الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبي
République Algérienne Démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de L'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

المدرسة العليا لأساتذة التعليم التكنولوجي – سكيكدة

قسم الفيزياء والكيمياء.

Ecole normale supérieure d'Enseigner technologique –Skikda–

Département de physique et Chimie.

Mémoire de fin d'étude
مذكرة التخرج
En vue de l'obtention du diplôme: professeur d'enseignement secondaire
لنيل شهادة أستاذ تعليم ثانوي

Thème الموضوع

تطبيق نظرية الالتحام الجزيئي بواسطة برنامج MVD للكشف عن مثبطات جديدة لإنزيم ألفا جلوكوسيداز .

من إعداد:
- **علوي هيبة**
- **بن سالم نسام**

لجنة المناقشة:

كرايم خير الدين	**م ع أ ت ت – سكيكدة**	رئيسا
بوجدير اعتدال	**م ع أ ت ت – سكيكدة**	مشرفا
مسقالجي سمير.	**م ع أ ت ت – سكيكدة**	عضوا مناقشا
جيلاني إيمان.	**م ع أ ت ت – سكيكدة**	عضوا مناقشا

السنة الجامعية 2024/2023

شكر و عرفان

الحمد لله على نعمه الظاهرة والباطنة.

الحمد لله الذي وفقنا ويسر لنا إتمام هذا العمل الذي ندين فيه بأسمى عبارات الشكر والتقدير فتتناثر الكلمات شكرا وعرفانا، على صفائح الأوراق تباينا، تقديرا وامتنانا لمن علمنا، لمن وجهنا وقومنا، إلى الأستاذة المشرفة "بوجدير اعتدال" فلها التكريم منا.

ونعتز بحضور الأستاذ القدير " كرايم خير الدين" بصفته رئيس لجنة المناقشة..

كما أتقدم بخالص الشكر والتقدير للأستاذ "مسقالجي سمير" والأستاذة "جيلاني إيمان" كمناقشين لموضوع مذكرتنا.

كما لا يفوتنا أن نشكر جميع الموظفين والطاقم الإداري للمدرسة، كما نقدم كل التقدير والعرفان للأساتذة الذين أناروا طريقنا وتفضلوا بنصحنا، فكل الشكر لأساتذة المدرسة العليا وكامل طاقمها الإداري، ونخص بالشكر قسم الفيزياء والكيمياء وعلى رأسهم رئيس قسم الفيزياء والكيمياء " بوبكري هاني".

ونرجو من الله أن يجزيهم منا خير ما جزى به عباده إنه نعم المولى ونعم النصير وصلى الله وسلم وبارك على سيدنا محمد وآله وصحبه أجمعين.

الاهداء

لم تكن الرحلة قصيرة و لا ينبغي لها أن تكون، لم يكن الحلم قريبا و لا محفوفا بالتسهيلات، لكن فعلتها و نلتها.

الحمد الله حبا و شكرا و امتنانا، الذي بفضله ها أنا اليوم أنظر إلى حلما طال انتظاره و قد أصبح واقعا أفتخر به، ها انا اليوم أختم بحث تخرجي بكل همة و نشاط فالحمد الله، اللهم لا تجعله اخر عهدي من العلم و اجعلها خير بداية لطريق أعظم اللهم بارك لنا في عملنا و انفعنا بما علمتنا.

إلى فخري في الحياة.. سندي و مسندي .. رمز العطاء و التضحية .. الى القائدة الملهمة المحبة للعلم و التعلم و داعمي الأول في حياتي العملية و العلمية و شريكة نجاحاتي السابقة و القادمة بإذن الله و من استمدت منها قوتي أمي الثانية (خالتي).

إلى داعمتي الأولى و الأبدية ..ملاكي الطاهر .. من جعل الله الجنة تحت قدميها.. الى من تحملت كل لحظة ألم مررت بها و ساندتني عند ضعفي و هزلي الى من ظلت دعواتها تضم اسمي أمي الحبيبة

إلى ضلعي الثابت الذي لا يميل.. إلى من رزقت به سندا و ملاذي الأول و الأخير ..أخي علاء

إلى أول من انتظر هذه اللحظات ليفتخر بي إلى من كان عونا و معينا و رفيق دربي و شريك نجاحاتي الى الرجل الذي شجعني للوصول الى طموحاتي "خطيبي و زوجي المستقبلي نجيب"

الى الذين غمروني بالحب و أمدوني دائما بالقوة و كانوا موضع الاتكاء في كل عثراتي الذين رزقني الله بهم لأعرف من خلالهم طعم الحياة " ملاك راشدي، بدايدية ريان، نويوة ريان ،زقعار سندس و الجميلة قرين مروى"

الى كل من كان عونا و سندا في هذا الطريق لأصحاب الشدائد الى من أفاضني بمشاعره و نصائحه اليكم عائلتي، الى من سد الثغور التي لا ترى لمن له الأجر و الفضل بما سخى خالي زمار لخضر

إلى رفيقة الخطوة الاولى الى من كانت خلال السنين العجاف سحابا ممطرا صديقتي دخاني رهام

الى حبيبتي رفيقتي، أخت لم تنجبها أمي حاضنة داعمة لأسراري حافظة رفيقة هذه الرحلة إلى من شددت أز ري وشاطرنني أمري لأكمل الخطوات بن سالم نسام

أهدي تخرجي هذا إلى روح والدي الذي لم يشاهدني و أنا أتوج على هذه المنصة فكم تمنيت أن تكون بجانبي رحمك الله يا قطعة من قلبي

و أخيرا ها أنا اليوم اليوم أقف على عتبة تخرجي

اقطف ثمار تعبي و ارفع قبعتي بكل فخر

انتهت المسيرة الجامعية بفرحة مختلطة

بين فرحة التخرج و حزن الوداع

فاللهم لك الحمد قبل الرضا و لك الحمد ان رضيت و لك الحمد بعد الرضا .

علوي هيبة

الإهداء

من قال أنا لها نالها وأنا لها وإن أبت رغما عنها أتيت بها

تلوح آمال الحياة فأنتشي وأقول من فرط الطموح أنا لها.....ظللت أسعى خلفها في همة حتى عانقت غايتي ونلتها

فالحمد لله ما تم جهد ولا ختم سعي إلا بفضله الحمد لله الذي هيأ لي البداية ويسر لي الطريق وطيب لي المنتهى.

بكل ما أوتيت من مشاعر حب أهدي بحث تخرجي وثمرة جهدي:

إلى نفسي القوية الطموحة التي كانت أهلا للمصاعب والتحديات.

إلى عزي وقدوتي في الحياة داعمي الأول لتحقيق طموحاتي..... إلى من دأبت أناملة لأجل راحتي ونجاحي..... لمن حصد الأشواك عند دربي ليمهد لي طريق العلم سندي" أبي العزيز رفيق" هنيئا لي بك أيها الاب العظيم لطالما عاهدتك بالنجاح ها أنا أتممت وعدي وأهديته إليك.

إلى جنتي وحبيبتي التي أمدتني بمكارم الأخلاق قبل الحروف التي لطالما حفتني بتراتيل دعواتها الطاهرة التي حملتني بكفيها لأعتلي سلالم النجاح تاج رأسي" أمي الغالية نادية"

أمي أبي أنا ممتنة لكل ما قدمتموه لي من أول حرف رسمته حتى نيل شهادة تخرجي.

إلى من شددت عضدي بهم ملهمي نجاحي .....صناع قوتي الذين انتظروا قطاف ثمرة جهدي طويلا رياحين حياتي قرة عيني إخوتي "عبد الرحيم ،محمد وسيم، نور الهدى"

إلى من جاد علي بوقته وأكرمني بفضله الذي ساندني بكل حب عند ضعفي.....إلى الرجل الذي احتضن حلمي وشجعني لتحقيقه رفيق دربي أنيس روحي كتفي الثابت الذي لا يميل "يوسف" خطيبي وزوجي المستقبلي.

إلى من خففوا عني عبء هذه السنوات

إلى من أمدوني بالقوة والتوجيه آمنوا بقدراتي ورسموا لي المستقبل بخطوط من الحب والثقة لطالما دعموني لأصل إلى ما أنا عليه "جدي وجدتي، عمي و عماتي، خالي و خالاتي كل باسمه و مقامه".

الى رفاق الخطوة الأولى أصدقاء طفولتي إلى من كانوا خلال السنين العجاف سحابا ممطرا صديقاتي الأوفياء "م.ملاك،ميساء،نائلة،رحمة،وصال ،رندة،هديل".

إلى شريكة الصبا رفيقة الخندق ملاكي الحارس الذي كانت موضع إتكائي في عثرات حياتي التي لم تخذلني في كل ضيق ومحنة أختي وفراشة قلبي صديقتي "علوي هيبة".

إلى نجومي الساطعة رفقاء الضحكات والدموع الذين شاركوني خطوات هذه الرحلة الذين وضعهن الله بقلبي ليريني جمال الحياة بهن مثال الصحبة الصالحة ينابيع الصدق الصافي توائم روحي صديقاتي "ر.ملاك،مروى.ب.ريان،ن.ريان،زقعار سندس"

<<وآخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين>> عظم المراد فهان الطريق فلم يكن دربي مفروشا بالورود ولا محفوفا بالتسهيلات لكنني فعلتها فالحمد لله اللهم اجعلني مما علمتهم فاستخفتهم وأصلحت بهذا العلم أعمالهم وقلوبهم اللهم انفعني بما علمتني وزدني علما.

بن سالم نسام

الملخص

يعتبر إنزيم ألفا غلوكوسيداز بروتين ضروري في عملية هضم الكربوهيدرات في الجهاز الهضمي كما يعد ألفا جلوكوسيداز البشري هدفا أساسيا للعديد من الأدوية المستخدمة لعلاج داء السكري من النمط الثاني من خلال تشكيله معقد ثنائي يجمعه بهذه الأدوية . لتثبيط عمل هذه الانزيمات قمنا بدراسة حاسوبية عن طريق تقنية الإلتحام الجزيئي باستعمال برنامج الـMolegro Virtual Docker وذلك من أجل المساهمة في الكشف و تطوير مثبطات جديدة تستهدف إنزيم ألفا جلوكوسيداز البشري. حيث قمنا بدراسة التجاذبات الحاصلة بين بعض مشتقات الفلافونيدات والموقع الفعال لهذاالإنزيم معتمدين على مركب مرجعي أثبت فعاليته سابقا والمتمثل في مركب الميجليتول . قادنا تحليل نتائج الالتحام الجزيئي إلى اختيار مركبات مثيرة للاهتمام تمتلك نظريًا تقاربًا جيدًا مع ألفا غلوكوسيداز البشري.

كلمات مرشدة

ألفا غلوكوسيداز، داء السكري، الإلتحام الجزيئي

Résumé

L'alpha-glucosidase est une protéine essentielle dans le processus de digestion des glucides dans le système digestif. L'alpha-glucosidase humaine est également une cible principale de nombreux médicaments utilisés pour le traitement du diabète de type 2, en formant un complexe binaire avec ces médicaments. Pour inhiber l'action de ces enzymes, nous avons effectué une étude informatique utilisant le docking moléculaire à l'aide du programme Molegro Virtual Docker afin de contribuer à la découverte et au développement de nouveaux inhibiteurs ciblant l'enzyme alpha-glucosidase humaine. Nous avons étudié les interactions produisant entre certains dérivés flavonoïdes et le site actif de cette enzyme. Nous nous appuyons sur un composé de référence qui a déjà prouvé son efficacité, qui est le miglitol. L'analyse des résultats du docking moléculaire nous a conduits à sélectionner des composés intéressants ayant théoriquement une bonne affinité pour l'α-glucosidase humaine.

MOTS CLÉS

Alpha glucosidase, diabète, docking moléculaire.

Abstract

Alpha-glucosidase is an essential protein in the digestive system's carbohydrate digestion process. Human alpha-glucosidase is also the main target of many drugs used to treat type 2 diabetes and forms binary complexes that link in to these drugs. To inhibit the action of these enzymes, we performed molecular docking computational studies using the Molegro Virtual Docker program to contribute to the discovery and development of new inhibitors targeting the human alpha-glucosidase enzyme. We studied the interactions between certain flavonoid derivatives and the active site of this enzyme. We relied on a reference compound which has already proven its effectiveness, namely miglitol. The analysis of the molecular docking results led us to select interesting compounds that theoretically have a good affinity for human α-glucosidase.

KEYWORDS

Alpha glucosidase, diabetes, molecular docking.

الفهرس

المقدمة العامة 1

الفصل الأول: عموميات حول مرض السكري و الإنزيمات

I. مرض السكري 3

I.1. تعريف مرض السكري 3

I.2. أنواع مرض السكري 3

I.3.أسباب مرض السكري 4

I.4. أعراض مرض السكري 6

I.5. طرق العلاج 6

II .الإنزيمـــــــــــــــات 8

II .1. تعريف الإنزيمات 8

II .2. خواص الإنزيمات 8

II .3. أنواع الإنزيمات 9

II.3.1. إنزيمات الأكسدة و الاختزال 9

II.3.2. الإنزيمات الناقلة 9

II.3.2. إنزيمات التحلل المائي 10

II.3.3. إنزيمات الإضافة أو الحذف 10

II.3.4. الإنزيمات المناظرة 10

II.3.5. الإنزيمات الرابطة 11

II.4. الموقع الفعال 11

II.5. ألية عمل الإنزيمات 12

II.6. العوامل المؤثرة على النشاط الإنزيمي 15

II .1.6. تأثير الرقم الهيدروجينيpH 15

II .2.6. تأثير درجة الحرارة 16

II.3.6. تأثير كمية الإنزيم على الفعالية الانزيمية 16

II.4.6. تأثير تركيز المادة الأساس على الفعالية الانزيمية 17

II.7. تثبيط الانزيمات 18

II.8. أنواع المثبطات 18

II.1.8. التثبيط العكسي 18

2.8.II. التثبيط الغير عكسي 20

الفصل الثاني: إنزيم ألفا جلوكوسيداز و الفلافونيدات

I. الكربوهيدرات " المكون الرئيسي للهرم الغذائي" 21
1.I. أهمية الكربوهيدرات للجسم 21
II. الأيض (التمثيل الغذائي)Metabolism 22
1.II. هضم الكربوهيدرات 22
III. إنزيم ألفا جلوكوسيداز α-Glucosidase 23
1.III. بنية إنزيم ألفا جلوكوسيداز 25
2.III.الموقع الفعال لإنزيم ألفا جلوكوسيدازα-glucosidase 27
3.III. آلية عمل إنزيم ألفا جلوكوسيداز 27
1.3.III. آلية الإنعكاس البنيوي التشاكلي 28
3.III .2. آلية الاحتفاظ البنيوي التشاكلي 29
3.III .3 بعض الحالات الخاصة 30
IV. مثبطات ألفا جلوكوسيداز 30
IV .1.الأكاربوز 31
2.IV. الميجليتول 31
3.IV. آلية عمل المثبطات 31
IV .4. المثبطات الطبيعية 32
IV .4 .1. الفلافونيدات 32
2.4.IV. تصنيف الفلافونيدات 32
3.IV .أهمية الفلافونيدات في العلاج 36

الفصل الثالث: نمذجة الإلتحام الجزيئي بين بروتين - ليغاند بإستعمال برنامج MVD

I . مقدمة 38
II. تعريف النمذجة الجزيئية 38
III. الالتحام الجزيئي 39
IV. تعريف الجزيئي بروتين ليغاند 40
1.IV. تجاذبات فاندرفالس 40
2.IV. الروابط الهيدروجينية 41
3.IV. التأثيرات الإلكتروستاتيكية 42

V. إشكالية الالتحام لجزيئي 43
VI .أنواع الإتحام الجزيئي 43
1.VI. الالتحام الجزيئي بين بروتين-بروتين 43
2.VI. الالتحام الجزيئي بين بروتين- ليغاند 44
VII. أنماط الالتحام الجزيئي 45
VIII. مبدأ العمل 45
IX. برنامج نمذجة الالتحام الجزيئي(Molegro Virtual Docker (MVD 46
X. الخوارزمية المستعملة في عملية الالتحام الجزيئي 47
1.X. الخوارزمية MolDock Optimizer 47
2.X. دالة الترتيب MolDock Score 49

الفصل الرابع: تجاذبات بعض الفلافونيدات مع إنزيم جلوكوأميلاز

I .المقدمة 53
II . البنية الثلاثية للمستقبل "3L4W" 54
III. البنية الثلاثية للربيطة" الليغاند" 55
IV. تحضير المستقبل والليغاند 55
V. الكشف عن الفجوات الموجودة في المستقبل 56
VI. تحديد الموقع الفعال (فضاء البحث) 56
VII. تحديد خوارزمية البحث 56
VIII.إعادة الالتحام الجزيئي عن طريق برنامج الـ MVD 57
IX.تنفيذ عملية الالتحام الجزيئي للفلافونيدات و دراسة التأثيرات التجاذبية ليغاند – جلوكواميلاز 60
X. دراسة التأثيرات التجاذبية بين الليغاند-بروتين للمركبات الستة الأولى 67
XI. النتائج العامة للدراسة التجريبية 74
الخاتمة 75
المراجع 76

فهرس الأشكال	رقم الصفحة
الشكل (1): عمل إنزيمات الأكسدة والاختزال.	9
الشكل (2): عمل الإنزيمات الناقلة.	10
الشكل (3): عمل إنزيمات التحلل المائي.	10
الشكل (4): عمل الإنزيمات المناظرة.	11
الشكل (5): : نموذج التوافق المستحدث.	12
الشكل (6): تأثير الإنزيم على طاقة التنشيط للتفاعل.	13
الشكل (7): آلية عمل الإنزيم.	14
الشكل(8): نظرية القفل والمفتاح.	14
الشكل(9): ألية عمل فرضية الارتباط بالحفز.	15
الشكل (10): تغيرات النشاط الإنزيمي بدلالة الرقم الهيدروجيني.	16
الشكل (11): : تأثير درجة الحرارة على سرعة التفاعل الأنزيمي.	16
الشكل (12): تأثير تركيز الانزيم على الفعالية الانزيمية.	17
الشكل (13): تأثير تركيز الركيزة على الفعالية الانزيمية.	17
الشكل(14): التثبيط العكسي التنافسي.	19
الشكل (15):التثبيط العكسي الغير التنافسي.	19
الشكل (16): التثبيط اللاتنافسي.	20
الشكل (17): التثبيط الغير عكسي.	20
الشكل (18): الخطوات الأساسية لهضم السكر.	23

الشكل (19): الشكل البلوري لإنزي α-glucosidase.	24
الشكل (20): التحلل المائي المبسط للرابطة الجليكوسيدية.	25
الشكل (21): البنية الهيكلية لإنزيم ألفا جلوكوسيداز.	25
الشكل (22):المجال الهيكلي لمنطقة الوظيفة الامينية N-terminal .	26
الشكل (23): المجال الهيكلي لمنطقة الوظيفة الكربوكسيلية C-terminal .	26
الشكل (24): جيب الموقع الفعال في NTMGAM و CTMGAM.	27
الشكل (25): آلية الانعكاس البنيوي التشاكلي لتفاعل التحلل المائي بواسطة انزيم ألفا جلوكوسيداز.	28
الشكل (26): آلية الاحتفاظ البنيوي التشاكلي لتفاعل التحلل المائي بواسطة انزيم ألفا جلوكوسيداز	29
الشكل (27): البنية الكيميائية للأكاربوز.	31
الشكل (28): البنية الكيميائية للميجليتول.	31
الشكل (29): الهيكل الأساسي للفلافونيدات.	32
الشكل (30): الصيغة الكيميائية لـ Kaempferol و Quercetine .	33
الشكل (31): أمثلة عن مركبات الفلافون .	34
الشكل (32): الصيغة الكيميائية لمركب Catechine .	34
الشكل (33): أمثلة عن مركبات الفلافانون.	35
الشكل (34): الصيغة الكيميائية العامة للإيزوفلافون.	35
الشكل (35): الصيغة الكيميائية العامة للأنثيوسيان.	36

الشكل (36): تجاذبات فاندرفالس.	41
الشكل (37): الرابطة الهيدروجينية.	42
الشكل (38): التأثيرات الالكتروستاتيكية.	42
الشكل (39): شكل تخطيطي للالتحام بروتين _بروتين.	44
الشكل (40): شكل تخطيطي لالتحام بروتين_ليغاند .	45
الشكل (41): المبدأ العام للالتحام.	46
الشكل (42): واجهة برنامج MVD .	48
الشكل (43): خوارزمية البحث التطورية .	49
الشكل (44): الهيكل البلوري ثلالي الأبعاد لجلوكوأميلاز [3L4W] .	55
الشكل (45): بنية الميجليتول المرجعي ثلاثي الأبعاد و الوضعيات المثلى بعد عملية الإلتحام الجزيئي.	60
الشكل (46): أهم المركبات ذات أحسن قيمة طاقة الخاصة بجلوكوأميلاز .	66
الشكل (47): مختلف تجاذبات للميجليتول مع إنزيم جلوكوأميلاز.	68
الشكل (48): مختلف التجاذبات للمركب 10621مع إنزيم جلوكوأميلاز.	69
الشكل (49): مختلف التجاذبات للمركب 100946327 مع إنزيم جلوكوأميلاز.	70
الشكل (50): مختلف التجاذبات للمركب 145559755 مع إنزيم جلوكوأميلاز.	71
الشكل (51): مختلف التجاذبات للمركب 16790075 مع إنزيم جلوكوأميلاز.	72
الشكل (52): مختلف التجاذبات للمركب 83489 مع إنزيم جلوكوأميلاز.	73
الشكل (53): مختلف التجاذبات للمركب 442431 مع إنزيم جلوكوأميلاز.	74

فهرس الجداول	الصفحة
الجدول(1): أنواع الذرات المشكلة للرابطة الهيدروجينية.	51
الجدول(2): نتائجRMSD للميجليتول المرجعي MIG-1001الخاصة بإعادة الالتحام.	58
الجدول(3): أحسن ثلاثين وضعية مرتبة وفق دالة الترتيبMolDock Score	61

قائمة المختصرات:

- **MVD**: برنامج الإلتحام الجزيئي .
- **PDB**: بنك بيانات البروتين.
- **Docking**: الإلتحام.
- **ATP**: أدينوزين ثلاثي الفوسفات.
- **MIG-1001**: الميجليتول.
- **α-GLY**: **أنزيم ألفا جلوكوسيداز**.
- **PLP**: جهد خطي متقطع.
- **PH**: الأس الهيدروجيني.
- **RMSD**: الظابط الإحصائي.
- **EI**:إنزيم مثبط.
- **ES**:إنزيم ركيزة.
- **EIS**:إنزيم مثبط ركيزة.
- **RMN**: الرنين المغناطيسي النووي.
- **3D**: ثلاثي الابعاد.

مقدمة عامة

المقدمة العامة

داء السكري اضطراب أيضي مزمن، يحدث عندما يعجز البنكرياس عن إنتاج هرمون الأنسولين بكمية كافية أو عندما يعجز الجسم عن الاستخدام الفعال للأنسولين الذي ينتجه، ارتفاع مستوى الغلوكوز في الدم من النتائج الشائعة الدالة على خلل في ضبط مستوى السكر في الجسم، إذ يؤدي مع مرور الوقت الى تلف العديد من الأجهزة الحيوية للجسم لا سيما الأعصاب و الأوعية الدموية ، وفقا للجمعية الأمريكية لداء السكري (ADA) يصنف هذا المرض الى أربعة أنماط و يعتبر النوع الثاني و المعروف ب"داء السكري الغير معتمد على الانسولين "الأكثر شيوعا في العالم **[1]** .

بلغت هذه المعضلة الصحية أبعادا مقلقة على الصعيدين العالمي و المحلي ، فطبقا للتقارير الصادرة عن منظمة الصحة العالمية و التي تنبأت بأن العدد المتوقع للمصابين بهذا الداء سيرتفع ليتجاوز 643 مليون نسمة بحلول سنة 2030 مقارنة ب 537 ملايين نسمة في 2021، يبعث هذا التطور المتنامي لمعدلات الإصابة بالسكري على القلق في الأوساط الصحية العالمية بصفة عامة و الجزائرية بصفة خاصة إذ أنه يؤدي إلى مضاعفات خطيرة ناهيك عن التكلفة الاقتصادية الباهضة لعلاج المرض و التي تثقل كاهل الأفراد، فالبحث عن طرق علاج جديدة و تصميم أدوية حديثة أكثر فعالية و أمانا بات أمرا ضروريا للسيطرة على هذا المرض. في ظل التقدم العلمي التكنولوجي الذي شهده قطاع الأبحاث الطبية و الصيدلانية في الآونة الأخيرة برزت "النمذجة الجزيئية" كتقنية حديثة في البيولوجيا و الصيدلة فهي تعمل على محاكاة آليات تفاعل المركبات الكيميائية و دراسة التفاعلات المتوقعة كخطوة أولى قبل تجربتها مخبريا و ذلك بالاعتماد على النماذج الجزيئية النظرية عن طريق دراسة تجاذبات جزيئات صغيرة "ليغاند" مع مستقبلاتها "بروتين" بهدف تطوير و عرض مثبطات أكثر فعالية لإنزيم معين ، حاليا " النمذجة الجزيئية" هي النهج التنبؤي الأكثر استخداما نظرا لما تقدمه من امتيازات من اختزال للجهد،

الوقت و التكلفة اللازمة لتطوير الأدوية و تقليل الاعتماد على التجارب السريرية على الحيوانات و على البشر مما يحسن من أخلاقيات البحث العلمي.

في هذه المذكرة استخدمنا طرق الالتحام الجزيئي لدراسة فعالية بعض الفلافونيدات و مدى قدرتها على تثبيط إنزيم ألفا جلوكوسيداز(جلوكوأميلاز)، هذا الانزيم الموجود في فرشاة الخلايا المعوية في الصائم و الذي يلعب دور فعال في مختلف العمليات البيولوجية بما في ذلك عملية استقلاب الكربوهيدرات فهو يقوم بحلمهة السكريات الى غلوكوز و تحليل الروابط الجلكوسيدية فمثبطات هذا الانزيم تمنع زيادة مستويات السكر في الدم عن طريق تأخير امتصاص الأمعاء للكربوهيدرات و بالتالي السيطرة على مستويات الغلوكوز في الدم **[1] [2]**.

