



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية

رقم الترتيب:
الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

رقم التسلسلي:

جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر أكاديمي في الكيمياء
تخصص: كيمياء عضوية

من إعداد الطالبتين: الأطرش عائشة و سعدين إسراء

*Etude théorique de l'inhibition de l'enzyme Dipeptidyl
peptidase 4 (DPP4) impliquée dans le diabète de type 2*

نوقشت يوم 2023 / / ... : أمام اللجنة المكونة من :

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

السنة الجامعية: 2023/2022

الحمد لله وكفى والصلاة على الحبيب المصطفى وأهله ومن وفى أما بعد

الحمد لله الذي وفقنا لتتميم هذه الخطوة في مسيرتنا الدراسية بمذكرتنا هذه ثمرة الجهد والنجاح وفضل الله تعالى نهدي هذا العمل إلى الوالدين الكريمين فضلهما الله وأدامهما نورا لدرابنا لكل العائلة الكريمة التي ساندتنا ولا تزال من

الإخوة و الأخوات

الأجداد الغاليين

الخالات والأخوال الطيبين

العمات والأعمام الأعزاء

إلى أستاذتنا الفاضلة الدكتورة بوشقرة سماح

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

قال الله تعالى: ﴿وَلَقَدْ آتَيْنَا لُقْمَانَ الْحِكْمَةَ أَنْ اشْكُرْ لِلَّهِ وَ مَنْ يَشْكُرْ فَإِنَّمَا يَشْكُرُ لِنَفْسِهِ وَمَنْ كَفَرَ فَإِنَّ اللَّهَ غَنِيٌّ حَمِيدٌ﴾ (12) ﴿ [لقمان آية:12]

وقال رسوله الكريم صلى الله عليه وسلم (لا يشكر الله من لا يشكر الناس).

نحمد الله تعالى حمدا كثيرا طيبا مباركا ملئ السموات والأرض على من أكرمنا به على إتمام هذا العمل الذي أرجو أن ينال رضاه.

ثم نتوجه بجزيل الشكر إلى أولئك الأخيار الذين مدو لنا يد المساعدة خلال هذه الفترة على مقدمتهم أستاذتنا المشرفة على مذكرتنا الدكتورة بوشقرة سماح التي لم تبخل في أي جهد في توجيه عملنا وعلى مساعدتها الكبيرة التي قدمتها لنا خلال هذا العمل.

لقد كان لها اهتمام كبير ومتابعة يومية لعملنا هذا ونصائحها القيمة التي استفدنا منها الكثير فلها منا لله كل الأجر والثواب و منا كل الاحترام و التقدير، حفظها الله و رعاها ومتعها بموفور الصحة و العافية و أنار دربها و زادها علما و جعلها نخر البشرية جمعا.

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

كما نعبر امتنانا للدكتور سويحي بلقاسم لموافقته على مناقشة هذا العمل ويشرفنا أن يكون من ضمن أعضاء لجنة التحكيم.

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

كما نشكر كامل الصديقات على قلبهم الكبير وتعاطفهم معنا.

مرض السكري من النوع الثاني هو مرض مزمن ومعقد, يحتاج الأشخاص المصابون به للعلاج من اجل الحفاظ على مستويات الأنسولين والسكر في الدم تحت السيطرة. من خلال هذه الدراسة, تطرقنا إلى إنزيم الببتيداز ثنائي الببتيد الرابع (DPP4), مستهدف علاجي لمرض السكري من النوع 2, من خلال تثبيط وظيفته الإنزيمية والمتمثلة في تكسير هرمونات الأنكريتين (Incretin).

باستخدام طرق النمذجة الجزيئية, وتحديدًا تقنية الالتحام الجزيئي (Molecular docking), قمنا بدراسة أنماط التفاعل الموجودة ما بين إنزيم DPP4 و أربعة مثبطات تنافسية عكوسه مكتشفة مؤخرًا. وذلك باستخدام برنامج Molegro Virtual Docker الذي تم تقييم مدى كفاءته من خلال حساب انحراف الجذر التربيعي (RMSD) للمعقدات الأربعة المدروسة : 4PNZ, 1X70, 5ISM, 5I7U, حيث وجدنا أن قيم RMSD اقل من 2°A, مما يدل على مصداقية هذا البرنامج.

حسب نتائج الالتحام, تبين تموضع المثبطات المدروسة داخل الفجوة الرئيسية, و استقرار هذه المثبطات داخل الموقع الفعال ناتج عن تشكل روابط هيدروجينية, العديد من التفاعلات الكارهة للماء, وتفاعلات فاندر فالس, مع الأحماض الامينية الرئيسية.

انطلاقاً من المعقد ذو الرمز 4PNZ الذي يحتوي على مثبط Omarigliptin تم القيام بمسح افتراضي (غربلة) لمجموعة من مشابهاه في البنية (2D similarity), وأخيراً تم التنبؤ بالحركية الدوائية (ADME) للمركبات "HITS" الناتجة عن الغربلة 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, داء السكري, DPP4, ADME.

Résumé

Le diabète de type 2 est une maladie chronique et complexe, et les personnes qui en sont atteintes ont besoin d'un traitement afin de maintenir les niveaux d'insuline et de sucre dans le sang sous contrôle. Grâce à cette étude, nous avons étudié l'enzyme dipeptide peptidase IV (DPP4), une cible thérapeutique du diabète de type 2, en inhibant sa fonction enzymatique de dégradation des hormones incrétines.

À l'aide des méthodes de modélisation moléculaire, en particulier la technique de docking moléculaire, nous avons étudié les modes d'interactions entre l'enzyme DPP4 et quatre inhibiteurs compétitifs réversibles récemment découverts.

La performance du programme de docking utilisé (MVD) a été évaluée en calculant la déviation racine carrée (RMSD) des quatre complexes étudiés : 4PNZ, 1X70, 5ISM, 5I7U, les valeurs RMSD obtenus sont inférieures à 2\AA , ce qui indique la fiabilité de ce programme.

Selon les résultats d'amarrage, les inhibiteurs étudiés sont situés à l'intérieur de la cavité principale et la stabilité de ces inhibiteurs résulte de la formation des liaisons hydrogènes, de nombreuses interactions hydrophobes et des interactions de Van der Waals avec les principaux acides aminés.

A partir du complexe 4PNZ, un criblage virtuel a été réalisé pour une chimiothèque des analogues de l'Omarigliptin. La pharmacocinétique (ADME) des composés "HITS" résultants du criblage a été prédite en étudiant la similarité médicamenteuse, ainsi qu'en prédisant le potentiel d'absorption intestinale (HIA) et la perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique (BBB).

Mot clés: Docking moléculaire, Inhibiteur, Diabète type 2, ADME, DPP4.

Abstract

Type 2 diabetes is a chronic and complex disease, and people with it need treatment to keep insulin and blood sugar levels under control. Through this study, we investigated the enzyme dipeptide peptidase IV (DPP4), a therapeutic target for type 2 diabetes, by inhibiting its enzymatic function of degrading incretin hormones.

Using molecular modeling methods, in particular the molecular docking, we studied the modes of interaction between the DPP4 enzyme and four recently discovered reversible competitive inhibitors.

The performance of the docking program used (MVD) was evaluated by calculating the square root deviation (RMSD) of the four complexes studied: 4PNZ, 1X70, 5ISM, 5I7U, the RMSD values obtained are less than 2Å°, which indicates the performance of this program.

According to the docking results, the studied inhibitors are located inside the main cavity and the stability of these inhibitors results from the formation of hydrogen bonds, numerous hydrophobic interactions and Van der Waals interactions with the main amino acids. .

From the 4PNZ complex, a virtual screening was carried out for a chemical library of Omarigliptin analogues. The pharmacokinetics (ADME) of "HITS" compounds resulting from the screening were predicted by studying the drug-likeness property, as well as predicting intestinal absorption potential (HIA) and permeability across the blood-brain barrier (BBB).

Key-words: Molecular docking, Inhibitor, Type 2 diabetes, ADME, DPP4.

DPP4: إنزيم الببتيداز ثنائي الببتيد الرابع (dipeptidyl peptidase-4)

DPP6: إنزيم الببتيداز ثنائي الببتيد السادس

DPP8: إنزيم الببتيداز ثنائي الببتيد الثامن

DPP9: إنزيم الببتيداز ثنائي الببتيد التاسع

DPP10: إنزيم الببتيداز ثنائي الببتيد العاشر

CD26: مستضد تنشيط الخلايا التائية

ADBP: بروتين ارتباط أدينوزين ديميناز

Glp-1: الببتيد شبيه الجلوكاجون (glucagon-like peptide-1)

GIP: الببتيد المعتمد على الجلوكوز المفرز للأنسولين

RBN: عدد الروابط الدوارة

FAP: بروتين تنشيط الخلايا الليفية (fibroblast activation protein)

Ser: سيرين (serine)

Asp: الأسبارجين (asparagines)

His: هيسستيدين (histidine)

DPP4s: DPP4 القابل للذوبان

ADA: تنشيط أدينوزين ديميناز (Adenosine Deaminase Activity)

MMPs: البروتياز المعدني (matrix metallo proteinases)

CD45: بروتين مستضد لكريات الدم البيضاء

Cell T: الخلايا التائية (cell theory)

3D: ثلاثي الأبعاد

2D: ثنائي الأبعاد

Ki: ثابت التفكك

nM: نانو متر

TLR 4: بروتين غشائي (Toll-like receptor 4)

IC50: تركيز المادة اللازم للتثبيط النصفى (inhibitory concentration)

DNA: حمض الريبوز النووي منزوع الأكسجين (Deoxyribonucleic acid)

PDB: بنك بيانات البروتينات (Protein Data Bank)

RMN: الرنين النووي المغناطيسي (résonance magnétique nucléaire)

RX: الأشعة السينية (X ray)

Glu: جلوتامين (Glutamine)

RMSD: انحراف الجذر التربيعي الوسطي (root-mean-square deviation)

MVD: برنامج الالتحام Molegro Virtual Docker

G-Score: الطاقة الداخلية للربيطة

HBD: المجموعات المانحة للبروتونات (hydrogen bond donor)

HBA: المجموعات المستقبلة للبروتونات (acceptor bond hydrogen)

LGA: خوارزمية الالتحام المرنة لمستقبلات الترابط (Lamarckian Genetic Algorithm)

BBB: الحاجز الدموي الدماغي (Blood-brain barrier)

QSPR: العلاقة الكمية بين الخواص والبنية (Quantitative structure-property relationship)

QSAR: العلاقة الكمية بين الفعالية والبنية (Quantitative structure-activity relationship)

ADME: دراسة الحركيات الدوائية (absorption, distribution, metabolism, and excretion)

VDW: تفاعلات Vander Waals

الفصل الأول: إنزيم DPP4 و علاقته بمرض السكري النوع الثاني

الرقم	العنوان	الصفحة
1	تركيب وبنية جزئ الجلوكاجون	26
2	تركيب جزر Langerhans	26
3	آلية تنظيم الغلوكوز في الدم	26
4	تفضيل القطع DPP4 في الموضع قبل الأخير مع تواجد الحمض الأميني proline أو alanine	28
5	رسم تمثيلي للمجالات المكونة لكل من DPP4 و DPP4s	29
6	الهيكل 3D لإنزيم DPP4 البشري (Homo sapiens)	30
7	الهيكل العام لإنزيم DPP4	31
8	هيكل Sitagliptin	33
9	هيكل Vildagliptin	34
10	مقارنة بين آلية تثبيط Sitagliptin و Vildagliptin	34
11	هيكل Vildagliptin	35
12	هيكل Linagliptin	36

36	هيكل Alogliptin	13
37	هيكل Anagliptin	14
38	هيكل Teneligliptin	15

الفصل الثاني: تقنية الالتحام الجزيئي

الرقم	العنوان	الصفحة
1	(a) النموذج الأصلي الذي صممه hofmann لوصف الميطان (b) بنية DNA المصممة من طرف Watson و Crick (c) السيكلوهيكسان C6H12 بتقنية Space-filling Model	46
2	مبدأ الالتحام الجزيئي	48
3	الغريبة الافتراضية باستعمال الالتحام الجزيئي	48
4	الخطوات الأساسية للالتحام الجزيئي	50
5	رسم تخطيطي للالتحام بطرق الأجزاء	53
6	تشكل الروابط الهيدروجينية	56
7	تشكل الرابطة الأيونية	57

57	التفاعل بين جزيئين من شحنة مختلفة	8
58	الروابط الكارهة للماء من النوع (π - π)	9
59	تفاعلات فان دير فالز	10
62	تمثيل تخطيطي لدورة الخوارزميات التطورية	11

الفصل الثالث: دراسة آلية تثبيط إنزيم DPP4 باستخدام الالتحام الجزيئي

الرقم	العنوان	الصفحة
1	واجهة البرنامج Molegro Virtual Docker	73
2	واجهة بنك البروتينات (PDB)	74
3	الإعدادات اللازمة للكشف عن الفجوات الموجودة في المستقبل	75
4	فجوات إنزيم DPP4	76
5	الفجوة الرئيسية لإنزيم DPP4	76
6	تموضع الأحماض الامينية المكونة للثالوث المحفز	76
7	البنية الكيميائية للمركبات المعنية ب redocking	78

79	نسبة التطابق بين النموذج المصمم بالبرنامج (الأزرق) ونموذج البنية البلورية (الوردي) للربيطة الموجودة في كل معقدات	8
82	أنماط التفاعل الموجودة بين الربيطات المدروسة و إنزيم DPP4	9
83	تموضع المثبطات المدروسة داخل الفجوة الرئيسية	10
84	بنية مركب Omarigliptin	11
85	بروتوكول المسح الافتراضي المطبق في الدراسة	12
86	تموضع إحدى عشر Top-scoring داخل الفجوة الرئيسية	13
87	أنماط التفاعل الموجودة بين الربيطات Top-scoring و إنزيم DPP4	14
94	مخطط BOILED-Egg للمركبات Omarigliptin و "HITS"	15

الفصل الثاني: تقنية الالتحام الجزيئي

الرقم	العنوان	الصفحة
1	أهم برامج الالتحام الجزيئي	60

الفصل الثالث: دراسة آلية تثبيط إنزيم DPP4 باستخدام الالتحام الجزيئي

الرقم	العنوان	الصفحة
1	عدد وحجم فجوات المستقبل	75
2	قيم RMSD للمعقدات المدروسة	79
3	طاقات التفاعل	81
4	طاقات التفاعل للإحدى عشر "Top-scoring" و المركب المرجعي	86
5	رادار التوافر البيولوجي و عدد المخالفات لقواعد التشبه بالأدوية "Top-scoring" للمركبات	90
6	خصائص المركبات Top-scoring	93
7	تقييم الحركية الدوائية و المركب المرجعي	95

2.....	إهداء
3.....	شكر
4.....	ملخص
5.....	Résumé
6.....	Abstract
7.....	قائمة الاختصارات
10.....	فهرس الأشكال
14.....	فهرس الجداول
15.....	الفهرس
20.....	مقدمة عامة
23.....	المراجع الببليوغرافية

الفصل الأول: إنزيم DPP4 وعلاقته بمرض السكري النوع الثاني

25.....	1- المقدمة
25.....	2- علاقة إنزيم DPP4 بمرض السكري النوع الثاني
27.....	3- إنزيم الببتيديز ثنائي الببتيد الرابع (DPP4)
28.....	3- 1- بنية إنزيم DPP4
29.....	3- 2- الهيكل العام لإنزيم DPP4
32.....	3- 3- تصنيفات إنزيم DPP4
32.....	3- 4- الوظائف الأساسية لإنزيم DPP4

32.....	3-5- مثبطات إنزيم DPP4.....
33.....	أ- Sitagliptin.....
34.....	ب- Vildagliptin.....
35.....	ج - Saxagliptin.....
35.....	د- Linagliptin.....
36.....	هـ- Alogliptin.....
37.....	و- Anagliptin.....
37.....	ي- Teneligliptin.....
39.....	4- الخلاصة.....
40.....	المراجع الببليوغرافية.....
الفصل الثاني : تقنية الالتحام الجزيئي	
46.....	1- مقدمة.....
47.....	2- تعريف النمذجة الجزيئية.....
47.....	3- الالتحام الجزيئي (molecular docking).....
48.....	3-1- خطوات الالتحام الجزيئي.....
49.....	3-1-1- تحديد الهياكل ثلاثية الأبعاد (3D) لكل من المستقبل والربيطة.....
49.....	3-1-2- تحضير الهياكل.....
50.....	3-1-3- الالتحام الجزيئي.....
50.....	3-1-4- التنبؤ والتقييم.....
51.....	3-2- طرق الالتحام الجزيئي.....
51.....	3-3- مبادئ الالتحام الجزيئي.....

51.....	3-3-1- المبدأ التوافقي.....
51.....	3-3-2- المبدأ العشوائي.....
52.....	3-3-3- المبدأ الحتمي.....
52.....	3-4-4- خوارزميات الالتحام
52.....	3-4-1- طرق مونت كارلو Monte-Carlo.....
52.....	3-4-2- الخوارزميات الوراثية
53.....	3-4-3- الطرق المعتمدة على الشظايا أو الأجزاء
53.....	3-4-4- طرق النقاط التكميلية.....
53.....	3-4-5- طريقة البحث Tabu.....
54.....	3-4-6- عمليات البحث المنتظمة
54.....	3-5-5- توابع التسجيل دوال الحرز.....
55.....	3-5-1- الدالة المعتمدة على أساس حقل القوى (Champs des forces)
55.....	3-5-2- دوال التسجيل التجريبية (Empirica scoring functions).....
55.....	3-5-3- دوال المستندة على البيانات (knowledge-based scoring functions).....
55.....	3-5-4- دوال الجمع (Consensus based scoring function).....
56.....	3-6-6- تفاعل بروتين – ربيطة.....
56.....	3-6-1- الروابط الهيدروجينية (Hydrogen Bonds).....
56.....	3-6-2- الروابط الأيونية (Electrostatic or ionic bonds).....
57.....	3-6-3- التفاعلات الكارهة للماء.....
58.....	3-6-4- تفاعلات فان دير فالز (Van der Waals interactions).....

59.....	7-3- البرامج المستخدمة في الالتحام.
60.....	1-7-3- برنامج Auto Dock
60.....	2-7-3- برنامج DOCK
61.....	3-7-3- برنامج Flex
61.....	4-7-3- برنامج GOLD
61.....	5-7-3- Molegro Virtual Docker (MVD)
62.....	4- خصائص ADME-Tox
63.....	1-4- الامتصاص
63.....	4- 2- التوزيع
63.....	4- 3- التمثيل الغذائي
64.....	4- 4- الإفراز (إزالة أو طرح)
64.....	4- 5- التسمم
65.....	5- الخلاصة
66.....	المراجع الببليوغرافية

الفصل الثالث: دراسة آلية تثبيط إنزيم DPP4 باستخدام الالتحام الجزيئي

73.....	1- برنامج المحاكاة الجزيئية
73.....	2- البنية الثلاثية للمستقبل (DPP4)
74.....	3- بنية الربطة
74.....	4- تحضير كل من المستقبل و الربطة
75.....	5- الكشف عن الفجوات الموجودة في المستقبل

77.....	6- بروتوكول الالتحام باستعمال برنامج MVD
77.....	7- تقييم مدى كفاءة البرنامج المستخدم.....
79.....	8- دراسة أنماط التفاعل بين إنزيم DPP4 والمثبطات المدروسة.....
83.....	9- التنبؤ بمثبطات جديدة لإنزيم DPP4 باستعمال تقنية المسح الافتراضي.....
84.....	9-1- إنشاء مكتبة المركبات (Dataset).....
85.....	9-2- إجراء التهام المركبات المشابهة لمثبط Omarigliptin مع إنزيم DPP4.....
89.....	10- دراسة الحركية الدوائية ADME.....
97.....	المراجع البيليوغرافية.....
99.....	الخلاصة العامة.....

داء السكري هو مرض مزمن يحدث عندما يعجز البنكرياس عن إنتاج هرمون الأنسولين بكمية كافية أو عندما يعجز جسم الإنسان عن الاستخدام الفعال للأنسولين الذي ينتجه من أجل امتصاص الجلوكوز من قبل خلايا الجسم، الشيء الذي يجعل الجلوكوز يتراكم فيؤدي إلى زيادة تركيز نسبة السكر في الدم. على المدى الطويل يمكن أن يؤدي ارتفاع نسبة السكر في الدم إلى حدوث أضرار وخيمة في العديد من أجهزة الجسم خاصة القلب والشرايين والعينين والكلى والأعصاب. ويصنف مرض السكري إلى نوعين: السكري من النوع الأول، يحدث هذا النوع من السكري عندما يعجز البنكرياس عن إنتاج الأنسولين بكمية كافية فيصبح الجسم في حاجة إلى تزويد يومي بالأنسولين. أما السكري النوع الثاني فهو أكثر تعقيداً، ينتج إما بسبب نقص في إفراز الأنسولين من طرف البنكرياس أو بسبب الاستخدام غير الفعال للأنسولين من طرف الجسم. هذا النوع من السكري عادة ما يكون نتيجة للزيادة في الوزن أو السمنة أو عدم ممارسة أي نشاط بدني. [1]

تم اكتشاف عدة أدوية فموية، ولكل منها تركيبة وطريقة عمل مختلفة. حيث يحفز البعض البنكرياس على إنتاج المزيد من الأنسولين، بينما يساعد البعض الآخر في تقليل مقاومة الأنسولين، أما البعض الآخر يبطئ من امتصاص الجسم للكربوهيدرات. وتعد مثبطات إنزيم البيبتيداز ثنائي البيبتيد الرابع (DPP4) من أشهر الأدوية التي تحفز إنتاج الأنسولين وتمنع الكبد من إفراز الجلوكوز. [2] يوجد هذا الإنزيم على نطاق واسع في الكلى والكبد والأمعاء والطحال واللمفاويات والخلايا البطانية والمشيمة. يعمل إنزيم DPP4 على انحلال هرمون الانكريتين الذي بدوره يفرز الأنسولين ويحسن مستوى السكر في الدم. [3]

آلية عمل مثبطات إنزيم DPP4 تعتمد على تعطيل وظيفته الإنزيمية و المتمثلة في تكسير هرموني الأنكريتين GLP-1 و GIP، وبالتالي فإن تثبيط هذا الإنزيم يزيد من مدة فعاليتها من أجل أداء وظيفتهما الرئيسية و المتمثلة في تحفيز إفراز الأنسولين بطريقة تعتمد على مستوى السكر (الجلوكوز) في الدم، كما أظهرت دراسات سابقة بأنهما يزيدان من كتلة خلايا بيتا في البنكرياس عن طريق تنشيطها. [4] [5]

توالت البحوث في هذا المجال فتم اكتشاف العديد من مثبطات إنزيم DPP4 منها ما هو مصرح به كدواء و أخرى مازالت في طور التجارب السريرية و نسبة كبيرة توقفت في مرحلة التجارب المخبرية (in vitro). من بين الأبحاث المنشورة مؤخراً، تصنع Jason M و زملائه لسلسلة جديدة من مثبطات انتقائية من نوع 5،6،5- و 5،5،6- بيروليدينات ثلاثية الحلقات احد مركبات هذه السلسلة اظهر فعالية تثبيط قوية لإنزيم DPP4 [6]. (IC50 = 0.12nMol)

غير أن معطيات الحركة الدوائية للخمس و أربعون مركب المصطنع لا ترقى إلى مستوى Omarigliptin دواء قويًا و مضادًا لمرض السكري عن طريق الفم طويل المفعول من فئة مثبطات DPP4 يستخدم للعلاج مرة واحدة أسبوعيًا لمرض السكري من النوع الثاني و هو قيد التطوير حاليًا بواسطة شركة ميرك أندكو.[7]

Joel P. Berger و زملائه قاموا بدراسة مقارنة عند الفئران لخصائص الربط بين إنزيم DPP4 و المثبطات التالية: alogliptin, vildagliptin, sitagliptin, saxagliptin, linagliptin حيث وجدو أن مثبطات DPP4 المتنوعة هيكلًا لها القدرة على الارتباط في نفس الموقع كما هو الحال بالنسبة للركيزة (substrate).[8]

أما Wen-Lian Wu و زملائه وبتطبيق النمذجة الجزيئية، استنادا إلى البنى البلورية للمثبطات التالية: sitagliptin و alogliptin و linagliptin المرتبطة بـ DPP4, صمموا عدة سلاسل من المركبات الحلقية غير المتجانسة كأهداف أولية. و عند الاصطناع حدث تحول كيميائي غير متوقع أعطى مركب ثلاثي الحلقات جديد "tricyclic scaffold" له قدرة تثبيط عالية جدا فأصبح هو بدوره رأس سلسلة لتصنيع مثبطات أخرى انطلاقا من بنيته.

وفي سنة 2022, طبق كل من Daniela Istrate و Luminita Crisan تقنية الالتحام الجزيئي باستعمال ROCS و FRED على مكتبة من مركبات طبيعية محملة من قاعدة البيانات Zinc15 من اجل الحصول على مثبطات أفضل تحترم قواعد الأمان الدوائية.[9]

ورغم هذا يظل البحث في هذا التوجه قليل خصوصا الذي يهتم بتحديد أنماط الربط بين هذه المثبطات و إنزيم DPP4, علما أن هذا الإنزيم متعدد الوظائف و بعض آلياته تظل لحد الساعة مجهولة, كما أن معطيات الحركة الدوائية في اغلب المثبطات المكتشفة تخذل الباحثين , وفي هذا السياق اعتمدت دراستنا على تقنية الالتحام الجزيئي باستعمال برنامج (MVD) لتسليط الضوء على ميكانيزمات و أنماط الارتباط لدى بعض المثبطات المشهورة , ثم تم القيام بمسح افتراضي لمكتبة من المركبات مشابهات Omarigliptin المعروف بفعاليتها القوية و معطيات حركته الدوائية التي أهلتها أن يكون مثبط ذو فعالية طويلة المدى.

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

دراسة ببلوغرافية مقدمة على شكل فصلين، الفصل الأول يمثل نظرة عامة على إنزيم DPP4 و علاقته بمرض السكري من النوع الثاني ومثبطاته، أما في الفصل الثاني التعريف بتقنية الالتحام الجزيئي المستخدمة في الدراسة.

أما في الفصل الثالث تم استخدام برنامج Molegro Virtual Docker (MVD) لتطبيق تقنية النمذجة الجزيئية وبالضبط الالتحام الجزيئي (docking) لدراسة التفاعلات ومعرفة الأنماط الممكنة بين إنزيم DPP4 و المثبط المختار.

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

- 1- https://sehati.gov.ma/ar/article/le_diabete_comment_agir
- 2- William E , Nacim A." Dipeptidyl peptidase-4 et Januvia : un duo gagnant contre le diabète de type 2". *l'actualité chimique* (2013): 375-376.
- 3- Boonacker, Emil, and Cornelis JF Van Noorden. "The multifunctional or moonlighting protein CD26/DPPIV." *European journal of cell biology* 82.2 (2003): 53-73.
- 4- Lu, I-Lin, et al. "A three-dimensional pharmacophore model for dipeptidyl peptidase IV inhibitors." *European journal of medicinal chemistry* 43.8 (2008): 1603-1611.
- 5- Peters, Jens-Uwe. "11 years of cyanopyrrolidines as DPP-IV inhibitors." *Current topics in medicinal chemistry* 7.6 (2007): 579-595.
- 6- Cox, Jason M., et al. "The discovery of novel 5, 6, 5-and 5, 5, 6-tricyclic pyrrolidines as potent and selective DPP-4 inhibitors." *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 26.11 (2016): 2622-2626.
- 7- Tatosian, D. A., et al. "Pharmacokinetics of omarigliptin (MK-3102), a once weekly dipeptidyl peptidase-IV (DPP-4) inhibitor, in patients with renal impairment." *Clin Pharmacol Ther* 95.S1 (2014): S90.
- 8- Berger, Joel P., et al. "A comparative study of the binding properties, dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitory activity and glucose-lowering efficacy of the DPP-4 inhibitors alogliptin, linagliptin, saxagliptin, sitagliptin and vildagliptin in mice." *Endocrinology, diabetes & metabolism* 1.1 (2018): e00002.
- 9- Istrate, Daniela, and Luminita Crisan. "Natural Compounds as DPP-4 Inhibitors: 3D-Similarity Search, ADME Toxicity, and Molecular Docking Approaches." *Symmetry* 14.9 (2022): 1842.

