رقم الترتيب:.....

رقم التسلسل:.....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمّه لخضر – الوادي –

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص: كيمياء العضوية

من إعداد: العابد مريم

تحت عنوان:

Modélisation des interactions Hsp90- inhibiteur à l'aide de technique de docking moléculaire.

نوقشت يوم:2021/02/13

أمام لجنة المناقشة:

سويعي بلقاسم	أستاذ محاضر (ب)	جامعة الشهيد حمه لخضر	رئيسا
مازري راضية	أستاذ محاضر (ب)	جامعة الشهيد حمه لخضر	مناقشا
بوشقرة سماح	أستاذ محاضر (ب)	جامعة الشهيد حمه لخضر	مؤطرا

السنة الجامعية: 2021/2020

أهدي هذا العمل

إلى التي تشربت الدماء حتى الثمالة "الجزائر الغالية".

إلى والديّ الأعزّاء على حبّهم ودعمهم وتضحياتهم.

إلى زوجي العزيز وإبني الغالي أحمد.

إلى أخوتي وأخواتي.

إلى جداتي الأعزاء.

إلى خالاتي وأخوالي الأعزاء.

إلى عمتي وعمي.

إلى أستاذتي الدكتورة بوشقرة سماح.

إلى كل أولئك والذين ساعدوني، من قريب أو بعيد، على إكمال هذا العمل بنجاح.

بادئ ذي بدء، أحمد الله رب العالمين والصلاة والسلام على أشرف المرسلين سيدنا محمد وعلى آله وصحبه ومن تبعهم بإحسان إلى يوم الدين، وبعد:

فإني أشكر الله تعالى على فضله حيث أتاح لي إنجاز هذا العمل بفضله فله الحمد أولا وآخرا.

ثم أشكر أولئك الأخيار الذين مدو لي يد المساعدة، خلال هذه الفترة وفي مقدمتهم أستاذتي المشرفة على مذكرتي الدكتورة **بوشقرة سماح** التي لم تدخر أي جهد في توجيه عملي وعلى كل المساعدة التي قدمتها لي خلال هذا العمل. لقد كان لإهتمامها وتوافرها ومراقبتها اليومية لعملي رغم الظروف الصحية القاهرة التي تمر بها البلاد ونصائحها القيمة فائدة كبيرة لي، فلها من الله كل الأجر والثواب ومني كل الإحترام والتقدير، حفظها الله ورعاها ومتعها بموفور الصحة والعافية وأنار دربها وزادها علما وجعلها ذخرا للبشرية جمعاء.

كما أتقدم بالشكر الجزيل للدكتور **سويعي بلقاسم**، على تكريمه لي برئاسة لجنة المناقشة لهذه المذكرة.

كما أعبر عن إمتناني للدكتورة **مازري راضية**، لموافقتها على مناقشة هذا العمل. يشرفني أن أعتبرها ضمن أعضاء لجنة التحكيم هذه.

كما أشكر القائمين على كلية العلوم الدقيقة عميدها البروفيسور منصور عبد الوهاب، ورئيس قسم الكيمياء عطيه جمال وفقهما الله لكل خير لما بذلاه من إهتمام بطلبة الكلية بصفة عامة وبطلبة الدراسات العليا بصفة خاصة.

كما أشكر صديقاتي العزيزات وعلى قلبهم الكبير وتعاطفهم.

أخيرًا، يا زوجي الكلمات لا تكفي للتعبير عن شكري. شكرًا جزيلاً على صبرك ودعمك المعنوي ونصائحك الثمينة.

السرطان مرض ناجم عن تحول الخلايا التي تصبح غير طبيعية وتتكاثر بشكل مفرط. تنتهي هذه الخلايا المضطربة أحيانًا بتشكيل كتلة تسمى الورم الخبيث.

في عملنا، نركز على علاج السرطان بناءً على تثبيط بروتينات الصدمة الحرارية (Hsp90). بروتين مرافق تنتجه الخلايا إستجابة للتعرض لظروف مرهقة.
بإستخدام طرق النمذجة الجزيئية، وتحديدًا الإلتحام الجزيئي (docking moléculaire) بواسطة برنامج Molegro Virtual Docker، قمنا بدراسة الأنماط المحتملة للتفاعل بين بروتين الصدمة الحرارية (Hsp90) و4 مركبات موصوفة بيبليوغرافيا على أنها مثبطات قوية لـبروتين Hsp90 هي: Deguelin، Radicicol، Geldanamycin وTanespimycin.
الخوارزمية المعتمدة خلال هذه الدراسة هي MolDock ptimizer ودالة الحرز المعتمدة هي MolDock Score، وللتحقق من كفاءة البرنامج المستخدم يحسب مقدار إنحراف الجذر التربيعي (RMSD) والذي وجدناه أقل من 2A°، مما يثبت نجاعة هذا البرنامج.

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها على ألفة كبيرة بين المركبات المدروسة والأحماض الأمينية المكونة للتجويف الرئيسي لهذا البروتين. ينتج هذا الإستقرار عن تشكل روابط هيدروجينية، العديد من التفاعلات الكارهة للماء، وتفاعلات Vander Waals.

الكلمات المفتاحية : الإلتحام الجزيئي، بروتينات الصدمة الحرارية، السرطان، مثبطات، Molegro Virtuel Docker.

Résumé

Le cancer est une maladie provoquée par la transformation de cellules qui deviennent anormales et prolifèrent de façon excessive. Ces cellules déréglées finissent parfois par former une masse qu'on appelle tumeur maligne.

Dans notre travail, nous sommes focalisés sur le traitement du cancer basé sur l'inhibition de la protéine de choc thermique (Hsp90). Une protéine chaperon produite par les cellules en réponse à une exposition à des conditions de stress.

En faisant appel aux méthodes de modélisation moléculaire plus particulièrement le docking par le programme Molegro Virtuel Docker, nous avons étudié les modes d'interactions possibles entre la protéine de choc thermique (Hsp90) et 4 composés décrits par la littérature comme inhibiteurs puissantes de la Hsp90, Il s'agit de: Deguelin, Geldanamycin, Radicicol, Tanespimycin.

Cette étude a été assistée par le programme MVD en utilisant MolDock Score comme algorithme de recherche et MolDock Score comme fonction de score. L'efficacité du protocole combinant ces paramètres a été validée avec une simulation de re-docking avec un RMSD inferieur à de 2 Å.

Les résultats de docking des composés étudiés montrent une grande affinité avec les résidus de la cavité principale de cette protéine donnant des valeurs des énergies importantes. Cette stabilité exprimée résulte de la mise en place des liaisons hydrogène, des plusieurs interactions hydrophobe, et des interactions de Vander Waals vis-à-vis des résidus principale.

Mots clés: Docking Moléculaire, protéines de choc thermique (Hsp90), Cancer, Inhibiteurs, Molegro Virtuel Docker.

Abstract

Cancer is a disease caused by the transformation of cells which become abnormal and proliferate excessively. These disordered cells sometimes end up forming a mass called a malignant tumor.

In our work, we are focused on the treatment of cancer based on the inhibition of heat shock proteins (Hsp90). A chaperone protein produced by cells in response to exposure to stressful conditions.

By using molecular modeling methods more particularly docking by the Molegro Virtual Docker program, we have studied the possible modes of interaction between the heat shock protein (Hsp90) and 4 compounds described in the literature as potent inhibitors of Hsp90, These are: Deguelin, Geldanamycin, Radicicol, Tanespimycin.

This study was assisted by the MVD program using MolDock Score as the search algorithm and MolDock Score as the score function. The effectiveness of the protocol combining these parameters has been validated with a simulation of re-docking with an RMSD of less than 2 Å.

The docking results of the compounds studied show a great affinity with the residues of the main cavity of this protein, giving high energy values. This expressed stability results from the establishment of hydrogen bonds, of several hydrophobic interactions, and of Vander Waals interactions with respect to the main residues.

Key-words: Molecular docking, heat shock proteins (Hsp90), Cancer, inhibitors, Molegro Virtual Docker.

HSPs : بروتين الصدمة الحرارية شامل

HSP 90 : بروتين الصدمة الحرارية 90

HSP90α1 : بروتين الصدمة الحرارية 90 ألفا 1

HSP90α2 : بروتين الصدمة الحرارية 90 ألفا 2

HSP90β : بروتين الصدمة الحرارية 90 بيتا

GP96 : بروتين سكري 96

TRAP1 : عامل نخر الورم البروتين المرتبط بمستقبلات1

ATPase : إنزيم إدينوسين ثلاثي الفوسفات

ATP : الأدينوسين ثلاثيُّ الفوسفات

NTD : المجال الطرفي الأميني

CTD : المجال الطرفي الكربوكسي

MD : المجال الأوسط

ADP : الأدينوسين ثنائي الفوسفات

GA : جيلداناميسين

v-Src-HSP 90 : كيناز الأورام السرطاني عميل لـ hsp90

17- AAG : 17- الاليمينو-17- ديميثوكسي جيلداناميسين

17-DMAG : 17- ثنائي ميثيل أمينو ميثيل أمينو -17- ديميثوكسي جيلدنامايسين

DNA : الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين

3D : ثلاثي الأبعاد

His :هيستيدين

Gln : جلوتامين

Asp : الأسباراجين

RMSD : إنحراف الجذر التربيعي

G-Score : الطاقة الداخلية للربيطة

PDB : بنك بيانات البروتين

MVD : برنامج الإلتحام Molegro Virtual Docke

2D : ثنائي الأبعاد

الفصل الأول: عموميات حول HSP 90 ومثبطاته

الرقم	العنوان	الصفحة
1	الوظائف الأساسية لبروتينات الصدمة الحرارية (Hsp90)	22
2	الهيكل العام لبروتين Hsp90	24
3	المجالات الثلاث المكونة لبروتين HSP90	25
4	نموذج نشاط الشابرون من HSP90 (Pearl and Prodromou, 2006)	26
5	هيكل GA	28
6	هيكل 17-AAG	28
7	هيكل 17-DMAG	29
8	هيكل Deguelin	30
9	هيكل Radicicol	30
10	هيكل Novobiocin	31

الفصل الثاني: تقنية الإلتحام الجزيئي

الرقم	العنوان	الصفحة
1	الخطوات الرئيسية للإلتحام الجزيئي	40
2	أمثلة على الرابطة الهيدروجينية	42
3	التفاعل بين جزيئين من شحنة مختلفة	43
4	مثال عن الروابط الكارهة للماء	44
5	تفاعلات فان دير فالز	45
6	تمثيل تخطيطي لدورة الخوارزميات التطورية	48

الفصل الثالث: دراسة آلية تثبيط مركبات شهيرة لبروتين الصدمة الحرارية (Hsp90)

الرقم	العنوان	الصفحة
1	مجسم بروتين الصدمة الحرارية المحمل من بنك البروتينات ((EKO3 مع جميع ملحقاته	54
2	مجسم بروتين الصدمة الحرارية (HSP90) المختصر	55
3	الإعدادات اللازمة للكشف عن الفجوات الموجودة في المستقبل	56
4	فجوات بروتينHsp90	57
5	الأحماض الأمينية المحيطة بالفجوة 1 (الفجوة الرئيسية)	58
6	نسبة التطابق بين النموذج المصمم بالبرنامج (الأزرق) ونموذج البنية البلورية (الأحمر) لربيطة .Dihydroxylphenyl amide	59
7	نسبة التطابق بين النموذج المصمم بالبرنامج (الأزرق) ونموذج البنية البلورية (الأحمر) لربيطة Radicicol	60

8	نسبة التطابق بين النموذج المصمم بالبرنامج (الأزرق) ونموذج البنية البلورية (الأحمر) لربيطةGeldanamycin	60
9	هيكل 3D للمثبط Deguelin	61
10	المعقد deguelin - Hsp90 المتشكل بإستعمال برنامج MVD	63
11	تموقع deguelin داخل الفجوة الرئيسية	63
12	الرابطة الهيدروجينية المتشكلة (موضحة بخط متقطع أزرق)	64
13	التفاعلات الكارهة للماء بين ربيطة Deguelin وبروتين الصدمة الحرارية	65
14	هيكل ثلاثي الأبعاد(3D) لربيطة Radicicol	65
15	شكل حرف L لربيطة (Radicicol) داخل الفجوة الرئيسية لبروتين الصدمة الحرارية	66
16	التفاعلات الكارهة للماء والتفاعلات من نوع فاندر فالز بين Radicicol وHsp90	67
17	هيكل ثلاثي الأبعاد لربيطة Geldanamycin.	68
18	التفاعلات الكارهة للماء, التفاعلات من نوع فاندر فالز, والروابط الهيدروجينية المتشكلة بين Geldanamycin وHsp90	69
19	هيكل 2D لكل من Tanespimycin وGeldanamycin	70
20	المعقد Tanespimycin - Hsp90المتشكل	72
21	التفاعلات الكارهة للماء, التفاعلات من نوع فاندر فالز, والروابط الهيدروجينية المتشكلة بينHsp90 وTanespimycin	72

الفصل الأول: عموميات حول HSP 90 ومثبطاته

الرقم	العنوان	الصفحة
1	بروتينات عائلة HSP90	22

الفصل الثاني: تقنية الإلتحام الجزيئي

الرقم	العنوان	الصفحة
1	برامج الإلتحام الجزيئي الرئيسية	47

الفصل الثالث: دراسة آلية تثبيط مركبات شهيرة لبروتين الصدمة الحرارية (Hsp90)

الرقم	العنوان	الصفحة
1	قيم résolution للمستقبل المدروس (HSP90)	53
2	رموز CID للربيطات المدروسة	54
3	عدد وحجم فجوات المستقبل	56
4	قيم RMSD لكل معقد	59
5	خصائص الروابط الهيدروجينية المتشكلة بين - Radicicol وHsp90	66
6	خصائص الروابط الهيدروجينية المتشكلة بين Hsp90 وGeldanamycin	69
7	خصائص الروابط الهيدروجينية المتشكلة بين. Tanespimycin وHsp90	71

إهداء.....II

شكر.....III

ملخص.....IV

Résumé.....V

Abstract.....VI

قائمة الإختصارات.....VII

فهرس الأشكال.....VIII

فهرس الجداول.....X

الفهرس.....XI

مقدمة عامة.....16

المراجع الببليوغرافية.....18

الفصل الأول: عموميات حول HSP 90 ومثبطاته

1- مقدمة..... 20

2- بروتين الصدمة الحرارية Hsp90.....20

2-1- تاريخ إكتشافه.....20

2-2- الوظائف الأساسية لبروتينات الصدمة الحرارية Hsp90.....21

2-3- تصنيف بروتين الصدمة الحرارية (Hsp90).....22

2-4- البنية العامة لـ HSP90.....23

2-5- مجالات إستخدام بروتين hsp90.....26

3- عموميات حول مثبطات HSP 90.....26

3-1- تعريف مثبطات HSP 90.....26

3-2- مجالات إستعمال مثبطات HSP 90.....27

3-3- أنواع مثبطات HSP 90.....27

3-3- أ- مثبط Geldanamycin 27

3-3- ب- مثبط 17- AAG.....28

3-3- ج- مثبط DMAG-17.....29

3-3- د- مثبط Deguelin 29

3-3- ه- مثبط Radicicol.....30

3-3- و- مثبط Novobiocin.....31

4- خاتمة.....32

المراجع الببليوغرافية.....33

الفصل الثاني: تقنية الإلتحام الجزيئي

1- مقدمة.....38

2- تعريف النمذجة الجزيئية.....38

3 - الإلتحام الجزيئي.....39

3-1- الخطوات الأساسية للإلتحام الجزيئي.....39

3-1-1- تحديد الهياكل ثلاثية الأبعاد(D3) لكل من المستقبل والربيطة 40

3-1-2- تحضير المستقبل والربيطة.....41

3-1-3- عملية الإلتحام.....41

3-1-4- التنبؤ والتقييم.....41

4- أنماط التفاعلات المحتملة بين الربيطة والمستقبل.....42

4-1- الرابطة الهيدروجينية (Liaison hydrogène).....42

4-2- الرابطة الأيونية (liaison ionique).....43

4-3- الرابطة الكارهة للماء (Liaison hydrophobe) 43

4-4- رابطة فان دير فالز (liaison van der waals) 44

5- خوارزميات الإلتحام الجزيئي 45

6- دوال الحرز(Fonction de score).....45

6-1- دالة الحرز المبنية على أساس حقل القوى (Champs des forces) 46

6-2- دوال الحرز التجريبية (Fonctions de score empiriques).....46

6-3- دوال الحرز المستندة إلى المعرفة (Les fonctions de score type knowledge-based).....46

6-4- دوال الجمع.....47

7- البرامج المستخدمة في الإلتحام.....47

7-1- برنامج Docker Virtual mologro (MVD) 48

8- خاتمة.....49

المراجع الببليوغرافية.....50

الفصل الثالث: دراسة آلية تثبيط مركبات شهيرة لبروتين الصدمة الحرارية (Hsp90)

1- برنامج المحاكاة الجزيئية.....53

2- البنية الثلاثية للمستقبل (Hsp90)..... 53

3- البنية الثلاثية للربيطة.....53

4- تحضير كل من المستقبل والربيطة.....55

5- الكشف عن الفجوات الموجودة في المستقبل.....55

6- تقييم مدى كفاءة البرنامج المستخدم.....58

7- دراسة آلية إلتحام مثبط deguelin ببروتين الصدمة الحرارية (Hsp90- deguelin).....61

8- دراسة آلية إرتباط مركب Radicicol ببروتين الصدمة الحرارية.....65

9- دراسة آلية التحام مركب الصدمة الحرارية ببروتين Geldanamycin.....68

10- دراسة آلية إلتحام مركب Tanespimycin (17-AAG) ببروتين الصدمة الحرارية Hsp90.....70

المراجع الببليوغرافية.....73

خاتمة عامة.....75

مقدمة عامة

عند تعرض الكائن الحي إلى العوامل الظرفية كالحرارة أوالسموم أو نقصان في الأكسجين يقوم الجسم بفرز مجموعة من البروتينات التي بدورها تحافظ على الخلية وتدعمها بشكل أو بآخر لمواجهة هذه العوامل الخارجية، هذه البروتينات تسمى ببروتينات الصدمة الحرارية (HSPs) مصنفة على حسب وزنها الجزيئي[1]، تتواجد هذه البروتينات على مستوى الخلية وهي عبارة عن بروتينات مصاحبة ويصفونها علميا بشابرون (chaperone)، والشابرون يمثل وحدات صغيرة ذات طبيعة بروتينية ترتبط بالبروتينات أثناء تخليقها وتعمل على طيها وإلتفافها وإلتواءها وبهذا تحافظ على بنية الخلية من الإنكسار[2,3]، كما أنها ترتبط بالبروتينات الحساسة حتى تمنعها من الإنكسار والتلف الذي يؤدي إلى موت الخلايا، وبهذا نجد أن لهذا النوع من البروتينات دور كبير في المحافظة على حياة الكائن أكبر فترة ممكنة.

إشتغل العلماء على بروتينات الصدمة الحرارية كمضادات للسرطان، وبدأو يستفيدون منها داخل الخلايا المصابة بتنقيتها وإعادة حقنها في الجسم المصاب بالسرطان فبروتينات Hsp90 المعزولة قادرة على العمل كلقاح مضاد للورم من تلقاء نفسها مما يحفز جهاز المناعة [5,4], شريطة تواجد نوع واحد من هذه الأورام.
يعمل بروتين الصدمة الحرارية على إستقرار وبقاء عدد من البروتينات اللازمة لنمو وتكاثر الأورام السرطانية إذن فتثبيط هذا البروتين يمنع نشاطه مما يعيق تطور هذه الخلايا الخبيثة، إستغل العلماء هذه الفكرة فقاموا بتطوير الكثير من المثبطات التي أثبتت أثر علاجي لأنواع مختلفة من السرطانات.[6]

تختلف مثبطات بروتين الصدمة الحرارية من حيث مصدرها فنجد الطبيعي وكذلك المصنع كما أن نسبة التثبيط تتغير من مركب إلى آخر على حسب مدى إستقرار المعقد بروتين- مثبط المتشكل، تسارعت مؤخرا وتيرة إكتشاف أنواع كثيرة من المثبطات لما لها من فائدة طبية كبيرة من بين أشهر المثبطات التي تم إكتشافها نذكر: Geldanamycin ، Deguelin ، Radicicol وTanespimycin، تختلف نسب تثبيط هذه المركبات على حسب إختلاف طاقة إرتباطها ببروتين Hsp90 وذلك راجع إلى آلية تثبيط كل مركب. تشترك هذه المثبطات في تنافسها مع نكليوتيدة ATP على الإرتباط بـ Hsp90، حيث يتنافس المثبط مع المادة الأساس على الإتحاد مع الموقع الفعال للبروتين. تختلف قيم التثبيط بإختلاف أنماط الربط المتواجدة بين المركب والبروتين ولتحديد آلية التثبيط نظريا إستخدم العلماء تقنية الإلتحام الجزيئي (docking moléculaire).

تمثل تقنية الإلتحام الجزيئي جزءً من طرق النمذجة، وتستخدم هذه التقنية نفس مبادئ طرق النمذجة الأخرى إلا أنها تتميز بخصوصية الجمع بين جزيئين أو أكثر في نفس الوقت. وهو أسهل بكثير في التنفيذ وأقل تكلفة وأسرع من إستخدام الطرق التجريبية لذلك فإن برامج الإلتحام هي أدوات مستخدمة على نطاق واسع في الكيمياء والبيولوجيا والصيدلة والطب لأن معظم المكونات النشطة عبارة عن جزيئات صغيرة (ربيطة) تتفاعل مع هدف بيولوجي ذات أهمية علاجية عامة للبروتينات (مستقبلات).[7]

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

دراسة ببليوغرافية مقدمة على شكل فصلين، الأول يمثل نظرة عامة حول بروتين الصدمة الحرارية ومثبطاته،

أما في الفصل الثاني قمنا بوصف تقنية الإلتحام الجزيئي المستخدمة في الدراسة.

وأخيرا الفصل الثالث أين تم تطبيق تقنية النمذجة الجزيئية، وبالتحديد طريقة الإلتحام الجزيئي للتنبؤ بأنماط التفاعل الممكنة ودراسة التفاعلات الموجودة بين بروتين الصدمة الحرارية (Hsp90) وأربعة مثبطات مشهورة: Deguelin، Geldanamycin، Radicicol وTanespimycin وذلك بإستعمال برنامج Molegro Virtual Docker (MVD).

وأخيرًا، خاتمة عامة تطرقنا فيها إلى حوصلة لنتائج الأعمال المنجزة وإلى الآفاق المستقبلية لهذه الدراسة.