المذكرة تنقسم إلى أربعة فصول، أولها نظري يهتم بمرض السكري و الإنزيمات بشكل عام، ثانيها هو عموميات حول إنزيم ألفا جلوكوسيداز و الفلافونيدات. ثالثها هو مدخل للنمذجة الجزيئية باستعمال برنامج الالتحام الجزيئي أما في الفصل الأخير فأجملنا فيه العمل التجريبي باستعمال المحاكاة ثم ناقشناالنتائج المتحصل عليها.

الفصل الأول:

عموميات حول مرض

السكري و الإنزيمات.

I. مرض السكري

1.I. تعريف مرض السكري

داء السكري هو اضطراب أيضي يتميز بارتفاع مستويات الغلوكوز في الدم بشكل غير طبيعي، حيث يُعدّ الغلوكوز المصدر الرئيسي للطاقة في الجسم، يتم نقله بواسطة الأنسولين وهو هرمون يفرزه البنكرياس إلى الخلايا، تعود أسباب ارتفاع سكر الدم في مرض السكري إلى:

نقص الأنسولين: قد يكون البنكرياس غير قادر على إنتاج كمية كافية من الأنسولين و قد ينتج كمية طبيعية لكن الجسم لا يستجيب له بشكل كافٍ [3].

يمكن أن يؤدي ارتفاع سكر الدم إلى مضاعفات خطيرة، تشمل: اعتلال الشبكية العين، أمراض الكلى، اعتلال الأعصاب وأمراض القلب [3] .

2.I. أنواع مرض السكري

1.2. I السكري من النوع الأول

هو مرض مناعة ذاتي، في حالة الإصابة به، لا يتمكن الجسم من إنتاج الأنسولين، بسبب مهاجمة الجهاز المناعي لخلايا بيتا في البنكرياس التي تنتج الأنسولين وتدميرها. و هو عادًة ما يتم تشخيصه في الأطفال والمراهقين، ولكنه قد يظهر في أي سن. يجب على مرضى السكري من النوع الأول أخذ جرعات أنسولين يومية للسيطرة على المرض **[3]** .

2.2. I السكري من النوع الثاني

يختلف داء السكري من النوع الثاني عن النوع الأول بشكل أساسي في آلية حدوثه ففي النوع الثاني، لا ينقص الجسم هرمون الأنسولين بشكل فعلي، بل تظهر مشكلة في قدرة خلايا الجسم على الاستجابة له بشكل طبيعي حيث يُفرز البنكرياس الأنسولين بشكل طبيعي، وربما بكميات زائدة عن الحاجة في بعض الأحيان و تكمن المشكلة في مقاومة خلايا الجسم مثل: خلايا العضلات والدهون والكبد، للأنسولين ويؤدي ذلك إلى تراكم السكر (الجلوكوز) في الدم بدلاً من دخوله الخلايا لتوفير الطاقة، ويأتي هذا النوع في أي سن، حتى خلال فترة الطفولة، ولكنه عادًة ما يصيب الأشخاص البالغين ، ويعد النوع الأكثر انتشارًا من بين أنواع السكري.

I .3.2. سكري الحمل

هذا النوع من السكري يأتي للسيدات خلال فترة الحمل، عادة ما تختفي الأعراض بعد الولادة، لكن بعض النساء أكثر عرضة للإصابة بداء السكري من النوع الثاني لاحقًا، وفي بعض الحالات يستمر السكري من النوع الثاني مع السيدات بعد الولادة **[3]**.

I .4.2. مقدمات أو ما قبل السكري:

في هذا النوع من السكري يكون مستوى السكر أعلى من الطبيعي، لكنه لا يكون مرتفعاً كحالة الإصابة بالسكري. حيث يبلغ مستوى السكر ما بين 100–125 ملغم/دسل وقد يعاني مريض مقدمات السكري من بعض أعراض السكري. إذا لم يتم التعامل مع هذا النوع من المرض سيتعرض المريض الإصابة بالسكري من النوع الثاني.

I.3. أسباب مرض السكري

أكد الباحثون ان هناك عدة عوامل تساهم في ظهور مرض السكري و تتفاقم الإصابة به ، من بينها:

- **الوراثة:**

لا يمكن الجزم أن مرض السكري مرض وراثي بحت، حيث أثبتت الإحصائيات أن الآباء المرضى بالسكري لا يكون أبناءهم مصابين به إلا أنهم أكثر عرضة للإصابة من غيرهم، إذ يمكن إجراء الاختبارات الجينية لتحديد ما إذا كان الطفل مصاب أو لا **[4] [5]**.

- **السمنة:**

ليس كل بدين مصاب بالسكري إلا أن أغلب المصابين بالسكر وزنهم زائد عن الطبيعي إذ أن خلايا الجسم في هذه الحالة تعجل إنتاج الأنسولين حتى يسهل نقل الغلوكوز للخلايا و منه فالسمنة المفرطة تؤدي الى زيادة الاستعداد للإصابة **[6] [5]** .

- **فشل أو خلل في البنكرياس**

ناتج عن تعاطي بعض الأدوية و العقاقير مثل الكورتيزون و بهذا يعجز البنكرياس عن إفراز الأنسولين مما يسمح بزيادة تركيز الغلوكوز في الدم.

- **العمر:**

تزداد احتمالية الإصابة بمرض السكري مع تقدم العمر، حيث أثبتت الدراسات أن خطر الإصابة بالسكري النوع الثاني يزداد بمقدار 4% الى 6 % لكل عام بعد سن الأربعين **[6]**.

- **الأمراض العضوية:**

خاصة المعدية كالبنكرياس الكحولي و التشمع الكبدي و الحمى القرمزية تتسبب الحمى المترتبة عنها ارتفاع تركيز الغلوكوز في الدم، إذ يقود هذا للإصابة بمرض السكري **[4]**.

- **الانفعالات النفسية الشديدة:**

لا يمكن اعتبار الانفعالات النفسية سببا مباشرا للإصابة بالسكري إلا أن التعرض لها يعتبر استعدادا حقيقيا لاستقبال المرض، حيث يتعرض الجسم إلى إفراز الكثير من الهرمونات منها الأدرينالين ، والتي بدورها تزيد من استهلاك الجسم لمصادر الطاقة كالسكر والدهون مما يعزز فرص مقاومة الأنسولين وتمهد الإصابة بداء السكري **[4]** .

I .4. أعراض مرض السكري

إن أعراض و علامات داء السكري كثيرة أهمها:

- ارتفاع نسبة السكر في الدم وهذا راجع الى وظيفة الكبد التي تعمل على رفعه و غياب ادخاره من طرف أنسجة الجسم.
- كثرة التبول و العطش الشديد و ذلك راجع الى زيادة معدل الجلوكوز في الجسم و الذي يعمل على خروج المياه من أنسجة الجسم و بالتالي يشعر المريض بالجفاف و يشرب كمية كبيرة من السوائل .
- تنمل و ضعف اليدين و الرجلين .
- زيادة وزن المريض أو نقصانه لأن جسمه يحاول دائما تعويض ما يفقده من سوائل و سكر فقد يجد نفسه يأكل بشكل أكبر من المعتاد .
- يشعر المريض بالتعب و الإجهاد و عدم التركيز .
- الإغماء و هذا ناتج عن ارتفاع كبير للسكر **[4] [5]**.

I .5. طرق العلاج

يهدف علاج مرض السكري بشتى طرقه الى تقليل مستويات السكر في الدم بشكل رئيسي و أما أهم طرق علاجه فهي:

- **طرق علاج جميع انواع مرض السكري**

إن هذه الطرق لا تقل أهمية عن الادوية حيث انها تهدف الى المحافظة على وزن الجسم المثالي و ذلك باتباع حمية غذائية صحية و كذلك من الضروري ممارسة التمارين الرياضية باستمرار .

- **العلاج بالأنسولين**

يُعدّ الأنسولين علاجًا أساسيًا لمرضى السكري من النوع الأول، كما يُستخدم في بعض الحالات لمرضى السكري من النوع الثاني عندما لا يُجدي العلاج بالأدوية الأخرى نفعًا، حيث أن للأنسولين أشكال متعددة فمنها ما يبدئ تأثيره فورا و منها ما يستمر تأثيره لفترات طويلة يتم إعطاؤه على شكل حقن و كذلك عبر ما يسمى بمضخات الأنسولين .

- **الأدوية الغير محتوية على الأنسولين**

تعطى هذه الأدوية إما على شكل حبوب أو على شكل حقن و لها أنواع عديدة منها ما يعمل على تحفيز إفراز الأنسولين من البنكرياس و منها ما يثبط إنتاج الجلوكوز من الكبد و هناك أنواع أخرى تعمل على زيادة استجابة خلايا الجسم للأنسولين.

- **إجراء عملية زراعة للبنكرياس**

تفيد هذه العملية مرضى النوع الأول حيث عند نجاحها لا يحتاج المريض الى حقن الأنسولين مرة أخرى و لكنها تحمل مخاطر عدة تتمثل في رفض الجسم للعضو الجديد و لذلك تجرى هذه العملية عادة للمرضى الذين لا يستجيبون للأنسولين او للذين سيجرون عملية زراعة للكلية **[3]** .

II . الإنزيمـــــــــــات

II .1. تعريف الإنزيمات

هي جزيئات حيوية و هي عبارة عن بروتينات تساعد على تحفيز وزيادة سرعة التفاعلات الكيميائية داخل الخلايا الحيويّة في جسم الإنسان. تتكون الإنزيمات من أحماض أمينية عديدة مرتبطة فيما بينها بروابط بيبتيدية مشكلة سلسلة طويلة، عادة ما تكون بعض الانحناءات مما يعطي لها شكلها ووظيفتها المميزة **[7]**.

II .2. خواص الإنزيمات

تتميز الإنزيمات بالعديد من الخصائص و المتمثلة فيما يلي:

1) ذات أوزان جزيئية تتراوح بين 1300 دالتون إلى عدة ملايين و هذه المقادير تدل على كبر حجم جزيئات الإنزيم .
2) تدخل الإنزيمات في التفاعلات الكيميائية بكميات قليلة دون أن تغير في تركيبها الكيميائي و دون أن تستهلك أو تموت إذ يمكن استخدامها بشكل متكرر .
3) أهم خواص الإنزيمات كونها متخصصة إذ أنها تعمل على مادة تفاعل واحدة أو عدة مواد تفاعل (لكنها من نفس النوع) لينتج عن ذلك ناتج أو عدة نواتج.
4) تحتوي جميع الإنزيمات على منطقة يطلق عليها إسم الموقع الفعال و هي عبارة عن وحدات من الأحماض الأمينية تشترك في عملية التحفيز .
5) الإنزيم عبارة عن عامل حفاز و هذا يعني أنه لا يستطيع تغيير موضع الإتزان للتفاعل الكيميائي أي أنه يعجل التفاعل و التفاعل العكسي بنفس الدرجة.
6) يوجد العديد من الإنزيمات لا تظهر فعاليتها في حالة عدم وجود مكونات غير بروتينية و تكون هذه العوامل المساعدة إما على شكل معادن أو على شكل جزيئة عضوية تسمى مرافقات الإنزيم.

7) غالبية التفاعلات المحفزة بواسطة الإنزيمات هي تفاعلات فعالة و بشدة حيث أنها تحصل بسرعات أكبر بمعدل 10^8 الى 10^{10} ضعفا مقارنة بالتفاعلات غير المحفزة.

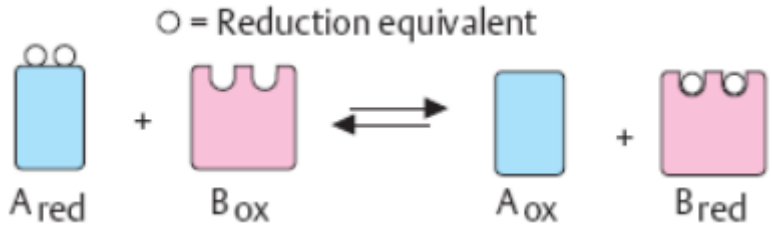
8) يؤدي الإنزيم وظيفته بصورة كاملة تحت الظروف الفسيولوجية المثلى من درجة الحرارة و الأس الهيدروجيني و خصوصية مادة التفاعل **[8] [7] [2] [9]**.

II .3. أنواع الإنزيمات

تنقسم الإنزيمات بحسب طبيعة التفاعل الذي تحفزه إلى ستة أنواع و هي:

II .1.3. إنزيمات الأكسدة و الاختزال

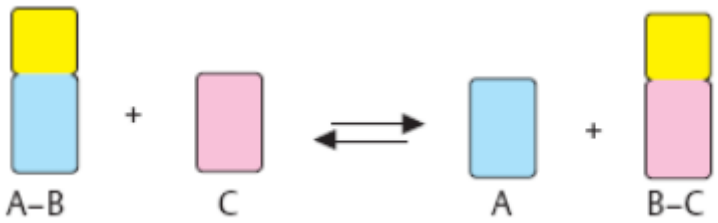
تتضمن الإنزيمات التي يتم فيها انتقال الإلكترونات من مادة مختزلة الى مادة مؤكسدة كما في التفاعل العام الاتي :



الشكل1: عمل إنزيمات الأكسدة و الإختزال.

II .2.3. الإنزيمات الناقلة

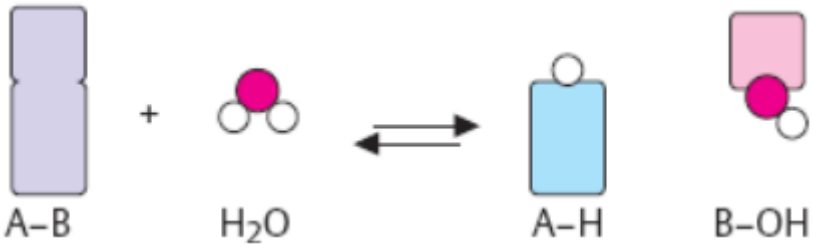
هي الإنزيمات التي تحفز نقل مجموعة كيميائية من مركب لأخر كما في التفاعل العام الاتي :



الشكل2: عمل الإنزيمات الناقلة.

II .2.3. إنزيمات التحلل المائي

هي إنزيمات تحفز على تفكيك الروابط في الجزيئات بإضافة الماء كما في التفاعل العام الاتي :



الشكل3: إنزيمات التحلل المائي.

II .3.3. إنزيمات الإضافة أو الحذف

إنزيمات تقوم بإزالة مجموعة كيميائية من مادة التفاعل فينتج مركب يحتوي على رابطة مزدوجة او قد تضيف مجموعة الى الرابطة المزدوجة فينتج مركب يحتوي على رابطة أحادية .

II .4.3. الإنزيمات المناظرة

تشمل الإنزيمات التي تحفز تفاعلات التناظر حيث أنها تعمل على نقل مجموعات كيميائية داخل الجزيء لتكوين المتشاكلات isomère أي أنها تحول المركب الى مركب مشابه له بإعادة ترتيب وضع الذرات كما في التفاعل العام الاتي :

الشكل4: عمل الإنزيمات المناظرة.

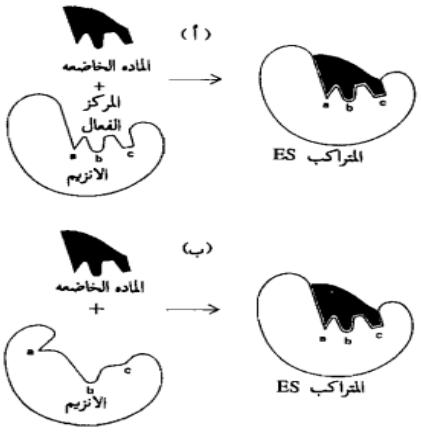
5.3.II. الإنزيمات الرابطة

وهي إنزيمات تعمل على ربط جزيئتين مع بعضهما حيث تعتمد في ذلك على تكسير رابطة الفوسفات الغنية بالطاقة الموجودة في جزيئة ATP أو المركبات المشابهة لها **[8]**.

4.II. الموقع الفعال

المركز الفعال أو النشط للإنزيم هو المنطقة التي ترتبط بها مواد التفاعل وهو كذلك يحتوي على مجموعات كيميائية فعالة تساهم في تكوين و تفكيك الروابط والتي تعرف بمجموعات الحفز و بالرغم من وجود اختلاف كبير في تركيب الإنزيمات و تخصصها و طريقة عملها إلا ان المراكز الفعالة فيها تشترك في بعض الخواص العامة و هي:

1) يحتل الموقع الفعال حيزا صغيرا من الحجم الكلي للإنزيم حيث أن معظم الأحماض الأمينية المكونة للإنزيم بعيدة الى حد ما عن مادة التفاعل .
2) يتميز الموقع الفعال بكونه ثلاثي الابعاد فهو ليس بنقطة ولا بخط مستقيم و لا حتى بمستوي و عادة ما يتكون من أحماض أمينية اتية من مواضع مختلفة في سلسلة عديد الببتيد مثال على ذلك إنزيم لايسوزيم lysozyme المكون من 129 حمض أميني فان المجاميع الكيميائية المساهمة في المركز الفعال تأتي من الأحماض الأمينية التي أرقامها 35 52 62 63 101
3) ترتبط مواد التفاعل بالأنزيمات بواسطة قوى ضعيفة نسبيا.
4) المواقع الفعالة عبارة عن شقوق (حفر) في الانزيم ترتبط بها مادة التفاعل.
5) يعتمد تخصص الانزيم في ربط مادة التفاعل على التوافق الشكلي بين مادة التفاعل و المركز الفعال للأنزيم حيث ان مادة التفاعل يجب ان يكون لها شكل مطابق او متمم للمركز الفعال **[7]**.



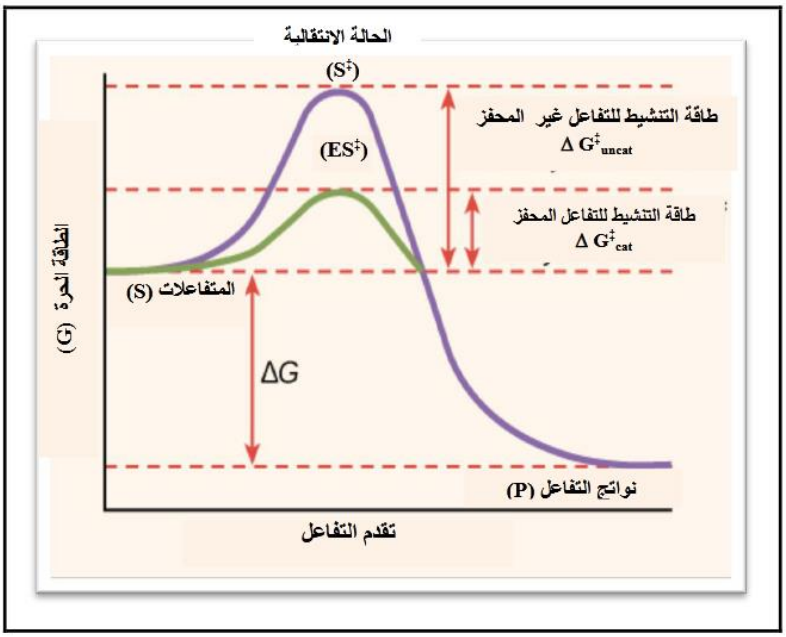
الشكل5: نموذج التوافق المستحدث.

5.II . ألية عمل الإنزيمات

يمكن فهم الية عمل الانزيم من زاويتين أولا من خلال فهم التغير في الطاقة التي تحث اثناء التفاعل، ثانيا عن طريق شرح كيفية اتحاد الركيزة بالموقع الفعال للإنزيم **[10]**.

1.5.II. التغير في الطاقة الذي يحدث أثناء التفاعل

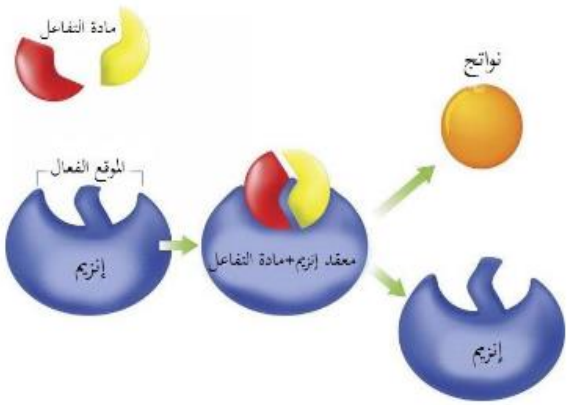
يمكن التعبير عن التغير في الطاقة بمفهوم "معالجة الحفز" و يعني التغير في الطاقة الحرة للتنشيط (ΔG) التي تمثل الحد الأدنى من الطاقة الواجب توفيرها للتفاعل حتى يحدث، في الواقع كل التفاعلات الكيميائية تملك حاجز طاقة يفصل المواد المتفاعلة عن المواد الناتجة يطلق عليها طاقة التنشيط و هي الفرق في الطاقة بين المتفاعلات و المركب الانتقالي الذي يظهر عند تكوين النواتج ، لكي تتفاعل الجزيئات يجب أن تملك طاقة كافية للتغلب على طاقة التنشيط، ففي غياب الإنزيم نسبة جد ضئيلة من الجزيئات لها طاقة كافية تمكنها من الوصول للحالة الانتقالية مما يجعل التفاعل أبطئ بينما في وجود الإنزيم نجد أن التفاعل يصبح أسرع ويفسر هذا بأن الإنزيم نقل التفاعل الى مسار اخر بديل يملك طاقة تنشيط منخفضة مما يجعل التفاعل أسرع و اكثر كفاءة من التفاعل الغير محفز **[10]**.



الشكل6: تأثير الانزيم على طاقة التنشيط للتفاعل.

II. 5 .2. اتحاد مادة التفاعل بالموقع الفعال

يرتبط الإنزيم(E) بمادة التفاعل (S)عن طريق روابط كيميائية مشكلا معقد (الإنزيم–مادة التفاعل) في منطقة صغيرة من الإنزيم تدعى الموقع الفعال و التي ستحدد خصوصية الانزيم **[11]**.

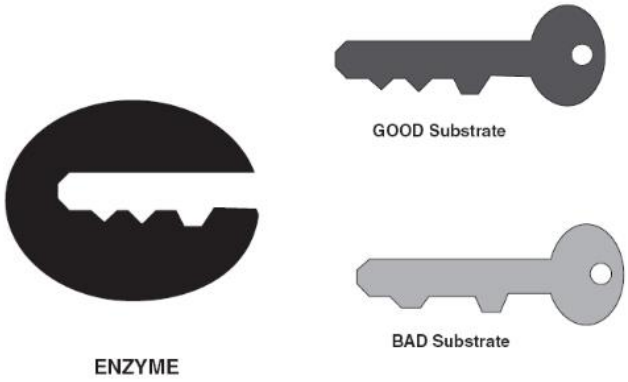


الشكل7: ألية عمل الانزيم.

✓ حيث تم إقتراح فرضيتين لإرتباط الإنزيم مع مادة التفاعل:

1. فرضية القفل والمفتاح

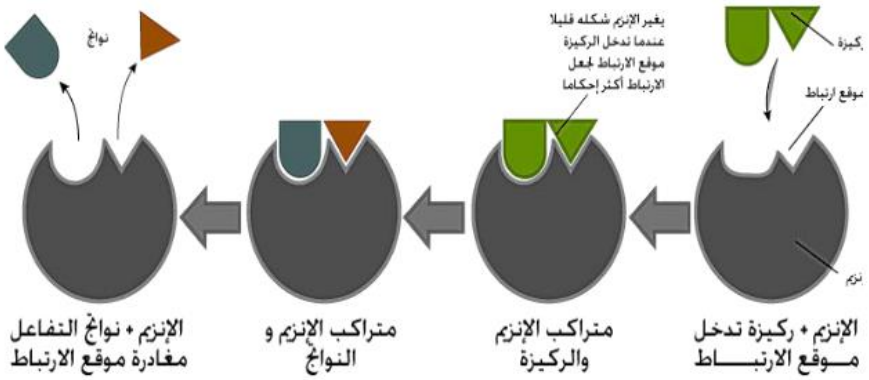
اقترحت هذه الفرضية سنة 1890 من طرف الباحث أميل فيشر، تنص على وجود توافق فراغي بين الركيزة و الموقع الفعال للإنزيم أي أن شكل الموقع الفعال موافق تماما للمادة الأساس حيث أن هذا التوافق يشبه عمل القفل و المفتاح إذ يؤثر المفتاح (الركيزة) على قفل واحد فقط (الموقع الفعال) ، نجح هذا النموذج في تفسير خصوصية الإنزيم **[8]**.



الشكل8: نظرية القفل و المفتاح.

2. فرضية الارتباط بالحفز (نموذج التوافق المستحدث)

اقترحت هذه الفرضية سنة 1958م من قبل الباحث دانيال كوشلاند وهي تحوير لفرضية القفل و المفتاح، تنص على مرونة الموقع الفعال حيث تحدث الركيزة تغير طفيف (تغيرات فراغية) على الموقع الفعال للإنزيم و هذا من شأنه أن يحسن من التلاؤم و التكامل مع الركيزة لحدوث التفاعل **[11]**.

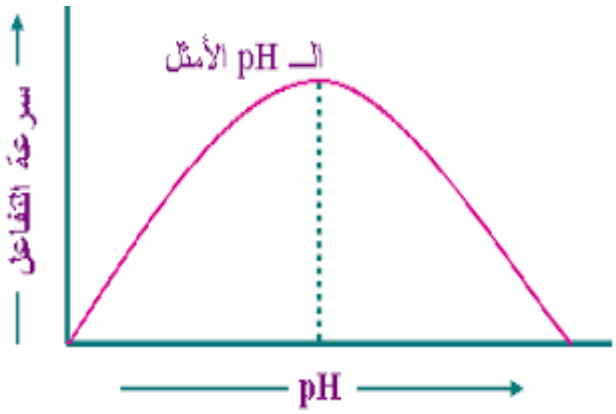


الشكل9: ألية عمل فرضية الارتباط بالحفز.

