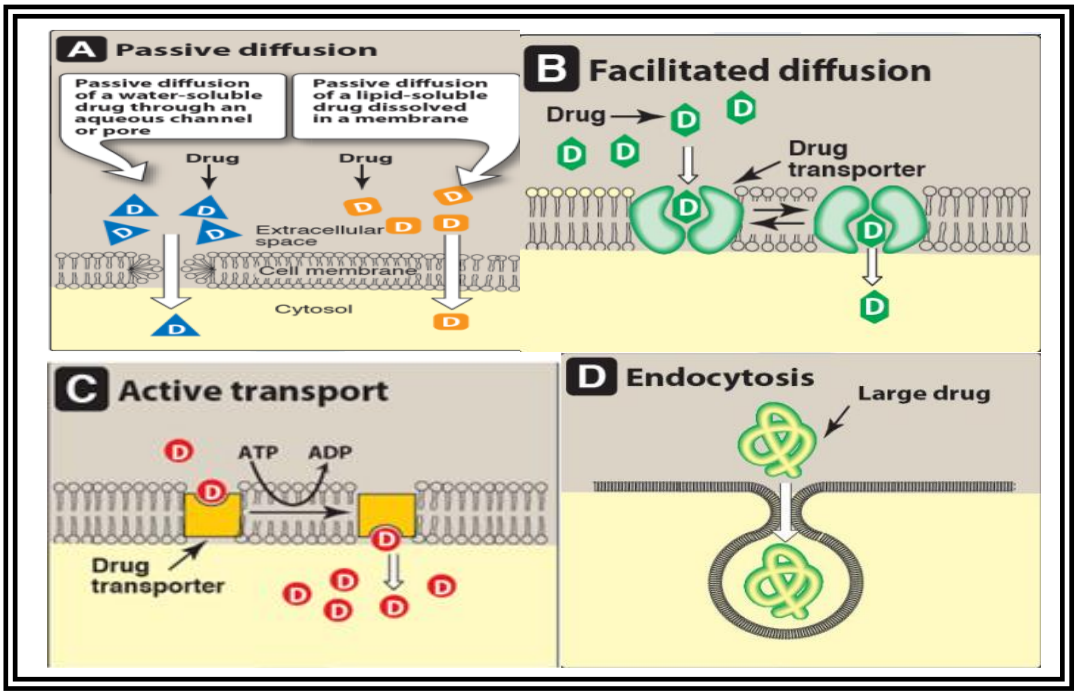
السكري (P-gp) يمكن أن تعيق امتصاص الدواء بشكل فعال. P-gp (MDR1) هو ناقل تدفق يعتمد على الطاقة ويسهل إفراز الجزيئات مرة أخرى إلى تجويف الأمعاء، مما يحد من الامتصاص الكلي[32].

4-1-3- الانتشار الميسر (Facilitated diffusion)

نظام نقل آخر يلعب دورًا ثانويًا في امتصاص الدواء. وهو مشابه لنظام الانتشار النشط من حيث أن كلاهما قابل للتشبع ويظهر انتقائية للأدوية وحركية تنافسية. ومع ذلك، فإن الاختلافات الرئيسية هي أن الانتشار الميسر لا يتطلب طاقة، وعلى عكس النقل النشط، لا يتيح الحركة ضد تدرج التركيز. مثال على نظام الانتشار الميسر هو ناقل الكاتيون العضوي 1 (OCT1)، الذي يسهل حركة الأدوية مثل الميتفورمين[33].

4-1-4- النقل الخلوي(Endocytosis)

تستخدم لنقل المواد التي تتميز بحجمها الضخم حيث تتم إحاطة جزيء الدواء بجزء من الغشاء الخلوي ويتشكل حويصل يحمل الدواء إلى داخل الخلية. ومثال ذلك نقل فيتامين B12 عبر جدار المعي بهذه العملية.



شكل9: أليات امتصاص الادوية.

4-2- التوزيع(Distribution)

تتوزع الأدوية بعد امتصاصها علي السوائل المختلفة في الجسم حيث تصل الأدوية للدم ومنه تتوزع إلي الأنسجة ,والأعضاء وسوائل الجسم ويعتمد توزيع الدواء داخل الجسم علي خواص الدواء الكيميائية و الفيزيائية[34].

يحمل الدواء لموقع تأثيره عن طريق المجرى الدموي ، و يتوزع الدواء في العضلات وأعضاء الجسم الأخرى وبدرجات متفاوتة ،وعادة ما يعرف التوزيع بكونه عملية انتقال عكسية للدواء من حجرة إلي أخرى ،وتؤثر بعض العوامل علي هذه العملية ومن ضمنها معدل التدفق الدموي المنطقي ، والحجم الجزيئي للمادة الفعالة و قطبيتها والارتباط بالبروتينات المصلية وتشكيل معقد ما مع جزئية أخرى[35].

4-3-الاستقلاب (Metabolism)

يُعَد من أهم المراحل التي قد تحدث بسببها عدة تفاعلات خطيرة، وأهم عضو في هذه المرحلة هو الكبد، حيث يُفرز عدة إنزيمات تعمل على تحويل الدواء النشِط غالبًا إلى حالة غير نشِطة، مما يُساعد على خروجها من الجسم. ومن أشهر الإنزيمات التي يُفرزها الكبد إنزيم يُسمَّى (CYP450)، والذي يؤثر على العديد من الأدوية[18]

تتم عمليات الاستقلاب بطورين هما :

الطور الأول وفيه يتحول الدواء إلي الشكل المستقطب أي الأكثر ذوبانا في الماء وتشمل الأكسدة و الاختزال و التميه . الطور الثاني الذي يشمل عمليات الاقتران أي المواد المحتوية علي مجموعات وظيفية أو المواد الناتجة من تفاعلات الطور الاول تدخل في عمليات ارتباط واقتران مع مواد كيميائية حيوية .

فتعمل عمليات الاقتران علي تعطيل التأثير الدوائي لكثير من الأدوية بالإضافة إلي أن يكون المواد الناتجة أكثر ذوبانا وسهولة طرحها عن طريقة الكلية[36].

4-4- الاطراح (Excretion)

يتم التخلص من جميع الأدوية في النهاية من الجسم، سواء بتحويلها كيميائياً أو عن طريق الكلى في البول. الأدوية القابلة للذوبان في الماء ومستقلباتها يتم التخلص منها بشكل كبير عن طريق الكلى. وبالتالي، فإن جرعات الأدوية تعتمد بشكل كبير على وظائف الكلى. بعض الأدوية يتم التخلص منها عن طريق الصفراء التي تفرزها الكبد وتخزن في المرارة. [37]

4-4-1-التخلُّصُ من الدواء في البول

تأثير عدة عوامل ، بما في ذلك بعض خصائص الدواء، على قدرة الكلى على إخراج الأدوية. لكي تتم إخراج الأدوية أو المستقلبات بشكل واسع في البول، يجب أن تكون قابلة للذوبان في الماء وأن لا تكون مرتبطة بشدة بالبروتينات في الدم. يمكن أن تؤثر حموضة البول، التي تتأثر بالنظام الغذائي والأدوية واضطرابات الكلى، في سرعة إخراج بعض الأدوية. في حالات تسمم ببعض الأدوية، يتم تغيير حموضة

البول عن طريق إعطاء مضادات الحموضة مثل بيكربونات الصوديوم أو المواد الحمضية مثل كلوريد الأمونيوم لتسريع إخراج الدواء[37].

2.4.4 التخلُّصُ من الدَّواء في الصفراء

تمر الأدوية عبر الكبد دون تغيير وتفرغ في الصفراء. وتتحول بعض الأدوية الأخرى إلى مركبات استقلابية في الكبد قبل أن تفرغ في الصفراء. في كلا العمليتين، تدخل الصفراء الجهاز الهضمي بعد ذلك. ومن هناك، يتم التخلص من الأدوية في البراز أو إعادة امتصاصها في الدم، وبالتالي إعادة تدويرها.

إذا كان الكبد لا يعمل بشكل طبيعي، قد تحتاج جرعات الأدوية التي يتم التخلص منها بشكل رئيسي عن طريق عملية التمثيل الغذائي في الكبد إلى تعديل. ومع ذلك، لا توجد طرق بسيطة لتقدير مدى استقلاب الكبد (وبالتالي التخلص) من الأدوية مثل حساب وظيفة الكلى[37].

5. خلاصة

تعتبر جميع تقنيات النمذجة الجزيئية ذات أهمية كبيرة لدورها الكبير في مجال الكيمياء الصيدلانية و العضوية. في هذا الفصل قدمنا العناصر الأساسية المتعلقة بـفهم منهجية الالتحام الجزيئي باعتباره واحدة من أولى الخطوات في تصميم الأدوية، حيث ان هذه الطريقة تقدم لنا فرضيات هيكلية حول كيفية تفاعل جزيء صغير ذو بنية معروفة وتوضع مجهول مع مستقبل, كما تطرقنا الى نظرية دالة الكثافة (DFT), التي تسمح بالتنبؤ بمجموعة كبيرة من الخصائص الجزيئية , التركيب الجزيئي , الطاقات المدارية , طاقات التأين...الخ . واخيرا تحدثنا عن الحركية الدوائية َ(ADME) لما لها من دور كبير في التنبؤ و تطوير تصميم الادوية.

في الفصل الموالي سنقوم بتطبيق هذه التقنيات لدراسة تفاعلات إنزيم -ربيطة في حالة مثبطات إنزيم AChEبهدف فهم ومقارنة آليات التفاعل.

المراجع

1. K. I. Ramachandran, G. Deepa, K. Namboori, Computational Chemistry and Molecular Modeling. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2008.

2. M. P. Barnett, C. A. Coulson, The Evaluation of Integrals Occurring in the Theory of Molecular Structure. The Royal Society. 1951; (243):221-249

4. A.Bensegueni, and M Bencharif. Etude théorique desmétabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan del'activité biologique. Diss. Université Frères Mentouri-Constantine 1, 2007.

6. https://www.researchgate.net/figure/Depiction-of-high-throughput-virtual-screening-multiple-ligands-are-docked-to-a-receptor_fig1_22530.1993

7. A. Chikhi, Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase Substances antibactériennes à l'aide de techniques de'docking'' (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université Mentouri de Constantine. Algérie. p : 12 ; 90, 2007.

8. M. Rarey, B. Kramer, T. Lengauer, G. Klebe, A Fast Flexible Docking Method Using an Incremental Construction Algorithm. J. Mol. Biol. 261:470-489, 1996.

9. M. Rarey, B. Kramer, T. Lengauer, Sélection automatique de bases multiples : amarrage de ligands protéiques basé sur une construction incrémentielle sans intervention manuelle. J. Mol.Des assisté par ordinateur. 11 : 369-384, 1997.

10. M. Rarey, S. Wefing, T. Lengauer, Placement of medium-sized molecular fragments into active sites of proteins. Journal of Computer-Aided Molecular Design 10: 41–54, 1996.

11. J.H. Holland, Adaptation in Natural and Artificial Systems. University of Michigan Press:Ann Arbor, MI, 1975

12. D. B.Kitchen, Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J :Docking and scoring. in virtual screening for drug discovery: methods and applications. Nature reviews Drug discovery, 3(11), 935-949.2004.

13. Howard, G. C., & Brown, W. E . Modern protein chemistry: practical aspects. CRC press.2001.

14. E. Thiriot : Modification des enzymes de reconnaissance et catalytiques. Développer des méthodes et déterminer la mécanique des Méthionine Sulfoxyde Réductases de classe A. Ceci par des docteurs universitaires : Chimie informative et théorique. Nancy.Université de Nancy. France. p 291, 2009.

15. flexible docking." Journal of molecular biology 267.3 .1997. 727-748

16. MR.Atkins, Mr .Peter William, and Mr .Julio De Paula. Chimie physique. De Boeck Supérieur.2013.

17. https://williams.chemistry.gatech.edu/structure/molecular_interactions/mol_int.html

18. S.Bouchagra, Modélisation des interactions proteine-petites molecules: etude de la relation structure–fonction dans le cas des lipases. diss. Thèse de doctorat]. Annaba: Université Badji Mokhtar.2018.

19. Holtrop, Klaas W. Visscher, Andrew R. Jupp, J. Chris Slootweg. Chapter Three – Steric attraction: A force to be reckoned with. Advances in Physical Organic Chemistry (54).2020. Pages 119-141.

20. W-R. Zhuang, Y. Wang, Peng-Fei Cui, and al . Applications of π-π stacking interactions in the design of drug- delivery systems. Journal of Controlled Release .(294)2019, Pages 311-326

21. Benavides, M. Rito-Palomares, J.A. Asenjo, in Comprehensive Biotechnology (Second Edition) .2011.

22. http://www.aspu.edu.sy/laravel-filemanager/files/34/1-introduction.pdf

23. https ://www .aquaportail.com /dictionnaire/definition /10287/force-de-van-der-waals

24. E. Wimmer, "Electronic Structure Methods", Dordrecht, Kluwer Sholl, D., & Steckel, J. A. Density theory, (1997) functional.introduction.John Wiley & Sons(2011). a practical

25. Sholl, D., & Steckel, J. A.John Wiley & Sons : Théorie fonctionnelle de la densité : une introduction pratique.2011.

26. J.K.Labanowski, & J.W.Andzelm, (Eds.). Density functional methods in chemistry. Springer Science & Business Media. .2012.

28. N.Ahmed Wazzan, F. Mohamed Mahgoub, DFT Calculations for Corrosion Inhibition of Ferrous Alloys by Pyrazolopyrimidine Derivatives, Chemistry Department, Faculty of Science, KinAbdul-Aziz University, Jeddah, KSA,2Institute of Graduate Studies and Research University of Alexandria, Egypt , Received December25. 2013; revised January accepted: .18.2014:8

29. Caldwell J, Gardner I, Swales N. An introduction to drug disposition: the basic principles of absorption distribution, metabolism, and excretion. Toxicol Pathol. 1995;23(2):102-14.

30. https://psteam11.wordpress.com/2011/11/18/pharmacokinetic

31. C.Bielinski, B.Kaoui. Numerical method to characterise capsule membrane-permeability for controlled drug delivery. Int J Numer Method Biomed Eng . 2022.38(2):e3551

32. Sunakawa H, Mizoi K, Takahashi R, Takahashi S, Ogihara T. Impact of P-Glycoprotein-Mediated Drug Endogenous Substrate Interactions on Androgen and Blood-Brain Barrier Permeability. J Pharm Sci. 2024;113(1):228-234.

33. T.Dujic,A Causevic,T. Bego, M.Malenica, Velija-Asimi Z, Pearson ER, Semiz S. Organic cation transporter1variants and gastrointestinal side effects of metformin in patients with Type 2 diabetes. Diabet Med. 2016 . Apr..33(4).511-4 .

36. https://www.arabsciencepedia.org/wiki/%D8%A7%D9%84%

37. A. Sedrati, W.Bakhti. "Conception par modélisation et criblage virtuel d'inhibiteurs de récepteur LSD1.

المراجع باللغة العربية

3. م. الشاعر تصميم الأدوية وبناؤها،الأردن، 2013 .ص07

5. ص . كباس و ر. هبال ، دراسة بواسطة النمذجة الجزيئية للبنية والخصائص الفيزيوكيميائية لبعض الجزيئات النيكليوزيدية المضادة للفيروسات، مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح ورقلة الجزائر ،كلية الرياضيات وعلوم المادة، قسم الكيمياء،2012.