المراجع الببليوغرافية

المراجع باللغة العربية

7. زواري أحمد رشيدة، دراسة البرامترات المحبة للماء والكارهة للماء على السطح المشترك (محب للماء/كاره للماء) للمضادات الحيوية الماكروليدية ذات 16 ذرة، مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة - الجزائر، كلية العلوم والعلوم الهندسية، قسم هندسة الطرائق، 2005، ص26.

المراجع باللغات الأجنبية

1. Zihai L, Pramod S, « Heat-shock proteins ». Current Protocols in Immunology, vol. Appendix 1. 2004.

2. Walter S, Buchner J . "Molecular chaperones-cellular machines for protein folding". Angewandte Chemiem, 200241 (7): 1098–113.

3. Borges JC, Ramos CH. "Protein folding assisted by chaperones". Protein and Peptide Letters, 2005;12 (3): 257–61.

4. Graner MW (2016). "HSP90 and Immune Modulation in Cancer". Advances in Cancer Research. Elsevier, 2016; 129: 191–224.

5. Murshid A, Gong J, Calderwood SK. "The role of heat shock proteins in antigen cross presentation". Frontiers in Immunology. 2012; 3: 63.

6. Didelot C, Lanneau D, Brunet M, Joly AL, De Thonel A, Chiosis G, Garrido C. "Anti-cancer therapeutic approaches based on intracellular and extracellular heat shock proteins". Current Medicinal Chemistry. 2007, 14 (27): 2839–47.

الفصل الأول
عموميات حول HSP 90 ومثبطاته

1- مقدمة

معلوم أن جسم الإنسان يحافظ على درجة حرارته ثابتة تقريباً عند حوالي 37 درجة مئوية أو أقل قليلاً، حتى ولو زادت أو نقصت درجة حرارة الجو، إلا أنها قد تتغير في الظروف الشديدة مثل ضربة شمس أو نتيجة الإلتهابات الشديدة المصاحبة لعدوى الفيروس أو البكتيريا. فما الذي يحصل لو إرتفعت درجة حرارة الجسم بشكل يتجاوز الأربعين درجة مئوية؟ وكيف يحمي الجسم بروتيناته التي لا تتحمل إرتفاع درجة حرارته من التشوه؟

نظرا للأهمية القصوى للبروتينات لقيامها بوظائف الجسم جميعها، فقد وهب الله سبحانه الكائنات الحية بروتينات مختلفة، (بروتينات فائقة أو بروتينات فوق العادة)، بروتينات ضد الحرارة وضد الصدمات، والتي من الممكن أن نسميها بروتينات النجدة وبروتينات وقت الشدائد. ويطلق العلماء على عائلة هذا النوع من البروتينات مصطلح "Heat Shock Proteins" وإختصارها HSPs ويعكس هذا المسمى "بروتينات المضادة للضغوط والصدمات الحرارية" وظيفتها وخصائصها الأساسية حيث أنها تتكون أثناء أي ضغط أو صدمة لحماية خلايا الجسم من أي تأثير مصاحب للصدمات وما قد يترتب عليه من تشوه خطير لشكل وبناء البروتينات التي بها نحيا.[1]

2- بروتين الصدمة الحرارية Hsp90

بروتينات الصدمة الحرارية (HSPs) هي بروتينات يصنعها الجسم إستجابة للصدمات الحرارية وبعض الضغوط البيئية والفسيولوجية المرضية كالتعرض للمعادن الثقيلة أو الإلتهابات وغيرها، لها دور في تفاعلات البروتينات مع بعضها البعض مثل التشكل والإنتقال ومنع تراص البروتينات غير المناسبة تم جمعها في عائلات وذلك وفقا لكتلتها الجزيئية 60، 70، 90، 110....إلخ فمثلا Hsp90 كتلته الجزيئية حوالي 90 كيلو دالتون.

تمثل بروتينات الصدمة الحرارية 1-2 ٪ من البروتين الكلي في الخلايا غير المجهدة، ولكن عند إرتفاع درجة حرارة الخلية، يزداد جزء بروتينات الصدمة الحرارية إلى 4-6 ٪ من البروتينات الخلوية.[2]

2-1- تاريخ إكتشافه

تم إكتشاف هذه البروتينات في بادئ الأمر بالصدفة، عندما لاحظت عالمة الوراثة الإيطالية فيروكسيو ريتوسا (Ferruccio Ritossa) عام 1960 وجود بروزات في كروموسومات حشرة الدروسيفيلا بعد تعرضها لإرتفاع مفاجئ في درجة حرارة الجسم.[3]

وبعد ذلك بسنوات قليلة تم تحليل هذه البروزات والبروتينات التي تكونها وسميت وقتها مجازا، بالبروتينات المضادة للصدمات الحرارية Heat Shock Proteins. وبعد ذلك بعدة سنوات، كشف العلماء عن دور هذه

البروتينات ووجد أن الوظيفة الأساسية لها هي حماية باقي بروتينات الجسم من التشوه والتحلل تحت تأثير الصدمات الحرارية المفاجأة.

وظن العلماء في بداية الأمر أن هذه البروتينات خاصة بالدروسيفيلا، ولكن وُجد بعد ذلك بقليل وفي السبعينات من القرن الماضي أن هذه البروتينات موجودة في كل الكائنات الحية بما فيها النباتات والحيوانات المختلفة، وكذلك في الإنسان.

2-2- الوظائف الأساسية لبروتينات الصدمة الحرارية Hsp90

عندما ترتفع درجة حرارة خلايا الجسم فوق 40 درجة مئوية تبدأ معظم البروتينات في الخلايا نفسها وكذلك البروتينات التي تحمل الخلايا وتعضدها وتثبتها في مكانها في الترنح مما يؤدي إلى إلتوائها (UNFOLDING) أو شرخ تصميمها أو كسره تماما وبالتالي تبدأ في فقد وظائفها مما يعرض الجسم للهلاك. ولكن وقبل أن يحدث ذلك تقوم بروتينات الصدمات الحرارية بعمل اللازم نحو تضميد أي إلتواء أو شرخ أو كسر وذلك عن طريق آليات مختلفة منها:

- ترميم الجزء التالف من البروتين،
- تكوين سور بروتيني حول البروتين التالف لحمايته من الوسط الساخن،
- نقل البروتين التالف من المكان الساخن إلى مكان أكثر أمناً داخل الخلية مثل مصنع البروتينات "Endoplasmic Reticulum" بعد تغطيته برداء سريع من صنعها.

لا يقتصر دور بروتينات الصدمات فقط على حماية البروتينات من التلف وقت الشدة، بل يعمل على مساعدة البروتينات المخلّقة حديثا في الخلية في التشكل النهائي حتى تصل إلى الشكل المطلوب للقيام بوظيفتها .فكل بروتين يولد حديثا في الخلية يخلق في صورة UNFOLDED وهو شكل بدائي لا يستطيع الإرتباط بقرينه وبالتالي لا يستطيع القيام بوظيفته الحيوية، وتعمل بروتينات الصدمات على تحويل هذا البروتين من الشكل البدائي إلى الشكل النهائي بعد طيه على نفسه بطريقة محددة بحيث يصبح FOLDED بالشكل المميز لهذا البروتين والذي يستطيع به القيام بوظائفه التي خُلق من أجلها.[4]

شكل 1: الوظائف الأساسية لبروتينات الصدمة الحرارية (Hsp90).

2-3- تصنيف بروتين الصدمة الحرارية (Hsp90)

لعائلة **بروتين** HSP 90 خمسة أنواع مصنفة تحت إسم عائلة HSP s وهي كالآتي: HSP90α1 - HSP90α2 - HSP90β - GP96 - TRAP1(جدول 1) :

الجدول1: بروتينات عائلة HSP90 [5]

إسم الجين	إسم البروتين	الأسماء القديمة	معرف الجينات البشرية
HSPC1*	HSPC1	HSP90AA1; HSPN; LAP2; HSP86; HSPC1; HSPC4; HSP89; HSP90; HSP90A; HSP90N; HSPCAL1; HSPCAL4; FLJ31884; **HSP90α1**	3320
HSPC2*	HSPC2	HSP90AA2; HSPCA; HSPCAL3;HSP90α ; **HSP90α2**	3324
HSPC3*	HSPC3	HSP90AB1; HSPC2; HSPCB; D6S182; HSP90B; FLJ26984; **HSP90β**	3326
HSPC4*	HSPC4	HSP90B1; ECGP; **GP96**; GRP94; endoplasmine	7184
HSPC5*	HSPC5	**TRAP1**; HSP75; HSP90L	10131

HSP90α1 : مساعدا لبروتين الميوزين (myosin) الذي يلعب دورا رئيسيا في تكوين الالياف العضلية.[6]

HSP90α2: هو بروتين عصاري خلوي، يعزز النضج والصيانة الهيكلية والتنظيم الصحيح لبروتينات معينة.

HSP90β: هو مرافق جزيئي يعمل على التنظيم السليم لبروتينات محددة المعنية على سبيل المثال تلك المعنية بالتحكم في دورة الخلية وإشارات النقل، يخضع لدورة وظيفية مرتبطة بنشاط ATPase الخاص به.[7]

GP96: هو بروتين موجود في الشبكة الإندوبلازمية وهو مرافق جزيئي مسؤول عن نضوج البروتين، وفي السنوات الأخيرة أصبح هدفًا للعديد من الدراسات المتعلقة بجهاز المناعة، كما أنه في المرحلة الثالثة من التجارب السريرية في علاج بعض أنواع السرطان.[8]

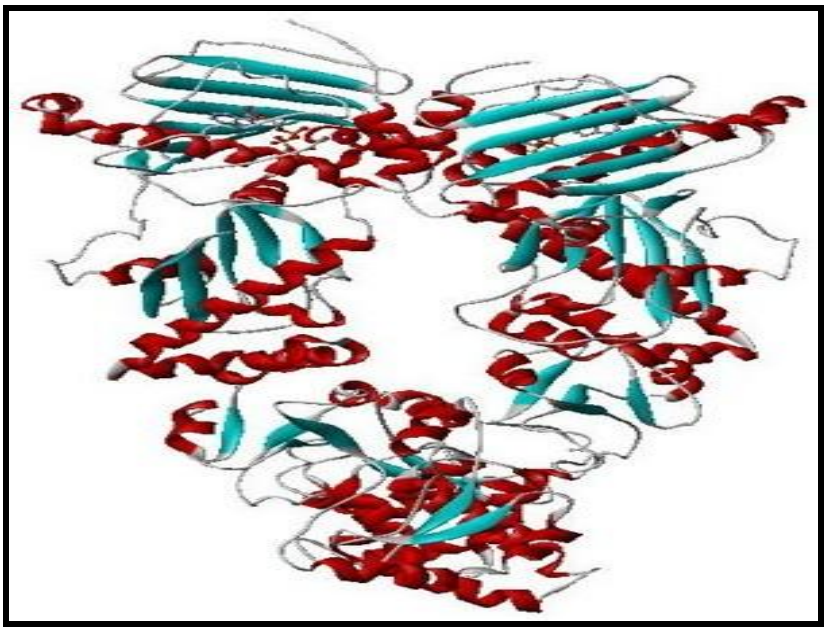
TRAP1: هو بروتين يعتمد على ATP يقع في الميتوكوندريا متماثل للغاية مع HSP90 من وظائفه صد تراكم البروتين داخل الميتوكوندريا ودعم طي البروتين, بعض الأبحاث الجديدة تشير إلى أن هذا البروتين يمكن أن يكون له وظائف إضافية أخرى.[9]

2-4- البنية العامة لـ HSP90

يتشابه الهيكل العام لـ Hsp90 مع البروتينات الأخرى من حيث أنه يحتوي على جميع العناصر الهيكلية الثانوية الشائعة على سبيل المثال، حلزون ألفا (α-helices)، صفائح مطوية بيتا (β-sheet).

يتطلب كونه بروتين سيتوبلازمي أن يكون كروي في التركيب، وهو إلى حد كبير غير قطبي من الداخل وقطبي من الخارج، حتى يذوب بالماء. يحتوي Hsp90 على تسع حلزونات وثماني صفائح مطوية بيتا غير متوازية، والتي تتحد لتشكل عدة شطائر ألفا / بيتا.

في هذا البروتين تمثل نسبة الأحماض الأمينية المشكلة لهيكل الحلزون 11% وهي نسبة كبيرة مقارنة مع البروتينات الاخرى(4%). [10]



شكل 2: الهيكل العام لبروتين Hsp90.

بالأحمر (α-helices)، بالأزرق(β-sheet)، بالرمادي (loops).[11]

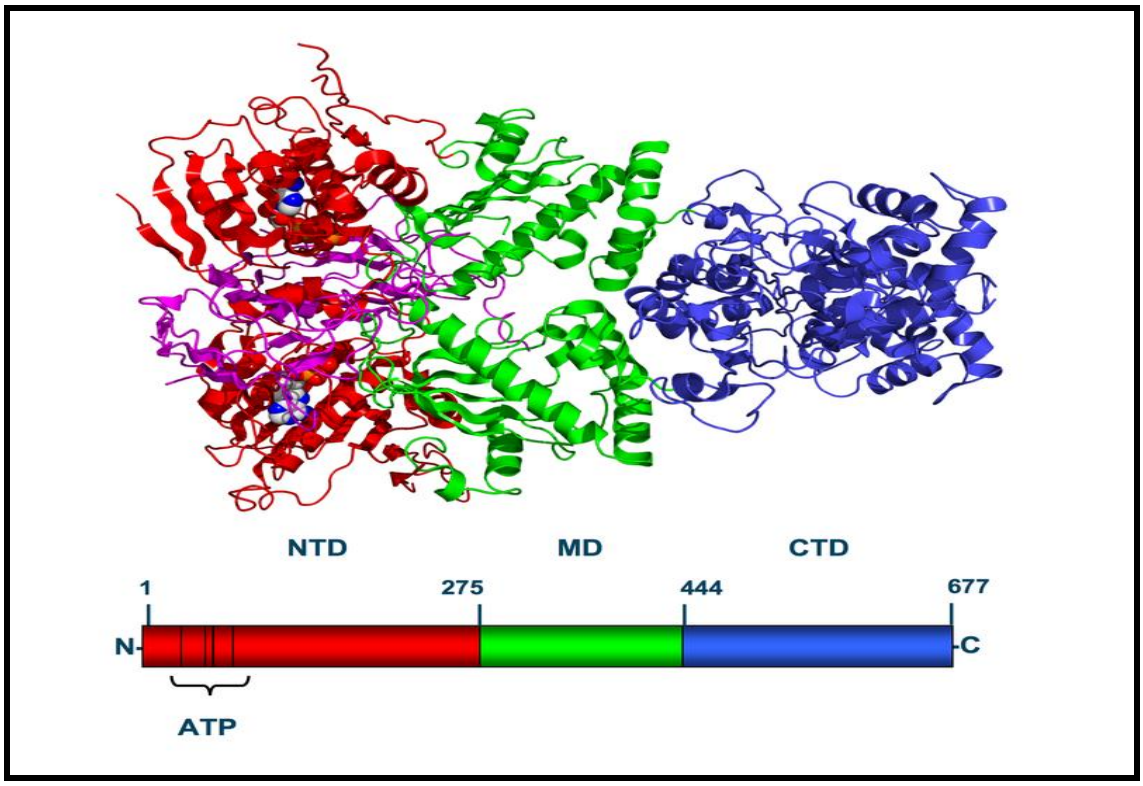
يشتمل التركيب الجزيئي الكلي لبروتين HSP90 على ثلاثة مجالات رئيسية (شكل3):[12]

- المجال الطرفي N-terminal (NTD).

- المجال الطرفي C-terminal (CTD).

- المجال الأوسط (MD).

بالإضافة إلى منطقة ربط مشحونة تصل الطرف N بالمجال الأوسط.



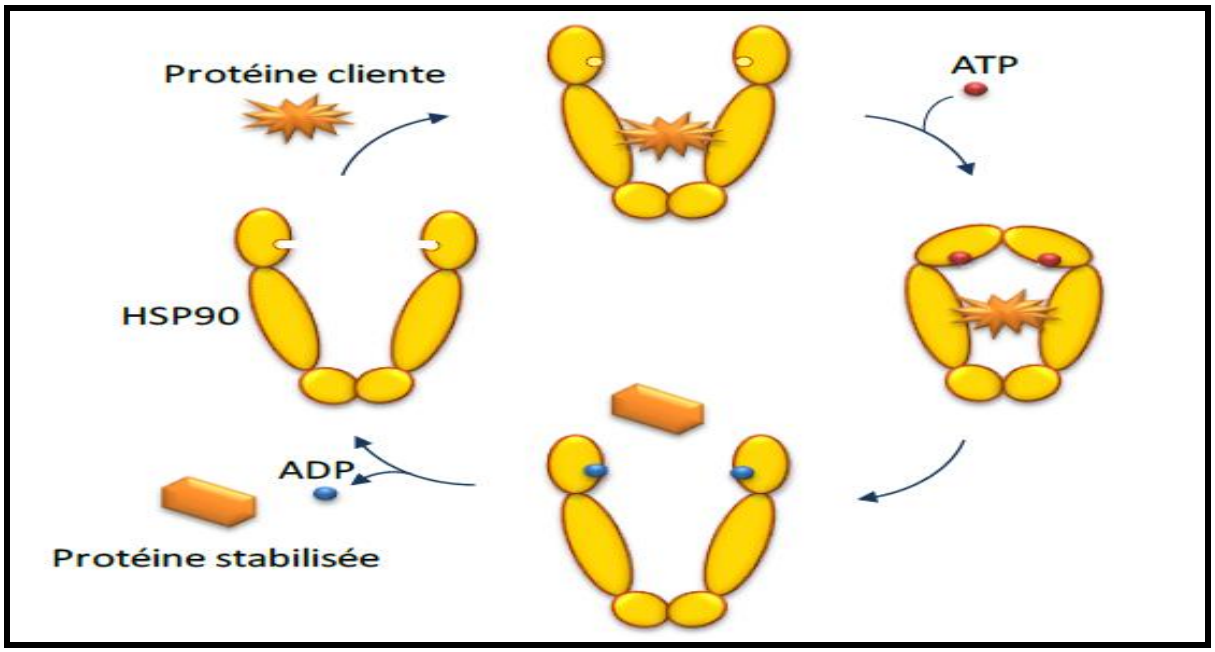
شكل 3 : المجالات الثلاث المكونة لبروتين HSP90.

(NTD) بالأحمر, (MD) بالأخضر, (CTD) بالأزرق.

كل مجال داخل هيكل HSP90 يؤدي وظيفة محددة، يرتبط NTD بـATP حيث يعد الموقع الرئيسي لإرتباط النوكليوتيدات، في بعض الحالات يمكن أيضًا توصيل ATP بموقع ثانٍ يقع في مجال CTDعندما يكون الموقع الأول مشغول.

يعتبر مجال CTD مهمًا للتحويل المتجانس (homodimerization) لـ Hsp90 إلى شكله النشط بيولوجيًا [13]، أما بالنسبة لمجال (MD) فهو منطقة مركزية تشارك في التعرف على البروتينات العميلة (les protéines clientes). وأخيرا الوصلة المشحونة فلها دور أساسي في وظيفة المرافقة, التفاعل والمرونة [14].

يتم تنظيم إرتباط HSP90 مع البروتينات العميلة بواسطة ATP، يحاصرHSP90 البروتين العميل الخاص به بين المونومرات، يؤدي التثبيت ثم التحلل المائي لـ ATP إلى إحداث تغييرات توافقية في HSP90 تؤدي إلى تثبيت بروتين العميل وتنشيطه مرة أخرى بعد عدة دورات إلى غاية إطلاق (الشكل 4) [8].



الشكل4: نموذج نشاط الشابرون من HSP90 (Pearl and Prodromou, 2006) [8].

2-5- مجالات إستخدام بروتين hsp90

يستخدم HSP90 من قبل الخلايا السرطانية لتسهيل وظيفة العديد من البروتينات السرطانية كسرطان الثدي والقولون وغيرها من أنواع السرطانات المختلفة.

إستعمل أيضا للكشف عن الملوثات بعد ربطها بـ Lux genes من البكتيريا البحرية، وبهذا أمكن الكشف عن العديد من المواد العضوية والمبيدات المستعملة لحماية النباتات والمعادن والمذيبات.[15]

كما أنه يعمل كمحفز لقتل الخلايا في الجهاز العصبي وذلك في الإضطرابات العصبية.

3- عموميات حول مثبطات HSP 90

3-1- تعريف مثبطات HSP 90

هي مواد مانعة لنشاط HSP 90، لكونه يُثَبِت مجموعة مختلفة من البروتينات اللازمة لبقاء الخلايا السرطانية، فقد يكون لهذه المثبطات فائدة علاجية في علاج أنواع مختلفة من الأورام السرطانية الخبيثة، كما أن عددا منها يخضع حاليًا لتجارب سريرية لمجموعة متنوعة من السرطانات.

وتعمل مثبطات HSP 90 بشكل عام على مقاطعة ربط ATP بـ HSP 90 ويمكن تصنيفها إلى أنساميسين وغير أنساميسين إعتمادًا على ما إذا كان لديهم بنية بنزوكوينون[16].

3-2- مجالات إستعمال مثبطات HSP 90

تستخدم مثبطات HSP 90 في عدة مجالات متعددة من بينها:

- تعزيز موت خلايا السرطان (الثدي - الرئة - القولون - المستقيم – الدم....إلخ).
- مثبطًا للتليُف الكلوي من خلال تدهور مستقبلات عامل النمو من النوع الثاني.
- إستراتيجية محتملة لعلاج الأمراض المرتبطة بالإلتهابات.
- إستراتيجية محتملة لعلاج الإضطرابات العصبية التنكسية.

3-3- أنواع مثبطات HSP 90

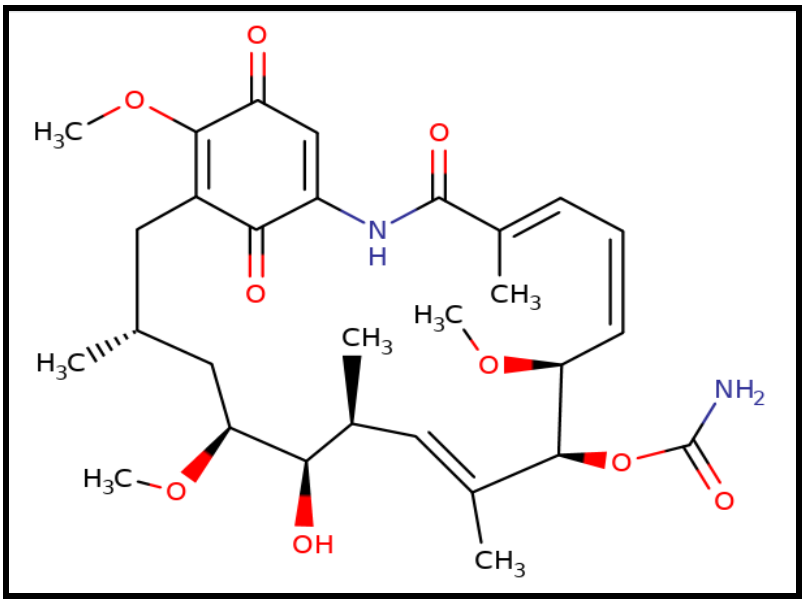
توجد العديد من مثبطات HSP 90 في الجزء الأخير من هذا الفصل سنكتفي بالتطرق للأنواع التي تم دراستها في الجزء العملي.