II. 6. العوامل المؤثرة على النشاط الإنزيمي

II .1.6. تأثير الرقم الهيدروجيني pH

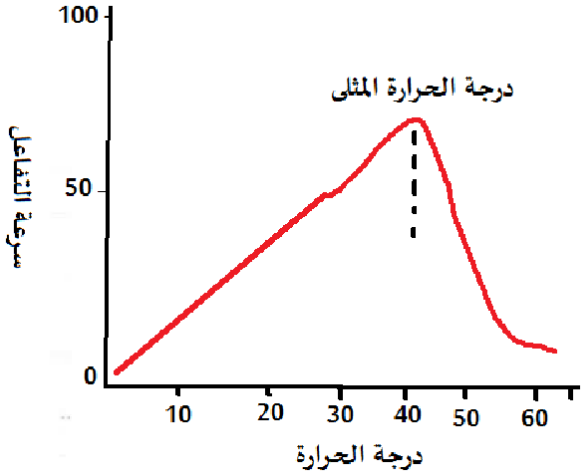
يملك كل إنزيم رقما هيدروجينيا أمثل، حيث يبدي عنده أقصى فعالية في تحفيز التفاعلات بسرعة و كفاءة يسمى " الرقم الهيدروجيني الأعظم " اذ يتراوح بين 5–9 لأغلب الإنزيمات، فبعد درجة الحموضة المثلى يبدأ معدل سرعة التفاعل في الانخفاض بسبب تغير شحنة الأحماض الأمينية المكونة للإنزيم وبالتالي تغير شكله مما يؤدي الى فقدان قدرته على التحفيز **[8]**.



الشكل10: تغيرات النشاط الإنزيمي بدلالة الرقم الهيدروجيني.

II .2. 6. تأثير درجة الحرارة

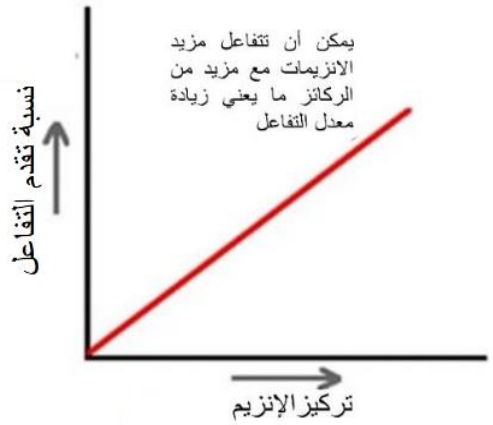
إن سرعة التفاعل المحفز بالأنزيم تزداد مع زيادة درجة الحرارة حتى تصل الى درجة حرارة مثلى حيث أثبتت الدراسات أن كل زيادة قدرها 10درجات مئوية للتفاعل تزيد معدل السرعة للضعف ،فعند درجة حرارة مثلى يكون معدل التفاعل أعلى ما يمكن بعدها يبدأ في الانخفاض بسبب تفكك الروابط الهيدروجينية و القوى الأخرى المحافظة على هيكل البروتين(الانزيم)و بالتالي يتشوه و يفقد فعاليته **[8]**.



الشكل11: تأثير درجة الحرارة على سرعة التفاعل الأنزيمي

II.3.6. تأثير كمية الإنزيم على الفعالية الانزيمية

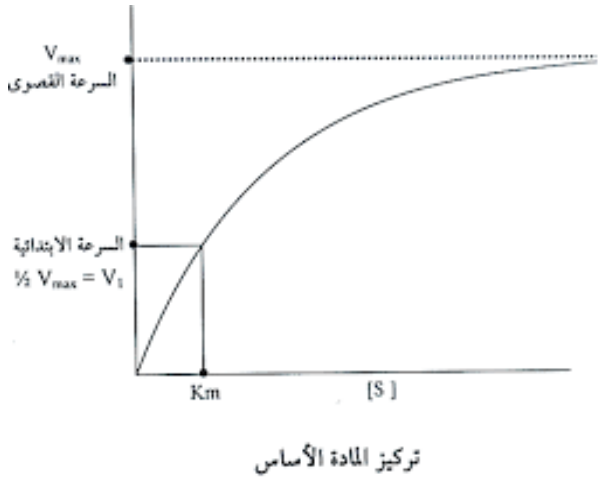
تتناسب سرعة التفاعل طرديا مع تركيز الانزيم (شرط بقاء تركيز الركيزة ثابت) حتى تصل الى حد اقصى، وذلك ان جزيئات الانزيم المتاحة اكبر فلا يمكن زيادة سرعة التفاعل اكثر لان كل جزيء من الانزيم يكون مرتبط بجزيء من مادة التفاعل **[9]**.



الشكل12: تأثير تركيز الانزيم على الفعالية الإنزيمية.

II .4.6. تأثير تركيز المادة الأساس على الفعالية الانزيمية

من أجل تركيز ثابت للإنزيم وعند تراكيز منخفضة من المادة الأساس نجد أن سرعة التفاعل الانزيمي تزداد بزيادة تركيز الركيزة ، ومع الزيادة في التركيز تنخفض السرعة الى ان تصبح ثابتة و ذلك لأن جميع المواقع الفعالة للإنزيم تكون مشغولة بالارتباط بالركيزة **[9]**.



الشكل13: تأثير تركيز الركيزة على الفعالية اللإنزيمية.

II .7. تثبيط الانزيمات

يمكن إيقاف أو خفض سرعة التفاعل الإنزيمي عن طريق "تثبيط فعالية الانزيم"، من خلال تغيير درجة الحموضة أو رفع درجة الحرارة ، أو بإضافة مواد كيميائية تدعى " المثبطات" قد تكون أيونات معدنية أو مركبات جزيئية عضوية صغيرة تؤثر على عمل الإنزيم و تقلل من نشاطه، إن دراسة التثبيط تمكننا من التعرف على الوظيفة المتواجدة في الموقع الفعال و ألية عمل الإنزيم **[9]**.

تؤدي المثبطات فعلها بناءا على عامل واحد أو أكثر منها:

- الموقع الفعّال للإنزيم
- مرافق الإنزيم .
- الجزء البروتيني من الإنزيم.
- المجموعة الرابطة في الإنزيم **[8]**.

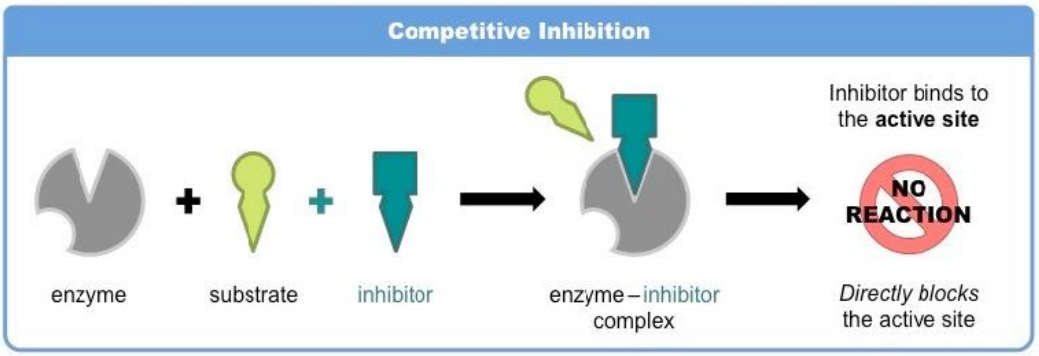
II .8 . أنواع المثبطات

II .1.8. التثبيط العكسي

نوع من التثبيط الإنزيمي حيث تتحد المثبطات العكسية مباشرة مع الانزيم حيث يمكن إزالتها و استعادة الفعالية الإنزيمية هناك نوعان رئيسيان من التثبيط العكسي:

❖ **التثبيط التنافسي**

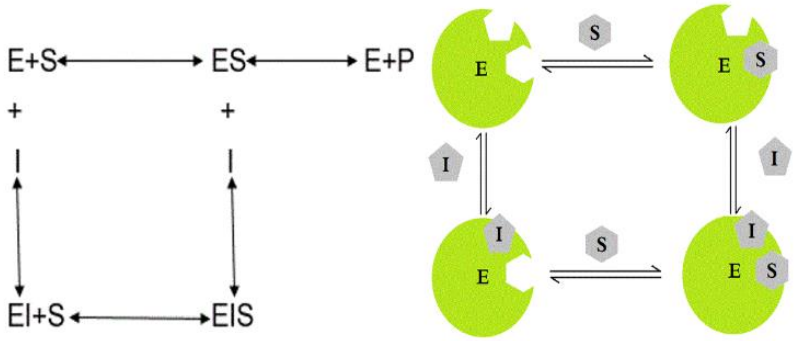
في هذا النوع من التثبيط يكون التركيب الكيميائي للمثبط يشبه تركيب الركيزة الأصلية للإنزيم و بالتالي فان المثبط يتنافس مع المادة الأساس مباشرة للارتباط بالموقع الفعال و تكوين المعقد و هكذا يثبط نشاط الانزيم، يعتمد هذا النوع من التثبيط على تركيز المثبط و المادة الاساس.



الشكل14: التثبيط العكسي التنافسي.

❖ **التثبيط الغير تنافسي**

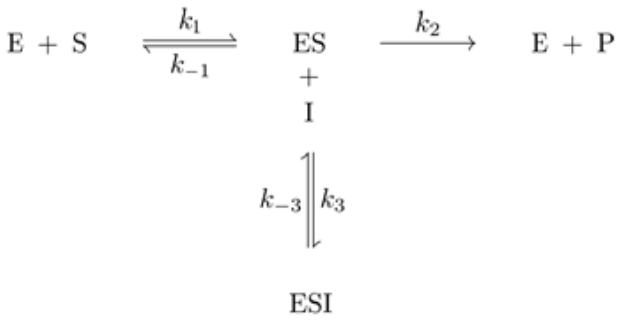
في هذا النوع من التثبيط تركيبة المثبط لاتشبه تركيبة المادة الاساس، حيث يرتبط المثبط الغير تنافسي في موقع غير الموقع الفعال بغض النظر عن الإنزيم اذ كان حرا او مرتبط بالركيزة مما يسمح بتكوين المعقدين EI و EIS مما يؤدي الى تحريف جزيء الإنزيم و خفض فعاليته **[9]**.



الشكل15 : التثبيط العكسي الغير التنافسي.

❖ **التثبيط اللاتنافسي**

في هذه الحالة يتحد المثبط اللاتنافسي مباشرة مع المعقد ES و ليس مع الانزيم الحر لتكوين EIS مما يؤدي الى انخفاض تدريجي في السرعة مقرونة بارتفاع في تركيز المثبط **[8]**.

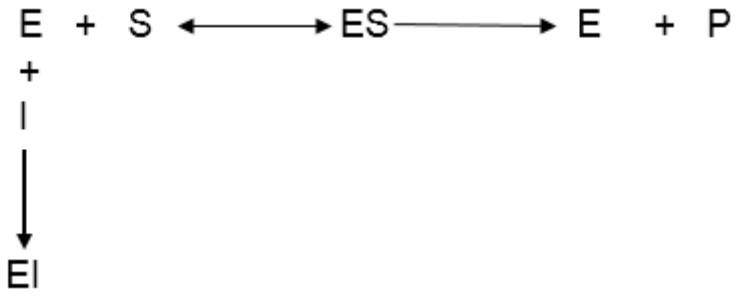


الشكل16: التثبيط اللاتنافسي.

2.8.II. التثبيط الغير عكسي

ترتبط المثبطات الغير عكسية بقوة مع الإنزيم حيث أن الإنزيم يتعرف على المثبط كونه ركيزة فيرتبط به بقوة بحيث لا يمكن فصلهما، هذا يؤدي الى تغيير الإنزيم مما يجعل الركيزة الأصلية غير قادرة على الارتباط به(تغير شكل الموقع الفعال) فيفقد الانزيم كفاءته فيقال عنه انه تسمم **[8].**

يمكن توضيح اتحاد المثبط الغير العكسي بالإنزيم بالشكل التالي:



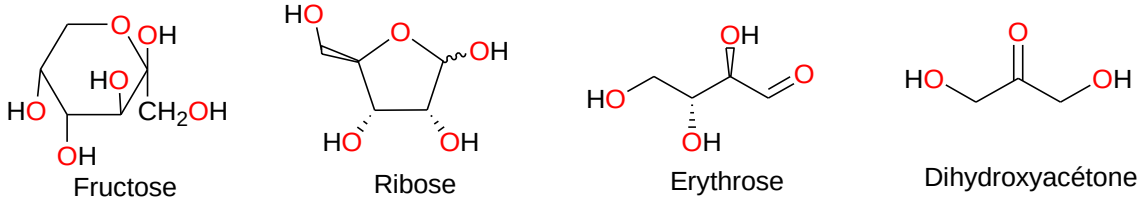
الشكل 17: التثبيط الغير عكسي

الفصل الثاني:

إنزيم ألفا غلوكوسيداز و الفلافونيد

I. الكربوهيدرات " المكون الرئيسي للهرم الغذائي"

الكربوهيدرات هي مركبات عضوية تتكون من الكربون ، الأكسجين و الهيدروجين،عبارة عن ألديهيدات أو كيتونات متعددة الهيدروكسيل صيغتها العامة: $(CH_2O)_n$ حيث $n \geq 3$ ، فالكربوهيدرات التي تحتوي على ثلاث ذرات كربون تسمى بـ Trioses ، التي تحتوي على أربعة ذرات كربون تسمى بـ Trétroses و التي تحتوي على خمسة أو ستة ذرات من الكربون تسمى على التوالي بـ pentoses و Hexoses[12] .



1.I. أهمية الكربوهيدرات للجسم

للكربوهيدرات أهمية كبيرة في وظائف الجسم المختلفة، حيث تشمل أدوارها الرئيسية ما يلي:

1. تعتبر الكربوهيدرات وخصوصاً الجلوكوز المصدر الرئيسي للطاقة في الجسم.
2. يعد الجليكوجين مخزنا لسكر الجلوكوز و الطاقة في الجسم.
3. السكر الريبوز سكر خماسي الكربون، يلعب دورًا مهمًا في بناء الأحماض النووية المسؤولة عن نقل الصفات الوراثية.
4. تدخل السكريات السداسية التي تحتوي على مجموعة أمينية ضرورية في تركيب الأنسجة الضامة والغضاريف.
5. يعد الهيباردين سكر عديد معقد، ضروريًا للجسم لمنع تجلط الدم.
6. كربوهيدرات مهمة أيضًا لكفاءة الهضم ووقاية الجسم من سرطانات الجهاز الهضمي.

7. تشارك الكربوهيدرات في تكوين مركبات مثل الجليكوبروتينات و الجليكوسيدات التي هي جزء من بنية الخلايا.
8. تساهم الكربوهيدرات بنسبة تصل إلى 60% من إجمالي الطاقة التي يحتاجها الإنسان من غذائه اليومي **[13]**.

II.الأيض (التمثيل الغذائي)Metabolism

الأيض أو الاستقلاب هو سلسلة معقدة من التفاعلات الكيميائية الحيوية التي تحدث داخل خلايا الكائن الحي على المواد الغذائية المختلفة ، ينقسم التمثيل الغذائي إلى قسمين:

- **عملية الهدم Catabolism:** يتم فيها تكسير المواد الغذائية الرئيسية الى جزيئات بسيطة للاستفادة منها في عملية البناء و الحصول على طاقة بشكل ATP.
- **عملية البناء Anabolism:** يتم فيه استعمال الجزيئات الناتجة عن عملية الهدم بهدف بناء الأنسجة و الخلايا كذلك يمكن استغلالها لبناء مواد أكثر تعقيدا مثل: بناء البروتينات انطلاقا من الأحماض الأمنية .
  - هذه التفاعلات تتم بواسطة محفزات "الإنزيمات" التي تلعب دور حاسما في هذه العملية **[14]**.

II .1. هضم الكربوهيدرات

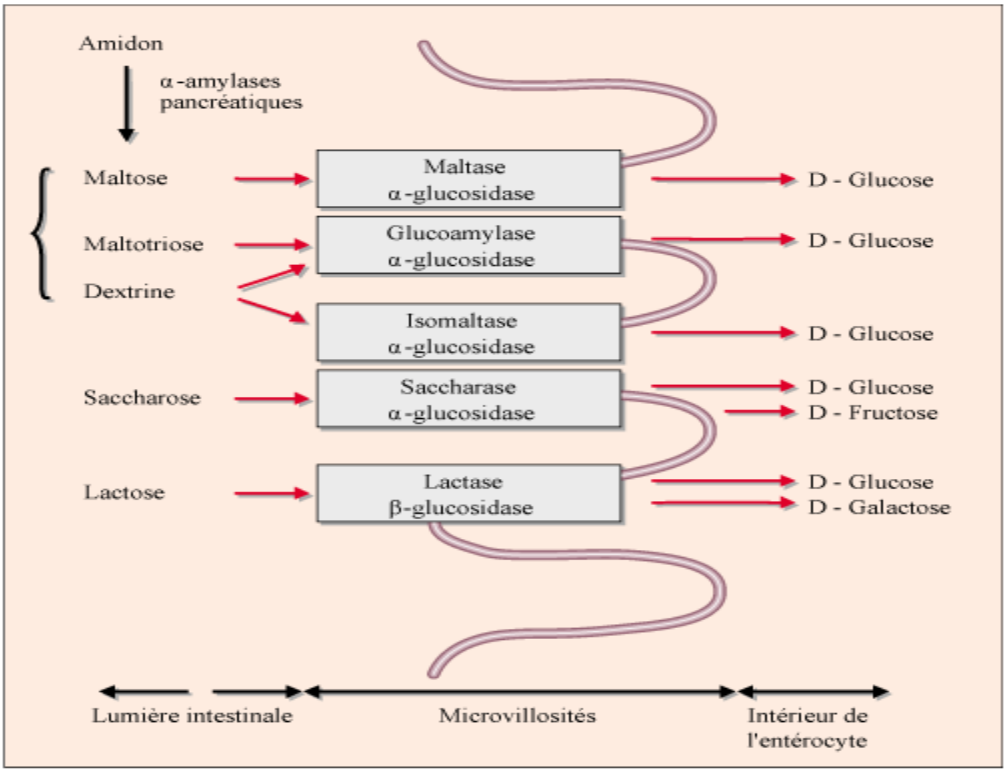
تبدأ عملية هضم الكربوهيدرات في الفم ، حيث تحفز بفعل إنزيم الأميلاز اللعابي (ألفا أميلاز)، الذي يعمل على تكسير جزيئات النشويات و الجلايكوجين عن طريق قطع الروابط ألفا(1_4) و ألفا (1_6) فينتج خليط من السكريات البسيطة مثل الجلوكوز ،المالتوز بالإضافة إلى متعدد السكريات des oligosaccharid المتفرعة و تستمر هذه العملية حتى للمعدة.

تتوقف عملية الهضم في المعدة بسبب حموضتها العالية إلا أنها تستأنف من جديد في الجزء العلوي من الأمعاء الدقيقة بفضل إنزيم ألفا أميلاز $L'\alpha_amylase$ البنكرياسي.

يتم ضمان التحلل المائي الكلي للنشاء عن طريق الإنزيمات المعوية:

- **إنزيم ألفا جلوكوسيداز** الذي يعمل على إزالة الفروع أي تكسير الروابط المتفرعة ألفا(1_6) في جزيئات النشاء المعقدة مما يسهل هضمها.
- يقوم **إنزيم ألفا غلوكوسيداز(سكراز ايزومالتلز)** بتقسيم وحدات المالتوز الى جزيئتين من الغلوكوز.

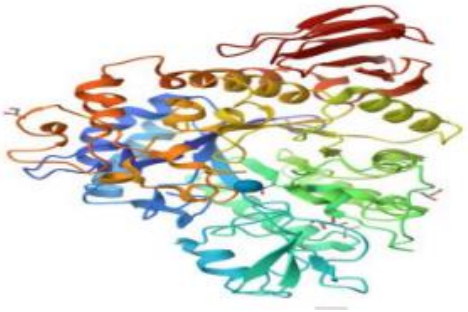
يؤدي انزيم ألفا جلوكوسيداز **α-Glucosidase** إلى زيادة معدلات امتصاص الغلوكوز من الأمعاء إلى الدم مما يرفع مستويات السكر في الدم بعد تناول الوجبات الغنية بالكربوهيدرات**[15]** .



الشكل18: الخطوات الأساسية لهضم السكر.

III. إنزيم ألفا جلوكوسيداز α-Glucosidase

إنزيم ألفا جلوكوسيداز(α-GLY) "هيدرولاز الجليكوسيد" إنزيم هضمي ينتمي الى عائلة ألفا أميلاز α_amylasالمعروفة أيضا باسم MAL12أو المالتاز،يتم تحديدها جينيا على الموقع MAL1 تتميز بروتينات هذه العائلة ببنية فراغية مشتركة (α\β) و آلية تفاعل موحدة**[1]** .

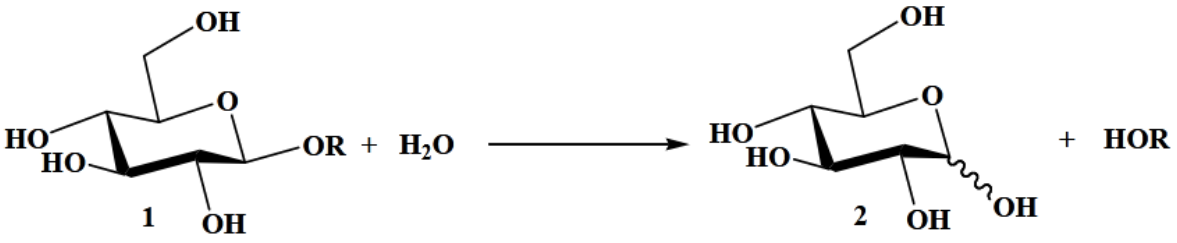


الشكل19:الشكل البلوري لإنزيمα−glucosidase

يلعب انزيم الفا−جلوكوسيداز دورا حيويا في عملية هضم الكربوهيدرات في الجهاز الهضمي و بالضبط الأمعاء، حيث يتم تصنيعه في خلايا الغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة ثم يخزن داخل حويصلات صغيرة موجودة في الخلايا المعوية، عند تناول أغذية غنية بالكربوهيدرات تقوم هذه الخلايا بإفراز الإنزيم من الحويصلات إلى التجويف المعوي أين يتفاعل مع جزيئات الكربوهيدرات المعقدة الموجودة و يحولها الى جزيئات أبسط قابلة للامتصاص.

إن زيادة معدلات إنزيم ألفا جلوكوسيداز في الأمعاء يؤدي الى الإفراط في إنتاج الجلوكوز في البلازما مما يؤدي الى ارتفاع معدلات السكر في الدم الذي بدوره يؤول الى حدوث مرض السكري و أمراض اخرى**[16]** .

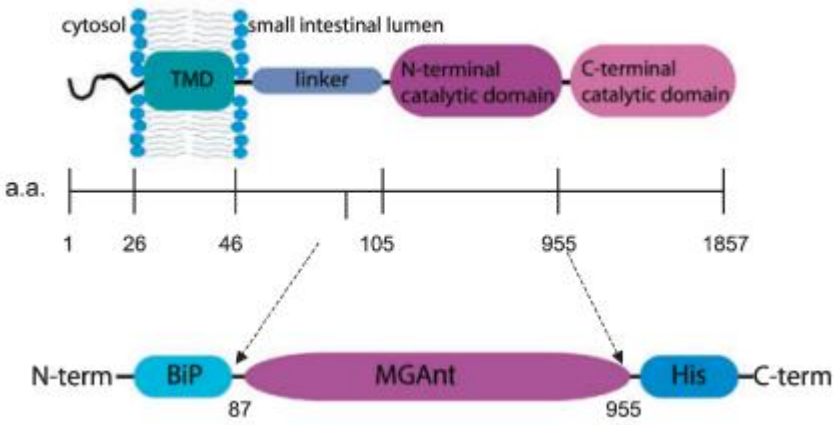
يحفز ألفا الجلوكوسيداز التحلل المائي الانتقائي للروابط الجليكوسيدية فهو يقوم بتحويل متعدد السكاريدات إلى كربوهيدرات أحادية، فمن بين جميع الإنزيمات الموجودة في الطبيعة تعتبر الأكثر وفرة و الأكثر تطورا وكفاءة إذ تمتلك هذه الأخيرة القدرة على تسريع تفاعل كسر الرابطة الجليكوسيدية المستقرة ذات قيمة طاقة قدرها $347KJ.mol^{-1}$ بمقدار 10^{17} مرة**[17]** .



الشكل20: التحلل المائي المبسط للرابطة الجليكوسيدية .

III .1. بنية إنزيم ألفا جلوكوسيداز

يتكون أنزيم ألفا جلوكوسيداز أو الجلوكوأميلاز-مالتيز البشري من منطقتين فرعيتين و محفزتين، منطقة الوظيفة الأمينية **(N-terminal)** و منطقة الوظيفة الكربوكسيلية **(C-terminal)** .

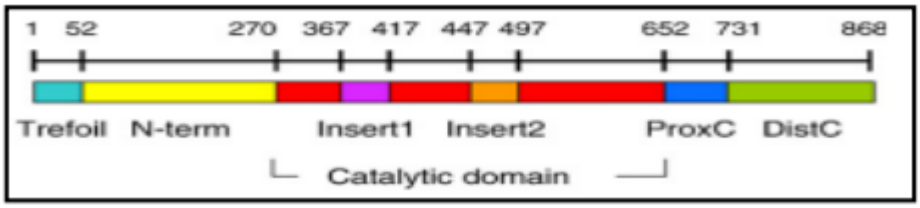


الشكل21: البنية الهيكلية لإنزيم ألفا جلوكوسيداز.

تتكون منطقة الوظيفة الأمنية و المعبر عنها بـNt-MGAM من 868 حمض أميني و تم تقسيمها إلى خمسة مجالات هيكلية رئيسية :

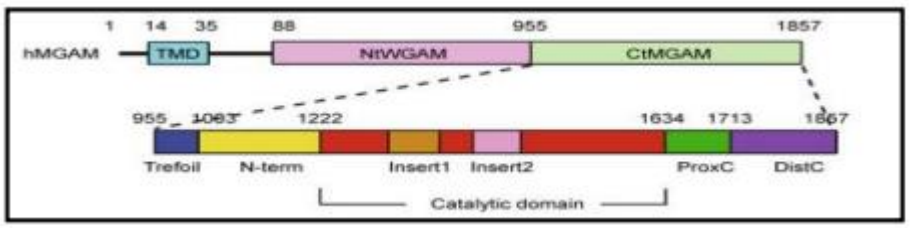
1. مجال الفصوص من النوع P و المتكون من 1-51 حمض أميني، دوره المحدد غير معروف.
2. مجال الوظيفة الأمينية من النوع B-sandwich و المتكون من 52-269 حمض أميني.