27. خ. عبيد كزار, دراسة تأثير الشحنات الموجبة (2+, 1) والسالبة (2-, 1) على الشكل الهندسي كربلاء,2013.

34. بدوي الحلاق ,ور. عوني السعيد . علم الدواء الحديث- الطبعة الأولي – دار الصفاء للطباعة والنشر والتوزيع عمان الأردن.2005.

35. ل. قلعيه تأثير التداخلات الدوائية ـالغذائية علي التوافر الحيوي للأدوية .دكتوراه في التكنولوجيا الصيدلية والصيدلة الحيوية2015 .

الفصل الثالث :

دراسة نظرية "*in silico*" لبعض مثبطات انزيم الأستيل كولين استراز

من خلال هذا العمل تم اجراء دراسة نظرية (*in silico*) تتضمن اولا تحديد انماط التفاعل الموجودة بين انزيم اسيتيل كولين استراز (AChE و مجموعة من المثبطات باستخدام تقنية الالتحام الجزيئي , ثم القيام بحسابات نظرية الكثافة الوظيفية (DFT) لهذه المثبطات، اضافة الى تقييم خصائصها الحركية الدوائية (ADME), و ذلك بالاعتماد على مجموعة من البرامج و القواعد البيانية.

1- البرامج المستخدمة في الدراسة

1-1- برنامج Gaussian09w

Gaussian هو عبارة عن سلسلة برمجيات حاسوب تستعمل في الكيمياء النظرية أصدرها جون بوبل وفريقه البحثي في جامعة كارنيجي ميلون في البداية عام 1970 باسم جاوسيان 70. [1]

تم تحديثها باستمرار منذ ذلك الحين. في دراستنا استخدمنا اصدار guassion09w الذي يستخدم في الكمياء الحسابية و يدرس خواص الجزيئات والمركبات الكيميائية كما يقوم بإجراء مجموعة من العمليات الحسابية على المركبات الكيميائة ويوجد منه نسخة على نظام التشغيل الوينداوز وكذا نسخة مختلفة على نظام التشغيل لينيكس "lunix".

1-2- برنامج GaussView 05

هو برنامج مكمل لبرنامج Gaussian يتم من خلاله ادارة عمليات التحسين من حيث اختيار النوع و تحديد الاعدادات الخاصة بكل طريقة ,وكما انه يعمل على إظهار النتائج و الرسوم البيانية و الفراغية و حتى الحركية في حالة الاهتزازات و آليات التفاعلات,

1-3- برنامج HyperChem

يعتبرمن بين البرامج المستخدمة في النمذجة الجزيئية وهو برنامج متطور يعرف بجودته وسهولة استخدامه ، حيث يحتوي على عدة طرق حسابية تشمل الديناميكا الجزيئية, والميكانيكا الجزيئية والطريقة الكاوانتية, يكون مجال العمل ضمن نظام تشغيل ويناوز "windows".

يمتلك برنامج hyperchem ميزتين فريدتين، الاولى هي إحتوائه على مجموعة من أوامر البرنامج النصي الخاص به والتي تمكنه من تنشيط وظيفة من وظائف البرنامج، والثانية هو أنه يسمح باستبدال هيكل القائمة بالكامل بقوائم مخصصة[2].

4-1- برنامج Chem Draw

يتضمن رسم الهيكل الكيميائي للمركبات (2D) وانشاء نماذج كيميائية ثلاثية الأبعاد (3D) يسمح بمعرفة بعض المعلومات الكيميائية كالصيغة الجزيئية , الكتلة المولية و التسمية كما يمكننا من كتابة المعادلات الكيميائية وحساب البيانات الكيميائية وما إلى ذلك و بإمكان البرنامج محاكاة الحالة الفراغية للمركب وتقدير الإعاقة الفراغية فيه.

5-1-برنامج Discovery Studio:

BIOVIA Discovery Studio هو برنامج سطح مكتب صممته شركة Dassault Systèmes يتكون من واجهة بيانية (graphique) سهلة الاستخدام لتصميم الأدوية وأبحاث النمذجة ومحاكاة البروتين .كما يعد برنامج مجاني لتصوير انماط التفاعل ثنائي الأبعاد ويتم تحميله عبر الموقع :

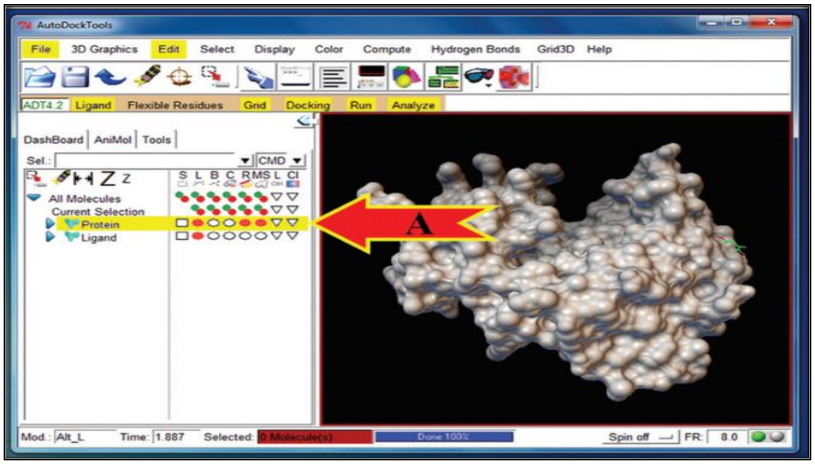
https://biovia-discovery-studio-2019-client.software.informer.com/download

6-1- برنامج AutoDock

يعد AutoDock برنامج الالتحام الجزيئي الأكثر شيوعًا بفضل دقته العالية وتعدد استخداماته مما أدى إلى توسيع نطاق استخدامه. يتيح هذا البرنامج التنبؤ بتفاعل الروابط مع الأهداف الحيوية الجزيئية. تم تطويره بواسطة موريس، حيث يوفر الإصدار الحالي الذي يستخدم الخوارزمية الجينية lamarckien (AGL) ووظيفة تسجيل الطاقة الحرة التجريبية بشكل عام نتائج التحام قابلة للتكرار للروابط مع حوالي 10 روابط مرنة. وهو البرنامج الأكثر استشهاداً واستخداماً بين برامج الالتحام الجزيئي الأخرى نظرا أيضا لمجانيته . [3] يتم تحميله من الموقع https://autodock.scripps.edu/download-autodock4.

يمثل AutoDockTools (ADT) الواجهة البيانية (graphique) لبرنامج AutoDock (الشكل 8). لقد تم تطويره باستخدام نفس الطريقة التي تم بها بإنشاء برنامج AutoDock. يتم تنفيذ حسابات AutoDock في عدة خطوات بواسطة البرامج الفرعية الثلاثة:

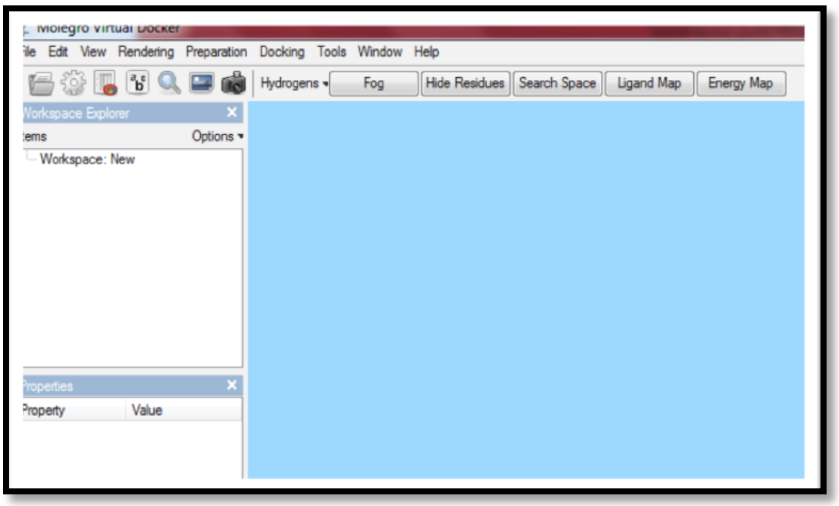
- إعداد ملفات الإحداثيات باستخدام AutoDockTools
- الحساب المسبق للارتباطات الذرية مع AutoGrid
- اجراء عملية الالتحام وتشكيل المعقد مع AutoDock
- تحليل النتائج باستخدام AutoDockTools. [3]



شكل 1: واجهة برنامج Autodock tools

7-1- برنامج Molegro virtuel Docker

برنامج Molegro Virtual Docker (MVD 2012.5.5.08). يسمح باجراء الالتحام الجزيئي (docking) لربيطة (ligand) مع البروتين (receptor) باستعمال مجموعة حسابية متكاملة تمامًا. يحتوي برنامج MVD على أربع خوارزميات بحث وأربع وظائف تسجيل أصلية. كما ان بإمكانه الأخذ بعين الاعتبار ان كان لدينا جزيئات ماء أم لا في عمليات الالتحام، يحتوي على إجمالي 32 بروتوكول للالتحام. كما يتميز بمعالجة جميع جوانب عملية الالتحام من إعداد جزيئات ,تحديد إمكانات مواقع الربط مع المستهدف البروتين ، و التنبؤ ملزمة وسائط بروابط. كما انه يتميز بواجهة مستخدم سهلة مقارنة مع غيره من برامج الالتحام (شكل 2).



شكل 2: واجهة برنامج Molgro Virtuel Docker.

2- البنية الثلاثية لبروتين AChE

تم تحميل البنية الثلاثية لبروتين AChE ذو الرمز 1DX6: PDB Id انطلاقا من بنك بيانات البروتينات Protein Data Bank (PDB) و ذلك بالنقر على الرابط : http://www.pdb.org. البنية الثلاثية المحملة حددت بتقنية الاشعة السينية (RX) وبدقة (resolution) تقدر ب 2.30 A° مصدرها (Organism) هو *Tetronarce californica* وهي لا تحتوي على الطفرات (mutation), تحتوي هذه البنية على مثبط تنافسي معروف يسمى ب Galantamine مرتبط على مستوى الفجوة الرئيسية.

3. بنية الربيطات

نقوم برسم كل مثبط من المثبطات المدروسة في مساحة عمل برنامج ChemDraw. ثم نحفظه بالامتداد (.mol) نفتح هذا الملف في برنامج HyperChem8.0.10 ثم نقوم بعملية تحسين اولي و ذلك باستخدام طريقة الميكانيك الجزيئة MM^+. بعدها نقوم بعملية تحسين اخرى بواسطة برنامج Gaussian 09 لنتحصل على بنية محسنة و أكثر استقرارا نختار طريقة DFT بالقاعدة B3LYP/6-311++G(d,p) .

4 - تحضير كل من المستقبل و الربيطة

تم اجراء عملية الالتحام الجزيئي باستعمال برنامجين Autodock و Molegro Virtuel Docker فيما يلي سنذكر التحضيرات الخاصة بكل من المستقبل و الربيطة المعتمدة في كليهما:

برنامج Autodock

قبل ادخال البروتين الى Autodock نقوم بتحضير المعقد المحمل (1DX6) مسبقا داخل برنامج Biova Discovery studio , نقوم بنزع جزيئات الماء و كذلك المركبات (substrat) المرتبطة التي لا نحتاجها, بعد ذلك نضيف ذرات الهيدروجين "Polar only" و نضيف الشحنات "Add Kollman charges" يتم حساب شحنات كولمان باستخدام مجال قوة AMBER وتعتمد على كثافة الإلكترون المداري الجزيئي للجزيء. تعتبر هذه الشحنات أكثر دقة من الناحية الفيزيائية، لأنها تأخذ في الاعتبار البيئة الكيميائية للجزيء، وغالبًا ما تستخدم للبروتينات والجزيئات البيولوجية الكبيرة الأخرى.

بعد ذلك يتم حساب شحنات. " Comput Gasteiger " التي تعتمد على كهروستاتيكية الجزيئات ويتم حسابها عن طريق جمع كثافة الإلكترون الذري في الجزيء.

برنامج Molegro Virtuel Docker (MVD)

بالنسبة لبرنامج (MVD) تتم عملية التحضير بإضافة ذرات الهيدروجين الناقصة, تعديل الشحنات. تصحيح نوع الرابطة بسيطة أو مزدوجة , اضافة الى الكشف عن زوايا الفتل وزوايا المرونة. في عملية التحضير ننقر على الخيار "Always" حتى يتم تصحيح كل النقائص التي تحتويها ملفات PDB.

5- تعيين موقع الربط "Binding Site"

يتم تحديد موقع الربط بالنسبة لكل برنامج كمايلي:

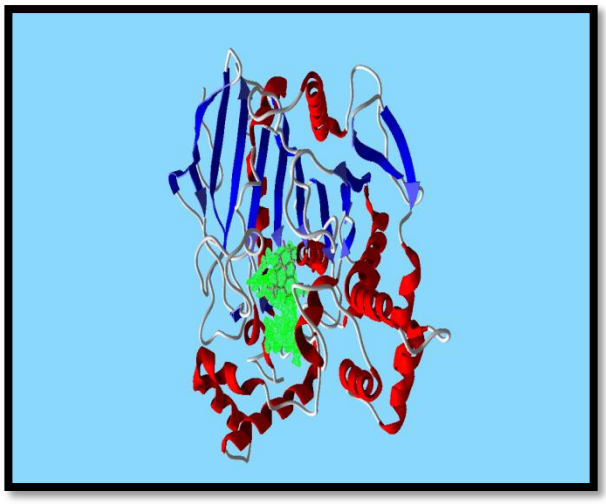
☒ برنامج MVD

يتم الكشف عن الفجوات الموجودة في المستقبل بواسطة برنامج MVD بصفة تلقائية نظرا لوجود خوارزمية مدمجة, كشف البرنامج عن خمس فجوات في بروتين AChE (شكل 3) وهي مرتبة حسب الحجم في الجدول التالي:

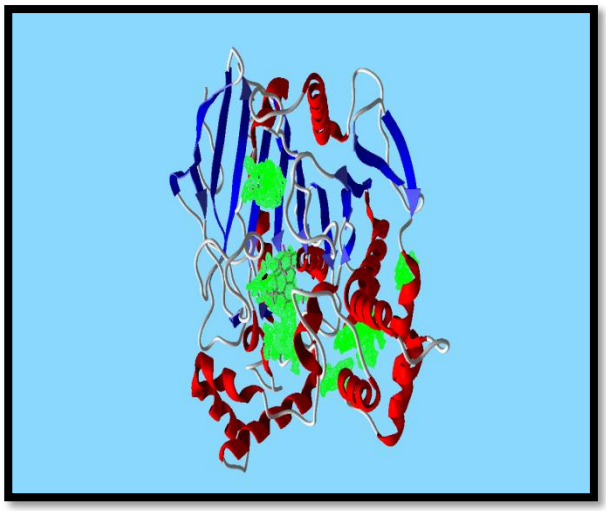
جدول 1. عدد وحجم فجوات المستقبل.