3-3- أ- مثبط Geldanamycin :

كان يعتقد في البداية أن Geldanamycin (GA) يعمل كمثبط تيروزين كيناز، حتى نشر المنشور التاريخي لـ وايتهول و نيكرز في عام 1994 أن GA منع تشكيل مركب v-Src-HSP 90 من خلال الإرتباط بـ HSP 90، وأظهر هيكل الكريستال في عام 1997 أن GA يرتبط بموقع ATP في المجال الطرفي N لـ HSP 90، كما أظهر التركيب البلوري لـ GA ونظائره تقليدًا غير معتاد للنوكليوتيد في هذا الموقع، ويشارك GA في سلسلة من تفاعلات الترابط الهيدروجيني بوساطة الماء، ويتم تبادل تفاعلات الربط التي يتم رؤيتها مع ATP و GA بشكل أساسي من قبل جميع روابط موقع ATP الطرفية الأخرى.[17] ويعتبر GA مثبط لنقل الإشارات المعتمدة على HSP 90 [18].

وهو من المضادات الحيوية بنزوكينون أنساميسين ويظهر نشاطًا قويا مضادًا للأورام الخبيثة والإلتهابات.

ويظهر الشكل رقم 5 التالي صورة لهيكل GA .

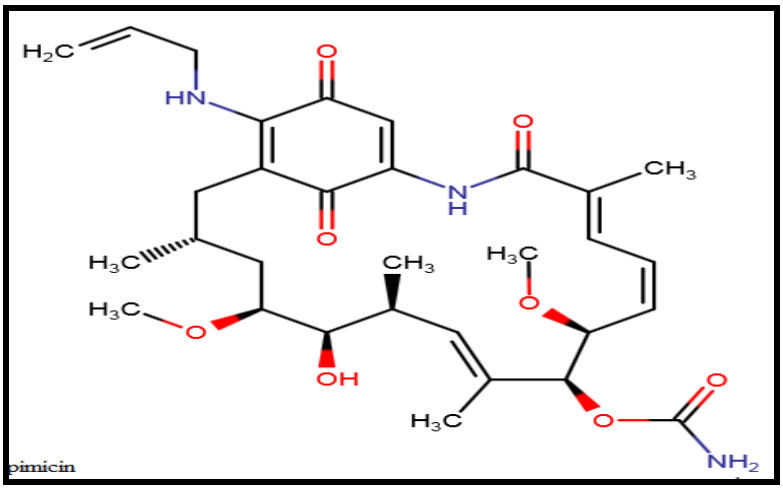


الشكل 5: هيكل GA[19].

3-3- ب- مثبط 17- AAG:

هو مثبط لـــ HSP 90 مشتق من GA[20] تناظري أقل سمية وأكثر إستقراراً من GA، وعلى الرغم من أن إرتباط 17- AAG بـــ HSP 90 أضعف من GA فإن 17- AAG يعرض تأثيرات مضادة للورم مشابهة لـ GA وخصائص سمية أفضل، و17- AAG حاليا في المرحلة الأولى من التجارب السريرية في العديد من المراكز في جميع أنحاء العالم وتوضح البيانات الأولية التي تم الحصول عليها من هذه التجارب أن النشاط المضاد للورم يتحقق بتركيز أقل من الجرعة القصوى المسموح بها.[21]

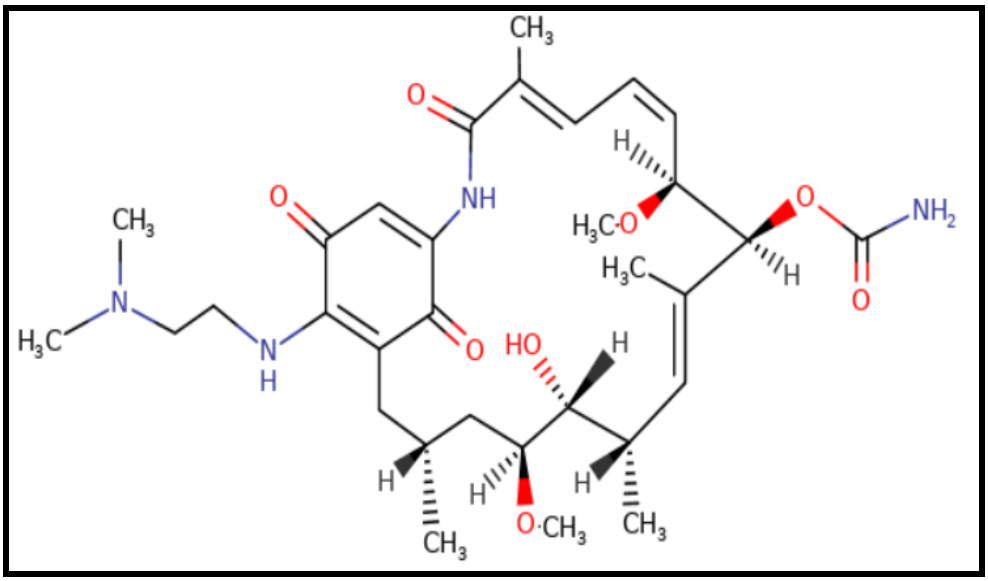
ويظهر الشكل رقم 6 الآتي صورة لهيكل 17- AAG.



الشكل 6: هيكل 17- AAG[22].

3-3- ج- مثبط 17-DMAG:

مشتق شبه إصطناعي لـــ GA له العديد من المزايا مقارنة مع 17- AAG مثل إرتفاع قابلية الذوبان في الماء والتوافر البيولوجي الجيد وإنخفاض التمثيل الغذائي وقدرة أكبر على مكافحة الأورام ويرتبط بـــ HSP 90، ويثبط وظيفته مما يؤدي في النهاية إلى تدهور بروتين العميل لـــ HSP 90. [23] ويظهر الشكل رقم 7 أدناه صورة لهيكل 17- DMAG. [24]

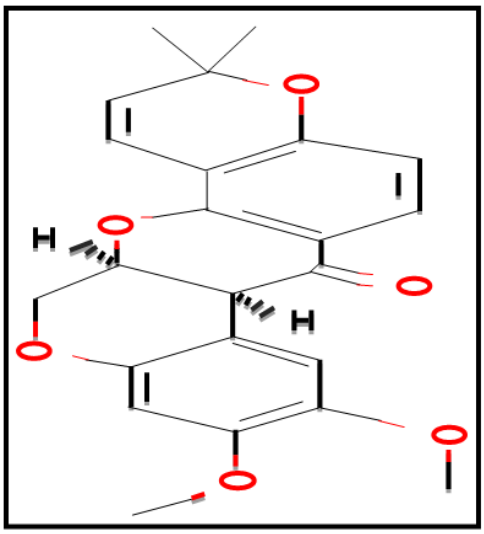


الشكل 7: هيكل 17-DMAG.[25]

3-3- د- مثبط Deguelin:

هو مركب طبيعي من منتجات عائلة الفلافونويد المعزولة من Derris trifoliata Lour أو Mundulea sericea (Leguminosae)، وقد أظهر نشاطًا كبيرًا مضادًا للأورام ونشاطًا مضادًا للتكاثر في أنواع مختلفة من السرطان في المختبر وفي الجسم الحي، ويسبب موت الخلايا المبرمج بواسطة Deguelin عن طريق منع المسارات المضادة للإستماتة مثل PI3K-Akt و IKK-IκBα-NF-κB و AMPK- mTOR-survivin، وأثناء تثبيط إنتشار الخلايا السرطانية والتحول الخبيث من خلال التحكم في دورة الخلية p27-cyclinE-pRb-E2F1 ومسارات مكافحة الأوعية الدموية HIF-1α-VEGF في التجارب ما قبل السريرية قلل Deguelin بشكل ملحوظ من معدل حدوث الورم، إذ حددت هذه النتائج البيولوجية Deguelin كعامل جديد مضاد للأورام يستهدف موت الخلايا المبرمج وتوقف دورة الخلية ومضاد الأوعية الدموية للوقاية من السرطان والعلاج الكيميائي.[26]

ويظهر الشكل رقم 8 أدناه صورة لهيكل Deguelin.

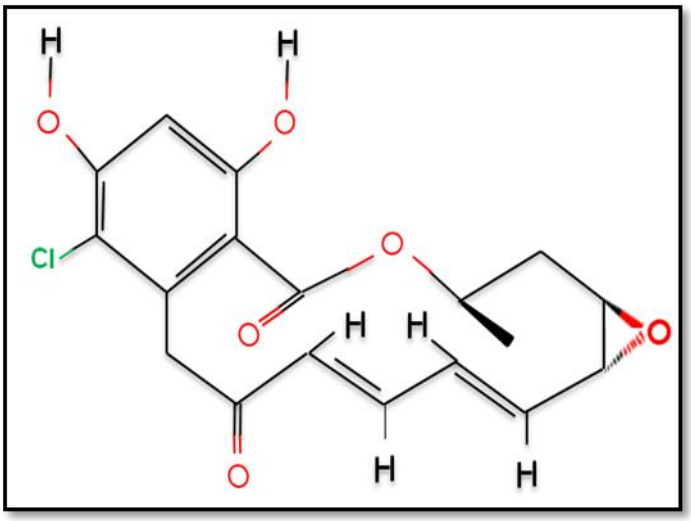


الشكل 8: هيكل Deguelin.[27]

3-3- ه- مثبط Radicicol:

مثل GA وهو منتج طبيعي تم عزله من الفطريات وكان يُعتقد أنه يعمل في الأساس كمثبط كيناز، ومع ذلك فقد ثبت لاحقًا أنه يعمل على تثبيط وظيفة HSP 90 عن طريق الربط في تحويل على شكل حرف L بجيب ATP N-terminal الخاص به، كما أنه يتفاعل بشكل مختلف مع HSP 90 مقارنةً بـــ GA ولكنه يعتمد على التشكل المنحني، وعلى الرغم من النشاط المختبري الواعد له إلا أن مركباته لم تتقدم أكثر في التطور السريري لأنه غير نشط في الجسم الحي بسبب عدم إستقراره في المصل، ويعتبر كعامل واعد مضاد للسرطان.[28]

ويظهر الشكل رقم 9 أدناه صورة لهيكل Radicicol.

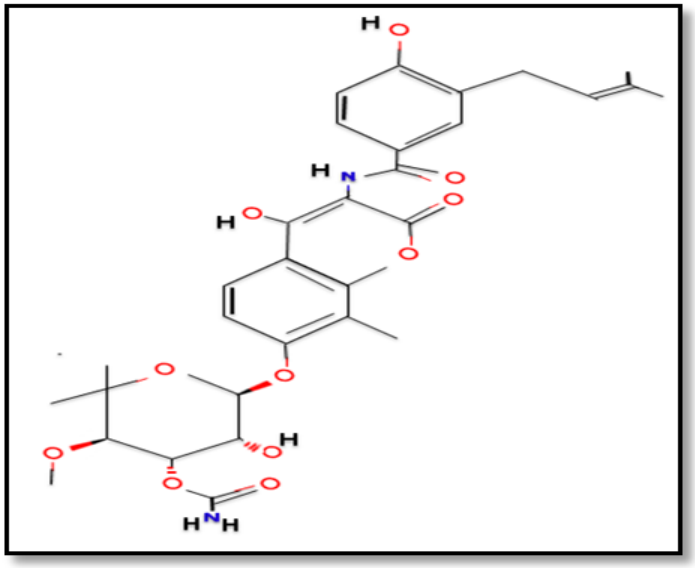


الشكل 9: هيكل Radicicol.[29]

3-3- و- مثبط Novobiocin:

هو مثبط جزيئي يعمل كمثبط تنافسي لحدوث ربط ATP الضروري لدوران الإنزيم بعد معالجة ملفات الحمض النووي، ويمنع تثبيط هذه الإنزيمات آلية لفك تشابك الحمض النووي مما يضر بقدرة الخلية على البقاء. يوصف Novobiocin أيضًا لتثبيط DNA Polymerase، وهو مثبط لـــ HSP 90 ويتفاعل مع المجال الطرفي (NTD) لبروتين HSP 90.[30]

ويظهر الشكل رقم 10 أدناه صورة لهيكل Novobiocin.



الشكل 10: هيكل Novobiocin.[31]

4- خاتمة

بروتينات الصدمة الحرارية (HSPs) تتكون بواسطة الصدمات الحرارية وبعض الضغوط البيئية والفسيولوجية المرضية لها دور في تفاعلات البروتينات مع بعضها البعض مثل التشكل والإنتقال ومنع تراص البروتينات غير المناسبة كما أن لها دور في زيادة الخلايا السرطانية وتمايزها وحدة إنتشارها وموتها والتعرف المناعي عليها .
إذن فتثبيط هذا البروتين له أثر طبي كبير في علاج أنواع كثيرة من السرطانات ولإثراء هذا المجال في كيمياء الأدوية، تم إنشاء العديد من طرق البحث بإستخدام الكمبيوتر. تم تطوير هذه الأساليب لمساعدة الكيميائيين الطبيين على فهم التفاعلات، على المستوى الجزيئي حيث تشكل أساس معظم الآليات البيولوجية. من بين التقنيات المستخدمة، يتم إستخدام تقنية الإلتحام الجزيئي بشكل متزايد، وسيخصص الفصل التالي لعرض هذه التقنية.

المراجع الببليوغرافية

المراجع باللغة العربية

1. هاني زكريا عصفور, محمد حسين القحطاني, سفيان محمد العسولي, عبد الحكيم محمد كيلاني. الأهمية الإنذارية لبروتينات الصدمة الحرارية 27 و70 كيلو دالتون في مرضى سرطان الثدي, كلية الطب.

4. https://www.arsco.org/article-detail-1446-9-0.

15. زهرة محمود الخفاجي، التقنية الحيوية الميكروبية (توجهات جزيئية)، مجلة جامعة بغداد، معهد الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية، قسم علم الاحياء، 2008.

30. الكيمياء الطبية الشاملة II، المجلد 7، 2007، ص 223.

المراجع باللغات الأجنبية

2. Revel G, Bates H, Huikeshoven H, Cotterill S (1 June). "The Drosophila Dpit47 protein is a nuclear Hsp90 co-chaperone that interacts with DNA polymerase alpha". Cell Sci, 2001;114: 2015–25.

3. Antonio DM , M Gabriella S, Robert MT, Lawrence EH. Ferruccio Ritossa's scientific legacy 50 years after his discovery of the heat shock response: A new view of biology, a new society, and a new journal, Cell Stress and Chaperones, 2012; 17(2):139-43.

5. Antoine S, Les protéines de stress HSP90 et Gp96 dans la maladie du greffon contre l'hôte : implication physiopathologique-diagnostique et thérapeutique, thèse de doctorat, université de bourgogne–France, École Doctorat le Environnements – Santé – STIC, Discipline: Sciences de la Vie, 2015 : 36.

6.Marta C , Junling Li, Joaquim G, Joseph- PY Kao, Shao- Jun D. Loss of Smyhc1 or Hsp90alpha1 function results in different effects on myofibril organization in skeletal muscles of zebrafish embryos Plosone, 2010;5(1): 8416.

7. https://www.mybiosource.com/recombinant-protein/hsp90-beta/515103.

8. David L, Rôle des protéines de choc thermique HSP90 et HSP70 dans la différenciation microphagie, thèse de doctorat, université de bourgogne–France, U.F.R de Médecine, Discipline: Biochimie Cellulaire et Moléculaire, 2010;39.

9. Dongxia L , Jiangting H, Jackeline A, Alfredo C, Yuanchao Z, Adrian L H, Kevin G, Francesco P, Tumor necrosis factor receptor-associated protein 1(TRAP1) regulates genes involved in cell cycle and metastases, US National Library of Medicine, National Information Center Biotechnologie, 2010;296(2):194-205.

10. Goetz MP, Toft DO, Ames MM, Erlichman C. "The Hsp90 chaperone) complex as a novel target for cancer therapy". Ann. Oncol,2003; 14 (8): 1169–76.

11. Ali MM, Roe SM, Vaughan CK, Meyer P, Panaretou B, Piper PW, Prodromou C, Pearl LH. "Crystal structure of an Hsp90-nucleotide-p23/Sba1 closed chaperone complex". Nature, 2006; 440 (7087): 1013–7.

12. Pearl LH, Prodromou C. "Structure and in vivo function of Hsp90". Curr. Opin. Struct. Biol, 2000; 10 (1): 46–51.

13. Gaurav G, Anuj K, Brian S-J B, Anticancer Inhibitors of Hsp90 Function: Beyond the Usual Suspects; Adv Cancer Res, 2016; 129: 51–88.

14. Abdullah H, El-Sabban M-E , Hassan YN, International Journal of Molecular Sciences, Journal of The HSP90 Family: Structure, Regulation, Function, and Implications in Health and Disease, 2018; 29;19(9):2560.

16. Sangkyu P, Jeong-A P, Jae-Hyung J, Younghee L . Traditional and Novel Mechanisms of Heat Shock Protein 90 (HSP90) Inhibition in Cancer Chemotherapy Including HSP90 Cleavage, Journal Université nationale de Chungbuk – Korea, Biotechnology Research Institute,College of Nature Sciences Département de biochimie. 2019;424 .

17. Sui S, Keith J, Paul W. Cancer Drug Design and Discovery, Cancer Research Institute, Londres, Royaume-Uni, 2014; 2: 24.

18. Mariarosaria P, Fiorentina R, Carla S, William C. Sesa, Giuseppe Sereno, un inhibiteur de la protéine de choc thermique 90 (Hsp90) pour la transduction du signal a des effets anti-inflammatoires et interagit avec les récepteurs des glucocorticoïdes in vivo, Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis, Centre national d'information sur la biotechnologie, 2000;14.

19. https://www.fermentek.com/product/geldanamycin.

20. https://www.caymanchem.com/product/11039/17-aag.

21. www.invivogen.com/geldanamycin.

22. https://www.fermentek.com/product/17-aag.

23. Hasan M, Sona Talaei, Yunus B, Sultana A, Abu al-Fadl B, Abu al-Fadl A-Z, Arman S, Mizyar BM, Nasra Allah A, Traitement ciblé du cancer avec le 17-DMAG comme inhibiteur de la hsp90, American National Library Information nationale sur la biotechnologie.2018;609.

24. Jeong Goo Kim, Sang Chul Lee, Well Hee Kim, Ki Hwan Kim, Kyu Yong Sung, Sang Koon Lee, Byung Jo Choi et Rungun Jeong, Sai Joon Kim, HSP90 L'inhibiteur 17-DMAG exerce principalement des effets anticancéreux contre les cellules cancéreuses de l'estomac.En modifiant l'équilibre antioxydant, Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis, Centre national d'information sur la biotechnologie. 2017;34.

25. https://www.fermentek.com/product/17-dmag.

26. Ying Wang, Wenli Ma et Wenling Zheng, Un nouvel agent anti-tumoral qui cible l'apoptose, interrompt le cycle cellulaire et un antiangiogène pour la chimioprévention du cancer, US National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information. 2012;217 .

27. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Deguelin.

28. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6323491.

29. https://www.scbt.com/p/novobiocin-sodium-salt-1476-53-5.

31. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54675769.

الفصل الثاني
تقنية الإلتحام الجزيئي

1- مقدمة

مع قدوم الطرق النظرية للحساب، الأكثر فالأكثر تقدّمًا، ووسائل الحساب الأكثر سهولة، تعدّ الكيمياء الحاسوبية (la chimie informatique) الآن الأداة الأكثر إستعمالا في الصناعة وفي الوسط الأكاديمي، كمثال عن هذه الطرق النظرية نجد النمذجة الجزيئية.[1]

تشمل النمذجة الجزيئية جميع الأساليب النظرية والحاسوبية التي تعمل على نمذجة أو محاكاة سلوك الجزيئات، وتستخدم في مجالات الكيمياء الحاسوبية وتصميم الأدوية وعلم الأحياء الحسابي وعلوم المواد لدراسة النظم الجزيئية التي تتراوح من النظم الكيميائية الصغيرة إلى الجزيئات البيولوجية الكبيرة، والتفاعلات بين الجزيئات هي أساس معظم الآليات البيولوجية. يمكن دراسة تفاصيل هذه التفاعلات عن طريق التصوير البلوري بالأشعة السينية أو الرنين المغناطيسي النووي(RMN)، ولكن هذه التقنيات التجريبية لا تسمح لنا بتفصيل كل هذه التفاعلات نظرًا لعدد لا يحصى من الجزيئات المختلفة داخل نفس الخلية، لذلك عادة نلجأ الى النمذجة الجزيئية التي تسمح بشرح مثل هذه الاليات في وقت قصير وبأقل تكلفة، وتشمل طرق النمذجة الجزيئية: ميكانيكا الكم والميكانيكا الجزيئية والديناميكيات الجزيئية.[1]

ويعد الإلتحام الجزيئي جزءً من طرق النمذجة، وتستخدم هذه التقنية نفس مبادئ طرق النمذجة الأخرى إلا أنها تتميز بخصوصية الجمع بين جزيئين أو أكثر في نفس الوقت، وتجعل هذه الخاصية أحد أهم طرق النمذجة الجزيئية لهذا تم تطوير طرق وخوارزميات مختلفة لتطوير هذه التقنية.[1]

وهو أسهل بكثير في التنفيذ وأقل تكلفة وأسرع من إستخدام الطرق التجريبية المذكورة لذلك فإن برامج الإلتحام هي أدوات مستخدمة على نطاق واسع في الكيمياء والبيولوجيا والصيدلة والطب لأن معظم المكونات النشطة عبارة عن جزيئات صغيرة (روابط) تتفاعل مع هدف بيولوجي ذات أهمية علاجية عامة للبروتينات (مستقبلات).[1]

2- تعريف النمذجة الجزيئية

النمذجة الجزيئية (الميكانيكا الجزيئية و الديناميكا الجزيئية) في الحقيقة، هي مصطلح عام يجمع تقنيات مختلفة للوصف الجزيئي. و الكيمياء الحاسوبية تسمح بعرض ومحاكاة وتحليل وحساب وتجميع خصائص الجزيئات، كما تسمح أيضا بتحديد بنية وطاقة الجزيئات. ترتكز الميكانيكا الجزيئية على حقل قوة تجريبي، وهي طريقة غير كمية، في الحقيقة النظام الإلكتروني غير معتمد مباشرة، ولكن نتائجه تكون مقدرة بحساب غير مباشر. الذرات ممثلة بكريات مرتبطة بسيقان أو نوابض وأي تشوه في البنية يؤدي إلى تغيير في الطاقة الكامنة للنظام[1].