3. المجال التحفيزي $(\beta/\alpha)_8$ على شكل برميل، يحتوي على 270−651 حمض أميني و المتكون من حلقتين الحلقة1 تتكون من (367−416) حمض أميني و الحلقة 2 تتكون من (447−492) حمض أميني .
4. مجال الطرف C القريب المتكون من (652−730) حمض أميني.
5. مجال الطرف C البعيد المتكون من (731−868) حمض أميني .



الشكل22:المجال الهيكلي لمنطقة الوظيفة الامينية N−terminal .

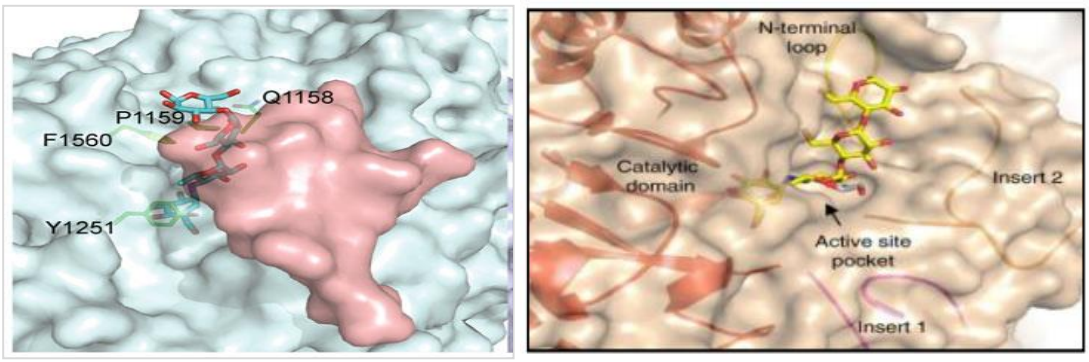
أما منطقة الوظيفة الكربوكسيلية (C−terminal) و المعبر عنها بـCt−MGAM فهي أيضا تتكون من خمسة مجالات هيكلية رئيسية مماثلة تقريبا لمنطقة الوظيفة الأمينية، إلا أنها تختلف بوجود الحمض الأميني فينيل الألينين(Phe) في الوحدة البنائية بدلا من الحمض الأميني ألانين(Ala) و كذلك وجود21 حمض أميني إضافي في المجال التحفيزي $(\beta/\alpha)_8$ **[18]**.



الشكل23: المجال الهيكلي لمنطقة الوظيفة الكربوكسيلية C−terminal .

III 2.الموقع الفعال لإنزيم ألفا جلوكوسيداز α−glucosidase

يقع المجال التحفيزي أو (الموقع النشط) لإنزيم ألفا جلوكوسيداز α−GLY ضمن الأحماض الأمنية (358−720) أي في منطقة الوظيفة الأمينية وبالتحديد في المجال التحفيزي $(\beta/\alpha)_8$ و كذلك الأحماض الأمينية (1221−1632) ضمن منطقة الوظيفة الكربوكسيلية ، يكون الموقع الفعال على شكل جيب يرتبط بالركيزة كما يساهم جزء من الحلقة 1 و الحلقة 2 من المجال التحفيزي $(\beta/\alpha)_8$) في موقع ربط الركيزة و من بين الأحماض الأمينية التي تشكل الروابط الهيدروجينية هي: الأسبارتات(Asp) ، الأرجنين(Arg)، والهيستيدين(His) **[18] [16]**.



الشكل24: جيب الموقع الفعال في Nt−MGAM و Ct−MGAM .

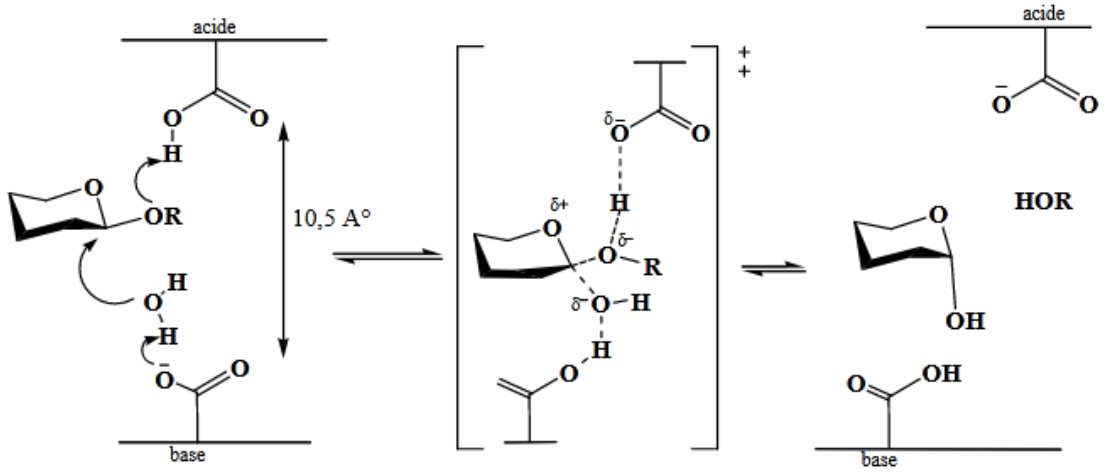
III. 3. آلية عمل إنزيم ألفا جلوكوسيداز

تعمل الجلوكوسيدازات بناءا على آليتين رئيسيتين تم وصفهم لأول مرة من قبل العالم كوشلاند 1953م، فبفضل معرفة تسلسلات الأحماض الأمينية و التراكيب ثلاثية الأبعاد للعديد من الإنزيمات أصبح لدينا فهم أفضل لآليات عملها إذ تعتمد هذه الأخيرة بشكل أساسي على وجود مجموعتين كربوكسليتين مشتقتين من الأحماض الأمنية الموقع النشط للإنزيم حيث يلعب أحدهما دور المانح للبروتون(حمض−قاعدة) والأخر يعمل كقاعدة أو نيكليوفيل.

III. 3. 1. آلية الإنعكاس البنيوي التشاكلي

تعتبر هذه الآلية الأقل شيوعا إذ تعمل على تحرير سكر ذي بنية تشاكلية معاكسة للركيزة عن طريق الإستبدال النكليوفيلي، حيث تستعمل هذه الإنزيمات آلية تحفيزية غير تساهمية و ذلك باستغلال التحفيز الحمضي–القاعدي.

في هذه الحالة تكون المسافة بين الأحماض الحمضية و القاعدية كافية بمتوسط يبلغ 10,5Å مما يسمح بإدخال الركيزة و جزيء الماء في الموقع الفعال للإنزيم. تتم هذه الآلية في خطوة واحدة حيث يسمح أحد الأحماض الكربوكسيلية للأغليكون(Aglycone) بالإنفصال من خلال دوره كمحفز حمضي، في حين الحمض الكربوكيسيلي الخالي من البروتونات ينشط جزيء الماء عبر تشكيل الهيدروكسيل الذي يهاجم كربون الركيزة وفقا لآلية من النوع SN_2 حيث ينتج عنها إنعكاس في تكوين الكربون**[17]** .

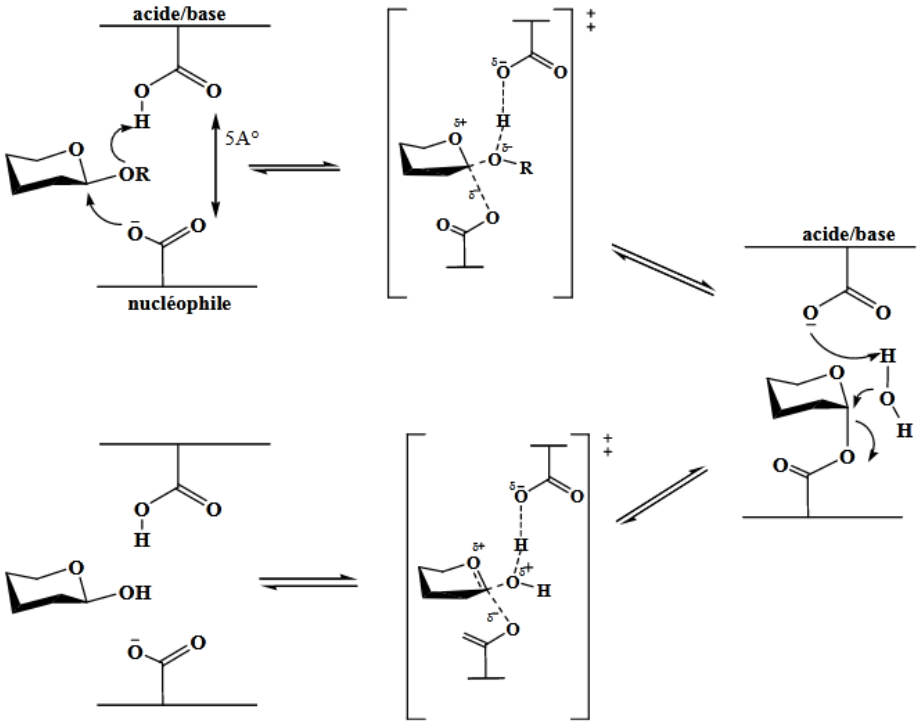


الشكل 25: آلية الانعكاس البنيوي التشاكلي لتفاعل التحلل المائي بواسطة إنزيم ألفا الجلوكوسيداز.

III.3 . 2 . آلية الاحتفاظ البنيوي التشاكلي

تعمل الإنزيمات وفق هذه الآلية على تحرير ناتج ذو بنية فراغية مماثلة للركيزة وذلك بعد حدوث انعكاسين تشاكليين متتاليين، في هذه الحالة تكون المسافة بين المجموعات الكربوكسيلة الإنزيمية أقل من 5,5Å، يحدث التحلل المائي على مرحلتين:

- النكليوفيل يقوم بالهجوم أولا على كربون الركيزة وهو حمض كربوكسيلي فاقد البروتون للإنزيم (Aspأو Glu) مؤديا لتشكيل وسيط تساهمي (الجلوكوسيد المستبدل) ثم يتم تحريره في نهاية هذه المرحلة، تعمل المجموعة الحمضية الأخرى على تحفيز جزيء الماء من خلال مهاجمة كربون الركيزة مما يؤدي الى فصل الكربوهيدرات عن الإنزيم، إذن تتم هذه الآلية وفق تفاعلين متتاليين من نوع SN_2 مما أدى إلى الحفاظ على البنية الفراغية للكربون الناتج**[17]** .



الشكل26 : آلية الاحتفاظ البنيوي التشاكلي لتفاعل التحلل المائي بواسطة إنزيم ألفا الجلوكوسيداز.

III.3. 3. بعض الحالات الخاصة

في بعض الحالات النادرة تعمل الجليكوسيدات وفق آليات مختلفة عن الآليات المذكورة سابقا يمكن أن تظهر بعض الاستثناءات مثل:

❖ إستبدال الحمض المحفز بفوسفات غير عضوي و من بين هذه الإنزيمات نجد :

- مالتوزفوسفوريلاز
- سكاروزفوسفوريلاز
- سيلوبيوزفوسفوريلاز

❖ العمل بآلية جزيئية للتحلل المائي يتضمن حمض أميني حفاز فقط مثل:

- الميروزيناز *les myrosinases*
- الكيتيناز *les chitinases*
- إندوإن أسيتيل جلوكوزامينيداز les endo *N-acétylglucosaminidases*

❖ هناك أيضا إنزيمات أخرى تعتمد على آليات الأكسدة-اختزال أو الحذف**[17]** .

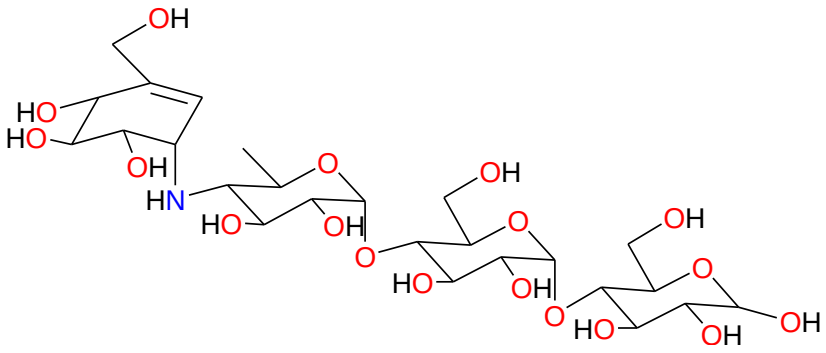
IV. مثبطات ألفا جلوكوسيداز

بسبب المشاكل السريرية المرتبطة بداء السكري أجريت العديد من الدراسات حول تثبيط إنزيم ألفا جلوكوسيداز (α-GLY) لدراسة إمكانية استخدامه في علاج داء السكري من النوع الثاني (DT2) قد أدت هذه الدراسات الى تحديد مثبطات ألفا جلوكوسيداز الأكثر استخداما في السياقات السريرية وهي

أكاربوز، ميجليتول وفوغليبوز، تؤدي هذه الأدوية الى انخفاض متوسط بنسبة 0.5% الى 1% في الهيموغلوبيل السكري **[19] [16]**.

IV. 1.الأكاربوز

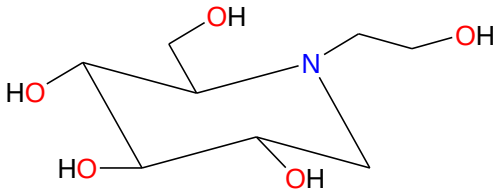
هو دواء مضاد للسكري يستخدم حاليا عن طريق الفم و هو مثبط قوي لإنزيمات الألفا جلوكوسيداز مثل السكاراز و المالتاز التي تلعب دورا رئيسيا في هضم الكربوهيدرات المعقدة في الأمعاء الدقيقة.



الشكل27 :البنية الكيميائية للأكاربوز

IV.2. الميجليتول

يعد الميجليتول خيارا علاجيا فعالا و آمنا لمرض السكري من النوع 2، يعمل عن طريق تثبيط انتقائي للإنزيمات جلوكوسيداز الأمعاء مما يبطئ امتصاص الجلوكوز من الطعام و يساعد على خفض مستويات السكر في الدم**[19]** .



الشكل28 :البنية الكيميائية للميجليتول.

IV.3. آلية عمل المثبطات

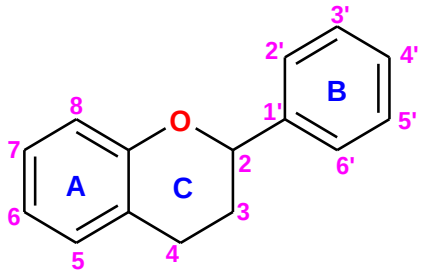
يتفاعل كلا من الأكاربوز و الميجليتول مع الموقع النشط لإنزيمات الألفا جلوكوسيداز مما يمنع ربط الركائز (الكربوهيدرات المعقدة) بالإنزيم، هذا التأثير يمنع تحويل الكربوهيدرات المعقدة الى جزيئات سكر بسيطة، هذا ما يؤدي الى خفض مستويات السكر في الدم بعد الوجبات لدى مرضى السكري من النوع 2[**19**] .

IV. 4. المثبطات الطبيعية

IV. 4. 1. الفلافونيدات

الفلافونويدات هي صبغات نباتية تذوب في الماء، تُعرف باسمها المشتق من الكلمة اليونانية « Vlavus »التي تعني الأصفر، تنتشر هذه الصبغات في أجزاء النبات المختلفة، خاصة الجزء الهوائي وتُعطي ألوانًا زاهية للأزهار والفواكه وأحيانًا بعض الأوراق، تتعدد ألوان الفلافونويدات لتشمل الأصفر، البرتقالي، البنفسجي، الأزرق، والأحمر، وتُعرف هذه الألوان باسم "الأنثوسيانين "Anthocyanins".

تُعد الفلافونويدات من أهم المركبات الفينولية وتتميز بهيكل أساسي ممثل في $C_6-C_3-C_6$ و يتكون من 15 ذرة كربون موزعة على حلقتين عطريتين(A) و(B) مرتبطتين بحلقة ثالثة (C) غير متجانسة تحتوي هذه الحلقة على ذرة أكسجين**[21] [20]** .



الشكل29: الهيكل الأساسي للفلافونيدات

IV.2.4. تصنيف الفلافونيدات

تتميز الفلافونويدات بتنوعها البنيوي و يمكن تصنيفها إلى فئات فرعية بناءً على عدة عوامل منها:

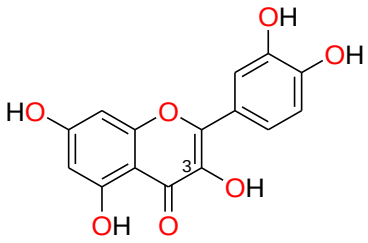
1. موضع الرابطة بين الحلقتينB و C.
2. درجة تشبع الحلقة C.
3. درجة الاكسدة والهيدروكسيل في الحلقة المركزية غير المتجانسة C.

فنجد:

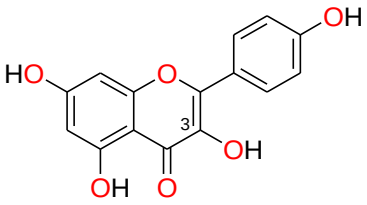
1. الفلافونول Flavonols

الفلافونول هي نوع من مركبات الفلافونويد، وهي مركبات نباتية طبيعية تتمتع بخصائص مضادة للأكسدة قوية، تُعد الفلافونول أكثر أنواع الفلافونويد انتشارا حيث تتواجد بكثرة في الفواكه والخضروات.

تتميز هذه مركبات بخصائص بنيوية فريدة تشمل حلقة C غير مشبعة و مجموعة هيدروكسيل (OH) في الموضع 3 من الحلقة C ومن أشهر مركبات هذا النوع Kaempferol و Quercetine .



Quercetine

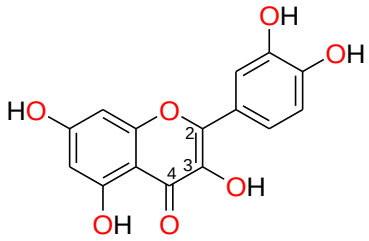


Kaempferol

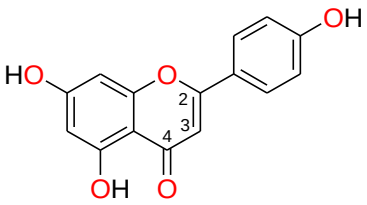
الشكل 30: الصيغة الكيميائية لـ Kaempferol و Quercetine

2. الفلافون Flavones

تتميز مركبات الفلافون بوجود رابطة ثنائية بين الكربون 2 والكربون 3 في حلقة C و افتقارها إلى مجموعة الكربونيل في الموضع 3 من حلقة C و من أشهر مركباتها Luteoline و Apigenine.



Luteoline

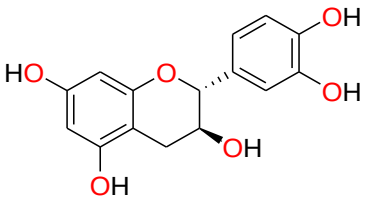


Apigenine

الشكل 31 : أمثلة عن مركبات الفلافون.

3. الفلافانول Flavanol

تشبه الفلافون مع غياب الرابطة الثنائية بين ذرتي الكربون 2 و3 ويعد مركب Catechine من أبسط المركبات التابعة لهذه المجموعة.



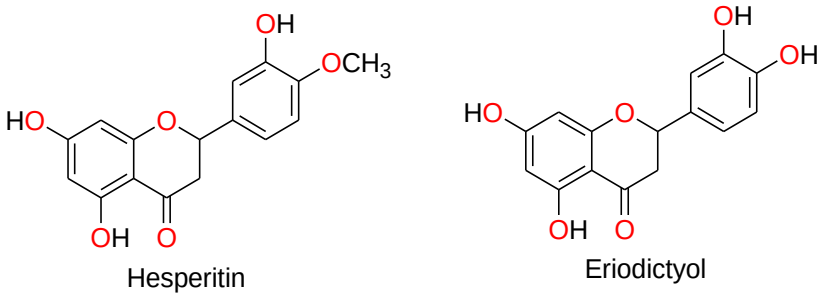
Catechine

الشكل 32: الصيغة الكيميائية لمركب Catechine.

4. الفلافانون Flavanone

تتميز مركبات الفلافانون بخصائص فريدة تميزها عن باقي مركبات الفلافونويد حيث تفتقر إلى الرابطة الثنائية بين ذرتي الكربون رقم 2 و 3 في الحلقة C كما تفتقر إلى مجموعة الهيدروكسيل في الموقع 3.

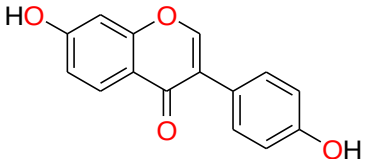
وتُعدّ الحمضيات مصدرًا غنيًا بمركبات الفلافانون حيث تتواجد مركبات مثل إيرويديكتيول في الليمون و هسبيريدين في البرتقال.



الشكل 33: أمثلة عن مركبات الفلافانون.

5. الإيزوفلافون Isoflavones

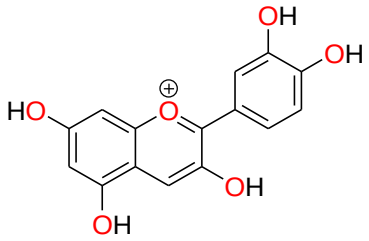
تتميز مركبات الإيزوفلافون ببنيتها الكيميائية الفريدة حيث ترتبط الحلقة B بالموقع 3 في الحلقة C على عكس مركبات الفلافونويد الأخرى التي ترتبط الحلقة B بالموقع 2. ومن أشهر مركبات الإيزوفلافون مركب "داديزين"تتميز هذه المركبات بهيكل كيميائي مشابه لهرمون الأستروجين.



الشكل34: الصيغة الكيميائية العامة للإيزوفلافون.

6. الأنتيوسيان Anthocyanes

تعدّ الأنتيوسيان مجموعة من المركبات الفلافونويدية التي تتواجد بشكل طبيعي في مختلف أنسجة النباتات بما في ذلك السيقان،الجذور، الثمار، الأوراق والأزهار، تُضفي هذه المركبات على هذه الأنسجة ألوانها المميزة مثل البرتقالي،الوردي، الأحمر،الأرجواني والأزرق، تتميز الأنتيوسيان بخصائص فيزوكيميائية فريدة أهمها قابلية الذوبان في الماء، مما يجعلها مسؤولة عن إضفاء الألوان الزاهية على عصائر الفواكه والنباتات،يعد مركب Cyanidine من أبسط المركبات التابعة لهذه المجموعة **[17] [21].**



الشكل35:الصيغة الكيميائية العامة للأنتيوسيان.

3.IV .أهمية الفلافونيدات في العلاج

بصرف النظر عن تأثيرها المضاد للأكسدة فقد جذبت بعض مركبات الفلافونيدات المعزولة و المركبة اهتماما كبيرا نظرا لتأثيرها المفيد المثبت على صحة الإنسان من خلال إظهار خصائص دوائية متنوعة و خاصة في العلاج و الإصابة ببعض الاضطرابات الأيضية.

كما أظهرت الدراسات قدرتها على المساعدة في التحكم بمرض السكري وذلك من خلال مجموعة من الآليات:

- تحفيز إفراز الأنسولين: تُحفز بعض أنواع الفلافونيدات، مثل الكاتيكين إفراز الأنسولين من خلايا بيتا في البنكرياس، مما يُساعد على خفض مستويات السكر في الدم.
- تحسين حساسية الأنسولين: تُحسّن بعض أنواع الفلافونيدات، مثل الفلافون حساسية الأنسولين في خلايا الجسم مما يسمح لها بامتصاص الجلوكوز بشكل أكثر فعالية.
- تقليل امتصاص الجلوكوز: تُقلّل بعض أنواع الفلافونيدات، مثل الكويرسيتين، من امتصاص الجلوكوز في الأمعاء، مما يُساهم في خفض مستويات السكر في الدم بعد تناول الطعام.
- حماية خلايا بيتا: تُحمي بعض أنواع الفلافونيدات، مثل الكاتيكين، خلايا بيتا من التلف الناتج عن الإجهاد التأكسدي، مما يُساعد على الحفاظ على وظيفتها في إفراز الأنسولين.

كما تملك خصائص علاجية أخرى من بينها:

مضادة للأكسدة، مضادة للالتهابات، تحسين صحة القلب، مقاومة السرطان، **تقوية** العظام و تحسين صحة الجهاز الهضمي **[22]**.

الفصل الثالث:

نمذجة الإلتحام الجزيئي بين بروتين– ليغاند باستعمال برنامج MVD.

I . مقدمة

الكيمياء الحاسوبية شعبة جديدة تزامن ظهورها مع تطور ميكانيك الكم في أوائل القرن العشرين وزادت شعبيتها مع التحسينات في تقنيات الحاسوب، تعتبر نقطة تداخل بين علوم الحاسوب وعلوم الكيمياء لأنها تعطي حلول سريعة وعاجلة لبعض المسائل التي يتعرض لها الكيميائي. في وقتنا الحالي أصبحت الدراسات الحاسوبية لأي مركب أو تفاعل من أهم الطرق لدراسة جميع الجوانب الخاصة به ، معرفة إمكانية تطبيقه و الحصول على أفضل النتائج و أكثرها دقة . بفضل تطور الحاسوب في السنوات الأخيرة و ظهور الحوسبة المتوازية المكثفة على وجه الخصوص أصبحت النمذجة الجزيئية تحديا حقيقيا. في الواقع تميل الانظمة الجزيئية التي يتم إجراءها للدراسة إلى أن تصبح أكثر تعقيدا و يرتبط هذا التعقيد بحجم الجزيئات المدروسة و كذلك بالبنية الجوهرية للذرات نفسها و أيضا بدرجة الدقة المطلوبة للحساب لكميات فيزيائية معينة .

II. تعريف النمذجة الجزيئية

النمذجة الجزيئية هي مجموعة من التقنيات الحسابية القائمة على طرق الكيمياء النظرية و البيانات التجريبية، تستخدم إما لتحليل الجزيئات و الأنظمة الجزيئة أو للتنبؤ بالخصائص الجزيئية الكيميائية و الكيمياء الحيوية. يمكن أن تكون بسيطة نسبيا و قابلة للاستخدام بسرعة أو يمكن أن تكون معقدة للغاية و تتطلب مئات الساعات من وقت الكمبيوتر. وهي بمثابة جسر بين البيانات النظرية التجريبية من أجل:

- استخراج النتائج لنموذج معين.
- مقارنة التنبؤات النظرية بالنتائج التجريبية للنموذج.
- المساعدة في فهم وتفسير الملاحظات التجريبية.