المستقبل	رقم الفجوة	حجم الفجوة ($A°^3$)
انزيم (AChE)	1	221,69
	2	118.78
	3	70.65
	4	33.79
	5	27.64

تم تحديد الفجوة الاولى على انها الاساسية انطلاقا من المعطيات البيبليوغرافية حول بنية هذا الإنزيم والتي تم التطرق اليها في الفصل الأول. وايضا نظرا لوجود مثبط تنافسي مرتبط في البنية البلورية للإنزيم المدروس المحمل من بنك البروتينات . كما يمكن التأكد من صحة موقع الفجوة الرئيسة وذلك بمعاينة الأحماض الأمينية المحيطة بالفجوة(الشكل5).

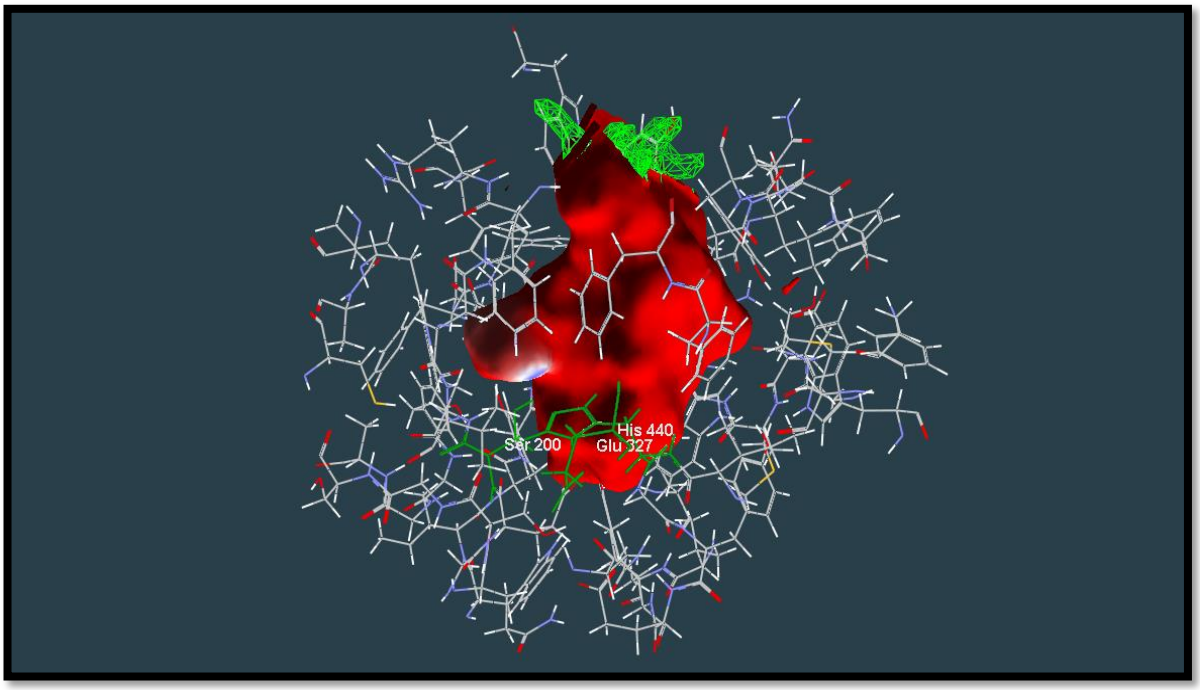


الشكل 4: الفجوة الرئيسية لإنزيم AChE



الشكل 3: فجوات إنزيم AChE.

.



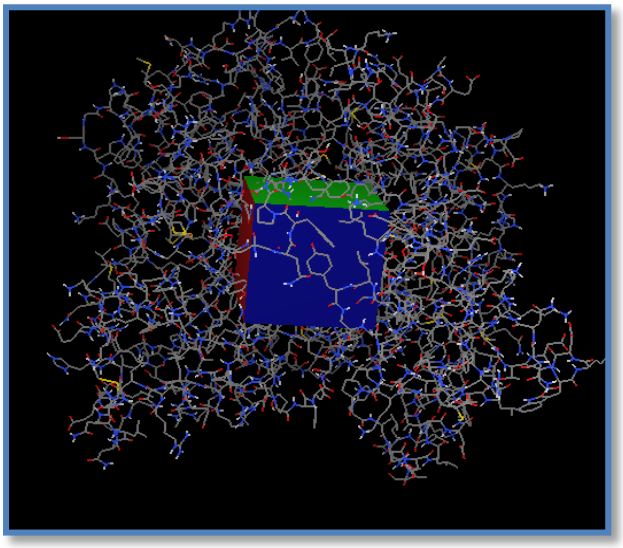
الشكل 5: شكل الفجوة الرئيسية وتموضع الأحماض الامينية المكونة للثالوث المحفز.

☒ برنامج Autodock

الموقع الذي اجري فيه الالتحام ممثل بمكعب "Box" (شكل 6) تم ضبطه ابعاده واحداثياته وفق الابعاد الموضحة في الجدول التالي و التي تتوافق مع جميع المركبات المدروسة.

جدول2. إحداثيات و ابعاد "Box "

ابعاد " Box "			احداثيات "Box "		
40	40	40	Z	Y	X
			64.29	66.15	3.46



شكل 6 : موقع "Box" المختار بالنسبة لإنزيم AChE.

6- بروتوكول الالتحام الجزيئي

☒ **باستعمال برنامج MVD**

الخوارزمية المعتمدة خلال هذه الدراسة هي MolDock optimizer وهي عبارة عن خوارزمية مدمجة في البرنامج تنتمي إلى عائلة الخوارزميات التطورية. [4]

المعقد المتشكل أثناء عملية الإلتحام هو المعقد الأكثر إستقرارا والذي سيوافق أقل قيمة ل MolDock Score في الطاقة، خلال عملية إلتحام سيعتبر البرنامج أن الربيطة هي جسم مرن والمستقبل (البروتين) جسم صلب.
قيمة مساحة البحث "Contraint " تساوي15A°

أما بالنسبة لتابع التسجيل المعتمد هو Moldock Score يعطى بالعلاقة التالية:

$$E_{scor} = E_{inter} + E_{intra} \quad \text{.....(Eq.1)}$$

E_{intra}: تمثل طاقة التفاعل الداخلية للربيطة, E_{inter} : تمثل طاقة التفاعل ربيطة- بروتين والمعطاة بالعلاقة التالية:

$$E_{inter} = \sum_{i \in ligand} \sum_{f \in protein} \left[E_{plp(r_{if})} + 3320 \frac{q_i q_f}{4r^2_{if}} \right] \quad \text{.....(Eq.2)}$$

هذه المعادلة تأخذ بعين الاعتبار كل الذرات الثقيلة للربيطة (i) و للبروتين (j) ,(E_{PLP}) يمثل الجهد الخطي. يتم ضبط عدد الدورات في البرنامج عند القيمة 30 ويحدد أدنى انحراف بين النماذج المصممة للربيطة (the pose) ب A° 2 هذه القيمة لا تسمح للبرنامج بتخزين النماذج المصممة المتشابهة في الموضع. في النهاية يتم ترتيب أفضل النماذج المصممة للربيطة تصاعديا على حسب قيمة التابع MoldockScore.

☒ **باستعمال برنامج AutoDock**

بالنسبة لبرنامج Autodock المعقد الأكثر استقرارا والذي يوافق أقل قيمة للطاقة Δ G (Eq.3)

$$\Delta G = \Delta G(vdw) + \Delta G(Hbond) + \Delta G(elec) + \Delta G(tor) + \Delta G(sol) \ldots\ldots (Eq.3)$$

حيث :

ΔG(Vdw): طاقة الروابط نوع فاندرفالس

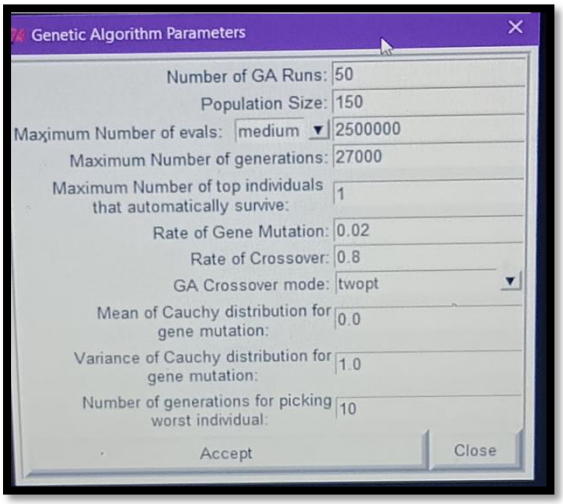
Δ G(*Hbond*) :طاقة الروابط الهيدروجينية

ΔG(elec) : طاقة التفاعل الكهروستاتيكي

ΔG(tor):يعبرعن ارتفاع طاقة النظام نتيجة لتقييد دوران وانتقال الربيطات عند تشكل المعقد ربيطة-مستقبل

ΔG(sol): يتعلق بالانتروبي ويصف تغييرات الطاقة في النظام أثناء تحلل الترابط (desolation) لحظة تشكل المعقد ربيطة-مستقبل

اعتمدنا في دراستنا على الخوارزمية الجينية *lamarckien* (LGA) .وتم ضبط الاعدادات كما في الصورة الموالية.



شكل 7: اعدادات الخوارزمية الجينية المستعملة في برنامج Autodock.

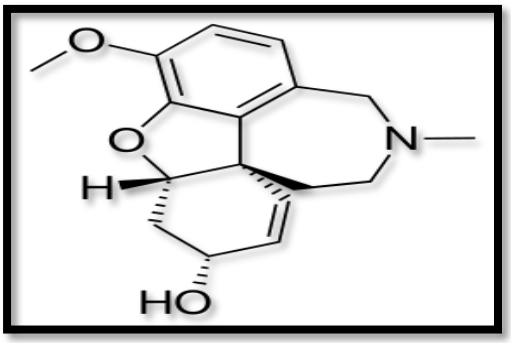
7- اجراء عملية Redocking

تتم عملية (redocking) بنزع الربيطة الموجودة في المعقد المحمل من بنك البروتينات ثم نجري لها عملية الالتحام اذا تم ارجاع الربيطة إلى نفس مكانها الاولي وبنسبة تطابق كبيرة يكون نتائج البرنامج النظرية تقترب إلى الحقيقة. رياضيا نعبر عن هذا الكلام بحساب مقدار الإنحراف (RMSD) بين موقع نموذج البنية البلورية المعرف بالإحداثيات الديكارتية ($x_{Cristal}$, $y_{Cristal}$, $z_{Cristal}$), والنموذج المصمم بالبرنامج (pose) ذو الإحداثيات الديكارتية (z_{pose}, x_{pose}, y_{pose}). [5]

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}\left(x_{cristali} - x_{posei}\right)^{2} + \left(y_{cristali} - y_{posei}\right)^{2} + \left(z_{cristali} - z_{posei}\right)} \quad \text{Eq. 3}$$

الربيطة الموجودة في معقد 1DX6 هي قلويد ثالثي (tertiary alkaloid) تسمى ب Galantamine (شكل8) دواء مستخدم لعلاج الزهايمر الخفيف إلى المتوسط، وعدد آخر من حالات قصور الذاكرة, تم عزله من مصدر نباتي , [6]

وهو مثبط نوعي , تنافسي وقابل للعكس لإنزيم AChE, سنقوم بإجراء عملية redocking باستعمال كلا البرنامجين MVD و Autodock, قيم RMSD المتحصل عليها موضحة في الجدول(3)

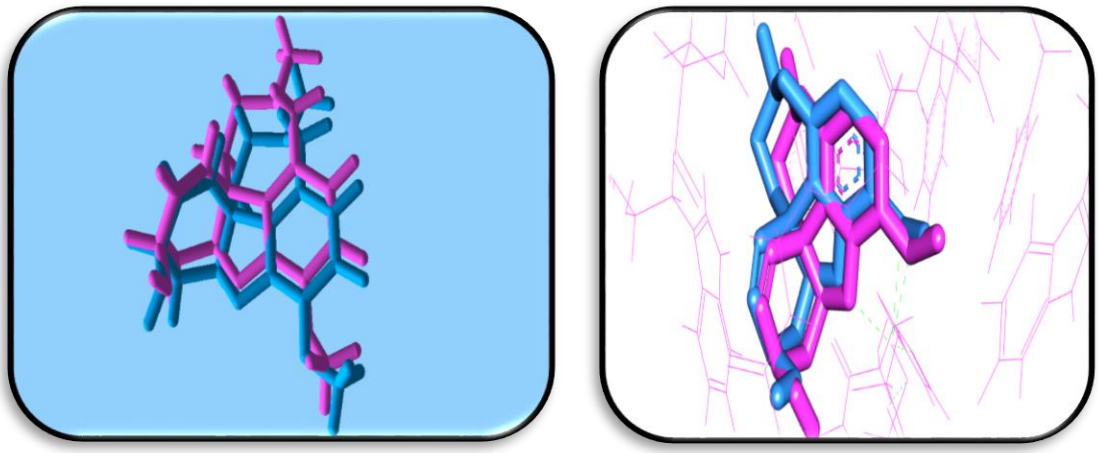


شكل 8: البنية الكيميائية لربيطة Galantamine.

جدول 3: قيم RMSD المحسوبة لربيطة Galantamine ببرنامج (MVD وAutodock)

المعقد	رمز الربيطة	RMSD (MVD)	RMSD(Autodock)
1DX6	GNT	0.77	0.79

قيمة الانحراف RMSD المحسوبة باستعمال كلا البرنامجين متقاربة جدا و اقل من2A° (RMSD<2A°), مما يثبت كفاءة كلا البرنامجين وقدرتهما على إعطاء نتائج قريبة جدا من الحقيقة. وهذا ما يظهره التطابق الموجود بين موقع النموذج المصمم بالبرنامج وموقع نموذج البنية البلورية للربيطة (شكل9).