الفصل الأول:

إنزيم DPP4 و علاقته بمرض السكري

النوع الثاني

1- المقدمة

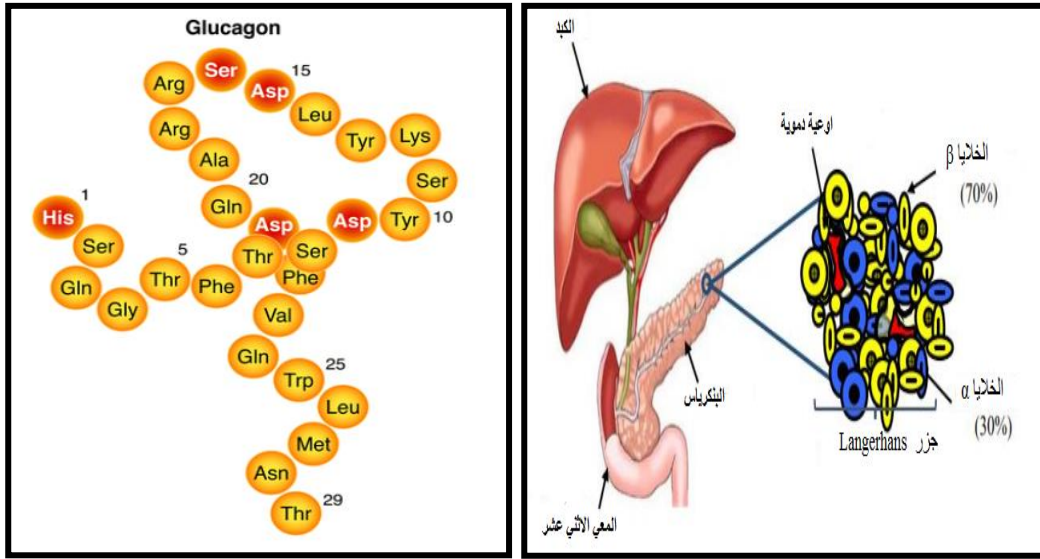
السكري من النوع الثاني أحد أنواع مرض السكري الذي يؤدي إلى ارتفاع مستوى الجلوكوز في الدم، ويحدث نتيجة حدوث مقاومة في خلايا الجسم لهرمون الأنسولين أو عدم كفاية كمية الأنسولين المنتجة في البنكرياس، وذلك نتيجة لعدة عوامل أهمها زيادة الوزن وقلة النشاط البدني. ويطلق عليه أيضا اسم السكري غير المعتمد على الأنسولين وسكري البالغين.[1]

علاج الخط الأول لمرض السكري من النوع الثاني يعتمد على تعديلات نمط الحياة غير الصحية: بما في ذلك التغذية الصحية والرياضة وإيقاف التدخين وإنقاص الوزن، إذا ثبتت أن هذه الإجراءات غير كافية فإن المريض ينتقل إلى مرحلة العلاج الدوائي.[2]

تساعد أدوية السكري التي تؤخذ عن طريق الفم (الفموية) على خفض مستوى السكر عند الأشخاص المصابين بالنوع الثاني لعدم توقف البنكرياس بشكل كامل. تتوفر فئات متنوعة من الأدوية الفموية، وكل واحدة من هذه الفئات تركيب مختلف وطريقة عمل مختلفة، فبعضها يحفز البنكرياس على إنتاج المزيد من الأنسولين، بينما تساعد الأخرى على خفض مقاومة الجسم للأنسولين، وتعمل أنواع أخرى على إبطاء امتصاص الجسم للكربوهيدرات و تعد مثبطات إنزيم البيبتيداز ثنائي البيبتيد الرابع (DPP4) من أشهر الأدوية التي تحفز إنتاج الأنسولين، وتمنع إفراز الجلوكوز من الكبد.[2]

2- علاقة إنزيم DPP4 بمرض السكري النوع الثاني

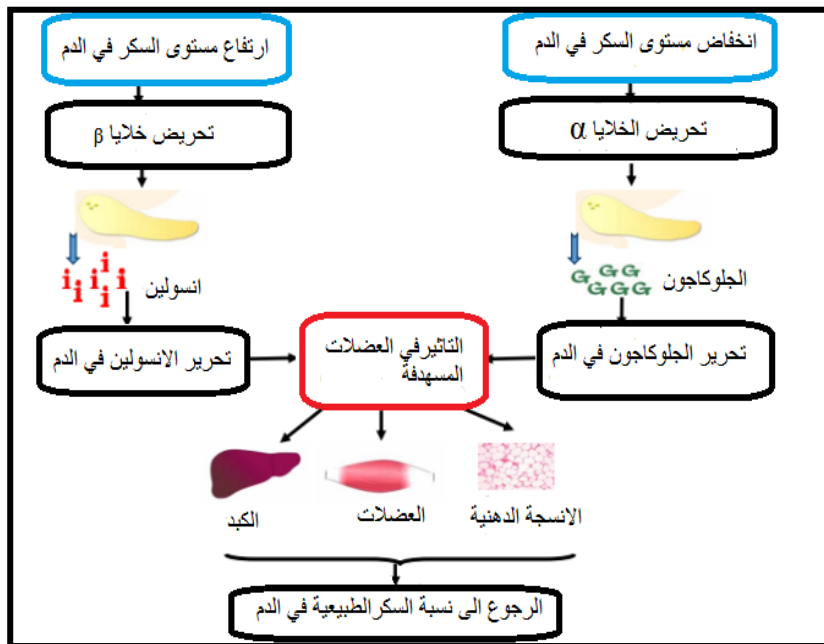
لتجنب نقص وارتفاع السكر في الدم فإن الجسم لديه آلية عمل تعتمد بصفة خاصة على الكبد والبنكرياس و بوساطة كل من هرموني الجلوكاجون (glucagon) والأنسولين. يفرز هرمون Glucagon من الخلايا α لجزر Langerhans (شكل 2) الموجودة في البنكرياس و يلعب دورا مهما في الحفاظ على توازن الجلوكوز من خلال تحفيز إنتاج الجلوكوز في الكبد.[3] هرمون Glucagon ذو بنية بسيطة يتكون من 20 حمض أميني على شكل سلسلة أحادية يبلغ وزنه الجزيئي 0,5 كيلو دالتون ولا يحتوي على جسور ثنائية الكبريت (شكل 1).



شكل 1: تركيب وبنية جزئ الجلوكاجون. [4] شكل 2: تركيب جزر Langerhans. [5]

عندما تنخفض مستويات السكر في الدم (hyperglycemia) فإن خلايا α تطلق الجلوكاجون (glucagon) الذي سينشط بعد ذلك إنتاج الجلوكوز (glucose) من الجليكوجين (glycogen), وعندما ترتفع نسبة السكر في الدم (hypoglycemia) ستفرز الخلايا β الأنسولين (شكل 3). [6]

يعمل كلا الهرمونين وفق آلية معاكسة لضمان إبقاء الجسم في نطاق المستوى الطبيعي للجلوكوز في الدم عن طريق عكس أي زيادة حادة أو نقص حاد في مستوى الجلوكوز إلى المستوى الطبيعي.



شكل 3: آلية تنظيم الغلوكوز في الدم. [5]

الإنكريتينات (Incretin) هي عبارة عن هرمونات ببتيدية (Peptide Hormones) تُفرز من القناة الهضمية بعد تناول وجبة غذائية و تزيد من تحفيز إفراز الأنسولين المُعتمد على الجلوكوز (السكر). و هرمونات الانكريتين الرئيسية التي تم تحديدها حتى الآن هي:

- الببتيد شبيه الجلوكاجون-1 "GLP-1" (glucagon-like peptide-1).

- الببتيد المُعتمد على الجلوكوز المُفرز للأنسولين "GIP" (Glucose-Dependent Insulinotropic Peptide)

كلاهما يُحفز إفراز الأنسولين بطريقة تعتمد على مستوى السكر (الجلوكوز) في الدم و يُحسنان نسخ مورثات الأنسولين و إنتاجه. علاوة على ذلك، أظهرت دراسات سابقة بأنهما يزيدان من كتلة خلايا بيتا في البنكرياس عن طريق تنشيط تكاثرها و كبت استماتتها (موتها). [7]

يملك (GLP-1) أدوارًا عديدةً في جسم الإنسان إذ يحرض الاضطناع الحيوي للأنسولين ويثبط إفراز الجلوكاجون (glucagon) ويبطئ إفراغ المعدة وينقص الشهية ويحفز تجدد خلايا بيتا البنكرياسية و يقلل أيضًا من إفراز الجلوكاجون (glucagon) من خلايا ألفا البنكرياسية مما يؤدي إلى انخفاض إنتاج الجلوكوز (glucose) في الكبد.

تأثير الإنكريتينات GLP-1 و GIP قصير المدى، وذلك بسبب سرعة انحلالهما بعمل إنزيم الببتيديز ثنائي الببتيد الرابع (Dipeptidyl Peptidase IV)، مما دفع الباحثين إلى إيجاد أدوية علاجية تمنع DPP-4 من حل الإنكريتينات ليدوم عملها الذي ذكرناه سابقا لتحسين مستوى السكر لدى مرضى السكري من النوع الثاني وهنا يأتي دور مثبطات DPP4 بحيث تعمل على تثبيط عمل إنزيم DPP4 و بالتالي يمارس الانكريتين (Incretin) عمله الطبيعي في إفراز الأنسولين و السيطرة على ارتفاع السكر في الدم. [8]

3- إنزيم الببتيديز ثنائي الببتيد الرابع (DPP4)

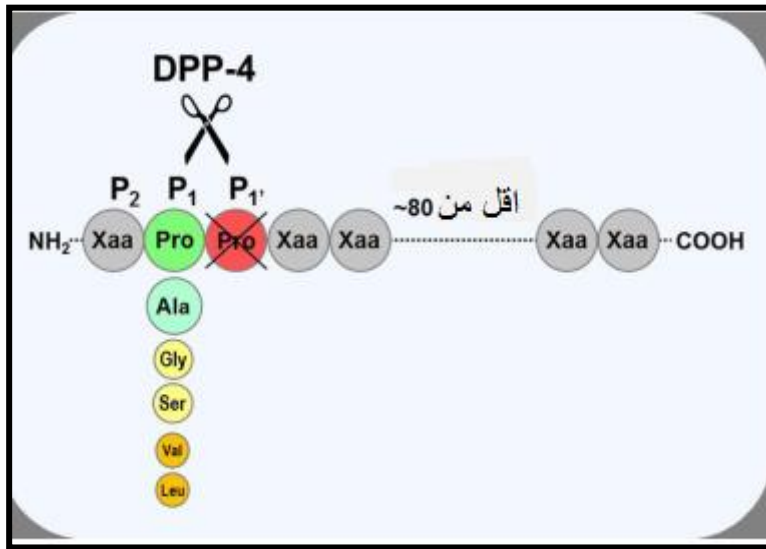
إنزيم الببتيديز ثنائي الببتيد الرابع يعرف اختصارا ب DPP4 نسبة إلى (EC 3.4.14.5) Dipeptidyl peptidase-4 وهو معروف أيضًا باسم مستضد تنشيط الخلايا التائية CD26. [9] أو بروتين ارتباط أدينوزين ديميناز (ADBP). [10] تم وصفه لأول مرة سنة 1966. [11]

و يوجد على نطاق واسع في الكلى والكبد والأمعاء والطحال والغدد الكظرية واللمفاويات والخلايا البطانية والمشيمة.

تعكس تسمياته المتنوعة تعدد وظائفه التي لا تقتصر فقط على التحفيز ووظائف هذا النوع من البروتينات تعتمد على موقع تواجد داخل الخلايا أو خارجها ، على نوع الخلية ، و كذلك على تركيز الركائز والروابط.[9]

ينتمي DPP4 إلى عائلة سيرين ببتيداز ، والتي تشمل أيضًا و DPP6 و DPP8 و DPP9 و DPP10 وبروتين تنشيط الخلايا الليفية (FAP) والبروليل إندوبيبتيداز. [12]

DPP-4 هو aminopeptidase ، يحرق ثنائي الببتيد من الطرف N من ركائزه. كغيره من إنزيمات هذه المجموعة ، فإنه يفضل البرولين (proline) أو ألانين (alanine) في الموضع قبل الأخير ، على الرغم من أنه يمكن قطع الببتيدات مع تواجد أحماض أمينية أخرى في هذا الموضع مثل: glycine, serine و valine و لكن بصورة أبطأ (الشكل 4).



شكل 4: تفضيل DPP-4 القطع في الموضع قبل الأخير مع تواجد الحمض الأميني proline أو

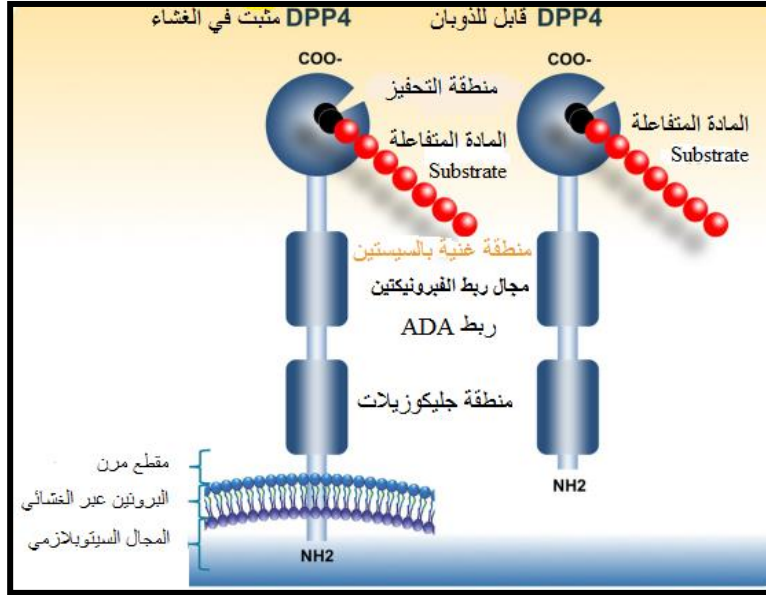
[13].alanine

1-3- بنية إنزيم DPP4

يتركب إنزيم Dpp4 من 766 حمض أميني ويقدر وزنه الجزيئي بحوالي 110 كيلو دالتون ويتكون بصورة أساسية من ثلاثة أجزاء وهي: ذيل سيتوبلازمي (tail Cystoplasmic) ومنطقة الغشاء (region Transmembran) والمنطقة الكبيرة خارج الخلية (par Extracellular) و المتكونة من

738 حمض أميني.[14][15]

ينقل DPP4 الإشارات عبر أغشية الخلايا ويتفاعل مع بروتينات الغشاء الأخرى (الشكل 5). من اللافت للنظر أن معظم البروتين خارج الخلية ، بما في ذلك المجال التحفيزي الطرفي C، ومنطقة غنية بالسيستين (cysteine)، ومنطقة كبيرة من الجليكوزيلات (glycosylated region) مرتبطة بجزء الغشاء عن طريق ساق مرنة، و تمتد ستة أحماض أمينية من النهاية الطرفية N-terminal فقط في السيتوبلازم. [16] و يكون الحمض الأميني الأساسي Ser630 محاط بنمط تسلسلي مميز لعنصر سيرين ببتيداز الكلاسيكي: Gly-Trp-Ser630-Tyr-Gly-Gly-Tyr-Val. يحتوي DPP4 المرتبط بالغشاء على الأحماض الامينية من: 1- 766 ، بينما يحتوي DPP4s القابل للذوبان على الأحماض الامينية من: 39- 766 , يفتر DPP4s إلى المجال السيتوبلازمي (الأحماض الامينية: 1-6). كل من DPP4s و DPP4 تشترك في العديد من المجالات بما في ذلك منطقة الجليكوزيلات (الأحماض الامينية: 101-535)، مجال ربط ADA (الأحماض الامينية: 340-343) ، مجال ربط فيبرونكتين الأحماض الامينية: (468 - 479) ، المجال الغني بالسيستين الأحماض الامينية: (351- 506) ، منطقة تكون الجسور الكبريتية في المجالات التالية: من 385- 394 ، 444 - 472 ، و 649 - 762. و المجال التحفيزي 507-766 المتضمن الأحماض الامينية المكونة للموقع الفعال: 630 ، 708 ، و 740.



شكل 5: رسم تمثيلي للمجالات المكونة لكل من DPP4 و DPP4s. [17]

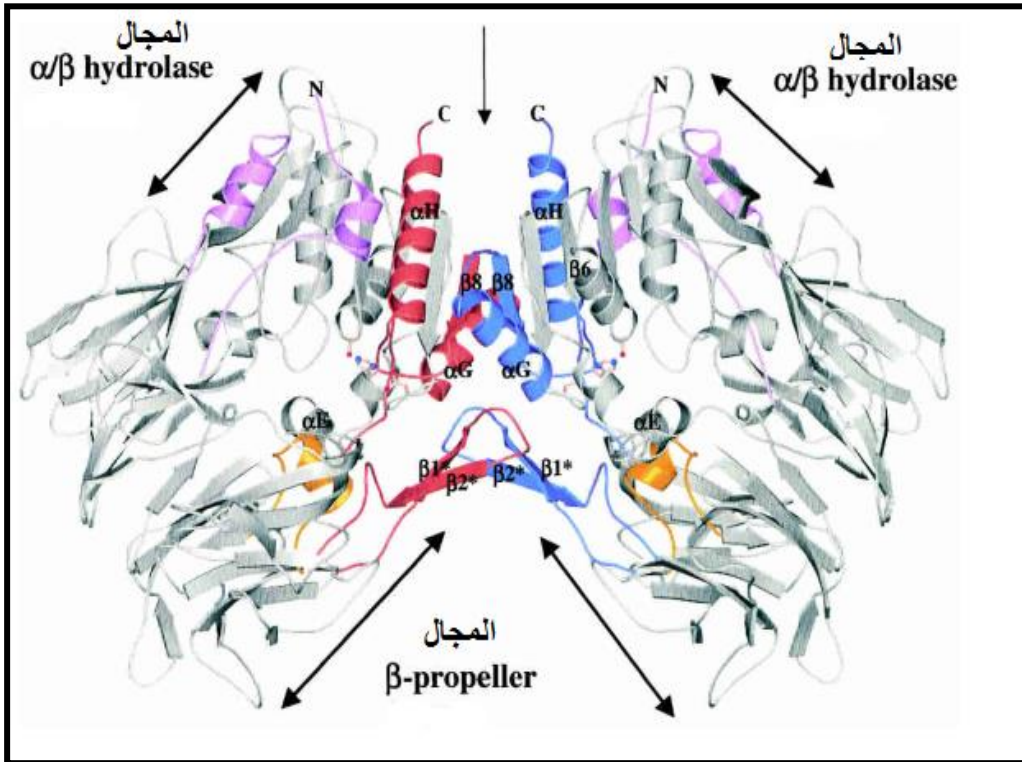
3-2- الهيكل العام لإنزيم DPP4

الهيكل العام المحدد بواسطة الأشعة السينية يبين أن الجزء خارج الخلية من مجالين مميزين: مجال المروحة (β -propeller) والمجال α/β hydrolase. [14][18]

مجال المروحة β مفتوحة ولها ثماني شفرات وتشمل فرعيين من المجالات: المنطقة الغنية بالجليكوزيل (الشفرات 2-5) و المنطقة الغنية بالسيستين (الشفرات 6-8) يمكن أن تعمل المناطق المكونة للمروحة β على التفاعل مع البروتينات الأخرى والمشاركة في الوظائف غير الأنزيمية لـ DPP4. [19]

على سبيل المثال ، ADA يرتبط بالمنطقة الغنية بالجليكوزيل لـ DPP4 ، وبروتينات المصفوفة مثل الكولاجين ترتبط بالمنطقة الغنية بالسيستين. [20] من ناحية أخرى ، فإن مجال α / β hydrolase يحتوي على الثالوث المحفز (the catalytic triad) و الذي يتكون من الأحماض الامينية المحفزة الرئيسية: (Ser630 / Asp708 / His740) والتي تقع ضمن آخر 140 من الوحدات البنائية للمنطقة الطرفية C-terminal. [21]

يمكن تمييز فتحتين في مونومر DPP4 مما يجعل الوصول إلى الموقع الفعال سهل، الأولى جانبية تتكون من المروحة β ، ومجال α / β hydrolase أصغر تتكون من مجال المروحة β . يقترح أن يحدث دخول الركيزة (substrate) إلى المركز النشط من خلال المدخل الجانبي بهذه الطريقة يكون البيبتيد موجه بشكل صحيح للانقسام ولأن خروج البيبتيد الناتج يحدث من خلال القمع الموجود في منتصف مجال المروحة β . [22][23]

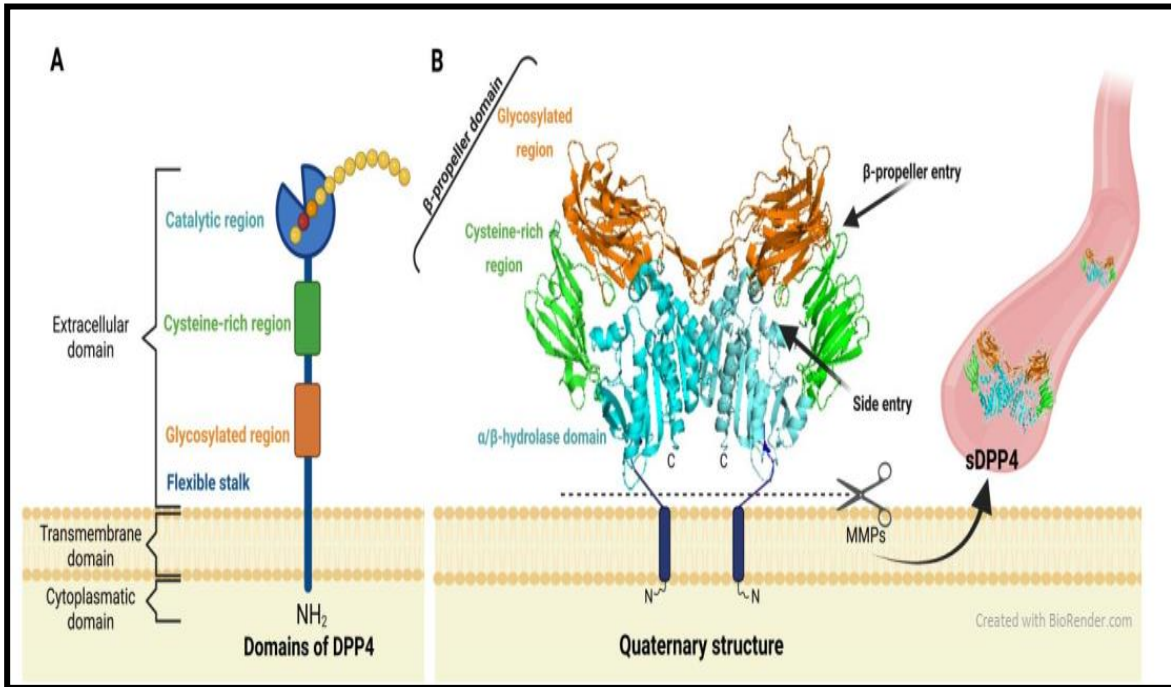


شكل 6: الهيكل 3D لإنزيم DPP4 البشري (Homo sapiens). [24]

بمجرد الدخول إلى الغشاء، عادة ما يشكل DPP4 الثنائيات، والذي يعتبر شرطاً أساسياً للقيام بنشاطه الإنزيمي. فبتواجد وحدتين من بروتينات DPP4 بالقرب من بعضهما البعض يشكلان ثنائية على شكل حرف U (U-shaped homodimer). تتشكل أذرع U من مجالات β -propeller وتقع في مكان بعيد عن غشاء البلازما. انحناء حرف U الذي يقع بالقرب من الغشاء، يتكون من مجالات α/β -hydrolase التي تؤوي الثالوث المحفز (catalytic triad). [25]

يمكن شق بروتين DPP4 من الغشاء بواسطة البروتياز المعدني MMPs، مما يؤدي إلى عملية تسمى بالتخلص " Shedding " (الشكل 6) نتيجة لذلك، فإن الشكل القابل للذوبان والنشط تحفيزياً من DPP4 ينتقل في السوائل مثل المصل واللعاب والسائل النخاعي والسائل المنوي. عادة ما ينتقل DPP4s على شكل ثنائيات (Dimer) كما أنه يمكنه أن يتشكل وفق تجمعات أكبر. [26][27]

لهذا الشكل القابل للذوبان من DPP4 دور مناعي ويعتقد أنه ينشط إشارات الخلية، على الرغم من أن الآليات المعنية لا تزال غير معروفة. [28]



شكل 7: الهيكل العام لإنزيم DPP4. [29]

A: التمثيل التخطيطي للهيكل الأساسي DPP4 (primary structure).

B: هيكل DPP4 الرباعي homodimer DPP4.

3-3- تصنيفات إنزيم DPP4

DPP4 هو إنزيم بروتيني سكري نهايته الحدية C-terminal خارج غشاء الخلوي أما نهايته الحدية N-terminal تشكل امتداد صغير في السيتوبلازما يتم تصنيفه ضمن المجموعات التالية:

- مجموعة **peptidase**: تختص هذه المجموعة بقطع الروابط الببتيدية.

- مجموعة **Exopeptidase**: هذه المجموعة تحفز انشقاق رابطة الببتيد الطرفية؛ تطلق العملية حمضًا أمينيًا واحدًا أو ثنائي الببتيد أو ثلاثي الببتيد من سلسلة الببتيد. [30]

- مجموعة **Clan SC**: هذه المجموعة يتميز هيكلها بأوراق مطوية (β -sheet) متمركزة كنواة محاطة بها حلزونات (α -helix)

- مجموعة **S**: مجموعة serine peptidase تتميز بتواجد الحمض الأميني Serine ضمن الأحماض الأمينية الأساسية.