- الربط بين التفاصيل المجهرية على المستوى الذري و الجزيئي و الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للنموذج .
- تقديم معلومات غير متوفرة من تجارب حقيقية.

نجد للنمذجة الجزيئية تطبيقات مهمة في وقتنا الحالي من بينها دراسة خصائص المواد و تصميم الأدوية و ترشيد الهندسة الإنزيمية **[23]**.

III. الالتحام الجزيئي

الالتحام الجزيئي هو طريقة تنبأ بكيفية ارتباط المركبات الكيميائية وخصوصا العضوية منها مع البروتين. يستخدم على نطاق واسع في تصميم الأدوية، حيث يمكن أن يساعد في تحديد الأدوية المحتملة لعلاج مرض معين. يمكن اعتبار الالتحام الجزيئي طريقة حسابية لإيجاد أفضل ملاءمة من حيث الشكل بين القفل (البروتين) والمفتاح (المركب الكيميائي)و الهدف منه هو العثور على الوضعية الأكثر واقعية بين المركب الكيميائي والبروتين عندما يكونان مرتبطين وهو ما يسمى أيضا وضع الربط. يحدد وضع الربط قوة ونوع التجاذبات بين المركب الكيميائي والبروتين داخل موقع الارتباط على البروتين. يتضمن الالتحام الجزيئي خطوتين رئيسيتين هما البحث والتسجيل، البحث هو عملية استكشاف الوضعيات المحتملة للمركب تحت الدراسة في موقع ربط البروتين في حين أن التسجيل هو عملية تقييم كل وضع من خلال تقدير تقاربه أو الطاقة الحرة للربط. يتمثل التحدي المتمثل في الالتحام الجزيئي في إيجاد طريقة فعالة ودقيقة لأداء كلتا الخطوتين ، حيث يوجد عادة العديد من الأوضاع المحتملة والعديد من العوامل التي تؤثر على الارتباط **[24]** .

IV. تعريف الجزيئي بروتين ليغاند

التعريف الجزيئي هو عملية تجاذب الجزيئات البيولوجية الكبيرة مع بعضها البعض أو مع جزيئات صغيرة مختلفة ذات خصوصية عالية و ألفة لتكوين مركب محدد ، حيث تعتبر البروتينات فئة مهمة من الجزيئات البيولوجية الكبيرة و تحقق وظائفها من خلال الارتباط بنفسها أو بجزيئات أخرى و لذلك فإن الفهم التفصيلي للتجاذبات بين البروتين و الليغاند يعد أمرا أساسيا لفهم علم الأحياء على المستوى الجزيئي **[25]**.

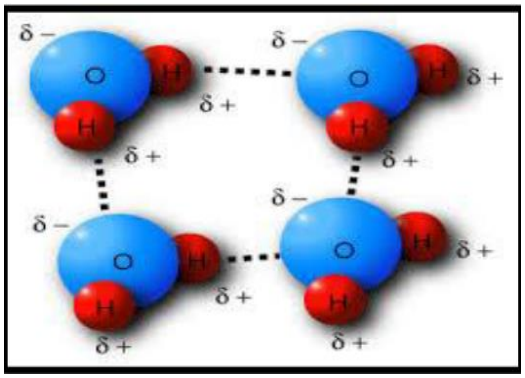
يعرف مصطلح الليغاند بأنه جزيء يرتبط بالموقع الفعال لبروتين معين و هو عبارة عن جزيء صغير أو كبير، عضوي أو غير عضوي ، يؤدي تفاعله مع البروتين إلى تغيير هيكله(الشكل ثلاثي الابعاد) مما يؤدي إلى تغير حالة البروتين إلى الحالة الوظيفية. الربط يحدث بسبب القوى بين الجزيئية، مثل التأثيرات لإلكتروستاتيكية، الرابطة الهيدروجينية وقوى فاندرفالس. في النظم البيولوجية، غالباً ما يكون إلتحام ليغاند في المعقد قابل للعكس أي يمكن أن يحدث تفكك ونادرا ما تحدث رابطة تساهمية دائمة غير قابلة للتفكك **[25]**.

1.IV. تجاذبات فاندرفالس

مجموعة قوى تنشأ بين الجزيئات غير مشحونة تعمل على مسافات طويلة ، تحدث نتيجة توزيع الشحنات الكهربائية في الجزيئات حيث تتجاذب الأقطاب الكهربائية للجزيئات المتجاورة مما يؤدي الى تشكيل قوة جاذبة.

تنقسم بدورها إلى نوعين: التجاذبات بين الأقطاب الكهربائية الدائمة و التجاذبات بين الأقطاب الكهربائية المحفزة مؤقتا , تتأثر هذه القوى بشكل واضح بالمسافة بين الجزيئات و الوسط التفاعلي .

على الرغم من أن هذه القوى ضعيفة إلا أنها تلعب دورا حيويا هاما في مراحل تكوين البروتين و إستقرار بنيته **[26]**.

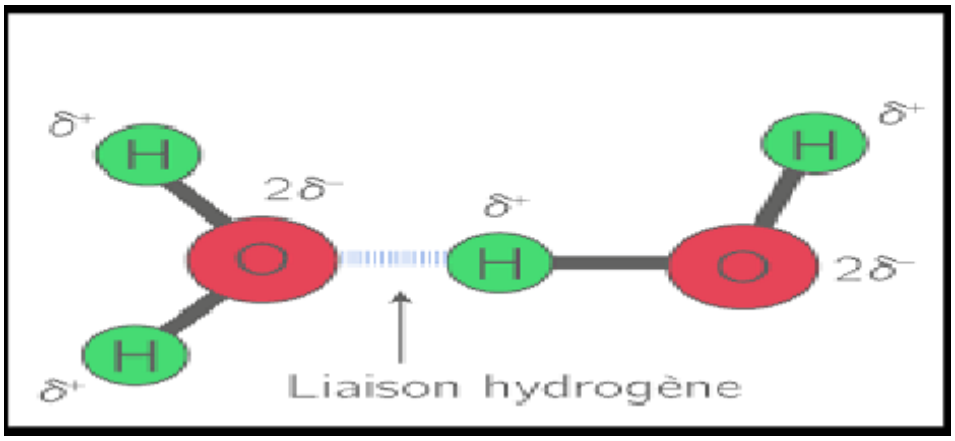


الشكل36 : تجاذبات فاندرفالس

2.IV. الروابط الهيدروجينية

ناتجة عن تفاعل بين ذرة هيدروجين و ذرة أخرى ذات كهروسلبية أكبر مثل الأوكسجين و النيتروجين،هذه الأخيرة تكتسب جزء من إلكترون ذرة الهيدروجين ذهذا التجاذب الكهروستاتيكي يؤدي الى تكوين الرابطة الهيدروجينية يبلغ طول هذه الرابطة (2,8−3,1 Å)و تعتبر طاقتها أكبر من طاقة تجاذبات فاندرفالس إلا انها أقل من طاقة الرابطة الايونية.

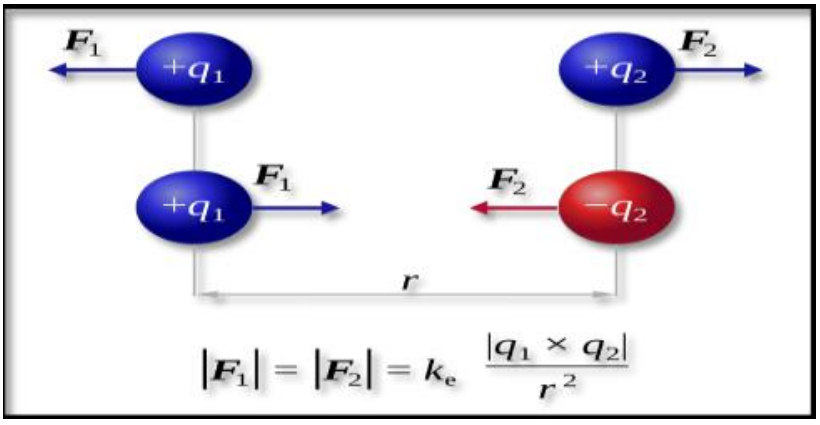
تلعب الرابطة الهيدروجينية دورا بالغا الأهمية في العمليات على المستوى الجزيئي , فهي تساهم في إستقرار هياكل البروتين و الحمض النووي كما تحدد بنية و خصائص العديد من المركبات بتأثيرها على الخواص الفيزيائية و الكيميائية للمواد**[27]** .



الشكل37 : الرابطة الهيدروجينية.

3.IV. التأثيرات الإلكتروستاتيكية

تمثل بنوع خاص من الروابط الكيميائية "الروابط الأيونية الضعيفة" و هي أبسط أنواع الروابط ، تنشأ عند تفاعل أيونين متضادين في الشحنة حيث أن هذه الشحنات ضعيفة فعندما تتفاعل ذرة ذات كهروسلبية عالية مثل الأوكسجين (O) مع ذرة ذات كهروسلبية منخفضة مثل الهيدروجين (H) تتشكل أيونات متعاكسة الشحنة تنجذب هذه الأيونات ببعضها بقوة كهربائية كبيرة يصل تأثيرها لمسافة كبيرة (4,5Å) مما يؤدي الى تشكل الروابط الأيونية الضعيفة**[28]** . .



الشكل38 : التأثيرات الالكتروستاتيكية

V .إشكالية الالتحام لجزيئي

تلعب التفاعلات الجزيئية بين البروتينات سواء مع بعضها البعض أو مع جزيئات أخرى مثل الليغاند أو الحمض النووي أدوارًا حاسمة في العديد من العمليات البيولوجية الأساسية مثل:

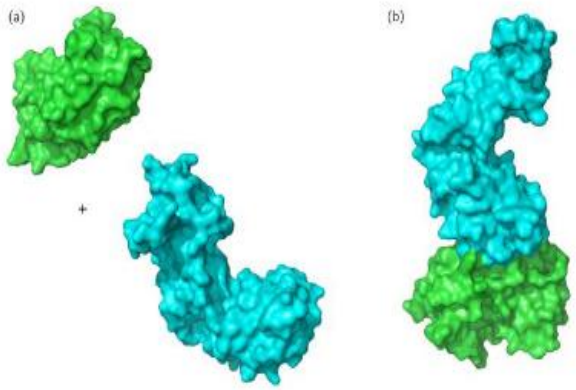
- **نقل الإشارات:** تتفاعل البروتينات لتنقل الإشارات بين الخلايا، مما يسمح لها بالتواصل وتنسيق وظائفها.
- **تنظيم و نقل الخلايا** : تلعب التفاعلات الجزيئية دورًا رئيسيًا في حركة الخلايا وتنظيمها، مثل تقسيم الخلايا وانقسامها.
- **التحكم في تعبير الجينات:** تتفاعل البروتينات مع جزيئات الحمض النووي لتنظيم نسخ الجينات وتحويلها إلى بروتينات.

تعدّ البنية الثلاثية للبروتينات عنصرًا هامًا لفهم كيفية ارتباطها مع بعضها البعض ومع جزيئات أخرى، مما يؤدي إلى تفاعلات كيميائية حيوية متنوعة، من الضروري فهم آليات تفاعلها مع بعضها البعض ومع الجزيئات الأخرى ومع ذلك قد تكون دراسة هذه التفاعلات تجريبيًا في المختبر صعبة أو مستحيلة في بعض الأحيان، فقد يكون عمر بعض الجزيئات قصيرًا جدًا مما يجعل دراستها مباشرةً صعبة كما أن تقنيات مثل الأشعة السينية والرنين المغناطيسي نووي قد تكون معقدة ومكلفة لهذه الأسباب، يزداد الإهتمام بتطوير طرق تنبؤية مبنية على المحاكاة الحاسوبية لفهم تفاعلات البروتين، تُكمل هذه الطرق الأساليب التجريبية وتوفر معلومات قيّمة حول آليات التفاعل حتى في الحالات التي يصعب فيها دراسة التفاعلات مباشرة .

VI .أنواع الإتحام الجزيئي

VI .1. الالتحام الجزيئي بين بروتين–بروتين

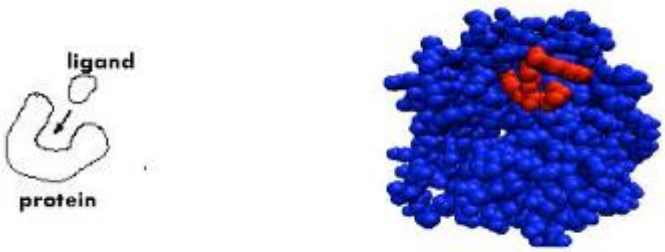
عملية تفاعل بين جزيئين بروتينين حيث تكون البروتينات متساوية تقريبا في الحجم بينما موقع الارتباط على سطحهما غالبا ما يكون أكثر إستواء، تحدث هده العملية بشكل نادر عندما تكون إحدى البروتينات متموضعة داخل تجويف البروتين الآخر مما يجعل من الصعب تحديد البنية ثلاثية الأبعاد للمعقد[**29**] .



الشكل39: شكل تخطيطي للالتحام بروتين _بروتين

2.VI. الالتحام الجزيئي بين بروتين– ليغاند

عند حدوث تجاذب بين جزء ضخم يدعى " بروتين" و جزء أصغر منه نسبيا يدعى " ليغاند" في عملية تسمى الالتحام بروتين _ليغاند[**29**] .



الشكل40: شكل تخطيطي لالتحام بروتين_ليغاند

VII . أنماط الالتحام الجزيئي

تواجه مرحلة الالتحام في النمذجة الجزيئية تحديا رئيسيا يتمثل في التنقل في الفضاء بحرية قدر الإمكان، يعتمد حجم هذا التحدي على عدد درجات الحرية المتاحة حيث أن في الحالة التقليدية التحام الجزيئات المتينة يتضمن 6 درجات حرية و منه فإن تضمين عامل المرونة يؤدي إلى زيادة درجات الحرية بشكل ملحوظ مما يستدعي نطاق بحث أوسع و تكلفة حسابية أكبر **[30]**.

يمكن تحقيق عملية إلتحام الجزيئات وفق 3 طرق :

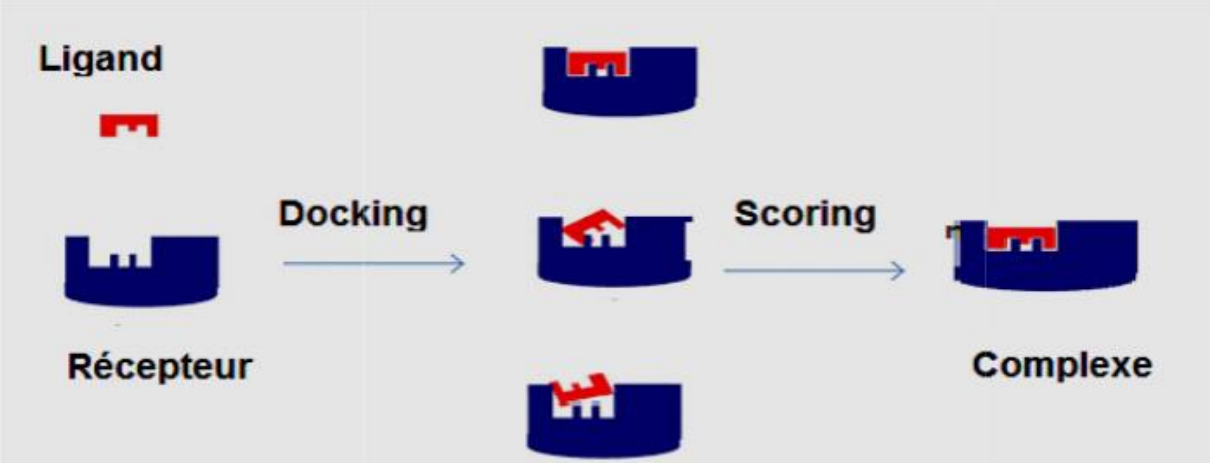
- **الالتحام الصلب (الثابت):** تتميز هذه العملية بأن كل من البروتين و الليغاند يكونان عناصرا ثابتة مما يتماشى مع نظرية القفل و المفتاح ، ففي برامج الالتحام الأولى استلهمت هذه النظرية، حيث يحافظ كل من البروتين والليغاند على هياكلهم الهندسية الثابتة .
- **الالتحام المرن:** يسمح هذا النوع من الالتحام بضبط مرونة الرابطة و تحسين التفاعل بين البروتين و الليغاند.
- **الالتحام الشبه المرن:** يعتبر الليغاند عنصرا مرن بينما يكون البروتين ثابتا, يسمح هذا النوع من التجاذبات للبروتين والليغاند بتغيير هياكلهما لتحقيق توافق أفضل و تحسين التفاعل بينهما مما يؤدي إلى الحصول على نتائتج أكثر دقة في تصميم الأدوية،حيث يعتبر الإلتحام الشبه المرن أكثر فعالية و إستخداما حاليا **[31]**.

VIII . مبدأ العمل

يهدف الإلتحام الجزيئي إلى تحديد أفضل وضعية لترابط جزيئتين أو مجموعة جزيئات عادة ما يكون أحدهما مستقبل ذو بنية ثلاثية الابعاد (بروتين) و الأخرى جزيء صغير (الليغاند) من خلال البحث عن توجيهات و تشكيلات مناسبة لتثبيت الليغاند على البروتين، تتضمن هذه المحاكاة الجزيئية بشكل أساسي خطوتين متكاملتين :

❖ **البحث:** هي مرحلة الاختيار، تتمثل في وضع الليغاند في الموقع الفعال للبروتين و البحث عن جميع المواقع المحتملة لارتباط بروتين–ليغاند باستعمال خوارزميات مختلفة (monte carlo)

❖ **التقييم:** و هي مرحلة التصنيف ، بعد تحديد جميع الوضعيات الممكنة يقوم البرنامج بتقييم التآلف بين البروتين–ليغاند عن طريق طاقة تكوين المعقد باستعمال دالة الترتيب مما يؤدي الى إختيار أفضل وضعية من بين جميع الوضعيات المقترحة **[32]**.



الشكل41: المبدا العام للالتحام

يتم تقييم جودة الالتحام الجزيئي عن طريق حساب قيمة RMSD(root mean square deviation) جذر متوسط الانحراف المربع للنموذج المتحصل عليه من البرمجية و مقارنتها مع قيمتها للمعقد المتحصل عليه تجريبيا **[33]**.

IX. برنامج نمذجة الالتحام الجزيئي Molegro Virtual Docker (MVD)

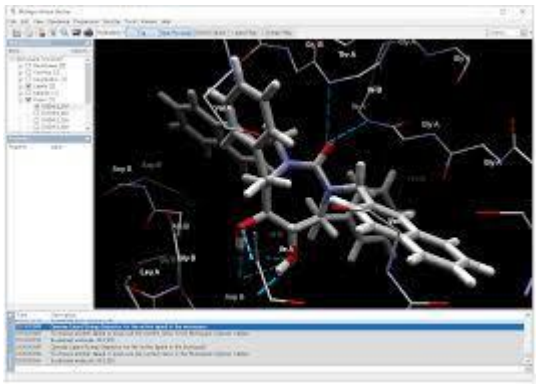
برنامج الإلتحام الجزيئي (MVD) عبارة عن برنامج فعال للمحاكاة، يتيح التنبؤ بتجاذبات بروتين–ليغاند ، مصمم للقيام بجميع الخطوات العملية أوتوماتيكيا ، كما يوفر إلتحاما عالي الجودة معتمدا على تقنية تسمح بزيادة الإنتاجية و توفير الوقت.

يعتمد هذا البرنامج على دالة تقييم **MolDock Score** التي تستند على خوارزمية بحث مبتكرة تجمع بين البحث التطوري التفاضلي و الخوارزميات التي تتنبأ بالفراغات في بنية البروتين ، عن طريق حساب طاقة التجاذب بين البروتين و الليغاند و تحديد العينة ذات الطاقة الاقل **[34]**.

يوفر إمكانية تطبيق 3خوارزميات بحث :

- **MolDock Optimizer(MDO)**
- **MolDock Simplex Evolution(MDSE)**
- **Iterated simplex(IS)**

يحتاج هذا البرنامج بنية ثلاثية الأبعاد للبروتين أو الليغاند على حد سواء المتحصل عليها إما بواسطة الرنين المغناطيسي أو الفحص المجهري الإلكتروني علم البلورات بالأشعة السينية ليستخدم عملية الالتحام المرن لليغاندات من أجل الوصول إلى الإحداثيات المثالية للذرات الليغاند خلال عملية الالتحام **[28] [2]**.



الشكل42: واجهة برنامج MVD .

X . الخوارزمية المستعملة في عملية الالتحام الجزيئي

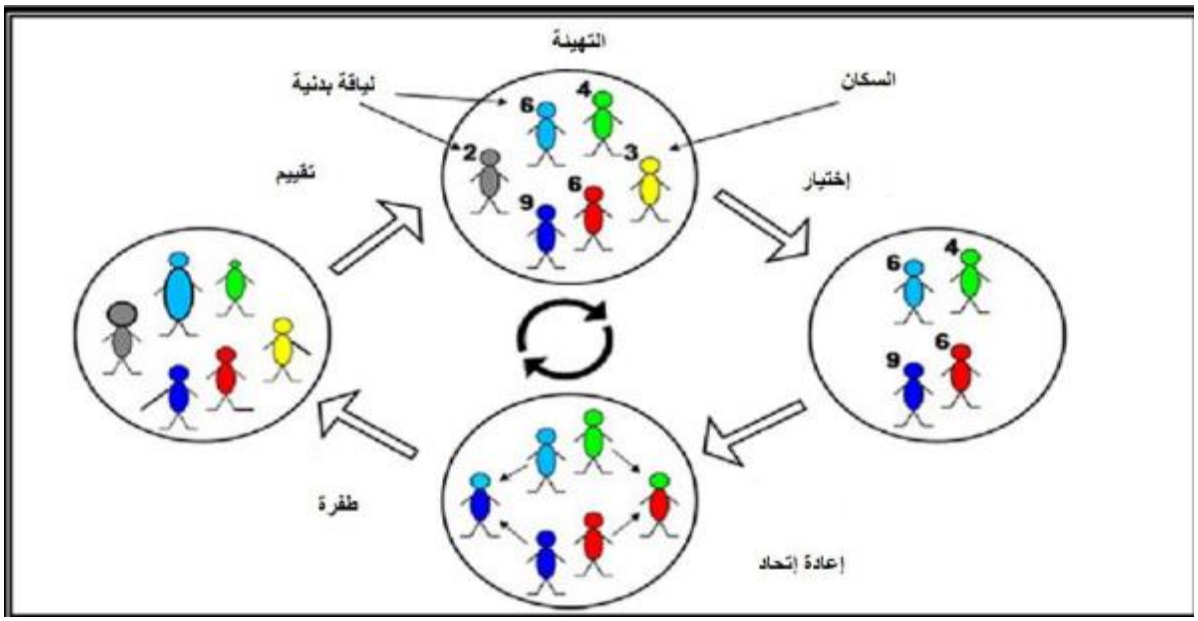
X.1. الخوارزمية MolDock Optimizer

لقد تم تطبيق العديد من الخوارزميات في ميدان إلتحام الجزيئات لتحليل التجاذبات بين الليغاند والبروتين ولكن في هذه الدراسة سنتحدث عن خوارزمية البحثOptimizer Moldock ، وهي خوارزمية

مطورة حديثا تمكنت من إظهار نتائج ممتازة , مستمدة من الخوارزميات التطورية. تساهم هذه الخوارزمية في توظيف عدد كبير ومتنوع من بروتينات واليغاندات وتوليد وضعيات عشوائية ، مما ينتج عنه تشكيلة مختلفة من الأوضاع ضمن فضاء البحث الذي يضم كافة الأحماض الأمينية المؤلفة للموقع النشط للبروتين.

تتم هذه الخوارزمية في مرحلتين:

- **المرحلة الاولى:** تتضمن تشكيل أولي لمجموعة من الحلول (الوضعيات في حالتنا) بشكل عشوائي، متبوعًا بتقييم جميع العناصر في المجموعة وتصنيفها باستخدام دالة التصنيف المعتمدة .
- **المرحلة الثانية:** تجرى عملية تحسين للحلول من خلال إدخال الطفرات والتقاطعات بين مختلف الحلول, هذا يؤدي إلى خلق جيل جديد من الأوضاع، حيث يتم بعدها إعادة التقييم والترتيب للمجموعة الجديدة، ومن ثم إزالة الحلول الأقل فاعلية (أي الحلول التي تظهر في آخر قائمة الترتيب). تستمر الخوارزمية في هذا النمط من التطوير حتى تصل إلى النتائج المُرضية أو الحدود المحددة من قبل المستخدم **[28] [2]**.



الشكل43 : خوارزمية البحث التطورية

X .2. دالة الترتيب MolDock Score

في تجارب الفحص الافتراضي يعد تقييم و تصنيف الوضعيات المقترحة لكل ليغاند أمرا مهما، و هذا يتضمن تقدير طاقة الربط بين البروتين و الليغاند، بتعبير آخر قياس مدى تلاؤم هذا الاخير مع الموقع النشط البروتيني من خلال تحديد الوضعية الأمثل و التى تتسم بأقل قيمة لطاقة الربط ، هذا مبني على وظيفة التصنيف التي تعتمد عليها هذه الخوارزمية MolDock المعتمدة في برنامج MVD و المشتقة من دوال الترتيب الأصلية PLP التي طرحها العالم Gehlhaar سنة 1955 و المعدلة من قبل العالم Yang سنة 2004 لإظهار تحسينات في القدرة على انتقاء و تمييز أفضل للروابط الهيدروجينية و التأثيرات الإلكتروستاتيكية.(opti,iser article)

تعرف دالة الترتيب على أنها الطاقة الإجمالية التي تنتج من مجموع طاقتين أساسيتين E_{inter} و E_{intra} تعطى عبارتها بالمعادلة التالية:

$$= \quad E_{intra} \quad + \quad E_{inter}E_{score}$$

حيث أن :

- E_{inter}: هي طاقة التجاذبات بين الليغاند و البروتين .

- E_{intra}: هي الطاقة الداخلية لليغاند.