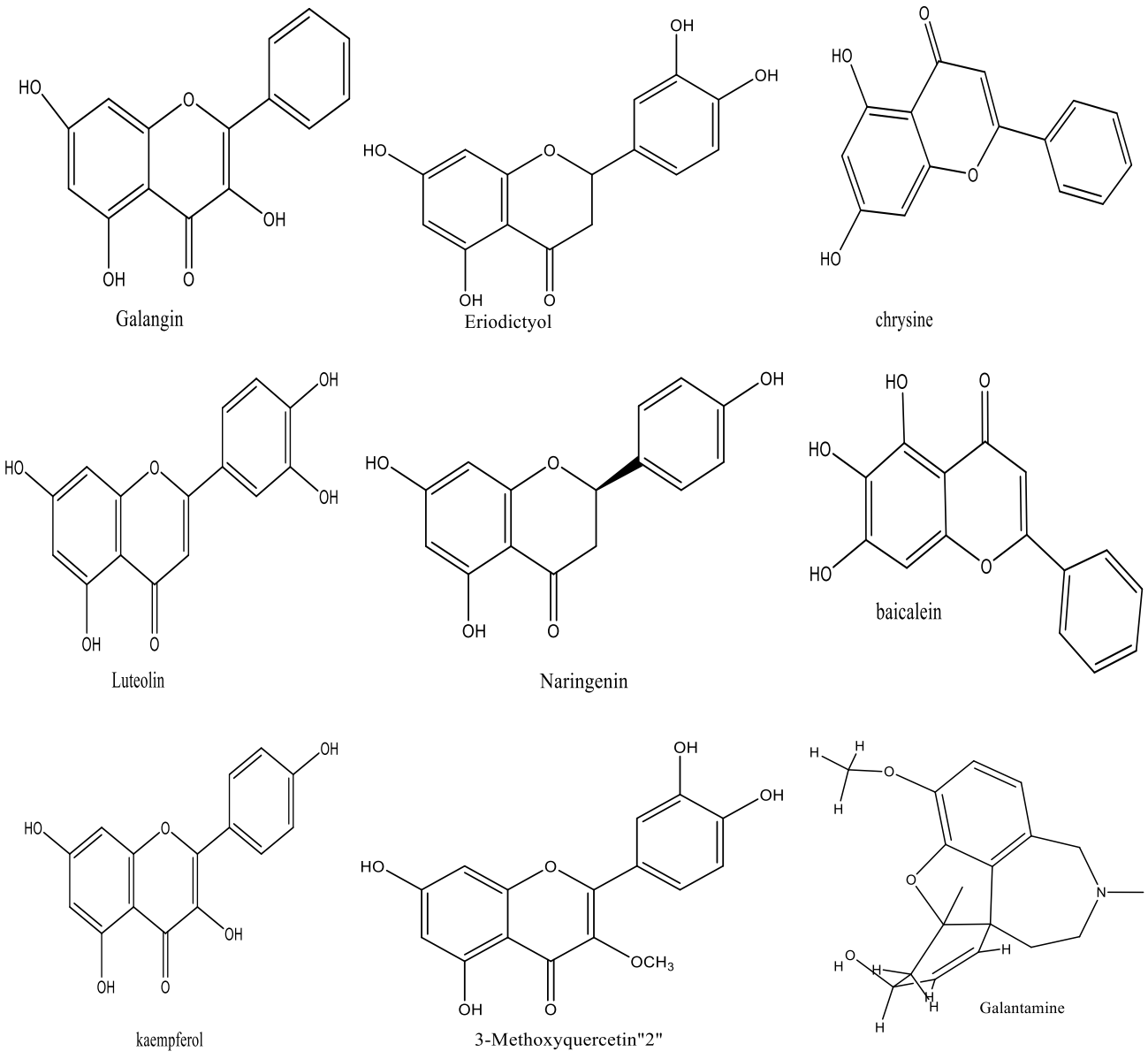
(B) **(A)**

شكل9: نسبة التطابق بين النموذج المصمم بالبرنامج (الأزرق) ونموذج البنية البلورية (الوردي) لربيطة Galantamine باستعمال برنامج Autodock (A) و MVD (B).

8- دراسة انماط التفاعل بين انزيم AChE و المثبطات المدروسة

المثبطات المعنية بالدراسة تنتمي الى عائلة الفلافونيدات, يتواجد هذا النوع من المركبات في جميع أجزاء النباتات، ويعتبر من المكونات الأساسية لمعظم الأطعمة النباتية, [7]

هذه المركبات أثبت تجريبا ان لها فعالية تثبيطيه لإنزيم AChE, لذلك سنقوم بإجراء التحام جزئي لهذه المثبطات مع انزيم AChE.



شكل 10: البنية الكيميائية (2D) للمركبات المعنية بالالتحام الجزيئي.

بعد اجراء عملية الالتحام الجزيئي للمركبات المدروسة باستعمال كلا البرنامجين MVD و Autodock تحصلنا على نتائج الطاقة الموضحة في الجدول الموالي:

جدول 4: طاقات و انماط الربط للمركبات المدروسة بكلا البرنامجين Autodock و MVD.

اسم المركب	lΔG(Kca /mol) Autodock	MoldokScore (U.A) (MVD)	روابط هيدروجينية	روابط فاندرفالز	روابط هيدروفيبية
Chrysin	-4.75	**-108.12**	HIS440, GLU199 SER200, GLY119 GLY118	TYR442, TYR121, PHE290, TRP84, ALA201, GLY441,GLY117, ILE439, ILE444	HIS440 PHE330 PHE331 TYR334
3-Methoxy quercetin	-4.77	**-110.30**	SER200, GLU199 GLY118, HIS440 GLY119	TRP84, GLY441, ILE444 GLY117, TYR442 TYR121 , ILE439, ALA201	PHE290 TYR334 PHE331 PHE330
Kaempferol	-5.21	**-116.63**	TRP84, GLU199 GLY123, GLN69	TYR334, ASP72 TYR70, VAL71, PRO86, ASN85 SER124, LEU127, GLY117 GLY118, SER200, ILE444 HIS440, PHE330	GLY441 TYR121 SER122
Eriodictyol	-5.96	**-118.5**	GLU199, GLY123 GLN69	TYR130, SER200, ILE444, HIS440, PHE330 ,ASN85 PRO86, TYR70 VAL71, ASP72, TYR334	GLY117 SER122 GLY441 TRP84 TYR121
Luteolin	-2.94	**-122,41**	PHE330, TYR121 GLU119	TRP279, GLY119, GLY118 PHE290, SER200, GLY117 TYR130, ILE444, TRP84	HIS440 PHE331 TYR334 GLY441
Naringenin	-5.41	**-112.09**	,TYR70 TRP84 PHE330	VAL71, PRO86, ASN85, SER122, GLN69, LEU127 GLY123, PHE330	ASP72 TYR334 TYR121
Baicalien	-7.24	**-126.8**	GLU199, GLY119	TRP84, GLY441,TYR130, ILE444,GLY202,ALA201 PHE290,PHE331,TYR121 ,GLY118, TRP233	SER200 GLY117 HIS440 PHE330 TYR334
Galangin	-5.98	**-112.26**	HIS 440, SER200 GLY118, GLY119 GLU 199	ALA201, TYR121, PHE290, ILE439,TYR442, GLY441 TRP84, ILE444, GLY117	PHE331 TYR334 PHE330

TRP233 PHE331 TRP84 TYR121 PHE330	PHE290, GLY119, PHE288,ALA201, HIS440,GLY441 ILE44 GLY117, TYR130	GLU199, GLY118 SER200	**-129.11**	-9.44	Galantamine

- حسب الجدول نجد ان كل من المركبات التالية: Naringenin, Eriodictyol, Galangin, Kaempferol ,Chrysin ,3-metoxy quercetin تتميز بنسب تثبيط متوسطة الى ملحوظة وهذا ما تترجمه قيم الطاقة ΔG وكذلك قيم MoldockScore المتحصل عليها ببرنامج Autodock و MVD على الترتيب.
- بالنسبة لمركب Luteolin وجدنا هناك اختلاف , فقيمة MoldockScore المحسوبة ببرنامج MVD تعبرعن كفاءة تثبيط قوية بينما قيم ΔG المحسوبة ب Autodockتعبر عن نسبة تثبيط عادية.
- اما بالنسبة للمركبين : Galantamine و Baicalein فيتميزان بنسبة تثبيط عالية تتوافق مع قيم الطاقة ΔG المتحصل عليها والتي تساوي -8.73 kcal/mol و -7.24 kcal/mol على الترتيب. بالنسبة لمركب.
- قيم نسب التثبيط التجريبية المتحصل عليها في الأعمال السابقة تتوافق على العموم مع قيم الطاقة المتحصل عليها, حيث ان المركبات التي لها نسب تثبيط من متوسطة الى ملحوظه نجد قيم IC_{50} تتراوح بين 3 µM الى 19 µM اما القوية من 0,61 µM حتى 1,26 µM لمركبي Galantamine و Baicalein **[9-7]**. مع العلم ان قيم IC_{50} التجريبية تتغير من عمل الى اخر وذلك راجع الى اختلاف شروط التجربة وايضا الى مصدر الانزيم, مما لا يسمح لنا بإجراء مقارنة حرفية بين قيم الطاقة المتحصل عليها و قيم IC_{50}
- استقرار المعقدات الناتجة راجع الى مجموعة من انماط التفاعل الموجودة بين المثبطات المدروسة و انزيم AChE بالنسبة لهذه المثبطات لاحظنا تواجد 3 انواع من انماط التفاعل : الروابط الهيدروجينية, تفاعلات من نوع فاندير فالز, تفاعلات هيدروفيبية, مع العلم ان انماط التفاعل درست بالنسبة للمعقدات المتشكلة باستعمال برنامج Autodok وذلك للتوافق النسبي لنتائج طاقته مقارنة مع MVD.

مركب Kaempferol

Kaempferol مركب ذو نسبة تثبيط متوسطة استقراره داخل الفجوة الرئيسية لبروتينَ AChEناتج عن (شكل11):

- تشكل 4 روابط هيدروجينية قوية مع الأحماض الأمينية التالية : TRP84, GLU199, GLY 123 GLN69

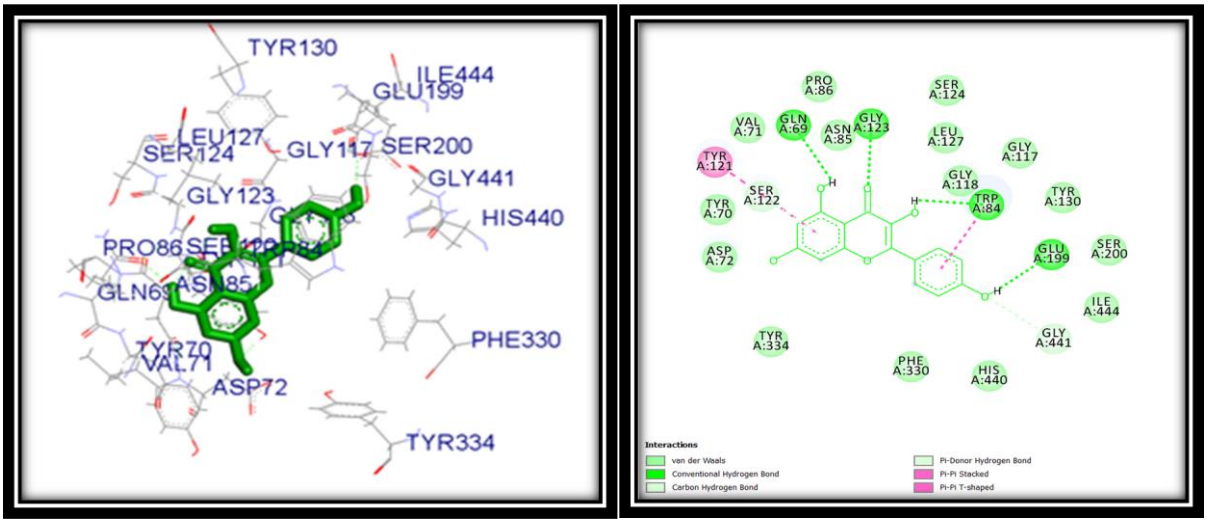
- رابطة هيدروجينية ضعيفة غير تقليدية (carbon hydrogen bond) مع الحمض الاميني GLY441 سمي هذا النوع من الروابط بغير التقليدي , حيث في السابق لم يتم اعتبار الكربون مانحًا لرابطة الهيدروجين نظرًا لانخفاض سالبيته الكهربية نسبيًا مقارنة بالأكسجين والنيتروجين. ومع ذلك، فقد أوضحت العديد من

الدراسات أنه حتى ذرات الكربون الأليفاتية قادرة على تكوين روابط هيدروجينية ضعيفة. في المقابل، مع زيادة الاستقطاب بسبب الذرات المجاورة، يمكن لذرات الكربون نظريًا أن تشارك في روابط هيدروجينية قوية مثل تلك التي تشكلها الجهات المانحة التقليدية، وتحديدًا الأكسجين أو النيتروجين. [10] [11]

- تفاعلين هيدروفيبية π-π : الاول مع الحمض الاميني TRP84 (T-shaped) و الثاني مع TYR121 (π-π stacked) .

- العديد من تفاعلات من نوع فان دير فالز (VDW) مع الاحماض الامينية التالية : TYR334, ASP72 TYR70, VAL71, PRO86, SER124, LEU127, GLY117, GLY118, SER200, ILE444, ASN85, HIS440, PHE330.

عند فحصنا لمكان تموضع مثبط Kaempferol تبين لنا انه اغلب المركب شغل الحلق العطري (aromatic gorge) الجزء المسؤول عن توجيه الركائز.



شكل 11: تموضع 3D و انماط التفاعل لمركب Kaempferol.

مركب Eriodictyol

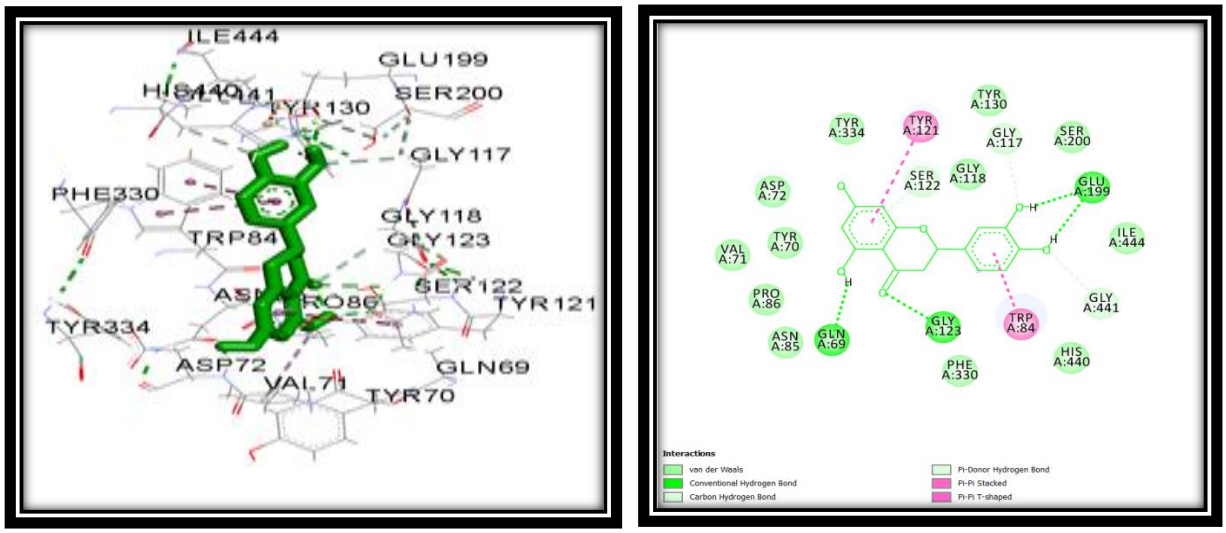
يتميز مركب Eriodictyol بكفاءة تثبيطيه ملحوظة , استقراره على مستوى الحلق العطري (aromatic gorge) يعيق الركائز (Substrat) من الدخول الى الموقع النشط خصوصا و ان لديه ارتباطات مع الموقع المحيطي , انماط التفاعل المسجلة هي كالتالي (شكل 12) :

- 4 روابط هيدروجينية قوية , اثنان منهما مع الحمض الاميني GLU199, و واحدة مع GLY123, و الاخيرة مع GLN69.