- المجموعة الفرعية **SB9**: تتميز هذه المجموعة بالنمط التسلسلي التالي (motif): Gly-Trp-Ser630-Tyr-Gly-Gly-Tyr-Val للأحماض الأمينية الأساسية المحاطة بعنصر Serine الرئيسي. [15][31][32][33]

4-3- الوظائف الأساسية لإنزيم DPP4

يتميز إنزيم DPP4 بوظيفتين بيولوجيتين أساسيتين :

- **وظيفة إنزيمية**: كما ذكرنا سابقا حيث يقوم هذا الإنزيم بتحفيز قطع الببتيدات من النهاية الطرفية N-terminal مع تفضيلها للببتيدات التي تحتوي على الأحماض الأمينية التالية: Prolyne, Alanine, Hydroxyproline في الموضع ما قبل الأخير. [34]

- **تأثير على الوظيفة المناعية**: تنشيط و تكاثر الخلايا التائية (Cell T) من خلال تفاعل CD26 مع مولدات ضد الغشائية CD45 خاصة. [35]

5-3- مثبطات إنزيم DPP4

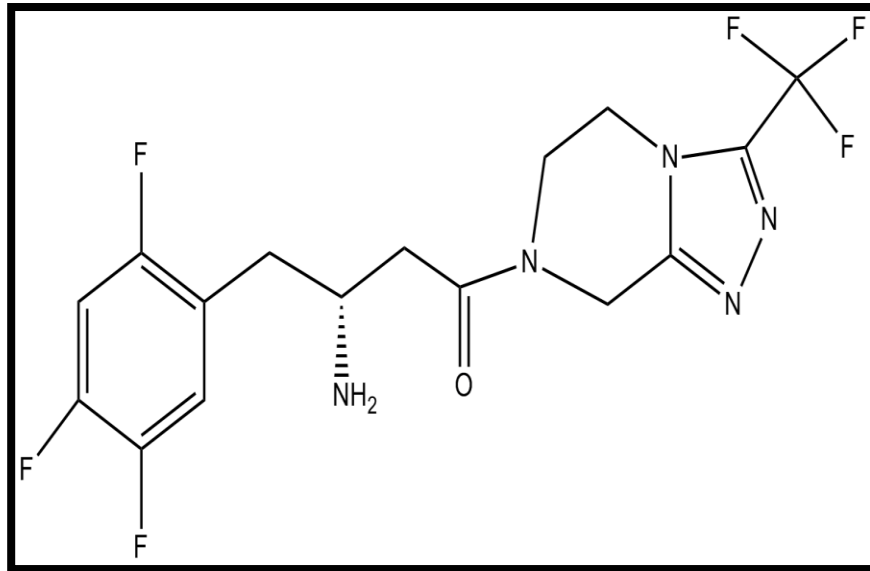
بدأ اكتشاف مثبطات DPP4 في أواخر الثمانينيات كنهج جديد لعلاج مرضى السكري من النوع الثاني حيث تعمل هذه المثبطات على تعطيل وظيفة DPP4 الإنزيمية والمتمثلة في تكسير هرمونات الأنكريتين

GLP-1 و GIP (Incretin) والتي هي عبارة عن بيببتيدات حيث يتم قطع اثنين من الأحماض الأمينية من نهاياتها الطرفية N-terminal ، وبالتالي فإن تثبيط هذا الإنزيم يزيد من مدة فعالية الأنكريتين (Incretin) التي تعمل على زيادة تصنيع وإفراز هرمون الأنسولين من خلايا بيتا β في البنكرياس، بالإضافة إلى تثبيط إفراز الجلوكاجون (glucagon) من خلايا ألفا α في البنكرياس فيزيد الأنسولين من انتقال الغلوكوز (glucose) من الدم إلى خلايا الجسم ، كما يقلل إفراز الجلوكاجون (glucagon) من تصنيع الكبد للجلوكوز (glucose) ، مما يقلل من مستويات السكر في الدم. [36][37]

بعدما أثبتت نظرية تثبيط إنزيم DPP4 أثرا علاجيا ناجحا لدى مرضى السكري من النوع الثاني توالت اكتشافات العديد منها فيما يلي سنذكر المثبطات الأكثر شيوعا:

أ- Sitagliptin

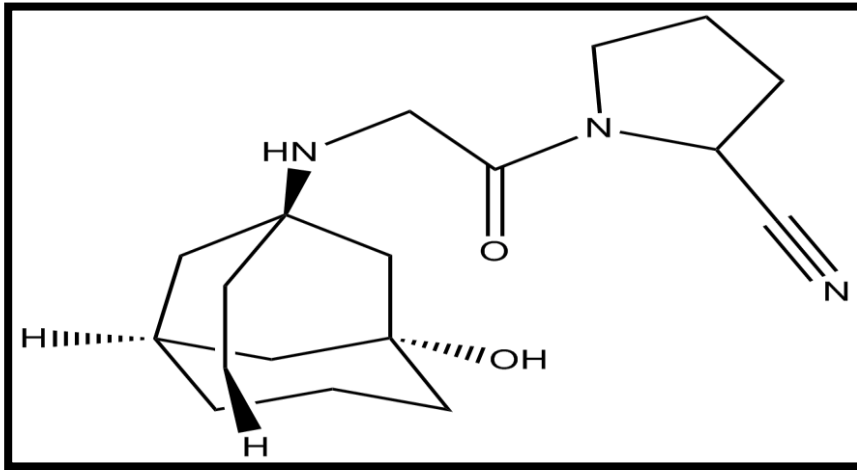
اسمه الشائع Januvia هو أحد أدوية السكر الفموية من فئة مثبطات إنزيم 4 dipeptidyl peptidase و صيغته الكيميائية هي $C_{16}H_{15}N_5O$. Sitagliptin (شكل 8) مثبط تنافسي قوي و موجه يفضل إنزيم DPP4 على إنزيمي DPP8 و DPP9 ، لدى الإنسان اثبتت فعالية تثبيط تصل إلى 80% ونسبة تواجد مضاعفة لهرمون GLP-1. [38]



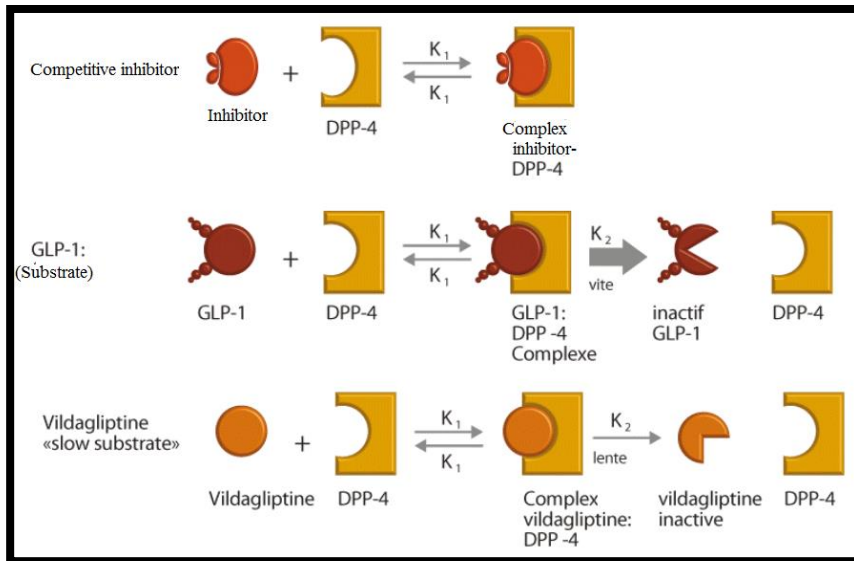
الشكل 8: هيكل Sitagliptin.

ب- Vildagliptin

vildagliptin مثبط صيغته الكيميائية هي: $C_{17}H_{25}N_3O_2$ يختلف في بنيته كثيرا عن Sitagliptin كما أن طريقة تفاعله أيضا مختلفة , يتفاعل هذان الجزئان المتباينان مع الإنزيم بطرق مختلفة اختلافاً جوهرياً, يعمل Sitagliptin كمثبط تنافسي بسيط لـ DPP4 (الشكل 9) ، درجة تثبيطه تعتمد على تركيبه. من ناحية أخرى، فإن Vildagliptin ، مثل الإنكريتين هو ركيزة DPP4 (substrate) ، وهو في الواقع ما يسمى بالركيزة البطيئة "Slow substrate" ، أي أن Vildagliptin يرتبط بـ DPP4 من خلال ارتباط قوي مع تحول بطيء في الركيزة، مما ينتج عنه تأثير مستمر لفترة طويلة نتيجة انخفاض ثابت التفكك لهذا المركب و تثبيط قوي لـ DPP4 بجرعات منخفضة (شكل 10). [39]



الشكل 9: هيكل Vildagliptin.

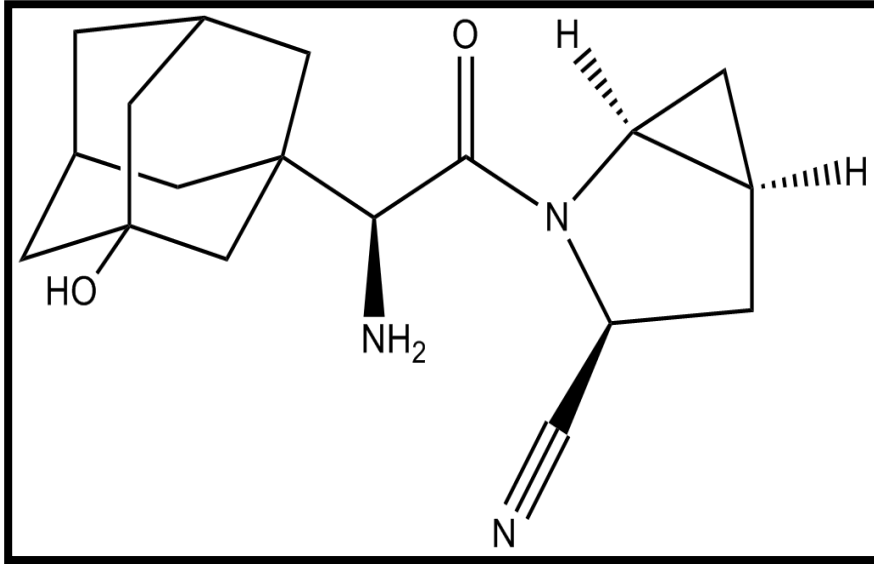


شكل 10: مقارنة بين إليه تثبيط Vildagliptin و Sitagliptin. [39]

ج- Saxagliptin

اسمه الشائع Onglyza هو أحد أدوية السكر الفموية من فئة مثبطات إنزيم DPP4، صيغته الكيميائية هي: $C_{18}H_{25}N_3O_2$ وهو مثبط قوي للغاية ($K_i = 1,3 \text{ nM}$)، انتقائي وقابل للعكس و تنافسي (selective, reversible and competitive)، و أقوى عشر مرات من Vildagliptin ($K_i = 13 \text{ nM}$) و Sitagliptin ($K_i = 18 \text{ nM}$).

في المرضى الذين يعانون من مرض السكري من النوع الثاني ، أدى تناول Saxagliptin إلى تثبيط نشاط إنزيم DPP4 لمدة 24 ساعة. بعد تناول الجلوكوز عن طريق الفم ، أدى هذا التثبيط إلى زيادة 2 إلى 3 أضعاف في التركيزات المتداولة لهرمونات الإنكريتين النشطة. [40]

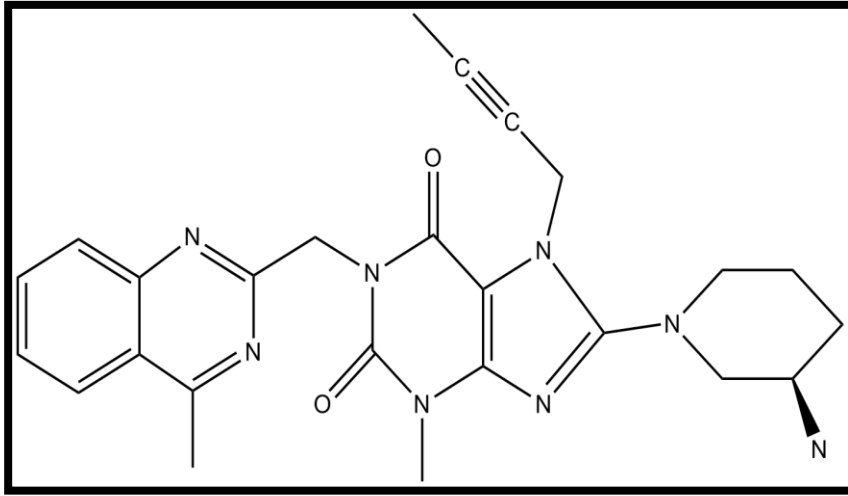


شكل 11: هيكل Vildagliptin.

د- Linagliptin

اسمه الشائع Tradjenta يستخدم مع النظام الغذائي والتمارين الرياضية في علاج مرض السكري من النوع الثاني ، وصيغته الكيميائية هي: $C_{25}H_{26}N_8O_2$ لا يوصى به لمرضى السكري النوع الأول. يؤخذ هذا الدواء عن طريق الفم. تشمل الآثار الجانبية الشائعة التهاب الأنف والحلق ويمكن أن تتضمن الآثار الجانبية الخطيرة كالتهاب البنكرياس، آلام المفاصل و الإصابات الكبدية.

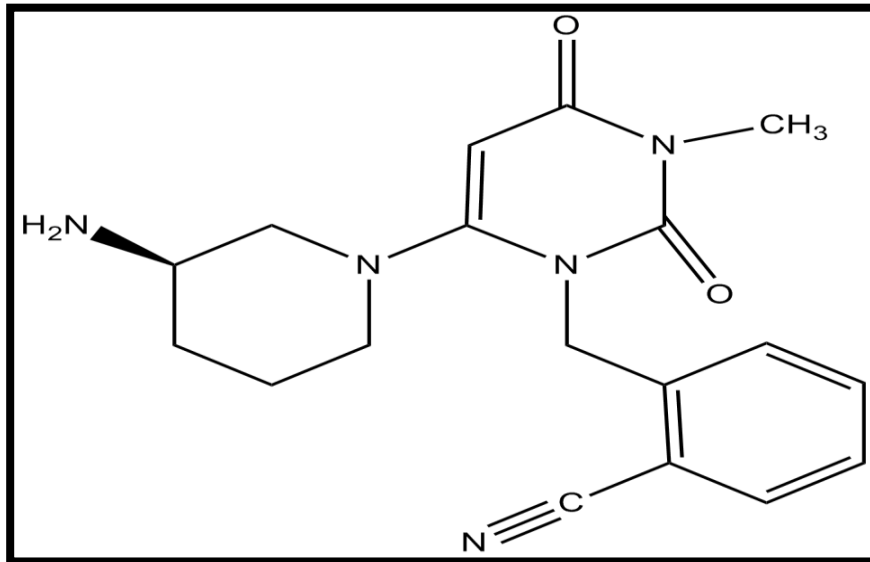
يرتبط Linagliptin بإنزيم DPP4 بشكل انتقائي و موجه 10000 مرة مقارنة مع إنزيمي DPP8 أو DPP9. [41]



شكل 12: هيكل Linagliptin.

Alogliptin -هـ

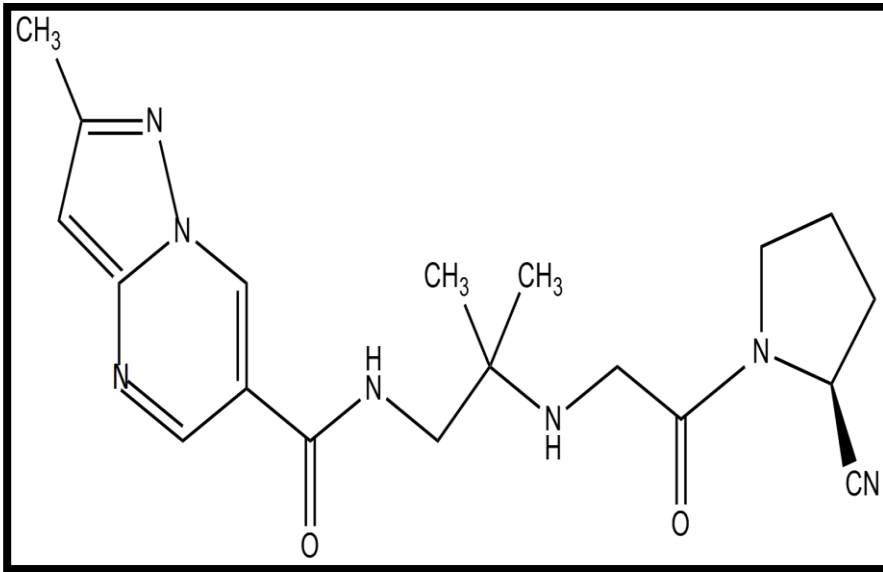
اسمه الشائع Nesina وصيغته الكيميائية هي $C_{18}H_{21}N_5O_2$ (شكل 13) وهو مثبط قوي وانتقائي للغاية لـ DPP4 ، أكثر من 10000 مرة انتقائية لـ DPP4 مقارنة بالإنزيمات الأخرى ذات الصلة، بما في ذلك DPP8 و DPP9. كما انه يثبط الاستجابات الالتهابية عن طريق منع تكوين السيتوكينات المنشطة للالتهابات بمستقبلات TLR4 [42].



الشكل 13: هيكل Alogliptin.

و- Anagliptin

Anagliptin هو أميد من الأحماض الأمينية وهو مثبط انتقائي وفعال (IC₅₀ = 3.8nM) لـ DPP4 ومتوفر عن طريق الفم تم توفيره في اليابان منذ عام 2012 نظرًا لأن anagliptin لا يستخدم بشكل عام في بلدان أخرى غير اليابان ، لا يوجد سوى عدد قليل من التقارير التي تبحث في تأثيرات anagliptin صيغته الكيميائية هي : C₁₉H₂₅N₇O₂. وبسبب فعاليته قصيرة المدى يجب تناول anagliptin مرتين يوميًا. [43]

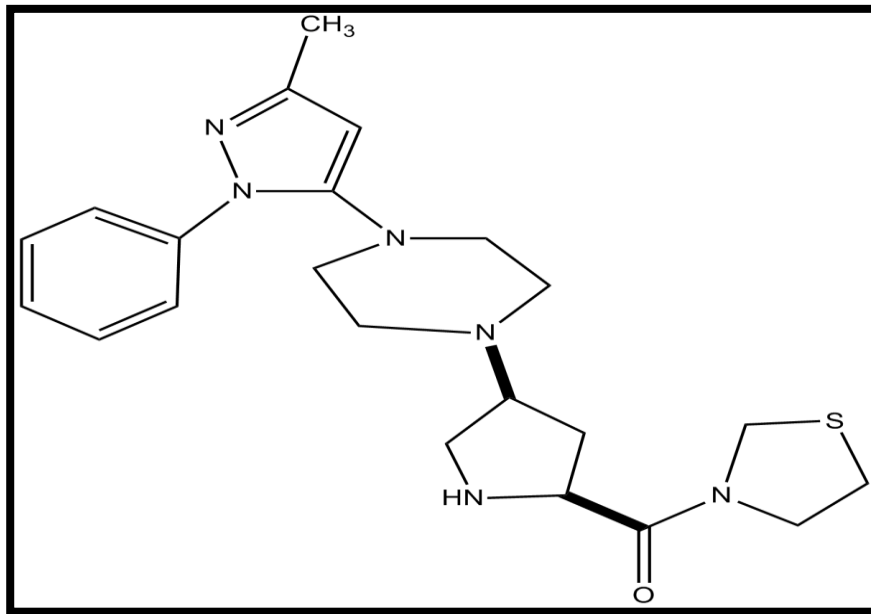


الشكل 14: هيكل Anagliptin.

ي- Teneligliptin

Teneligliptin هو دواء شائع يستخدم لعلاج مرض السكري من النوع الثاني ينتمي الدواء إلى فئة مثبطات DPP4 المعروفة باسم gliptins يمكن استخدام الدواء مع النظام الغذائي و التمارين لتحسين نسبة السكر في الدم لدى البالغين المصابين بداء السكري من النوع الثاني.

يضمن هذا الدواء في مساعدة مراقبة وإدارة مستويات الجلوكوز (glucose) في الدم ، مما يسمح لها بالبقاء ضمن المعدل الطبيعي بغض النظر عن داء السكري من النوع الثاني ، غالبًا ما يستخدم الدواء لعلاج مرض السكري في بداية النضج أو داء السكري أو متلازمة المبيض المتعدد الكيسات أو متلازمة تكيس المبايض. وهو يعمل عن طريق إفراز الأنسولين من البنكرياس وتقليل الهرمونات التي تسبب ارتفاع مستويات السكر في الدم صيغته الكيميائية هي: C₂₂H₃₀N₆OS. [44]



الشكل 15: هيكل Teneligliptin .

4- الخلاصة

تم من خلال هذا الفصل التطرق لإنزيم DPP4 من أجل التعريف به و بنيته خصوصا انه إنزيم متعدد الوظائف و آليات عمله يكتنفها بعض التعقيد حيث أن بعضا من ميكانيزماته لم تحدد حتى الساعة. كما تم التطرق إلى مثبطات هذا الإنزيم فمنذ الموافقة على أول مثبط لإنزيم DPP4 في 17 أكتوبر 2006 تم علاج ملايين المرضى المصابين بمرض السكري النوع الثاني. وعلى الرغم من آليات تفاعله الموسعة والعدد الكبير من ركائزه (substrate) المحتملة، فإن هذه الأدوية تم تحملها جيدا، وأغلبها كان قليل التأثيرات الجانبية، حيث نجحت في تحسين مستويات الجلوكوز في البلازما لدى مرضى السكري من النوع الثاني.

إن فتشيط هذا الإنزيم له أثر طبي كبير ولإثراء هذا المجال بالنسبة لكيمياء الأدوية، تم إنشاء العديد من طرق البحث باستخدام الكمبيوتر. كما تم تطوير هذه الأساليب لمساعدة الكيميائيين الطبيين على فهم التفاعلات، على المستوى الجزيئي حيث تشكل أساس معظم الآليات البيولوجية. من بين التقنيات المستخدمة، يتم استخدام تقنية الالتحام الجزيئي بشكل متزايد، وسيخصص الفصل التالي لعرض هذه التقنية.

المراجع البيبلوغرافية

- 1- <https://www.aljazeera.net/encyclopedia/2016/9/15>
- 2- William E , Nacim A." Dipeptidyl peptidase-4 et Januvia : un duo gagnant contre le diabète de type 2". *l'actualité chimique* (2013): 375-376.
- 3- Devlin, Thomas M., ed. *Textbook of biochemistry with clinical correlations*. John Wiley & Sons, 2010.
- 4- Unson, Cecilia G. "Glucagon and the glucagon receptor: Merrifield years at the interface of chemistry and biology." *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* 13 (2007): 19-27.
- 5- Hamdi, Takoua. *Analyse de l'évolution de la glycémie des patients diabétiques insulinodépendants*. Diss. Université de Toulon; Ecole Nationale des Sciences Informatiques (Tunis), 2019.
- 6- Gaudriot, Adrien. *Les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4 et les analogues du GLP-1 en thérapeutique*. Diss. UNIVERSITE DE LIMOGES, 1988..
- 7- <https://web.archive.org/web/your-doctor.net/article.aspx?id=582>
- 8- Cox, Jason M., et al. "Discovery of 3-aminopiperidines as potent, selective, and orally bioavailable dipeptidyl peptidase IV inhibitors." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 17.16 (2007): 4579-4583.
- 9- Ulmer, A. J., et al. "CD26 Antigen is a surface dipeptidyl peptidase IV (DPPIV) as characterized by monoclonal antibodies clone Til-19-4-7 and 4EL1C7." *Scandinavian journal of immunology* 31.4 (1990): 429-435.
- 10- Boonacker E, Van Noorden C,J." The multifunctional or moonlighting protein CD26/DPPIV". *Eur J. Cell Biol* 82(2003): 53–73.

- 11- Hopsu-Havu, Väinö K., and George G. Glenner. "A new dipeptide naphthylamidase hydrolyzing glycyl-prolyl- β -naphthylamide." *Histochemie* 7 (1966): 197-201.
- 12- Dunaevsky, Yakov E., et al. "Human proline specific peptidases: A comprehensive analysis." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1864.9 (2020): 129636.
- 13- Deacon, Carolyn F. "Physiology and pharmacology of DPP-4 in glucose homeostasis and the treatment of type 2 diabetes." *Frontiers in endocrinology* 10 (2019): 80.
- 14- Klemann, Christian, et al. "Cut to the chase: a review of CD26/dipeptidyl peptidase-4's (DPP4) entanglement in the immune system." *Clinical & Experimental Immunology* 185.1 (2016): 1-21.
- 15- Alaofi, Ahmed L. "Exploring structural dynamics of the MERS-CoV receptor DPP4 and mutant DPP4 receptors." *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 40.2 (2022): 752-763.
- 16- Engel, Michael, et al. "The crystal structure of dipeptidyl peptidase IV (CD26) reveals its functional regulation and enzymatic mechanism." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100.9 (2003): 5063-5068.
- 17- Mulvihill, Erin E., and Daniel J. Drucker. "Pharmacology, physiology, and mechanisms of action of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors." *Endocrine reviews* 35.6 (2014): 992-1019.
- 18- Weihofen, Wilhelm A., et al. "Crystal structure of CD26/dipeptidyl-peptidase IV in complex with adenosine deaminase reveals a highly amphiphilic interface." *Journal of Biological Chemistry* 279.41 (2004): 43330-43335.

- 19- Proença, Carina, et al. "A comprehensive review on the antidiabetic activity of flavonoids targeting PTP1B and DPP-4: a structure-activity relationship analysis." *Critical reviews in food science and nutrition* 62.15 (2022): 4095-4151.
- 20- Chitadze, Guranda, et al. "The Serine Protease CD26/DPP4 in Non-Transformed and Malignant T Cells." *Cancers* 13.23 (2021): 5947.
- 21- Song, Wenfei, et al. "Identification of residues on human receptor DPP4 critical for MERS-CoV binding and entry." *Virology* 471 (2014): 49-53.
- 22- Hsieh, Feng Chia, Sheng Kuo Hsieh, and Tzyy Rong Jinn. "Characterization and evaluation of the activity of dipeptidyl peptidase IV from the black-bellied hornet *Vespa basalis*." *International Journal of Chemical and Molecular Engineering* 6.5 (2012): 398-401.
- 23- Hiramatsu, Hajime, et al. "The structure and function of human dipeptidyl peptidase IV, possessing a unique eight-bladed β -propeller fold." *Biochemical and biophysical research communications* 302.4 (2003): 849-854.
- 24- Aertgeerts, Kathleen, et al. "Crystal structure of human dipeptidyl peptidase IV in complex with a decapeptide reveals details on substrate specificity and tetrahedral intermediate formation." *Protein Science* 13.2 (2004): 412-421.
- 25- Sebastián-Martín, Alba, et al. "Role of Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP4) on COVID-19 Physiopathology." *Biomedicines* 10.8 (2022): 2026.
- 26- Gong, Quan, Sanjay Rajagopalan, and Jixin Zhong. "Dpp4 inhibition as a therapeutic strategy in cardiometabolic disease: Incretin-dependent and-independent function." *International Journal of Cardiology* 197 (2015): 170-179.

- 27- Maslov, Ivan O., et al. "Design, Synthesis and Biological Evaluation of Neogliptin, a Novel 2-Azabicyclo [2.2. 1] heptane-Based Inhibitor of Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4)." *Pharmaceuticals* 15.3 (2022): 273.
- 28- Mulvihill, Erin E., and Daniel J. Drucker. "Pharmacology, physiology, and mechanisms of action of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors." *Endocrine reviews* 35.6 (2014): 992-1019.
- 29- Sebastián-Martín, Alba, et al. "Role of Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP4) on COVID-19 Physiopathology." *Biomedicines* 10.8 (2022): 2026.
- 30- Škárka, Bohumil. "Biochémia (in Slovak)". *Bratislava Alfa* (1992): 360- 688.
- 31- Bušek, Petr, Radek Malík, and Aleksi Šedo. "Dipeptidyl peptidase IV activity and/or structure homologues (DASH) and their substrates in cancer." *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 36.3 (2004): 408-421.
- 32- Hiramatsu, Hajime, et al. "Crystallization and preliminary X-ray study of human dipeptidyl peptidase IV (DPPIV)." *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography* 59.3 (2003): 595-596.
- 33- Tereshchenkova, Valeriia F., et al. "Dipeptidyl peptidase 4—An important digestive peptidase in *Tenebrio molitor* larvae." *Insect biochemistry and molecular biology* 76 (2016): 38-48.
- 34- Ohnuma, Kei, et al. "Caveolin-1 triggers T-cell activation via CD26 in association with CARMA1." *Journal of Biological Chemistry* 282.13 (2007): 10117-10131.
- 35- Torimoto, Y. O. S. H. I. H. I. R. O., et al. "Coassociation of CD26 (dipeptidyl peptidase IV) with CD45 on the surface of human T lymphocytes." *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 147.8 (1991): 2514-2517.