❖ E_{inter} تضم طاقات التجاذبات جميع الذرات الثقيلة في الليغند وجميع الذرات الثقيلة في البروتين بما في ذلك ذرات عامل مساعد وذرات جزيء الماء التي قد تكون موجودة تعطى بالعلاقة:

$$E_{\text{inter}} = \sum_{i \in ligand} \sum_{j \in protein} \left[E_{PLP}(r_{ij}) + 332.0 \frac{q_i q_j}{4 r_{ij}^2} \right]$$

- E_{PLP}: مقدار طاقوي يمثل الجهد الخطي Linear Potential piecewise .
- Q=$332.0 \frac{q_i q_j}{4 r_{ij}^2}$: تمثل التفاعلات الالكتروستاتيكية بين الذرات المشحونة (كمون كولوم
- تتعلق بالمسافة وشحنة كل من الليغاند و البروتين .
- **322.0:** قيمة عددية تحول وحدات الطاقة الكهروستاتيكية بوحدة **kcal/mol**.

- تُستخدم دالة الكمون الخطي **PLP** لحساب طاقة التجاذب بين ذرات الليغاند والبروتين، تتكون من مجموعتين مختلفتين من المعاملات:

1. **مجموعة قيم التجاذبات الفراغية (فاندرفالس):** تُستخدم هذه المجموعة لحساب طاقة التجاذب بين ذرات الليغاند والبروتين ، تعتمد هذه القيم على المسافة بين الذرات.
2. **مجموعة قيم طاقة الربط الهيدروجيني:** تُستخدم هذه المجموعة لحساب طاقة التفاعل بين ذرات الليغاند والبروتين التي تشكل روابط هيدروجينية. تعتمد هذه القيم أيضًا على المسافة بين الذرات.

❖ إذا قدمت ذرة لذرة أخرى ذرة هيدروجين و قامت باستقبالها فتتشكل بينهما رابطة تدعى "الرابطة الهيدروجينية "

يبين الجدول التالي أنواع الذرات المشكلة لهذه الرابطة:

الجدول1: أنواع الروابط المشكلة للرابطة الهيدروجينية

الذرات	النوع
N et O sans H liés	مستقبل Accepteur
N et S avec un ou plusieurs H liés	مانح Donneur
O avec H attachés	Accepteur et Donneur مسستقبل و مانح

الجزء الثاني من دالة الترتيب هو E_{intra}تسمى الطاقة الداخلية لليغاند تعطى بالعلاقة :

$$E_{intra} = \sum_{i \in ligand} \sum_{j \in protein} E_{PLP}(r_{ij}) + \sum_{flexible\ bonds} A[1-\cos(m.\theta-\theta_0)] + E_{clash}$$

الجزء الأول من المعادلة يعبر عن طاقة الجذب التي تحدث بين أزواج الذرات، أما الجزء الثاني يُمثل الطاقة الالتوائية (طاقة اللف) و التي تعتمد بشكل أساسي على تهجين الذرات المرتبطة وθ تمثل زاوية اللف لهذه الروابط ،لا توافق بالضرورة إلتفافا وحيد وإنما هي متوسط عدة التفافات إن وجدت.

الجزء الأخير E_{clash} يمثل ثابت العقوبة ، المنسوب إلى المعادلة لإستبعاد التشاكلات غير محققة لليغاند و كذلك المسافة بين ذرتين ثقيلتين أقل من 2Å ، و تقدر قيمة هذا الثابت ب 1000 وحدة طاقة , كذلك في حالة وجود ذرات الليغاند خارج الموقع النشط يضاف ثابت عقوبة بقيمة 10000 لقيمة الطاقة الكلية مما يؤدي إلى رفض العينة أو الليغاند المدروس **[28] [2]**.

XI. خلاصة

إن كل تقنيات النمذجة الجزيئية، تحظى باهتمام واسع من قبل الباحثين في ميادين الكيمياء الصيدلانية والكيمياء العضوية, في هذا الفصل، تطرقنا للأسس اللازمة لفهم كيفية العمل بطرق الإتحام الجزيئي التي تُعد خطوة محورية في مجال تطوير الأدوية , هذه الطريقة تمنح فرضًيات هيكلية بشأن كيفية التداخل بين الليغاند والبروتين , كُشِفَ أن بعض خوارزميات التحام تتسم بمستوى دقة أعلى في محاكاة أنماط الترابط الواقعية للمركبات. في الفصل اللاحق يستم تطبيق تقنية الالتحام الجزيئي باستخدام برنامج MVD لدراسة التجاذبات بروتين–ليغاند في سياق مثبطات إنزيم "ألفا جلوكوسيداز " سيساعدنا ذلك على وصف أليات التفاعل و تطوير مثبطات جديدة بشكل افتراضي مما يسرع عملية اكتشاف دواء لمرض السكري **[30]** .

الفصل الرابع:

تجاذبات بعض الفلافونيدات مع

إنزيم الجلوكوأميلاز

I .المقدمة

يعدّ مرض السكري من أهم التحديات الصحية التي تواجه العالم اليوم و على الرغم من التطورات العلمية الكبيرة لا تزال هناك حاجة ماسة لإكتشاف مركبات جديدة فعالة مضادة لهذا المرض .

تُعدّ النباتات مصدرًا غنيًا بمركبات طبيعية ذات خواص علاجية واعدة، ومن بين هذه المركبات تبرز الفلافونيدات كأحد أهم العوامل المُضادة لهذا المرض، تهدف هذه الدراسة إلى تسليط الضوء على آليات عمل الفلافونيدات في مكافحة مرض السكري كونها تملك خاصية تثبيط العديد من الإنزيمات.

قد تطرقنـا في هذه المذكرة الى دراسة فعالية الفلافونيدات في تثبيط إنزيم جلوكواميلاز باستعمال النمذجة الجزيئية بطريقة الالتحام الجزيئي، ولقد مر بحثنا هذا بالمراحل الأساسية التالية

في المرحلة الأولى: نقوم بعملية إعادة الالتحام للتأكد من دقة ضوابط البرنامج في إعادة استنساخ' الوضعية التجريبية للمثبط في المعقد الثنائي جلوكواميلاز – ميجليتول .

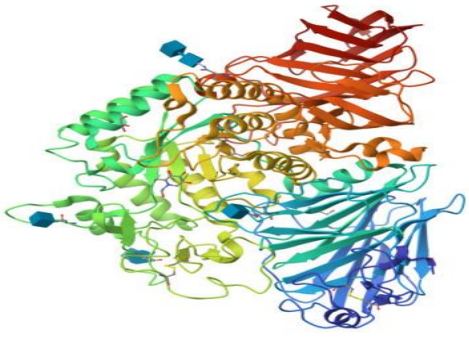
في المرحلة الثانية: نمذجة الإلتحام الجزيئي للفلافونيدات و المحملة في قاعدة المعطيات مع جلوكواميلاز ثم ترتيب المركبات من ناحية الفعالية البيولوجية الإفتراضية وفق الدالة الترتيبية للبرنامج **MolDock Sco**.

في المرحلة الثالثة و الأخيرة: نقوم بدراسة و تحليل نتائج عملية الالتحام الجزيئي لأحسن المركبات من حيث الطاقة وربط النتائج مع ما تم التوصل إليه مسبقا من طرف الباحثين فيما يخص الفعالية البيولوجية للفلافونيدات.

II . البنية الثلاثية للمستقبل "3L4W"

انطلاقا من بنك بيانات البروتينات يتم الحصول على البنية الثلاثية للمستقبل و ذلك بالدخول لهذا الموقع بالنقر على الرابط http://www.pdb.org ، 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 (RMN) .كل بروتين له مدخل خاص PDB Id يتكون من رموز أما حرفية(A–Z) يتبعه رقم (9–0) ويمكن البحث في هذا البنك باستعمال الرقم التعريفي أو استعمال كلمات مفتاحية ذات علاقة بالبروتين المدروس.

إستخدمنا في دراستنا مركبا ثنائيا يتكون من جلوكوأميلاز البشري و الليغاند الميجليتول الذي نشره Sim, L., Rose, D.R. في عام 2010 تحت اسم (3L4W pdb) و الذي قمنا بتحميله من الموقع www.rcsb.org يتمتع هيكلها البلوري ثلاثي الابعاد بدقة 2.00 أنغشتروم ووزن هيكلي 101.14 كيلو دالتون و طول حمض اميني 875.



الشكل44: الهيكل **البلوري ثلالي الأبعاد لجلوكوأميلاز [3L4W]**

III. البنية الثلاثية للربيطة" الليغاند"

تم تحميل الهيكل ثلاثي الأبعاد (3D) للربيطات المستخدمة في هذا العمل على شكل SDF من قاعدة البيانات PubChem (**https//pubchem.ncbi.nlm.nih.gov**) كل ربيطة معرفة برمز CIDالخاص بها. كما تم استخدام برنامج Pro ChemDraw 0.12 لرسم المركبات في المستوي 2D.

IV. تحضير المستقبل والليغاند

عملية التحضير عبارة عن مجموعة من المراحل المتتالية والتي تتغير على حسب البرنامج المستخدم حيث يتم أولا وضع كل من المستقبل و الربيطة في مساحة "work space"حيث نعتبر الربيطة على أنها مرنة و البروتين على انه جسم صلب و هذا بالنسبة لبرنامج MVD تتم عملية التحضير آليا ويتم تلخيصها وفق المراحل التالية.

- ✓ إزالة أي جزيء ماء موجود على سطح البروتين في حالة إختيار الالتحام في غياب جزيئات الماء.
- ✓ نزع جميع الليغاندات المتواجدة في البروتين ما عدا الليغاند المرجعي الميجليتون MIG 1001
- ✓ إضافة ذرات الهيدروجين الناقصة
- ✓ تعديل الشحنات.
- ✓ تصحيح نوع الرابطة" بسيطة أو مزدوجة"
- ✓ الكشف عن زوايا الفتل وزوايا المرونة.
- ✓ التحقق من تفادي التصادم الفراغيSteric clashبعد إضافة ذرات الهيدروجين الناقصة في كل من الليغاند والبروتين

V. الكشف عن الفجوات الموجودة في المستقبل

يتم الكشف عن الفجوات التي في المستقبل بصفة تلقائية في البرنامج المستخدم لوجود خوارزمية مدمجة، كشف البرنامج عن عدة فجوات في بروتين 3L4W بعد ذلك يتم تحديد في أي من هذه الفجوات التي تمثل الموقع الفعال وذلك استنادا إلى:

- ✓ المعطيات البيبليوغرافية انطلاقا من البحوث السابقة التي درست بنية هذا الإنزيم.
- ✓ وجود مثبط تنافسي مرتبط في البنية البلورية للإنزيم المدروس والمحملة من بنك البروتينات.
- ✓ كما يمكن التأكد من صحة موقع الفجوة الرئيسة وذلك يتم بمعاينة الأحماض الأمينية المحيطة بالفجوة.

VI. تحديد الموقع الفعال (فضاء البحث)

1- إختيار المثبط الميجليتول كليغاند مرجعي.

2- تعيين إحداثيات مركز فضاء البحث (x.y.z)

- ❖ **Z=34.8 y=92.20 X=45.21**
- ❖ **Radius =15 A**

VII. تحديد خوارزمية البحث

اخترنا Moldock Optimazer و هي عبارة عن خوارزمية مدمجة في البرنامج تنتمي إلى عائلة الخوارزميات التطورية تتنبأ بوضع ربط الركيزة بالبروتين .

أثناء محاكاة الإلتحام يمكن الحصول على العديد من الأوضاع المرشحة لكل ركيزة ، لذلك قمنا بتحديد أفضل الأوضاع ذات أدنى قيمة للطاقة وفقا لوظيفة التقييم بناءا على شبكة **Moldock Score** .

Moldock Score هي وظيفة تقييم تأخذ بعين الإعتبار عدد من العوامل بما في ذلك تفاعلات فاندرفالس، التفاعلات الإلكتروستاتيكية و تفاعلات الروابط الهيدروجينية بين الركيزة و البروتين .

يتم ضبط عدد الدورات في البرنامج عند القيمة 20 و يحدد أدنى انحراف بين النماذج المصممة للربيطة "les poses" بـ2A° هذه القيمة لا تسمح للبرنامج بتخزين النماذج المصممة المتشابهة في الموضع وفي النهاية يتم ترتيب أفضل النماذج المصممة للربيطة تصاعديا على حسب قيمة طاقة الارتباط .

VIII.إعادة الالتحام الجزيئي عن طريق برنامج الـ MVD

تتم عملية (redocking) بنزع الليغاند الموجود في المعقد 3L4W المحمل من بنك البروتينات ثم نجري له عملية الالتحام، إذا تم إرجاع الليغاند إلى نفس مكانه الأولي و بنسبة تطابق كبيرة يكون البرنامج كفيء و يمكن الوثوق بنتائجه النظرية التي تقترب إلى الحقيقة. رياضيا نعبر عن هذا الكلام بحساب مقدار الإنحراف RMSD بين موقع نموذج البنية البلورية المعرف بالإحداثيات الديكارتية ($X_{cristal}$ $Y_{cristal}$ $Z_{cristal}$) و النموذج المصمم يالبرنامج "pose" ذو الإحداثيات الديكارتية (X_{pose} Y_{pose} Z_{pose}) .

$$\text{RMSD}= \sqrt{\frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N} d^2}$$

حيث N يمثل عدد ذرات الليغاند .

d هو المسافة بين الزوج من الذرات المتناظرة .

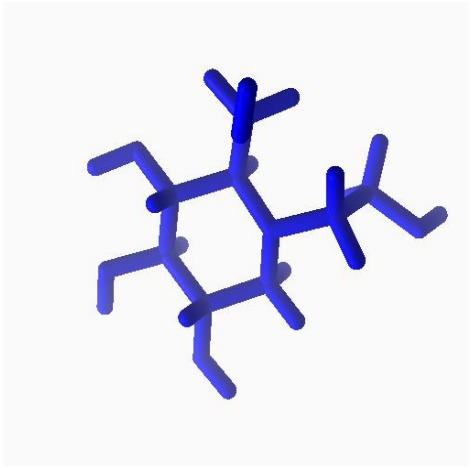
- باستعمال برنامج MVD تحصلنا على نتائج RMSD للميجليتول المرجعي الخاصة باعادة الالتحام .

الجدول 02: نتائج RMSD للميجليتول المرجعي الخاصة بإعادة الالتحام.

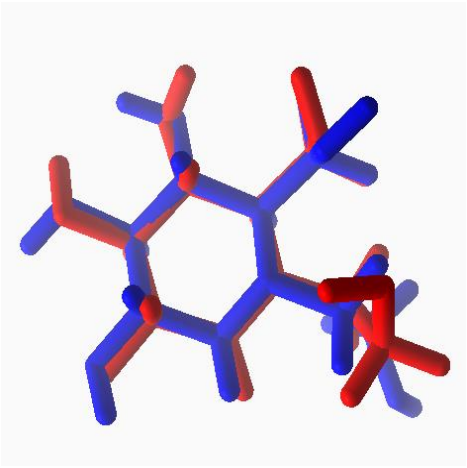
الوضعية	MolDock score	Rerank Score	RMSD
00	-102.411	-73.0801	1.14658
01	-95.091	-74.1644	3.23421
02	-95.9796	-76.8705	0.743774
03	-88.4888	-60.0535	3.74947
04	-91.6633	-68.8648	2.14877

نلاحظ من خلال الجدول

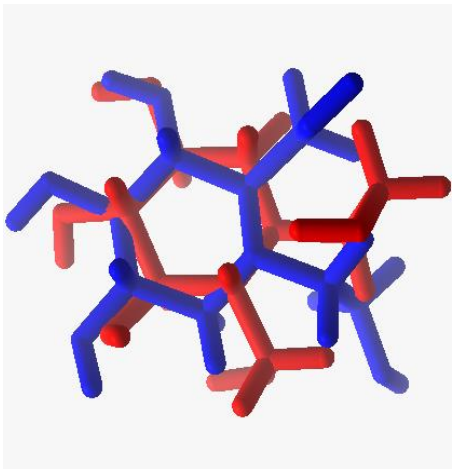
أن الطاقة الكلية المحصل عليها من دالة الترتيب للخمس وضعيات الناتجة من عملية الالتحام الجزيئي تكون محصورة بين −102.411Kcal/mol و Kcal/mol 88.4888−مرفقة بتغير في قيم RMSD من 0.743774Å إلى ، 3.74947 Å هذا ما يوضح لنا أن الوضعية [02] هي أفضل وضعية كما هو مبين في الشكل أدناه (بنية الليغاند المرجعي ممثلة باللون الأزرق)، حيث نجد تطابق بين MIG 1001 و الوضعية [02] . مما يثبت كفاءة هذا البرنامج و الخوارزمية المستعملة و قدرتهما على إعطاء نتائج قريبة من الحقيقة.



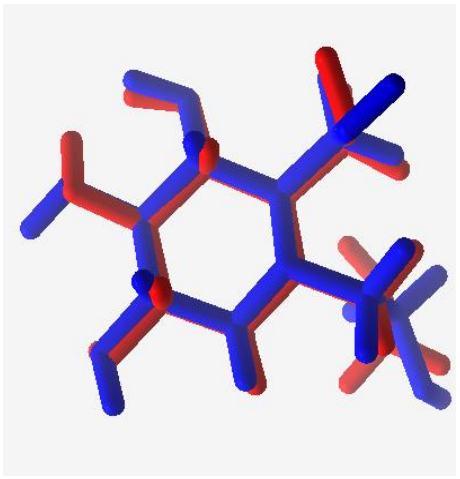
وضعية الميجليتول المرجعي



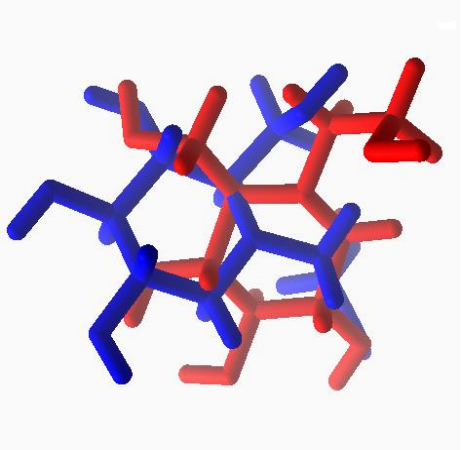
الميجليتول المرجعي + الوضعية [00]

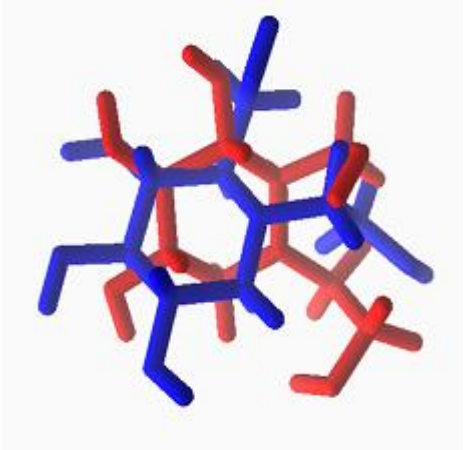


الميجليتول المرجعي + الوضعية [01]



الميجليتول المرجعي + الوضعية [02]





الميجليتول المرجعي + الوضعية [03] الميجليتول المرجعي + الوضعية [04]

الشكل45: بنية الميجليتول المرجعي ثلاثي الأبعاد و الوضعيات المثلى بعد عملية الإلتحام الجزيئي

IX. تنفيذ عملية الالتحام الجزيئي للفلافونيدات و دراسة التأثيرات التجاذبية ليغاند – جلوكواميلاز

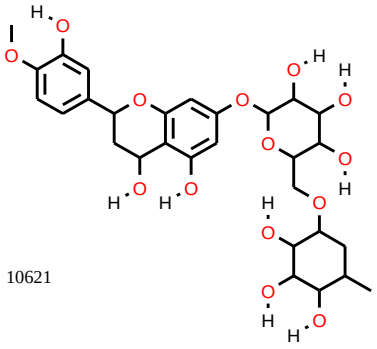
- **تنفيذ الالتحام الجزيئي للفلافونيدات**

قمنا بعملية الالتحام الجزيئي على (336)مركب مع الحفاظ على نفس الضوابط المستعملة سابقا في عملية إعادة الالتحام، بعدها قمنا بعملية فرز للوضعيات المتحصل عليها (276)و احتفظنا بثلاثين وضعية ذات أحسن قيمة طاقة و المرتبة وفق دالة الترتيب و المبينة بالجدول رقم(2)

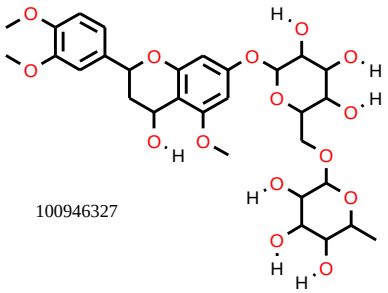
الجدول 03:أحسن ثلاثين وضعية مرتبة وفق دالة الترتيب MolDock Score

تجاذبات ليغاند-ليغاند			تجاذبات ليغاند-بروتين					
تجاذبات إلكتروستاتيكية	طاقة الرابطة PLPالفراغية	Torsion Strain	تجاذبات إلكتروستاتيكية		طاقة الرابطة الفراغيةPLP	الرابطة الهيدروجينية	الطاقة الكلية Kcal/mol	الرقم
			long	short				
0,00	18,890	6,126	0,00	0,00	-177,313	-22,253	-174,549	**10621**
0,00	13,687	6,062	0,00	0,00	-169,664	-20,118	-170,032	**100946327**
0,00	-1,424	7,636	0,00	0,00	-160,437	-11,670	-165,895	**14559755**
0,000	7,528	6,278	0,00	0,00	-162,197	-16,324	-164,715	**16760075**
0,00	18,041	6,223	0,00	0,00	-160,390	-28,492	-164,618	**83489**
0,00	13,842	4,384	0,00	0,00	-158,084	-23,034	-162,891	**442431**
0,00	27,638	0,297	0,00	0,00	-176,084	-10,298	-158,447	**46841213**
0,00	11,213	8,894	0,00	0,00	-163,399	-15,086	-158,379	**442439**
0,00	2,752	2,916	0,00	0,00	-157,173	-6,260	-157,766	**11466031**
0,00	-13,285	4,841	0,00	0,00	-139,689	-8,743	-156,877	**139058847**
0,00	13,635	12,197	0,00	0,00	-162,177	-19,840	-156,186	**53477767**
0,00	19,008	1,080	0,00	0,00	-167,305	-8,371	-155,587	**91884905**
0,00	13,143	4,354	0,00	0,00	-150,393	-19,101	-151,997	**477827**
0,00	2,784	7,437	0,00	0,00	-144,858	-15,904	-150,541	**42607863**
0,00	5,719	12,684	0,00	0,00	-163,698	-5,204	-150,499	**11398079**
0,00	15,851	14,548	0,00	0,00	-166,211	-12,619	-148,431	**134715152**
0,00	6,041	5,623	0,00	0,00	-148,883	-10,084	-147,303	**11730903**
0,00	-2,908	4,493	0,00	0,00	-144,440	-3,333	-146,187	**11420157**
0,00	4,483	1,253	0,00	0,00	-140,125	-11,508	-145,897	**42607959**
0,00	4,151	8,085	0,00	0,00	-145,680	-9,547	-142,992	**14134104**
0,00	-0,840	5,865	0,00	0,00	-138,325	-7,301	-140,601	**11113726**
0,00	3,146	0,926	0,00	0,00	-130,520	-12,539	-138,987	**12110448**

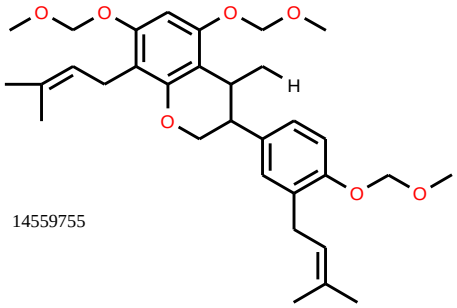
0,00	26,609	6,537	0,00	0,00	-150,100	-21,522	-138,477	**14282774**
0,00	27,135	5,748	0,00	0,00	-152,324	-16,554	-135,995	**11954209**
0,00	-0,298	1,146	0,00	0,00	-126,852	-9,041	-135,044	**3012485**
0,00	18,445	4,542	0,00	0,00	-134,794	-18,075	-129,882	**130116**
0,00	26,237	3,423	0,00	0,00	-131,967	-26,899	-129,206	**21721954**
0,00	16,065	6,723	0,00	0,00	-133,135	-13,684	-124,030	**14187089**
0,00	13,497	0,851	0,00	0,00	-126,002	-11,848	-123.503	**42607896**
0,00	21,947	3,392	0,00	0,00	-127,595	-19,000	-121,257	**14282775**
0,00	13,799	6,723	0,00	0,00	-81,501	-12,030	-73,008	**MIG_1001**