- رابطتين هيدروجينيتين ضعيفتين (carbon hydrogen bond) مع الحمضين الامينين GLY441, GLY117.

- تفاعلين هيدروفيبية π-π (π-π stacked) مع الحمضين الامينين TRP84, TYR121

- العديد من تفاعلات من نوع فان دير فالز (VDW) مع الاحماض الامينية التالية : TYR130, SER200 ILE444, HIS440, PHE330 ,ASN85, PRO86, TYR70 VAL71, ASP72, TYR334.

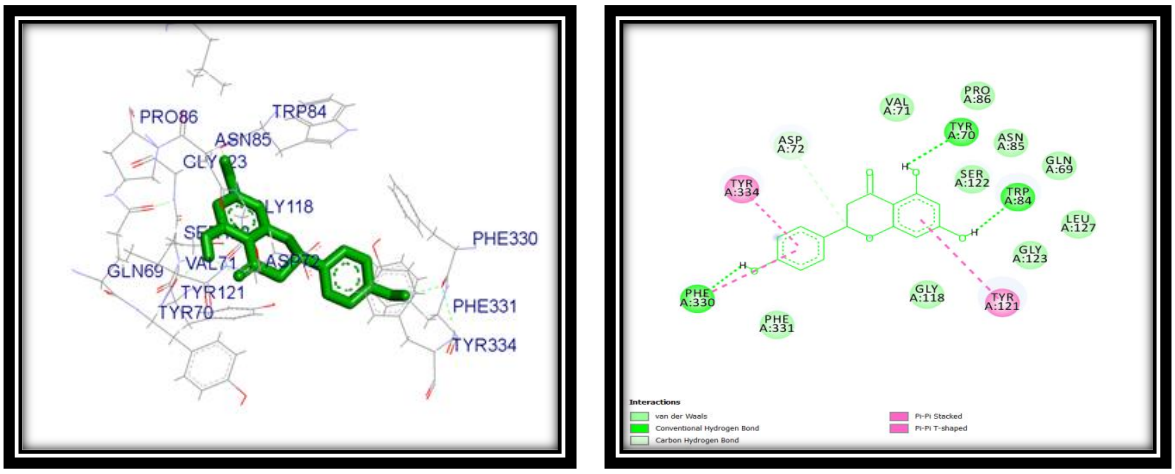


الشكل 12: تموضع 3D و انماط التفاعل لمركب Eriodictyol.

مركبNaringenin

استقر مثبط Naringenin على مستوى الحلق العطري (aromatic gorge) وبالضبط في منتصف الطريق للأعلى (bottlenek) مع ارتباط وثيق مع الموقع المحيطي و ذلك نتاج التفاعلات التالية (شكل13):

- 3 روابط هيدروجينية مع الاحماض الامينية التالية: TYR70, PHE330, TRP84
- رابطة هيدروجينية غير تقليدية (carbon hydrogen bond) مع الحمض الاميني ASP72
- تفاعلات فاندرفالس مع الاحماض الامينية التالية: VAL71, PRO86, ASN85, SER122 GLN69, LEU127 ,GLY123, PHE330



شكل 13: تموضع 3D و انماط التفاعل لمركب Narigenine.

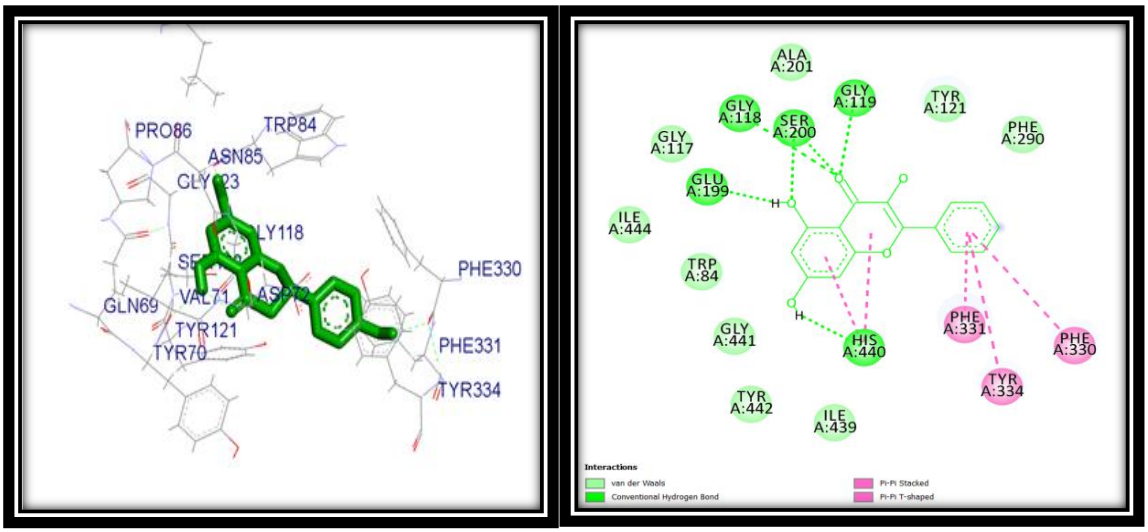
مركبGalangin

امتد مركب Galangin عبرالعنق ليرتبط مع الاحماض الامينية للموقع النشط بالضبط للموقع الأستيري (esteratic site)ارتباطه في هذا الموقع ناتج عن (شكل 14):

- 5 روابط هيدروجينية مع الأحماض الأمينية التالية: HIS440, SER200, GLY119 ,GLY:118 ,GLU199

- تفاعلات هيدروفيبية : π-π stacked مع الحمضين الامينين PHE330, PHE331 , و T-shaped مع TYR334 ,HIS440.

- تفاعلات من نوع فاندر فالس مع الاحماض الامينية : ILE444, GLY117,ALA201, TYR121, PHE290 ILE439,TYR442, GLY441, TRP84,



شكل 14: تموضع 3D و انماط التفاعل لمركب Galangin.

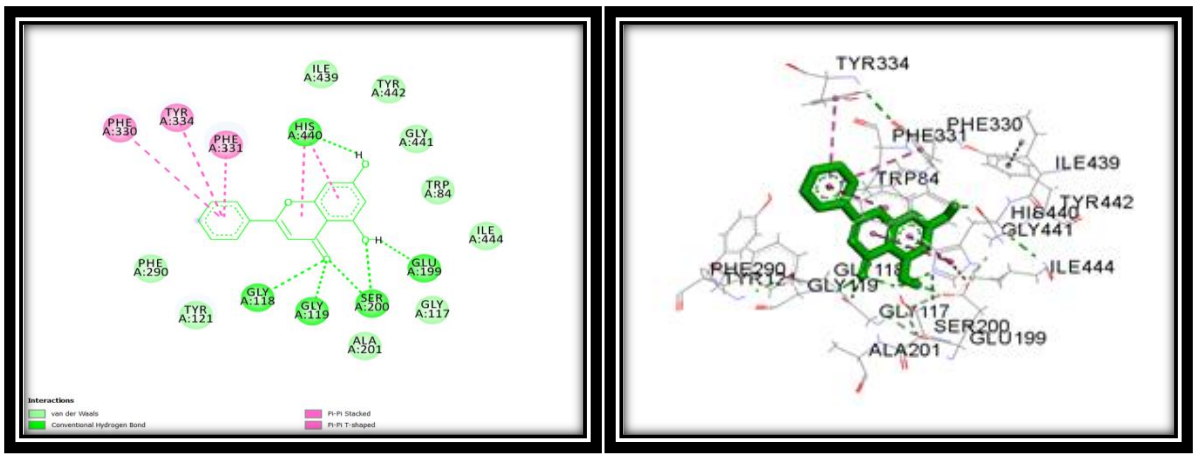
مركب Chrysin

بالنسبة لمركب Chrysin نجد ان ثلثي المركب عبر العنق باتجاه الموقع الفعال ليستقر بفعل انماط التفاعل التالية (شكل15):

- روابط هيدروجينية متشكلة : 4 روابط مع الأحماض الامينية التالية: GLY118 ,GLY119,GLU199, HIS440 , رابطتين مع SER200, رابطة مع HIS440

- تفاعلات هيدروفيبية :π-π stacked مع PHE330, PHE331, TYR334 وT-shaped معHIS440

- عدة تفاعلات فاندرفالس مع الأحماض الامينية التالية: TRP84 ,PHE290 ,TYR121, TYR442



شكل 15: تموضع 3D و انماط التفاعل لمركب Chrysin.

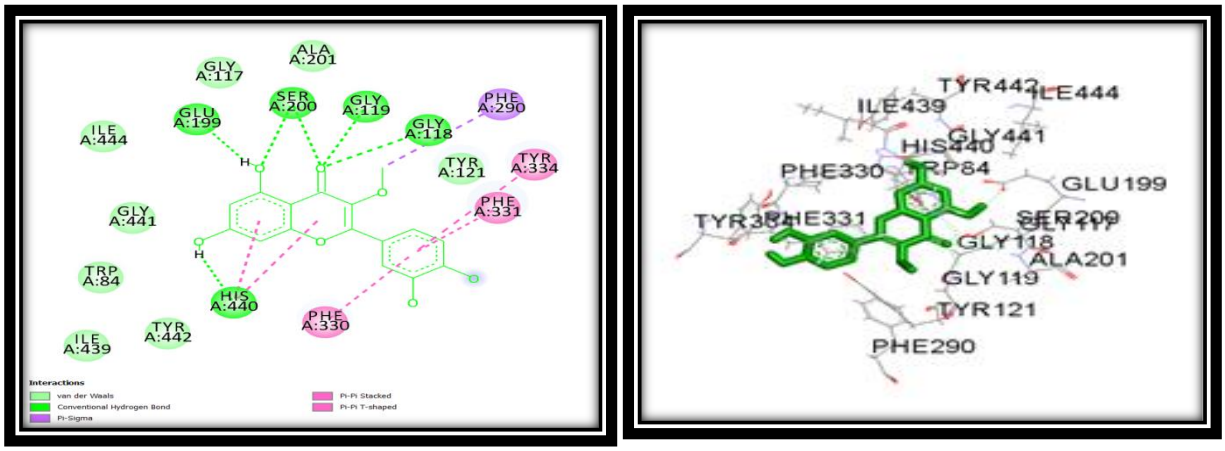
مركب 3–methoxy-qyercetin

يرتبط هذا المركب داخل الموقع الفعال بفعل انماط التفاعل التالية :

- رابطتين هيدروجينيتين مع الحمض الاميني Ser200 ,اربع روابط هيدروجينية مع الاحماض الامينية التالية: GLY119, GLY118, GLU199, His440

- تفاعلات هيدروفيبية π-π stacked : مع PHE330, PHE331, TYR334 و T-shaped مع HIS440

- عدة تفاعلات فاندرفالس مع الأحماض الامينية التالية: TRP84, GLY441, ILE444, GLY117, ILE439, ALA201, TYR442, TYR121



الشكل16: تموضع 3D و انماط التفاعل لمركب 3-Methoxy-quercetin.

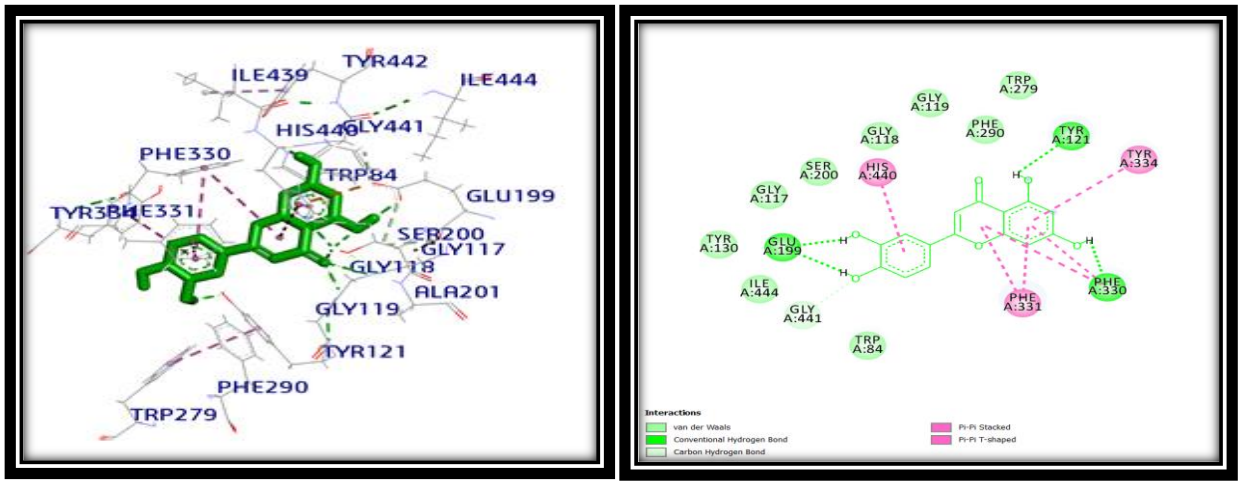
مركب Luteolin

يرتبط هذا المركب داخل الفجوة الرئيسية بفعل انماط التفاعل التالية:

-4 روابط هيدروجينية اثنين منهما مع الحمض الاميني GLU199, واحدة مع TYR121 , واخرى مع PHE330

- تفاعلات هيدروفيبية π-π stacked : مع HIS440, PHE331, TYR334 و T-shaped مع PHE330

- عدة تفاعلات فاندرفالس مع الأحماض الامينية التالية: TRP279, GLY119, GLY118 PHE290, SER200, GLY117 TYR130, ILE444, TRP84



الشكل17: تموضع 3D و انماط التفاعل لمركب Luteolin.

مركب Baicalien

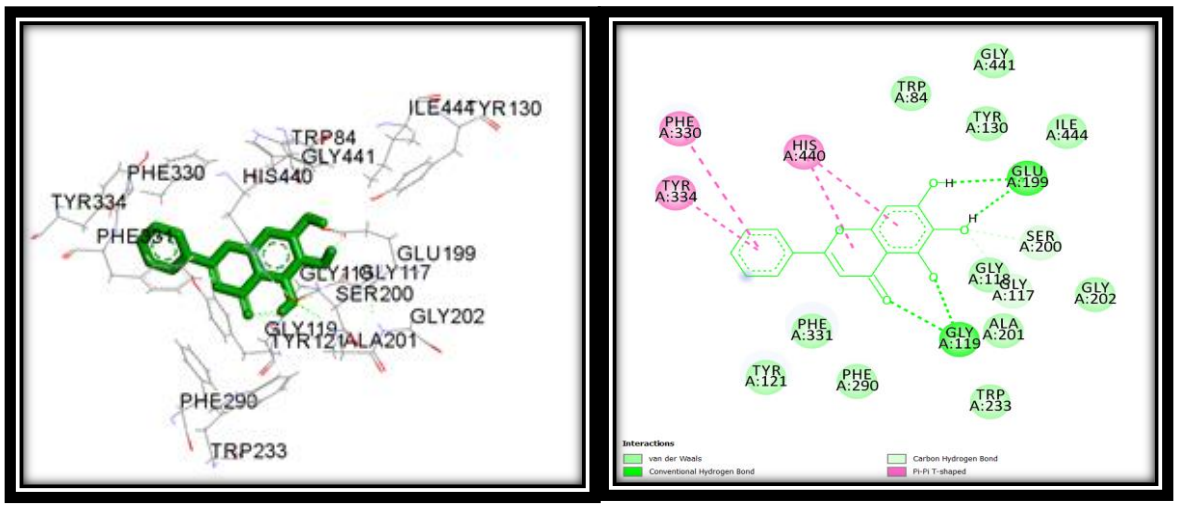
يرتبط هذا المركب داخل الفجوة الرئيسية بفعل انماط التفاعل التالية:

4 - روابط هيدروجينية كلاسيكية اثنين منهما مع الحمض الاميني GLU199,واثنين منهما مع الحمضين الامينيين GLU119.