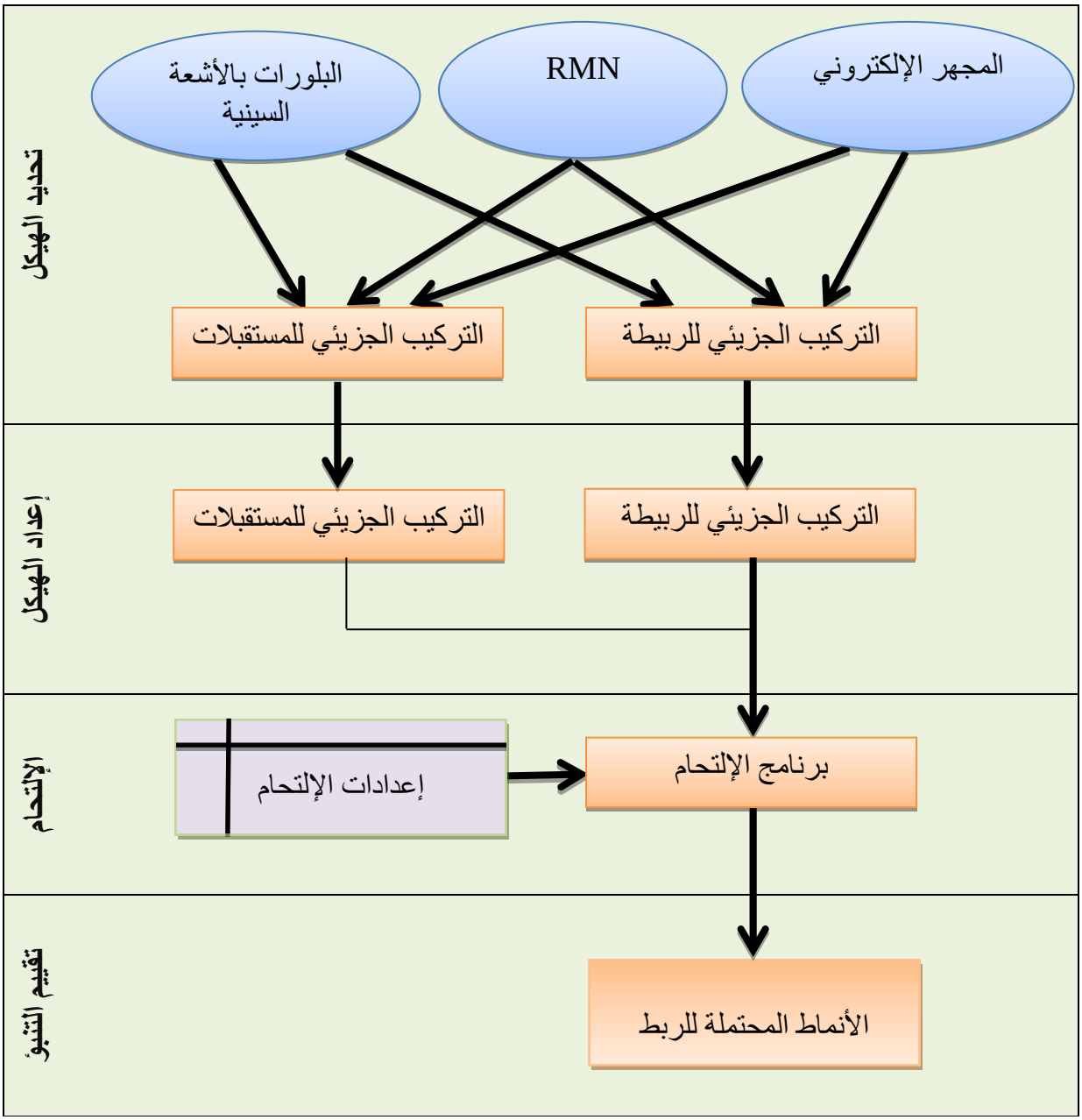
3 - الإلتحام الجزيئي

الإلتحام الجزيئي بالإنجليزية (molecular docking) في مجال النمذجة الجزئية هي طريقة تتنبأ بالإتجاه المفضل لأحد الجزيئين بالنسبة للثاني عند إرتباطهما ببعضهما لتشكيل معقد.[2]

معرفة الإتجاه المفضل قد تُستخدم في التنبؤ بقوة الإقتران أو ألفة الإرتباط بين الجزيئات بإستخدام دوال رياضية. يعد الإلتحام الجزيئي أداة رئيسية في البيولوجيا الجزيئية الهيكلية وتصميم الأدوية المبني على البنية نظرا لقدرته على التنبؤ بأسلوب (أنماط) الربط السائد بين الربيطة (ligand) والمستقبل (récepteur) الذي عادة ما يكون بروتين ذو بنية ثلاثية أبعاد معروفة. ويمكن إستخدام الإلتحام لإجراء فحص إفتراضي (criblage virtuel) على مكتبات كبيرة من المركبات وترتيب نتائج الطاقة ومن ثم إقتراح مركبات جديدة ذات فعالية بيولوجية أحسن من تلك الإبتدائية [3].

.3-1- الخطوات الأساسية للإلتحام الجزيئي

تضمن عملية الإلتحام الجزيئي إرتباط مركب يتفاعل مع المستقبل (عادة ذات طبيعة بروتينية). تتكون هذه التقنية من أربع خطوات رئيسية (الشكل 1):



الشكل1: الخطوات الرئيسية للإلتحام الجزيئي.

3-1-1- تحديد الهياكل ثلاثية الأبعاد (3D) لكل من المستقبل والربيطة

يتم الحصول على هذه الهياكل عن طريق الطرق التجريبية التالية:[4]

- الرنين المغناطيسي النووي (RMN).

- الفحص المجهري الإلكتروني.

-علم البلورات بالأشعة السينية (RX).

تحمل أغلبية هياكل البروتين (3D) من بنك بيانات البروتين(pdb) في حالة عدم توفر مستقبل معين في هذا البنك الإلكتروني فالحل هو اللجوء إلى طريقة النمذجة بالمقارنة (modélisation comparative)[5].

3-1-2- تحضير المستقبل والربيطة

في البداية يتم تحضير كل من المستقبل والربيطة، هذه العملية تحدث إلا مرة واحدة فقط مع إتباع الخطوات التالية:

- إزالة أي جزيء ماء موجود على سطح البروتين في حالة إختيار الإلتحام في غياب جزيئات الماء.

- التحقق من أن جميع أجزاء المستقبل المدروس موجودة خصوصا تلك القريبة من الموقع الفعال

- التحقق من وجود السلاسل الجانبية التي سيتم نمذجتها. إذا كانت السلسلة الجانبية المفقودة بالقرب من الموقع الفعال، يجب توجيهها في المكان المناسب لزيادة إحتمالات التفاعلات بين الربيطة والبروتين.

- التحقق من تفادي التصادم الفراغي (clash stérique) بعد إضافة ذرات الهيدروجين الناقصة في كل من الربيطة والبروتين.

- التحقق من برتنة الأحماض الأمينية من نوع هيستيدين (His) الملامسة للربيطة (Ligand).

- إضافة مجموعات الأميد الناقصة في بعض الأحماض الأمينية مثل الجلوتامين (Gln) والأسباراجين(Asp).

3-1-3- عملية الإلتحام

في دراستنا، إخترنا "Molegro Virtual Docker" كبرنامج للنمذجة. وهذا الأخير يقدم منصة متكاملة للتنبؤ بتفاعلات الربيطة (ligand) مع البروتين.

المميز في هذا البرنامج إدارته لجميع جوانب عملية الإلتحام بدءا من تحضير الجزيئات، ثم تحديد مواقع الإرتباط المحتملة، إلى غاية التنبؤ بأنماط الربط.

3-1-4- التنبؤ والتقييم

بمجرد القيام بالإلتحام الجزيئي، ينتقل البرنامج إلى خطوة التنبؤ والتقييم. هذا يسمح بإظهار جميع أنماط التفاعلات المحتملة بين الربيطة والمستقبل.

4- أنماط التفاعلات المحتملة بين الربيطة والمستقبل

يعتمد عمل الأنظمة البيولوجية على آليات تجميع تتضمن تفاعلات جزيئية منخفضة الطاقة. ومن التفاعلات التي يمكن أن توجد بين الربيطة والبروتين هي تلك من النوع القطبي مثل: الروابط الهيدروجينية، الروابط الأيونية، الروابط الإلكتروستاتيكية وكذلك روابط فان دير فالز، وتلك ذات النوع الكاره للماء والتي تنتج عن التلامس بين المجموعات الكارهة للماء.

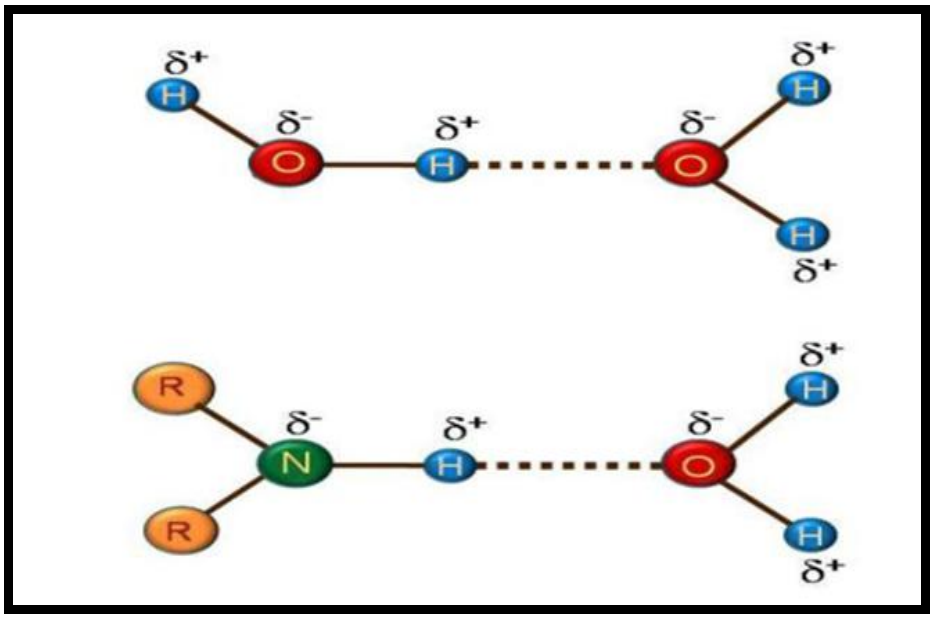
4-1- الرابطة الهيدروجينية (Liaison hydrogène)

الرابطة الهيدروجينية (الشكل2)هي تلك الرابطة التي تنشأ بين ذرة هيدروجين مشاركة برابطة تكافؤية مشحونة بشحنة جزئية موجبة، وذرة مستقبلة مشحونة سلبا مشاركة هي أيضا في رابطة تكافؤية:

المجموعات المانحة للبروتونات: P-H، Cl-H، N-H، O-H، F-H وأحيانا C-H.

المجموعات المستقبلة يجب أن تكون حاملة لزوج إلكتروني حر: F،O ، N ،Cl، S، P وبعض الأيونات السالبة.

نتيجة لصغر حجم ذرة الهيدروجين يمكن لزوج الإلكترون الحر (اللارابط) في ذرة الفلور أو الأوكسجين أو النيتروجين في جزيء ما أن يقترب جدا من ذرة الهيدروجين في جزيء آخر .



الشكل 2: أمثلة على الرابطة الهيدروجينية.[6]

4-2- الرابطة الأيونية (liaison ionique)

هي نوع من الروابط تنتج عن التجاذب الإلكهروستاتيكي بين الأيونات المخالفة لبعضها البعض في الشحنة في المركب الكيميائي. تنشأ هذه الرابطة عندما تنتقل إلكترونات التكافؤ نهائيا من ذرة ما إلى ذرة أخرى. الذرات التي تفقد إلكتروناتها تصبح أيونات موجبة (كاتيونات) بينما الذرات التي تكتسب الإلكترونات تصبح أيونات سالبة (أنيونات).

وتخضع التفاعلات بين الجسيمات التي تحمل الشحنات الكهربائية لقانون كولوم. يتم الحصول على طاقة التفاعل الكامنة لشحنتين كهربائيتين Q1 و Q2 مفصولة بمسافة d عن طريق حساب العمل المطلوبة لفصل هاتين الشحنتين على مسافة غير محدودة (الشكل 2). المعادلة 4 تمثل الطاقة الكامنة (V) لجزيئين بشحنات مختلفة.

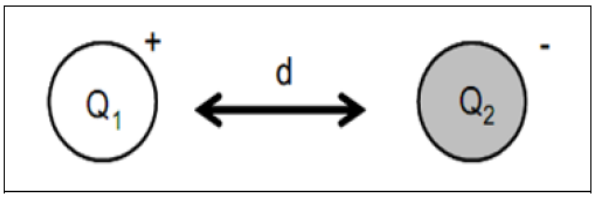
$$V = \frac{Q_1 Q_2}{4\pi\varepsilon\varepsilon_0 d} \quad \text{.....} \quad Eq.4$$

حيث أن:

εo: سماحية الفضاء.

ε: سماحية الوسط الذي تتطور فيه الشحنات.

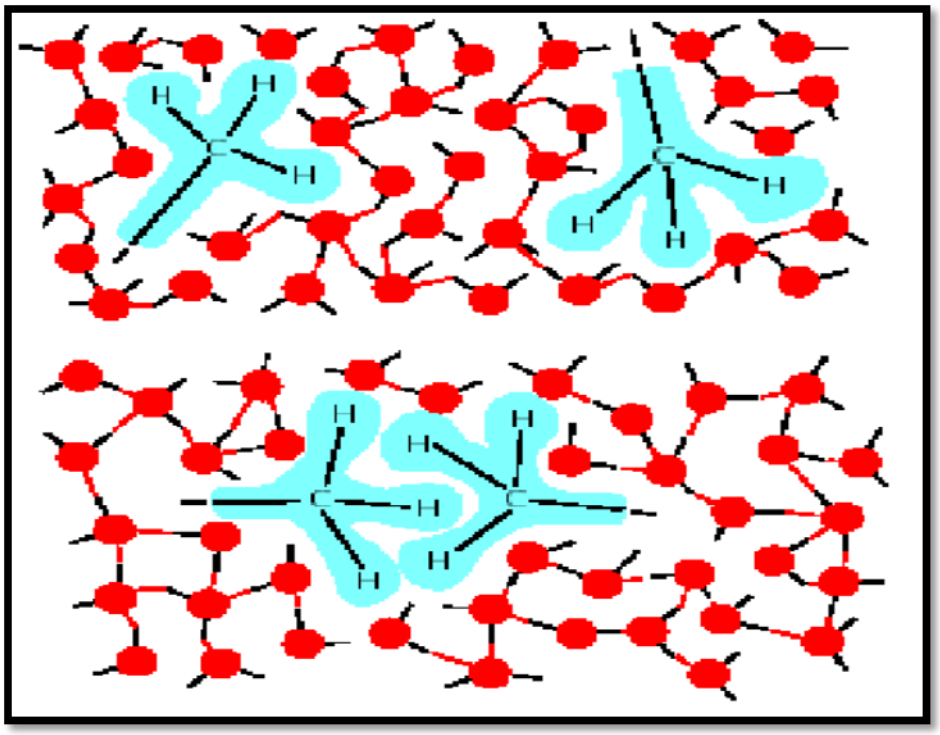
d: المسافة بين الشحنتين.



الشكل 3: التفاعل بين جزيئين من شحنة مختلفة.[6]

4-3- الرابطة الكارهة للماء (Liaison hydrophobe)

تميل الجزيئات غير القطبية وذات الإستقطاب الضعيف إلى التجمع معًا، مما يخلق قوة رابطة كارهة للماء هذه تفاعلات بين الجزيئات أو المجموعات التي لها ألفة قليلة جدًا للمذيب الذي تذوب فيه (الماء)، ستضع المجموعات نفسها بحيث يكون لها أصغر سطح تلامس مع الماء، لذلك سوف تجتذب المجموعات بعضها البعض بواسطة قوى من نوع التشتت. (الشكل 3)



الشكل 4: مثال عن الروابط الكارهة للماء.[6]

4-4- رابطة فان دير فالز(liaison van der waals)

تنسب هذه القوى إلى العالم الهولندي يوهانس ديدريك فان دير فالز (Johannes Diderik van der Waals).

تتعلق هذه الطاقة بالذرات الغير مرتبطة فيما بينها والغير مرتبطة بالذرة المشتركة, وهي تتركب من جزئين, واحد دافع والآخر جاذب ونستطيع التعبير عنها بالمعادلة التالية :

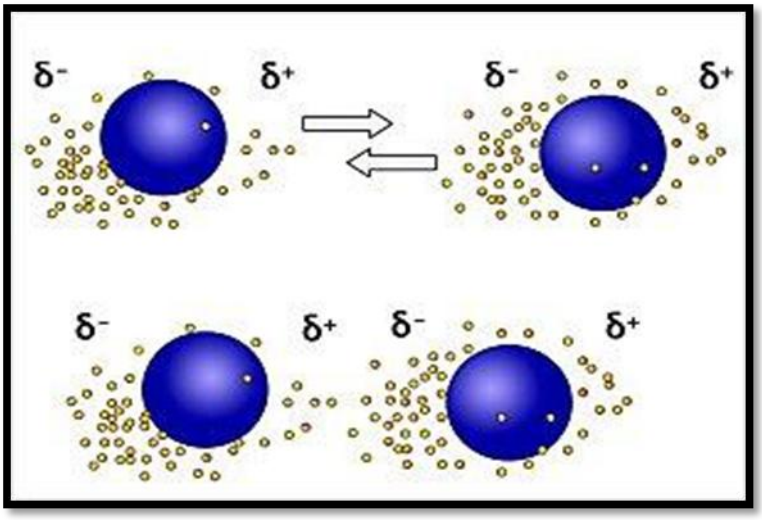
$$E(vdw)= \varepsilon *[- C1(r*/r)\ 6 +C2 \exp (-C3(r/r*)]$$

* ε : ثابت متحول للطاقة ويسمى أيضا ثابت الصلابة.

r* :مجموع الأشعة لفان دير فالس للذرات المتفاعلة فيما بينها.

r : المسافة المشتركة بين الذرات.

C_1,C_2,C_3 : ثوابت الحقل.[7]



الشكل 5: تفاعلات فان دير فالز.[8]

5- خوارزميات الإلتحام الجزيئي

من حيث المبدأ، يجب أن تكون خوارزمية الإلتحام قادرة على إنشاء أوضاع الربط المتوقعة للروابط. لذلك من الضروري أن تكون هذه الخوارزمية قادرة على إستغلال مساحة التوافق (l'espace conformationnel) بطريقة فعالة وشاملة. عادة ما يتم تحديد قدرة الخوارزمية على العثور على الموقع الصحيح للإرتباط بحساب مقدار يدعى بإنحراف الجذر التربيعي (RMSD).

إنحراف الجذر التربيعي (RMSD) يحسب بين موقع النموذج المصمم بالبرنامج (pose) المعرف بالإحداثيات الديكارتية (x_{pose}، y_{pose}، z_{pose}) وموقع نموذج البنية البلورية ذو الإحداثيات الديكارتية ($x_{cristal}$، $y_{cristal}$، $z_{cristal}$). يتم إعطاء قيمة RMSD بالمعادلة التالية:

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(x_{cristali} - x_{pose\,i})^2 + (y_{cristali} - y_{pose\,i})^2 + (z_{cristali} - z_{pose\,i})^2} \quad \cdots\cdots \quad Eq.1$$

6- دوال الحرز (Fonction de score)

هي دالة عددية مفيدة في قياس درجة تشكل المعقد مستقبل- ربيطة (recepteur-ligand), بشكل عام هي تقدير تقريبي للطاقة الحرة الناتجة عن إنتقال كل من البروتين والربيطة من الشكل الحر إلى الشكل المرتبط. بإعتماد مبدأ الديناميكا الحرارية (Eq. 2):

$$\Delta G = \Delta G_{complexe} - \Delta G_{ligand} - \Delta G_{protéine} \quad \text{.....} \quad Eq.2$$

يمكن حساب الألفة الكيميائية بإستعمال طاقة جيبس الحرة ΔG_l عند درجة حرارة T.

$$\Delta G_l = -RTlnK_{eq} \quad \text{.....} \quad Eq.3$$

حيث، R هو ثابت الغاز المثالي و K_{eq} هو ثابت التوازن.

تقدير الألفة الكيميائية بين المستقبل والربيطة يعتمد عموما على حساب قيمة الطاقة الذي يحتوي على الكثير من التقريبات, لهذا السبب نجد العديد من دوال الحرز التي تختلف على حسب البرنامج المستخدم[9].

هذه الدوال تصنف بصفة عامة الى أربع عائلات:

6-1- دالة الحرز المبنية على أساس حقل القوى (Champs des forces)

بإستخدام الميكانيكا الجزيئية، تحسب دالة الحرز المبنية على أساس حقل القوى كل من الطاقة اللازمة لتشكيل المعقد (مستقبل- ربيطة) والطاقة الداخلية للربيطة (G-Score). عادة ما يعبر هذا النوع من الدوال على الروابط من نوع فاندر فالز (Vander Waals) والكهروستاتيكية (électrostatiques). من بين أهم نقائص هذا النوع من الدوال أنه يقتصر على نماذج الطور الغازي وبالتالي لا يأخذ بعين الإعتبار على تأثير الذوبانية .

6-2- دوال الحرز التجريبية (Fonctions de score empiriques)

يعتمد هذا النوع من الدوال على الإنحدار المتعدد (la régression multiple) لضبط معاملاتها وفقا للنظام الفيزيائي المدروس. هذا الضبط يكون إنطلاقا من المعطيات الخاصة بالمعقد مستقبل- ربيطة [10].