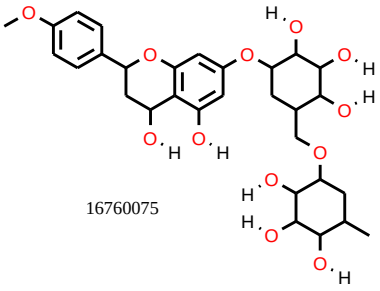
10621



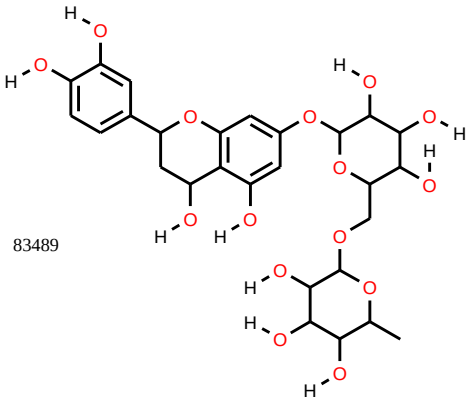
100946327



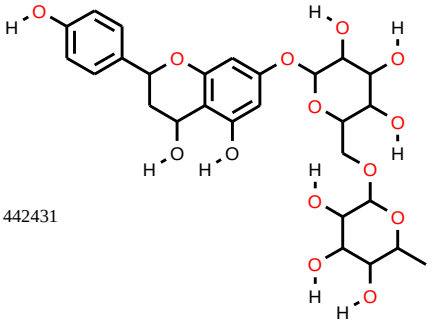
14559755



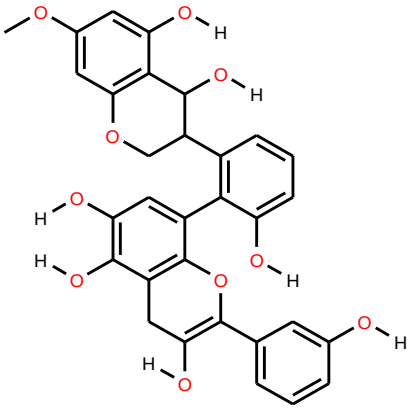
16760075



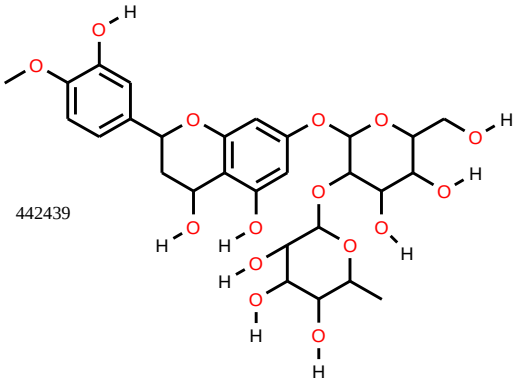
83489



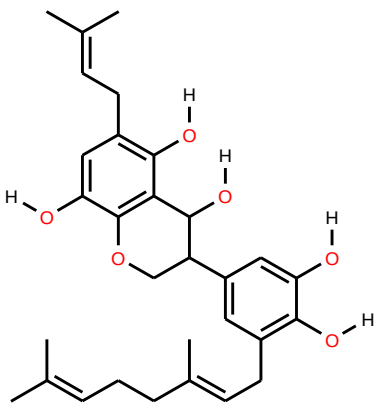
442431



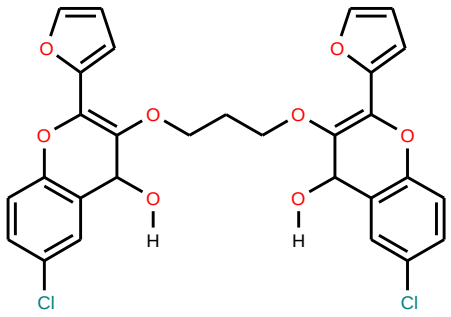
46841213



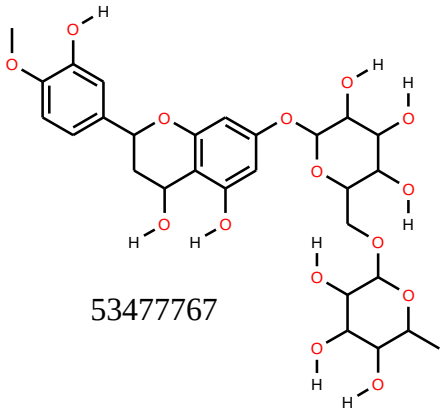
442439



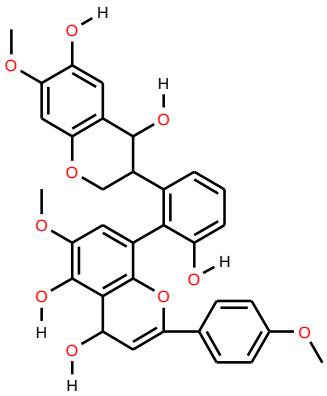
11466031



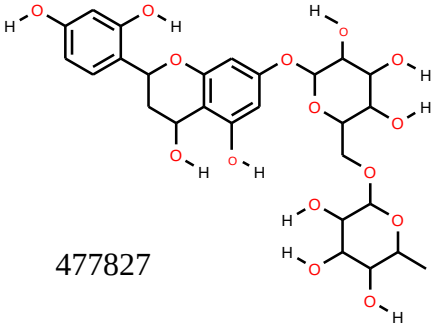
139058847



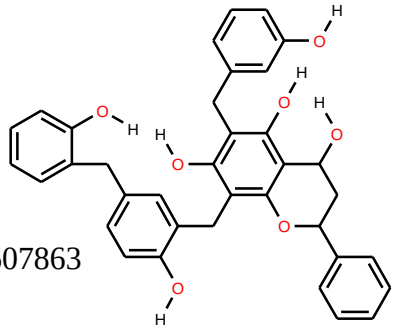
53477767



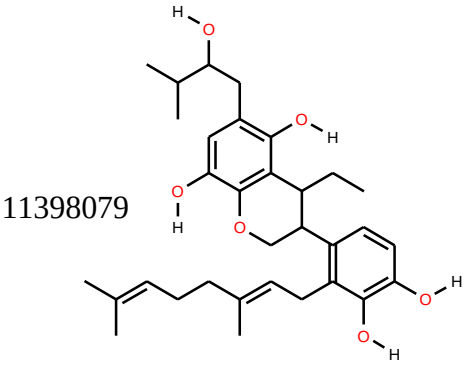
91884905



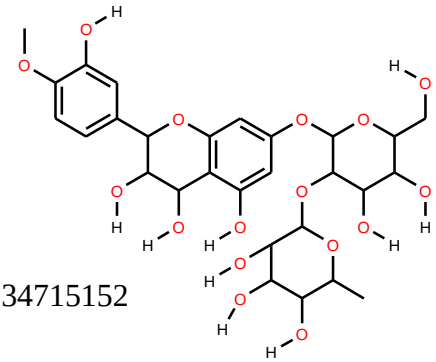
477827



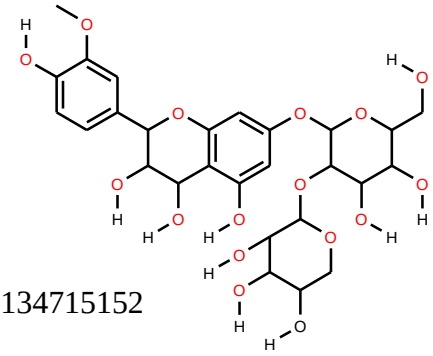
42607863



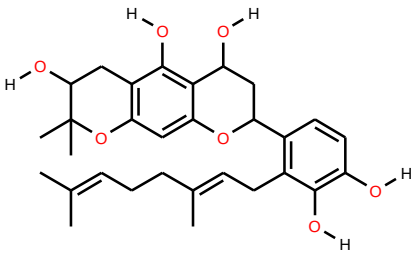
11398079



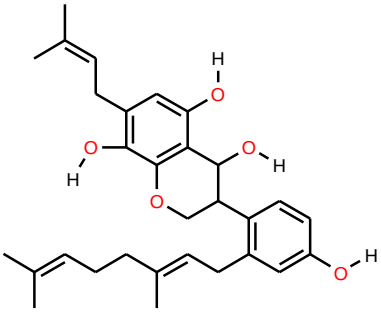
134715152



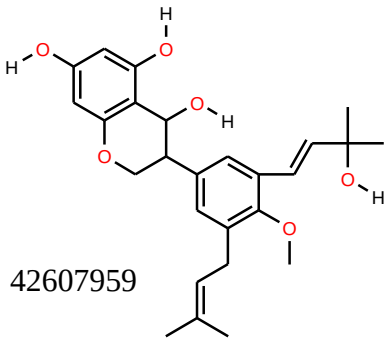
134715152



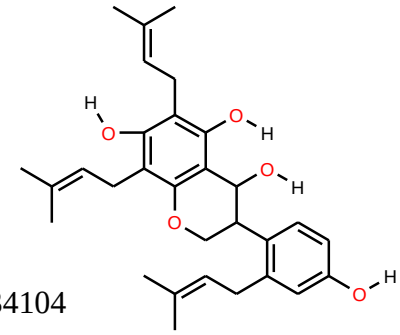
11730903



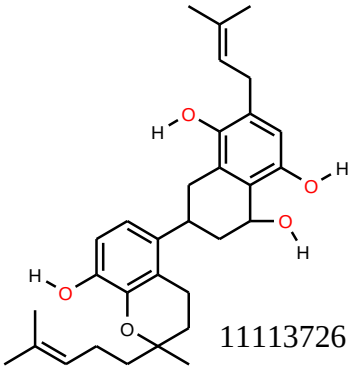
11420157



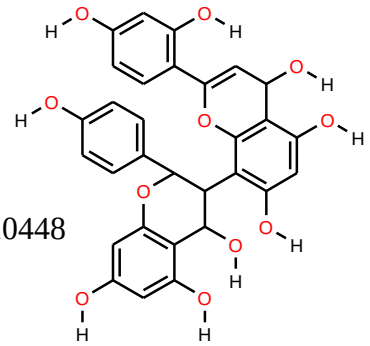
42607959



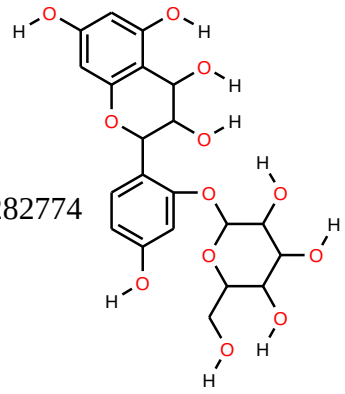
14134104



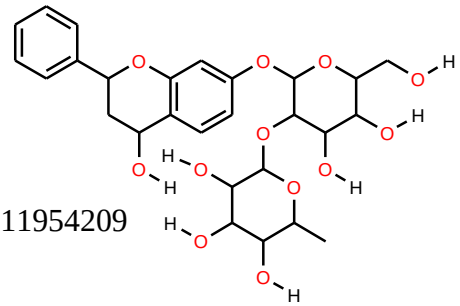
11113726



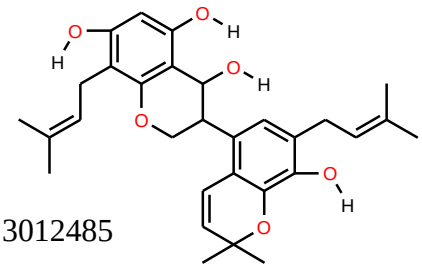
12110448



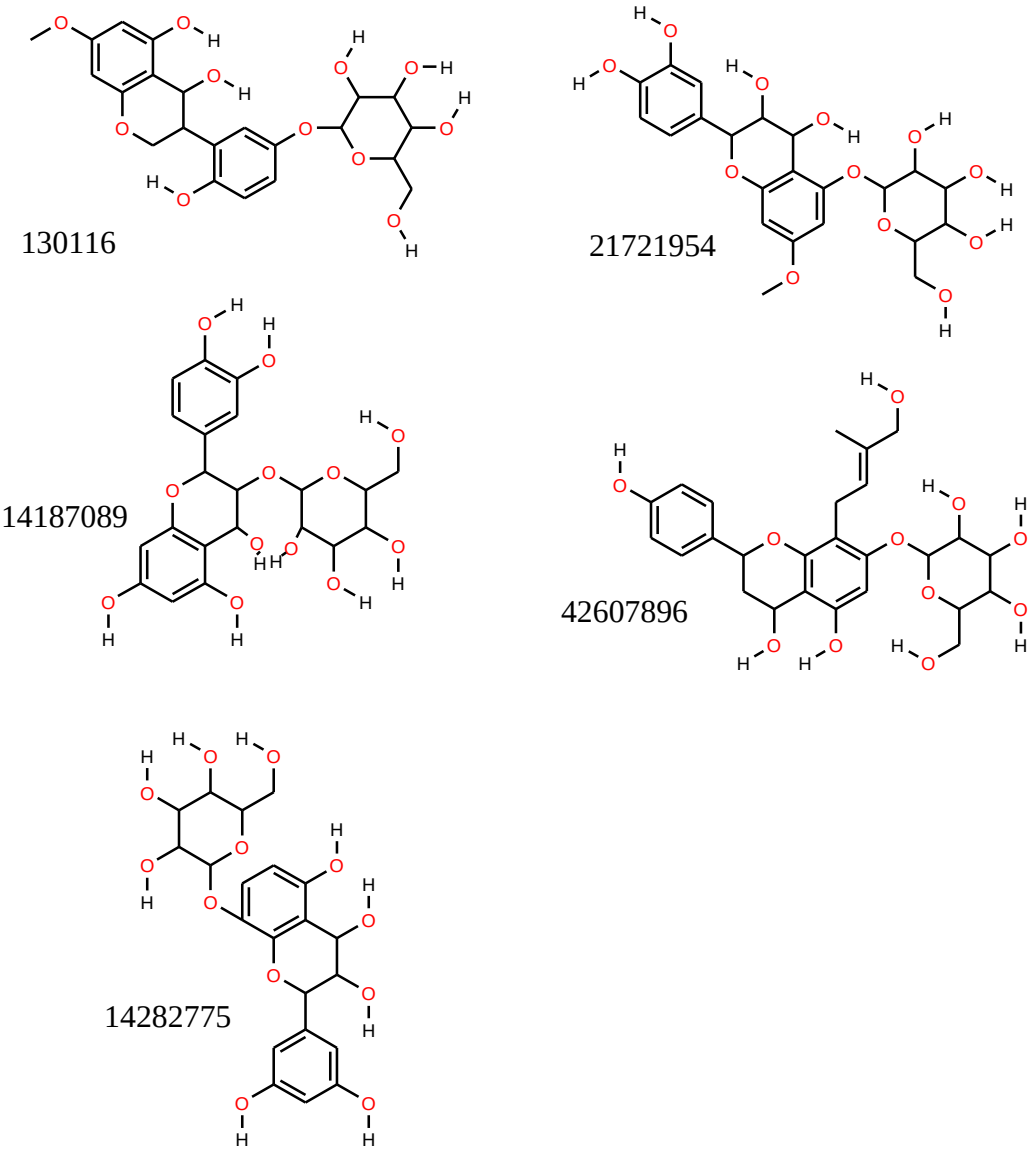
14282774



11954209



3012485



الشكل46 : أهم المركبات ذات أحسن قيمة طاقة الخاصة بجلوكوأميلاز .

تحليل النتائج :

من الجدول السابق نلاحظ

-الطاقة الكلية للوضعيات الثلاثون الأولى محصورة بين القيمة العظمى 174,549 kcal/mol- و القيمة الدنيا 121,257 kcal/mol - ، الطاقة الكلية للـ MIG هي73,008Kcal/mol- أما طاقة الرابطة الفراغية لهذه الوضعيات محصورة بين القيمة العظمى 177,313 kcal/mol- و قيمة دنيا 126,002kcal/mol- ، بينما طاقة المعقد "MIG 1001 - بروتين" هي 81,501kcal/mol- و منه نستنتج أن الثلاثون وضعية السابقة تشكل معقدات أكثر استقرارا من المعقد الذي يشكله 1001-MIG .

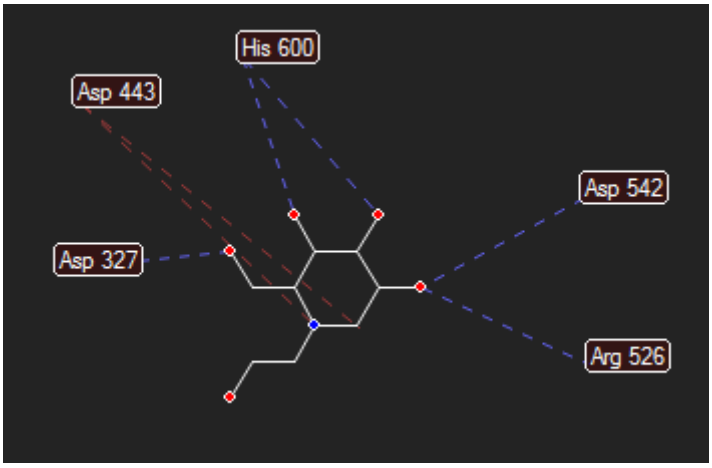
-قيمة طاقة الرابطة الفراغية (فاندرفالس) بين الليغاند و البروتين تكون دائما بقيمة أقل مقارنة بطاقة الرابطة الهيدروجينية إلا أن الرابطة الهيدروجينية تساهم في استقرار المعقد بروتين_ليغاند أكثر من الرابطة الفراغية و هذا راجع لقوة الرابطة الهيدروجينية و استقرارها.

- التجاذبات الكهروستاتيكية لا تساهم في استقرار الليغاند.

في باقي المذكرة سنقتصر على دراسة المركبات الستة الاولى فقط.

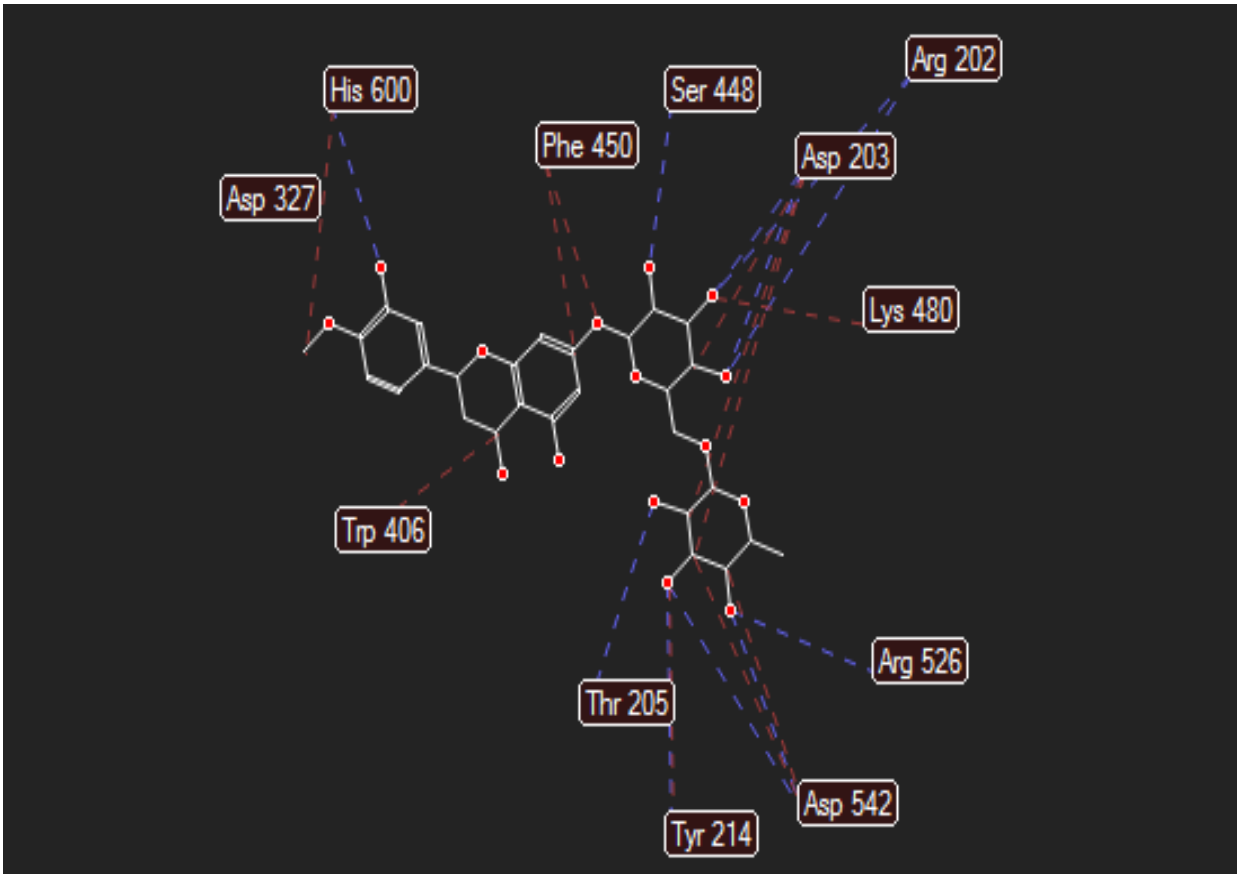
X . دراسة التأثيرات التجاذبية بين الليغاند-بروتين للمركبات الستة الأولى

يشكل الميجليتول 5 روابط هيدروجينية مع الأحماض الأمينية التالية: His 600، Asp 542، Arg 526، Asp 327 و رابطتين من نوع فاندرفالس Asp443 المشكلة للموقع الفعال لإنزيم جلوكوأميلاز.



الشكل47: مختلف تجاذبات للميجليتول مع إنزيم جلوكوأميلاز.

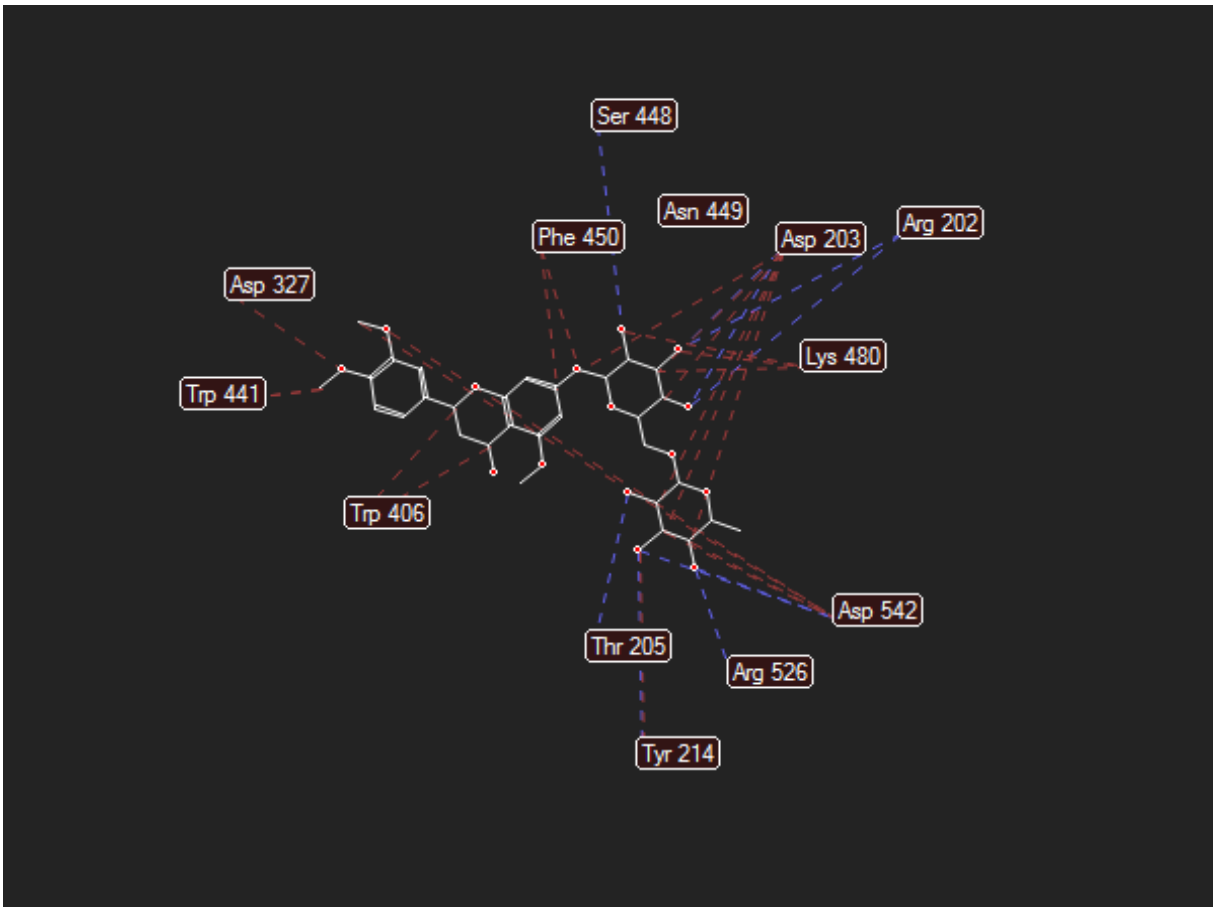
- يشكل المركب 10621 مع الإنزيم معقد ثنائي أكثر استقرارا مقارنة ب MIG . بطاقة كلية قدرت بـ : 174.549kcal/mol – ويصنع هذا المركب 11 رابطة هيدروجينية مع الأحماض الأمينية التالية : His 600،Ser 448 ، Asp203 ، Arg 202، Arg526 ، Asp542، Tyr 214، Thr 205 و 10 روابط فراغية مع الأحماض الأمينية التالية: Phe 450، Asp 203، Lys 480، Asp 542، Tyr 214، Trp 406 ،المشكلة للموقع الفعال لإنزيم جلوكوأميلاز .



الشكل48: مختلف التجاذبات للمركب 10621مع إنزيم جلوكوأميلاز .

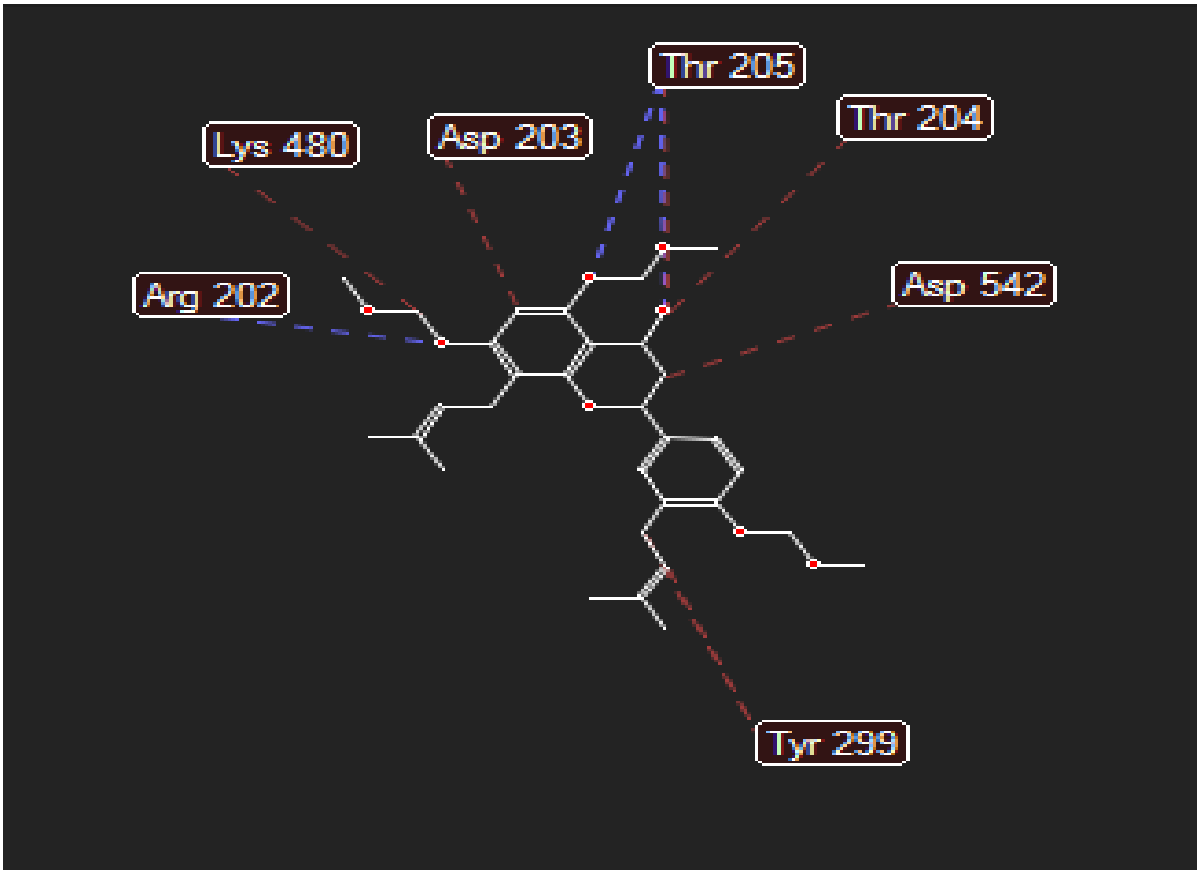
- يشكل المركب 100946327مع الإنزيم معقد ثنائي أكثر استقرار مقارنة بالميجليتول MIGبطاقة كلية قدرت بـ : 170.032kcal/mol− ويصنع هذا المركب (10) روابط هيدروجينية مع الجذور الفعالة للأحماض الأمينية التالية: Ser 448، Asp203، Arg 202،Asp 542، Arg 526، Tyr 214، Thr 205 و 18 رابطة فراغية مع الأحماض الأمينية التالية: Trp 441،Asp 327، Phe 450، Asp 203، Lys 480، Asp 542،Tyr 214، Trp 406 المشكلة للموقع الفعال لإنزيم جلوكوأميلاز .