- 36- Lu, I-Lin, et al. "A three-dimensional pharmacophore model for dipeptidyl peptidase IV inhibitors." *European journal of medicinal chemistry* 43.8 (2008): 1603-1611.
- 37- Peters, Jens-Uwe. "11 years of cyanopyrrolidines as DPP-IV inhibitors." *Current topics in medicinal chemistry* 7.6 (2007): 579-595.
- 38- <https://dbpedia.org/page/Sitagliptin>
- 39- <https://www.just-medical.ch>
- 40- Maud C." Les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-IV (DPP-IV) ". *thèse de doctorat Sciences pharmaceutiques* 90(2013).
- 41- <https://www.boehringerelheim.ca/sites/ca/files/documents/trajentapmfr>.
- 42- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Alogliptin>
- 43- Furuta, Shinji, et al. "Pharmacokinetics and metabolism of [14C] anagliptin, a novel dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, in humans." *Xenobiotica* 43.5 (2013): 432-442.
- 44- <https://www.medicoverhospitals.in/ar/medicine/teneligliptin>

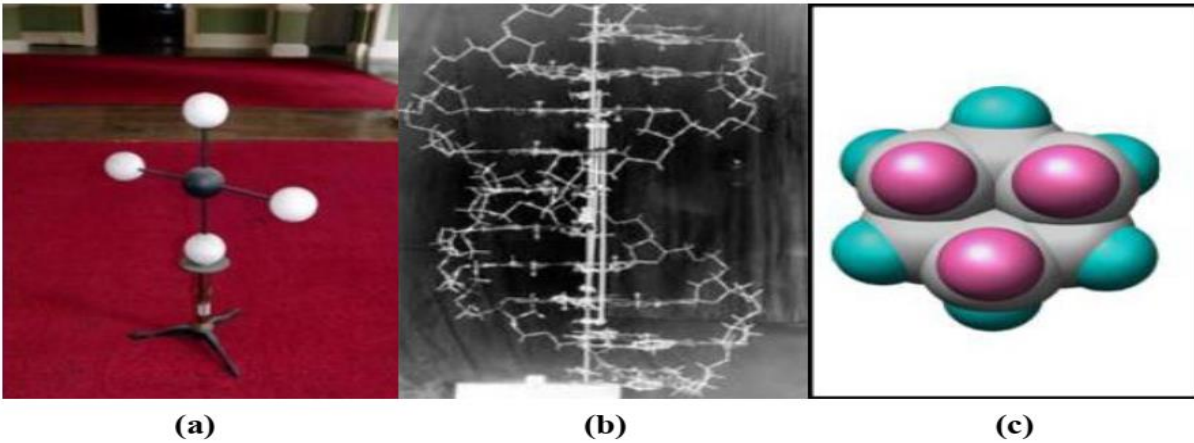
الفصل الثاني:

تقنية الالتحام الجزيئي

1- مقدمة

تم التأسيس لنظرية البنية الجزيئية (Structure Molecular Theory of The) في فترة الستينات من القرن التاسع عشر، التي اعتبرت بنية المركبات العضوية نظام مكون من الذرات والروابط، ووصفت التفاعل بين الذرات وكذلك العلاقة بين بنية مركب وخصائصه الفيزيوكيماوية، فكان هذا التمثيل للبنى الكيميائية أولى أشكال النمذجة الجزيئية. أما الاستخدام المادي الأولي للنمذجة الجزيئية المادية في الكيمياء العضوية كان في عام 1865 من قبل Hofmann Wilhelm (شكل-1-a)، حيث استخدم كرات متصلة بعضي من الميثان، الكلوروفور ومركبات كربونية أخرى. و في عام 1874 تأسس مفهوم البنية الجزيئية ثلاثية الأبعاد أكثر عبر اقتراح Van't Hoff و Joseph Lebel بأن للكربون شكل هندسي رباعي السطوح. أما في سنة 1953 تم تنفيذ بنية DNA من قبل Crick و Watson (شكل-1-b) [1]

ليتم تحديد أول بنية ذرية لبروتين الميوغلوبين باستخدام علم البلورات والأشعة السينية X-ray (Crystallography) من قبل John Kendrow سنة 1962. بعد ثلاث سنوات من تحديد أول بنية ذرية للبروتين، تم تطوير تقنية Space-Filling Model (شكل-3) وهي طريقة جزيئية ثلاثية الأبعاد حيث يتم تمثيل الذرات بمجال كروي، ويكون نصف قطر الكرات متناسب مع نصف قطر الذرات، كما تتناسب المسافات بين مراكز الكرات مع المسافات بين نوى الذرات. ومنذ عام 1970 كانت بداية استخدام النمذجة الجزيئية الحاسوبية (Computational Molecular Modeling). [2]



الشكل 1: (a) النموذج الأصلي الذي صممه Hofmann لوصف الميثان، **(b)** بنية DNA المصممة من طرف Crick و Watson، **(c)** السيكلوهيكسان C6H12 بتقنية Space-filling Model. [3]

ومع تقدم الأساليب التحليلية المعتمدة على علوم الكمبيوتر فان الكيمياء الحاسوبية أصبحت الآن الأداة الأكثر استعمالاً في الوسط الأكاديمي و في الصناعات الصيدلانية، و هي تعد بديلاً يسمح بالبحث عن

جزيئات بيولوجية علاجية جديدة مع ضمان التوفير في الوقت والتكلفة و الجهد بالمقارنة مع طرق التطوير التقليدية التي تتضمن اصطناع عدد كبير جدا من المركبات الكيميائية ثم انتقاء بعضها، يلي ذلك دراسة لخواصها الحركية الدوائية والسمية، وبعدها الانتقال مع هذه المركبات المنتقاة إلى مراحل الدراسات السريرية، لنصل بنهاية المطاف إلى إصدار مركب واحد يملك الفعالية المطلوبة. وبذلك شكلت النمذجة الجزيئية ثورة حقيقية في عالم تطوير الأدوية.[4]

2- تعريف النمذجة الجزيئية

النمذجة الجزيئية هو المصطلح العام للطرق التي تجعل من الممكن محاكاة سلوك نظام الجزيئات ، و تهدف إلى التنبؤ بهيكل وتفاعل الجزيئات أو أنظمة الجزيئات ، فهي تستغل قوانين الكيمياء والفيزياء و البيولوجيا في برامج الكمبيوتر لتجسيد هياكل و حساب و مقارنة خصائص المركبات الكيميائية الصغيرة و الكبيرة (macromolecule) مثل: البروتينات و الأحماض النووية. [5]

بصورة أخرى هي تطبيق للأساليب النظرية و الطرق الحسابية لحل المشاكل التي لها علاقة بالبنية الجزيئية والتفاعل الكيميائي. و يمكن أن تكون هذه الطرق بسيطة نسبياً وقابلة للاستعمال بسرعة أو على العكس من ذلك يمكن أن تكون معقدة للغاية وتتطلب مئات الساعات من وقت الكمبيوتر . تتضمن النمذجة الجزيئية طرق الحساب النظرية أهمها الميكانيكا الجزيئية ، الديناميكا الجزيئية وميكانيكا الكم من أجل تحديد هندسة ذرات الجزيء بالإضافة إلى طاقة الجزيئات وخصائصها الفيزيائية و الكيميائية يعد الالتحام من بين طرق النمذجة، و تستخدم هذه التقنية نفس مبادئ طرق النمذجة الأخرى إلا أنها تتميز بخصوصية الجمع بين جزيئين أو أكثر في نفس الوقت، مما يجعلها من بين أهم طرق النمذجة الجزيئية لهذا تم تطوير أساليب و خوارزميات مختلفة لتطوير هذه التقنية. [5][6][7][8]

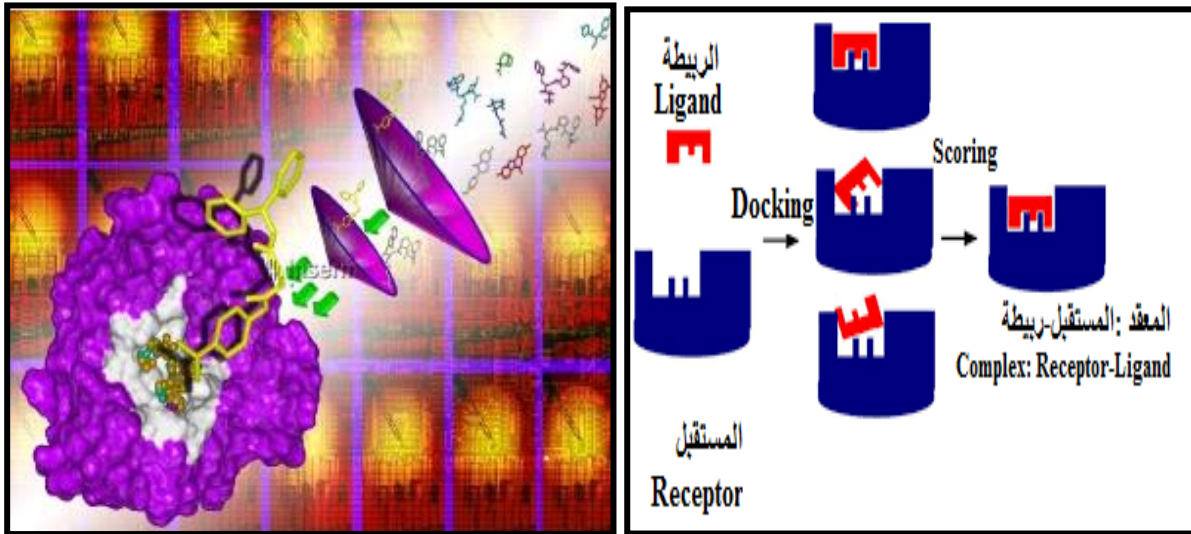
3- الالتحام الجزيئي (molecular docking)

هي تقنية مستخدمة على نطاق واسع في الكيمياء ، علم الأحياء ، الصيدلة والطب ، لقدرة على التنبؤ بأسلوب (أنماط) الربط بين الربيط (ligand) والمستقبل (receptor). يسمح الالتحام الجزيئي بالتنبؤ بالاتجاه المفضل لأحد الجزيئين بالنسبة للثاني عند ارتباطهما ببعضهما لتشكيل معقد. معرفة الاتجاه المفضل تنبؤنا بقوة الاقتران أو ألفة الارتباط بين الجزيئات باستخدام دوال رياضية تدعى بدوال الحرز أو توابع التسجيل. [9]

يتم الالتحام الجزيئي في خطوتين تكمليتين الأول هو البحث عن تركيبات ترابطية قادرة على إنشاء تفاعلات مع المستقبلات والثاني هو وظيفة نتيجة التسجيل التي تسمح بتقييم هذه المطابقة من خلال حساب طاقة تفاعلهم مع هذا المستقبل (شكل 2). [10]

يعد الالتحام الجزيئي أداة رئيسية في البيولوجيا الجزيئية الهيكلية وتصميم الأدوية المبني على البنية نظرا لقدرته على التنبؤ بأسلوب (أنماط) الربط السائد بين الربطة (ligand) والمستقبل (receptor) الذي عادة ما يكون بروتين ذو بنية ثلاثية أبعاد معروفة. ويمكن استخدام الالتحام لإجراء فحص افتراضي (Screening Virtual) على مكتبات كبيرة من المركبات وترتيب نتائج الطاقة ومن ثم اقتراح مركبات جديدة ذات فعالية بيولوجية أحسن من تلك الابتدائية. [11]

تعد الغرلة الافتراضية من أهم الخطوات قبل بدء التجارب المعملية التي تستهلك الوقت والجهد والأموال لاكتشاف وتطوير الأدوية والعقاقير المستخدمة في علاج الأمراض، حيث تسمح بالتنبؤ بفعالية المركبات الكيميائية نحو احد المستقبلات المحملة من بنك البروتينات "PDB".



شكل 2: مبدأ الالتحام الجزيئي. [12] شكل 3: الغرلة الافتراضية باستعمال الالتحام الجزيئي. [13]

3-1- خطوات الالتحام الجزيئي

تتكون عملية الالتحام الجزيئي من تفاعل ربطة (ligand) مع المستقبل عادة ما يكون ذو طبيعة بروتينية تتكون هذه التقنية من أربع خطوات رئيسية :

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

يتم الحصول على هيكل المستقبل بثلاث طرق تحليلية: الرنين المغناطيسي النووي (RMN), الفحص المجهر الإلكتروني وعلم البلورات بالأشعة السينية (RX) هذه الطرق التجريبية تحدد بنية البروتينات أو الإنزيمات. أغلبية هياكل البروتين (3D) تحمل من بنك بيانات البروتين (PDB) في حالة عدم توفر مستقبل معين في هذا البنك الإلكتروني فالحل هو اللجوء إلى طريقة النمذجة بالمقارنة (comparative modelisation). [14] [15]

- الربيط

يتم الحصول على هيكل 3D للربيط باستخدام الطرق التالية:

- تحميلها مباشرة من قواعد البيانات مثل PubChem أو Zinc15 التي تحتوي على أعداد كبيرة جدا من المركبات المحسنة (optimized).
- مرتبطة في المعقدات المحملة من بنك البروتينات و لكن يجب التأكد من صحة بنيتها و في حالة وجود خلل يجب تصحيحها و إعادة تحسينها .
- رسمها و تحسينها حيث هناك برامج مخصصة لذلك مثل: Gaussian ,HypeChem...الخ.

[16][17]

3-1-2- تحضير الهياكل

لتحضير هياكل كل من الربيط و المستقبل نتبع الخطوات التالية:

- إزالة أي جزيء ماء موجود على سطح البروتين في حالة اختيار الالتحام في عدم وجود الماء.
- التحقق من جميع أجزاء المستقبل المدروس المفقودة والقريبة من الموقع الفعال المعروف.
- التحقق من وجود السلاسل الجانبية المراد نمذجتها, إذا كانت السلسلة الجانبية المفقودة بالقرب من الموقع النشط يجب توجيهها في المكان المناسب لزيادة احتمالات التفاعلات بين الربيط والبروتين.
- التحقق من التصادم الفراغي (clash stérique) بعد إضافة ذرات الهيدروجين المفقودة في كل من البروتين و الربيط.

- التحقق من برتنة الأحماض الأمينية من نوع هيسيتيدين (His) الملامسة للربيطة.
- بمجرد التحقق من صحة هذه الخطوات ، يمكننا إضافة مجموعات الأמיד الناقصة في بعض الأحماض الامينية مثل الجلوتامين (Gln) و الأسباراجين (Asp). [18] [19]

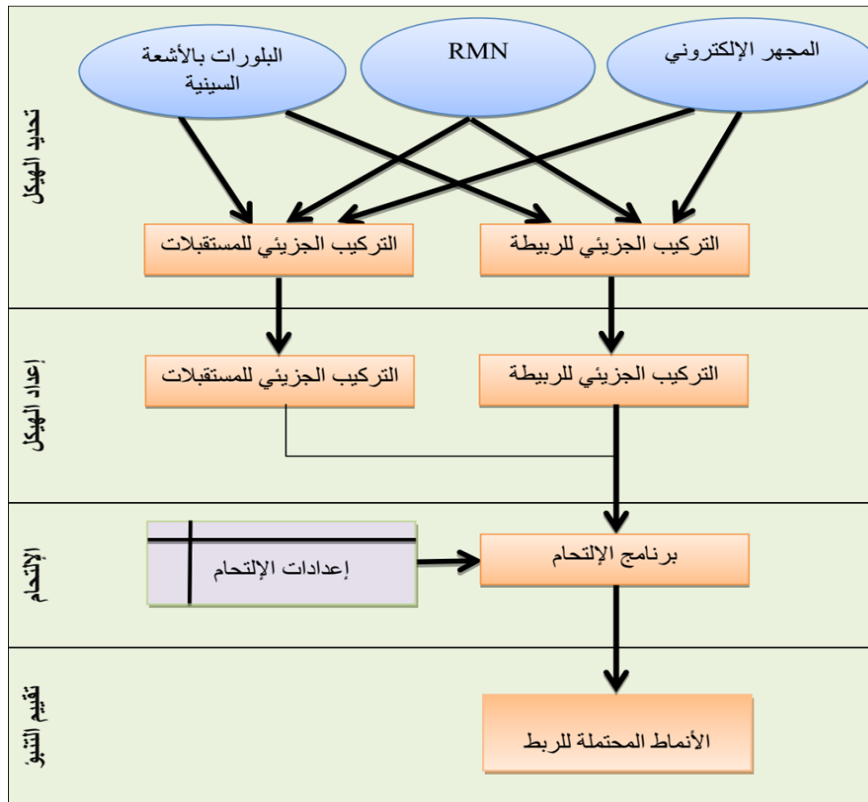
3-1-3- الالتحام الجزيئي

برنامج الالتحام المختار في دراستنا هو "Molegro Virtual Docker". يتميز هذا البرنامج يقدم منصة متكاملة للتنبؤ بتفاعلات الربيطه (ligand) مع البروتين. المميز في هذا البرنامج إدارته لجميع جوانب عملية الالتحام بدءا من تحضير الجزيئات، ثم تحديد مواقع الارتباط المحتملة، إلى غاية التنبؤ بأنماط الربط. [20]

3-1-4- التنبؤ والتقييم

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

و يمكن أن نلخص كامل خطوات الالتحام الجزيئي في المخطط التالي :



الشكل 4: الخطوات الأساسية للالتحام الجزيئي. [18]

3-2- طرق الالتحام الجزيئي

تتمثل أهم مشكلة في مرحلة الالتحام هو التنقل في الفضاء قدر الإمكان تعتمد هذه المشكلة على عدد درجات الحرية، الالتحام الصلب يتضمن فقط ست درجات من حرية الدوران ، و إدخال عامل المرونة يزيد بشكل واضح من عدد درجات الحرية ومساحة البحث و بالتالي تزيد التكلفة الحسابية و بشكل عام يمكن أن يتم الالتحام وفق ثلاثة طرق: [21]

- الالتحام الصلب هو أبسط طريقة مازال يستخدم في كثير من الأحيان لالتحام البروتين - البروتين .
- الالتحام الشبه المرن "غير متمائل" وعادة ما يستخدم لالتحام بروتين – ربيطة تعتبر الربيطة مرنة ويظل البروتين صلبا.
- الالتحام المرن يتعامل مع مرونة الجزيئين. [19]

3-3- مبادئ الالتحام الجزيئي

أهم مشكلة بالنسبة للالتحام الجزيئي هو التنقل في مساحة البحث قدر الإمكان. يعتمد تعقيد هذه المشكلة على عدد درجات الحرية، الإزاحة (translation) ، والدوران (rotation) بالإضافة إلى التموضع الأولي للربيطة (conformation). من أجل تجنب العمليات الحسابية صعبة الحل أو التي حلها يستغرق وقت طويل جدًا ، أجريت العديد من التقديرات التقريبية. يمكن تصنيف خوارزميات البحث الخاصة بمرونة الربيطة إلى ثلاثة مبادئ: التوافقية ، العشوائية ، والاحتمالية. [22]

3-3-1- المبدأ التوافقي

يعتمد هذا المبدأ على شبكات من القيم لكل درجة من درجات الحرية , حيث يتم تقطيع الربيطة إلى أجزاء صلبة ومرنة عند النقاط التي يكون فيها الدوران ممكنا ، أولا يتم وضع الجزء الصلب في التفاعل مع المستقبل ثم يتم إضافة الأجزاء المرنة على التوالي مع تحديد زوايا الالتواء. تكمن صعوبة هذه النظرية في أي من الأجزاء سيتم وضعه للتفاعل مع المستقبل أولا، فالاختيار السيئ يؤثر سلبا على ترتيب الأجزاء. [22]

3-3-2- المبدأ العشوائي

يتضمن المبدأ العشوائي إجراء تغييرات عشوائية في الهيكل ثلاثي البعد للربيطة , عادة ما يتعلق بتعديل درجة الحرية في كل مرة , تعتبر طريقة مونت كارلو هي واحدة من الخوارزميات الرئيسية العشوائية. [23]

3-3-3- المبدأ الحتمي

في المبدأ الحتمي تحدد الحالة الأولية للحركات التي يجب القيام بها , يجب أن تحتوي هذه الحالة على طاقة مساوية أو أقل من طاقة الحالة النهائية, هذا هو المبدأ الأبسط والأكثر مباشرة. فهذا المبدأ هو محاكاة للديناميك الجزيئية , قليلا ما تستخدم هذه الطريقة في الالتحام بسبب عوائق الحدود الطاقوية. [22]

4-3- خوارزميات الالتحام

خوارزمية الالتحام يجب أن تكون قادرة على إنشاء أوضاع الربط المتوقعة لهذا من الضروري أن تكون قادرة على استغلال مساحة التوافق الممكنة بكفاءة شاملة , قدرتها على إيجاد الموقع الصحيح للربط يتم تقييمها عادة باستخدام الجذر التربيعي المتوسط للانحراف (RMSD). انحراف الجذر التربيعي يحسب بين موقع النموذج المصمم بالبرنامج (pose) المعرف بالإحداثيات الديكارتية ($X_{pose}, Y_{pose}, Z_{pose}$) وموقع نموذج البنية البلورية ذو الإحداثيات الديكارتية ($X_{crystal}, Y_{crystal}, Z_{crystal}$), يتم إعطاء قيمة RMSD بالمعادلة التالية: [24][25]

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_{crystal_i} - x_{pose_i})^2 + (y_{crystal_i} - y_{pose_i})^2 + (z_{crystal_i} - z_{pose_i})^2} \text{Eq. 1}$$

من بين خوارزميات البحث الأكثر استخداما:

3-4-1- طرق مونت كارلو Monte-Car

تحتل طريقة مونت كارلو مكانة خاصة في تاريخ النمذجة الجزيئية لأنها كانت التقنية المستخدمة لإجراء أول محاكاة حاسوبية لنظام جزيئي, العديد من الخوارزميات تستخدم هذه الطريقة لاحتوائها على معالجة عشوائية أو نوع من أخذ العينات العشوائية. تلعب طرق مونت كارلو دورا مهما في الالتحام الجزيئي , ومن بين البرامج التي تستخدم فيها طرق مونت كارلو هي: Auto Dock و Pro Dock و ICM و Affinity و QXP و Dock Vision و MCDOCK. [26] [27]

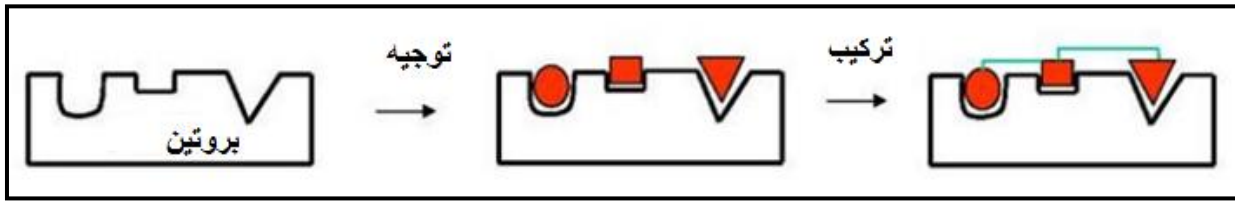
3-4-2- الخوارزميات الوراثية

تعد الخوارزميات الوراثية والبرمجة التطورية مناسبة تماما لحل مشكلات الالتحام نظراً لفائدتها في حل مشكلات التحسين المعقدة , الفكرة الأساسية للخوارزميات الوراثية هي تطوير مجموعة من الحلول

الممكنة من خلال العوامل الوراثية (الطفرات) , من بين البرامج التي تستخدم هذا النوع من الخوارزميات نذكر: DARWIN و DIVALI و Auto Dock و GOLD. [26] [27]

3-4-3- الطرق المعتمدة على الأجزاء

مبدأ الطرق المعتمدة على الأجزاء هو تقسيم الرابطة إلى أجزاء منفصلة ، وتطبيق الالتحام على الأجزاء ثم ربط كل هذه الأجزاء , تتطلب هذه الطرق أهمية لمجموعات الوظيفية المختلفة في الترابط ، لأن الاختيار الجيد للجزء الأساسي ضروري لهذه الطرق.



الشكل 5: يمثل رسم تخطيطي الالتحام بطرق الأجزاء

بعض البرامج المعروفة التي تعتمد على طرق الأجزاء هي Flex و DOCK. [26][27]

3-4-4- طرق النقاط التكميلية

تعتمد هذه الطرق على تقييم التكامل الكيميائي بين الجزيئات المتفاعلة, عادة ما يتم نمذجة الجزيئات المتفاعلة بطريقة بسيطة، على سبيل المثال باستخدام الكرات أو المكعبات كذرات, بعدها تخضع الرابطة للتدوير والإزاحة للحصول على أقصى عدد من التوضع المتكامل بين أسطح الرابطة والبروتين. بعض الأمثلة على البرامج التي تستخدم طرقا تكميلية للنقاط: FTDOCK و SANDOCK و FLAG. [26]

[27]

3-4-5- طريقة البحث Tabu

تعتمد هذه الطرق على المعالجة العشوائية ، حيث يتم إنشاء حالات جديدة بشكل عشوائي من الحالة الأولية (يشار إليها باسم الحل الحالي) يتم بعد ذلك تصنيف هذه الحلول الجديدة بترتيب تصاعدي , يتم اختيار الحل الأفضل باعتباره الحل الحالي الجديد ، ثم يتم تكرار نفس المعالجة للتأكد من تنوع الحل الحالي, مثال على خوارزمية الالتحام التي تستخدم في بحث Tabu هو PROLEADS. [26] [27]

6-4-3- عمليات البحث المنتظمة

تعتمد هذه الطرق على جميع المطابقات الممكنة وتقدم حلول قوية لمشاكل الالتحام, عادة تعتبر جميع الجزيئات أنها صلبة و يتم تقدير طاقة التفاعل باستخدام حقل القوى. [26] [27]

5-3- توابع التسجيل دوال الحرز

تعد خوارزمية البحث Search algorithm و توابع التسجيل (Scoring functions) عنصرين مهمين لتحديد التداخلات بروتين- ربيطة. تعد خوارزمية البحث مسؤولة عن البحث عن التوضعات المختلفة للربيطه ضمن البروتين المستقبل، بينما تقوم توابع التسجيل بتقدير ألفة التوضعات التي تم توليدها، تصنيفها، وتحديد أنماط الارتباط مستقبل-ربيطه الأكثر ملائمة. ينبغي أن تكون خوارزمية البحث المثالية سريعة وفعالة، ويجب أن تكون توابع التسجيل قادرة على تحديد الخصائص الفيزيوكيميائية للجزيئات.

[4]

وظائف التسجيل تقيم نتائج البحث وتقوم بتعيين أفضل طاقة للتشكيل الصحيح للارتباط, لذا فإن دورها مهم جدا في أي بروتوكول التحام. وهي عبارة عن دالة عددية لتحديد الدرجة التي يكون بها الترابط بين المستقبل و الربيطه (receptor - ligand) بشكل عام هي تقدير تقريبي للطاقة الحرة الناتجة عن انتقال كل من البروتين و الربيطه من الشكل الحر إلى الشكل المرتبط باعتماد مبدأ الديناميكا الحرارية:

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

يمكن حساب الألفة الكيميائية باستعمال طاقة جيبس الحرة ΔG_1 عند درجة حرارة T.

$$\Delta G_1 = -RT \ln K_{eq} \quad \text{Eq. 3}$$

حيث: R هو ثابت الغاز المثالي و Keq هو ثابت التوازن.