تبين هذه الدوال الروابط الأيونية والجسور الهيدروجينية والتفاعلات الكارهة للماء والتفاعلات الناتجة عن تغير الأنتروبيا. تستخدم معظم برامج الإلتحام هذا النوع من الدوال نظرًا لكفاءتها من حيث السرعة والدقة.

6-3- دوال الحرز المستندة إلى المعرفة (Les fonctions de score type knowledge-based)

تعتمد هذه الدوال على تحليل الهياكل ثلاثية الأبعاد(3D) للمعقد بروتين- ربيطة المحددة تجريبياً. يتم بواسطتها إنشاء قواعد تسمح بتحديد هندسة الروابط إعتمادا على الوسائل الإحصائية.

هذا النوع من الدوال الإحصائية يمكنه فقط نمذجة الروابط المعرفة في قواعد بياناتها التجريبية. وبالتالي من الصعب نمذجة التفاعلات التي لا تختلف كثيرًا عن هذه النموذج المقترح.

إستعملت هذه الدوال بنجاح في الكثير من دراسات الإلتحام لمستقبلات بروتينية كما أنها أظهرت قدرة تنبأ أفضل لأنماط الإرتباط بين المستقبل والربيطة مقارنة بالدوال الأخرى[11].

6-4- دوال الجمع

المبدأ الأساسي لهذه الدوال هي الجمع بين المعلومات التي تم الحصول عليها من طرف الدوال الأخرى المختلفة [12]. وقد أظهرت العديد من الدراسات تحسن الطاقة الحرة للمعقدات بروتين- ربيطة بإعتماد طريقة جمع الدوال مقارنة بإستخدام الدوال بشكل فردي[13].

مثال عن هذا النوع من الدوال نجد دالة X-CSCORE4 [14]. الذي يجمع بين دالتي: PMF [15] و ChemScore [16]

7- البرامج المستخدمة في الإلتحام

يتوفر حاليا أكثر من 30 برنامجًا للإلتحام الجزيئي والأكثر شيوعا هم: AutoDock و GOLD و FlexX و DOCK و Virtual Molegro Docker (MVD). برامج الإلتحام الجزيئي الرئيسية ملخصة في الجدول الموالي:

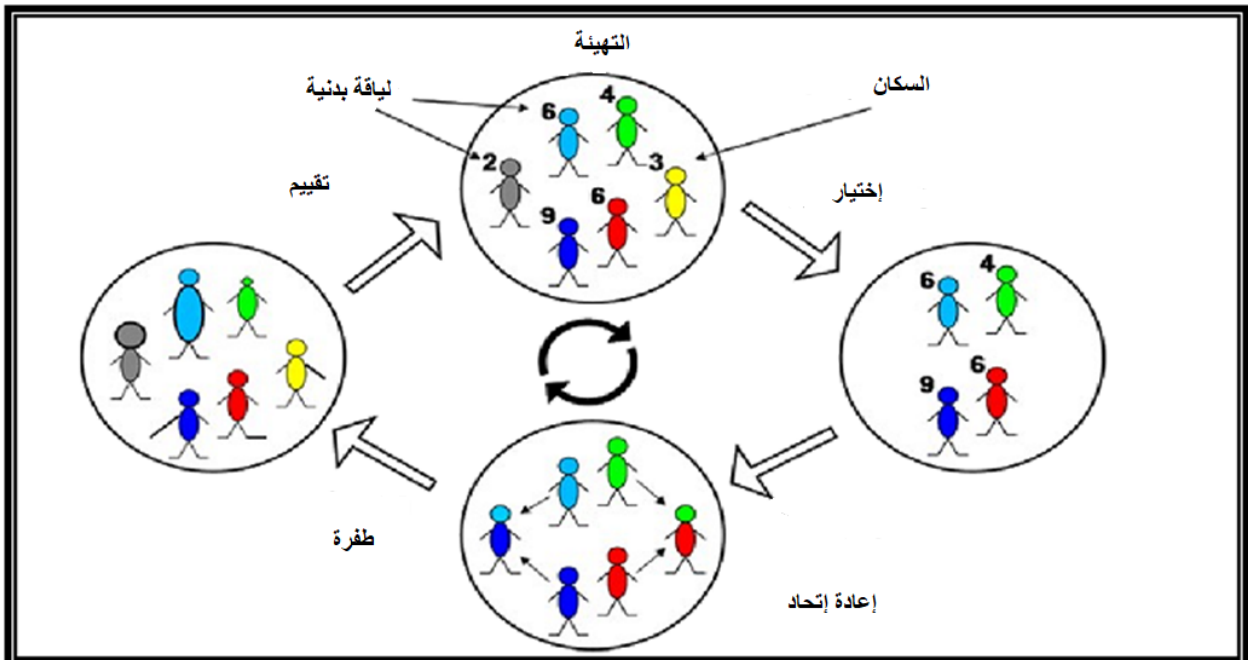
الجدول 1. برامج الإلتحام الجزيئي الرئيسية.

إسم البرنامج	الموقع على الإنترنت
AutoDock Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
FlexX BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
Dock UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
Glide Schrödinger	http://www.schrodinger.com/Products/glide.html
Gold CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
ICM Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html
Surflex Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.htmlhttp://www.molsoft.com/products.html

7-1- برنامج Docker Virtual mologro (MVD)

يعد Docker Virtual mologro (MVD) برنامجًا قويًا يسمح بالتنبؤ بتفاعلات إنزيم- ربيطة. وهو مصمم لأداء جميع خطوات العملية تلقائيًا. يقدم برنامج MVD إلتحاما عالي الجودة، ويستخدم تقنية تحسين تعتمد على ربح الوقت والإنتاجية. تعتمد دالة الحرز لهذا البرنامج "MolDock" على خوارزمية بحث جديدة تجمع بين التطور التفاضلي وخوارزمية التنبؤ بفجوات البروتين.

الخوارزميات التطورية (Les algorithmes évolutionnaires)هي طرق عامة ومتكررة للتحسين. إنها تستند إلى عملية تكيفية مماثلة للتطور الطبيعي. هذه الطرق قادرة على إدارة العديد من الحلول في وقت واحد، مجمعة معًا في مجتمع.



شكل 6: تمثيل تخطيطي لدورة الخوارزميات التطورية [17].

الفكرة الأساسية من خوارزمية البحث التطورية مستمدة من نظرية داروين في التطور وهي أن المجتمع مكون من مجموعة من الأفراد يمكن أن تسمى أيضا كروموسومات أو حلول محتملة التي يتم تقييمها بكل جيل وإختيار الأفراد الأفضل التي يمكنها التكاثر ومن ثم حذف الأفراد الأضعف من المجتمع.

عملية التطور (evolution) تبدأ عادة من إختيار الكورموسومات (population) بشكل عشوائي وهذا يحدث في الأجيال الأخرى، في كل جيل يتم حساب دالة الحرز (fitness function) لكل الكرومسومات بشكل منفرد من أجل إختيار أفضلها ومن ثم عمل تهجين (دمج) وأيضا عمل طفرة، هذه الخوارزمية تتوقف عندما نصل إلى أكبر عدد من الأجيال تم إنتاجه أو الوصول إلى أفضل حل من خلال دالة الحرز.

8- خاتمة

تعتبر عملية الإلتحام واحدة من أولى الخطوات في تصميم الدواء، وهو يتكون من جعل ربيطة يتفاعل مع مستقبلات عادة ذات طبيعة بروتينية، لذلك فإن أكبر ميزة لطرق الإلتحام أنها تقدم لنا فرضيات هيكلية حول كيفية تفاعل جزيء صغير مع الجزيء الكبير المستهدف. أظهرت الدراسات أن بعض خوارزميات الإلتحام أكثر موثوقية من غيرها في إعادة إنتاج نمط الربط التجريبي للروابط كما أنها تختلف على حسب البرنامج المستخدم. في الفصل الموالي سنقوم بإستعمال برنامج Molegro Virtual Docker (MVD) لدراسة آلية تثبيط مركبات شهيرة لبروتين الصدمة الحرارية (Hsp90).

المراجع الببليوغرافية

المراجع باللغة العربية

1. زواري أحمد رشيدة، دراسة البرامترات المحبة للماء والكارهة للماء على السطح المشترك (محب للماء/كاره للماء) للمضادات الحيوية الماكروليدية ذات 16 ذرة، مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة - الجزائر، كلية العلوم والعلوم الهندسية، قسم هندسة الطرائق، 2005، ص26.

7. صبرينة كباس وراضية 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، 2018، ص 23.

المراجع باللغات الأجنبية

2. Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J (Nov). "Docking and scoring in virtual screening for drug discovery methods and applications". Nature Reviews. Drug Discovery, 2004; 3 (11): 935–49.

3. Garrett M Morris, Margarita Lim Welby, article autour de la modélisation moléculaire, Département de biologie moléculaire, Scripps Research Institute, La Jolla, Californie, États-Unis, 2008.

4. Howard GC, Brown WE. Modern protein chemistry. CRC press, 2001; 272.

5. Al-Lazikani B, Jung J, Xiang Z, Honig B. Protein structure prediction. Current Opinion in Structural Biology, 2001; 5: 51-56.

6. Bouchagra S, Modelisation Des Intractions Proteine-Petites Molecules: Etude De La Relation Structure– Fonction Dans Le Cas Des Lipases, Thèse de Doctorat Option : Chimie Organique et Bioorganique, Universite Badji Mokhtar- Annaba, 2018.72 .

8. http://adherence-gecko.e-monsite.com/pages/ii-comment-expliquer-le-fait-que-ces-geckos-puissent-adherer-a-des-surfaces-lisses-verticales/d-forces-de-van-der-waals.html.

9. Ferrara P, Gohlke H, Price DJ, Klebe G. Assessing scoring functions for protein-.

Interactions Journal of Medicinal Chemistry, 2004; 47: 3032-3047.ligand.

10. Lafond M , Docking et scoring. Schrödinger, 2015.

11. Schneider G, Böhm HJ. Virtual screening and fast automated docking methods Combinatorial Chemistry, 2002;7: 64-70.

12. Charifson PS, Corkery JJ, Murcko MA, Walters WP. Consensus scoring: A method for obtaining improved hit rates from docking databases of three dimensional structures into proteins. Journal of Medicinal Chemistry, 1999; 42: 5100-5109.

13. Bissantz C, Folkers G, Rognan D. Protein-based virtual screening of chemical databases Evaluation of different docking scoring combinations Journal of Medicinal Chemistry, 2000;43:4767-4759.

14. Wang RX, Lai LH, Wang SM, Further development and validation of empirical scoring j functions for structure-based binding affinity prediction. Journal of Molecular Computer.Design, 2002; 16: 11-26 .

15. Muegge I. Effect of ligand volume correction on PMF scoring. Journal of Computational Chemistry, 2001; 22: 418-425.

16. Eldridge MD, Murray CW, Auton TR, Paolini GV, Mee RP. Empirical scoring functions: The development of a fast empirical scoring function to estimate the

binding affinity of ligands in receptor complexes. Journal of Computer-Aided Molecular Design, 1997; 11: 425-445.

17. Molegro Virtual Docker, User manual 2011, 273.

الفصل الثالث
دراسة آلية تثبيط مركبات شهيرة لبروتين الصدمة الحرارية (Hsp90)

1- برنامج المحاكاة الجزيئية

خلال هذه الدراسة تم إجراء جميع عمليات محاكاة الإلتحام الجزيئي (docking) بإستخدام برنامج Molegro Virtual Docker (MVD 2012.5.5.08). هذا البرنامج لديه واجهة مستخدم سهلة كما أنه يتميز دقة حساب عالية وقدرة أداء أفضل مقارنة ببرامج أخرى مستخدمة مثل: Autodock وSuperflex وFlex وGold.[1,2]

2- البنية الثلاثية للمستقبل (Hsp90)

يتم الحصول على البنية الثلاثية للمستقبل إنطلاقا من بنك بيانات البروتينات يمكن الدخول لهذا الموقع بالنقرعلى الرابط **(**http://www.pdb.org**).**

بنك بيانات البروتين بالإنجليزية Protein Data Bank (PDB): هو مستودع للبيانات الهيكلية ثلاثية الأبعاد للجزيئات البيولوجية الكبيرة، مثل البروتينات والأحماض النووية، وعادة ما يتم الحصول على هذه المجسمات تجريبيا عن طريق تقنيات مثل الأشعة السينية (RX) أو مطياف الرنين المغناطيسي النووي(RMN).

المستقبل المعني بالدراسة يسمى بروتين الصدمة الحرارية (HSP90) وقد تم تحميله من بنك البروتينات، بنية هذا البروتين محددة بشكل صحيح وبدقة جيدة في كل من المعقدات الثلاث المعنية بالدراسة:3EKO,1BGQو 1YET.

وهذا ما توضحه قيم résolution الموضحة في الجدول الموالي:

جدول 1: قيم résolution للمستقبل المدروس (HSP90)

رمز PDB للمستقبل (HSP90)	Résolution (A°)
3EKO	1,55
1BGQ	2,5
1YET	1,90

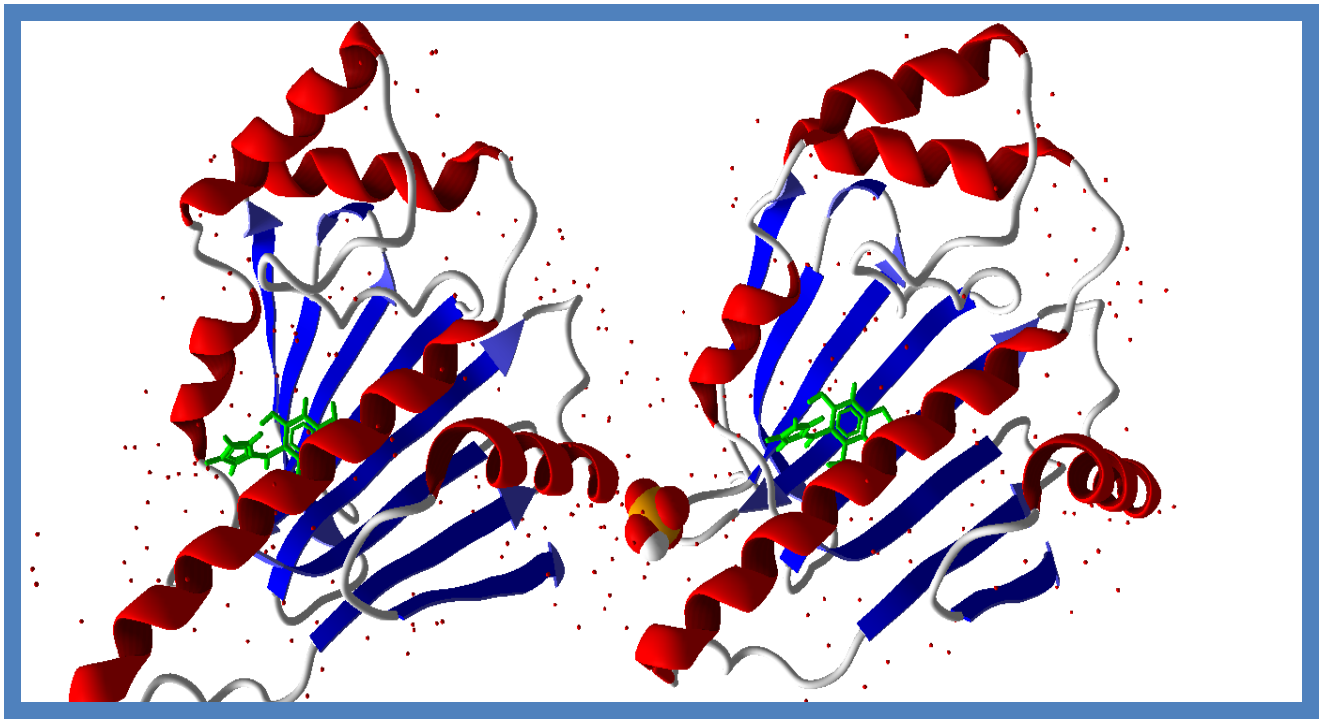
3- البنية الثلاثية للربيطة

تم تحميل الهيكل ثلاثي الأبعاد (3D) للربيطات المستخدمة في هذا العمل على شكل PDB من قاعدة بيانات PubChem **(**http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov**)** تحت الرموز CID التالية:

جدول 2: رموز CID للربيطات المدروسة

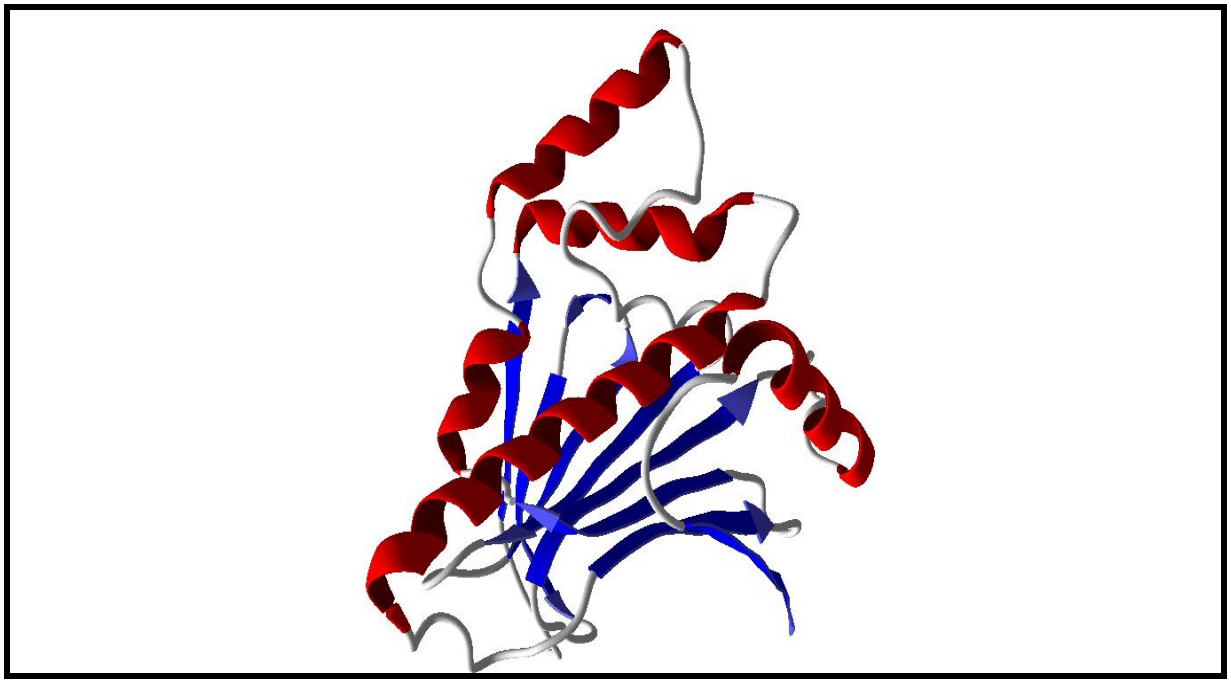
الربيطة	رمز CID
Deguelin	**CID** 107935
Tanespimycin	**CID** 6505803

بالنسبة لربيطة Radicicol و Geldanamycin متواجدان في المعقدين 1BGQ و1YET على الترتيب.



الشكل 1: مجسم بروتين الصدمة الحرارية المحمل من بنك البروتينات (3EKO) مع جميع ملحقاته.

تعتمد دراستنا على تبسيط المستقبل كخطوة أساسية لـتسريع العمليات الحسابية وتبسيطها. لهذا سنقوم بحذف إحدى السلسلتين البروتينية المكررة، وكذلك جزيئات الماء والعامل المساعد (cofacteur)، البنية الثلاثية المختصرة للمستقبل (HSP90) موضحة في الشكل الثاني.



الشكل 2: مجسم بروتين الصدمة الحرارية (HSP90) المختصر.

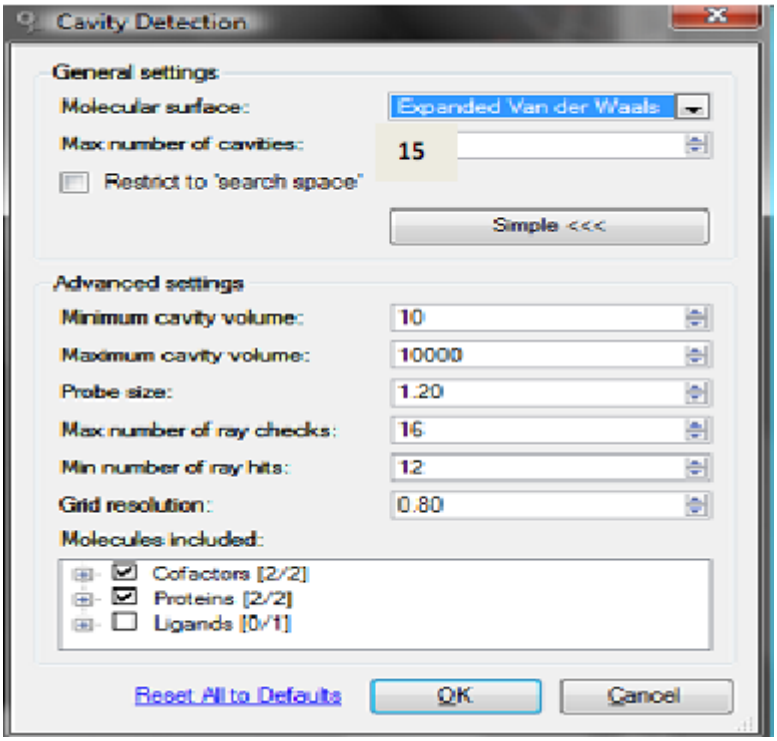
4- تحضير كل من المستقبل والربيطة

تتم عملية التحضير وفق مجموعة من المراحل المتسلسلة التي تختلف على حسب البرنامج المستعمل حيث يتم أولا وضع كل من المستقبل والربيطة في مساحة «work space» أين يتم إعتبار الربيطة على أنها مرنة والبروتين على أنه مجسم صلب بالنسبة لبرنامج (MVD) تتم عملية التحضير آليا ويمكن تلخيص مراحلها في النقاط التالية:

- إضافة ذرات الهيدروجين الناقصة.
- تعديل الشحنات.
- تصحيح نوع الرابطة (بسيطة أو مزدوجة).
- الكشف عن زوايا الفتل وزوايا المرونة.

5- الكشف عن الفجوات الموجودة في المستقبل

يتم الكشف عن الفجوات في البرنامج المستخدم بصفة تلقائية نظرا لوجود خوارزمية مدمجة تسمح بذلك يكفي فقط ضبط الإعدادات الموضحة في الشكل التالي:



الشكل3: الإعدادات اللازمة للكشف عن الفجوات الموجودة في المستقبل.