.



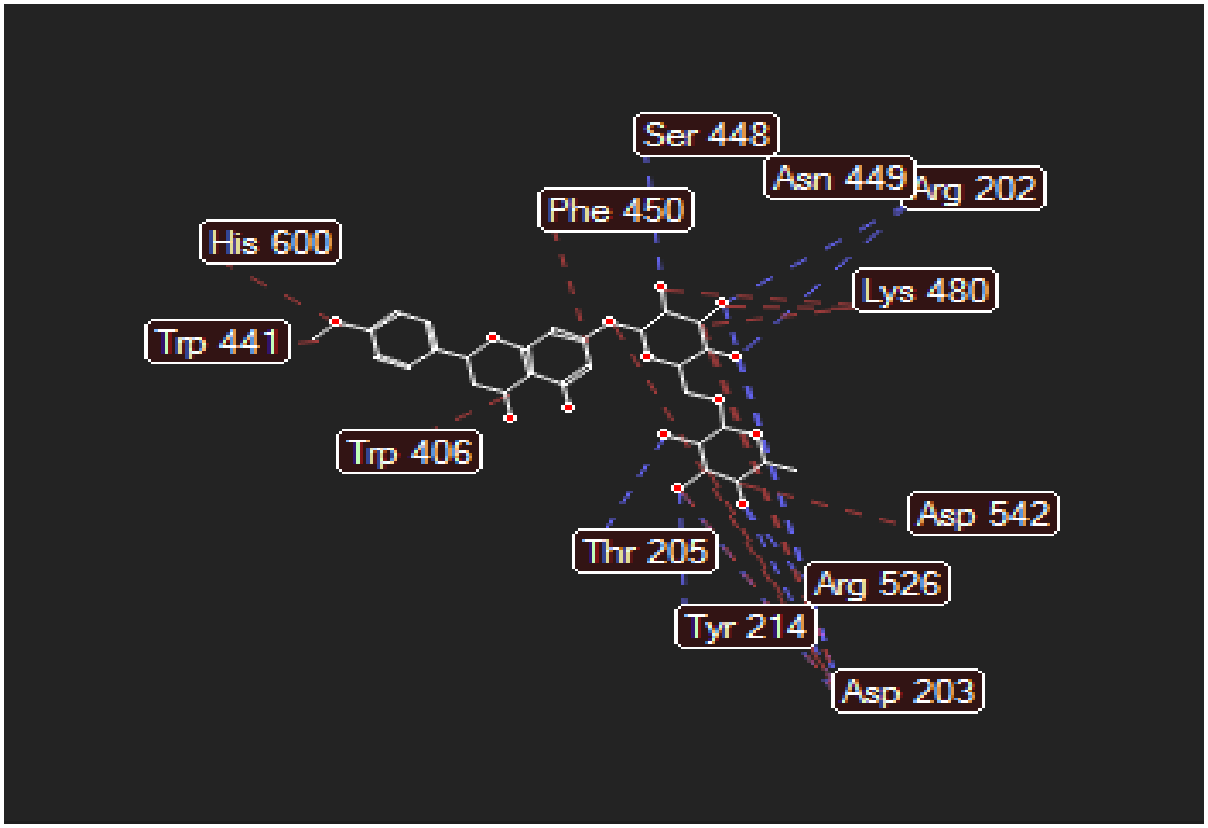
الشكل49: مختلف التجاذبات للمركب 100946327 مع إنزيم جلوكوأميلاز.

- يشكل المركب 14559755 مع الإنزيم معقد ثنائي أكثر استقرارا مقارنة ب MIG . بطاقة كلية قدرت بـ : 165.895kcal/mol− ويصنع هذا المركب 04 روابط هيدروجينية مع الأحماض الأمينية التالية: Arg 202، Thr 205 و06 روابط فراغية مع الجذور الفعالة للأحماض الأمينية التالية299المشكلة للموقع الفعال لإنزيم جلوكوأميلاز Lys 480، Asp 203، Thr 205،Thr 204، Asp 542، Tyr .



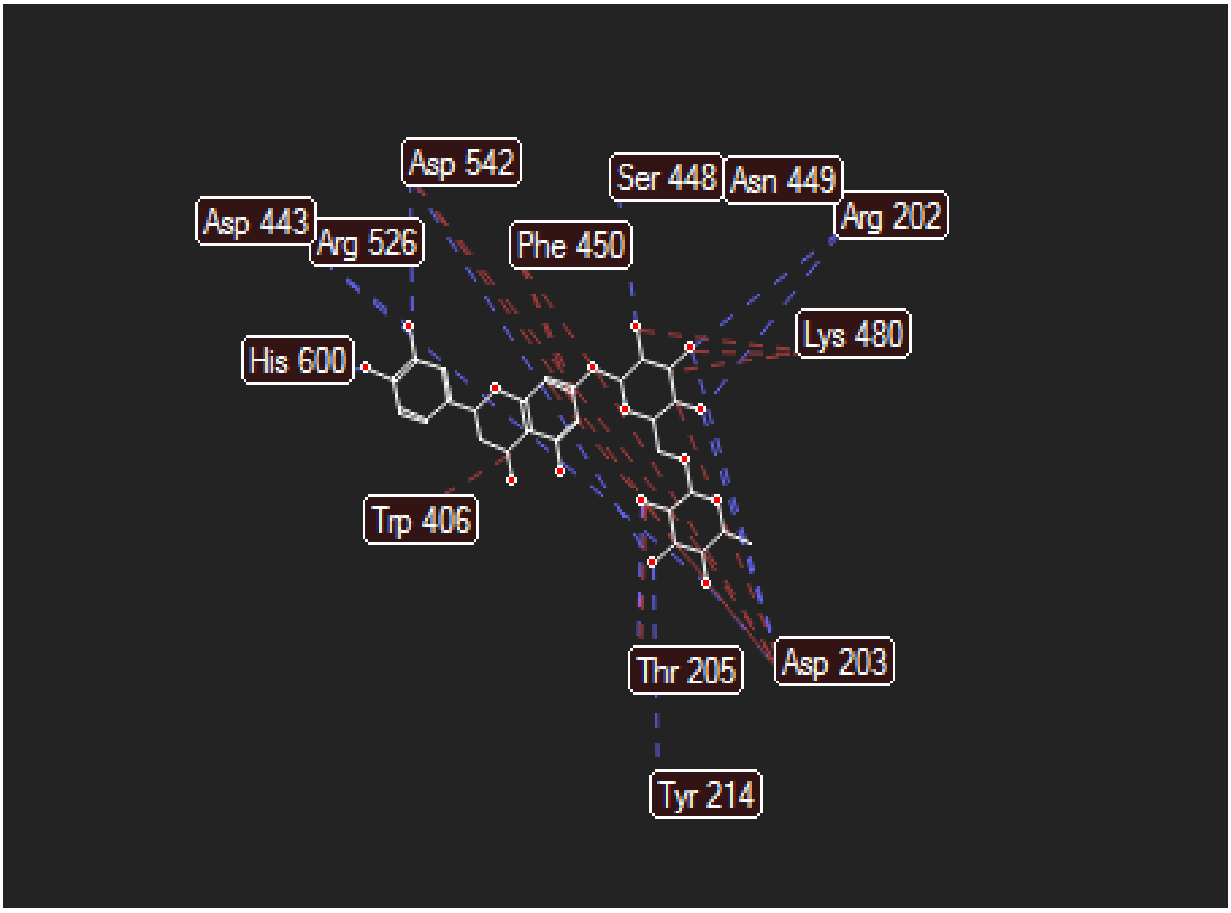
الشكل50 : مختلف التجاذبات للمركب 145559755 **مع إنزيم جلوكوأميلاز.**

- يشكل المركب 16760075 مع الإنزيم معقد ثنائي أكثر استقرار مقارنة ب MIG . بطاقة كلية قدرت بـ : 164.715kcal/mol− ويصنع هذا المركب 09 روابط هيدروجينية مع الأحماض الأمينية التالية: Ser 448، Asp203، Tyr 214، Arg 202، Arg 526، Thr 205 و 13 رابطة فراغية مع الأحماض الأمينية التالية: Trp 441، Phe 450، Asp 203، Lys 480، Asp 542، Trp 406، His 600 المشكلة للموقع الفعال لإنزيم جلوكوأميلاز.



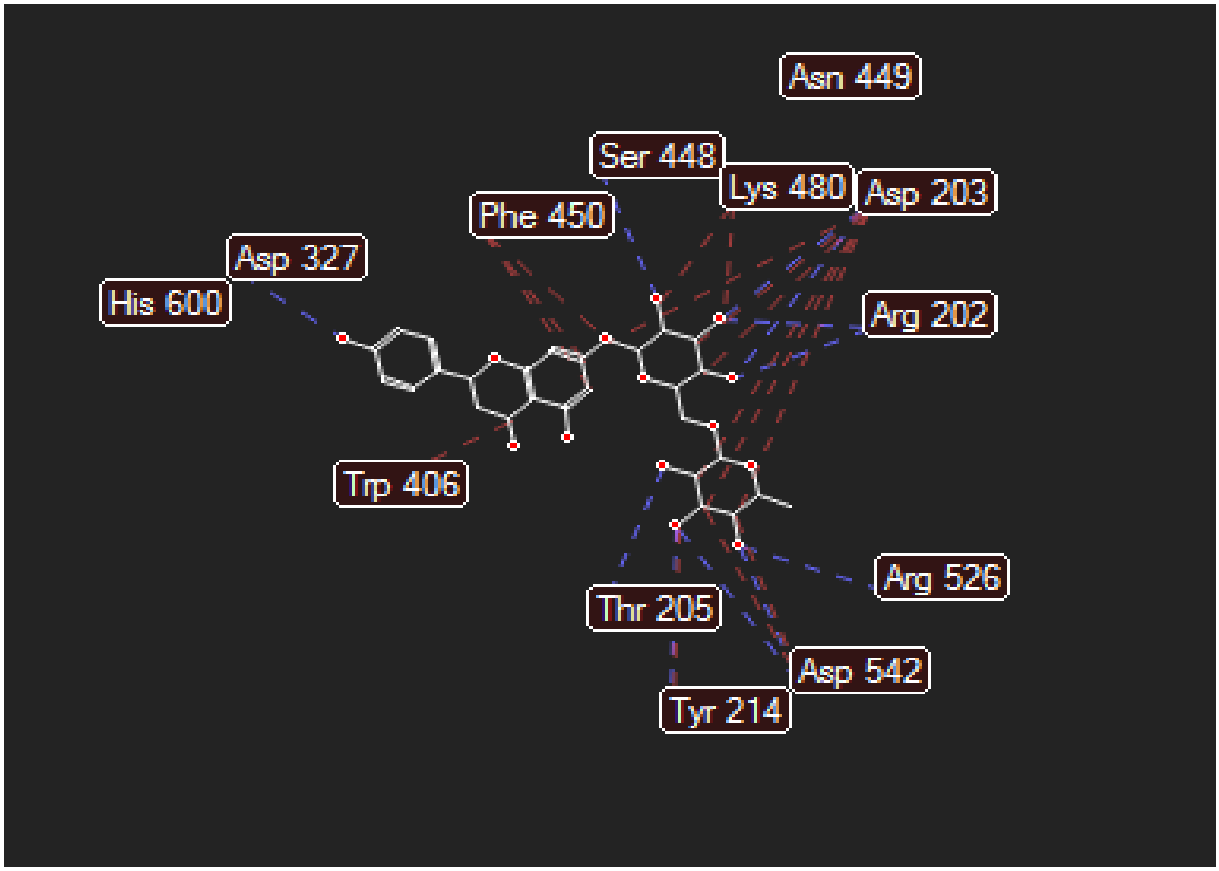
الشكل51 : مختلف التجاذبات للمركب 16790075 **مع إنزيم جلوكوأميلاز.**

- يشكل المركب 83489 مع الإنزيم معقد ثنائي أكثر استقرارا مقارنة ب MIG . بطاقة كلية قدرت بـ : 164.618 kcal/mol− ويصنع هذا المركب 12 رابطة هيدروجينية مع الأحماض الأمينية التالية: His 600، Ser 448، Asp 203، Arg 202، Arg526 ، Asp 542، Tyr 214، Thr 205، و 14 رابطة فراغية مع الأحماض الأمينية التالية: Phe 450، Asp 203، Lys 480، Asp 542، Tyr 214، Trp 406، Thr 205 المشكلة للموقع الفعال لإنزيم جلوكوأميلاز .



الشكل 52: مختلف التجاذبات للمركب 83489 **مع إنزيم جلوكوأميلاز.**

- يشكل المركب 442431 مع الإنزيم معقد ثنائي أكثر استقرارا في الموقع الفعال مقارنة ب MIG بطاقة كلية قدرت بـ : 162.891- kcal/mol ويصنع هذا المركب11 رابطة هيدروجينية مع الأحماض الأمينية التالية: Ser 448 Asp542 Arg 202، Asp 327 ، Arg 526،Asp 203، Tyr 214،Thr 205 ، ; 14 رابطة فراغية مع الأحماض الأمينية التالية: Phe 450، Asp 203، Lys 480 ، Asp 542، Tyr 214، Trp 406 ،المشكلة للموقع الفعال لإنزيم جلوكوأميلاز.



الشكل53: مختلف التجاذبات للمركب 442431 مع إنزيم جلوكوأميلاز.

XI. النتائج العامة للدراسة التجريبية

- ❖ المركبات المرتبة وفق دالة الترتيب Moldock score لها نفس البنية الفراغية تقريبا.
- ❖ المركب 10621 أظهر فعل تثبيطي أثناء التحامه مع إنزيم جلوكوأميلاز مقارنة مع المركب المرجعي .
- ❖ 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.
- ❖ من بين المركبات المرتبة وفق دالة الترتيب Moldock score والتي تم إجراء الالتحام بينها وبين إنزيم جلوكوأميلاز نجد أن معظم مركبات أعطت نتائج أحسن مقارنة مع المركب المرجعي MIG 1001.
- ❖ تكون قيمة الطاقة للروابط الفراغية بين الإنزيم والمركب دائما أقل من قيمة الطاقات الأخرى، بالتالي تساهم بشكل رئيسي في استقرار المعقد.
- ❖ نستنتج أن المركبات 6 المدروسة في هذه المذكرة يمكن أن تعمل كمثبط لإنزيم جلوكوأميلاز و ذلك لأن لها نفس التجاذبات مع هذا الإنزيم مقارنة بالميجليتول .

الخاتمة

الخاتمة

برزت تقنية الالتحام الجزيئي كأداة لا غنى عنها في المجال الطبي والصيدلي، وذلك بفضل مزاياها المتعددة التي جعلتها تحظى بتفضيل متزايد مع مرور الوقت .تتميز هذه التقنية بسهولة استخدامها، مما يجعلها في متناول العديد من الباحثين والعاملين في هذا المجال وتُستخدم تقنية الالتحام الجزيئي لمجموعة واسعة من الوظائف تشمل: التحقق من نتائج التفاعلات الكيميائية و التأكد من فعالية بعض الأدوية في علاج الأمراض قبل تجريبها مخبريا.

تناول بحثنا نمذجة جزيئية و آلية التجاذبات لبعض الفلافونيدات مع المعقد الإنزيمي ليغاند–بروتين ضد مرض السكري النوع الثاني.

قمنا في البداية باختبارنا لموثوقية برنامج الـMVD لذا استخدمنا اختبار الـRMSD و ذلك بالمقارنة بين إنحراف هندسة الليغاند المتحصل عليها في برنامج الـMVD و ذلك المتحصل عليه تجريبيا و الموجود بالـPBD ، في الجزء الثاني قمنا بتقييم الالتحام الجزيئي لقاعدة المعطيات تحتوي على 336مركب فلافوني (فلافونيدات)، استطعنا تمييز 30 مركب مرشح لتثبيط عمل إنزيم جلوكوأميلاز.

في الجزء الثالث قمنا بمقارنة بسيطة بين أحسن6 مركبات حسب ترتيب دالة الترتيبMolDock Scoreعلى أساس النتائج المتحصل عليها في هذا الفصل نكون قد توصلنا إلى هدفنا المسطر في بداية هذا المذكرة و أن الفلافونيدات يان يكون لها نشاط ضد السكري. كنفاق لهذه الدراسة النظرية ،نتمنى أن تؤخذ نتائج مذكرتنا بعين الاعتبار في تطوير الأدوية لمكافحة هذاالمرض.

المراجع

[1] د .الشب» ,تصميم مثبطات محتلملة لأنزيم ألفا جلوكوسيدازباستخدام النمذجة الجزيئية «*مجلة جامعة المنارة* , vol. 4, n° %11, pp. 2960-2548, 2024.

[2] ش .ف .الزهراء, *نمذجة جزيئية و دراسة آلية تجاذبات لمشتقات شالكونات مع المعقد الإنزيمي نوبوازوميراز ADN-لمكافحة مرض السرطان*, المدرسة العليا لأساتذة التعليم التكنولوجي- سكيكدة .-, 2019.

[3] م .ب .س .الحميد ,داء السكري أسبابه مضاعفاته علاجه ,فهرسة مكتبة الملك فهد الوطنية اثناء النشر , 2008.

[4] ب .ح .إ .غ .ش .م .وفاء, *المعاش النفسي لمرضى السكري* ,مذكرة لنيل شهادة ليسانس في علم النفس العيادي :جامعة 8ماي 1945قالمة كلية العلوم الإنسانية و الإجتماعية , 2017.

[5] ج .م .ع .ا .م .المرزوقي ,الأمراض النفسية و علاقتها بمرض العصر السكر ,العلم و الإيمان للنشر و التوزيع , 2008.

[6] ح .نادية, *فاعلية العلاج باللعب في رفع مستوى التوافق النفسي و المدرسي لدى الطفل المصاب بالسكري النوع (1)*, مذكرة لنيل شهادة الماستر في علم النفس :جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم كلية العلوم الإنسانية و الإجتماعية , 2019.

[7] ع .ا .م .الأعسر ,أسس الكيمياء الحيوية ,المكتبة الأكاديمية , 2011.

[8] ا .ط .ي .أحمد ,الكيمياء الحياتية الجزء الأول ,ابن الأثير للطباعة و النشر جامعة الموصل , 2010م .

[9] ا .ج .م .جندل ,كيمياء الإنزيمات ,دار المستقبل للنشر و التوزيع , 2015.

[10] ع .ا .م .الأعسر ,الإنزيمات ,كلية الزراعة جامعة عين الشمس , 2020.

[11] ف .م .الشريف ,علم الحياة الكمومي ,مؤسسة هنداوي , 2023.

[12] ر .ع .ا .محمد ,كيمياء الكربوهيدرات ,كلية العلوم قسم الكيمياء , 2021.

[13] ا .س .أ .حلابو ,الغذاء و مكوناته ,مكتبة الشروق الدولية , 2008.

[14] تقنية البيئة الكيمياء الحيوية ,المؤسسة العامة للتعليم الفني و التدريب المهني .

[15] H. R. LéILA, *Pathologie liées au métabolisme des carbohydrates*, DIPLOME D'ETUDE SUPéRIEURES EN BILOGIE : Université de Jijel , 2009.

[16] G. S. I. G. Adra, *Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de l'alphaglucosidase (α-GLY) pour lutter contre le Diabète de type 2,* Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie: universite freres mentouri constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie , 2022.

[17] M. S. Youcef, *Etude de la relation quantitative structure-activitéinhibitrice des enzymes hydrolytiques : cas desalpha-glucosidases,* Présentée pour obtenir le diplôme de DOCTORAT: UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA, 2015.

[18] R. Q.-C. E. E. S. B. L. N. a. D. R. R. Lyann Sim1, «Human Intestinal Maltase–Glucoamylase: Crystal Structure of the N-Terminal Catalytic Subunit and Basis of Inhibition and Substrate Specificity,» *JMB*, pp. 782-792, 2008.

[19] L. Saoussene, *Etude docking et synthèse de dérivés de xanthone : voie d'accès à de nouveaux inhibiteurs de l'α-glucosidase,* Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat Option : Chimie Organique Appliquée: UNIVERSITE BADJI MOKHTAR- ANNABA, 2016.

[20] H. M.H.Muhaisen, «Medicinal Properties of Flavonoids,» *AJSRP*, vol. 3, n° %14, pp. 1-29, 2019.

[21] ج .صليحة ,*تقدير المحتوى الفينولي و التأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات بعض النباتات الطبية المستعملة تقليديا في علاج إضطرابات الجهاز الهضمي و إرتفاع ضغط الدم* ,مذكرة لنيل شهادة الماجستير قي البيوكيمياء و الفيزيولوجيا :جامعة فرحات عباس .2009 ,

[22] E. EMERAUX, *Propritétés biologique des Flavanoides : etude bibliographique et evaluation de l'activité anti oxydantes,* le Diplome d'Etat de Docteur en pharmacie: université De LORRAINE (FACULTé DE PHARMACIE, 2019.

[23] ش .ي .ك .كوثر ,*التحليل الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص عضوي مرفقة بمطيافية الكتلة* ,مذكرة لنيل :جامعة قاصدي مرباح ورقلة .2022 ,

[24] ب .ع .، .مريم ,*النمذجة الجزيئية لبعض المركبات الحلقية غير المتجانسة ذات الفعالية البيولوجية* ,مذكرة لنيل شهادة ماستر في الكيمياء :جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي.2020 ,

[25] T. Ogawa, Protein Engineering, Tech DTP team, 2013.

[26] X. D. Yi Li, «Insights into protein -Ligand Interactions: Mechanisms ,Models and Methods,» *PMC*, vol. 17, n° %12, 2016.

[27] D. Imane, *lnvestigation des interactions intermoléculaires dans les complexes d'inclusion de pyroquilone avec les cucurbit[n]uriles (n = 7,8) par la DFT dispersée.,* THESE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT EN 3ème CYCLE : Université 8 Mai 1945 Guelma, 2022.

[28] F. Cavillon, *Caractérisation de la laison hydrogène dans des systèmes moléculaires d'intret biologique par diffusion de neutrons,* L'obtention du grade de docteur de l'université de Lille 1: Université des sciences et Technologies de Lille, 2008.

[29] M. B. Atidel, *Etude structurale sur le mode d'inhibition de l'enzyme Topoisomérase 1 responsable de la prolifération de cellules cancéreuses,* Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT EN SCIENCES: UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA Faculté des Sciences , 2022.

[30] A. Dalila, *Résolusation du Doking Moléculaire : le prototype API DOCK,* Déplome de MAGISTER : FACULTE DES SCIENCES .

[31] س .إ .الأطرش عائشة , *Etude théorique de l'inhibition de l'enzyme Dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) implique dans le diabète de type 2,* مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر في الكيمياء :جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي .2022 ,

[32] H. O. K. ASSIA, *CONCEPTION IN SILICO DE NOUVEUX INHIBITEURS DE LA TYROSINASE POUR LE TRAITEMENT DE L'HYPERPIGMENTATION DE LA PEAU,* DIPLOME DE MASTER: Uuniversité des frères Mentouri Constantine 1, 2018.

[33] A. S. .. BAKHTI, *Conception par Modélisation et Criblage virutuel d'inhibiteurs de récepteur LSD1,* Mémoire de Master: Université mohamed khider de biskra, 2019.

[34] L. Farida, *Développement d'un portail web pour le criblage virtuel sur la grille de calcul,* DIPLOME DE MASTER 2 INFORMATIQUE: Institut de la Francophonie pour l'informatique, 2014.

[35] B. F. Z. Bouchagra S, «Docking studies of (-)Epigallocatechin-3-gallate:A Potential non-Competitive Panacreatic Lipase Inhibitor,» *RJPBCS,* vol. 7, n° %15, pp. 2493-2505, 2016.

[36] L. A. Nistor, *Inhibition de l'absorption intestinale du glucose par les produits naturels issus de lapharmacopée traditionnelle des Cris de la*

Baie James, Mémoire présenté à la Faculté des études supérieuresen vue de l'obtention du grade deMaître ès sciences (M.Sc.)en Pharmacologie: Université de MontréalFaculté des Études supérieures Département de pharmacologie, 2009.

[37] ب .ع .، .ز .خ .الدين ,*نمذجة جزيئية ودراسة التجاذبات لبعض مشتقات القلويدات مع كيناز الأورورا A وكيناز ا الأورورا B لمكافحة مرض السرطان* ,مذكرة لنيل شهادة أستاذ تعليم ثانوي :المدرسة العليا لأساتذة التعليم التكنولوجي -سكيكدة .2023 ,-