- رابطتين هيدروجينية غير تقليديتين (carbon hydrogen bond) مع الحمض الاميني GLU118

- تفاعلات هيدروفيبية T-shaped : مع HIS440, PHE330, TYR334

- عدة تفاعلات فاندرفالس مع الأحماض الامينية التالية: TRP84, GLY441,TYR130 ILE444,GLY202,ALA201,PHE290,PHE331,TYR121,GLY118, TRP233



الشكل18: تموضع 3D و انماط التفاعل لمركب Baicalein.

مركب Galantamine

Galantamine مثبط تنافسي (competitive) وعكوس معروف بقوة تثبيطه ,يرتبط هذا المركب داخل الفجوة الرئيسية بفعل انماط التفاعل التالية (شكل19) :

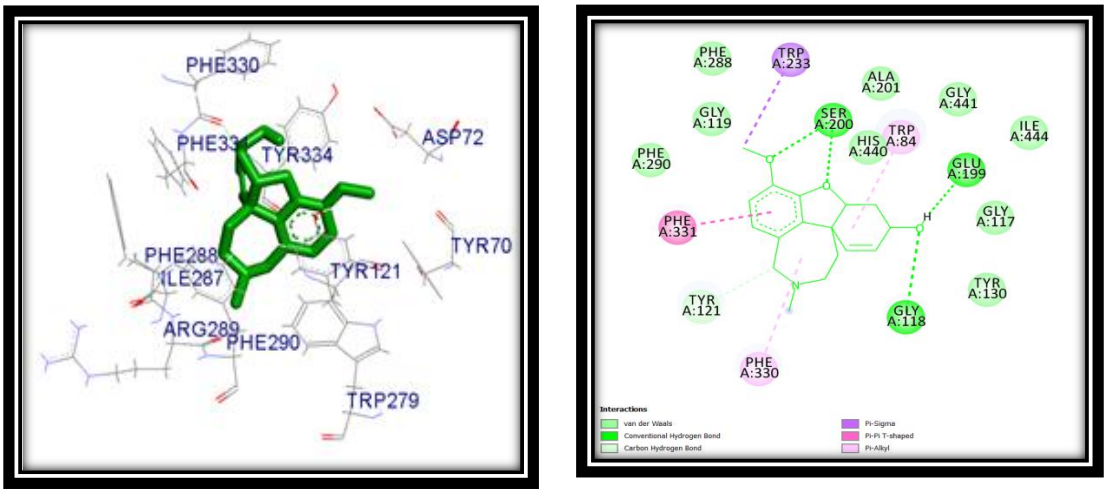
- 4 روابط هيدروجينية كلاسيكية اثنين منهما مع الحمضين الامينيين: GLU199, Ser200 ورابطتين مع الحمضين الامينيين: GLY118 و Glu199.

- رابطة هيدروجينية غير تقليدية (carbon hydrogen bond) مع الحمض الاميني TYR121

- تفاعلات هيدروفيبية: T-shaped : مع PHE331 , π-sigma مع الحمض الاميني TRP233, و π-alkyl مع الاحماض الامينية PHE330 , TRP84.

- عدة تفاعلات فاندرفالس مع الأحماض الامينية التالية ,ALA201 ,PHE288 ,GLY119, PHE290 HIS440,GLY441, ILE44, GLY117, TYR130

- يتميز Galantamine عن المركبات الفلافونيدية المدروسة, بزيادة تنوع انماط التفاعل و كذا شكل تموضعه المميز.



الشكل19: تموضع3D وانماط التفاعل لمركب Galantamine.

9. دراسة نظرية باستخدام DFT للمثبطات المدروسة

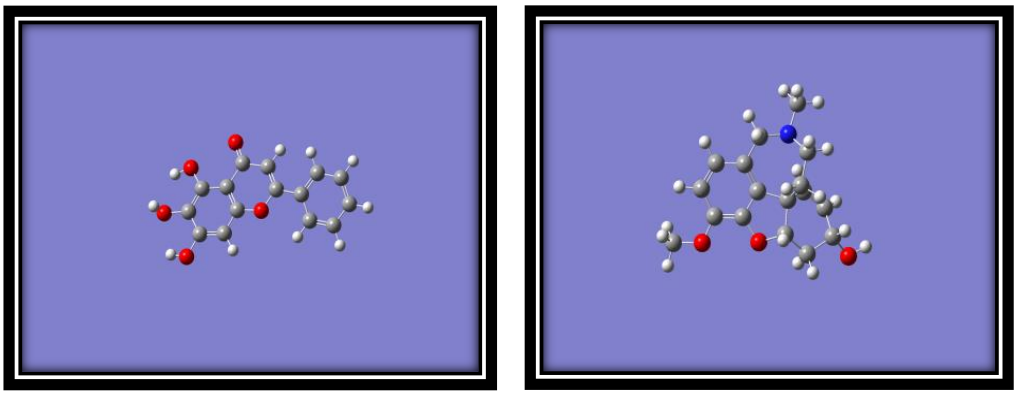
بواسطة برنامج Gaussian 09 نقوم بتحسين بنية كل مثبط لنتحصل على بنية محسنة و أكثر استقرارا نختار طريقة DFT بالقاعدة B3LYP/6-311++G(d,p) التي تعتبر من أحسن طرق النمذجة الجزيئية . تعتبر عملية حساب طاقة المدارات الحدودية و كافة المعايير المشتقة منها (Quantum parameters) أهمية بالغة في تحديد و مقارنة الكفاءة و الفعالية التثبيطية للمركبات.

في الجدول الموالي تم حساب قيم المعايير الكمومية التالية : الفرق الطاقوي $\mathbf{E_{gap}}$ (energie gap) , الكمون الكيميائي $\boldsymbol{\mu}$ (potential Chemical) , الكهروسالبية $\boldsymbol{\chi}$ (Electronegativity) , الصلابة (Hardness) $\boldsymbol{\eta}$, الليونة $\boldsymbol{\sigma}$ (softness), مؤشر الالكتروفيلية $\boldsymbol{\omega}$.

- يشير الاختلاف الملحوظ في الطاقة بين HOMO وLUMO في جميع المركبات إلى زيادة الاستقرار وانخفاض التفاعل الكيميائي.بناءً على النتائج يمكن ترتيب المركبات حسب قيم الفرق الطاقوي E(gap) كما يلي:

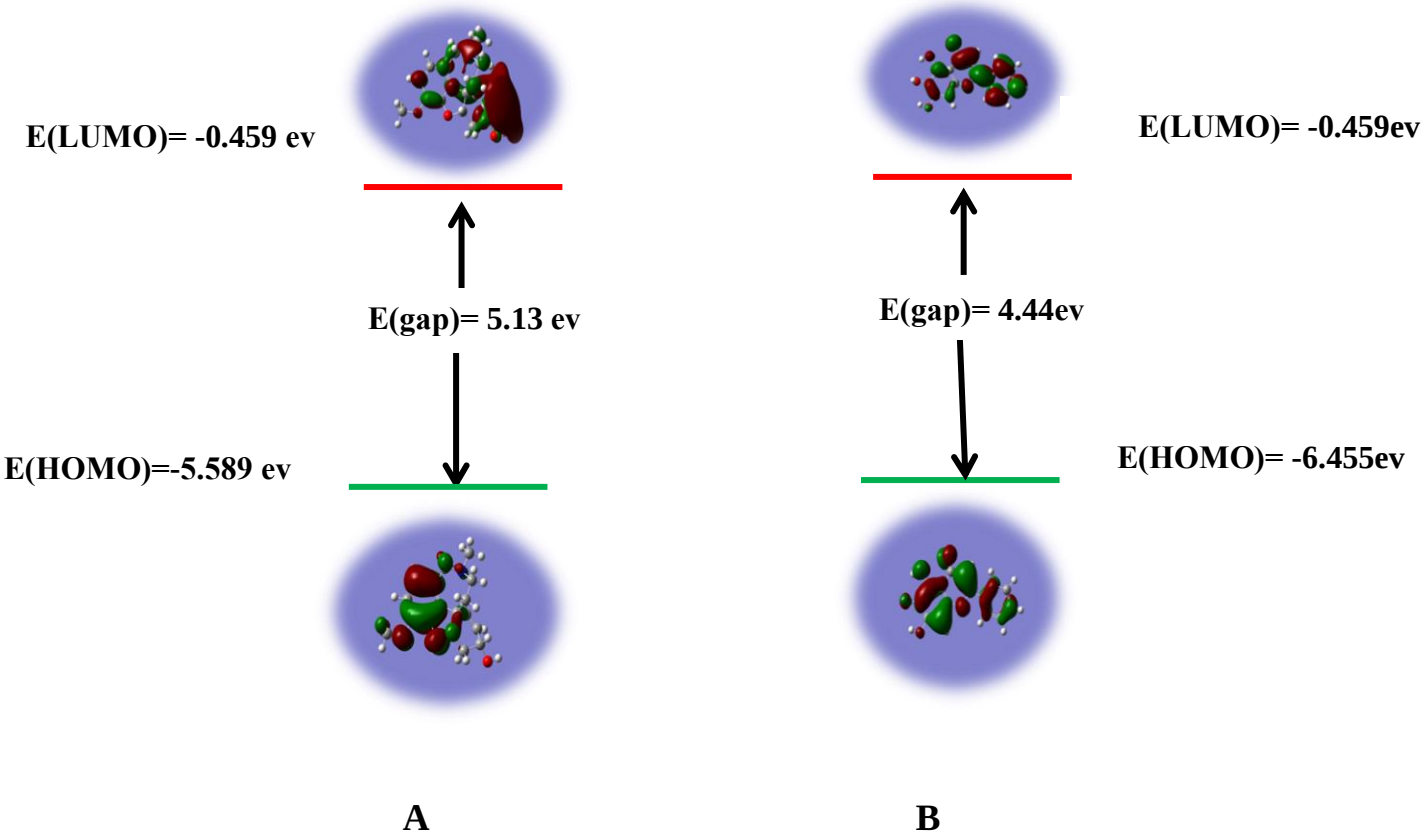
Galantamine> Naringenin> Eriodictyol> Baicalein> Chrysine> Luteolin> Kaempferol> Galangine>3-methoxy quercetin

- أعلى فجوة طاقة E(gap) سجلت لدى مركب Galantamine التي تقدر ب 5.13ev، هذه القيمة تشير إلى درجة عالية من الاستقرار وقد يكون هذا سببا في كفاءة تثبيطه العالية تجاه انزيم AChE, من المحتمل ان قلة حركتيه الكيميائية في حالتنا تعيق تحوله الى مركبات أيضية عادة ما تكون غير فعاله فتطيل وقت بقائه بهيكله الكيميائي الثابت داخل انزيم AChE مما يبقي المعقد المتشكل مستقر لوقت اكثر. و قد لاحظنا في بعض الأعمال السابقة ان كبر او صغر طاقة الفجوة ليس دائما معيار على زيادة نسبة التثبيط بل تتغير من مركب الى اخر و من مستقبل الى اخر. [12], [13]



B A

شكل 20: تموضع 3D لمركب Galantamine (A) وBaicalein (B).



شكل 21: رسم تمثيلي يوضح E(gap) لمركبي Galantamine (A) وBaicalein (B).

- حسب الجدول نجد أن قيم الكمون الكيميائي μ كلها سالبة مما يدل عل استقرار المثبطات المدرو سة .
- يظهر مركب Luteolin قيمة للكهروسالبية عالية (4.270) مقارنة بالمركبات الأخرى، مما يشير إلى قدرته المعززة على جذب الإلكترونات وتحسين أدائه كمركب الكتروفيلي وهذا ايضا ما تبينه قيمة مؤشر الالكتروفيلية **(ω) (469.4 ev)** و الكمون الكيميائي **μ** (4.270 ev-)العاليتين.
- حسب الجدول نجد ان مركب Galantamine ذو قيمة E(gap) الأعلى يمتلك اكبر قيمة للصلابة **η** (Hardness) . اما اقل قيمة E(gap) الاقل سجلناها لدى مركب 3-methoxy quercetin ذو اعلى قيمة مرونة (σ) softness.

جدول 5. قيم المعايير الكمومية للمثبطات المدروسة.

ω	σ	η	χ (ev)	μ (Deby)	E_{gap} (ev)	E_{Lumo} (ev)	E_{Homo} (ev)	المعايير الكمومية
4.078	0.454	2.198	4.234	-4.234	4.397	-2.036	-6.433	**Chrysin**
4.377	0.505	1.980	4.163	-4.163	3.961	-2.183	-6.144	**3-Methoxy quercetin**
4.170	0.493	2.027	4.112	-4.112	4.054	-2.085	-6.139	**Kaempferol**
3.880	0.449	2.226	4.156	-4.156	4.453	-1.930	-6.383	**Eriodictyol**
4.469	0.490	2.040	4.270	-4.270	4.081	-2.230	-6.311	**Luteolin**
3.802	0.437	2.286	4.169	-4.169	4.573	-1.883	-6.456	**Naringenin**
4.023	0.4496	2.224	4.230	-4.230	4.449	-2.006	-6.455	**Baicalein**
4.435	0.499	2.003	4.215	-4.215	4.007	-2.212	-6.219	**Galangine**
1.782	0.389	2.565	3.024	-3.024	5.13	-0.459	-5.589	**Galantamine**

10- دراسة الحركية الدوائية ADME

ADMEهو اختصار في الحركية الدوائية يصف كيف يؤثر الجسم على مادة غريبة بيولوجيًا بعد إعطائها له وذلك من خلال آليات الامتصاص، وكيفية التوزّع بالإضافة إلى التغيرات الاستقلابية التي تطرأ على هذه المادة في الجسم مثلًا، بتأثير الإنزيمات الاستقلابية مثل السيتوكروم بي 450 أو الإنزيمات الناقلة , وتأثيرات وطرق إفراز مُستقلبات الدواء. تؤثر العوامل الأربعة جميعها على مستويات الدواء وحركية تعرض الأنسجة للأدوية، وبالتالي تؤثر على فعاليته كدواء .حيث أن العديد من المركبات ذات الفعالية العلاجية المحتملة لاتصل إلى التجارب السريرية بسبب هذه العوامل .