تقدير الألفة الكيميائية بين المستقبل و الربيطه يعتمد عموما على حساب قيمة الطاقة الذي يحتوي على الكثير من التقريبات، لهذا السبب نجد العديد من وظائف التسجيل التي تختلف على حسب البرنامج

المستخدم. [28]

هذه الوظائف أو الدوال تصنف بصفة عامة إلى أربع عائلات :

3-5-1- الدالة المعتمدة على أساس حقل القوى (Champs des forces)

هي دالة رياضية معتمدة على أساس حقل القوى (Force field) تحسب كل من الطاقة اللازمة لتشكيل المعقد مستقبلي- ربيطة والطاقة الداخلية للربيطة (G-Score) باستخدام الميكانيكا الجزيئية، يعبر هذا النوع من الدوال على الروابط من نوع فاندر فالز (Vander Waals) والكهروستاتيكية (electrostatique). من بين أهم نقائص هذا النوع من الدوال أنه يقتصر على نماذج الطور الغازي و بالتالي لا يأخذ بعين الاعتبار على تأثير الذوبانية. [29] [30] [31]

3-5-2 دوال التسجيل التجريبية (Empirica scoring functions)

يعتمد هذا النوع من الدوال على الانحدار المتعدد (multiple regression) لضبط معاملاتها وفقا للنظام الفيزيائي المدروس. هذا الضبط يكون انطلاقا من المعطيات أو البيانات الخاصة بالمعقد مستقبلي- ربيطة و المحددة تجريبيا حيث تحول هذه المعلومات إلى Parameters. عادة ما تبين هذه الدوال الروابط الأيونية والجسور الهيدروجينية والتفاعلات الكارهة للماء والتفاعلات الناتجة عن تغير الأنتروبيا تستخدم معظم برامج الالتحام هذا النوع من الدوال نظرا لكفاءتها من حيث السرعة والدقة. [32] [33]

3-5-3 دوال المستندة على البيانات (knowledge-based scoring functions)

تستند إلى التحليل الإحصائي المستمد من بنى مستقبل- ربيطة المحددة تجريبيا. حيث يتم تحليل الهياكل ثلاثية الأبعاد (3D) للمعقد بروتين- ربيطة المحددة تجريبياً عن طريق إنشاء قواعد تسمح بتحديد هندسة الروابط اعتمادا على الوسائل الإحصائية , هذا النوع من الدوال الإحصائية يمكنه فقط نمذجة الروابط المعرفة في قواعد بياناتها التجريبية, و هي تتميز بقدرة التنبأ الأفضل لأنماط الارتباط بين المستقبل و الربيطة مقارنة بالدوال الأخرى, و كان لها نسبة نجاح في الكثير من دراسات الالتحام لمستقبلات بروتينية. [34]

3-5-4 - دوال الجمع (Consensus based scoring function)

تستخدم هذه الدوال بهدف الجمع بين توابع التسجيل هي الجمع بين المعلومات التي تم الحصول عليها من طرف الدوال الأخرى المختلفة , وقد أظهرت العديد من الدراسات تحسن الطاقة الحرة للمعقدات (بروتين- ربيطة) باعتماد طريقة جمع الدوال مقارنة باستخدام الدوال بشكل فردي. مثال على هذا النوع نجد دالة X-CSCORE4 التي تجمع بين دالتي PMF و Chem Score. [35][36] [37] [38] [39]

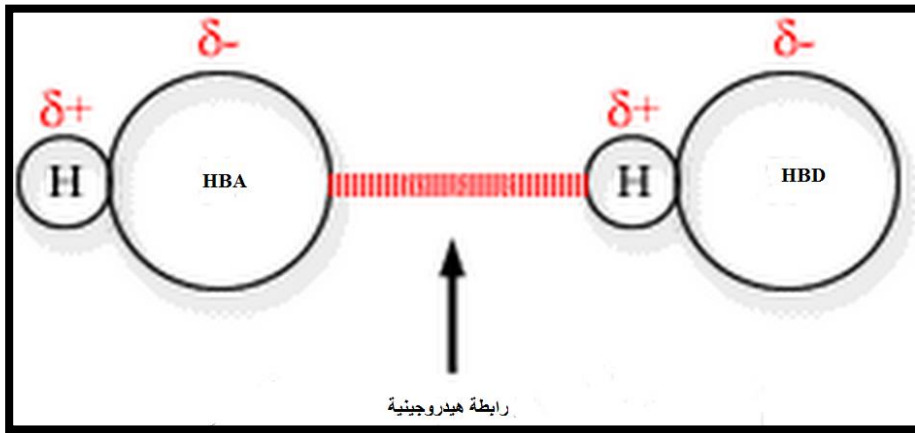
6-3- تفاعل بروتين - ربيطة

1-6-3- الروابط الهيدروجينية (Hydrogen Bonds)

الروابط الهيدروجينية هي إحدى أنواع الروابط الكيميائية الضعيفة نسبياً، أضعف من الروابط التساهمية والأيونية، ولكن تميل إلى أن تكون أقوى من قوى فاندر فالس، وتشكل نوعاً خاصاً من تجاذب القوى ثنائية القطب، هي الأكثر تقييداً من الناحية الهندسية بسبب قصر المسافة تنشأ الرابطة الهيدروجينية كهربائياً بين ذرة الهيدروجين مرتبطة تساهمياً بذرة سالبة الشحنة (N, S, O) و ذرة ثانية سالبة الشحنة تمتلك زوجاً غير مشترك من الإلكترونات (مستقبل)، طاقتها 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 وأحياناً C-H.

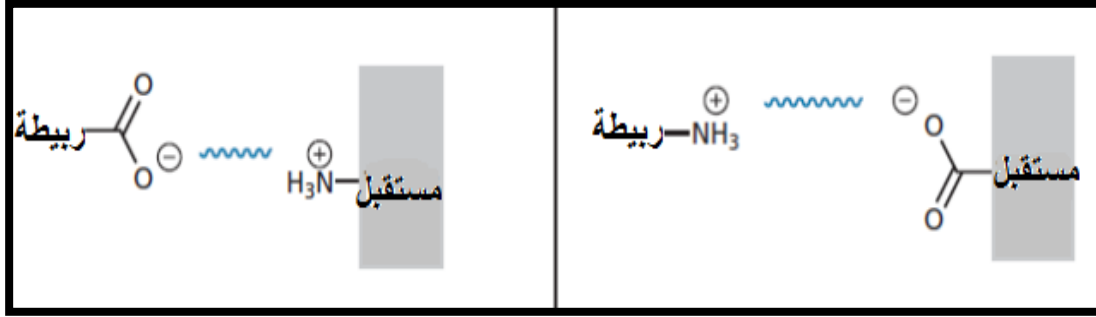
- المجموعات المستقبلة تدعى HBA (acceptor bond hydrogen) أي المجموعة المستقبلة للرابطة الهيدروجينية يجب أن تكون حاملة لزوج إلكترونات حر: P، S، Cl، N، O، F و بعض الأيونات السالبة. يمكن أن تتصرف بعض المجموعات الوظيفية كمجموعات مانحة أو مستقبلة للرابطة الهيدروجينية على حد سواء مثل (OH، NH₂). [40]



شكل 6: تشكل الروابط الهيدروجينية.

2-6-3- الروابط الأيونية (Electrostatic or ionic bonds)

أما الروابط الأيونية هي نوع من الروابط تنتج عن التجاذب الإلكهروستاتيكي بين المجموعات الوظيفية ذات الشحنات المتعاكسة (شكل 7) مثال: الرابطة بين شاردة الكربوكسيلات (COO⁻) و شاردة الأمونيوم (NH₄⁺)، طاقتها تقدر بين 40-20 كيلو جول. مول⁻¹. [19]



شكل 7: تشكل الرابطة الأيونية.

وتخضع التفاعلات بين الجسيمات التي تحمل الشحنات الكهربائية لقانون كولوم . يتم الحصول على طاقة التفاعل الكامنة لشحنتين كهربائيتين Q_1 و Q_2 مفصولة بمسافة d عن طريق حساب العمل المطلوبة لفصل هاتين الشحنتين على مسافة غير محدودة (شكل 8) المعادلة 4 تمثل الطاقة الكامنة (V) لجزيئين بشحنات مختلفة. [19]

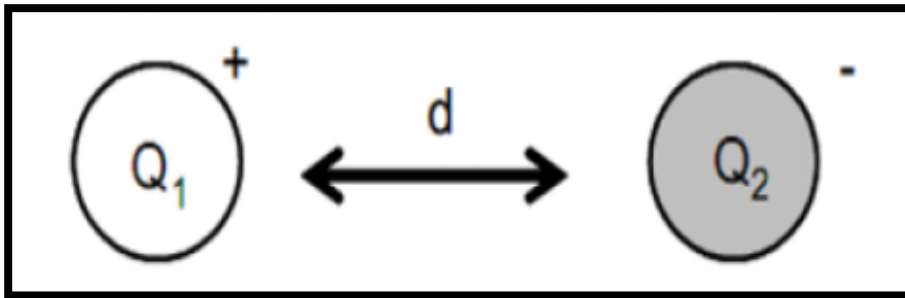
$$V = \frac{Q_1 Q_2}{4\pi\epsilon\epsilon_0 d} \quad Eq. 4$$

حيث أن:

ϵ_0 : سماحية الفضاء

ϵ : سماحية الوسط الذي تتطور فيه الشحنات

d : المسافة بين الشحنتين



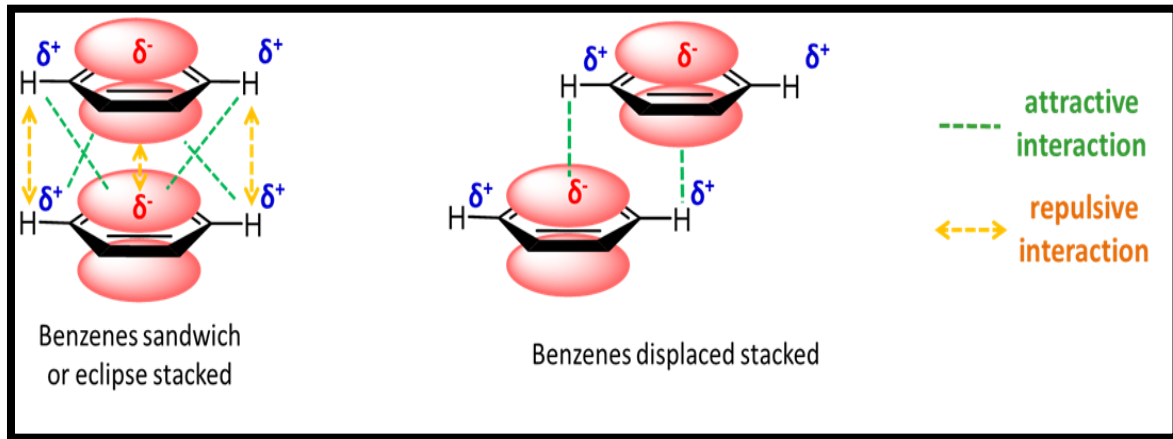
الشكل 8: التفاعل بين جزيئين من شحنة مختلفة.

3-6-3- التفاعلات الكارهة للماء

تميل الجزيئات غير القطبية وضعيفة الاستقطاب إلى التجمع معا ،مما يؤدي إلى تكوين قوة الرابطة الكارهة للماء، فالأحماض الأمينية التي يكون جذرها كاره للماء (Apolar) لها خاصية منع تكوين روابط

هيدروجينية بين جزيئات الماء تتشكل في بنية مناطق البروتينات الكارهة للماء حيث لا تستطيع جزيئات الماء تبادل أي روابط مع جذور الأحماض الأمينية. [41]

كما يظهر هذا النوع من التفاعل بين مركز حلقة و ذرات عطرية من حلقة أخرى وتسمى التفاعلات الكارهة للماء من نوع ($\pi-\pi$) وهذا النوع هو الأكثر شيوعا (شكل 9). هذه التفاعلات بشكل عام كروية بنصف قطر (4 \AA) وتغطي معظم الترابط . من أجل وضع الربطة في الموقع النشط للبروتين تتم التفاعلات باستخدام الهيدروجين أولاً ثم الروابط الكارهة للماء. [42] [22] [43] [44]



الشكل 9: الروابط الكارهة للماء من نوع ($\pi-\pi$).

3-6-4- تفاعلات فان دير فالز (Van der Waals interactions)

تنسب هذه القوى إلى العالم الهولندي جوهانس ديدريك فان دير فالز (Johannes Diderik van der Waals) تتعلق هذه الطاقة بالذرات غير المرتبطة فيما بينها وغير مرتبطة بذرة مشتركة، وهي تتركب من جزئين ، واحد دافع والآخر جاذب ونستطيع التعبير عنها بالمعادلة التالية :

$$E(\text{vdw}) = \epsilon * [- C1(r^*/r)^6 + C2 \exp(-C3(r/r^*))]$$

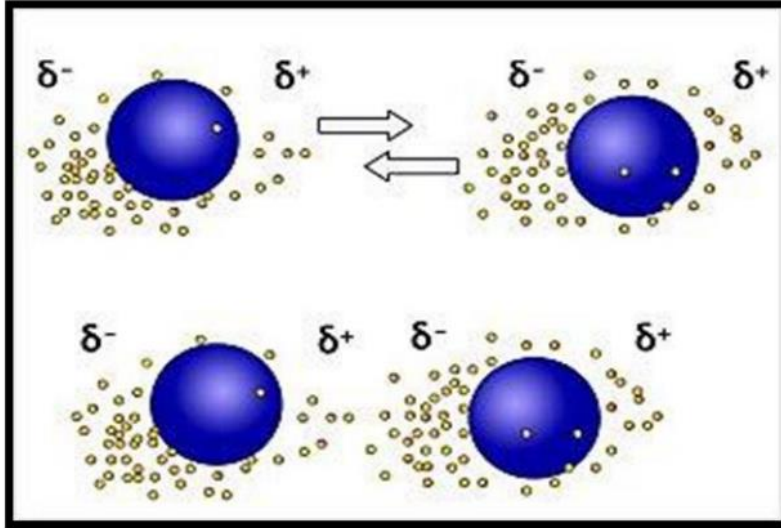
ϵ * : ثابت متحول للطاقة ويسمى أيضا ثابت الصلابة

r^* : مجموع الأشعة لفان دير فالز للذرات المتفاعلة فيما بينها

r : المسافة المشتركة بين الذرات

$C1, C2, C3$: ثوابت الحقل. [45]

و هي عبارة عن روابط ضعيفة تبلغ طاقتها بين 2 و 4 كيلو جول.مول⁻¹, تنشأ هذه الروابط بين المناطق غير القطبية لمختلف الجزيئات نتيجة التوزع الإلكتروني غير المتناظر في الجزيئات اللاقطبية المعتدلة الشحنة حيث تتواجد مناطق مرتفعة الكثافة الإلكترونية و مناطق منخفضة الكثافة الإلكترونية مما يؤدي لخلق ثنائيات أقطاب مؤقتة, تحرض ثنائيات الأقطاب المؤقتة المتشكلة ضمن إحدى الجزيئات على تشكيل ثنائي قطب ضمن جزيئة مجاورة مؤدية لنشوء تأثيرات ضعيفة ما بين كلا الجزي. [46]



الشكل 10: تفاعلات فان دير فالز.

7-3- البرامج المستخدمة في الالتحام

الهدف الرئيسي من الالتحام الجزيئي هو التنبؤ بالتشكيل (الموضع والتوجه النسبي) الأكثر تفضيلاً للربطة داخل المستقبل. بدأ في بداية الثمانينيات و تطور هذا المجال ليصبح اليوم أداة أساسية في البحث عن المنتجات النشطة بيولوجيا , في الوقت الحالي يوجد أكثر من 30 برنامجاً للالتحام الجزيئي و الأكثر شيوعاً : DOCK , Virtual Molegro Docker (MVD) ,GOLD , Auto Dock , Flex و نلخص برامج الالتحام الجزيئي الرئيسية في الجدول التالي: [22][47]

الجدول 1. أهم برامج الالتحام الجزيئي.

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

1-7-3- برنامج Auto Dock

يستخدم Auto Dock طرق Monte Carlo وخوارزمية Lamarckian Genetic Algorithm (LGA) لإنشاء مجموعة من المطابقات الممكنة. يتم تقييم التوجهات المحتملة من خلال نموذج مجال قوة [48]. AMBER

2-7-3- برنامج DOCK

يعد DOCK واحدا من أقدم وأشهر برامج الالتحام (بروتين - ربيطة)، يعتمد DOCK على طريقة الأجزاء وتكامل الشكل لإنشاء اتجاهات محتملة للربيطة، يمكن تسجيل هذه الاتجاهات باستخدام ثلاث توابع تسجيل مختلفة، ولكن لا يحتوي أي منها على شروط الروابط الهيدروجينية أو الروابط الكارهة للماء. [49]

3-7-3- برنامج Flex

هي طريقة أخرى تعتمد على الأجزاء باستخدام روابط مرنة و بروتينات صلبة و تستخدم قاعدة بيانات زاوية الالتواء الخاصة بـMIMU لإنشاء التشكل MIMUMBA وهي قاعدة بيانات تفاعلية هندسية تستخدم لوصف أشكال التفاعل بين الجزيئات بدقة.

يتم خلال هذا البرنامج تطبيق وظيفة Boehm مع التعديلات الطفيفة اللازمة للالتحام, على الرغم من أن كل من برنامج Flex و DOCK يعتمد أسلوبهما على الأجزاء، إلا أنهما ينتجان نتائج مختلفة جدا. يتصرف برنامج DOCK بشكل جيد مع مواقع الربط apolar من ناحية أخرى يُظهر Flex سلوكا معاكسا تماما. [42]

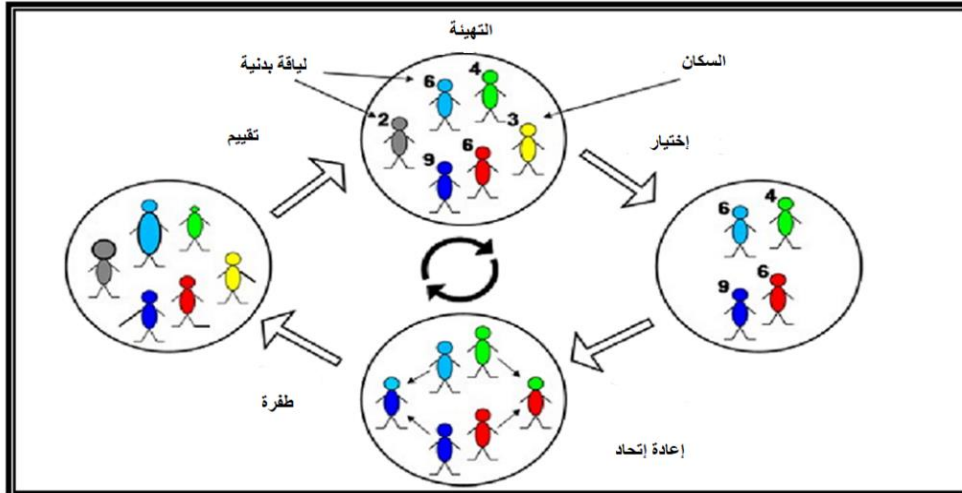
3-7-4- برنامج GOLD

اكتسب GOLD شعبية كبيرة بين المستخدمين في السنوات الأخيرة بسبب نتائجه الجيدة. بشكل عام لديه معدل نجاح جيد لكنه يجد صعوبة في معالجة جيوب الروابط الكارهة للماء يستخدم GOLD الخوارزمية الوراثية لتوفير التحام مرن للربطة و البروتين , ويعتبر البروتين صلبا. [50]

3-7-5- Molegro Virtual Docker (MVD)

يعد Virtual Molegro Docker (MVD) برنامجًا قويًا يسمح بالتنبؤ بتفاعلات الإنزيم- ربيطة ينفذ تلقائيا جميع مراحل العملية. MVD يوفر التهاما عالي الجودة و يستخدم تقنية تحسين تعتمد على ربح الوقت والإنتاجية. تعتمد وظيفة التسجيل لهذا البرنامج MolDock على خوارزمية بحث إرشادية جديدة الذي يجمع بين التطور التفاضلي وخوارزمية التنبؤ بالتجويف.

الخوارزميات التطورية (Evolutionary Algorithms) هي طرق تحسين عامة و تكرارية إلا إنها تستند إلى عملية تكيفية مماثلة للتطور الطبيعي. هذه الطرق قادرة على إدارة العديد من الحلول في وقت واحد.



الشكل 11: تمثيل تخطيطي لدورة الخوارزميات التطورية. [51]

الفكرة الأساسية من خوارزمية البحث التطورية معتمدة على 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 و اختيار الأفراد الأفضل التي يمكنها التكاثر ومن ثم حذف الأفراد الأضعف من المجتمع. عملية التطور (evolution) تبدأ عادة من اختيار الكروموسومات (population) بشكل عشوائي وهذا ما يحدث في الأجيال الأخرى، في كل جيل يتم حساب وظيفة التسجيل (fitness function) لكل الكروموسومات بشكل منفرد من أجل اختيار أفضلها ومن ثم عمل تهجين (دمج) وأيضا عمل طفرة، هذه الخوارزمية تتوقف عندما نصل إلى أكبر عدد من الأجيال تم إنتاجها أو الوصول إلى أفضل حل من خلال دالة التسجيل. [50] [52] [53]

4- خصائص ADME-Tox

ADME هو عبارة عن اختصار مهم في الحركيات الدوائية وعلم الأدوية، يرمز لـ: "الامتصاص A (absorption)، و التوزيع D (distribution)، و الاستقلاب M (metabolism)، و الإخراج E (excretion). أما Tox يقصد بها السمية.

يجمع هذا الاختصار المراحل التي يمر بها المركب الدوائي في الكائن الحي. وتؤثر كل من هذه المعايير الأربعة بمستويات الدواء في الجسم وحركيات وصوله للأنسجة، فتؤثر بذلك على أدائه وفعالته الدوائية. هذه هي الخصائص التي تصف التخلص من الجزيء النشط بيولوجيا في الكائن، أصبحت تقنية-ToxADME شائعة و مستخدمة كثيرا في المسح الافتراضي باستنادها على تحديد الخصائص الدوائية

للجزيئات وتستخدم حالياً على نطاق واسع لتقليل عدد المركبات في المكتبات الكيميائية عن طريق اختيار الأنسب, حيث أعطت هذه الطريقة نتائج جيدة للغاية. [54]

4-1- الامتصاص

يعتمد الامتصاص على الخصائص الفيزيائية والكيميائية للدواء: المحبة للماء، وألفة الدهون وحجم جزيء, قبل أي امتصاص غالباً ما يكون من الضروري إفراز المادة الفعالة من شكل الجالينيك: إذابة القرص أو غلاف الكبسولة.

حتى يصل مركب ما للأنسجة فعادة ما يجب أن يصل أولاً للمجرى الدموي قبل أن يصل إلى الخلية المستهدفة (غالبية الأدوية مصنعة لتصل للدم عن طريق طبقة مخاطية مثل الموجودة في السبيل الهضمي (الامتصاص المعوي), فلامتصاص الدواء تأثير حاسم في تحديد توافره الحيوي. لذلك فإن الأدوية ذات الامتصاص الضعيف بالطريق الهضمي تعطى عادةً بطريق آخر أقل تفضيلاً، مثل الحقن الوريدي أو عن طريق الاستنشاق كما في دواء (زاناميفير zanamivir). ويحظى طريق الإعطاء للدواء بأهمية كبيرة.

لكن يمكن لكثير من العوامل أن تنقص معدل امتصاص الدواء بعد الإعطاء الفموي، مثل ضعف انحلالية المركب وزمن التفريغ في السبيل الهضمي ووقت العبور المعوي وعدم الثبات الكيميائي في المعدة وعدم القدرة على اختراق جدار الأمعاء. [55]

4-2- التوزيع

تعبر هذه الخاصية على انتشار الدواء في أنسجة الأعضاء المختلفة على سبيل المثال تدفق الدم عبر الجسم، يجب أن يكون الجزيء قادراً على الانتقال حتى تتمكن من الوصول بشكل جيد إلى الموقع المستهدف. تؤثر بعض العوامل على هذه العملية، ومن ضمنها معدل التدفق الدموي المنطقي والحجم الجزيئي للمادة الفعالة و قطبيتها والارتباط بالبروتينات المصلية وتشكيل معقد ما مع جزيئة أخرى. كما قد يشكل التوزع مشكلة كبيرة بسبب وجود بعض الحواجز الطبيعية في الجسم مثل الحاجز الدموي الدماغي BBB. [56]

4-3- الاستقلاب الغذائي

عند وصول الأدوية إلى الدورة الدموية سيتم توزيعها في الجسم , يتوافق التوزيع مع انتشار الدواء في أنسجة الجسم المختلفة و يتأثر بدرجة قابلية المادة الفعالة للدهون و بتقاربها مع الأنسجة المختلفة (العظام، الأنسجة الدهنية ... إلخ).

يبدأ تحطم المركبات الدوائية حال دخولها الجسم. لكن تحصل غالبية عمليات الاستقلاب للجزيئات الدوائية الصغيرة في الكبد عن طريق أنزيمات الأكسدة والاختزال، والتي تسمى بأنزيمات السيتوكروم ب 450 (cytochrome P450). [57]

حالما يحدث الاستقلاب يتحول المركب الأساسي (المركب الأم) إلى مركبات جديدة تدعى مستقلبات. فعندما تصبح المستقلبات خاملة دوائياً يكون الاستقلاب قد أنهى إلغاء فعالية الجرعة المعطاة للدواء الأم، مما ينقص عادة تأثيراته على الجسم؛ لكن وفي بعض الحالات تكون المستقلبات فعالة دوائياً، وأحياناً تكون أكثر فعالية من المركب الأم. [57]

4-4- الإفراز (إزالة أو طرح)

يوجد في الجسم مواقع رئيسية يحدث فيها إخراج الدواء وهي:

- الكلى عن طريق البول

- الكبد عن طريق الإطراح الصفراوي (الإطراح عن طريق البراز)

- الجهاز التنفسي في هواء الزفير

- الجلد عن طريق العرق

- اللعاب

- حليب الأم. [55]

4-5- التسمم

تستخدم هذه الخاصية لقياس سمية المركب ومكوناته، حيث يحاول الكيميائيون حساب توقع نوعيات التوزع السمي للمركبات من خلال بعض الطرق مثل QSPR (العلاقة الكمية بين الخواص والبنية) أو QSAR (العلاقة الكمية بين الفعالية والبنية)، السمية وعدم فعالية الأدوية المرشحة هما أكبر سببين للفشل في تطوير الأدوية. [58]

5- الخلاصة

تعتبر جميع تقنيات النمذجة الجزيئية مثل الالتحام (Docking) و الفارماكوفور (pharmacophore) (study) و دراسة الحركيات الدوائية (ADME) إضافة إلى تقنية QSAR و QSPR ذات أهمية كبيرة تفيد الباحثين في مجال الكيمياء الصيدلانية و العضوية.

في هذا الفصل قدمنا العناصر الأساسية المتعلقة بفهم منهجية الالتحام الجزيئي باعتباره واحدة من أولى الخطوات في تصميم الأدوية، هذه الطريقة تقدم لنا فرضيات هيكلية حول كيفية تفاعل جزيء صغير ذو بنية معروفة وتوضع مجهول مع مستقبل، حيث ان الدراسات أظهرت أن بعض خوارزميات الالتحام أكثر موثوقية من غيرها في إعادة إنتاج نمط الربط التجريبي للروابط كما أنها تختلف على حسب البرنامج المستخدم.

في الفصل الموالي سنقوم بتطبيق هذه التقنية مع استعمال برنامج (MVD) لدراسة تفاعلات إنزيم - ربيطة في حالة مثبطات إنزيم DPP4 بهدف وصف آليات التفاعل وتطوير مثبطات جديدة (in silico).

المراجع البيولوجرافية

- 1- Schlecht, Matthew F. *Molecular Modeling on the PC*. Wiley-VCH, 1998.
- 2- Ramachandran, K. I., Gopakumar Deepa, and Krishnan Namboori. *Computational chemistry and molecular modeling: principles and applications*. Springer Science & Business Media, 2008.
- 3- حسام عبد القادر عبد الغني. "استخدام النمذجة الجزيئية لتصميم مركبات جديدة مثبطة لأنزيمات الكيناز المعتمدة على السيكلين المسببة لنشوء السرطان". مذكرة ماجستير جامعة تشرين. (2017). 24.
- 4- فاتن الشب. "تصميم الأدوية باستخدام النمذجة الجزيئية". *مجلة جامعة المنارة*. 3.1 (2023).
- 5- D'ONOFRIO, S., and Metodologia do Trabalho Intelectual. "Outros Idiomas Optative Disciplines."
- 6- Frenkel, Daan, Berend Smit, and Mark A. Ratner. *Understanding molecular simulation: from algorithms to applications*. Vol. 2. San Diego: Academic press, 1996.
- 7- Santiso, Erik E., and Keith E. Gubbins. "Multi-scale molecular modeling of chemical reactivity." *Molecular Simulation* 30.11-12 (2004): 699-748.
- 8- <https://bioinfo-fr.net/la-modelisation-moleculaire>.
- 9- [http://en.wikipedia.org/wiki/Docking_\(molecular\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Docking_(molecular))
- 10- Bensegueni, Abderrahmane, and Mustapha Bencharif. *Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique*. Diss. Université Frères Mentouri-Constantine 1, 2007.
- 11- Garrett M,M, Margarita L, W." article autour de la modélisation moléculaire, Département de biologie moléculaire". *Scripps Research Institute, La Jolla, Californie, États-Unis* (2008).

12 http://untori2.crihan.fr/unspf/2009_LimogesTrouillasChap4Modeliastion/co/04-1-5-interaction-ligand-recepteur.html.

13- FARIDA, Louacheni. *Développement d'un portail web pour le criblage virtuel sur la grille de calcul*. Diss. 2014.

14- Mendoza-Lara, Daniel F., et al. "In Silico Screening of DrugBank Compounds as Potential Inhibitors for Human Steroid 5 α -Reductase 2 for Androgen-Related Diseases." (2022).

15 - Ballesteros, Juan, and Krzysztof Palczewski. "G protein-coupled receptor drug discovery: implications from the crystal structure of rhodopsin." *Current opinion in drug discovery & development* 4.5 (2001): 561.