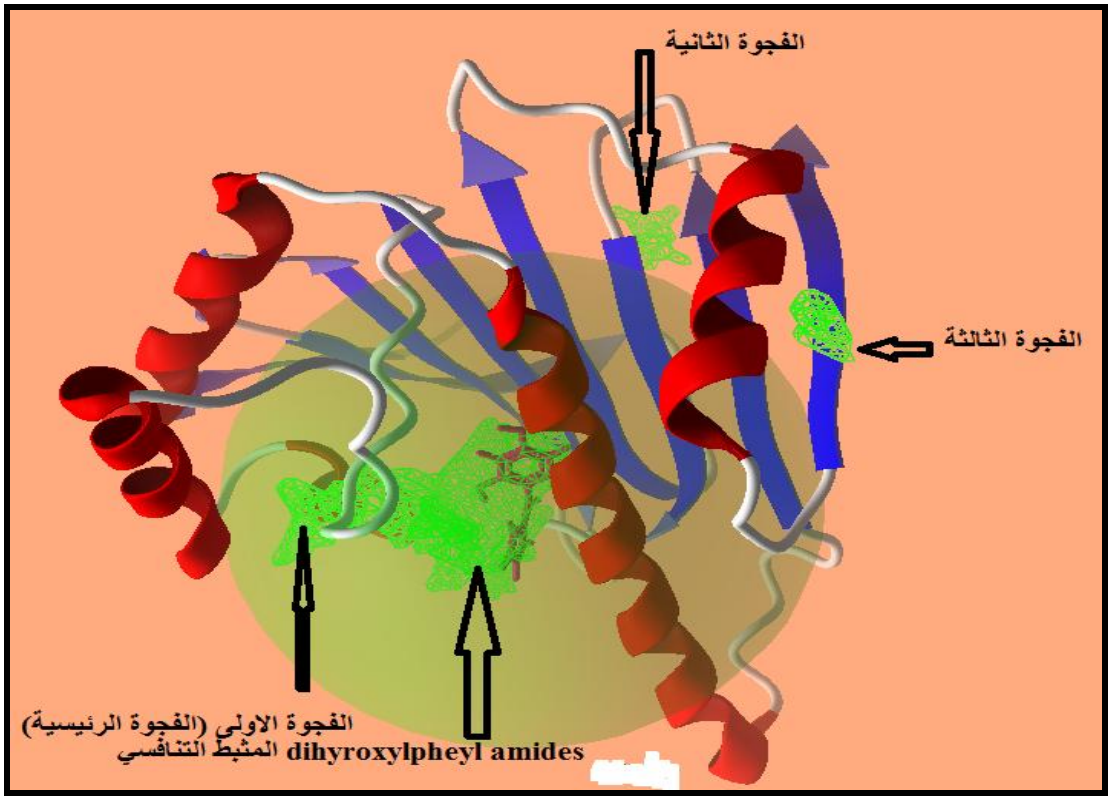
بالنسبة لبروتين الصدمة الحرارية كشف البرنامج عن وجود ثلاث فجوات تم ترتيبها على حسب حجمها في الجدول التالي:

جدول3: عدد وحجم فجوات المستقبل.

المستقبل	رقم الفجوة	حجم الفجوة$(A°)^3$
بروتين (HSP90) pdb ID: 3EKO	1	203,264
	2	15,36
	3	10,24

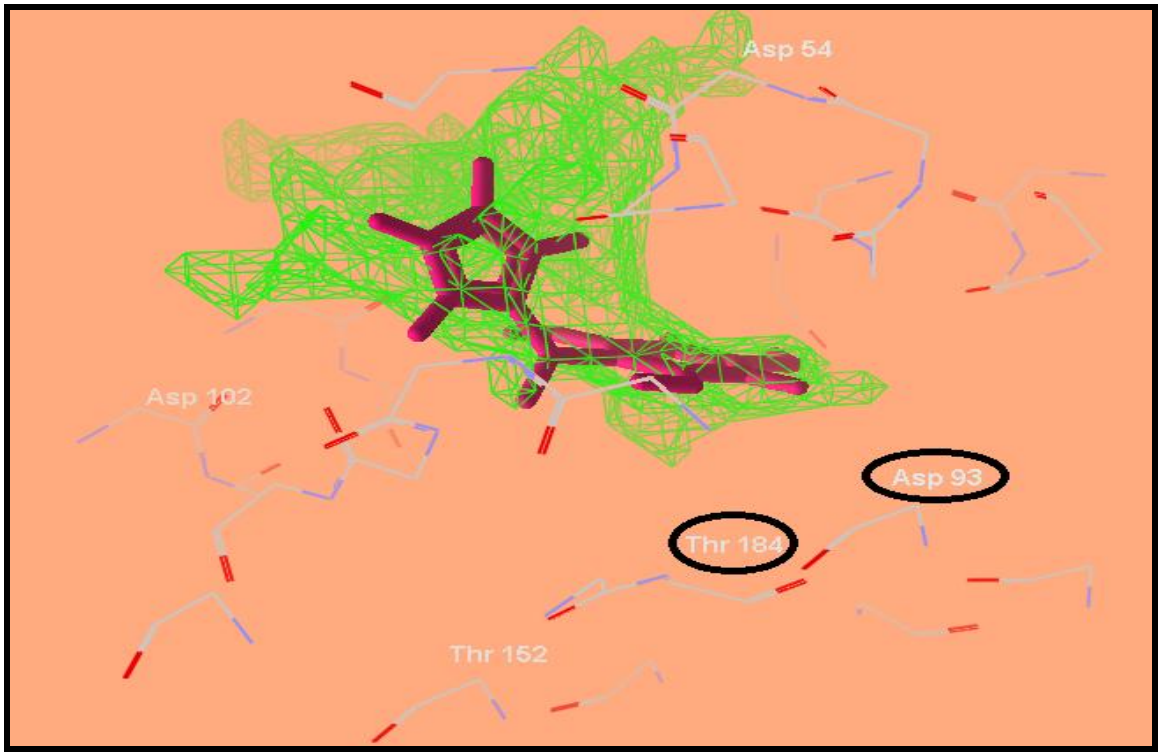
في الخطوة الموالية يتم تحديد أي من هذه الفجوات التي تمثل الموقع الفعال, عادة ما يتم تعيينه إستنادا للمعطيات البيبليوغرافية أو بوجود مركب مرتبط بالفجوة المتوقع أن تمثل الموقع الفعال, ويتم التأكد من ذلك بمعاينة الأحماض الأمينية المحيطة بالفجوة.

بالنسبة لبروتين Hsp90 ذو الترميز pdb ID :3EKO لاحظنا تواجد مثبط تنافسي Dihydroxylphenyl amide مرتبط على مستوى الفجوة الأولى مما يبين أن هذه الفجوة تمثل الموقع الفعال (شكل 4) كما يتأكد لنا ذلك من خلال معاينة الأحماض الأمينية المحيطة بهذه الفجوة. (شكل 5)



الشكل 4: فجوات بروتين Hsp90.

كما يتأكد لنا ذلك من خلال معاينة الأحماض الأمينية المحيطة بهذه الفجوة (شكل5) حيث نجد الحمضين الرئيسين Thr184 وAsp93 بالإضافة إلى مجموعة من الأحماض الأساسية الخاصة بهذا البروتين.



شكل 5 : الأحماض الأمينية المحيطة بالفجوة 1 (الفجوة الرئيسية).

6- تقييم مدى كفاءة البرنامج المستخدم

للتأكد من كفاءة البرنامج المستخدم نقوم بنزع الربيطة الموجودة في المعقد المحمل من بنك البروتينات ثم نجري لها عملية الإلتحام إذا إستطاع البرنامج المستخدم إرجاع هذه الربيطة إلى نفس مكانها السابق وبنسبة تطابق كبيرة نقول أن البرنامج يمكن الوثوق بنتائجه النظرية التي تقترب إلى الحقيقة.

رياضيا نعبر عن هذا الكلام بحساب مقدار إنحراف الجذر التربيعي (RMSD) بين موقع النموذج المصمم بالبرنامج (pose) ذو الإحداثيات الديكارتية (x_{pose} ،y_{pose} ،z_{pose}) وموقع نموذج البنية البلورية المعرف بالإحداثيات الديكارتية ($x_{cristal}$ ،$y_{cristal}$،z_{crista}).[1]

إذا كان قيمة الجذر التربيعي أقل من 2A° نقول أن البرنامج كفئ ويمكن الوثوق في نتائجه.

سنقوم بإجراء عملية redocking للمعقدات الثلاث:3EKO, 1BGQ و1YET للتحصل على قيمة RMSD.

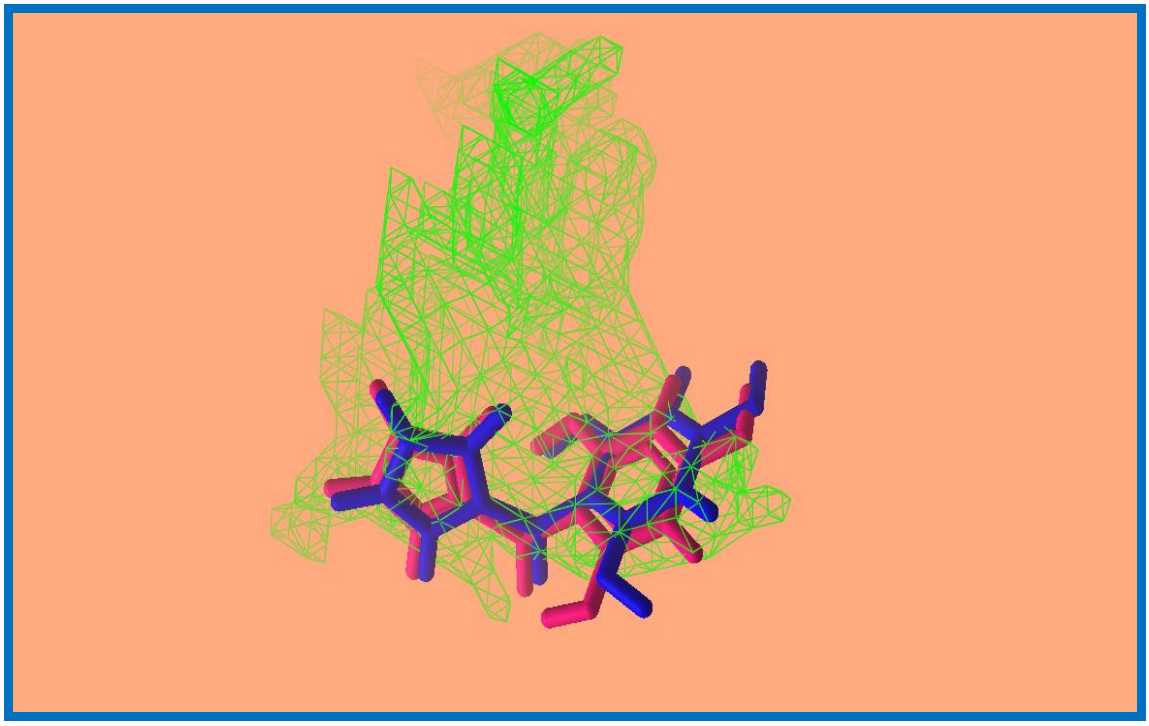
الجدول الموالي يوضح قيمة RMSD لكل معقد:

جدول4: قيم RMSD لكل معقد.

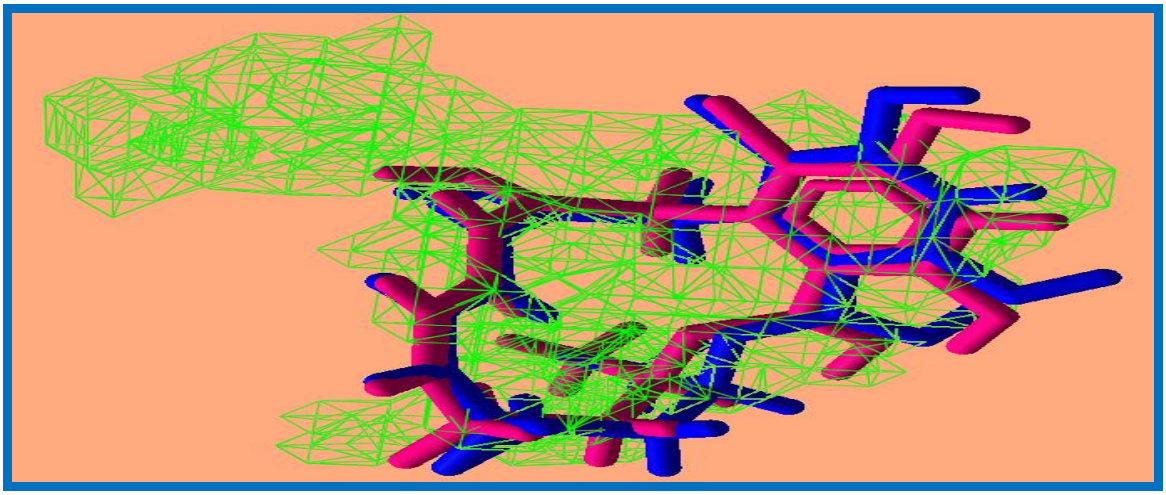
المعقد	الربيطة المرجعية	RMSD
3EKO	Dihydroxylphenyl amide	0,58
1BGQ	Radicicol	0 ,53
1YET	Geldanamycin	0 ,85

حسب الجدول نلاحظ أن قيم RMSD أقل بكثير من 2 مما يثبت كفاءة هذا البرنامج وقدرته على إعطاء نتائج قريبة جدا من الحقيقة.

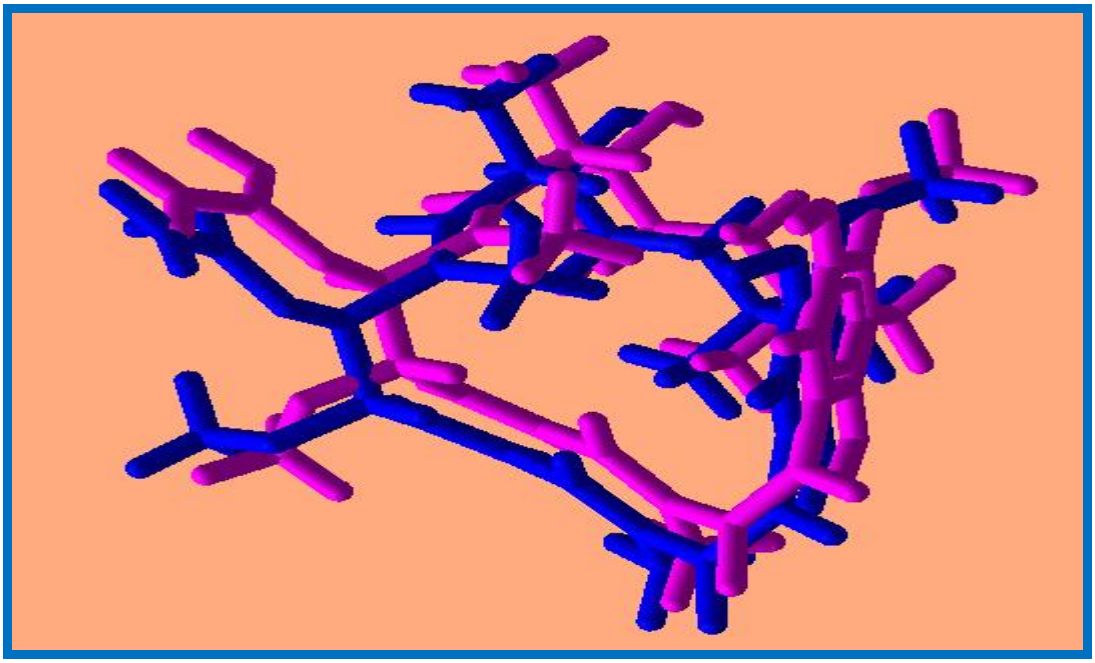
هذه النتائج تدعمها نسبة التطابق الكبيرة الموجودة بين موقع النموذج المصمم بالبرنامج وموقع نموذج البنية البلورية لكل ربيطة شكل 6 ,7 و8.



شكل 6 : نسبة التطابق بين النموذج المصمم بالبرنامج (الأزرق) ونموذج البنية البلورية (الأحمر) لربيطة Dihydroxylphenyl amide.



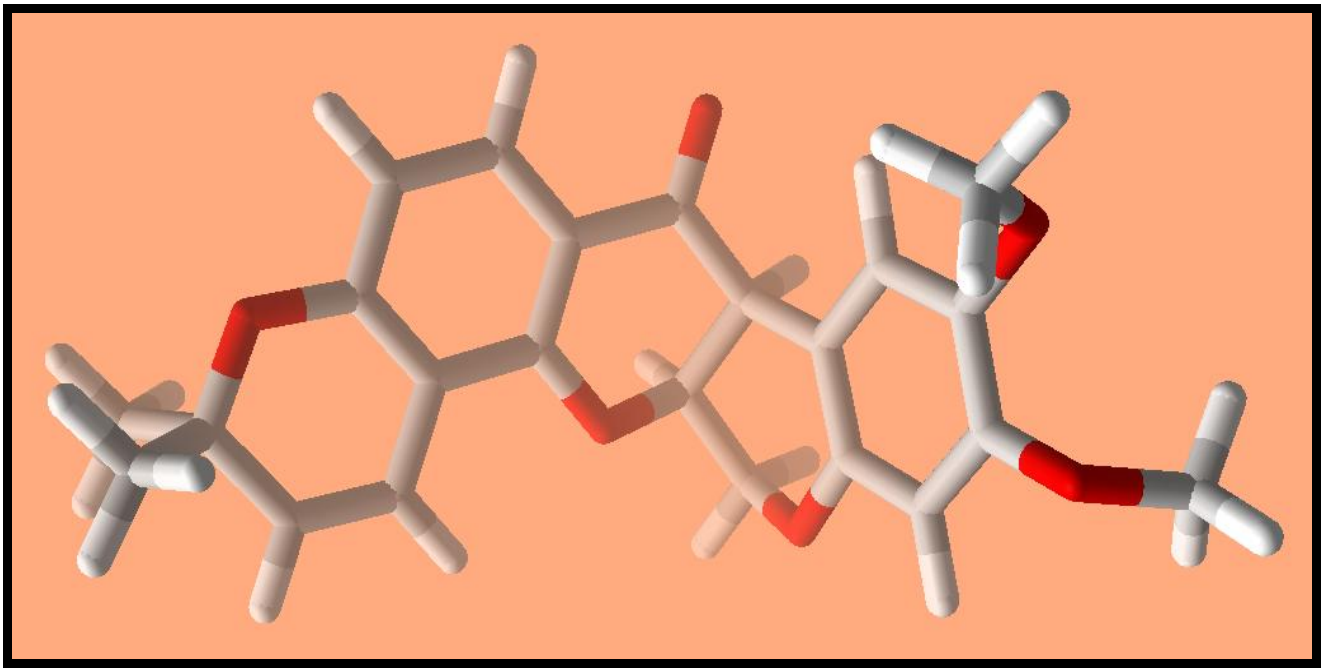
شكل7 : نسبة التطابق بين النموذج المصمم بالبرنامج (الأزرق) ونموذج البنية البلورية (الأحمر) لربيطة Radicicol.



شكل8 : نسبة التطابق بين النموذج المصمم بالبرنامج (الأزرق) ونموذج البنية البلورية (الأحمر) لربيطة Geldanamycin.

7- دراسة آلية إلتحام مثبط deguelin ببروتين الصدمة الحرارية (deguelin -Hsp90)

Deguelin مثبط طبيعي ينتمي إلى عائلة الفلافونويدات (شكل 9) أظهر نشاطًا كبيرًا مضادًا للأورام يمنع تكاثر أنواع مختلفة من السرطان, نشاطه المضاد للورم ناتج من تثبيط وظيفة بروتين HSP90. كشفت الدراسات أن Deguelin يتنافس مع ATP على الإرتباط بـ Hsp90.[3]



شكل 9:هيكل 3D للمثبط Deguelin.

من خلال هذه الدراسة سنجري عملية إلتحام مثبط Deguelin ببروتين الصدمة الحرارية Hsp90 بإستعمال برنامج MVD بهدف دراسة آلية التفاعل وتحديد أنماط الإرتباط الموجودة بينهما.

بما أن الدراسات التجريبية أثبتت أن Deguelin مثبط تنافسي إذن سنقوم بتوجيهه نحو الفجوة الرئيسية للمستقبل (Hsp90) أثناء عملية الإلتحام.

المعقد المتشكل أثناء عملية الإلتحام هو المعقد الأكثر إستقرارا والذي سيوافق الأقل في الطاقة, خلال عملية إلتحام سيعتبر البرنامج أن الربيطة هي جسم مرن والمستقبل (البروتين) جسم صلب.