في عملنا هذا استخدمنا قاعدة البيانات SwissADME و ذلك بالنقر على الموقع: http://www.swissadme.ch/index.php حيث تم تحديد كل من: عدد المخالفات لقواعد التشبه بالأدوية, النفاذية عبر الحاجز المعوي (HIA) والدماغي (BBB) رادار التوافر البيولوجي للمثبطات المدروسة

1.10. المخالفات لقواعد التشبه بالأدوية

من خلال الجدول6 نلاحظ أن جميع المثبطات المدروسة لم تسجل أي مخالفة في كل من قواعد: Ghose, Egan ,Muegge, Lipinski, Verber و لأنها تحقق الشروط الخاصة بكل قاعدة, نظريا هذه المركبات لن تواجه أية مشاكل في التوافر البيولوجي عن طريق الفم , فيما يلي خواص كل قاعدة من القواعد المذكورة :

قاعدة Ghose[14]

- 0,4≤ logP ≤ 5,6
- 160≤MW≤480
- Number of atom
  20≤NA≤70
- 40≤ MR≤130

قاعدة Veber [15]

- عدد الروابط الدوارة:
  "RBN"≤ 10
- مساحة السطح القطبية
  TPSA≤140 A°2

قاعدة Egan [16]

- logP≤ 5,88
- مساحة السطح القطبية
  TPSA ≥ 131,6 A°2

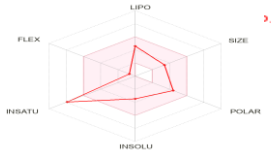
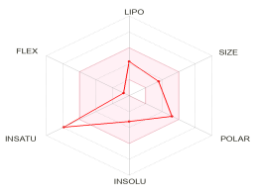
قاعدة Muegge [17]

- الوزن الجزيئي
  200≤ MW ≤ 600
- -20≤LOGP≤5

قاعدة Lipinski[18]

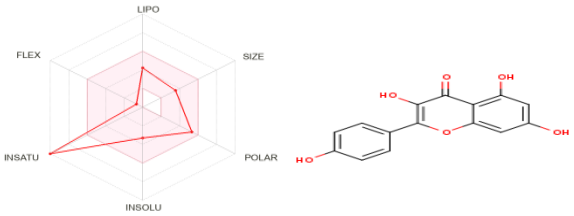
- روابط هيدروجينية مانحة لاتزيد على 5 روابط
- روابط هيدروجينية مستقبلة لا تزيد على 10 روابط
- الوزن الجزيئي (≤ MW 500)
- logP ≤ 5

جدول6. رادار التوافر البيولوجي و عدد المخالفات لقواعد التشبه بالأدوية للمركبات.

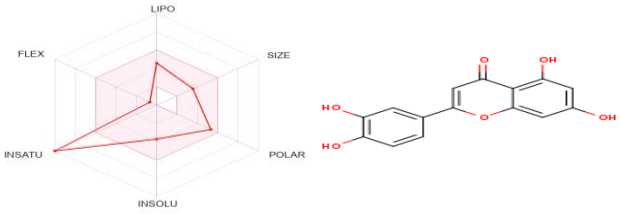
اسم المركب	البنية الكيميائية للمركب	رادار التوافر البيولوجي	Verber	Ghose	Egan	Lipinski	Muegge
Naringenin			0	0	0	0	0
Eriodictyol			0	0	0	0	0

تابع للجدول6.

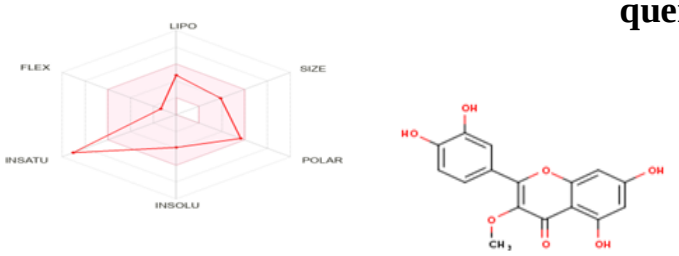
Kaempferol	0	0	0	0	0



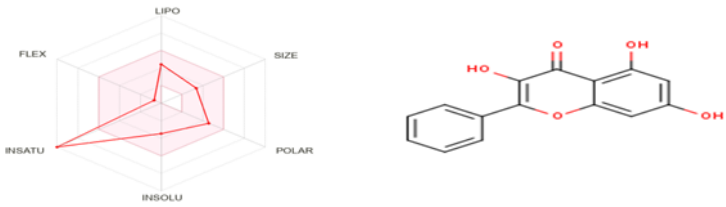
Luteolin	0	0	0	0	0



3-Methoxy quercetin	0	0	0	0	0

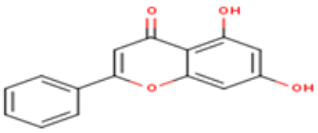


Galangin	0	0	0	0	0

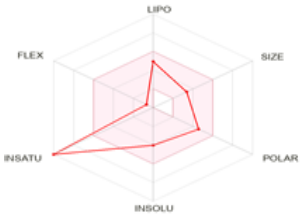


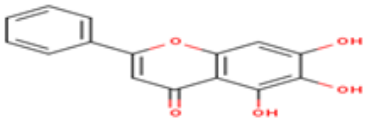
تابع للجدول6.

Chrysin	0	0	0	0	0

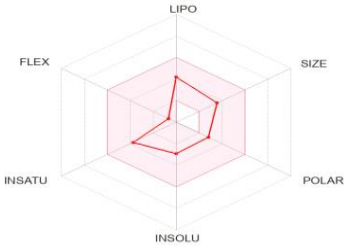


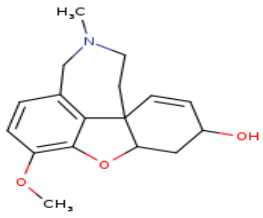
Baicalein	0	0	0	0	0





Galantamine	0	0	0	0	0





حسب ردارات التوافر البيولوجي نجد أن خصائص جميع مركبات الجدول السابق لا تقع ضمن المنطقة المثلى المحددة باللون الوردي ماعدا مركب "Glantamine " هو الوحيد الذي يقع ضمن المنطقة المثلى المحددة باللون والوردي والتي حدودها كما يلي :

- محبة الدهون "LIPO" : XLOGP3 يكون محصور في المجال [-0-7,5]
- مقاس الكتلة "SIZE": الوزن الجزيئي يكون محصور في المجال [150 g/mol, 500g/mol]
- القطبية "POLAR ": TPSA يكون محصور في المجال [$20A°^2$,$130A°^2$]
- الذوبانية "SOLUBILITY": Log S<6
- المرونة "FLEX": RBN< 9
- التشبع"INSATURATION": FC (sp3)>0,25 , حيث أن FC(sp3) تمثل نسبة عدد ذرات الكربون المهجنة sp3.
- حسب رادارات التوافر البيولوجي و حسب الجدول 8 نجد ان معيار التشبع و الممثل بنسبة عدد ذرات الكربون المهجنة sp3, هو الذي جعل جميع المركبات الفلافونيدية المدروسة تخرج عن المنطقة المثلى.

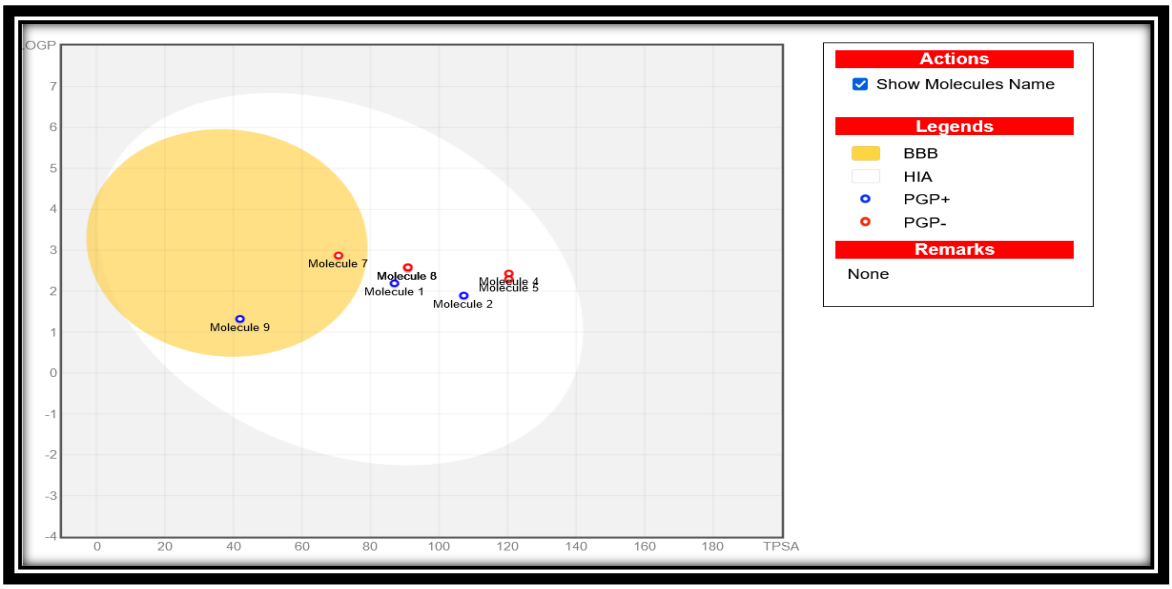
جدول7. يمثل خصائص المركبات "Flavonoids" و المركب المرجعي

FractionCsp3	RNB	Log S	TPSA ($A^{°2}$)	XLOGP3	MW (g/mol)	اسم المركب
0,13	1	-3,49	86,99	2,52	272,25	**Narigenin**
0,13	1	-3,26	107,22	2,02	288,25	**Eriodictyol**
0,00	1	-3,31	111,13	1,90	286,24	**Kaempferol**
0,00	1	-3,71	111,13	2,53	286,24	**Luteolin**
0,00	1	-4,03	90,90	3,16	270,90	**Baicalein**
0,06	2	-3,89	120,36	2,71	316,26	**3-Methoxyquercetin**
0,00	1	-4,19	70,67	3,52	254,24	**Chrysin**
0,00	1	-3,46	90,90	2,25	270,24	**Galangin**
0,53	1	-2,93	41.93	1.84	287,35	**Galantamine**

10-2- النفاذية عبر الحاجز الدموي الدماغيBBB

يُعتبر الدماغ من أهم أجزاء جسم الانسان، لذا لا بد من الحفاظ عليه وحمايته. يحيط الدماغ بالإضافة إلى الجمجمة - سائل يحميه يسمى السائل الدماغي النخاعي (بالإنجليزية: Cerebrospinal Fluid)، كما أن هناك غشاء يحيط به يسمى السحايا (بالإنجليزية Meninges) وكلاهما يحمي الدماغ ضد الإصابات الفيزيائية. وهناك حاجز حماية آخر للدماغ يُدعى الحاجز الدموي الدماغي (بالإنجليزية **Blood Brain Barrier BBB**) والذي يعمل كحاجز بين الأوعية الدموية في الدماغ وبين الخلايا والمكونات الأخرى لأنسجة الدماغ. ويوفر الحاجز الدموي الدماغي حماية للدماغ من الكائنات المُمرِضة والسموم التي قد تكون موجودة في الدم.

نتائج اختبار نفاذية BBB على المثبطات المدروسة أوضحت افتقارهم إلى نفاذية BBB ماعدا مركب Chrysin وGlantamine، و هذا ما يوضحه مخطط Egg-BOILED (**الشكل22**) حيث أنه سبعة من المركبات لم تدخل داخل الموقع الأصفر التي يشير إلى احتمالية عالية للنفاذية عبر الحاجز الدموي الدماغي. ونلاحظ نفاذ مركب **Chrysine**"(Molecule7) ومركب **Glantamine** (Molecule9) داخل الموقع الأصفر أي أن لديهم نفاذية اختراق عبر الحاجز BBB .



الشكل22 : مخطط BOILED-EGG للمركبات المدروسة.

10-3-البروتين السكري-P

من خلال الجدول 8 نلاحظ أن كل المركبات المدروسة يمكن أن تكون ركائز (substrate) للبروتين السكري P حيث أن هذا البروتين يمكن أن يرتبط بمجموعة متنوعة من الركائز ، والتي يتم توزيعها يتم توزيعها على نطاق واسع في جميع أنحاء جسم.

10-4-أنزيمات السيتوكروم p 450

هي عبارة عن بروتينات تلعب دوراً هاماً في أيض و تصنيع العديد من المواد داخل وخارج الخلية. ، توجد في جسم الإنسان بشكل أساسي في الكبد، وهي مسؤولة عن العديد من العمليات الهامة، مثل تخليص الجسم من المواد السامة، وهضم الأدوية واستخلاص الجزء المفيد منها، من أهم أدوار هذه الأنزيمات عمليات أيض الأدوية (metabolism) حيث تتحكم في سرعة تحطيم الأدوية ومدة وجودها في الجسم، ويمكن أن تؤدي حالة

النشاط المفرط لهذه الأنزيمات إلى جعل الدواء غير فعال، أما في حالة عدم نشاطها بما فيه الكفاية فسيبقى الدواء في الجسم لفترة طويلة وقد يؤدي إلى التسمم.

من خلال **الجدول8** نجد ان

- جميع المركبات تثبط إنزيم CYP3A4 ماعدا مركب Galantamine
- جميع المركبات تثبط إنزيم CYP2D6 ماعدا مركبي Narigenin و Eriodictyol
- جميع المركبات لا تثبط إنزيمي CYP2C9 و CYP2C19
- جميع المركبات تثبط إنزيم CYP1A2 ماعدا مركبEriodictyol و Galantamine

جدول 8. تقييم الحركية الدوائية للمركبات الفلافوندية المدروسة ومركب Galantamine.

CYP3A4 inhibitor	CYP2D6 inhibitor	CYP2C9 inhibitor	CYP2C19 inhibitor	CYP1A2 inhibitor	P-gp substrat	BBB permeant	GI Absorpti-on	اسم المركب
YES	NO	NO	NO	YES	YES	NO	HIGH	**Narigenin**
YES	NO	NO	NO	NO	YES	NO	HIGH	**Eriodictyol**
YES	YES	NO	NO	YES	NO	NO	HIGH	**Kaempferol**
YES	YES	NO	NO	YES	NO	NO	HIGH	**Luteolin**
YES	YES	NO	NO	YES	NO	NO	HIGH	**3Methoxyqu e-rcetin**
YES	YES	NO	NO	YES	NO	NO	HIGH	**Galangin**
YES	YES	NO	NO	YES	NO	YES	HIGH	**Chrysin**
YES	YES	NO	NO	YES	NO	NO	HIGH	**Baicalein**
NO	YES	NO	NO	NO	YES	YES	HIGH	**Galantamine**

المراجع

1. A.Sir John ,Pople, note de l'éditeur : 1925-2004". Journal of Computational Chemistry. 25 (9) .2004.

3. M. Amira Djihane et Z. Chourouk:Etude in silico de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase pour le traitement de la maladie ,d'Alzheimer.Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master.Domaine. FaculténSciences de la Nature et de la Vie Université des Fréres Mentouri Constantine1.2020.