16- Zinc15: <https://zinc15.docking.org>

17- PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

18- DU TITRE, PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION. *Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives*. Diss. UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER, 2007.

19- Bouchagra, S. *MODELISATION 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.

20- <https://molegro-virtual-docker.software.informer.com>

21- Baig, Mohammad H., et al. "Computer aided drug design and its application to the development of potential drugs for neurodegenerative disorders." *Current neuropharmacology* 16.6 (2018): 740-748.

- 22- Chikhi, A. *Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase–Substances antibactériennes a l'aide de techniques de "docking"(arrimage) moléculaire*. Diss. Thèse de doctorat d'université: Biochimie appliquée. Constantine: Université Mentouri de Constantine. Algérie. 2007. 90p, 2007.
- 23- Booker, Lashon, et al., eds. *Perspectives on adaptation in natural and artificial systems*. Vol. 8. Oxford University Press on Demand, 2005.
- 24- Vieth, Michal, et al. "Assessing energy functions for flexible docking." *Journal of Computational Chemistry* 19.14 (1998): 1612-1622.
- 25 - Gabb, Henry A., Richard M. Jackson, and Michael JE Sternberg. "Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information." *Journal of molecular biology* 272.1 (1997): 106-120.
- 26- kumar Pandey, Ashish, and Achal Mishra. "A Molecular Docking Study Bring Golden Era in Pharmaceutical Drug Design and Chemical Engineering Process." *Research and Innovations in Chemical Sciences: An Approach towards*: 204.
- 27- Youcef, Mahdjoub. *Développement d'une application distribuée en utilisant la plateforme Jini «Application docking moléculaire»*. Diss. Université mohamed boudiaf des sciences et de la technologie d'oran, 2010.
- 28- Ferrara, Philippe, et al. "Assessing scoring functions for protein– ligand interactions." *Journal of medicinal chemistry* 47.12 (2004): 3032-3047.
- 29- Totrov, Maxim, and Ruben Abagyan. "Flexible protein–ligand docking by global energy optimization in internal coordinates." *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 29.S1 (1997): 215-220.
- 30- Rester U." *Qsar & Combinatorial Science*" 25(2006): 605-615.

- 31- Ferrara, Philippe, et al. "Assessing scoring functions for protein– ligand interactions." *Journal of medicinal chemistry* 47.12 (2004): 3032-3047.
- 32- Lafond, M. "Docking et scoring." *Schrödinger*, (2015).
- 33- Marco, Esther, et al. "Molecular determinants of topoisomerase I poisoning by Lamellarins: Comparison with Camptothecin and structure– activity relationships." *Journal of medicinal chemistry* 48.11 (2005): 3796-3807.
- 34- Schneider, Gisbert, and Hans-Joachim Böhm. "Virtual screening and fast automated docking methods." *Drug discovery today* 7 (2002): 64-70.
- 35- Charifson, Paul S., et al. "Consensus scoring: A method for obtaining improved hit rates from docking databases of three-dimensional structures into proteins." *Journal of medicinal chemistry* 42.25 (1999): 5100-5109.
- 36- Bissantz, Caterina, Gerd Folkers, and Didier Rognan. "Protein-based virtual screening of chemical databases. 1. Evaluation of different docking/scoring combinations." *Journal of medicinal chemistry* 43.25 (2000): 4759-4767.
- 37- Wang, Renxiao, Luhua Lai, and Shaomeng Wang. "Further development and validation of empirical scoring functions for structure-based binding affinity prediction." *Journal of computer-aided molecular design* 16 (2002): 11-26.
- 38- Muegge, Ingo. "Effect of ligand volume correction on PMF scoring." *Journal of Computational Chemistry* 22.4 (2001): 418-425.
- 39- Eldridge, Matthew D., et al. "Empirical scoring functions: I. The development of a fast empirical scoring function to estimate the binding affinity of ligands in receptor complexes." *Journal of computer-aided molecular design* 11 (1997): 425-445.
- 40- Atkins, Mr Peter William, and Mr Julio De Paula. *Chimie physique*. De Boeck Supérieur, 2013.

- 41- Salahi, Dehbia. *Modélisation de la structure d'une protéine impliquée dans le cancer et de ses interactions avec quelques ligands*. Diss. UMMTO, 2016.
- 42- Rarey, Matthias, et al. "A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm." *Journal of molecular biology* 261.3 (1996): 470-489.
- 43- Israelachvili, J. "Intermolecular and Surface Forces Academic Press Limited." *London, UK* (1997).
- 44- Rarey, Matthias, Bernd Kramer, and Thomas Lengauer. "Docking of hydrophobic ligands with interaction-based matching algorithms." *Bioinformatics (Oxford, England)* 15.3 (1999): 243-250.
- 45- كباس, et al. دراسة بواسطة النمذجة الجزيئية للبنية والخصائص الفيزيوكيميائية لبعض الجزيئات النيكلوزيدية المضادة للفيروسات. Diss. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.
- 46- <http://www.aspu.edu.sy/laravel-filemanager/files/34/1-introduction.pdf>
- 47- Thiriou, Eddy. *Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques: Développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Méthionine Sulfoxyde Réductases de classe A*. Diss. Nancy 1, 2009.
- 48- Morris, Garrett M., et al. "Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function." *Journal of computational chemistry* 19.14 (1998): 1639-1662.
- 49- Ewing, Todd JA, et al. "DOCK 4.0: search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases." *Journal of computer-aided molecular design* 15 (2001): 411-428.
- 50- Jones, Gareth, et al. "Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking." *Journal of molecular biology* 267.3 (1997): 727-748.

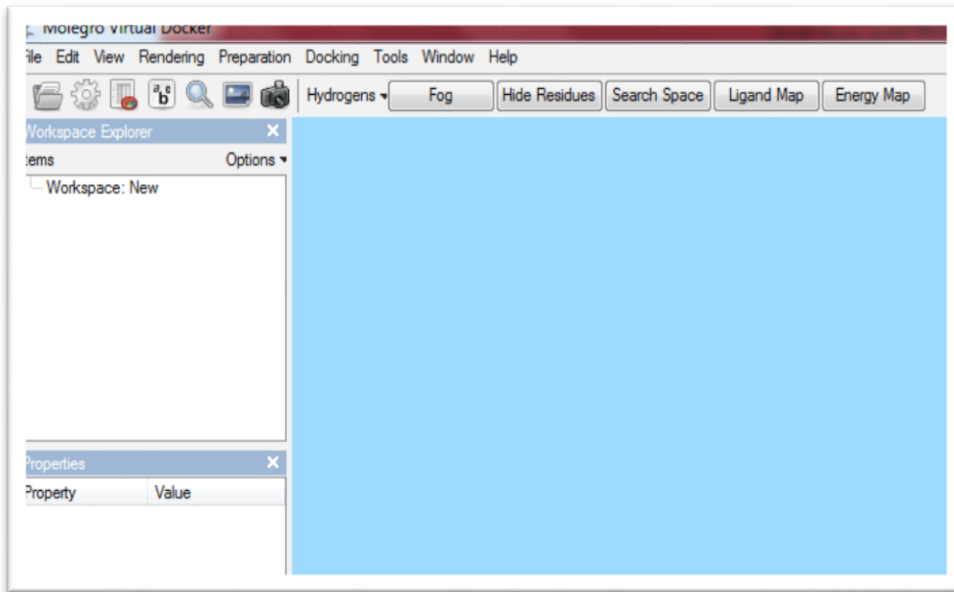
- 51- Pathak, Rajesh Kumar, et al. "Virtual screening of natural inhibitors to the predicted HBx protein structure of Hepatitis B Virus using molecular docking for identification of potential lead molecules for liver cancer." *Bioinformation* 10.7 (2014): 428.
- 52- Yang J, M, Kao C, Y." J, Comput". *Chem* 21(2000): 988-998.
- 53- Sousa, Sergio Filipe, Pedro Alexandrino Fernandes, and Maria Joao Ramos. "Protein–ligand docking: current status and future challenges." *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 65.1 (2006): 15-26.
- 54- Amani Sedrati, Wissam Bakhti. "Conception par modélisation et criblage virtuel d'inhibiteurs de récepteur LSD1."
- 55- Amani Sedrati, Wissam Bakhti. "Conception par modélisation et criblage virtuel d'inhibiteurs de récepteur LSD1."
- 56- Khaoula, M. I. L. O. U. D. I. "Etude par docking moléculaire d'une nouvelle série de 3-(pyrazin-2-yl)-1H-indazoles comme de puissants inhibiteurs de la kinase PIM-1."
- 57- <https://www.arabsciencepedia.org/wiki/%D8%A7%D9%84%>
- 58- Wang, Junmei, et al. "Development and testing of a general amber force field." *Journal of computational chemistry* 25.9 (2004): 1157-1174.

الفصل الثالث:

دراسة آلية تثبيط إنزيم DPP4 باستخدام التهام الجزيئي

1- برنامج المحاكاة الجزيئية

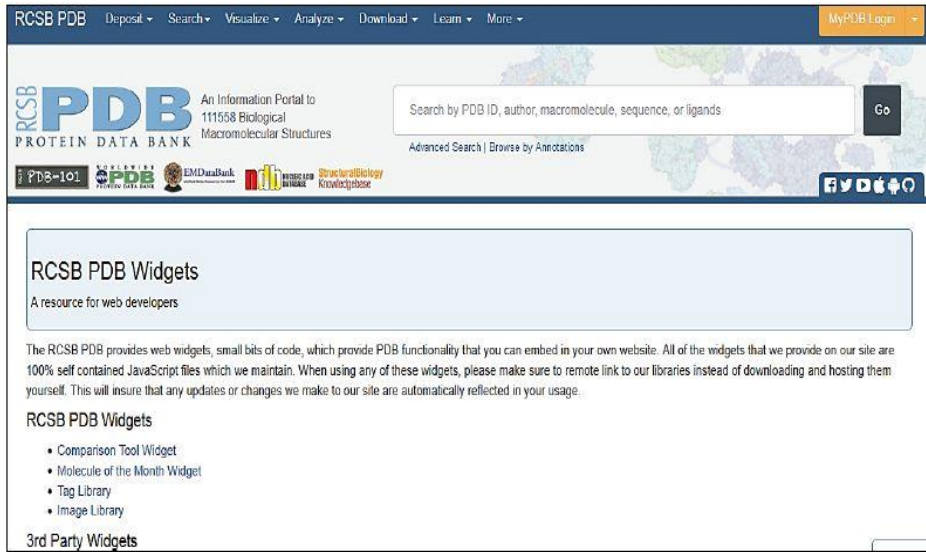
أجريت جميع عمليات محاكاة الالتحام الجزيئي (docking) باستخدام برنامج Molegro Virtual Docker. (MVD 2012.5.5.08) يتميز هذا البرنامج بدقة حساب عالية و فعالية أداء أفضل كما أن لديه واجهة مستخدم سهلة (شكل 1) مقارنة ببرامج أخرى مستخدمة مثل: Flex, Superflex, Autodock, و Gold [1].



شكل 1: واجهة البرنامج Molegro Virtual Docker.

2- البنية الثلاثية للمستقبل (DPP4)

انطلاقاً من بنك بيانات البروتينات يتم الحصول على البنية الثلاثية للمستقبل و ذلك الدخول لهذا الموقع بالنقر على الرابط (<http://www.pdb.org>) (شكل 2) بنك بيانات البروتين بالإنجليزية **Protein Data Bank (PDB)**: هو عبارة عن قاعدة أو أرشيف يضم هياكل ثلاثية الأبعاد (3D) المجسمة لعدد كبير من البروتينات و الأحماض النووية التي تم تحديد تراكيبها باستعمال الأشعة السينية (RX) أو الرنين النووي المغناطيسي (NMR). كل بروتين له مدخل خاص PDB Id يتكون من رموز أما حرفية (A-Z) يتبعه رقم (0-9) ويمكن البحث في هذا البنك باستعمال الرقم التعريفي أو استعمال كلمات مفتاحية ذات علاقة بالبروتين المدروس.



الشكل 2: واجهة بنك البروتينات (PDB).

المستقبل المعني بالدراسة يسمى إنزيم ثنائي بيتيداز 4 (DPP4) وقد تم تحميله من بنك البروتينات بنية هذا البروتين محددة بشكل صحيح وبدقة جيدة في اغلب المعقدات المعنية بالدراسة وذلك استنادا إلى قيم resolution.

3- البنية الثلاثية للربطة

تم تحميل الهيكل ثلاثي الأبعاد (3D) للربيطات المستخدمة في هذا العمل على شكل SDF من قاعدة البيانات PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), كل ربيطة معرفة برمز CID الخاص بها. كما تم استخدام برنامج ChemDraw Pro 12.0 لرسم المركبات في المستوي (2D)

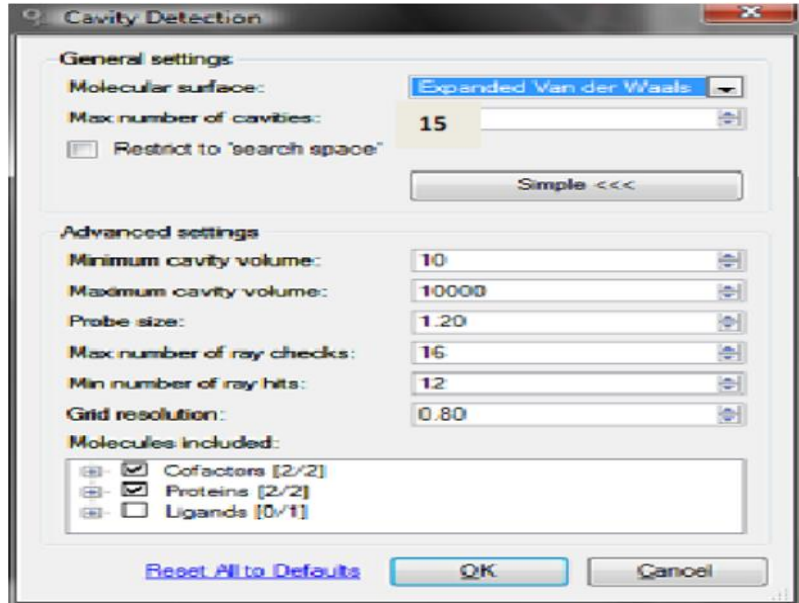
4- تحضير كل من المستقبل و الربطة

تكون عملية التحضير عبارة عن مجموعة من المراحل المتتالية والتي تتغير على حسب البرنامج المستخدم حيث يتم أولا وضع كل من المستقبل و الربطة في مساحة «work space» و تعتبر الربطة على أنها مرنة و البروتين على انه مجسم صلب و هذا بالنسبة لبرنامج (MVD) تتم عملية التحضير آليا ويتم تلخيصها وفق المراحل 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 التي في المستقبل بصفة تلقائية في البرنامج المستخدم لوجود خوارزمية مدمجة ويكون ضبط الإعدادات الموضحة في الشكل (3) التالي:



الشكل 3: الإعدادات اللازمة للكشف عن الفجوات الموجودة في المستقبل.

كشف البرنامج عن خمس فجوات في بروتين DPP4 (شكل 4) وترتيبها حسب الحجم موضح في الجدول التالي:

جدول 1. عدد وحجم فجوات المستقبل.

المستقبل	رقم الفجوة	حجم الفجوة (Å ³)
إنزيم (DPP4)	1	7276,03
	2	105,47
	3	64,51
	4	56,32
	5	43

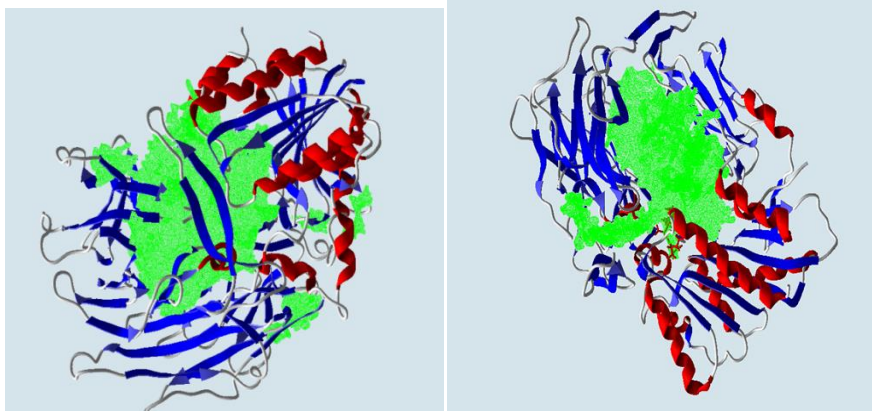
يتم تحديد في الخطوة التالية أي من هذه الفجوات التي تمثل الموقع الفعال وذلك استنادا إلى :

- المعطيات البيولوجرافية انطلاقا من البحوث السابقة التي درست بنية هذا الإنزيم والتي تم التطرق إليها في الفصل الأول.

- وجود مثبط تنافسي مرتبط في البنية البلورية للإنزيم المدروس والمحملة من بنك البروتينات.
- كما يمكن التأكد من صحة موقع الفجوة الرئيسية وذلك يتم بمعاينة الأحماض الأمينية المحيطة بالفجوة (الشكل 6).

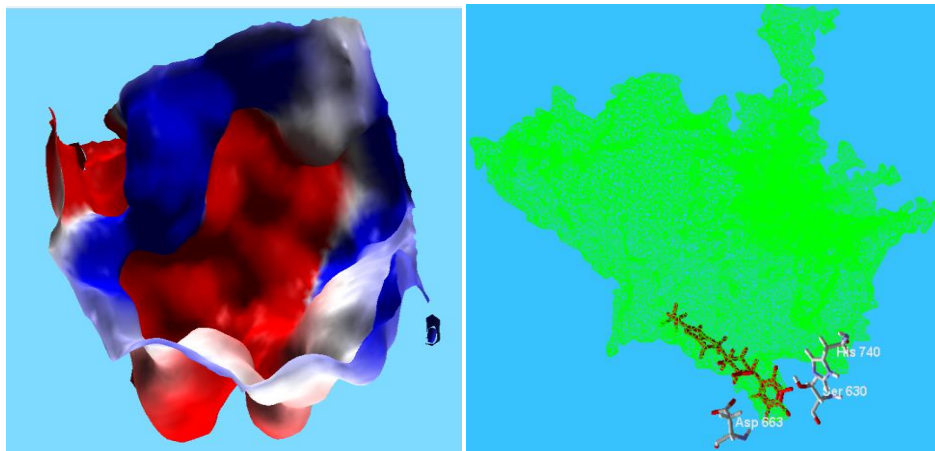
بالنسبة لإنزيم DPP4 ومن خلال المعقد 4PNZ ذو الدقة الكبيرة (1.9\AA) والذي يحتوي على مثبط (Omarigliptin) الذي هو مثبط تنافسي (competitive) و عكوس (reversible) وموجه سهل علينا تحديد الفجوة الرئيسية.

عند معاينة الفجوة الرئيسية لاحظنا أنها عميقة وحجمها كبير ولديها امتدادين وهذا لان مونمر DPP4 الوصول إلى موقعه الفعال يتم عبر فتحتين الأولى جانبية تتكون من المروحة β ، ومجال α/β hydrolase والثانية أصغر تتكون من مجال المروحة β . كما لاحظنا تواجد الثالوث المحفز: Ser630, His740, Asp708.



الشكل 5: الفجوة الرئيسية لإنزيم DPP4.

الشكل 4: فجوات إنزيم DPP4.



الشكل 6: تموضع الأحماض الامينية المكونة للثالوث المحفز.

6- بروتوكول الالتحام باستعمال برنامج MVD

المعقد المتشكل أثناء عملية الالتحام هو المعقد الأكثر استقرار و الذي يوافق الأقل في الطاقة، خلال عملية الالتحام سيعتبر البرنامج أن الرابطة هي جسم مرن والمستقبل (البروتين) جسم صلب. مساحة البحث أو ما يسمى ب "Contraint" تتراوح بين $7A^{\circ}$ إلى $10A^{\circ}$ على حسب المساحة التي تشغلها كل رابطة مدروسة.

الخوارزمية المعتمدة خلال هذه الدراسة هي MolDock optimizer و هي عبارة عن خوارزمية مدمجة في البرنامج تنتمي إلى عائلة الخوارزميات التطورية. [2] أما بالنسبة لتابع التسجيل المعتمد هو Moldock Score يعطى بالعلاقة التالية:

$$E_{score} = E_{inter} + E_{intra} \dots \dots \dots Eq.1$$

E_{intra} : تمثل طاقة التفاعل الداخلية للرابطة

E_{inter} : تمثل طاقة التفاعل رابطة- بروتين و المعطاة بالعلاقة التالية:

$$E_{inter} = \sum_{i \in \text{ligand}} \sum_{f \in \text{protein}} \left[E_{plp(r_{if})} + 3320 \frac{q_i q_f}{4r_{if}^2} \right] \dots \dots \dots Eq.1$$

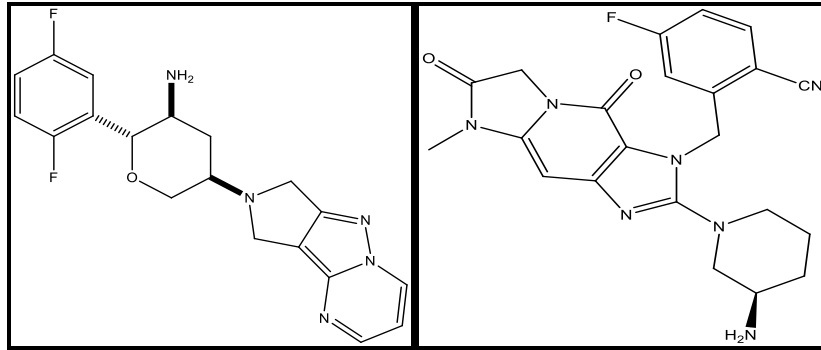
هذه المعادلة تأخذ بعين الاعتبار كلا لذرات الثقيلة للرابطة (i) و للبروتين (j)، (E_{PLP}) يمثل الجهد الخطي.

يتم ضبط عدد الدورات في البرنامج عند القيمة 30 و يحدد أدنى انحراف بين النماذج المصممة للرابطة (les poses) ب $2A^{\circ}$ هذه القيمة لا تسمح للبرنامج بتخزين النماذج المصممة المتشابهة في الموضع. وفي النهاية يتم ترتيب أفضل النماذج المصممة للرابطة تصاعديا على حسب قيمة طاقة الارتباط.

7- تقييم مدى كفاءة البرنامج المستخدم

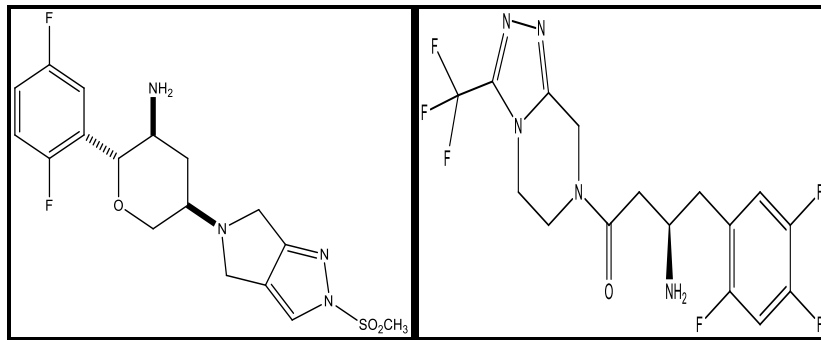
من اجل دراسة موثوقية البرنامج المستخدم في الدراسة تم اختيار 4 معقدات لإنزيم DPP4 تم تحميلهم من بنك البروتينات، تتميز هذه المعقدات بالدقة العالية حيث أن قيم resolution تتراوح بين $1,77A^{\circ}$ إلى $2,10A^{\circ}$ ، كما تتميز باحتوائها على مثبتات تنافسية مرتبطة مع الأحماض الامينية المكونة للفجوة الرئيسية، إضافة إلى ذلك هذه المثبتات تتميز بالتنوع في بنيتها الكيميائية حتى لا ترتبط كفاءة البرنامج بمجموعات وظيفية معينة (شكل 7).

تتم عملية (redocking) بنزع الربيطه الموجودة في المعقد المحمل من بنك البروتينات ثم تجري لها عملية الالتحام إذا تم إرجاع الربيطه إلى نفس مكانها الأولي و بنسبة تطابق كبيرة يكون البرنامج كفي ويمكن الوثوق بنتائج النظرية التي تقترب إلى الحقيقة. رياضيا نعبر عن هذا الكلام بحساب مقدار الانحراف (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}). [3]



الربيطه 6AJ

الربيطه 6DG



الربيطه 715

الربيطه 2VH

شكل 7: البنية الكيميائية للمركبات المعنية ب redocking.

قبل إجراء عملية redocking يجب الانتباه إلى بنية الربيطه الموجودة في المعقد (الربيطه المرجعية) وفي حالة وجود نقص في الذرات أو تغير في نوع الروابط وجب التصحيح وإعادة التحضير. في الجدول الموالي قيم RMSD المتحصل عليها بعد إجراء عملية redocking للمعقدات المدروسة:

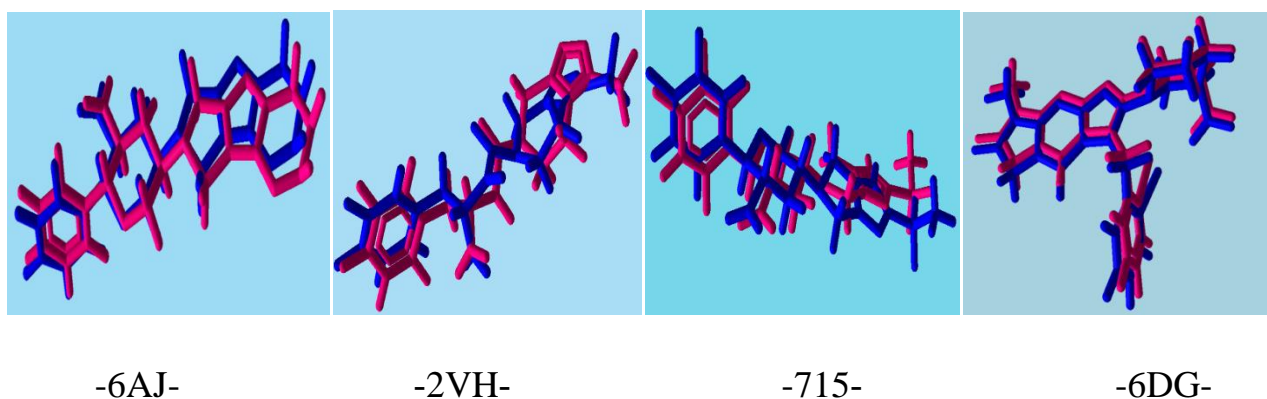
الجدول 2. قيم RMSD للمعقدات المدروسة.

RMSD	RBN	MW(g/mol)	الصيغة العامة	رمز الربيطه	الدقة (A°)	المعقد
0,51	2	436,44	C21 H21 F N8 O2	6AJ	1,95	5I7U
1,87	2	371,38	C19 H19 F2 N5 O	6DG	2	5ISM
0,88	5	406,306	C16 H15 F6 N5 O	715	2,1	1X70
1,32	3	416,41	C17 H19 F3 N4 O3 S	2VH	1,90	4PNZ

حسب الجدول نلاحظ :

- قيم RMSD للمعقدين 5I7U و 1X70 أقل من 1A°.
- قيم RMSD للمعقدين 5ISM و 4PNZ أقل من 2A°.
- قيم RMSD الأعلى موجودة لدى الربيطه ذات الوزن الجزيئي الأقل.

بشكل عام و في المعقدات الأربعة قيمة الانحراف RMSD بقيت في المجال المسموح به: $RMSD < 2A^\circ$, و بالرغم من الارتفاع النسبي لعدد الروابط الدوارة (RBN) كما في المعقد 1X70, مما يثبت كفاءة هذا البرنامج و الخوارزمية المستعملة و قدرتهما على إعطاء نتائج قريبة جدا من الحقيقة. وهذا ما يظهره التطابق الموجود بين موقع النموذج المصمم بالبرنامج وموقع نموذج البنية البلورية لكل ربيطة (شكل 8).