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

أما بالنسبة لدالة الحرز المعتمدة فهي Moldock Score والتي تعطى بالعلاقة التالية:

$$E_{scor} = E_{inter} + E_{intra}$$

حيث :

E_{inra} تمثل طاقة التفاعل الداخلية للربيطة

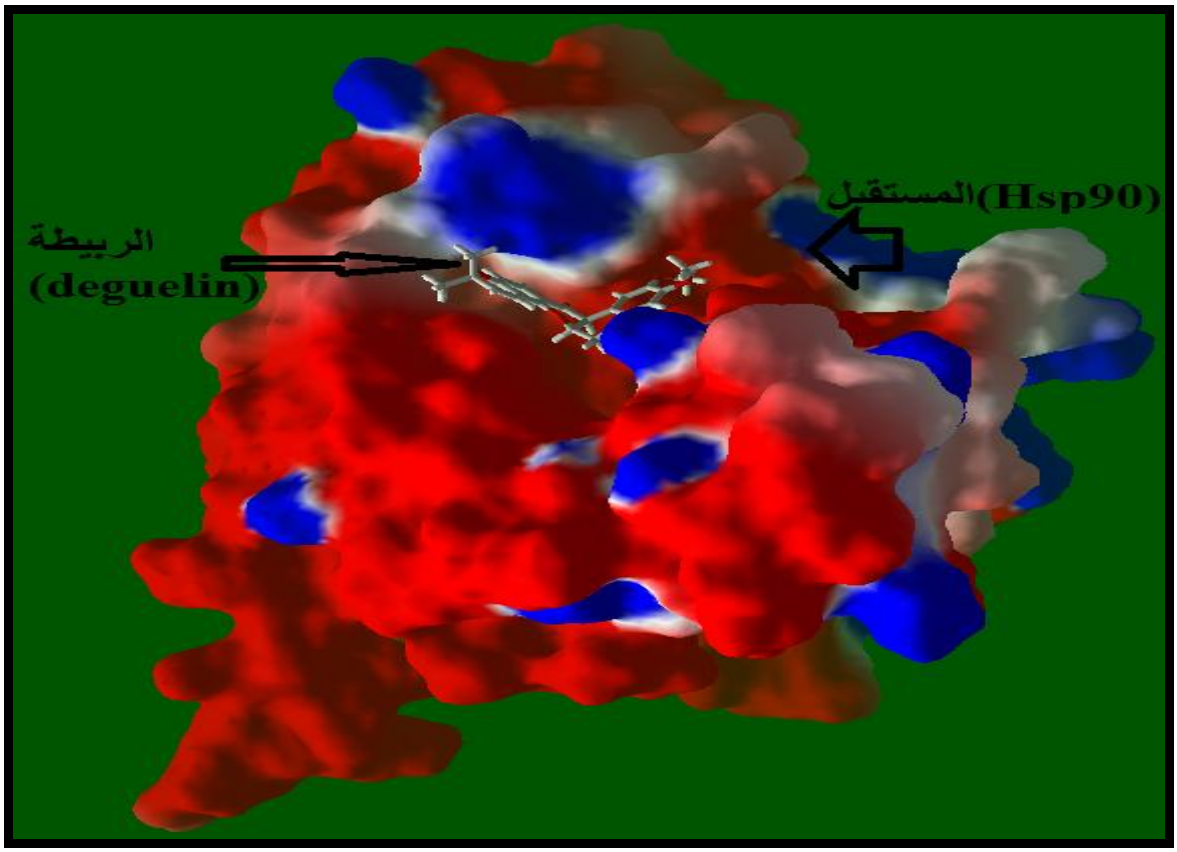
E_{inter} تمثل طاقة التفاعل ربيطة- بروتين والمعطاة بالعلاقة التالية:

$$E_{inter} = \sum_{i \in ligand} \sum_{j \in protein} \left[E_{PLP}(r_{ij}) + 3320 \frac{q_i q_j}{4r_{ij}^2} \right]$$

هذه المعادلة تأخذ بعين الإعتبار كل الذرات الثقيلة للربيطة (i) و للبروتين (j), E_{PLP} يمثل الجهد الخطي.

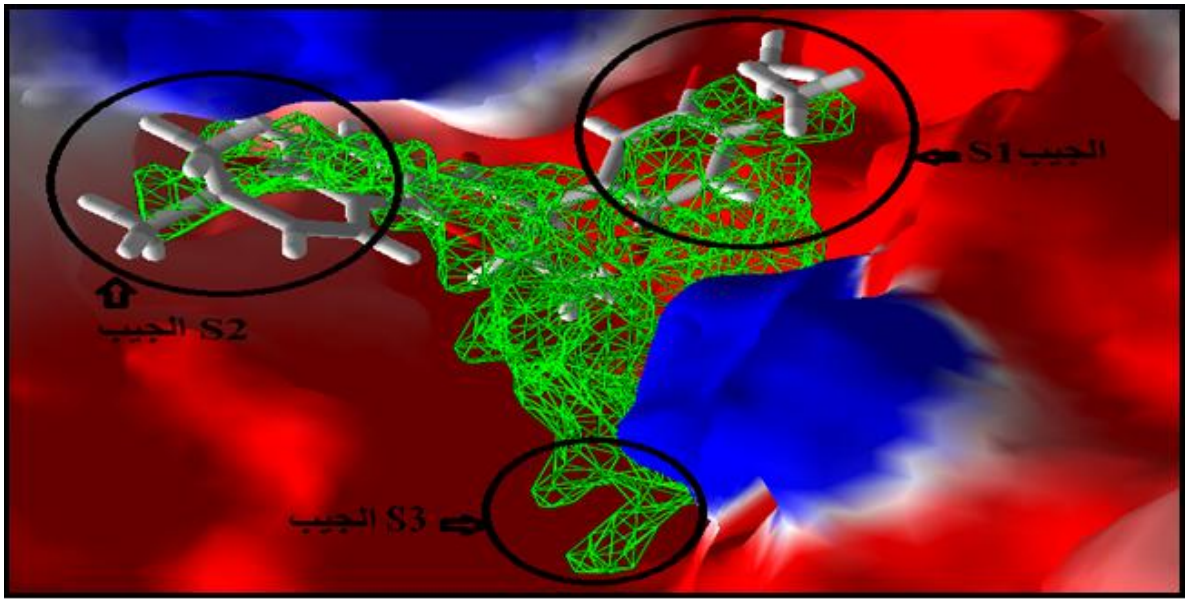
يتم ضبط عدد الدورات في البرنامج عند القيمة 30 ويحدد أدنى إنحراف بين النماذج المصممة للربيطة (les poses) بـ 2 A° هذه القيمة لا تسمح للبرنامج بتخزين النماذج المصممة المتشابهة في الموضع.

وفي النهاية يتم ترتيب أفضل النماذج المصممة للربيطة تصاعديا على حسب قيمة طاقة الإرتباط, بعد إجراء عملية الإلتحام بين deguelin وHsp90 بإستعمال برنامج MVD تم تشكيل المعقد: Hsp90-deguelin سمح لنا MVD بالحصول على المعقد Hsp90-deguelin الأكثر إستقرارًا (الشكل 10) مع طاقة تفاعل تساوي 111,77- كيلو كالوري/مول.هذه الطاقة ناتجة عن إنشاء رابطة هيدروجين والعديد من التفاعلات الكارهة للماء.



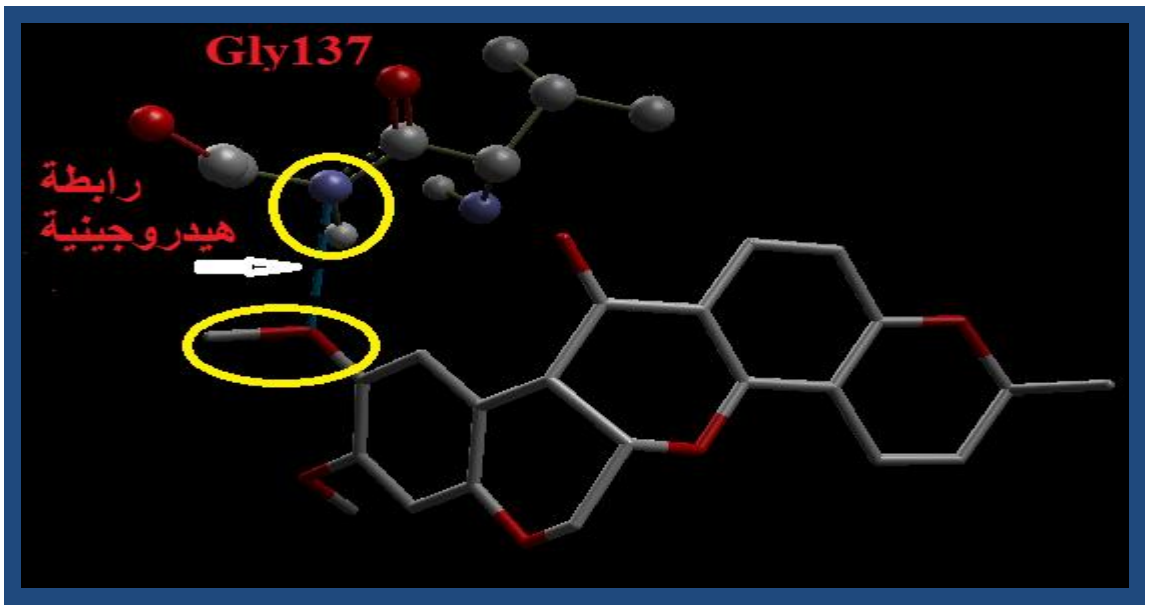
شكل 10 :المعقد Hsp90- deguelin المتشكل بإستعمال برنامج MVD.

عند معاينة الفجوة الرئيسية نجدها تتكون من ثلاث جيوبS2,S1 وS3 عند إجراء عملية الإلتحام نجد أن deguelin قد شغلت الجيبين S1وS2 (شكل 11).



شكل 11: تموقع deguelin داخل الفجوة الرئيسية.

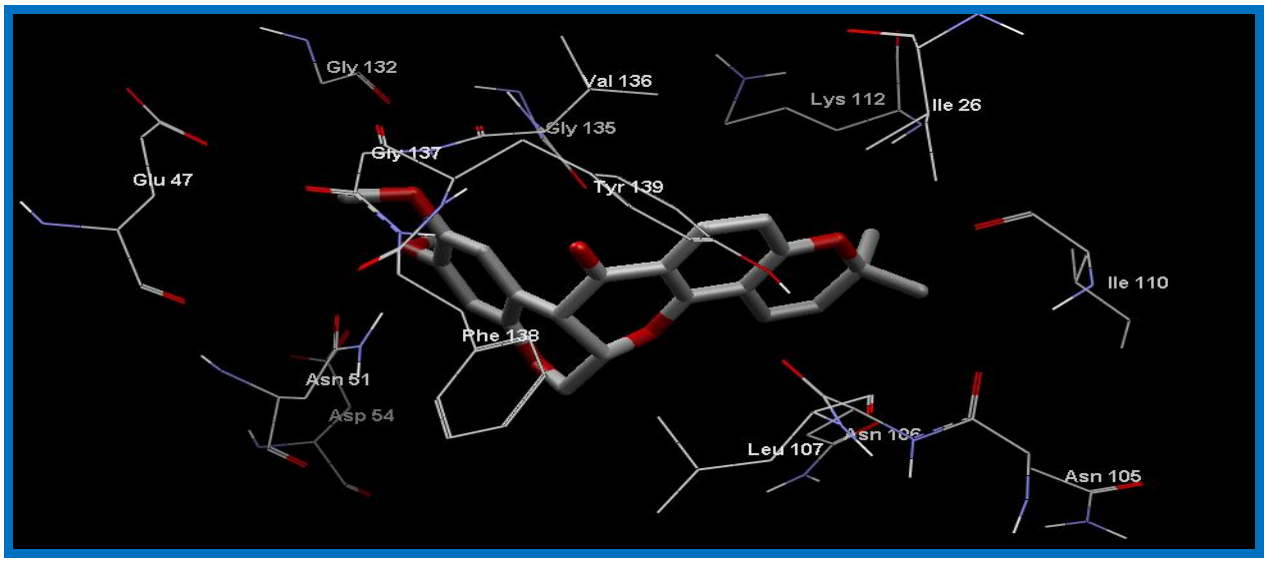
إستقرار deguelin داخل الفجوة الرئيسية لبروتين Hsp90 ناتج عن تشكل رابطة هيدروجينية قوية بين مجموعة (NH) للحمض الأميني Gly137 وأحد مجموعات OH للربيطة deguelin (موضحة في الشكل 12) تبلغ طاقة هذه الرابطة وطولها على التوالي: -2,49 كيلو كالوري / مول, 2,76 °A



شكل 12: الرابطة الهيدروجينية المتشكلة (موضحة بخط متقطع أزرق).

إستقرار deguelin داخل الفجوة الرئيسية لبروتين Hsp90 ناتج أيضا عن مجموعة من التفاعلات الكارهة للماء بين deguelin ومجموعة من الأحماض الأمينية مثل : Ile110,Leu107, Asp54, Ile26, Val136. إضافة إلى تفاعلات كارهة للماء من نوع π-π مع Phe138 وTyr139 (شكل 13).

بالإضافة إلى تفاعلات من نوع فان دير فالز (interaction de van der waals) مع الأحماض الأمينية التالية: Lys112, Asn105, Phe138, Gly137, Gly137, Glu47, Asn51 .

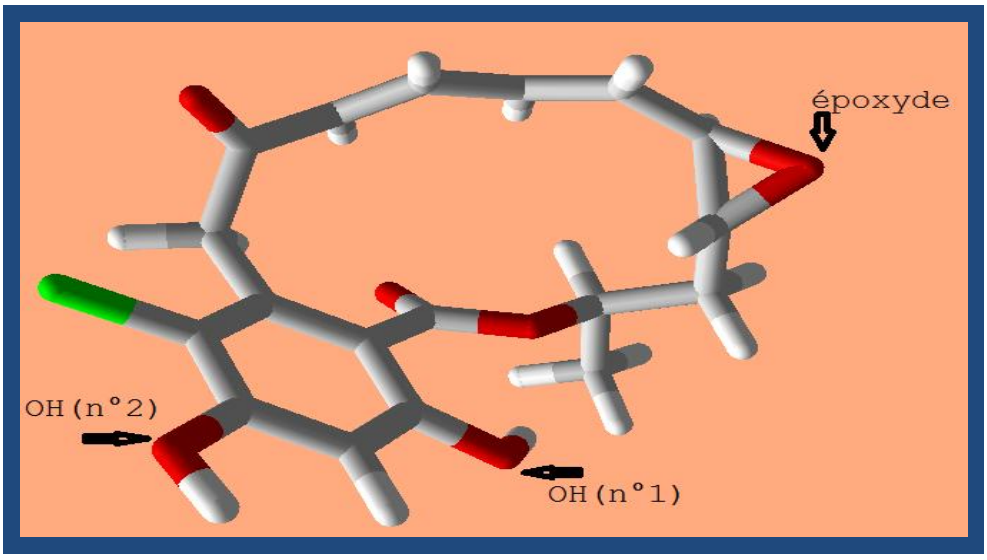


شكل 13: التفاعلات الكارهة للماء بين ربيطة Deguelin وبروتين الصدمة الحرارية.

8- دراسة آلية إرتباط مركب Radicicol ببروتين الصدمة الحرارية

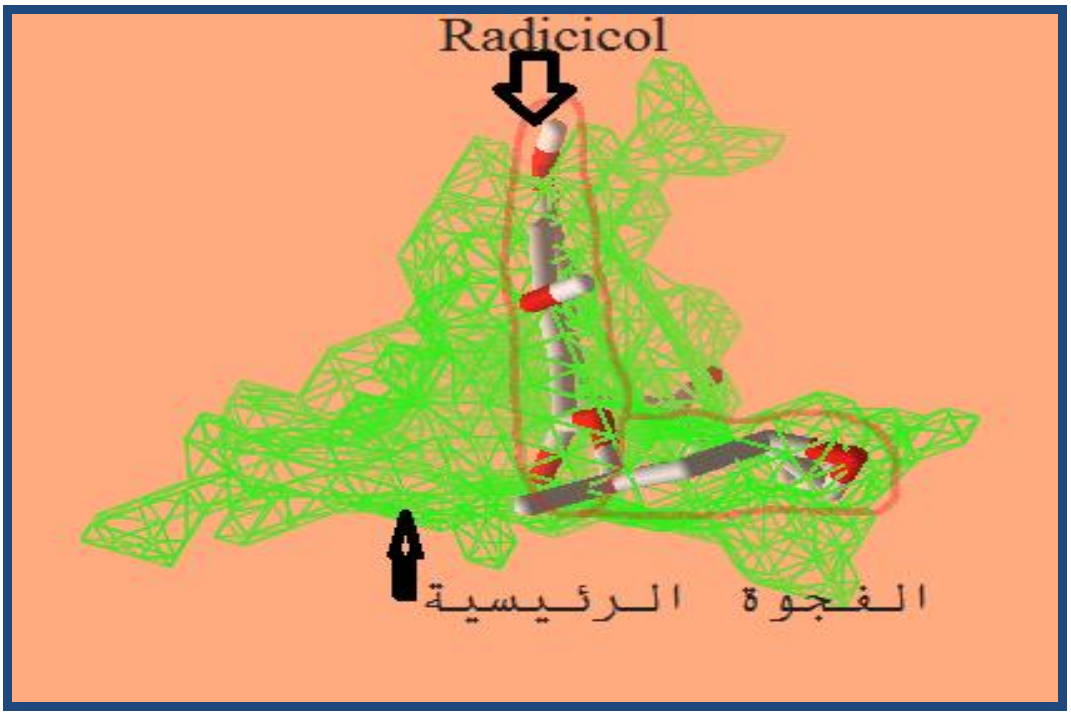
Radicicol مركب طبيعي تم عزله من فطر Monosporium bonorden, يثبط هذا المركب بشكل فعال وظيفة Hsp90 من خلال الإرتباط بالنهاية N-terminal لهذا البروتين.[5]

بالنسبة لهذا المركب لن نجري عملية الإلتحام سيتم فقط معاينة أنماط الربط نظرا لتوفر البنية البلورية لهذا المعقد (Hsp90- Radicicol) كما ذكرنا سابقا هذا المعقد موجود في بنك البروتينات ويحمل رمز PDB: 1BGQ



شكل 14: هيكل ثلاثي الأبعاد(3D) لربيطة Radicicol.

بإستعمال برنامج MVD قمنا بمعاينة المعقد Hsp90-Radicicol, إرتباط Radicicol في الفجوة الرئيسية لبروتين Hsp90 أخذ شكل حرف L (شكل 15).[6]



شكل 15: شكل حرف L لربيطة (Radicicol) داخل الفجوة الرئيسية لبروتين الصدمة الحرارية.

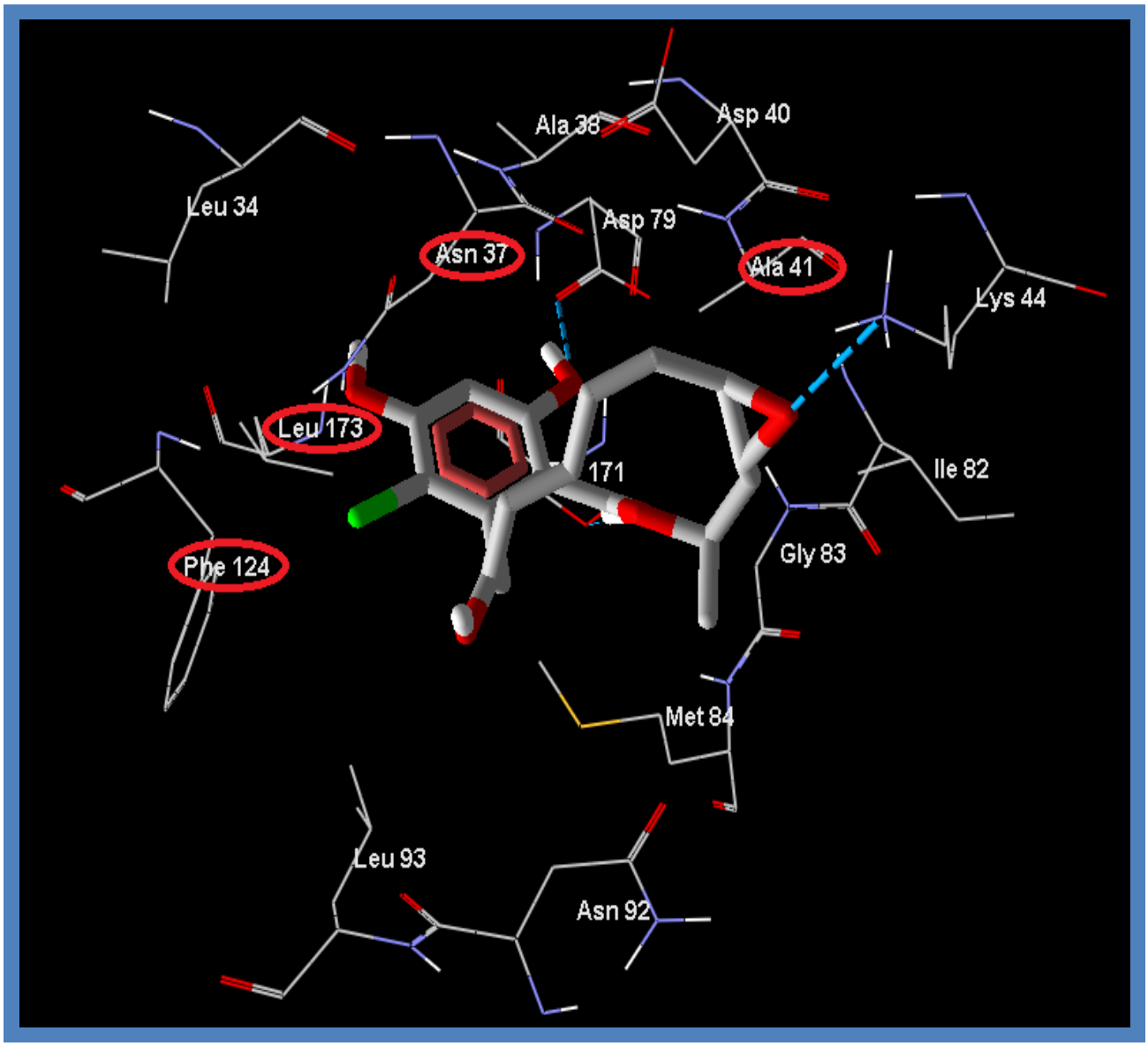
إستقرار المعقد Hsp90- Radicicol ناتج عن مجموعة من أنماط الربط قد تشكلت بين الربيطة والمستقبل, عند معاينة Radicicol داخل الفجوة الرئيسية نجده قد شكل رابطتين هيدروجينية, الجدول الموالي يوضح خصائص كل رابطة.

جدول 5: خصائص الروابط الهيدروجينية المتشكلة بين - Radicicol وHsp90.

رقم الرابطة	مجموعة الربيطة	الحمض الأميني	طول الرابطة(A°)	طاقة الرابطة كيلو كالوري / مول
1	إيبوكسيد Radicicol	Lys44(NH2)	2,91	2,5-
2	(-OH-) N°1	Asp79(C=0)	2,57	2,28-

إرتباط Radicicol في الفجوة الأساسية راجع إلى مجموعة من التفاعلات الكارهة للماء مع الأحماض الأمينية التالية (شكل 16): Val186, Leu93, Leu 34 , Ile82, Phe124, Leu173,.

الأحماض الأمينية المحاطة بدائرة حمراء (شكل 16) هي التي تشارك في التفاعلات من نوع **فان دير فالز (interaction de Van der waals)**.