4. R.Thomsen , M-H.Christensen. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. Journal medicinal chemistry, 2006; 49: 3315-332.

5. S.Dastmalchi :Methods and algorithms for molecular docking-based drug design and discovery:1ST edition, Britich library, 2016 .

6. A. Nikiforuk, A. Potasiewicz, T. Kos, P. Popik, The combination of memantine and galantamine improves cognition in rats: the synergistic role of the α7 nicotinic acetylcholine and NMDA receptors, Behav. Brain Res. 313 2016, 214–218.

7. H Khan, Marya, S Amin, M Amjad Kamal, S Patel.Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: Current therapeutic standing and future prospects Biomedicine & Pharmacotherapy 101, 2018, Pages 860-87.

8. Azize Balkis, Khoa Tran, Yan Zhi, LeeKen Ng. Screening Flavonoids for Inhibition of Acetylcholinesterase IdentifiedBaicalein as the Most Potent Inhibitor Journal of Agricultural Science; Vol. 7, No. 9; 2015.

9. S. Alyar, Tü. Şen, C. Şen, H. Alyar, Ş. Adem, Üü.Ö. Özdemir, Synthesis, spectroscopic characterizations, enzyme inhibition, molecular docking study and DFT calculations of new Schiff bases of sulfa drugs, Journal of Molecular Structure 2019.

10. Bishajit Sarkar, Sayka Alam, Tiluttoma Khan Rajib, Syed SajiduIslam, Yusha Araf2 and Md. Asad Ullah1. Identification of the most potent acetylcholinesterase

inhibitors from plants for possible treatment ofAlzheimer's disease: a computational approach

11. A. Crozier, I.B. Jaganath, M.N. Clifford, Phenols, polyphenols and tannins: an overview, Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the human diet.2006.

12. S.Scheiner. (2011) Weak H-bonds. Comparisons of CH•••O to NH•••O in proteins and PH•••N to direct P•••N interactions. Phys. Chem. Chem. Phys. 13, 13860–13872

13. C.E.Cannizzaro,K.N. Houk. (2002) Magnitudes and chemical consequences of R3N+–C–H•••O=C hydrogen bonding. J. Am. Chem. Soc. 124, 7163–7169

14. Ghose, Arup K., Vellarkad N. Viswanadhan, and John J. Wendoloski. "A knowledgebased approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases." Journal of combinatorial chemistry 1.1 .1999. 55-68.

15. D.F.Veber,SR. Johnson., Cheng H. Y., Smith B. R., Ward K. W., Kopple K. D. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. Journal of medicinal chemistry. 2002. 45: 2615-2623.

16. Egan, William J., Kenneth M. Merz, and John J. Baldwin. "Prediction of drug absorption using multivariate statistics." Journal of medicinal chemistry 43.21 .2000. 3867-3877.

17. Muegge, Ingo, Sarah L. Heald, and David Brittelli. "Simple selection criteria for drug-like chemical matter." Journal of medicinal chemistry 44.12 .2001. 1841-1846.

18. A Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, and P. J. Feeney, "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings," Adv. Drug Deliv. Rev., vol. 64, pp. 4–17, 1997.

2. أسماء محبوبي. سندس محبوبي:تقييم منتجات الايض الثانوي لنبات القطن, ونمذجة اهم المركبات الفعالة وحساب شروط استقرارها و خصائص ال QSAR لها.2021.

من خلال هذا العمل تم تطبيق 3 تقنيات نظرية (*in silico*) من أجل دراسة مجموعة من المعقدات المتشكلة من انزيم AChE و مثبطاته تحت هدف علاجي لمرض الزهايمر .

- في بداية الدراسة تم التحقق من مصداقية برنامجي الالتحام الجزيئي المستخدمين في الدراسة MVD و Autodock وذلك بحساب قيم الجذر التربيعي RMSD لمثبط Galantamine الموجود في البنيه البلورية 1DX6فوجدنا ما يلي :

- ✓ قيم RMSD المتحصل عليها متقاربة جدا و اقل ° 2A بالنسبة لكلا البرنامجين .
- ✓ نسبة تطابق كبيرة موجودة بين موقع النموذج المصمم بالبرنامج وموقع نموذج البنية البلورية

❖ هذه النتائج تثبت كفاءة كلا البرنامجين وقدرتهما على إعطاء نتائج قريبة جدا من الحقيقة.

- في الجزء الثاني من العمل تم تحديد أنماط التفاعل الموجودة بين إنزيم AChE و 8 مثبطات فلافونيدية و كذلك مركب Galantamine حيث تم استخلاص مايلي:

- ✓ قيم الطاقة المتحصل عليها في كل معقد معتبرة, مما يبين استقرار هذه المثبطات.
- ✓ تسجيل طاقة استقرار افضل بالنسبة لمركبي Galantamine و Bicalein مما يفسرنسب تثبيطهم العالية و المسجلة تجريبيا
- ✓ استقرار المثبطات المدروسة داخل الفجوة الرئيسية ناتج عن تشكل روابط هيدروجينية كلاسيكية, روابط هيدروجينية ضعيفة غير تقليدية (carbon hydrogen bond) ,تفاعلات هيدروفيبية بالاضافة الى تفاعلات فاندر فالس .
- ✓ اختلاف مكان تموضع المثبطات المدروسة داخل الفجوة الرئيسية وهذا ما يفسره عمق هذا التجويف وخصوصية شكله.
- ✓ تأكيد طبيعة التثبيط التنافسية لهذه المركبات من خلال ارتباطها بالموقع الفعال.
- ✓ تميز مركب Galantamine بزيادة انواع انماط الربط و بتموضع خاص مما يفسر كفاءة تثبيطه العالية مقارنة بالمركبات الأخرى

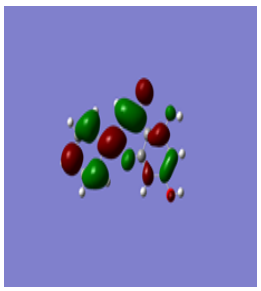
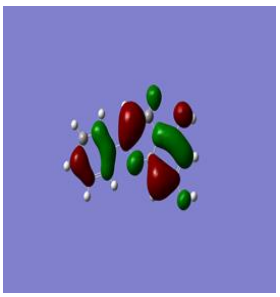
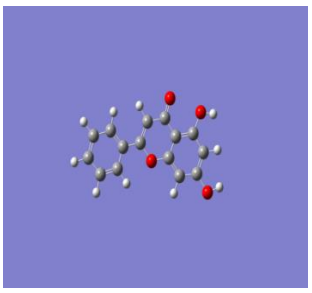
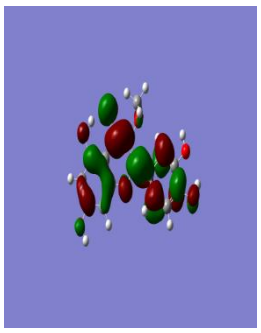
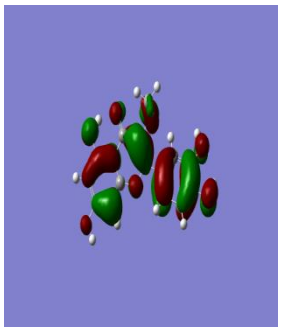
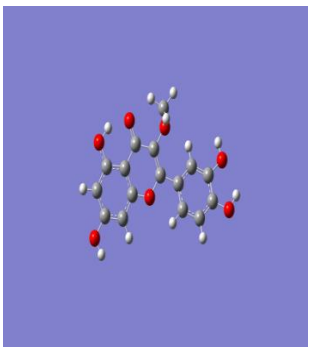
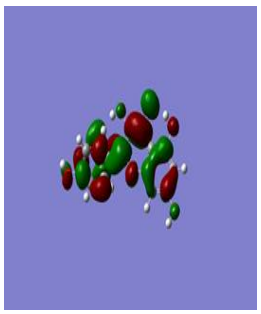
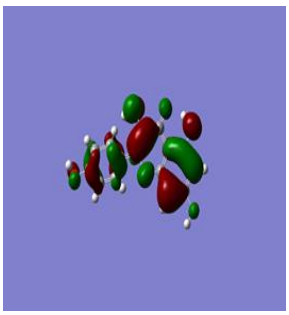
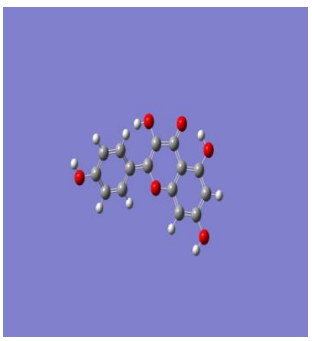
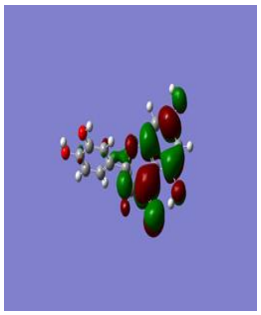
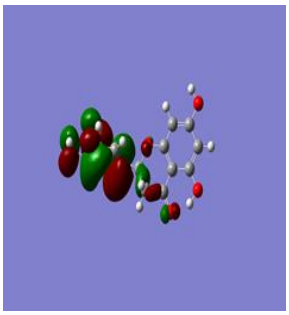
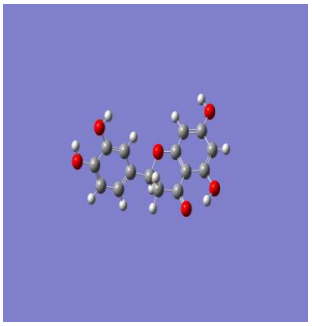
❖ في جزء اخر من العمل تم حساب المعايير الكمومية باستخدام نظرية الكثافة الوظيفية DFT ,الاختلاف الملحوظ في الطاقة بين HOMO وLUMO في جميع المركبات ينبؤ باستقرار وانخفاض التفاعل الكيميائي للمركبات المدروسة.

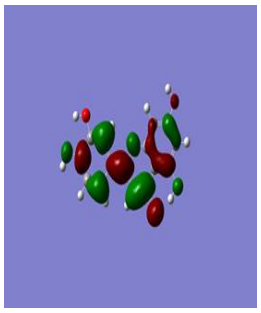
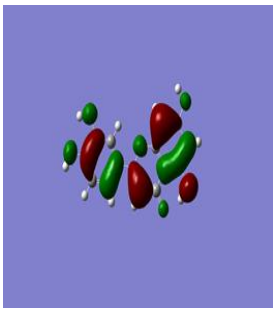
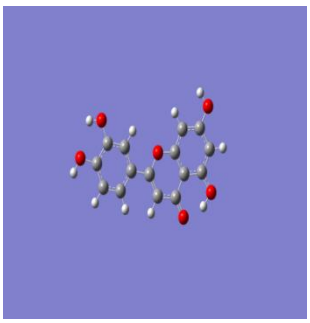
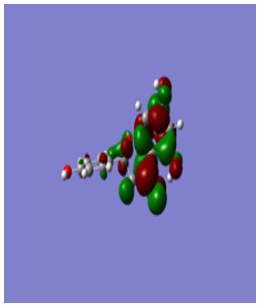
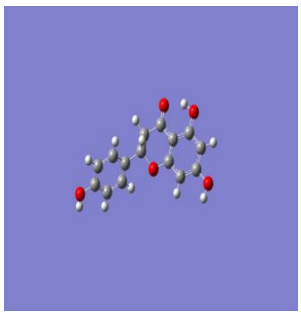
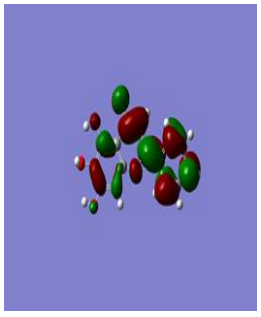
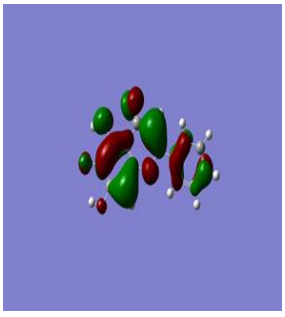
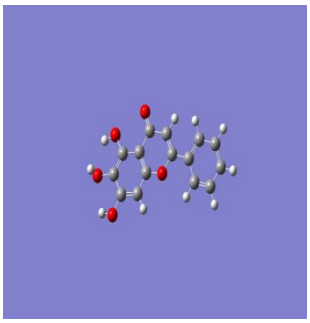
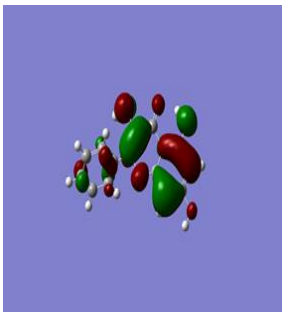
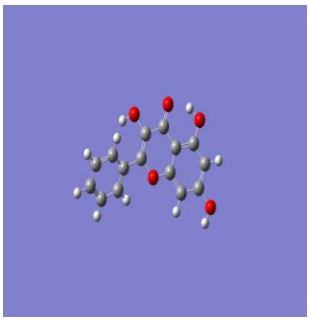
❖ وفي الأخير تم دراسة الحركية الدوائية للمركبات المدروسة و مقارنتها بمركب Galantamine حيث وجدنا

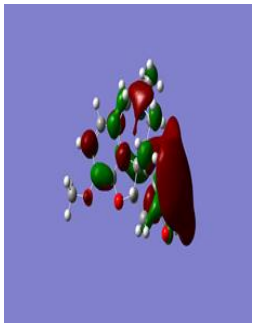
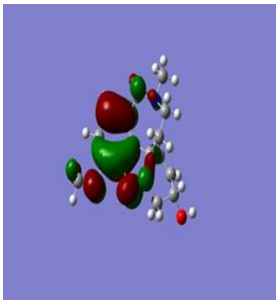
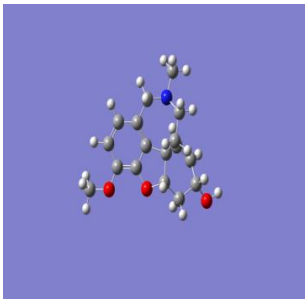
- ✓ جميع المركبات لم تسجل أي مخالفة بالنسبة لقواعد التشبه بالأدوية مما يبين توافرها البيولوجي عن طريق الفم.
- ✓ احتمالية امتصاص معوي عالية (HIA) .

عدم نفاذية اغلب المركبات عبر الحاجز الدموي الدماغي (BBB), حيث وجدنا فقط مركب Chrysine و Galantamine قد عبرا هذا الحاجز

- ✓ بالنسبة للـبروتين السكري-P، فكل المثبطات تعتبر ركائز له.
- ✓ اغلبية المثبطات الفلافونيدية المدروسة لديها احتمالية تثبيط لإنزيمات سيتوكروم بي 450.

Lumo	Humo	بعد التحسين	اسم المركب
			Chrysine
			3-Methoxyquercetin
			Kaemperol
			Eriodictyol

			**Luteolin**
			**Naringenin**
			**Baicalein**
			**Galangin**

			**Galantamine**