شكل 8: نسبة التطابق بين النموذج المصمم بالبرنامج (الأزرق) و نموذج البنية البلورية (الوردي) للربيطه الموجودة في كل معقدات.

8- دراسة أنماط التفاعل بين إنزيم DPP4 و المثبطات المدروسة

من خلال الجدول 3 نجد أن قيمة طاقة الاستقرار و التي تعبر على درجة التثبيط تختلف على حسب كل مثبط

■ الربيطة 6AJ

هي مثبط قوي جدا و انتقائي و عبارة عن مركب Tricyclic Heterocyclic تسميته النظامية:
(R)-2-((2-(3-aminopiperidin-1-yl)-5-methyl-6,9-dioxo-5,6,7,9-tetrahydro-1H-imidazo[1,2-a]purin-1-yl)methyl)-4-fluorobenzonitrile.

اظهر هذا المثبط طاقة استقرار كبيرة و هذا ما تترجمه النتائج التجريبية, حيث تم اكتشافه في سنة 2016 مصادفة اثر تصميم عدة سلاسل من المركبات الحلقية غير المتجانسة بهدف تطوير مثبطات لإنزيم DPP4. [4]

استقرار ربيطة 6AJ داخل الفجوة الرئيسية لبروتين DPP4 ناتج عن:

تشكل رابطتين هيدروجينيتين قويتين مع الحمضين الأمينين: Tyr631, Tyr547

رابطة أيونية مع الحمض الاميني Glu 205

العديد من تفاعلات من نوع فاندير فالز (VDW) مع الأحماض الامينية التالية: Tyr631, His740, Arg125, حيث هذا الأخير يمثل احد أحماض الثالوث الحفاز.

تفاعلات هيدروفيبية ($\pi-\pi$) من نوع (VDW) مع الحمضين الامينيين: Tyr 666, Tyr 662.

■ الربيطة 6DG

هي مثبط قوي, انتقائي و عبارة عن مركب Tricyclic Heterocycle تسميتها النظامية:
(2R,3S,5R)-2-(2,5-difluorophenyl)-5-(7H pyrrolo[3',4':3,4]pyrazolo[1,5 a]pyrimidin-8(9H)-yl)oxan-3-amine)

استقرار المعقد 5ISM ناتج عن مجموعة من أنماط الربط قد تشكلت بين الربيطة و المستقبل.

رابطة هيدروجينية قوية مع الحمض Glu206

تفاعلات من نوع فاندير فالز (VDW) مع الأحماض الامينية التالية: Ser630, Glu206, Glu205 حيث هذا الأخير يمثل احد أحماض الثالوث الحفاز.

تفاعلات هيدروفيبية ($\pi-\pi$) من نوع (VDW) مع الحمض الاميني Tyr662.

■ الربيطة 715

هي مثبط فعال عن طريق الفم مع انتقائية ممتازة مقارنة بمثبطات أخرى, و هو عبارة عن β -amino amide اسمه الشائع Sitagliptin تسميته النظامية:

(R)-4-Oxo-4-[3-(trifluoromethyl)-5,6-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-7(8H)-yl]-1-(2,4,5-trifluorophenyl)butan-2-amine.

يرتبط Sitagliptin بالموقع الرئيسي وفق أنماط التفاعل التالية:

2 روابط هيدروجينية مع الأحماض الامينية التالية: Glu205, Glu206.

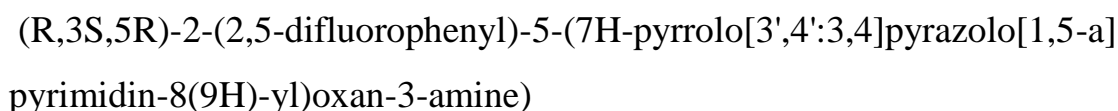
تفاعلات من نوع فاندير فالز (VDW) مع الأحماض الامينية التالية: Glu205, Tyr666, Val711,

Glu 206.

تفاعلات هيدروفيبية (π - π) من نوع (VDW) مع الحمضين الامينيين: Tyr659, Tyr666.

الربطة 2VH

يعد Omarigliptin مثبِّطاً تنافسياً و قابل للعكس (competitive, reversible) لإنزيم DPP4 تسميته النظامية:



تموضع Omarigliptin في الموقع الفعال ناتج عن التفاعلات التالية:

5 روابط هيدروجينية مع الأحماض الامينية: Ser209, Glu205, Glu206, Tyr547.

تفاعلات من نوع فاندير فالز (VDW) مع الأحماض الامينية التالية: Ser630, Glu205, Tyr662,

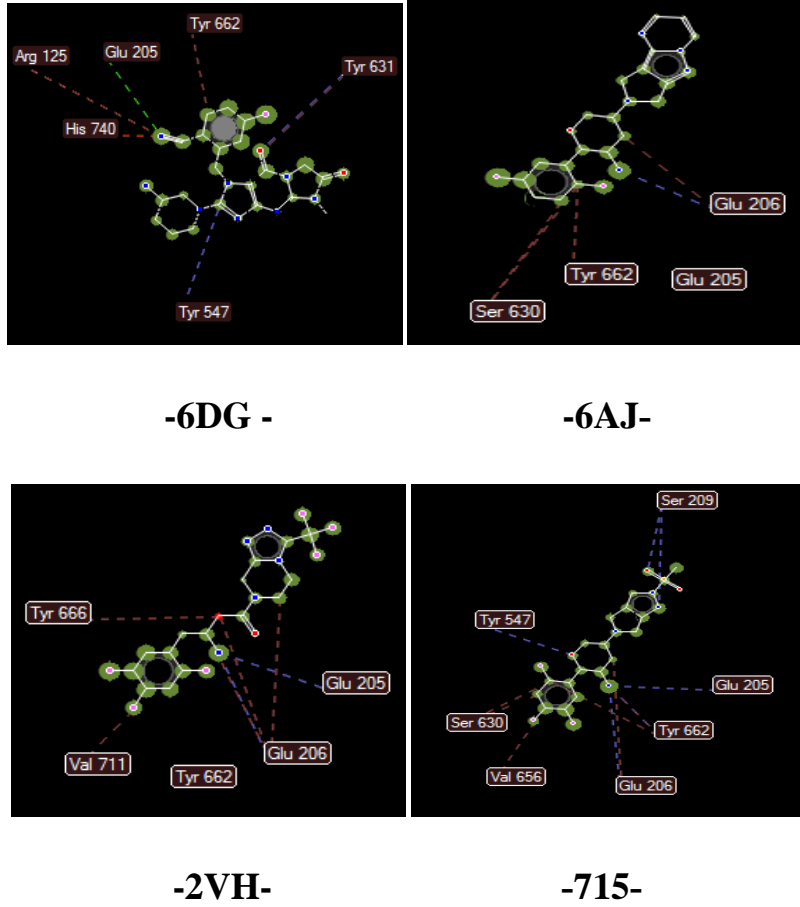
Val656, Glu206, Tyr547.

هيدروفيبية (π - π) من نوع (VDW) مع الحمضين الامينيين: Tyr547, Phe357.

الجدول الموالي يبين طاقات التفاعل المتحصل عليها بين إنزيم DPP4 و الربيطات المدروسة.

جدول 3. طاقات التفاعل Hbond Score, MolDock Score و E(VDW) لكل ربيطة.

E(VDW) (Kcal/mol)	Hbond Score (Kcal/mol)	Moldock Score (Kcal/mol)	الربطة
-48,67	-3,76	-170,09	6AJ
-38,59	-3,08	-119,80	6DG
-19,43	-2,09	-134,40	715
-38,79	-10,56	-134,34	2VH

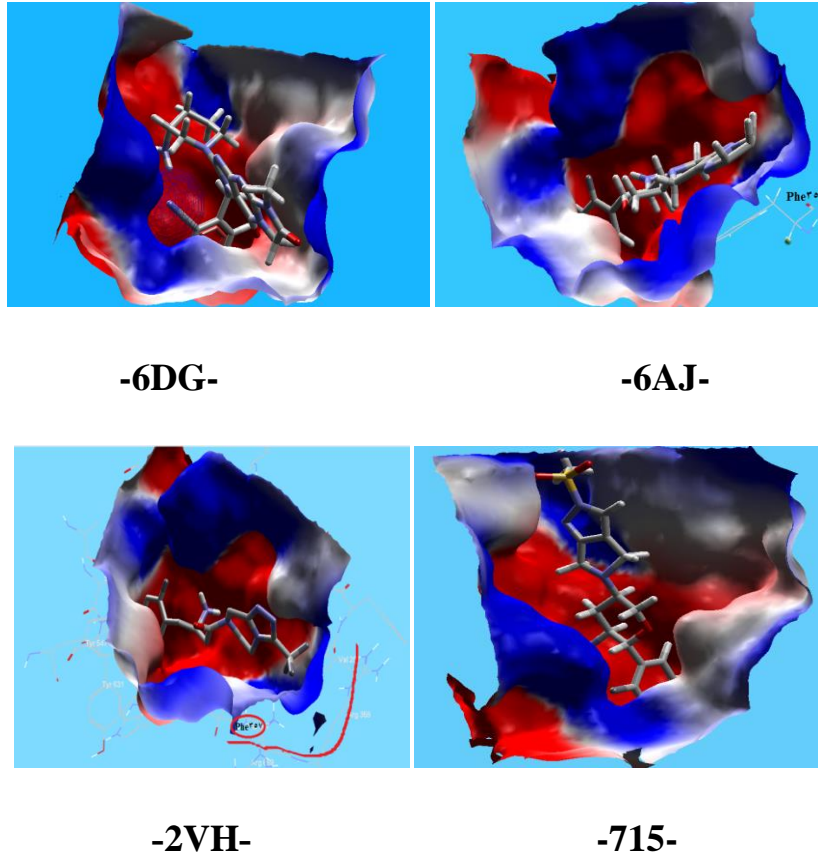


شكل 9: أنماط التفاعل الموجودة بين الربيطات المدروسة و إنزيم DPP4.

----- التفاعلات من نوع فاندير فالز (VDW)
 ----- روابط هيدروجينية

جميع المثبطات التي تم دراستها تتموقع في الفجوة الرئيسية (شكل 9) و هذا ما يفسر سلوك تثبيطها التنافسي مع اختلافات في بعض أنماط التفاعل, تحتوي المثبطات الأربعة المدروسة على مواقع كارهة للماء تتجه للجيب S1 و المجموعات المحبة للماء تتجه نحو الجيب S2 المتضمنة في الواجهة السلاسل الجانبية للأحماض الامينية: Glu205 و Glu206 و Arg125 المسؤولة على التعرف على المثبط و ربطه.

تمتد الربيطتين 6DG و 715 نحو Phe357، في الجيب S2 الجديد المتسع المتشكل بواسطة حركة رئيسية من السلسلة الجانبية لـ Arg358.



شكل 10: تموضع المثبطات المدروسة داخل الفجوة الرئيسية: المساحات باللون الأحمر **Hydrophile**

المساحات باللون الأزرق **hydrophobe**

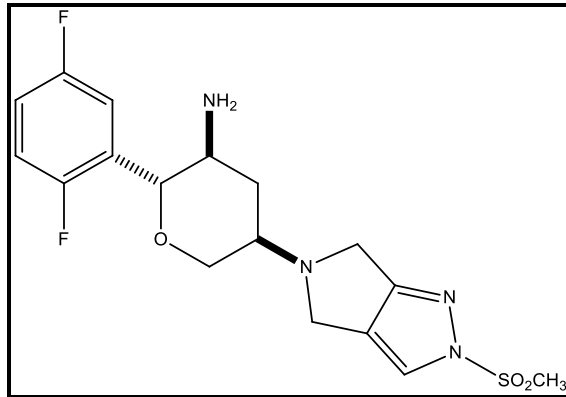
9- التنبؤ بمثبطات جديدة لإنزيم DPP4 باستعمال تقنية المسح الافتراضي

يعد المسح الافتراضي طريقة حاسوبية للبحث في قواعد بيانات الجزيئات الصغيرة يقسم المسح الافتراضي إلى المسح الافتراضي المعتمد على البنية (Structure-based virtual screening) و يرمز له ب SBVS والمسح الافتراضي المعتمد على الرابطة (Ligand-based virtual screening) و يرمز له ب LBVS التي تطبق في حال غياب المعلومات البنوية للمستقبل وذلك اعتمادا على عدد و نوع الروابط المعروفة.

أما طريقة SBVS تطبق عندما تكون البنية ثلاثية الأبعاد للمستقبل معروفة، و ذلك بإجراء عملية التحام لكل رابطة داخل الموقع الفعال للهدف و التنبؤ بنمط الارتباط جنبا إلى جنب مع قياس جودة توضع المركب داخل الموقع الفعال للهدف، يتم استخدام هذه المعلومات فيما بعد لتصنيف المركبات بهدف اختيار مجموعة صغيرة من المركبات و اختبارها تجريبيا. [5]

في هذه الدراسة، قمنا بمسح افتراضي يعتمد على الالتحام الجزيئي لمتشابهات المثبط Omarigliptin بهدف إيجاد مركبات لها طاقة استقرار أكثر من المثبط المرجعي سبب اختيارنا لمثبط Omarigliptin كربيطة مرجعية هو كالتالي :

- على مدى معرفتنا , لا يوجد أبحاث سابقة استعملت مثبط Omarigliptin كربيطة مرجعية باستعمال تقنية المسح الافتراضي
- نجاح أبحاث سابقة وباستعمالها مثبطات من نوع gliptin كمثبطات مرجعية لاصطناع مثبطات أفضل
- مركب Omarigliptin مثبط تنافسي و عكوس ($IC_{50} = 1.6 \text{ nM}$, $K_i = 0.8 \text{ nM}$) و تحت فرضية أن المركبات المشابهة له (Analogue) ستسلك نفس سلوكه أي أنها ستنتج نحو الفجوة الرئيسية و أنماط الربط ستكون من نوع الروابط الهيدروجينية و تفاعلات فاندر فالز و أخرى من نوع كارهة للماء على غرار المثبطات اللاعكوسة و التي ترتبط استنادا إلى روابط تكافئية (Covalent bond) لا يمكن لبرامج الالتحام تحديدها.



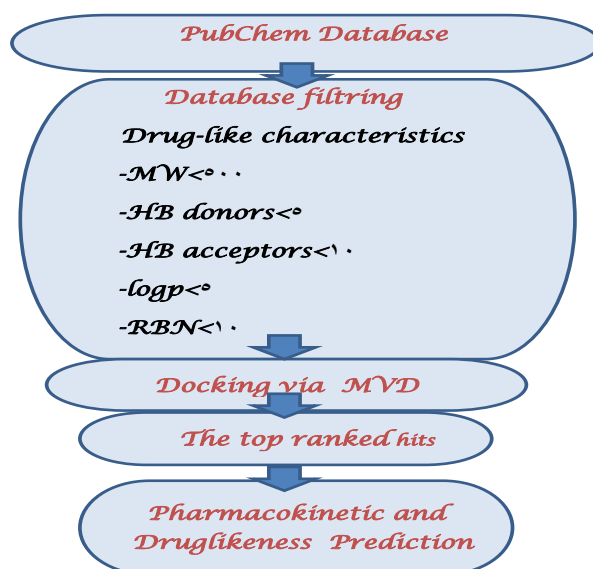
شكل 11: بنية مركب Omarigliptin.

1-9- إنشاء مكتبة المركبات (Dataset)

تم تحميل المركبات المشابهة لمثبط Omarigliptin في البنية (2D similarity) انطلاقا من قاعدة البيانات PubChem و بعد ضبط معامل التشابه "tanimoto coefficient" ب 90% , تحصلنا على 467 مركب مشابه بعد ذلك وباستعمال قاعدة البيانات PubChem نقوم بغرلة حسب المطابقة لقواعد ليبينسكي (Lipinski's Rule) التي تعطي فكرة عن قابلية المركب المرشح بأن يتمتع بخواص حركية مناسبة للإعطاء الفموي. [6] وتشمل هذه القواعد ما يلي:

- عدم تجاوز المجموعات المانحة للروابط الهيدروجينية الخمس مجموعات.

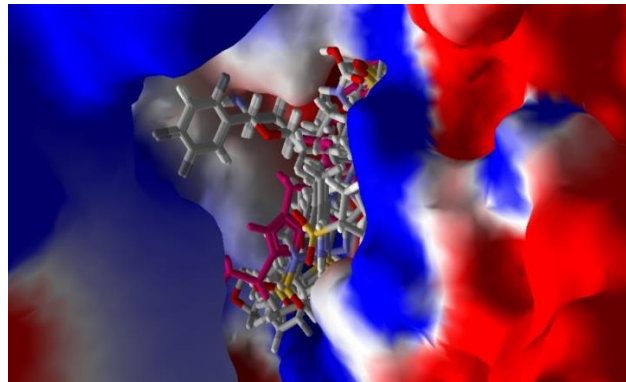
- عدم تجاوز المجموعات المستقبلية للرابطة الهيدروجينية العشر مجموعات.
 - الوزن الجزيئي $500 \text{ g/mol} >$
 - قيمة LogP (معامل توزع اوكتانول/ماء) > 5
 - عدد الروابط القابلة للدوران > 10
- وبعد فلتر المركبات حسب قواعد ليبينسكي تحصلنا على 232 مركب تم تحميلهم بصيغة SDF, وتحضيرهم لعملية الالتحام, مخطط الدراسة موضح في (الشكل 11).



شكل 12: بروتوكول المسح الافتراضي المطبق في الدراسة.

9-2- إجراء التحام المركبات المشابهة لمثبط Omarigliptin مع إنزيم DPP4

يتم إجراء عملية الالتحام باستخدام البنية البلورية لإنزيم DPP4 ذو الرمز 4PNZ و التي تحتوي مثبط Omarigliptin كربيطه مرجعية, يتم إتباع نفس بروتوكول الالتحام المحدد سابقا فقط بالنسبة للربيطات و نظرا لان عددها كبير تخزن في "External data source" ثم توجه للمكان المعين سابقا تموضع النماذج المصممة للربيطات "Scoring" ترتب وفق طاقة استقرار كل معقد عملية الترتيب أفرزت عن 11 مركبات أعطت قيمة طاقة Moldock score أفضل من المركب المرجعي , هذه المركبات يطلق عليها اسم Hits أو « Top-scoring », الشكل 13 يوضح تموضع إحدى عشر "Top-scoring" داخل الفجوة الرئيسية.



الشكل 13: تموضع إحدى عشر "Top-scoring" داخل الفجوة الرئيسية. مثبط Omarigliptin موضح باللون الوردي.

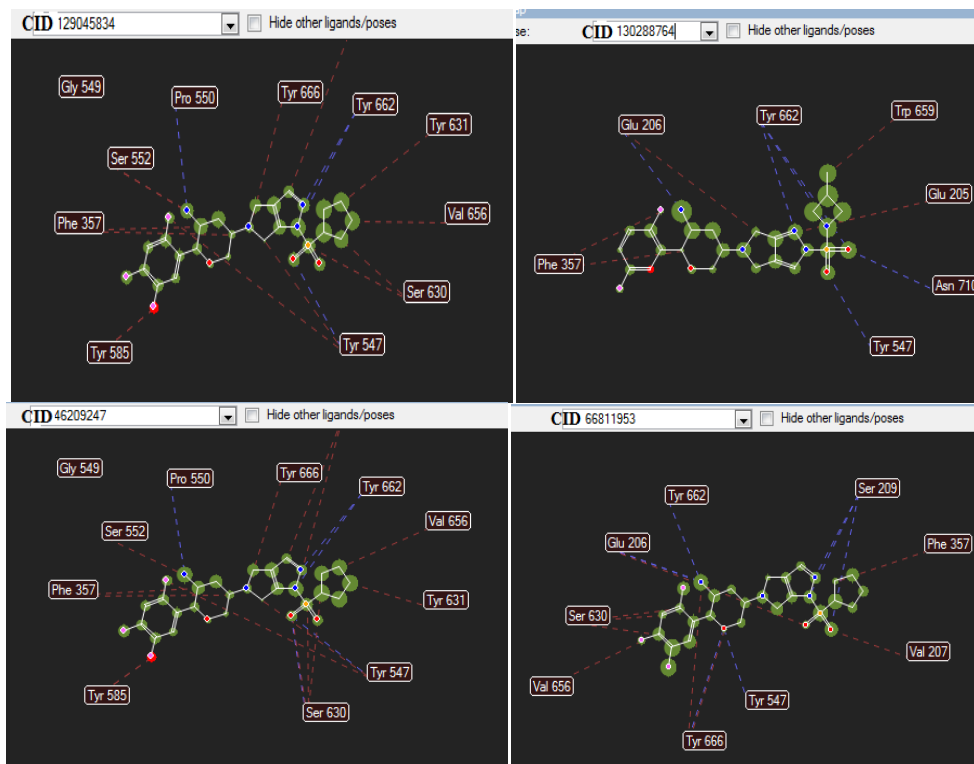
قيم طاقة Moldock score للمركبات المدروسة تتراوح بين $-70,11\text{Kcal/mol}$ و $-158,81\text{Kcal/mol}$, في الجدول الموالي قيم الطاقة للإحدى عشر "Top-scoring"

جدول 4. طاقات التفاعل Hbond Score ,MolDock Score و E(VDW) للإحدى عشر "Top-scoring" والمركب المرجعي.

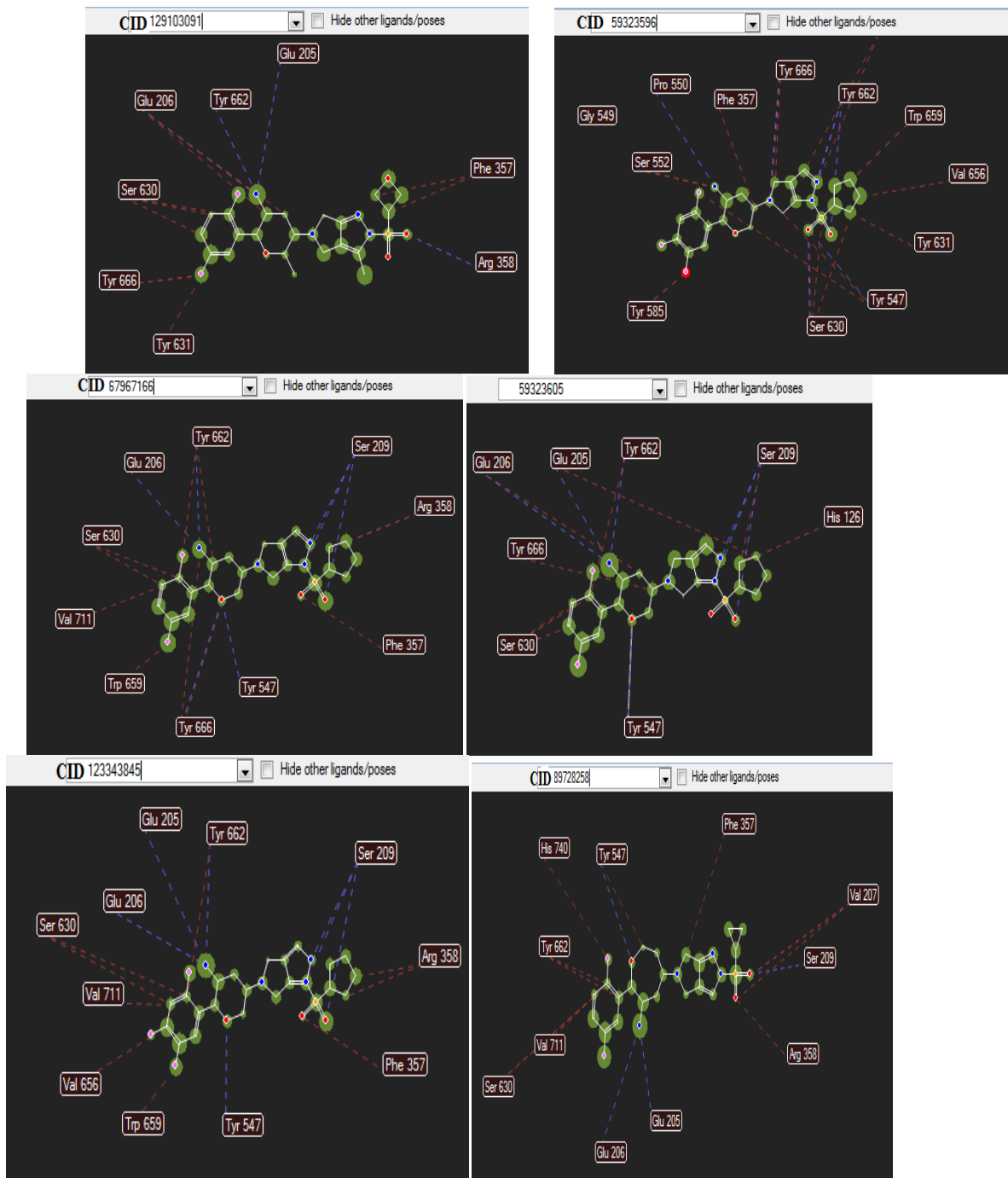
Hbond Score (Kcal/mol)	E(VDW) (Kcal/mol)	MolDock Score (Kcal/mol)	رمز الربيطه
-4,22	-40,66	-156,76	CID 123343845
-7,24	-33,16	-158,81	CID 129045834
-6,53	-33,11	-158,63	CID 46209247
-8,14	-30,69	-157,05	CID 130288764
-6,11	-30,47	-157,74	CID 59323596
-11,97	-17,35	-157,61	CID 66810526
-6,08	-27,99	-153,46	CID 66811953
-3,57	-20,43	-150,68	CID 129103091
-3,59	-41,23	-151,13	CID89728258
-5,87	-28,56	-149,21	CID 59323605
-6,15	-38,45	-151,54	CID 67967166
-10,56	-38,79	-134,34	Omarigliptin

لدى المركبات المغرلة من الناحية الطاقوية, ألفة كبيرة للأحماض الامينية الرئيسية, هذه الألفة نتيجة روابط هيدروجينية و تفاعلات كارهة للماء (π - π) من نوع (VDW), وهذا ما تبينه قيم الطاقة المعتمدة HbondScore, E(VDW).

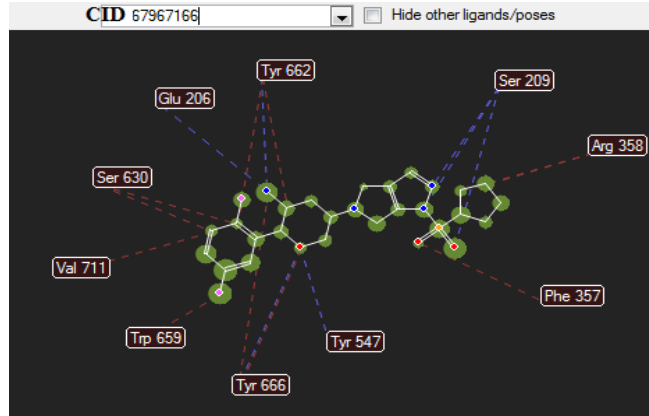
بالنسبة للمركبات التي تختلف فقط في اتجاه الروابط (المماكبات) أعطت قيم MolDock Score متقاربة فقط الاختلاف نجده في طاقتي: Hbond Score و E (VDW) و هذا راجع إلى أن الاختلاف في الاتجاه يؤدي إلى تقاربات مختلفة بين مجموعات الربطة و الأحماض الامينية المحيطة بها مما يؤدي إلى تفضيل نمط معين من الربط على حساب الآخر. في الشكل 14 توضيح لأنماط الربط المتواجدة بين إنزيم DPP4 و الربيطات "Top- scoring".



شكل 14: أنماط التفاعل الموجودة بين الربيطات "Top-scoring" و إنزيم DPP4.



تابع. شكل 14: أنماط التفاعل الموجودة بين الربيطات "Top-scoring" و إنزيم DPP4.



تابع. شكل 14: أنماط التفاعل الموجودة بين الربيطات "Top-scoring" و إنزيم DPP4.