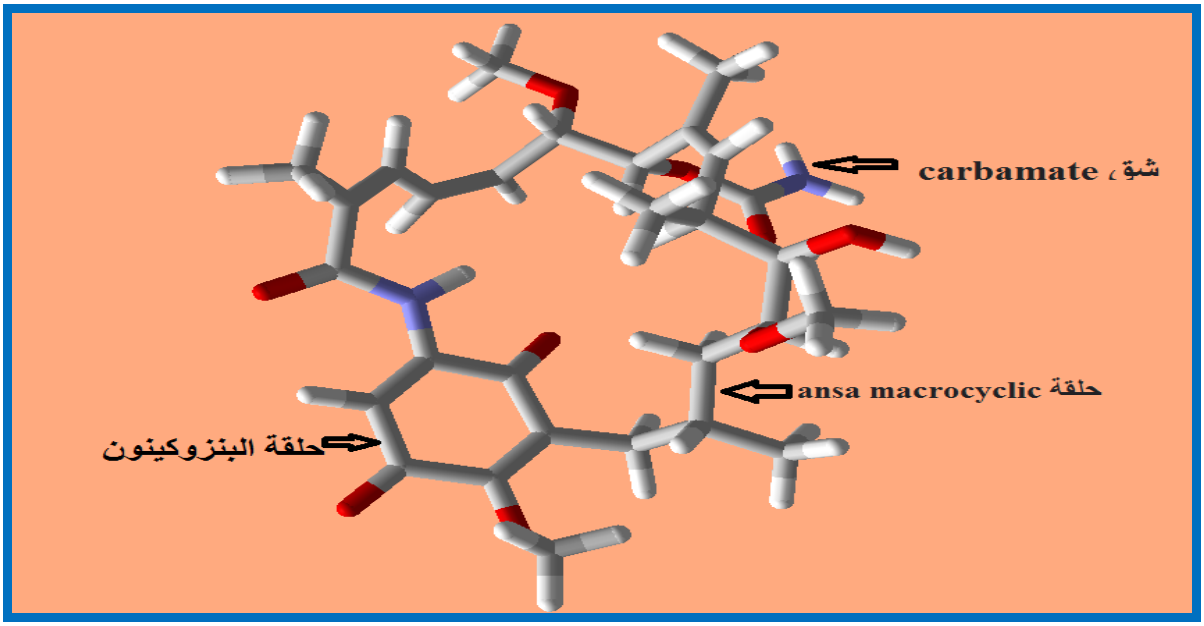
شكل 16: التفاعلات الكارهة للماء والتفاعلات من نوع فاندر فالز بين Radicicol وHsp90.

9- دراسة آلية التحام مركب الصدمة الحرارية ببروتين Geldanamycin

Geldanamycin هو مركب مضاد للأورام ينتمي إلى مجموعة مركبات البنزوكوينون المعروفة بإسم أنساميسين, يثبط Geldanamycin نشاط بروتين الصدمة الحرارية (Hsp90) بصفة قوية.

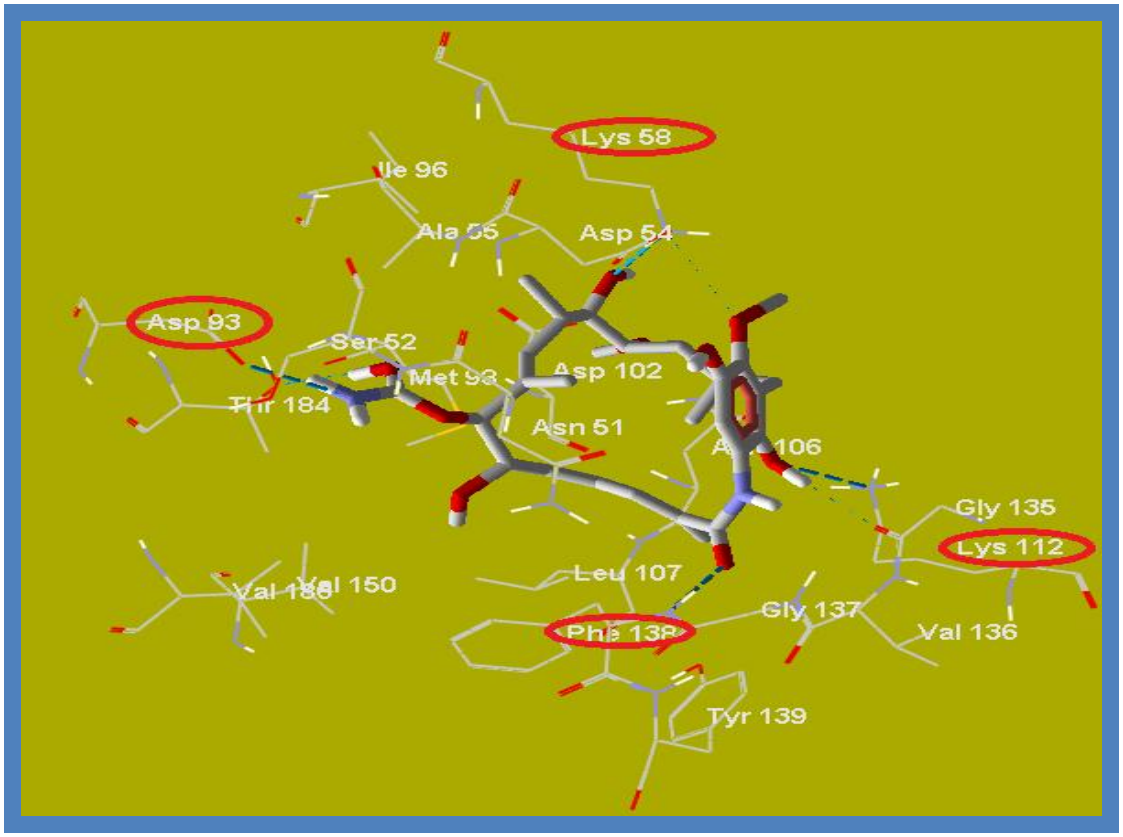
الصيغة البلورية لمعقد Hsp90-Geldanamycin تم تحميلها من بنك البروتينات حيث تحمل الرمز Pdb :1YET

عند معاينة ربيطة Geldanamycin في هذا المعقد نجد أنه عند إرتباطها قامت بثني نفسها في إتجاه أين تم فيه توجيه حلقة ansa macrocyclic وشق carbamate نحو الجزء السفلي من جيب ATP، بينما تم توجيه حلقة benzoquinone نحو الجزء العلوي. (شكل 17).



شكل 17: هيكل ثلاثي الأبعاد لربيطة Geldanamycin.

إستقرار ربيطة Geldanamycin داخل الفجوة الرئيسية راجع إلى مجموعة من الروابط الهيدروجينية خصائص هذه الروابط موضحة في الجدول 6.



شكل 18: التفاعلات الكارهة للماء, التفاعلات من نوع فاندر فالز, والروابط الهيدروجينية المتشكلة بين Hsp90وGeldanamycin .

جدول 6: خصائص الروابط الهيدروجينية المتشكلة بين Hsp90 وGeldanamycin.

الرابطة	مجموعة الربيطة	الحمض الأميني	طول الرابطة (A°)	طاقة الرابطة كيلو كالوري / مول
1	(NH2) carbamate	Asp93(C=O)	2,77	-2,5
2	OH حلقة ansa macrocylic	Lys58 (NH2)	2,82	-2,5
3	حلقة (OH) البنزوكوينين	Lys112(NH2)	3	-2,5
4	اميد C=O	Phe138(NH2)	2,75	-2,5

معاينة الشكل تظهر تواجد العديد من التفاعلات الكارهة للماء بين الربيطة والأحماض الأمينية التالية:

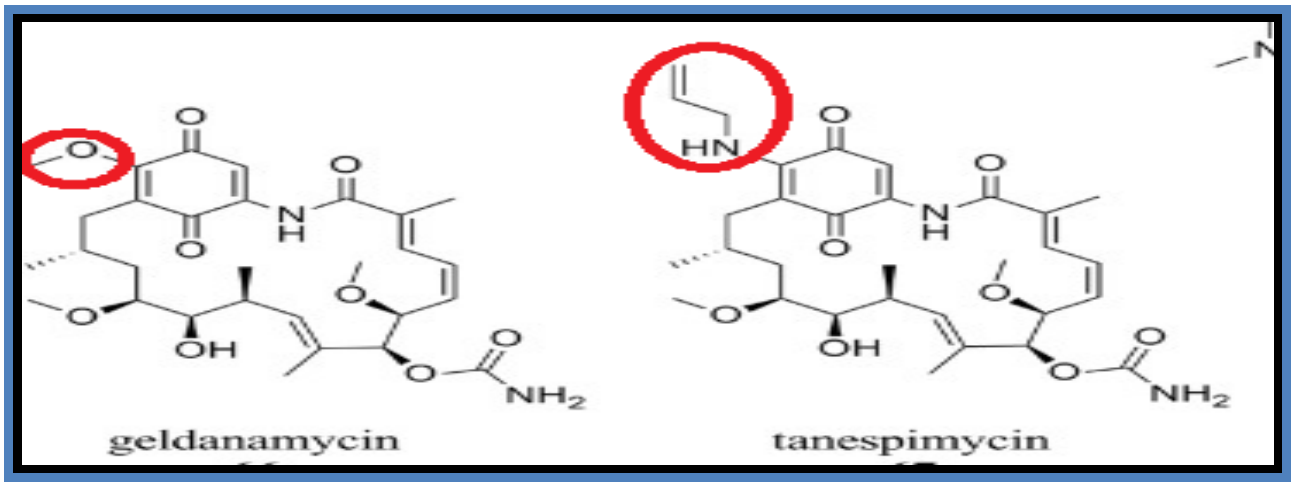
. Ile69, Val186, Val150, Leu107, Phe138, Val136

بالإضافة إلى تفاعلات من نوع فان دير فالز (interaction de van der waals) مع الحمضين الأمينيين Val136 وPhe138.

10- دراسة آلية إلتحام مركب Tanespimycin(17-AAG)ببروتين الصدمة الحرارية Hsp90

Tanespimycin (17-AAG) هو مشتق من Geldanamycin، حيث تم إستبدال جذر methoxy المرتبط بشق benzoquinone بمجموعة allylamino (شكل 19). وهو مثبط قوي لبروتين الصدمة الحرارية (Hsp90) و أقل سمية من Geldanamycin .

يحافظ HSP90 على الإستقرار والشكل الوظيفي للعديد من بروتينات الإشارات السرطانية، يعمل تثبيط Hsp90 على تعزيز التحلل البروتيني للبروتينات المسببة للأورام التي قد يتم التعبير عنها بشكل مفرط بواسطة الخلايا السرطانية مما يحفز موت الخلايا المبرمج ويعرض تأثيرات مضادة للأورام.



شكل 19: هيكل 2D لكل من Tanespimycin وGeldanamycin .

نظرا لعدم تواجد الصيغة البلورية لمعقد Hsp90-Tanespimycin في بنك البروتينات سنقوم بإجراء عملية الإلتحام بإستعمال برنامج MVD من أجل تشكيل هذا المعقد مع تطبيق نفس البروتوكول السابق.

أما بالنسبة لبروتين Hsp90 سنختار المعقد 1YET نظرا لإحتوائه على ربيطة Geldanamycin المشابهة في صيغتها لمركب Tanespimycin .

بعد إجراء عملية الإلتحام تحصلنا على المعقد Hsp90-Tanespimycin (شكل 20) قيمة الطاقة المعطاة من طرف البرنامج تساوي **142,07- كيلو كالوري / مول** وهي قيمة معتبرة تثبت مدى إستقرار هذا المعقد ومدى فعالية تثبيط مركب Tanespimycin لبروتين الصدمة الحرارية Hsp90.

إستقرار مركب Tanespimycin في الفجوة الرئيسية لبروتين الصدمة الحرارية (Hsp90) راجع إلى تواجد مجموعة من أنماط الربط. بداية ستة روابط هيدروجينية متشكلة والجدول الموالي يوضح ذلك:

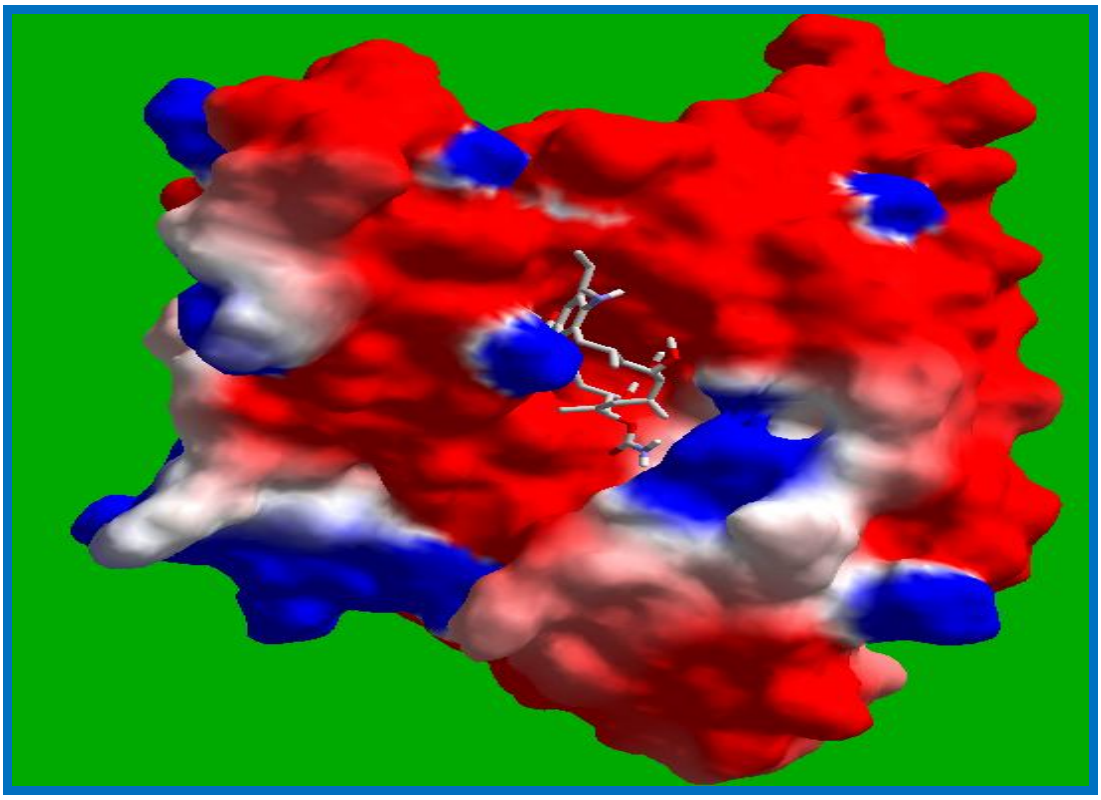
جدول 7: خصائص الروابط الهيدروجينية المتشكلة بين Tanespimycin وHsp90.

الرابطة	مجموعة الربيطة	الحمض الأميني	طول الرابطة (A°)	طاقة الرابطة كيلو كالوري / مول
1	OH حلقة ansa macrocylic	Asn106(NH2)	2,89	-2,5
2	(NH2) carbamate	Gly135 (C=O)	3	-2,5
3	البنزوكوينين (OH)	Lys58(NH2)	3	-2,5
4	C=O carbamate	Asn51(NH2)	3,17	-2,13
5	C=O carbamate	Phe138(NH2)	2,91	-1,53
6	C=O amide	Thr184 (OH)	2,59	-2,49

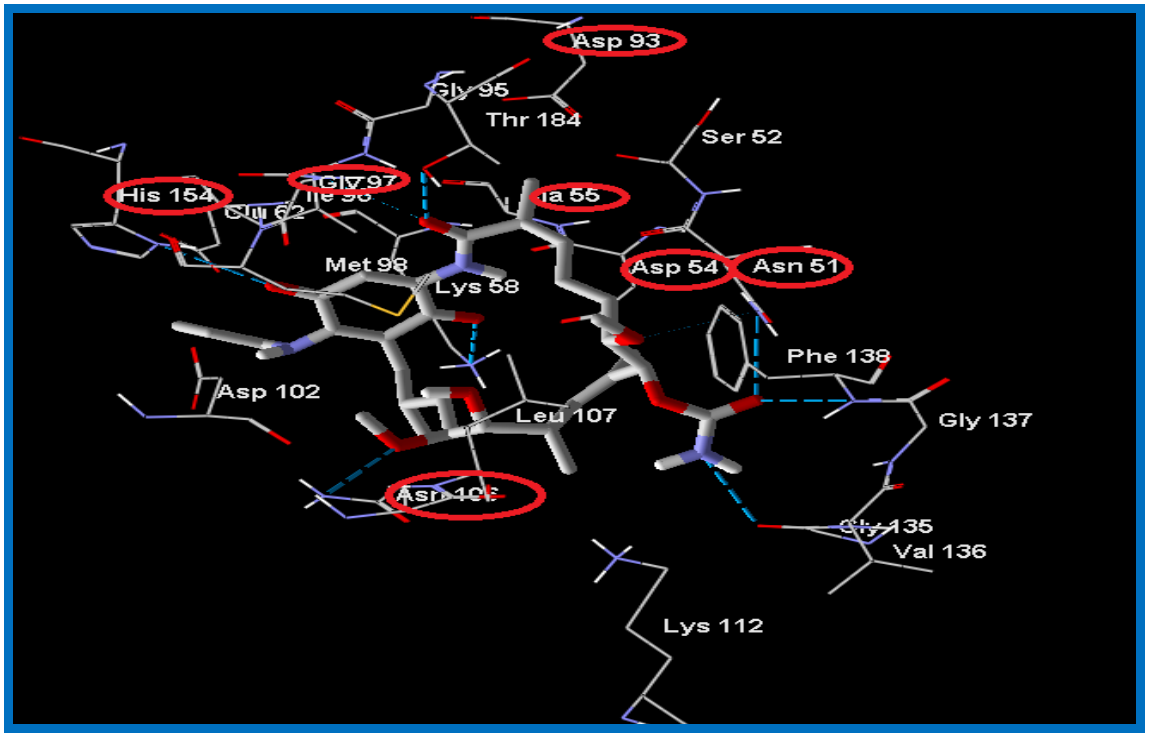
إضافة إلى تواجد العديد من التفاعلات الكارهة للماء بين الربيطة والأحماض الأمينية التالية:

Ile69, Leu107, Phe138, Val136 . (شكل 21)

والكثير من تفاعلات من نوع فان دير فالز (interaction de van der waals) مع الأحماض الأمينية : Ala55, Asp54, Asn51, Asp93, Gly97,His154, Asn106.



شكل 20: المعقد Hsp90-Tanespimycin المتشكل.



شكل 21: التفاعلات الكارهة للماء, التفاعلات من نوع فاندر فالز, والروابط الهيدروجينية المتشكلة بين Hsp90 وTanespimycin.

المراجع الببليوغرافية

المراجع باللغات الأجنبية

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

2. Ratnavali G, Kanaka Durga Devi N, Bhavya Sri K, Kalyan Raju j, B. Sirisha B, Kapitsa R : An attempt to screen top colorectal. cancer drugs by using Molegro Virtual Docker. Annals of Biological Research, 2011; 2 (1): 114-126.

3. Yazici, JN, Myers WY, Kim Q, Jin S-S. Hong H-J. Park Y-G. Suh K-W. Kim, Structural basis for depletion of heat shock protein 90 client proteins by deguelin, J. Natl. Cancer Inst, 2007; 99 : 949-961.

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

5. Weinmann H , Ottow E. Therapeutic Areas II: Cancer, Infectious Diseases, Inflammation & Immunology and Dermatology Comprehensive Medicinal Chemistry II Volume 2007, 7 : 221-251.

6.Swee Y, Keith J, paul W. Chapter 13 - Hsp90 inhibitors: targeting the cancer chaperone for combinatorial blockade of oncogenic pathways Cancer Drug Design and Discovery, 2008: 305-335.

خاتمة عامة

خاتمة عامة

تقنية الإلتحام الجزيئي تمثل تقنية نظرية حديثة تعمل على دراسة اليات التفاعل التي تسمح بتشكل وإستقرار المعقدات مستقبل - ربيطة، وهي تقنية سهلة وسريعة وغير مكلفة مقارنة بالطرق التجريبية. من خلال هذا العمل تم تطبيق هذه الطريقة من أجل دراسة أنماط التفاعل المتواجدة بين بروتين الصدمة الحرارية وأربعة مثبطات معروفة أثبتت نجاعتها في علاج أنواع كثيرة من السرطانات الخطيرة وذلك بإستخدام برنامج Molegro Virtual Docker (MVD).

في بداية الدراسة تم التحقق من موثوقية البرنامج المستخدم بحساب قيم الجذر التربيعي RMSD التي وجدناها أقل بكثير من 2A° في كل معقد مما يثبت كفاءة هذا البرنامج و قدرته على إعطاء نتائج قريبة جدا من الحقيقة.

هذه النتائج تدعمها نسبة التطابق الكبيرة الموجودة بين موقع النموذج المصمم بالبرنامج وموقع نموذج البنية البلورية لكل مركب.

بعد ذلك أجرينا عملية الإلتحام بين بروتين الصدمة الحرارية (Hsp90) وأربعة مثبطات مشهورة : Deguelin, Radicicol، Geldanamycin، Tanespimycin حيث تم إستنتاج مايلي:

- معقد Hsp90-deguelin المتشكل أعطى طاقة تفاعل تساوي 111,77- كيلو كالوري / مول، وبين تموقع مثبط deguelin داخل الجيبين S1 وS2 للفجوة الرئيسية.

- معاينة البنية البلورية لمعقد Hsp90-Radicicol أثبتت إرتباط Radicicol في الفجوة الرئيسية لبروتين Hsp90 مع أخذه لشكل حرف L.

- معاينة الصيغة البلورية لمعقد Hsp90-Geldanamycin بينت أن ربيطة Geldanamycin قامت بثني نفسها في إتجاه أين تم فيه توجيه حلقة ansa macrocyclic وشق carbamate نحو الجزء السفلي من جيب ATP،بينما تم توجيه حلقة benzoquinone نحو الجزء العلوي.

- قيمة الطاقة المعطاة من طرف البرنامج اللازمة لتشكل معقد Hsp90 -Tanespimycin تساوي142,07- كيلو كالوري/ مول وهي قيمة معتبرة تثبت مدى إستقرار هذا المعقد ومدى فعالية تثبيط مركب Tanespimycin لبروتين الصدمة الحرارية Hsp90.

- عملية الإلتحام الجزيئي لمركبي Tanespimycin وdeguelin أكدت طبيعة التثبيط التنافسية المثبتة تجريبيا في كثير من البحوث السابقة آلية هذا التثبيط تعتمد أساسا على أنماط الربط التالية : الروابط الهيدروجينية, الروابط الكارهة للماء وتفاعلات فاندر فالز، عدد وخصائص هذه الروابط تختلف على حسب الصيغة الجزيئية المتغيرة من مثبط إلى آخر وعلى حسب أيضا طبيعة الأحماض الأمينية الأساسية التي تدخل في هذه التفاعلات.

على أساس هذه النتائج الأولية، نخطط لتعميق دراستنا، وذلك بإعتماد برامج إلتحام أخرى إضافة إلى القيام بعملية غربلة إفتراضية (Criblage virtuel) من أجل الحصول على مركبات ذات قيم تثبيط أفضل.