----- التفاعلات من نوع فاندير فالز (VDW)
 ----- روابط هيدروجينية

10- دراسة الحركية الدوائية ADME

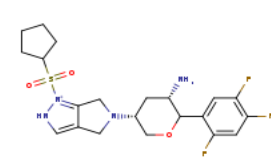
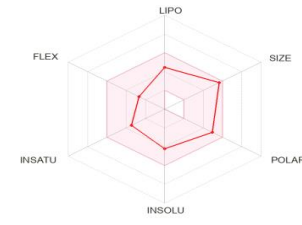
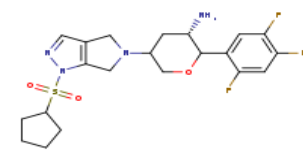
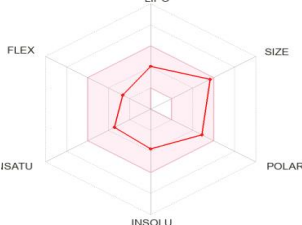
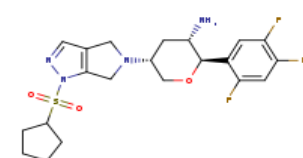
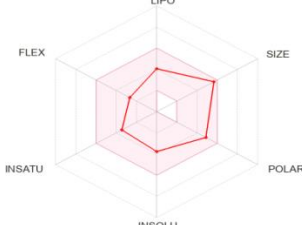
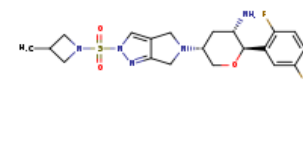
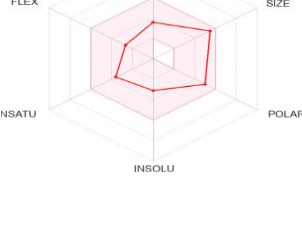
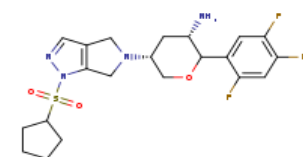
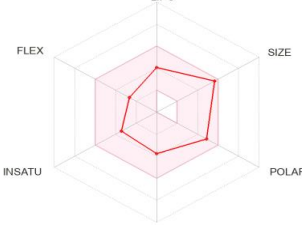
ADME هو اختصار في الحركية الدوائية يصف كيف يؤثر الجسم على مادة غريبة بيولوجياً بعد إعطائها له وذلك من خلال آليات الامتصاص، و كيفية التوزع بالإضافة إلى التغيرات الاستقلابية التي تطرأ على هذه المادة في الجسم مثلاً، بتأثير الإنزيمات الاستقلابية مثل السيتوكرومبي 450 أو الإنزيمات الناقلة، و تأثيرات وطرق إفراز مُستقلبات الدواء. تؤثر العوامل الأربعة جميعها على مستويات الدواء و حركية تعرض الأنسجة للأدوية، و بالتالي تؤثر على فعاليته كدواء. حيث أن العديد من المركبات ذات الفعالية العلاجية المحتملة لا تصل إلى التجارب السريرية بسبب هذه العوامل.

تم الحصول على ADME للمركبات المقترحة و المثبت المرجعي باستخدام قاعدة البيانات SwissADME [7] و ذلك بالنقر على الموقع <http://www.swissadme.ch/index.php>

انطلاقاً من هذه المنصة تم تحديد كل من: عدد المخالفات لقواعد التشبه بالأدوية، النفاذية عبر الحاجز المعوي (HIA) و الدماغى (BBB) كما أنها تسمح بتقييم سريع للتشبه بالدواء عن طريق رادار التوافر البيولوجي و مخطط BOILED-Egg

- من خلال الجدول 5 نلاحظ أن جميع المركبات لمتسجلاًيمخالفة في كل من قواعد Ghose, Egan, Muegge و Verber لأنها تحقق شروط الخاصة بكل قاعدة، نظرياً هذه المركبات لتتواجه أية مشاكل في التوافر البيولوجي عن طريق الفم

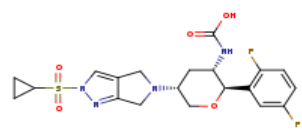
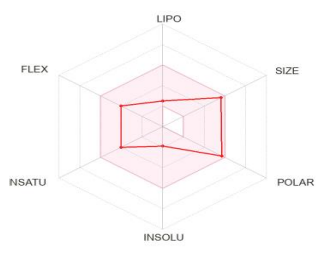
جدول 5. رادار التوافر البيولوجي و عدد المخالفات لقواعد التشبه بالأدوية للمركبات "Top-scoring".

رمز المركب	البنية الكيميائية للمركب	رادار التوافر البيولوجي	Verber	Ghose	Egan	Muegge
CID 123343845			0	0	0	0
CID 129045834			0	0	0	0
CID 46209247			0	0	0	0
CID 130288764			0	0	0	0
CID 59323596			0	0	0	0

تابع للجدول 5

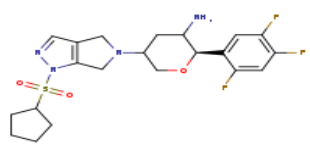
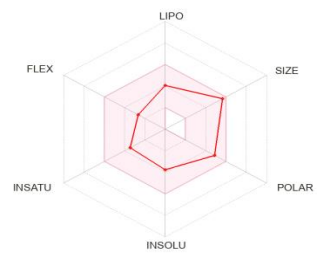
CID 66810526

0 0 0 0



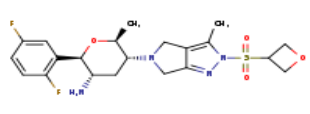
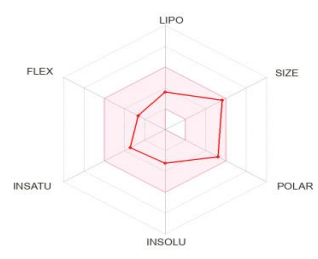
CID 66811953

0 0 0 0



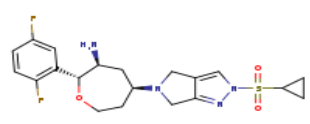
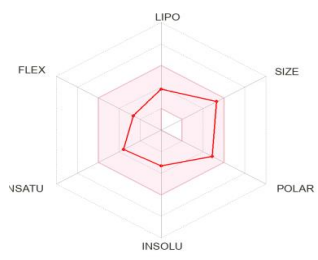
CID 129103091

0 0 0 0



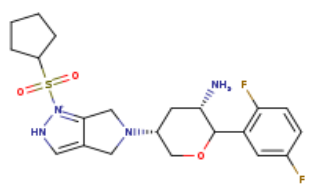
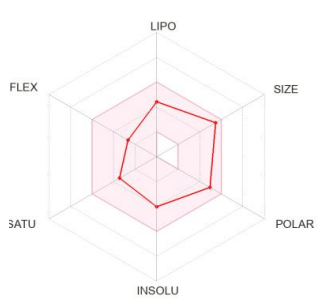
CID 89728258

0 0 0 0

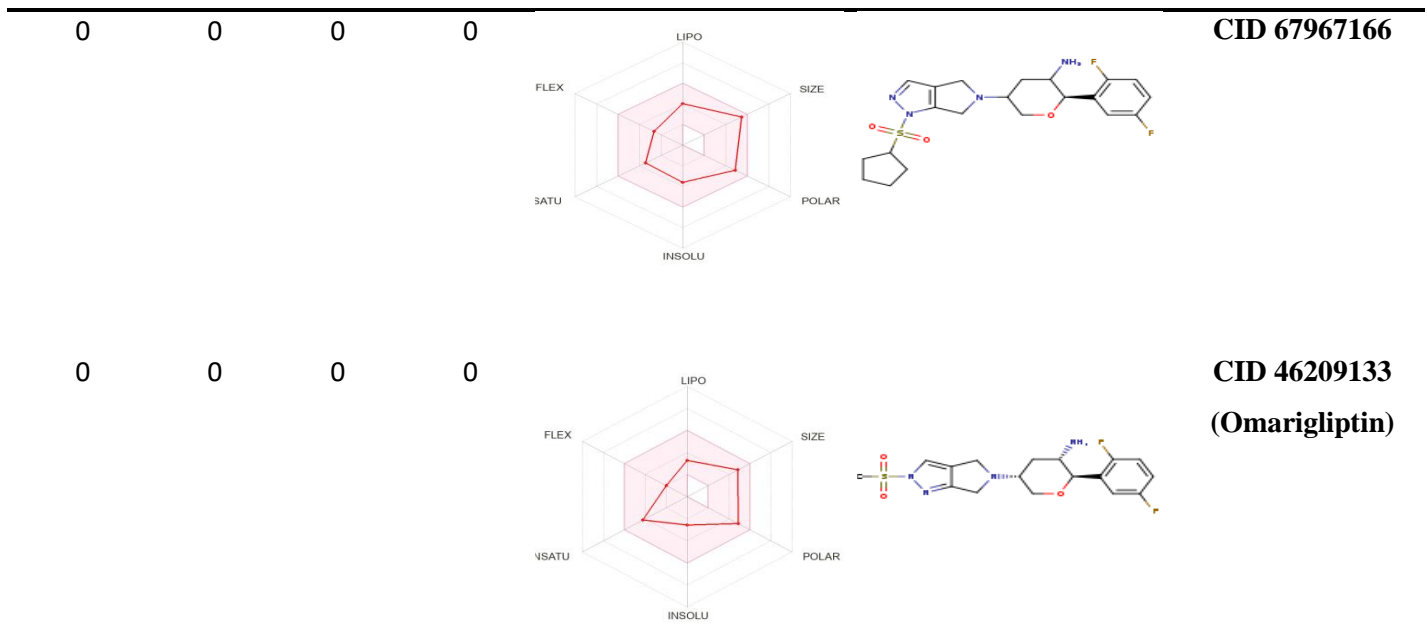


CID 59323605

0 0 0 0



تابع للجدول 5



فيما يلي الشروط الخاصة بكل قاعدة.

<p>[11] قاعدة Muegge</p> <ul style="list-style-type: none"> الوزن الجزيئي $200 \leq MW \leq 600$ $-20 \leq LOGP \leq 5$ 	<p>[10] قاعدة Egan</p> <ul style="list-style-type: none"> $\log P \leq 5,88$ مساحة السطح القطبية $TPSA \geq 131,6 A^{\circ 2}$ 	<p>[9] قاعدة Veber</p> <ul style="list-style-type: none"> عدد الروابط الدوارة: "RBN" ≤ 10 مساحة السطح القطبية $TPSA \leq 140 A^{\circ 2}$ 	<p>[8] قاعدة Ghose</p> <ul style="list-style-type: none"> $0,4 \leq \log P \leq 5,6$ $160 \leq MW \leq 480$ Number of atom $20 \leq NA \leq 70$ $40 \leq MR \leq 130$
---	--	---	---

من خلال ردارات التوافر البيولوجي نجد أن خصائص جميع مركبات "Top-scoring" (جدول 6) تقع ضمن المنطقة المثلى والمحددة باللون الوردي و التي حدودها كما يلي:

- محببة الدهون "LIPO": $XLOGP3 \in [-7,5; 0]$
- مقاس الكتلة "SIZE": الوزن الجزيئي يكون محصور في المجال $[150, 500g/molg/mol]$
- القطبية "POLAR": $TPSA$ يكون محصور في المجال $[20A^{\circ 2}, 130A^{\circ 2}]$
- الذوبانية "SOLUBILITY": $LogS < 6$
- المرونة "FLEX": $RBN < 9$

- التشبع "INSATURATION": $FC(sp3) > 0,25$, حيث أن $FC(sp3)$ تمثل نسبة عدد ذرات الكربون المهجنة $sp3$.

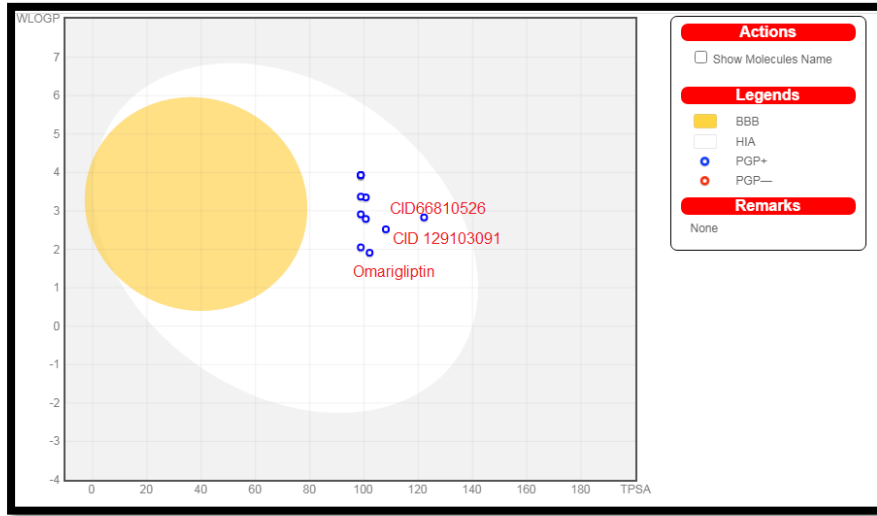
جدول 6. يمثل خصائص المركبات "Top-scoring" و المركب المرجعي.

المركب	MW	XLOGP3	TPSA	Log S	RBN	FractionCsp3
CID123343845	471,52	2,31	100,68	-4,21	4	0,57
CID129045834	470,51	1,62	98,83	-3,77	4	0,57
CID 46209247	470,51	1,62	98,83	-3,77	4	0,57
CID130288764	453,51	0,73	102,07	-3,11	4	0,55
CID 59323596	470,51	1,62	98,83	-3,77	4	0,57
CID 66810526	468,47	-1,14	122,14	-1,88	6	0,57
CID 66811953	470,51	1,62	98,83	-3,77	4	0,57
CID129103091	468,52	0,78	108,06	-3,23	4	0,57
CID 89728258	438,49	1,16	98,83	-3,30	4	0,55
CID 59323605	453,53	1,16	100,68	-4,04	4	0,57
CID 67967166	452,52	1,52	98,83	-3,20	4	0,57
Omarigliptin	398,43	0,25	98,83	-2,57	3	0,47

■ النفاذية عبر الحاجز الدموي الدماغي BBB

الحاجز الدموي الدماغي هو بطانة من الأوعية الدموية الدقيقة يشكل طبقة من الخلايا التي تحيط بالجهاز العصبي المركزي (BBB) "CNS" هو حاجز هيكلي و كيميائي يمنع الأدوية المختلفة من دخول الدماغ، و الاستفادة من الأدوية المنتجة حديثاً في علاج أمراض الدماغ أو غيرها من القضايا المتعلقة بالدماغ غير فعالة. تم اكتشاف العديد من المركبات العلاجية المرتقبة لتوفير نسبة كبيرة عقبه أمام البحث العلاجي لأمراض الجهاز العصبي المركزي إذا كان لديهم اختراق BBB ضئيل أو معدوم.

نتائج اختبار نفاذية BBB على متشابهات Omarigliptin (الجدول 7) أوضحت افتقارهم إلى نفاذية BBB، و هذا ما يوضحهم خطط BOILED-Egg (شكل 14) حيث أن أي من المركبات لم ينفذ داخل الموقع الأصفر التي تشير إلى احتمالية عالية لنفاذية عبر الحاجز الدموي الدماغي. و نفس الشيء ملحوظ بالنسبة للمثبط المرجعي "Omarigliptin".



شكل 15: مخطط BOILED-Egg للمركبات Omarigliptin و "HITS".

■ البروتين السكري-P

من خلال الجدول 7 نلاحظ أن المركبات "HITS" و كذلك المركب المرجعي يمكن أن تكون ركائز (substrate) للبروتين السكري-P, حيث أن هذا البروتين يمكن أن يرتبط بمجموعة متنوعة من الركائز، و التي يتم توزيعها على نطاق واسع في جميع أنحاء جسم. توجد ناقلات Pgp في الأمعاء الدقيقة، الحاجز الدموي الدماغي الشعيرات الدموية و العديد من الأعضاء الحيوية مثل الكلى و الكبد. [12]

فهو يعمل على الحد من التوافر الحيوي لعدد من الأدوية التي يتم تناولها عن طريق الفم عن طريق إعادة ضخها إلى لمعة الأمعاء (بالإنجليزية: Gut Lumen)، الأمر الذي يحفز عملية طرح بعض الأدوية في العصارة الصفراء و البول، و يحمي عدد من أنسجة الجسم. أي أن البروتين السكري-P يعمل كـ "مكنسة كهربائية كارهة للماء"، حيث أنه يقوم بنقل أنواع معينة من الأدوية من الجزء الداخلي للغشاء البلازمي ثنائي طبقات الليبيد الخاص بالخلايا إلى الجزء الخارجي منها، أو إلى المحيط الخارجي. يؤثر عدد من الأدوية على نشاط البروتين السكري-P سواء بزيادة نشاطه (محفزات)، أو بتقليل نشاطه (مثبطات). فمحفزات البروتين السكري-P تعمل على زيادة نشاط هذا البروتين مما يؤدي إلى التقليل من مستويات الأدوية التي تتم معالجتها بواسطة عند استعمالها مع هذه المحفزات بشكل متزامن، الأمر الذي قد يقلل من فاعليتها العلاجية، أما مثبطات البروتين السكري-P على تقلل نشاط هذا البروتين، الأمر الذي يؤدي إلى زيادة مستويات الأدوية التي تتم معالجتها بواسطة عند استعمالها مع هذه المثبطات بشكل متزامن، مما يزيد من خطورة الإصابة بالأعراض الجانبية المرتبطة بهذه الأدوية. [13]

■ أنزيمات السيتوكروم p450

هي عبارة عن بروتينات تلعب دوراً هاماً في أيض و تصنيع العديد من المواد داخل و خارج الخلية. توجد في جسم الإنسان بشكل أساسي في الكبد، و هي مسؤولة عن العديد من العمليات الهامة، مثل تخليص الجسم من المواد السامة، و هضم الأدوية و استخلاص الجزء المفيد منها، إضافة إلى دورها في صنع عدة مواد ضرورية مثل هرموني الإستروجين و التستوستيرون و الأحماض الدهنية. أما تسميتها فهي تتكون من مجموعة مقاطع، فكلمة cyto تعني الخلية و ذلك لارتباط هذه المركبات بجدار الخلايا، و مقطع chrome p يرجع إلى احتوائها على صبغة، أما الرقم 450 فيدل على الطول الموجي، مقاساً بالنانومتر، للإشعاع الذي تطلقه هذه الإنزيمات عند ارتباطها بأحادي أكسيد الكربون.

من أهم أدوار هذه الأنزيمات عمليات أيض الأدوية (metabolism) حيث تتحكم في سرعة تحطيم الأدوية و مدة وجودها في الجسم، و يمكن 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 و قد يؤدي إلى التسمم.

من خلال الجدول 7 نلاحظ أن المركب CID67967166 يثبط إنزيمي: CYP2C19 و CYP2D6, أما المركبات التالية: CID 59323596, CID 89728258, CID 129103091, CID66811953, CID67967166, CID46209247, CID129045834 فليهم احتمالية تثبيط إنزيم CYP2D6, أما بالنسبة للمركب المرجعي فهو لا يثبط أي من إنزيمات سيتوكرومبي 450.

جدول 7. تقييم الحركية الدوائية (Pharmacokinetics) للمركبات "Hits" و المركب المرجعي.

المركب	GI absorption	BBB permeant	Pgp substrate	CYP1A2 Inhibitor	CYP2C19 Inhibitor	CYP2C9I nhibitor	CYP2D6 Inhibitor	CYP3A4 Inhibitor
CID123343845	High	No	Yes	No	No	No	No	No
CID129045834	High	No	Yes	No	No	No	Yes	No
CID46209247	High	No	Yes	No	No	No	Yes	No

تابع للجدول. 7

No	No	No	No	No	Yes	No	High	CID130288764
No	Yes	No	No	No	Yes	No	High	CID59323596
No	No	No	No	No	Yes	No	High	CID 66810526
No	Yes	No	No	No	Yes	No	High	CID66811953
No	Yes	No	No	No	Yes	No	High	CID129103091
No	Yes	No	No	No	Yes	No	High	CID89728258
No	No	No	No	No	Yes	No	High	CID59323605
No	Yes	No	Yes	No	Yes	No	High	CID67967166
No	No	No	No	No	Yes	No	High	Omarigliptin

▪ من خلال دراسة الحركية الدوائية، وجدنا أن معظم المركبات ليس لها مشاكل في التوافر البيولوجي الفموي و كذلك في الامتصاص المعوي.

أما بالنسبة للنفاذية عبر الغشاء الدماغي، فكل المركبات وكذلك Omarigliptin تفتقر إلى نفاذية BBB, و بشكل عام فدراسة ADME تعطينا نظرة ايجابية تجاه هذه المركبات خصوصا أنها لا تبتعد في خواصها كثيرا عن Omarigliptin و الذي أعطى نتائج جيدة في التجارب السريرية و بجرعة واحدة أسبوعية. [14]

المراجع الببليوغرافية

- 1- Ratnavali, G., et al. "An attempt to screen top colorectal cancer drugs by using Molegro Virtual Docker." *Ann. Biol. Res* 2 (2011): 114-126.
- 2- Thomsen, René, and Mikael H. Christensen. "MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking." *Journal of medicinal chemistry* 49.11 (2006): 3315-3321.
- 3- Dastmalchi, Siavoush, ed. *Methods and algorithms for molecular docking-based drug design and discovery*. IGI Global, 2016.
- 4- Wu, Wen-Lian, et al. "Discovery of novel tricyclic heterocycles as potent and selective DPP-4 inhibitors for the treatment of type 2 diabetes." *ACS Medicinal Chemistry Letters* 7.5 (2016): 498-501.
- 5- Hassan Baig, Mohammad, et al. "Computer aided drug design: success and limitations." *Current pharmaceutical design* 22.5 (2016): 572-581.
- 6- Andrew, L. Hopkins, R. Groom Colin, and Alex Alexander. "Ligand efficiency: a useful metric for lead selection." *Drug discovery today* 9.10 (2004): 430-431.
- 7- Daina, Antoine, Olivier Michielin, and Vincent Zoete. "SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules." *Scientific reports* 7.1 (2017): 42717.
- 8- Ghose, Arup K., Vellarkad N. Viswanadhan, and John J. Wendoloski. "A knowledge-based 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.
- 9- 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.

- 10- Veber, Daniel F., et al. "Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates." *Journal of medicinal chemistry* 45.12 (2002): 2615-2623.
- 11- 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.
- 12- Green, Adam K., et al. "Intestinal capacity of P-glycoprotein is higher in the juniper specialist, *Neotoma stephensi*, than the sympatric generalist, *Neotoma albigula*." *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 139.3 (2004): 325-333.
- 13- <https://altibbi.com%D9%85%D8%B5%>
- 14- Cox, Jason M., et al. "The discovery of novel 5, 6, 5-and 5, 5, 6-tricyclic pyrrolidines as potent and selective DPP-4 inhibitors." *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 26.11 (2016): 2622-2626.

الخلاصة العامة

- تقنية الالتحام الجزيئي تمثل تقنية نظرية حديثة تعمل على دراسة آليات التفاعل التي تسمح بتشكيل واستقرار المعقدات مستقبل - ربيطة، و هي تقنية سهلة و سريعة و غير مكلفة مقارنة بالطرق التجريبية. من خلال هذا العمل تم تطبيق هذه الطريقة من أجل دراسة المعقدات المتشكلة من إنزيم DPP4 و مثبطاته تحت هدف علاجي لمرض السكر نوع الثاني .

- في بداية الدراسة تم التحقق من مصداقية برنامج MVD المستخدم بحساب قيم الجذر التربيعي RMSD للمثبطات الموجودة في البنى البلورية التالية: 4PNZ, 1X70, 5ISM, 5I7U فوجدنا ما يلي :

✓ قيم RMSD المحسوبة اقل 2\AA في كل معقد.

✓ نسبة تطابق كبيرة موجودة بين موقع النموذج المصمم بالبرنامج وموقع نموذج البنية البلورية لكل مركب.

✓ قيمة RMSD ممتازة حتى في حالة ربيطة -715- و التي تحتوي على عدد من الروابط الدوارة.

❖ هذه النتائج تثبت كفاءة هذا البرنامج وقدرته على إعطاء نتائج قريبة جدا من الحقيقة.

- في الجزء الثاني من العمل تم تحديد أنماط التفاعل الموجودة بين إنزيم DPP4 و أربعة مثبطات مكتشفة حديثا من خلال هذه الدراسة تحصلنا على:

✓ قيم الطاقة Moldock Score المتحصل عليها في كل معقد معتبرة حيث تتراوح بين $-119,80\text{Kcal/mol}$ إلى $-170,09\text{Kcal/mol}$, مما يبين الاستقرار الكبير لهذه المثبطات وهذا ما يؤكد نسب التثبيط العالية و المحددة تجريبيا في أعمال سابقة.

✓ الروابط الهيدروجينية و روابط فاندر فالس يمثلان نوع الربط السائد في المعقدات المدروسة، مع ميول الكفة إلى روابط فاندر فالس نظرا لاحتواء بنية المثبطات على حلقات عطرية.

✓ تموضع ممتاز للمثبطات المدروسة داخل الفجوة الرئيسية وهذا ما يفسره اتساع هذا التجويف و قدرة استيعابه لمثبطات متنوعة هيكلية، وكذلك التغلغل في الداخل باتجاه الأحماض الامينية المكونة للثالوث المحفز.

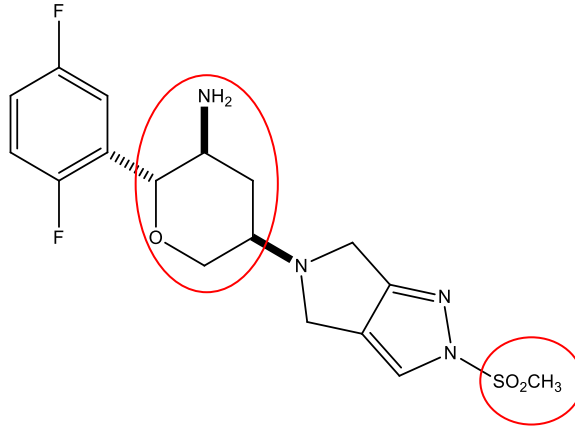
✓ تأكيد طبيعة التثبيط التنافسية لهذه المركبات من خلال ارتباطها بالموقع الفعال.

- في الجزء الثالث من العمل قمنا بمسح افتراضي ل 467 مركب مشابه لمثبط Omarigliptin نتيجة هذه الغرلة كانت كالتالي:

✓ تحصلنا على إحدى عشر مركب "Hits" لديهم قيمة طاقة تفوق المركب المرجعي، قيم طاقة Moldock score لهذه المركبات تتراوح ما بين $-149,11\text{Kcal/mol}$ و $-158,81\text{Kcal/mol}$

✓ على حسب بنية مركبات "Hits" فالمواقع المفتاحية في مثبط Omarigliptin هي المحددة بالأحمر

حيث وجدنا أن تواجد حلقة كربونية في النهاية الطرفية "S" ساهم كثيرا في تحسين قيمة الطاقة, كما أن زيادة طول الحلقة السداسية غير المتجانسة يمكن أن يكون له دور في زيادة الاستقرار, تزامنت هذه التغييرات مع تواجد بعض الذرات كمستبدلات على مستوى الحلقات.



- وفي الأخير تم دراسة الحركية الدوائية للمركبات Hits و مقارنتها بالمركب المرجعي فكانت النتائج كالتالي:
- ✓ المركبات Hits لم تسجل أي مخالفة بالنسبة لقواعد التشبه بالأدوية مما يبين توافرها البيولوجي عن طريق الفم.
- ✓ احتمالية امتصاص معوي عالية (HIA).
- ✓ عدم نفاذية عبر الحاجز الدموي الدماغي (BBB), مع العلم أن مثبط Omarigliptin المرجعي يشترك معهم في هذه الخاصية و التي لم تقف أمام فعالية تثبيطه في التجارب السريرية.
- ✓ بالنسبة للبروتين السكري-P، فكل المركبات HITS و كذلك المركب المرجعي يتوقع أن تكون ركائز له.
- ✓ بعض المركبات لديها احتمالية تثبيط لإنزيمي CYP2D6 , 19CYP2D على غرار Omarigliptin الذي لا يثبط أيا من إنزيمات سيتوكرومي 450.
- على ضوء هذه النتائج النظرية الأولية، وكتملة للعمل و يجب إضافة دراسة تجريبية في المختبر (in vitro) و على الكائن الحي (in vivo) للتأكد من صحة النتائج و تطويرها.